

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
AMBIENTAL

Priscilla Garozi Zancheta

*Comportamento de antibióticos da classe das
fluoroquinolonas na urina humana durante
tratamento para reciclagem de nutrientes via
estocagem e evaporação*

VITÓRIA

2012

Priscilla Garozi Zancheta

Comportamento de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana durante tratamento para reciclagem de nutrientes via estocagem e evaporação

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental do Centro Tecnológico da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Engenharia Ambiental.

Área de concentração: Saneamento Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Franci Gonçalves.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Angelina Lopes Simões Pena.

VITÓRIA

2012

Priscilla Garozi Zancheta

Comportamento de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana durante tratamento para reciclagem de nutrientes via estocagem e evaporação

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Engenharia Ambiental, área de concentração em Saneamento Ambiental.

Aprovada em 03 de agosto de 2012.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Ricardo Franci Gonçalves
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Profa. Dra. Angelina Lopes Simões Pena
Universidade de Coimbra
Co-Orientadora

Prof. Dr. Sérgio Túlio Alves Cassini
Universidade Federal do Espírito Santo
Examinador Interno

Prof. Dr. Rogério Ramos
Universidade Federal do Espírito Santo
Examinador Interno

Profa. Dra. Paula Loureiro Paulo
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul
Examinadora Externa

Prof. Dr. Asher Kiperstok
Universidade Federal da Bahia
Examinador Externo

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Z27c Zancheta, Priscilla Garozi, 1981-
Comportamento de antibióticos da classe das
fluoroquinolonas na urina humana durante tratamento para
reciclagem de nutrientes via estocagem e evaporação / Priscilla
Garozi Zancheta. - 2012.
187 f. : il.

Orientador: Ricardo Franci Gonçalves.
Coorientador: Angelina Lopes Simões Pena.
Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro Tecnológico.

1. Urina. 2. Nutrientes. 3. Antibióticos. 4. Evaporação. 5.
Cromatografia líquida de alta eficiência. I. Gonçalves, Ricardo
Franci. II. Pena, Angelina Lopes Simões. III. Universidade
Federal do Espírito Santo. Centro Tecnológico. IV. Título.

CDU: 628

Aos meus pais Emma e Jonacy,
ao meu irmão Philippe e ao
meu amor Manoel.

Agradecimentos

À Deus, por me mostrar o caminho e me ajudar a seguir em frente em cada momento de fraqueza.

Aos meus pais Emma e Jonacy, ao meu irmão Philipe, à minha cunhada Ana Paula e toda a minha querida família (avós, tios e primos) pelo apoio, amor, paciência, por acreditarem na minha capacidade e por entenderem a minha ausência durante todo esse período.

Ao Manoel, pelo amor, carinho, compreensão nas horas difíceis e por ter toda paciência comigo.

À Família (Lurdinha, Paulo e Gustavo) e familiares do Manoel que estiveram presentes nessa etapa da minha vida.

A todas as minhas amigas e amigos que estiveram presentes nessa etapa da minha vida e por entenderem a minha ausência.

Ao Professor Ricardo Franci Gonçalves pela oportunidade, orientação, ensinamentos e grande ajuda e paciência nos momentos finais da minha jornada.

À Professora Angelina Pena por ter aceitado ser minha co-orientadora, por todos os ensinamentos, carinho, compreensão, dedicação e ainda ter me acolhido de braços abertos durante o doutorado Sanduiche em Portugal.

Ao Professor Rogério Ramos por ter aceitado participar da minha pesquisa, por toda dedicação, atenção e ensinamentos ao longo desses anos.

À Laila pela amizade, apoio, companheirismo, paciência, por escutar (sempre) as minhas alegrias e frustrações e por me ajudar a levantar nos momentos de dificuldade.

Aos estagiários: Maria Elisa, Thiago Tozi, Jessyca Azevedo, Nathany Santos, Vinicius Santi, Roberta Santana, Fábio Aleixo, Mayara Milaneze, Isabella Suave, Isabella Guimarães, Amanda Della Fonte, Karinnie Nascimento e Márcia pela dedicação à pesquisa e a todos os outros estagiários que passaram pela ETE e por consequência trabalharam também nesse projeto.

Aos amigos da ETE, os que passaram durante esse tempo e os que continuam: Laila, Marjorye, Monica, Camila Vidal, Rosilene, Rosane, Karolyna, Júlia, Renato, Renata,

Glyvani, Thais, Jeaninna, Andrielly, Léa Marina, Juliana, Solange, Thamires e Letícia pela paciência, amizade e ajuda nos momentos de dificuldade.

Aos amigos do LABSAN, os que passaram durante esse tempo e os que continuam: Paulo Wagner (nosso apoio sempre), Elaine (nossa técnica para todas as horas), Janine, Márcia Cristina, Juliana, Cecília, Lorena, Amanda, Georgette, Leandro Sá, Paula, Renata e Fabiana.

A todos os amigos da ETE, LABSAN e LABCROM por todo apoio e amizade e por todas as vezes que colaboraram com o xixi. Sem v^oCês não seria possível à realização desta pesquisa.

Às minhas amigas Portuguesas Alexandra e Lúcia pela companhia, ajuda e apoio em todos os momentos no período que estive em Coimbra e por terem se tornado amigas para toda a vida.

Aos amigos que fiz em Portugal do *Group of Health Surveillance* da Faculdade de Farmácia de Coimbra pelo apoio no período em que lá estive e pela importante colaboração com o xixi.

Ao Caio Cardinali pela ajuda na pesquisa mesmo à distância.

Às amigas Rosane e Monica por me escutarem ao longo dessa jornada.

À Banca Examinadora: Prof. Dr. Sérgio Túlio Alves Cassini, Prof. Dr. Rogério Ramos, Prof^a. Dr^a. Paula Loureiro Paulo e Prof. Dr. Asher Kiperstok pela disponibilidade em me avaliar.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro.

À FAPES pela bolsa de doutorado.

À CAPES pela bolsa de doutorado sanduíche.

Não é o mais forte que sobrevive,
nem o mais inteligente, mas o que melhor
se adapta às mudanças!

Charles Darwin

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	24
1.1 ESTRUTURA DA TESE	26
2. OBJETIVOS.....	28
2.1 OBJETIVO GERAL.....	28
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	30
3.1 SANEAMENTO CONVENCIONAL.....	30
3.2 SANEAMENTO ECOLÓGICO.....	31
3.3 URINA HUMANA.....	33
3.3.1 Segregação da Urina na Fonte.....	33
3.3.2 Aspectos Quantitativos da Urina.....	34
3.3.3 Aspectos Qualitativos da Urina	34
3.3.4 Disruptores Endócrinos	37
3.3.5 Sistema Endócrino.....	39
3.3.5.1 Hormônios	41
3.3.5.2 Metais Pesados	42
3.3.6 Fármacos	43
3.3.6.1 Fluoroquinolonas (FQs)	46
Ofloxacina	49
Norfloxacina	50
Ciprofloxacina	51
Resistência Bacteriana das FQs.....	52
3.4 TRATAMENTOS DA URINA HUMANA COM VISTAS AO SEU USO	
AGRÍCOLA	53
3.4.1 Estocagem.....	53
3.4.2 Acidificação	56
3.4.3 Técnicas de redução de volume	56
3.4.3.1 Congelamento da urina	57
3.4.3.2 Precipitação de estruvita	58

3.4.3.3 Evaporação	59
Tipos de Evaporação	59
<i>Evaporação artificial</i>	59
<i>Evaporação Solar</i>	60
Tipos de evaporadores	60
3.5 FERTILIZANTES	64
3.5.1 Fertilizantes Artificiais	64
3.5.2 Fertilizantes orgânicos	64
3.5.3 A urina como fertilizante	65
3.5.3.1 Exemplos de aplicação da Urina Humana.....	66
3.5.4 Risco microbiológico no uso de urina como fertilizante.....	67
4. ARTIGOS.....	70
4. ARTIGOS.....	71
4.1 ARTIGO 1	72
1 INTRODUÇÃO	73
2 METODOLOGIA	75
2.1 INSTRUMENTAÇÃO E CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS	75
2.2 REAGENTES E MATERIAIS.....	75
2.3 AMOSTRAGEM.....	76
2.4 EXTRAÇÃO DA AMOSTRA	77
2.5 SOLUÇÕES ESTOQUE DE FLUOROQUINOLONAS.....	77
2.6 VALIDAÇÃO DO MÉTODO	77
3 RESULTADOS.....	77
3.1 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS	77
3.2 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO	79
3.3 VALIDAÇÃO	80
3.3.1 Seletividade.....	80
3.3.2 Linearidade	81
3.3.3 Limite de Detecção(LD) e Limite de Quantificação (LQ).....	81
3.3.4 Recuperação	82

<i>3.3.5 Repetitividade e Precisão Intermediária</i>	83
4 DISCUSSÃO	84
5 CONCLUSÕES	85
6 REFERÊNCIAS	85
4.2 ARTIGO 2	89
1 INTRODUÇÃO	90
2 METODOLOGIA	92
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	95
3.1 CARACTERÍSTICAS MÉDIAS DA URINA HUMANA.....	95
3.2 IMPACTO DA ACIDIFICAÇÃO NAS CARACTERÍSTICAS MÉDIAS DA URINA	97
3.3 ESTOCAGEM.....	98
4 CONCLUSÕES	106
5 REFERÊNCIAS	106
4.3 ARTIGO 3	111
1 INTRODUÇÃO	112
2 METODOLOGIA	115
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	119
4 CONCLUSÕES	128
5 REFERÊNCIAS	128
4.4 ARTIGO 4	132
1 INTRODUÇÃO	133
2 MATERIAL E MÉTODOS	136

2.1 PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS DE URINA HUMANA E DOS PADRÕES DE FLUOROQUINOLONAS	136
2.2 MONITORAMENTO DOS ENSAIOS POR CLAE-DF COM A URINA FORTIFICADA COM AS FQS	136
2.3 DESCRIÇÃO DOS EVAPORADORES UTILIZADOS.....	137
2.4 PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS DOS EVAPORADORES	139
2.5 TRATAMENTO E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS	140
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	142
3.1 TAXAS DE EVAPORAÇÃO E AS EFICIÊNCIAS ENERGÉTICAS DOS EVAPORADORES	142
3.2 ANÁLISE DAS FLUOROQUINOLONAS NA URINA HUMANA	145
4 CONCLUSÕES	146
5 REFERÊNCIAS.....	146
5. DISCUSSÃO GERAL	150
6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	160
6.1 CONCLUSÕES INTEGRADAS	160
6.2 RECOMENDAÇÕES.....	161
7. REFERENCIAS	164
8. APÊNDICES	181
<i>APÊNDICE A – CARACTERIZAÇÃO DOS DIAS DE EXECUÇÃO DURANTE A REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS DE EVAPORAÇÃO</i>	<i>182</i>
9. ANEXOS.....	186
<i>ANEXO A - METODOLOGIA DAS ANÁLISES DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICO</i>	<i>187</i>

Lista de Tabelas

Tabela 1: Concentração de macronutrientes na urina humana fresca.....	36
Tabela 2: Concentração de metais presentes na urina humana.....	37
Tabela 3: Variação na composição da urina ao longo da estocagem.....	55
Tabela 4: Nutrientes na urina humana e a quantidade de fertilizante necessária para produzir 250 grãos por ano.....	66
Tabela 5: Alguns patógenos que poderiam ser excretados na urina e a importância da urina como meio de transmissão.....	68
Tabela 6: Diretriz sueca para a utilização da urina na agricultura em grandes sistemas ^(a)	69
Tabela 7: Linearidade, precisão e recuperação para OFLO, NOR e CIPRO em amostra de urina humana.....	82
Tabela 8: Repetitividade e Precisão Intermediária para OFLO, NOR e CIPRO.....	83
Tabela 9: Características da urina fresca (urina normal).....	96
Tabela 10: Característica da urina fresca acidificada.....	97
Tabela 11: Variação dos parâmetros físico-químicos ao longo da estocagem da urina normal.....	98
Tabela 12: Variação dos parâmetros físico-químicos ao longo da estocagem da urina acidificada.....	101
Tabela 13: Concentração de fluoroquinolonas na urina durante 6 semanas.....	104
Tabela 14: Taxas de evaporação nas diferentes temperaturas de evaporação.....	120
Tabela 15: Balanço de massa de NTK e N-NH ₄ ⁺	122
Tabela 16: Concentrações iniciais e finais de cloreto na urina.....	123
Tabela 17: Eficiências e velocidades de degradação de massa das 3 FQs durante a evaporação de urina.....	125
Tabela 18: Principais especificações do projeto do concentrador solar parabólico. Fonte: Anjos (2008).	139
Tabela 19: Comparação dos processos de evaporação de urina.....	144
Tabela 20: Porcentagem de remoção das FQs durante a evaporação em 50% do volume final.....	145

Lista de Ilustrações

Figura 1: Bacia sanitária segregadora.....	34
Figura 2: Eco-vilas.	34
Figura 3: Sistema Endócrino.	40
Figura 4: Estrutura Básica dos esteroides.	42
Figura 5: Estrutura Geral dos Antibióticos da classe das Fluoroquinolonas.	47
Figura 6: Estrutura de um antibiótico da classe das Fluoroquinolonas: Ofloxacina.	49
Figura 7: Estrutura de um antibiótico da classe das Fluoroquinolonas: Norfloxacina.....	51
Figura 8: Estrutura de um antibiótico da classe das Fluoroquinolonas: Ciprofloxacina.....	52
Figura 9: Influência da temperatura e do pH no equilíbrio entre amônia aquosa e gasosa.....	55
Figura 10: Destilador utilizado para evaporar água presente no efluente de produção de petróleo para reuso na agricultura e geração de vapor. Fonte: Bezerra, 2004.	62
Figura 11: Destilador utilizado para produção de água doce a partir de água salgada ou salobra. Fonte: Soares, 2004.....	62
Figura 12: Destilador de águas salinas. Fonte: Pina, 2004.	63
Figura 13: Estrutura química das três fluoroquinolonas estudadas: ofloxacina (OFLO), norfloxacina (NOR) e ciprofloxacina (CIPRO).	76
Figura 14: Comportamento ácido-base das fluoroquinolonas.	79
Figura 15: Cromatograma de amostra do ensaio em branco com urina humana; Figura 16: Cromatograma do ensaio de fortificação com $4 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada fluoroquinolona estudada na urina (ofloxacina, norfloxacina e ciprofloxacina).	81
Figura 17: Fluxograma das análises de estocagem.	94
Figura 18: Comportamento do pH na urina normal (UN) e urina acidificada (UA).....	99
Figura 19: Comportamento da amônia na urina normal (UN) e urina acidificada (UA)..	99
Figura 20: Comportamento do fósforo total e ortofosfato na urina normal (UN).	100
Figura 21: Comportamento do fósforo total e ortofosfato na urina acidificada (UA).	100
Figura 22: Comportamento do sulfato na urina normal (UN) e urina acidificada (UA).....	100
Figura 23: Comportamento do Potássio na urina normal (UN) e urina acidificada (UA).	100
Figura 24: Comportamento dos coliformes totais e E.coli em relação ao pH durante a estocagem na urina normal.....	103
Figura 25: Estrutura química dos três antibióticos da classe das fluoroquinolonas estudadas, ofloxacina (OFLO), norfloxacina (NOR) e ciprofloxacina (CIPRO).	113
Figura 26: Fluxograma das análises de evaporação.....	117
Figura 27: Redução de volume durante a evaporação na urina normal (UN).....	120
Figura 28: Redução de volume durante a evaporação na urina acidificada (UA).	120
Figura 29: Comportamento do pH na urina normal durante a evaporação.	121
Figura 30: Comportamento do pH na urina acidificada durante a evaporação.....	121
Figura 31: Comportamento da concentração de NTK na urina normal durante a evaporação.	121

Figura 32: Comportamento da concentração de NTK na urina acidificada durante a evaporação.	121
Figura 33: Massa das FQs (OFLO, NOR e CIPRO) durante a evaporação normal (UN) e acidificada (UA).....	126
Figura 34: Croqui do evaporador de bandeja.	138
Figura 35: Croqui do concentrador solar parabólico. Fonte: Anjos, 2008.....	138

Lista de Abreviaturas e/ ou siglas

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
$\mu\text{g } \ell^{-1}$	Micrograma por litro
$\mu\text{g mL}^{-1}$	Micrograma por mililitro
$\mu\ell$	Microlitro
μm	Micrômetro
Abifarma	Associação Brasileira da Indústria Farmacêutica
ACN	Acetonitrila
AES	Sistema de evaporação com ar
Al	Alumínio
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
As	Arsênio
Bat.	Batelada
c	Calor específico
C ₁₆ H ₁₈ FN ₃ O ₃	Norfloxacin
C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	Ciprofloxacina
C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	Ofloxacina
Ca	Cálcio
Ca ₄ MgAl ₄ (PO ₄)(OH) ₄ .12H ₂ O	Montgomerite
Ca ₅ (PO ₄) ₃ OH	Hidroxiapatita
Cd	Cádmio
<i>cf final</i>	Fator de concentração final
CIPRO	Ciprofloxacina
Cl ⁻	Cloreto
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLAE-DF	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a um detector de Fluorescência
CLAE-EM	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um espectrômetro de massa
cm ³	Centímetro cúbico
Co	Cobalto
CO(NH ₂) ₂	Ureia

CO ₂	Dióxido de Carbono
<i>conc final</i>	Concentração final
<i>conc inicial</i>	Concentração inicial
Cr	Cromo
Cu	Cobre
CV	Coefficiente de Variação
d	Dia
DP	Desvio padrão
DPa	Desvio padrão do intercepto com o eixo Y
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>ef. energ.</i>	Eficiência Energética
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
<i>F</i>	Foco
FC	Fluxo contínuo
Fe	Ferro
FENAFAR	Federação Nacional dos Farmacêuticos
FM	Fase móvel
FQs	Fluoroquinolonas
g	Gramma
g	Força Centrífuga
g mol ⁻¹	Gramma por mol
<i>G_{total sol}</i>	Irradiação total do Sol durante o periodo do experimento
h	Hora
H ₂ CO ₃	Ácido Carbônico
H ₂ O	Água
H ₂ PO ₄ ⁻ ou HPO ₄ ²⁻	Superfosfatos
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
H ₃ PO ₄	Ácido fosfórico
hab	Habitante
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato
Hg	Merúrio
<i>h_{liq/vapor}</i>	Entalpia de vaporização do fluido
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
<i>h_{vapor}</i>	Entalpia de vapor do fluido

IC	Coeficiente angular da curva analítica
IMS Health	Consultora Internacional de Marketing Farmacêutico
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
K	Potássio
Kg	Quilograma
kJ	kilojoule
kJ/kg	Kilojoule por quilograma
K-total	Potássio Total
kw	Quilowatt
ℓ	Litro
ℓ/dia.pessoa	Litro por dia por pessoa
ℓ/h	Litro por hora
ℓ/m ² .d	Litro por metro quadrado por dia
L _c	Largura do concentrador
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
m	Metro
m ²	Metro quadrado
m ³	Metro cúbico
max	Máximo
mbar	Milibar
<i>m_{condensado}</i>	Massa de líquido recolhido no final do processo na temperatura final (<i>T_{final}</i>)
MeOH	Metanol
Mf	Massa final
mg	Miligramma
Mg	Magnésio
mg L ⁻¹	Miligramma por litro
Mg(OH) ₂	Brucite
MgNH ₄ PO ₄	Estruvita
MgO	Óxido de magnésio
MgSO ₄ .7H ₂ O	Epsomite
Mi	Massa inicial

min	Mínimo
min	Minuto
$m_{inicial}$	Massa inicial de líquido a ser evaporado na temperatura inicial ($T_{inicial}$)
$MJ.m^{-3}$	Milijoule por metro cúbico
$m\ell$	Mililitro
$m\ell \text{ min}^{-1}$	Mililitro por minuto
mm	Milímetro
MM	Massa molar
mmol	Milimol
$mmol \ell^{-1}$	Milimol por litro
Mn	Manganês
$mol \ell^{-1}$	Mol por litro
mS/cm	MiliSiemens por centímetro
m_{vapor}	Massa de vapor no final do processo na temperatura final (T_{final})
N	Nitrogênio
n	Número de amostras
N_2	Nitrogênio molecular
NaCl	Cloreto de sódio
NaCl	Cloreto de sódio
NASA	Administração Nacional da Aeronáutica e do Espaço
$ng \ell^{-1}$	Nanograma por litro
NH_3	Amônia
NH_4^+	Ions amônio
NH_4Cl	Cloreto de Amônio
Ni	Níquel
nm	Nanômetro
NMP/100 $m\ell$	Número mais provável por 100 mililitros
NO_2+NO_3-N	Nitrito e Nitrato
NOR	Norfloxacina
Norg	Nitrogênio orgânico
NTK	Nitrogênio Total Kjeldhal
N-total	Nitrogênio Total
OFLO	Ofloxacina

Out.	Outono
P	Fósforo
PO_4^{-3}	Ortofosfato
Pb	Chumbo
pH	Potencial Hidrogeniônico
pKs	Produto de solubilidade
PPCPs	Produtos farmacêuticos e cuidados pessoais
Prim.	Primavera
P-total	Fósforo Total
$Q_{elétrica}$	Entalpia de aquecimento
Q_{evap}	Entalpia de evaporação
r^2	Coefficiente de correlação da curva
RENAME	Relação nacional de medicamentos essenciais
S	Enxofre
s	Segundo
SHU	Síndrome hemolítico-urêmica
SO_4^-	Sulfato
ST	Sólidos Totais
ST_{final}	Sólidos totais - final
$ST_{inicial}$	Sólidos totais - inicial
TBA	Tetrabutylamônio
T_{final}	Temperatura final
TIMES	Membrana termolétrica integrada
$T_{inicial}$	Temperatura inicial
t_R	Tempo de retenção
UA	Urina acidificada
UN	Urina normal
US\$	Dólar
UV	Ultravioleta
VCD	Destilação por compressão de vapor
V_{final}	Volume final de líquido recolhido no final do processo na temperatura final
$V_{inicial}$	Volume inicial de líquido a ser evaporado na temperatura inicial
Vt	Volume inicial

Vy

Volume líquido final

Zn

Zinco

Δt

Variação de tempo

Resumo

Existem interessantes perspectivas a partir da utilização da urina humana como fertilizante em uso agrícola, principalmente em países em desenvolvimento devido às altas concentrações de nutrientes, como nitrogênio, fósforo e potássio. No entanto, a urina humana é a principal via de excreção de fármacos inalterados e seus metabólitos fazendo-se necessária a remoção de resíduos farmacêuticos para evitar em longo prazo riscos ao meio ambiente. O presente trabalho objetivou desenvolver e validar um método para quantificação simultânea de antibióticos da classe das fluoroquinolonas (FQs): ofloxacina (OFLO), norfloxacin (NOR) e ciprofloxacina (CIPRO) em urina humana, avaliar o comportamento desses antibióticos na urina durante tratamento para reciclagem de nutrientes via estocagem e evaporação e analisar o desempenho de evaporadores solares para redução de volume da urina humana. O método desenvolvido descreve uma metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de fluorescência (CLAE-DF) sem recorrer à etapa de *clean-up* que geralmente exige o uso de grandes quantidades de solventes orgânicos e outros procedimentos, como extração em fase sólida. O método demonstrou ser seletivo, com linearidade de $r > 0,99$, sensível, com recuperação de 80% a 107% e adequado para análises de rotina (baixo custo, simples e utilização de pequeno volume de solventes) para abordagens ecológicas. Esse método foi aplicado na avaliação do comportamento das três FQs na urina humana durante o tratamento de estocagem e evaporação. A urina utilizada para os dois tratamentos foi coletada apenas de pessoas do sexo masculino, saudáveis e sem utilização de medicamentos. Esta foi dividida em dois tipos, urina normal (sem acidificação) e urina acidificada. Durante os dois tratamentos também foram avaliados o comportamento dos nutrientes da urina humana e análise microbiológica na urina normal durante a estocagem. Para as análises das FQs na estocagem foi utilizada apenas urina acidificada e para a evaporação foram utilizados os dois tipos. A estocagem da urina acidificada não foi capaz de reduzir as concentrações destes fármacos em quantidades significativas, considerando-se o limite de detecção do método cromatográfico empregado ($1,0 \mu\text{g } \ell^{-1}$). Conseqüentemente, o monitoramento da presença estes fármacos na urina humana a ser utilizada na agricultura deve ser implementado. Nos testes microbiológicos realizados com a urina normal constatou-se que após um período de 15 dias e em temperatura ambiente, as densidades de coliformes totais e *E. coli* mostraram-se nulas. Os ensaios de evaporação evidenciaram uma maior resistência à degradação da OFLO e uma alta degradabilidade da NOR e da CIPRO sob as diferentes condições de pH e temperatura. A acidificação da urina com a quantidade de ácido utilizada aumentou a resistência à degradação das NOR e CIPRO sob as três temperaturas testadas, cujas velocidades e as eficiências de degradação mostraram-se bastante reduzidas com relação aos testes com urina normal. Conclui-se que a acidificação na quantidade de ácido sulfúrico utilizada não foi um método eficaz de conservação de nitrogênio e para a degradação do antibiótico OFLO na urina sob as condições de evaporação testadas. Para avaliação da evaporação nos dois processos utilizando energia solar foi utilizada apenas urina acidificada. Os resultados mostraram que é possível reduzir o volume utilizando-se ambas as técnicas. Quando se relaciona as taxas de evaporação e a eficiência energética, o concentrador solar parabólico teve melhor desempenho em relação ao evaporador de bandeja, apresentando um tempo de residência menor, temperaturas mais elevadas e maiores taxas de degradação de FQs.

Palavras-chave: Urina; Nutrientes; Antibióticos; Evaporação; Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Abstract

There are interesting prospects from the use of human urine as fertilizer in agricultural, mainly in developing countries due to high concentrations of nutrients such as nitrogen, phosphorus and potassium. However, the urine is the major route for excretion of drug and metabolites making it necessary to remove residues pharmaceutical to prevent long-term risks to the environment. The present work aim at developing and validating of a method for simultaneous quantification of the class of fluoroquinolones antibiotics, fluoroquinolones (FQs), ofloxacin (OFLO), norfloxacin (NOR) and ciprofloxacin (CIPRO) in human urine, to evaluate the behavior of these antibiotics in human urine during treatment for recycling of nutrients for storage and evaporation and analyze the performance of solar evaporators for volume reduction of human urine. The method describes a method for analytical high performance liquid chromatography coupled with fluorescence detection (HPLC-FD) without clean-up step which usually requires the use of large quantities of organic solvents and other procedures such as extraction solid phase. The method is selective with linearity of $r > 0.99$, sensitive, with recovery of 80% to 107% and suitable for routine analyzes (low cost, simple and use of small volume of solvent) for ecological approaches. This method was applied to evaluate the behavior of the three FQs in human urine during the storage and evaporation. Urine used for both treatments was collected only from males, healthy and without medication use. This was divided into two types, normal urine (without acidification) and acidified urine. During the two treatments were also evaluated the behavior of nutrients from human urine and microbiological analysis in normal urine during storage. For the analysis of the storage, the FQs were used only acidified urine and in evaporation the two kinds were used. The storage of the acidified urine was not able to reduce the concentrations of these pharmaceuticals in significant quantities, considering the detection limit of the chromatographic method ($1.0 \mu\text{g } \ell^{-1}$). Therefore, monitoring the presence of these pharmaceuticals in human urine must be implemented, when the storage treatment is used as a single treatment. In microbiological tests realized with normal urine during the storage treatment, was found that after a period of 15 days and at room-temperature, the levels of total coliforms and *E. coli* tended to zero. The evaporation tests showed greater resistance to degradation for OFLO and high degradability for NOR and CIPRO under different conditions of pH and temperature. The urine acidification increased the resistance to degradation the NOR and CIPRO under the temperatures used. The speeds and efficiencies of degradation were reduced relatively to the tests with normal urine. It is concluded that acidification is not an effective method for the conservation of nitrogen and degradation of the OFLO in urine under evaporation conditions tested. For evaluation of evaporation in the two processes we used only acidified urine. The results showed that the volume can be reduced using both techniques. When related the rates of evaporation and energy efficiency, solar parabolic concentrator performed best over the evaporator tray, showing a shorter residence time and higher rates of degradation of FQs

Keywords: Urine; Nutrients; Antibiotics; Evaporation; High-performance Liquid Chromatography.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A coleta, o armazenamento, e o tratamento de urina humana foram abordados por diversos estudos realizados desde meados da década 1990, com particular interesse na reciclagem de nutrientes para a agricultura e o desenvolvimento de tecnologias de recuperação (LARSEN E GUJER, 1996; JOHANSSON, 2001; JONSSON *et al.*, 2002; VINNERAS, 2002; UDERT *et al.*, 2003; MANILA *et al.*, 2003; GANROT, 2005; HEINONEN-TANSKI *et al.*, 2007, ZANCHETA, 2007; ANTONINI *et al.*, 2012). Esse interesse tem origem nos picos extremos dos preços dos fertilizantes contendo N, P, K ocorridos em meados de 2009, que causaram temores ao redor do mundo (FIXEN, 2009). A crescente demanda por alimentos e a tendência de escassez, sobretudo de nutrientes fosfatados, intensificam a busca de modelos sanitários e ambientalmente seguros para a utilização da urina humana como fertilizante agrícola (ANTONINI, *et al.*, 2012).

A recuperação e reciclagem de nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio contidos na urina têm como vantagens a diminuição de impactos ambientais como a eutrofização de corpos receptores, a redução na carga de nutrientes em estações de tratamento de esgoto, além de destinar os nutrientes para áreas agrícolas cultiváveis. Nesse sentido, as tecnologias mais utilizadas atualmente compreendem a estocagem e as técnicas de redução de volume (MAURER *et al.*, 2006).

A estocagem é a prática mais comum de tratamento da urina humana e pode ser realizada em reservatórios fechados por períodos pré-determinados. Seu objetivo principal é a inativação de patógenos eventualmente presentes na urina, o que ocorre devido ao incremento natural do pH da mesma ao longo do período de estocagem (HOGLUND *et al.*, 1998, 2000, 2002, JOHANSSON, 2001; MANILA *et al.*, 2003; GAJUREL *et al.*, 2007; HEINONEN-TANSKI *et al.*, 2007; ZANCHETA, 2007).

As principais técnicas de redução de volume da urina utilizadas hoje em dia são evaporação, congelamento (*freezing*) e precipitação de estruvita, tendo como objetivo principal a remoção da água e o aumento das concentrações dos nutrientes de interesse. A remoção de água e a concentração dos nutrientes facilita o manuseio e aumenta a viabilidade econômica da reciclagem agrícola em áreas distantes das regiões produtoras da urina. Dentre as tecnologias disponíveis, a evaporação é indiscutivelmente a mais simples de ser praticada, embora não consiga eliminar as grandes quantidades de cloreto

presentes na urina (MAURER *et al.*, 2006; ZANCHETA, 2007; TETTENBORN *et al.*, 2007; ANTONINI *et al.*, 2012).

Em que pesem as vantagens acima descritas, uma questão controversa subsiste no que tange os riscos relacionados aos microcontaminantes presentes na urina, tais como resíduos farmacêuticos e hormônios, quando da sua reciclagem agrícola. Os efeitos n°Civos destes microcontaminantes sobre a saúde humana e sobre o meio ambiente vem sendo objeto de estudos em vários países nos últimos anos (HALLING-SORENSEN *et al.*, 1998; DORNE *et al.*, 2007; SEIFRTOVÁ *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2010).

HALLING-SORENSEN *et al.*, (1998) ao testar o efeito da ciprofloxacina no ambiente aquático verificaram diferenças significativas no rendimento final da biomassa de algas, em suas estruturas e na capacidade de processamento de nutrientes e na cadeia alimentar.

Segundo estudos realizados por Dorne *et al.*, (2007) sobre a exposição a produtos farmacêuticos humanos concluiu que algumas substâncias como ibuprofeno, fluoxetina, diclofenaco, propranolol e metoprolol causam elevada toxicidade aguda para espécies aquáticas, sendo a fluoxetina a substância que possui a taxa mais elevada de toxicidade. Santos *et al.*, (2010) relataram que os antibióticos presentes no ambiente podem causar resistência nas colônias microbianas que podem ter efeitos potencialmente drásticos sobre a saúde humana. E ainda, Matscheko *et al.*, (2002); Kreuzig *et al.*, (2003); Difrancesco *et al.*, (2004) sugerem que a aplicação no solo pode ser a maior rota de entrada para essas substâncias no meio ambiente.

Dentre os fármacos com maior potencial de impacto como microcontaminante ambiental destacam-se os antibióticos da classe das FQs. A introdução das FQs e a exposição a concentrações crescentes desses antibióticos levaram ao aparecimento de cepas de bactérias resistentes de muitas espécies, principalmente de *Pseudomonas* e estafilococos (SILVA, 2010). Em virtude de achados recentes sobre o aumento da incidência de desenvolvimento de resistência bacteriana às quinolonas, sua ocorrência no ambiente deve ser monitorada. Em relação ao uso e descarga no ambiente, apesar da grande utilização, dados publicados sobre valores e padrões sobre o uso de antibióticos são escassos. Geralmente, as FQs são prescritas em humanos entre 300-600mg por dia para fins terapêuticos e são quase que totalmente eliminados na forma de compostos inalterados e conseqüentemente são lançadas no ambiente, no esgoto hospitalar ou municipal (SEIFRTOVÁ *et al.*, 2008).

Poucos estudos foram publicados até hoje sobre a presença de FQs na urina humana e, quando da realização desta pesquisa, não foram encontrados registros de estudos abordando a eficiência dos principais processos de tratamento da urina humana sobre estes compostos.

Dentro deste contexto, esta pesquisa teve como objetivo estudar o comportamento da classe das fluoroquinolonas na urina humana durante o tratamento para reciclagem de nutrientes via estocagem e evaporação.

1.1 ESTRUTURA DA TESE

Essa tese está estruturada em 9 capítulos, sendo a introdução e os objetivos apresentados nos **capítulos 1 e 2** respectivamente. O **capítulo 3** apresenta uma revisão bibliográfica envolvendo saneamento ecológico, características da urina humana, técnicas de detecção e quantificação de fármacos e hormônios, tecnologias para tratamento e uso da urina como fertilizante.

O capítulo 4 engloba os seguintes artigos técnicos:

Artigo 1 - Desenvolvimento e validação de método para quantificação simultânea de ofloxacina, norfloxacina e ciprofloxacina em urina humana.

Artigo 2 - Comportamento de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana durante tratamento para reciclagem de nutrientes via estocagem ácida.

Artigo 3 - Comportamento do nitrogênio e de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana submetida à evaporação para redução de volume.

Artigo 4 - Análise comparativa de desempenho de evaporadores solares para redução de volume da urina humana.

O **capítulo 5** apresenta uma discussão geral sobre os resultados obtidos em toda a pesquisa e **capítulo 6** as conclusões e as recomendações para futuras pesquisas. Completam o documento **capítulo 7** com as referências bibliográficas, o **capítulo 8** com os apêndices e o **capítulo 9** com os anexos.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o comportamento de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana durante o tratamento para reciclagem de nutrientes via estocagem e evaporação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver e validar um método para quantificação simultânea de ofloxacina, norfloxacina e ciprofloxacina em urina humana;
- Avaliar o comportamento de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana durante tratamento para reciclagem de nutrientes via estocagem ácida;
- Avaliar o comportamento do nitrogênio e de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana submetida à evaporação para redução de volume;
- Analisar o desempenho de evaporadores solares para redução de volume da urina humana.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 SANEAMENTO CONVENCIONAL

O serviços de saneamento básico tem como foco principal o atendimento das necessidades humanas, ignorando que o ciclo urbano da água é apenas um sub-ciclo do ciclo da água na natureza (COOMBES E KUCZERA, 2000). O ciclo de abastecimento público de água, o de esgotamento sanitário e o de manejo das águas pluviais compõem os sistemas de saneamento que possuem como funções fundamentais a manutenção e a melhoria da saúde pública, o conforto, a economicidade e a provisão de bases para o desenvolvimento econômico.

Sistemas convencionais de esgotamento sanitário mostraram-se eficientes ao longo do século XX como uma solução relativamente eficiente resolver problemas agudos de poluição. (OTTERPOHL *et al.*, 1997). Entretanto, não é exagero considerá-lo como o principal responsável pelo desperdício do recurso hídrico nas regiões urbanas, tendo em vista que o esgoto é constituído quase que em sua totalidade por água (99,9 %) e apenas por 0,1% de material sólido (ANA, 2009).

Esses sistemas podem se tornar um obstáculo ao desenvolvimento regional, visto as dificuldades enfrentadas de forma generalizada com a oferta e a demanda de água na região do semiárido brasileiro. Isto é uma consequência da frágil estrutura do ciclo urbano da água atual, que, pela sua inadequação, se apresenta como obstáculo ao próprio desenvolvimento regional.

No que tange o sistema de esgotamento sanitário, o tratamento convencional é insuficiente para a remoção dos nutrientes presentes no esgoto, podendo levar à eutrofização do corpo receptor.

Existem pelo menos duas boas razões para segregar efluentes com elevadas concentrações de nitrogênio e fósforo do afluentes aos sistemas de esgotamento sanitário:

1. A diminuição da carga de nutrientes nos sistemas de coleta e transporte tem um efeito direto sobre o tratamento do esgoto, tornando o custo do tratamento significativamente mais baixo (MAURER *et al.*, 2003).

2. Tal prática possibilita recuperar nutrientes para reciclá-los no cultivo em terras agrícolas (EK *et al.*, 2006).

Grande parte dos poluentes presentes no esgoto tem como fontes principais a urina e as fezes, ricas em matéria orgânica e nutrientes nitrogênio, fósforo e potássio (LARSEN e GUJER, 1996; JOHANSSON, 2001; HEINONEN-TANSKI, 2007). Os sistemas de esgoto que contêm a separação da urina na fonte foram comparados aos sistemas de esgoto convencionais em diversas análises de sistemas ambientais, e todos os estudos concluíram que a solução que separa a urina na fonte é ambientalmente preferível (JÖNSSON, 2002).

Diversos estudos comprovam que, apesar da urina humana representar apenas 1% do volume total do esgoto sanitário (BERNDTSSON, 2006), ela é responsável por cerca de 80% da concentração de nitrogênio total, 70% do potássio e 50% do fósforo em esgotos sanitários gerados em áreas urbanas, predominantemente residenciais, (LARSEN E GUJER, 1996; HANÆUS *et al.*, 1997 e LARSEN E GUJER., 2001). Entretanto, experiências em vilas ecológicas na Suécia mostraram que sistemas de separação da urina humana na fonte (residências) são eficientes na redução de nutrientes do esgoto sanitário (WILSENACH e LOOSDRECHT, 2003). Neste sentido, a separação da urina do esgoto altera a relação carbono / nitrogênio, permitindo que as bactérias que degradam a matéria orgânica assimilem, via anabolismo, o conteúdo de nitrogênio e de fósforo (UDERT *et al.*, 2003).

Em função da ineficiência no controle da poluição dos corpos hídricos e do desperdício de água, OTTERPOHL *et al.*, (1997) afirmam que os sistemas convencionais de esgotos não devem ser considerados como única solução tecnológica sustentável para o saneamento das cidades. Sistemas que possuam controle na fonte podem reduzir os problemas da tecnologia “fim de tubo”, através da avaliação das diferentes qualidades do efluente nas fontes e aplicando o tratamento apropriado com vistas ao reúso.

3.2 SANEAMENTO ECOLÓGICO

Diante da constatação da insustentabilidade dos sistemas convencionais de saneamento, consideráveis esforços têm sido empreendidos em vários países na busca de novas tecnologias de saneamento (JOHANSSON, 2001, MANILA, 2003; WERNER *et al.*, 2003). Nesse sentido, destaca-se o desenvolvimento a partir da década de 1980 do

conceito inicialmente intitulado com saneamento ecológico (ECOSAN), proveniente dos países nórdicos, principalmente da Suécia (ESREY, 1998).

A ideia central do saneamento ecológico é minimizar a necessidade de recursos externos e reduzir a liberação de resíduos para o meio ambiente nas áreas urbanas, contribuindo para a segurança alimentar, reduzindo a poluição e melhorando o gerenciamento das águas, dos solos e dos nutrientes (ESREY, 1998, MANILA, 2003).

Trata-se de uma alternativa tecnológica que prevê a ciclagem de produtos oriundos do metabolismo urbano, objetivando economizar água; prevenir a contaminação das águas superficiais e subterrâneas; converter as excretas humanas em material sanitário e ambientalmente seguros e reciclar os nutrientes destas excretas na agricultura (WERNER *et al.*, 2003).

Do ponto de vista prático, para a implementação do saneamento ecológico Otterpohl (2001) sugere a segregação das águas residuárias na escala das edificações, classificando-as como se segue:

- **Água negra** - efluente proveniente das bacias sanitárias, incluindo fezes, urina e papel higiênico, principalmente;
- **Água cinza** - águas servidas, excluindo o efluente das bacias sanitárias. Alguns autores classificam as águas cinza em:
 - **Águas cinza claras** – geradas em chuveiros, lavatórios, tanques e máquinas de lavar.
 - **Águas cinza escuras** – provenientes da pia de cozinha.
- **Água amarela** - correntes líquidas compostas por urina, eventualmente com pequenas quantidades de água.
- **Água marrom** - geradas em bacias segregadoras com descarga hídrica das fezes.

A caracterização destes diferentes tipos de águas residuárias é de fundamental importância para o sucesso dos sistemas de saneamento ecológico e, em especial, de sistemas de reuso predial de águas cinza (BAZZARELLA, 2005).

3.3 URINA HUMANA

3.3.1 Segregação da Urina na Fonte

Conforme citado anteriormente, a maior parte dos nutrientes contidos nos excretas humanos encontra-se na urina, com quantidades de N, P e K bastante apropriadas para o uso na agricultura e, na maioria dos casos, até melhores do que as encontradas nos fertilizantes artificiais (ESREY, 1998).

A produção de urina humana por um adulto é cerca de 500 ℓ de urina por ano, que por sua vez contém 4,0 kg de nitrogênio, 400 g de fósforo e 900 g de potássio (JÖNSSON, 1997). Esses macronutrientes se encontram na forma ideal para serem aproveitados pelas plantas: o nitrogênio na forma de ureia, o fósforo como ortofosfato e o potássio como íon livre (LIND *et al.*, 2001). A utilização da urina na agricultura pode ser feita tanto na forma líquida quanto na forma sólida, através da precipitação de estruvita $[MgNH_4PO_4]$ e hidroxiapatita $[Ca_5(PO_4)_3OH]$, podendo reduzir o volume utilizado de fertilizantes artificiais (LIND *et al.*, 2001).

Para que a urina seja coletada separadamente das demais águas residuárias nas edificações, é necessária a implantação de sistemas hidrossanitários prediais e equipamentos específicos para esta finalidade. A partir de uma bacia sanitária segregadora de fezes e urina, esta última é conduzida separadamente para um tanque coletor, seguindo depois para um tanque de armazenamento, onde a urina é higienizada por armazenagem previamente ao uso como fertilizante agrícola (JONSSON *et al.*, 2000; HOGLUND, 2002; JONSSON, 2002),.

A quantidade de água economizada nas edificações com a separação da urina na fonte varia de 5 a 40 litros por pessoa por dia, dependendo dos hábitos e cultura individuais e do sistema hidrossanitário da edificação (JOHANSSON, 2001).

Para Johansson (2001) não há novidade na coleta segregada de urina, pois sua prática remonta a milhares de anos em diferentes partes do mundo. Em algumas regiões da China, por exemplo, a urina e as fezes são coletadas separadamente através do uso de bacias sanitárias para uso como fertilizante na própria propriedade. No Iêmen, a urina é separada em sanitários rústicos e transportada para a parte externa dos sanitários, onde rapidamente se evapora em altas temperaturas (JOHANSSON, 2001).

A Suécia é um dos pioneiros na utilização de sistemas separadores de urina, cujo primeiro sistema separador de urina foi construído há mais de 30 anos (Figura 1). No mesmo país em 1995 foram construídas as eco-vilas, onde todas as casas possuem sistemas hidrossanitário separador de fezes e urina (JOHANSSON, 2001) (Figura 2).



Figura 1: Bacia sanitária segregadora
Fonte: JOHANSSON, 2001.



Figura 2: Eco-vilas.
Fonte: JOHANSSON, 2001.

3.3.2 Aspectos Quantitativos da Urina

O volume de urina que é excretado pelo corpo humano varia tanto de pessoa para pessoa quanto de um dia para o outro. As razões principais dessa variação são relacionadas às quantidades de líquido ingerido e as perdas de água por transpiração. De acordo com estudos feitos por Rauch *et al.*, (2003), o volume médio de urina excretado diariamente por pessoa adulta é de aproximadamente 1,5 ℓ . Valores muito próximos também foram obtidos por Bazzarella *et al.*, (2005) e Fittschen e Hahn (1998), encontrando como volume médio 1,25 ℓ e 1,57 ℓ respectivamente.

3.3.3 Aspectos Qualitativos da Urina

A urina humana é uma solução complexa de água contendo concentrações de sais e nutrientes. O cloreto de sódio (NaCl) e a ureia [CO(NH₂)₂] são os principais deles, mas também estão presentes o potássio (K), o cálcio (Ca), os sulfatos (SO₄), e o fósforo (P).

O fósforo encontra-se disponível como superfosfatos (H_2PO_4^- ou HPO_4^{2-}) e o potássio como um componente iônico (K^+) (LIND *et al.*, 2001). Em torno de 80% do nitrogênio total da urina está na forma de ureia [$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$] e o restante está em forma de nitrogênio inorgânico, orgânico e amônia.

A excreção diária de ureia em adultos varia entre 11,8 e 23,8 g e a relação entre nitrogênio total e ureia é de aproximadamente 0,8 (FITTSCHEN & HAHN, 1998). Além disso, em um indivíduo saudável a urina é estéril na bexiga, podendo ocorrer sua contaminação biológica na saída da uretra. A urina recentemente excretada contém normalmente <10000 bactérias / ml (SCHÖNNING, 2004). Por conseguinte, para HOGLUND (2002) os patógenos potencialmente transmissíveis pela urina são pouco comuns e não se constituem em um importante problema de saúde pública em casos de uso da mesma na agricultura. Uma exceção em áreas tropicais é o *Schistosoma haematobium*, que excretam os ovos na urina, durante toda a vida do hospedeiro. Os ovos eclodem no meio aquático se transformando em larvas que infectam certas espécies de caramujos aquáticos de água doce. Se os ovos não atingem o corpo do caramujo em alguns dias, o ciclo de infecção é quebrado. Depois de uma série de etapas de desenvolvimento, as larvas emergem do caramujo, prontos para infectar os seres humanos penetrando sua pele, porém se a urina é armazenada durante vários dias e é utilizada em terras aráveis, a estocagem reduz o risco de transmissão da esquistossomose, implicando em um baixo risco devido ao seu ciclo de vida e pelas melhorias do saneamento básico nos países em desenvolvimento (SCHÖNNING, 2004).

A despeito do baixo risco biológico acima descrito, a segurança da reciclagem agrícola pode ser substancialmente aumentada pela aplicação de técnicas simples de tratamento. Os fatores que afetam a persistência de microorganismos na urina estocada incluem: temperatura, pH, diluição e presença de amônia. Em relação ao pH a urina tem uma ampla faixa (4,0 a 8,0), dependendo da dieta, do uso de medicamentos, e estado de saúde das pessoas (FURA *et al.*, 2002).

Bactérias gram-negativas (por exemplo, *Salmonella* e *E. coli*) foram rapidamente inativadas (tempo de redução de 90% (T90) <5 dias) através da estocagem da urina em reservatórios fechados, o que resultou em valores de pH da ordem de 9,0 em alguns dias (SCHÖNNING, 2004). Não obstante, esta autora observou que *Streptococcus* fecais Gram-positivos foram persistentes com um T90 em torno de 30 dias a 4 °C, assim como

os Rhesus rotavírus. A 20 °C, o T90 relativo a estes últimos organismos atingiu 71 dias, indicando sua resistência à inativação.

Em geral, os trabalhos relacionados à análise da composição química da urina fresca trazem resultados semelhantes para as concentrações dos macronutrientes (Tabela 1). A condutividade elétrica em média na urina é de 25 mS cm⁻¹ segundo Bergstrom *et al.*, (2006), e de 37,9 mScm⁻¹ de acordo com Samwel *et al.*, (2007).

Tabela 1: Concentração de macronutrientes na urina humana fresca.

Nutrientes	Jönsson, <i>et al.</i> , (1997)	Udert <i>et al.</i> , (2006)	Tettenborn <i>et al.</i> , (2007)	CIBA* Geigy (1977)	Herausg -egeben (1997)	Von Wolffersdorff <i>et al.</i> , (2004)	Kirchmann, H. and Pettersson, S. (1995)	
	(mg l ⁻¹)							
N-total	3631	9200	4300	9200	-	9150	1795	2610
NH ₃ /NH ₄ ⁺ -N	3576	480	-	-	-	-	1117	1726
Ureia	67	7700	-	7700	6200	7700	-	-
NO ₂ +NO ₃ -N	≤ 0,1	-	≤ 0,1	-	-	-	0,055	0,065
P-total	313	740	408	1000	-	730-3650	210	200
K	1000	2200	1360	1800	1800	1833-6600	875	1150
S	338	1500	2490	1000	1600	1170-2640	225	175
Ca	18	190	5,7-8,6	170	330	7,35-220	15,75	13,34
Mg	11,1	100	0,1-0,3	100	270	126-209	1630	1500

* CIBA Geigy apud Tettenborn *et al.*, (2007).

As concentrações de nitrogênio total se situam entre 1795 e 9150 mg ℓ⁻¹, as de fósforo entre 200 e 3650 mg ℓ⁻¹ e as de potássio entre 875 e 6600 mg ℓ⁻¹. Considerando o uso agrícola como fertilizantes, a urina possui ainda outra vantagem que é a baixa concentração de metais (Tabela 2). As concentrações de mercúrio e cádmio, segundo Jönsson *et al.*, (1997) e Kirchmann e Petterson (1995), variam de 0,33 a 0,55 µg ℓ⁻¹ e de 0,0002 a 0,0010 mg ℓ⁻¹, respectivamente.

Tabela 2: Concentração de metais presentes na urina humana.

Metais		Jönsson, <i>et al.</i> , 1997	Tettenborn, <i>et al.</i> , 2007	Kirchmann, H. and Pettersson, S. 1995	
Hg	$\mu\text{g } \ell^{-1}$	0,33	-	0,55	0,44
Cd	$\text{mg } \ell^{-1}$	$\leq 0,001$	$\leq 0,001$	0,0002	0,0002
Pb	$\text{mg } \ell^{-1}$	$< 0,01$	0,131	0,002	0,002
Cr	$\text{mg } \ell^{-1}$	0,015	0,039	0,002	0,004
Co	$\text{mg } \ell^{-1}$	$< 0,003$	-	0,001	0,013
Ni	$\text{mg } \ell^{-1}$	0,055	0,166	0,015	0,227
Mn	$\text{mg } \ell^{-1}$	0,005	-	0	0
Cu	$\text{mg } \ell^{-1}$	1,9	25,4	0,155	0,155
Zn	$\text{mg } \ell^{-1}$	0,16	3,9	0,11	0,07
Fe	$\text{mg } \ell^{-1}$	-	1,2-2,3	205	165

Outro aspecto relevante é a excreção de hormônios e fármacos pela via urinária, devido à urina ser um dos meios de transporte mais eficientes de substâncias para o ecossistema aquático. Como exemplo da magnitude do problema pode ser citado o trabalho realizado por MAURER *et al.*, (2006), dando conta que 80% dos estrogênios naturais e 67% do hormônio artificial 17 α -etinilestradiol são excretados na urina humana. Evidentemente, a mitigação dos riscos químicos relacionados à prática da reciclagem agrícola da urina pressupõe a intensificação de estudos específicos sobre os disruptores endócrinos nela presentes e suas formas de tratamento.

3.3.4 Disruptores Endócrinos

Disruptores endócrinos remontam a principal característica desse grupo que é a não necessidade de persistir no meio ambiente para causar efeitos negativos, visto que suas altas taxas de transformação e remoção são compensadas pelas suas contínuas introduções no meio ambiente (PEDROSO, 2007). Muitas destas substâncias que tiveram seu uso banido em muitos países permanecem e permanecerão por muito tempo na natureza devido a sua alta estabilidade e, mesmo em pequenas quantidades, seu efeito poderá ser biomagnificado através da ascensão na cadeia alimentar. Dentre essas

substâncias tem-se as bifenilas, que foram banidas no Brasil em 1980 e Pentaclorofenol - PCP - preservativo de madeira e produtos têxteis. Não existe um único mecanismo que explique a ação dos disruptores endócrinos no corpo humano, uma vez que eles pertencem a diferentes classes (LANDRIGAN *et al.*, 2003; GHISELLI e JARDIM, 2007).

De acordo com GHISELLI e JARDIM (2007), os disruptores endócrinos podem interferir no funcionamento do sistema endócrino pelo menos de três formas possíveis: imitando a ação de um hormônio produzido naturalmente pelo organismo, como o estrogênio ou a testosterona, desencadeando deste modo reações químicas semelhantes no corpo, bloqueando os receptores nas células que recebem os hormônios, impedindo assim a ação dos hormônios naturais; ou afetando a síntese, o transporte, o metabolismo e a excreção dos hormônios, alterando as concentrações dos hormônios naturais.

Conforme discutido anteriormente, é grande a quantidade de resíduos farmacêuticos e hormônios excretados por humanos através da urina. Por isso, alguns hospitais noruegueses implementaram sistemas de coleta para separação de urina para eliminar separadamente os produtos radiológicos e quimioterápicos. Os tratamentos convencionais de esgoto e de água para potabilização diminuem apenas uma certa porcentagem de resíduos farmacêuticos, o que resulta, entre o lançamento de esgoto tratado e a distribuição de água potável a partir do mesmo corpo hídrico, na reciclagem de importantes cargas destes poluentes para as populações (HAMMER *et al.*, 2001).

O interesse no estudo dessas substâncias é relativamente recente e foi motivado a partir de observações sobre ocorrência de anormalidades no sistema endócrino de organismos submetidos à exposição a alguns compostos orgânicos. Alterações crônicas no desenvolvimento e na reprodução de várias espécies presentes em diferentes compartimentos ambientais têm sido atribuídas à ocorrência de uma grande variedade de substâncias químicas, principalmente em sistemas aquáticos naturais. Mesmo em concentrações-traço, alguns compostos exógenos, sintéticos ou naturais, têm sido detectados em amostras de águas superficiais em todos os continentes do planeta, principalmente em função da atividade antrópica (RAIMUNDO, 2007). Um estudo feito na Unicamp sobre a qualidade da água para consumo e de rios da região metropolitana de Campinas revela a presença de hormônios sexuais (progesterona, estradiol e etinilestradiol), de compostos derivados de produtos farmacêuticos, além de compostos usados em remédios e na indústria (GHISELLI e JARDIM, 2007).

A importância dos estrogênios reside no seu potencial de afetar adversamente o sistema reprodutivo de organismos aquáticos como, a feminização de peixes machos presentes em rios contaminados com descarte de efluentes de ETEs (LEGLER *et al.*, 2002). Os efeitos causados no sistema reprodutivo de organismos aquáticos foram demonstrados em alguns estudos (GIMENO *et al.*, 1998; KANG *et al.*, 2002) e examinaram o efeito do estrogênio natural 17 β -estradiol no sistema reprodutor dos peixes. Em Campinas a média de hormônios femininos encontrados na água potável é de um micrograma por litro. Portanto, ao beber dois litros de água por dia, uma pessoa pode ingerir 60 microgramas dessas substâncias por mês e não há dados conclusivos sobre quais danos ao homem são causados por exposição crônica a esses compostos. Mas eles não deveriam estar presentes na água potável. (GHISELLI e JARDIM, 2007).

Em mulheres, a exposição a estrógenos é o principal fator de risco para o desenvolvimento de endometriose, câncer de mama e útero. Enquanto que a exposição de homens adultos a substâncias estrogênicas resulta em ginecomastia e interferência no funcionamento do sistema glandular associado ao hipotálamo, hipófise e gônadas, resultando em diminuição da libido, impotência, diminuição dos níveis de andrógenos no sangue e diminuição na contagem de espermatozoides (SONNENSCHNEIN e SOTO, 1998).

3.3.5 Sistema Endócrino

O sistema endócrino é constituído por um conjunto de glândulas localizadas em diferentes áreas do corpo, e com funções variadas (BIRKETT e LESTER, 2003). Essas são responsáveis pela produção dos hormônios presentes nos organismos e suas funções (Figura 3).

O mecanismo de ação do sistema endócrino se inicia nas reações das células nervosas a determinado estímulo (ex. sede, medo, fome, etc.), enviando posteriormente um sinal às células endócrinas (NOGUEIRA, 2005).

Tanto o sistema hormonal feminino, quanto o masculino, é formado por três níveis distintos de hormônios segundo GUYTON, (2008):

- hormônio liberador hipotalâmico: o hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH).

-os hormônios da hipófise anterior: hormônio folículo-estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), que são secretados em resposta ao hormônio liberador GnRH produzido pelo hipotálamo.

- os hormônios ovarianos: estrogênio e progesterona, secretados pelos ovários em resposta aos dois hormônios liberados pela hipófise anterior.

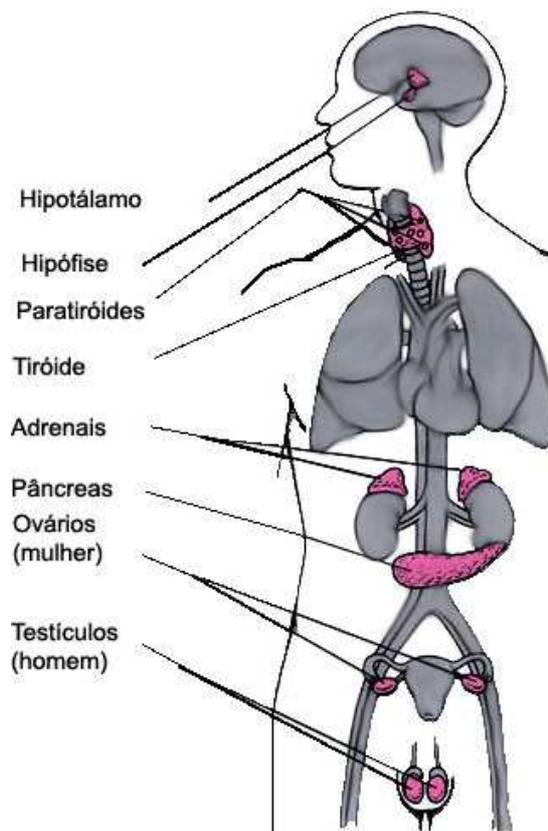


Figura 3: Sistema Endócrino.
Fonte: Brasil Escola, 2011.

É notório que o sistema endócrino mantém estreita relação com outros órgãos, o fígado é um exemplo claro, ele faz parte do sistema digestivo, mas atua em conjunto, na medida em que mantém o equilíbrio hormonal por meio da decomposição do estrógeno e de outros hormônios esteroides, a fim de permitir sua excreção (COLBORN *et al.*, 2002).

3.3.5.1 Hormônios

Hormônios são substâncias químicas secretadas nos líquidos internos do corpo por uma célula ou por um grupo de células e que exercem efeito fisiológico de controle sobre outras células do corpo (GUYTON, 2008).

Embora os hormônios entrem em contato com todos os tecidos do corpo, apenas células que contenham receptores específicos são afetadas por eles. A ligação de uma molécula de hormônio ao seu receptor resulta em uma cascata de etapas enzimáticas que amplificam seus efeitos no organismo. Isso faz com que não sejam necessárias grandes quantidades desses para um efeito amplificado (INSTITUTO DE BIOLOGIA DE PELOTAS, 2005).

Os ovários são responsáveis por produzir e expelir o óvulo, após o seu amadurecimento. Também produzem os hormônios sexuais, regulam a ovulação e a menstruação, garantem a manutenção da gravidez e são os responsáveis pelo desenvolvimento dos caracteres femininos, influenciando no crescimento dos órgãos reprodutivos. O ciclo menstrual é controlado por quatro hormônios: o hormônio estimulador do folículo (FSH), o hormônio luteizante (LH), os estrogênios (como o estradiol, que estimula o desenvolvimento do endométrio e influencia a libido) e a progesterona, essencial para o desenvolvimento do embrião (placenta e glândulas mamárias) (GHISELLI e JARDIM, 2007).

Os estrogênios e as progestinas constituem os dois tipos de hormônios sexuais ovarianos. Sem dúvida, o mais importante dos estrógenos é o estradiol, e a progestina mais importante é a progesterona. Os estrógenos promovem principalmente a proliferação e o crescimento de células corporais especificamente ligadas ao sexo, sendo responsáveis pelo desenvolvimento da maioria das características sexuais secundárias femininas. Por outro lado, as progestinas destinam-se quase totalmente à preparação final do útero para gravidez e das mamas para a amamentação (GUYTON, 2008).

Os hormônios são proteínas derivadas de aminoácidos ou esteroides. De acordo com a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), os esteroides compreendem uma classe de hormônios cuja estrutura básica é formada pelo ciclo[a]fenantreno (Figura 4). Nessa estrutura podem existir ligações duplas, metilas, carbonilas e hidroxilas, dando origem a uma série de hormônios esteroidais (RAIMUNDO, 2007).

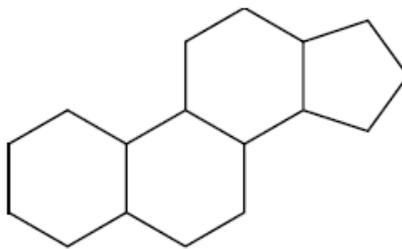


Figura 4: Estrutura Básica dos esteroides.
Fonte: Raimundo, 2007.

Os hormônios esteroides, também designados por esteroides sexuais, regulam fundamentalmente a diferenciação sexual e são de extrema importância para o desenvolvimento embrionário dos animais. É exatamente pela enorme importância biológica destes esteroides que muitos dos químicos sintetizados pelo homem podem ser nocivos. Imitando ou mesmo bloqueando a ação dos hormônios naturais uma vez que apresentam estruturas e funcionalidades muito semelhantes. (NOGUEIRA, 2005).

O 17α -etinilestradiol é o principal estrogênio sintético, sendo encontrado nas pílulas anticoncepcionais e aplicado nas terapias de reposição hormonal. Esse estrogênio é um dos desreguladores endócrinos mais importantes encontrado no ambiente aquático, devido ao fato de ser altamente estrogênico e resistente à biodegradação. (FERREIRA, 2008).

3.3.5.2 Metais Pesados

Os metais pesados podem entrar no corpo humano através da alimentação, embora possa também ocorrer captação através da pele e pulmões. Esses metais podem ser adsorvidos e acumulados ou mesmo bloqueados pelo trato intestinal e excretados, causando níveis elevados de metais pesados na urina coletada. A corrosão no material da tubulação, por exemplo, chumbo (Pb) ou cobre (Cu) utilizados por muito tempo para o transporte de água potável e para coletar a urina constituía-se uma importante fonte de contaminação (RONTELTAP *et al.*, 2007).

Segundo Borba *et al.*, (2006), uma concentração de níquel superior a seu nível crítico pode trazer sérios problemas pulmonares e renais além de alterações gastrointestinais, fibrose e dermatite, além de ser cancerígeno. O mercúrio pode causar danos ao sistema nervoso central. Altas concentrações de mercúrio causa comprometimento pulmonar e

da função renal, dor torácica e dispneia. O cádmio expõe a riscos graves a saúde humana e causa disfunção renal e ainda níveis elevados de exposição pode resultar em morte (FU e WANG, 2011).

Ronteltap *et al.*, (2007) identificou Cd, Cu e Pb na urina armazenada com uma reação de meia-vida de aproximadamente 7 dias e concluíram que as concentrações mais elevadas de As, Cd, Cr, Co, Cu, Ni, Pb, Zn, Al and Fe por grama de N e P na urina são menores do que os encontrados em fertilizantes artificiais e estrume.

3.3.6 Fármacos

A palavra fármaco tem sido utilizada tanto para sinônimo de droga quanto de medicamento. O consumo de medicamentos atinge níveis elevados tanto nos países desenvolvidos quanto naqueles em desenvolvimento (SIMÕES E FARACHE FILHO, 1988; SOUSA E SANTANA, 2000).

O desenvolvimento da indústria farmacêutica disponibiliza para o mercado milhões de substâncias com propósito terapêutico, o que acarreta em um grave problema ambiental (FERRARI *et al.*, 2003). Segundo a IMS HEALTH (2010), o mercado global farmacêutico movimentou em 2010 entre US\$ 820 bilhões e US\$ 830 bilhões, com um crescimento de 4% a 6% em relação ao ano anterior. Nos últimos cinco anos, as vendas globais das indústrias cresceram cerca de 40%, sendo que o bloco econômico conhecido como Bric (Brasil, Rússia, Índia e China) deverá ser o motor de expansão nos próximos anos.

De acordo com a Abifarma (2010), em 2001, o mercado brasileiro movimentou US\$5,7 bilhões, colocando o Brasil entre os 10 países de maior faturamento no varejo de medicamentos. A expectativa de FENAFAR (2010) é que, até 2013, o mercado brasileiro cresça entre 8% e 11% e o chinês, entre 23% e 26%. As taxas são altas, se comparadas com as previsões de expansão global do setor, estimada entre 4% e 7%, no período de 2008 a 2013. Já nos chamados mercados maduros, que incluem os EUA, Japão, França, Alemanha, entre outros, o índice de expansão deverá ficar entre 2% e 5%. O Brasil deverá ficar em oitavo nos próximos três anos, avançando uma posição no ranking comparado a 2003. A economia estável, o maior acesso a medicamentos e as políticas do governo na área de saúde, também colocam o país na rota de potencial investimento de grandes grupos (FENAFAR, 2010).

Após a administração de medicamentos, uma parte significativa dos fármacos, de 20 a 100% (percentual que varia de fármaco para fármaco de acordo com suas propriedades) pode ser liberada intacta ou na forma de metabólitos, sendo excretada por humanos através da urina e das fezes. Estudos demonstram a presença de várias dessas substâncias no esgoto sanitário, com frequência mostrando-se persistentes no meio ambiente e não são completamente removidas nas ETEs (NIEDERSTEHOLLENBERG, 2003; CALMANO *et al.*, 2001; BILA E DEZOTTI, 2003).

Alguns grupos de fármacos residuais merecem atenção especial, dentre eles estão os antibióticos e antidepressivos, devido ao potencial em desenvolver bactérias resistentes (GUARDABASSI *et al.*, 2002) e causar toxicidade. A presença desses fármacos residuais na água pode causar efeitos adversos na saúde, seja humana ou de outros organismos presentes nas águas, como os peixes.

Segundo estudos realizados por Dorne *et al.*, (2007) e Santos *et al.*, (2010) sobre a exposição a produtos farmacêuticos humanos concluiu que algumas substâncias como ibuprofeno, fluoxetina, diclofenaco, propranolol e metoprolol causam elevada toxicidade aguda para espécies aquáticas, sendo a fluoxetina a substância que possui a taxa mais elevada de toxicidade, sobre os antibióticos presentes no ambiente eles podem causar resistência nas colônias microbianas que podem ter efeitos potencialmente drásticos sobre a saúde humana.

Os antibióticos são liberados para o ambiente aquático por diferentes caminhos. Após a administração a seres humanos eles são excretados como metabólitos, mas também uma quantidade considerável é eliminada na forma inalterada através da urina e das fezes para o esgoto. Há um risco potencial para o ambiente aquático e para os organismos do solo o qual está associado com a presença de concentrações destes compostos bioativos (SEIFRTOVÁ *et al.*, 2009).

Num ensaio de rastreamento de 212 produtos farmacêuticos uma média de 64% de cada composto foi excretada pela via urinária (LARSEN *et al.*, 2006). Por meio de produtos fertilizantes à base de urina, estas substâncias podem difundir-se no meio aquático ou sofrer acúmulo no solo e ter um efeito adverso sobre a saúde humana e o ambiente (HALLING-SORENSEN *et al.*, 1998).

Alguns trabalhos publicados sobre a mobilidade e transporte de substâncias farmacêuticas em solos tratados por lodo proveniente de pré-tratamentos de esgoto

sugerem que a aplicação no solo pode ser a maior rota de entrada para essas substâncias no meio ambiente (MATSCHEKO *et al.*, 2002; KREUZIG *et al.*, 2003; DIFRANCESCO *et al.*, 2004).

De acordo com Winker *et al.*, (2008), a exposição de cultura de centeio à fármacos contidos na urina em níveis “naturais” (ou seja como consequência da medicação) não afetou a produção de matéria fresca e seca durante o período de crescimento de três meses, nem para produtos farmacêuticos isolados, nem para a combinação dos medicamentos estudados. Porém, alguns medicamentos são persistentes no solo, e quando presentes em altas concentrações podem ser transferidos para as plantas.

Um estudo teórico foi iniciado pela *Global Water Research Coalition* para identificar os compostos mais encontrados, a fim de avaliar os riscos desses produtos para o ciclo da água através da priorização e avaliação de critérios que fornecem um perfil representativo e qualitativo desses produtos farmacêuticos. Nessa pesquisa realizada por Voogt *et al.*, (2009), foram selecionados 44 fármacos, dentre os quais cinco antibióticos classificados como “alta prioridade”, três como “prioridade” e dois como “baixa prioridade” em relação a sua presença no ambiente aquático.

O efeito da ciprofloxacina sobre algas em um corpo receptor foi avaliado a jusante a montante da estação de tratamento de esgoto e foram observadas diferenças na estrutura das algas e na capacidade de processamento de nutrientes (HALLING-SORENSEN *et al.*, 1998; HIRSCH *et al.*, 1999). Um estudo semelhante demonstrou que a tetraciclina tem impacto negativo sobre a diversidade funcional de comunidades microbianas do solo (MARTINEZ, 2006).

Em que pesem os riscos decorrentes de micropoluentes na urina, a deficiência de macronutrientes nos solos agrícolas representa uma preocupação crescente, com tendência a se acentuar num futuro próximo. O cultivo em solos de baixa fertilidade, a caleagem e o aumento da produtividade, são fatores que têm favorecido o aumento das deficiências de macronutrientes (GONÇALVES Jr, 2000). Então, mesmo que o uso da urina inclua o risco de propagação de resíduos farmacêuticos para campos agrícolas (WINKER *et al.*, 2008), ela representa uma alternativa de fertilizante para a agricultura, porque contém altas concentrações de macronutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio (VINNERAS, 2002).

Os fertilizantes utilizados para suprir macronutrientes possuem em suas composições concentrações de metais pesados superiores aos usualmente encontrados na urina humana (GONÇALVES Jr, 2000). Da mesma forma, a carga de hormônios e antibióticos na urina humana é muito menor do que as encontradas em esterco animal, embora nem todas as substâncias comuns em humanos estejam presentes nesse resíduo.

As estações convencionais de tratamento de esgoto não foram projetadas para remover estes micropoluentes, o que resulta no lançamento de efluentes tratados com consideráveis concentrações nos corpos receptores. Conseqüentemente, fármacos e hormônios podem atingir o lençol freático, conforme comprovam as concentrações da ordem de 50 ng ℓ^{-1} de resíduos de fármacos nas águas subterrâneas em vários locais na Alemanha (RONTELTAP, 2011).

Para Von Münche Winker (2009), os resíduos farmacêuticos presentes nos excretas reciclados na agricultura de acordo com a lógica do saneamento sustentável plantas dificilmente se constituirão em um problema, onde houver desnutrição, águas superficiais e subterrâneas poluídas e irrigação com águas contaminadas.

3.3.6.1 Fluoroquinolonas (FQs)

A descoberta das quinolonas ocorreu de forma acidental, como produto secundário da síntese de um agente antimalárico, de atividade antibacteriana conhecida e comprovada, a cloroquina. A substância foi descoberta no ano de 1962 em uma destilação, durante a síntese de cloroquina. No entanto, este produto secundário revelou possuir também atividade antimicrobiana, surgindo assim a primeira quinolona: o ácido nalidíxico (ANDRIOLE, 2000; HIGGINS *et al.*, 2003).

Após o ácido nalidíxico foram desenvolvidas a flumequina e o ácido oxonílico, sendo então denominadas quinolonas de primeira geração. Este grupo tornou-se de escolha no combate às doenças urinárias de difícil tratamento, devido à eficiência contra a maioria das *Enterobacteriaceae*. Porém, nenhum destes compostos possuía qualquer atividade contra *Pseudomonas*, anaeróbios e bactérias Gram-positivas. Na década de 1980, após intensas pesquisas realizadas a partir destas primeiras quinolonas, foram desenvolvidas as quinolonas de segunda geração ou fluoroquinolonas (APPELBAUM E HUNTER, 2000). Estas últimas caracterizam-se pela presença de um átomo de flúor na posição 6 do núcleo das quinolonas (Figura 5), tendo aplicações clínicas que vão além das

infecções do trato geniturinário, incluindo infecções respiratórias, gastrointestinais, ginecológicas, doenças sexualmente transmissíveis e algumas infecções de pele (NEMUTLU *et al.*, 2007).

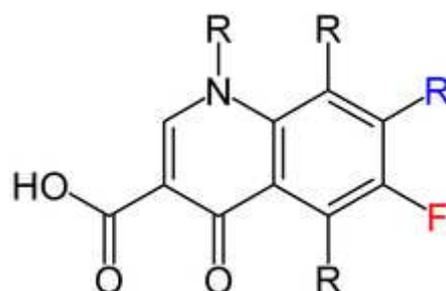


Figura 5: Estrutura Geral dos Antibióticos da classe das Fluoroquinolonas.

As fluoroquinolonas estão entre as classes de antibióticos mais importantes atualmente, sendo a norfloxacina (NOR) a primeira fluoroquinolona da nova geração, cujo uso ocorre tanto na medicina humana quanto na animal (CORRADO, 1987). Após, foram desenvolvidas outras fluoroquinolonas para uso humano, tais como a ofloxacina (OFLO), levofloxacina (LEVO) e ciprofloxacina (CIPRO), estando esta última entre os 343 medicamentos mais utilizados no Brasil.

A terceira geração de quinolonas, que inclui a levofloxacina e a moxifloxacina, tem cobertura para bactérias gram-negativas, mas tem melhor cobertura para gram-positivas. A quarta geração tem cobertura para gram-positivas e gram-negativas, tendo sua cobertura ampliada para microorganismos anaeróbicos (OLIPHANT E GREEN, 2002).

Dentre as várias FQs existentes hoje em dia, o presente estudo enfoca três FQs de segunda geração, conforme a descrição apresentada no Quadro 1.

Gerações de Quinolonas	Atividade Microbiológica	Administração e Características	Indicações
Norfloxacina (Classe I)	Enterobactérias	Administração oral; baixa concentração no soro e nos tecidos; melhor ação contra bactérias gram-negativas em comparação com as quinolonas de primeira geração; Ação limitada para bactérias gram-positivas .	Infecções sem complicações do trato urinário; Não utilizada para infecções sistêmicas;

<p>Ofloxacina Ciprofloxacina (2ª Geração) (Classe II)</p>	<p>Enterobactérias; Patógenos atípicos; pseudomonas aeruginosa (somente a ciprofloxacina)</p>	<p>Administração oral e intravenosa; elevadas concentrações no soro e nos tecidos; as concentrações intracelulares de drogas em são próximas aos agentes da classe I; Ação contra patógenos atípicos</p>	<p>Infecções com complicações do trato urinário; em infecções relacionadas com cateter; Gastroenterite relacionada com diarreia severa; prostatite; Infecções hospitalares; doenças sexualmente transmitidas; não utilizadas para o tratamento de pneumonia adquirida na comunidade por causa da associação com bacteremia pneumocócica e sementeção meningeal devido à susceptibilidade pneumocócica pobres.</p>
---	---	--	---

Quadro 1: Características de alguns Antibióticos da classe das Fluoroquinolonas.
Fonte: Adaptado de OLIPHANT E GREEN, 2002.

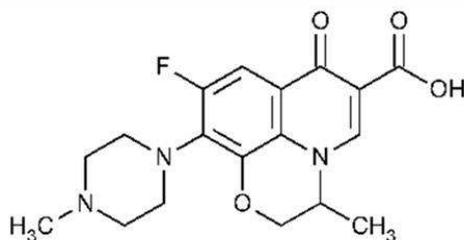
Em relação ao uso e descarga no ambiente, apesar da grande utilização, dados publicados sobre valores e padrões sobre o uso de antibióticos são escassos. Geralmente, as FQs são prescritas em humanos entre 300 a 600 mg por dia para fins terapêuticos e são quase que totalmente eliminados na forma de compostos inalterados através da urina e das fezes (SEIFRTOVÁ *et al.*, 2008; SILVA, 2010). Conseqüentemente, uma vez misturadas a água de descarga nas edificações, passarão a

constituir o conjunto de compostos químicos presentes no esgoto sanitário e serão descarregados nos corpos d'água.

Alguns fármacos, dentre eles as FQs e as tetraciclinas, tendem a se acumular no solo. Outros, como as sulfonamidas, tendem a ser altamente móveis e têm um potencial de resistir à degradação e de lixiviar, atingindo o lençol freático e águas superficiais (SEIFRTOVÁ *et al.*, 2009).

Ofloxacina

A estrutura geral das FQs é composta por um hidrocarbonetoheterocíclico com um grupo carboxila na posição 4, sendo que a ofloxacina(ácido (±)-9-fluoro-2, 3-dihidro-3-metil-10-(4-metil-1-piperazinil)-7-oxo-7H-pirido [1,2,3-de]-1, 4-enzoxazino-6-carboxílico), também conhecida por ácido piridibenzoxacínico por possuir um anel extra (Figura 6) (MOUTON e LEROY *et al.*, 1991).



Ofloxacina

Figura 6: Estrutura de um antibiótico da classe das Fluoroquinolonas: Ofloxacina.

As FQs são rapidamente absorvidas após a administração por via oral, sendo a ofloxacina a mais bem absorvida. A biodisponibilidade das quinolonas, seguida da administração oral, é geralmente superior a 80% e a presença de alimentos no estômago retarda a absorção da droga. As concentrações séricas máximas são alcançadas entre 1 a 3 horas após a administração oral da droga para os pacientes em jejum ou acima de 2 horas após as refeições. O pico de concentração sérica de 4 a 6 $\mu\text{g mL}^{-1}$ é atingido com a administração de 400 mg de OFLO (SILVA, 2010).

A sua biotransformação é praticamente desprezível (<10%), com eliminação predominantemente renal, o que resulta em excelentes níveis urinários alcançados pelo uso prolongado. Após a administração oral, a recuperação urinária da OFLO é de 73% na forma inalterada.

A OFLO foi primeiramente patenteada no Japão (Daichi Laboratories) e é comercializado na França, Portugal, Tunísia e 10 outros países africanos por Oflocet® (Roussel-Uclafas). Também é comercializado como Tarivid® por Hoechst na Grã-Bretanha, Alemanha, Bélgica e Portugal. Como Oflocin® pela Glaxo e como Flobacin® da Sigma-Tau ambas na Itália (MOUTON e LEROY et al., 1991). Aqui no Brasil, a ofloxacin de referência é a Floxstat® do laboratório Janssen - Cilag, S.A., com apresentação em comprimidos de 200 mg e 400 mg e frasco-ampola de 400 mg. Para uso oftálmico, o medicamento de referência é o Oflox® do laboratório Alcon com apresentação em solução oftálmica a 0,3%.

A dose usual varia de acordo com o tipo e a gravidade das doenças. Para infecções sistêmicas leves ou moderadas, a dose é de 200 mg de 12 em 12 horas de 5 a 10 dias. Já para infecções graves a dose é de 400 mg e o período pode ser superior a 10 dias, conforme orientação médica (SILVA, 2010).

A OFLO deve ser administrada com precaução em pacientes com insuficiência renal grave e é contraindicada para crianças e adolescente menores de 17 anos. Nestes pacientes em fase de crescimento, pode ocorrer lesão da cartilagem articular, com retardo na ossificação. Em pacientes sob terapia com FQs após a primeira dose foram relatadas reações de hipersensibilidade (anafiláticas) sérias e ocasionalmente fatais. Algumas reações foram acompanhadas por colapso cardiovascular, perda de consciência, formigamento, carrapato, edema facial ou faríngeo, dispnéia, urticária e prurido. Alguns pacientes que receberam quinolonas relataram convulsões, aumento da pressão intracraniana e psicose tóxica. Quinolonas, podem também causar estimulação do sistema nervoso central (SNC), o que pode levar a tremores, insônia, fosfenos, confusão e alucinações. Todas as fluoroquinolonas devem ser usadas com precaução em doentes com perturbações do SNC conhecidas ou suspeitas, tais como a arteriosclerose cerebral aguda ou epilepsia (SILVA, 2010).

Norfloxacin

A NOR é a primeira FQ introduzida no mercado, com baixa absorção gastrointestinal e biodisponibilidade superior a 80% (Figura 7). É a droga de primeira escolha para o tratamento de doenças causadas por *Campylobacter*, *E. coli*, *Salmonella* *Shigella* e *V. cólera*. É utilizada para o tratamento da gonorreia, bem como infecções do trato urinário e dos olhos (GOYAL et al., 2012). Ambas fluoroquinolonas sofrem retardo na absorção

em presença de alimentos. O pico de concentração sérica de $1,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ é atingido com a administração de 400 mg de NOR. Assim como para a OFLO, a NOR possui baixa biotransformação com eliminação predominantemente renal e recuperação urinária de 27% (SILVA, 2010).

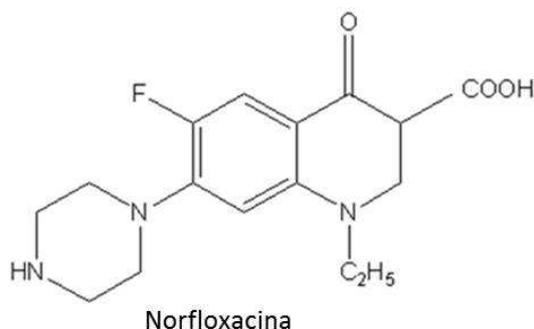


Figura 7: Estrutura de um antibiótico da classe das Fluoroquinolonas: Norfloxacin.

A NOR (ácido-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolinocarboxílico) é comercializada em comprimidos de 400 mg de 12 em 12 horas durante 7 a 10 dias, e para infecções complicadas do trato urinário o tratamento é de até 21 dias (SILVA, 2010).

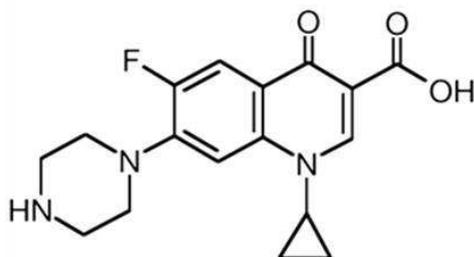
No Brasil a de referência é a Floxacin® comercializada pelo laboratório Merck Sharp & Dohme Farmacêutica Ltda.

Além dos efeitos colaterais comuns para todas as fluoroquinolonas a NOR e a CIPRO apresentam baixa solubilidade urinária em pH neutro e alcalino, podendo desenvolver nefrotoxicidade por cristalúria (ocorrência de cristais na urina. Embora o risco de nefrotoxicidade tenha sido observado, principalmente em animais de laboratório, as investigações clínicas realizadas até o momento, envolvendo milhares de pacientes, não têm evidenciado grande frequência desse efeito colateral no homem (SILVA, 2010).

Ciprofloxacina

A CIPRO (1-ciclopropil-6-fluoro-4-oxo-7-piperazinil-quinolina-3-ácido carboxílico) é uma fluoroquinolona de segunda geração, sendo a FQ mais utilizada no Brasil (Figura 8) (ABIFARMA, 2010). É absorvida rapidamente após a administração oral, apresentando também biodisponibilidade superior a 80%. A ciprofloxacina pode ser biotransformada em quatro metabólitos, ocorrendo metabolismo de primeira passagem quando utilizado por via oral. A CIPRO ao contrário da OFLO e da NOR não é somente

eliminada por via renal, como também por via hepática e através de secreção da parede intestinal (eliminação transintestinal), responsável por 10 a 15% da excreção da droga. A recuperação urinária da CIPRO é de 31% (SILVA, 2010).



Ciprofloxacina

Figura 8: Estrutura de um antibiótico da classe das Fluoroquinolonas: Ciprofloxacina.

No Brasil, a CIPRO é produzida por vários laboratórios diferentes (KOROLKOVAS, 2002; SWEETMAN, 2011), sendo o de referência a CIPRO® comercializado pelo laboratório Bayer. É apresentado em forma de comprimidos de 250, 500 e 700 mg, em frasco-ampola com 0,2%, suspensão e pomada oftálmica (Ciloxan®). Recomenda-se a administração oral de 250 mg de 12 em 12 horas de 7 a 14 dias podendo-se aumentar a dose nos casos mais graves (SILVA, 2010).

As principais indicações da ciprofloxacina são para infecções bacterianas do trato urinário, ósseas, da pele e tecidos moles e do trato respiratório inferior e seus efeitos colaterais são similares ao da norfloxacina (SILVA, 2010).

Resistência Bacteriana das FQs

Após a introdução das FQs e a exposição a concentrações crescentes dessas drogas houve o aparecimento de cepas de bactérias resistentes de muitas espécies, principalmente de *Pseudomonas* e estafilococos (SILVA, 2010).

Os mecanismos de resistência desenvolvidos pelas bactérias à ação antibacteriana das quinolonas ocorrem por dois mecanismos fundamentais: alterações nas moléculas alvo: as enzimas DNA girase e topoisomerase IV; e alterações no nível da acumulação intracelular dos antibióticos (SILVA E HOLLENBACH, 2010; SILVA, 2010).

Devido ao uso abusivo das quinolonas e os relatos de resistência bacteriana fez-se necessária à produção de novas estruturas que possuíssem um espectro de ação maior e,

então, atuassem nas cepas resistentes. Estas alterações estruturais, provavelmente, influenciam as propriedades físico-químicas dos antibióticos que, por sua vez estão relacionadas com a maior atividade antibacteriana das quinolonas mais recentes (SOUSA, 2007).

Embora a incidência de resistência ao ácido nalidíxico seja relativamente elevada (16 a 26%), a experiência clínica acumulada com o uso de norfloxacina, ofloxacina e ciprofloxacina sugere uma frequência muito mais baixa de resistência com o uso dessas drogas no tratamento de infecções do trato urinário (SILVA E HOLLENBACH, 2010; SILVA, 2010). Entretanto, um estudo realizado na Bahia (SILVA, 2010) sobre a sensibilidade de *Escherichia coli* isolada em pacientes com infecção urinária adquirida na comunidade, constatou que a resistência a CIPRO era de 13%. Blumberg *et al.*, (1991) constataram um rápido desenvolvimento na taxa de resistência a CIPRO, que aumentou de 0% a 79% durante um ano no tratamento de infecções por *Staphylococcus aureus* meticilino-resistentes. De uma maneira geral, com base em relatos sobre achados recentes na literatura especializada, constata-se um aumento da incidência de desenvolvimento de resistência bacteriana às quinolonas.

3.4 TRATAMENTOS DA URINA HUMANA COM VISTAS AO SEU USO AGRÍCOLA

3.4.1 Estocagem

O principal processo de tratamento da urina com o objetivo de sua reciclagem na agricultura é a estocagem em reservatórios fechados, por períodos de tempo pré-determinados, para reduzir os riscos biológicos da sua utilização. Embora ao sair dos rins de indivíduos saudáveis a urina seja desprovida de patógenos, a contaminação é possível na saída da uretra.

A estocagem possibilita reduzir os riscos potenciais para a saúde devido à contaminação por patógenos. Três parâmetros influenciam diretamente a eficiência deste processo: o tempo de armazenamento, a temperatura e o pH. Durante o período de estocagem, a liberação da amônia e do bicarbonato causa uma importante elevação do pH da urina, podendo ocasionar precipitação de cristais como a estruvita, a calcita e a hidroxiapatita. Causa ainda a inativação de microrganismos, principalmente quando os valores atingem

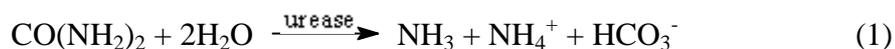
pH maior do que 8,0, o que, dependendo da temperatura ambiente, pode ocorrer em poucas semanas.

Nessa concepção, pesquisas suecas indicam que a maioria do nitrogênio, que na urina fresca se encontra na forma de ureia, é rapidamente convertida em amônia durante a coleta e armazenagem, o que pode gerar perdas de nitrogênio para o ar. Entretanto, esse fator pode ser minimizado pela armazenagem em reservatório fechado, com ventilação restrita (ESREY, 1998). Testes mostraram que o armazenamento da urina a 20 °C por 6 meses é suficiente para a higienização (MAURER *et al.*, 2006).

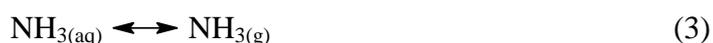
Johansson (2001) utilizou essa técnica, onde a urina era coletada das vilas-ecológicas e transportada para o campo, onde eram estocadas em tanques hermeticamente fechados (devido às baixas temperaturas) e estocadas sem reposição de urina nova por seis meses e em seguida aplicada nas culturas da mesma fazenda onde estavam armazenadas.

Com um sistema apropriadamente estruturado, minimizando as perdas, menos de 1% do nitrogênio é perdido no trajeto desde a fonte, nos tanques de estocagem local, no transporte em caminhão até o armazenamento e a aplicação. Durante a aplicação, as perdas podem variar entre 1 a 10%, dependendo da eficiência do sistema de distribuição da urina na cultura (JOHANSSON, 2001).

Como já citado, a principal reação química que ocorre durante a estocagem é a hidrólise da ureia (nitrogênio orgânico), catalisada pela enzima urease (ureia amidohidrolase). Os produtos finais desta reação são amônia e bicarbonato, que contribuem para o aumento do pH da solução conforme a descrição a seguir (UDERT *et al.*, 2003):



Os íons amônio ficam em equilíbrio com a amônia aquosa e esta, por sua vez, entra em equilíbrio com a amônia gasosa, de acordo com as equações 2 e 3:



O aumento no pH decorrente induz o processo de volatilização da amônia, uma vez que cerca de 60% da amônia estará na fase gasosa a valores de pH a partir de 9,5 e a uma temperatura de 25 °C, (NH_3) (Figura 9).

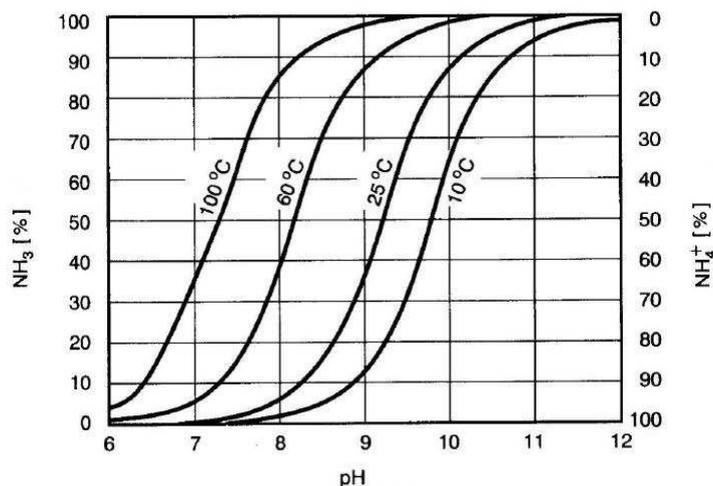
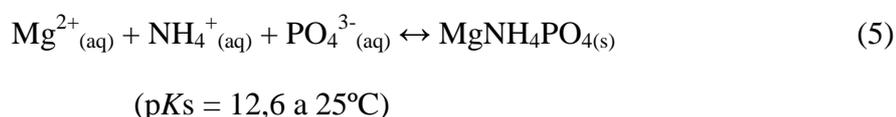
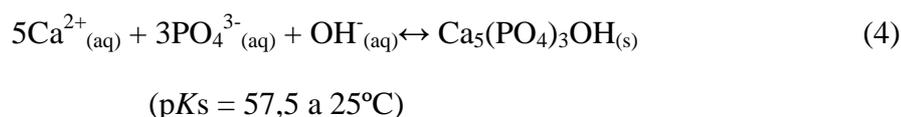


Figura 9: Influência da temperatura e do pH no equilíbrio entre amônia aquosa e gasosa.

Por outro lado, mais de 95% do fósforo total está na forma de ortofosfato na urina fresca. O aumento do pH também induz a precipitação do ortofosfato na forma de hidróxiapatita (Equação 4) e estruvita (Equação 5).



De acordo com Tilley *et al.*, (2008), em média ocorre uma remoção de 31% da concentração de fósforo, 83% de cálcio e 89% de magnésio, em virtude da precipitação espontânea de fosfatos durante a estocagem (Tabela 3).

Tabela 3: Variação na composição da urina ao longo da estocagem.

Tettenborn *et al.*, (2007).

Urina	pH	N-total	Amônia	Ureia	P-total	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Alcalinidade
Fresca	6,2	9200	480	7700	740	190	100	2200	22
Estocada	9,1	9200	8100	0	540	0	0	2200	490

No que tange a presença de microrganismos na urina humana, Hoglund *et al.*, (1998, 2000, 2002) investigou as taxas de decomposição bacteriana e viral de organismos

indicadores presentes na urina. Das curvas de inativação Rhesus rotavírus, *Campylobacter jejuni* e *Cryptosporidium parvum*, os autores concluíram que a estocagem da urina a 20 °C por pelo menos 6 meses pode ser considerada segura para ser usada como fertilizante para qualquer tipo de cultivo (HOGLUND *et al.*, 2002).

3.4.2 Acidificação

A urina também pode ser acidificada previamente à estocagem, para inibir a catálise enzimática da reação de hidrólise da ureia pela urease (ALEXANDER, 1977 apud. HELLSTRÖM *et al.*, 1999). O objetivo desta prática é evitar a formação de NH₃ durante e estocagem e a conseqüente perda deste nutriente para a atmosfera através de volatilização.

Esta estratégia é comentada por Udert *et al.*, (2003), que também afirmam que a perda de amônia na armazenagem e manuseio é minimizada pela nitrificação biológica exercida pelos próprios microrganismos presentes na urina. Para Hellström *et al.*, (1999), os efeitos colaterais da acidificação são positivos pois a inativação de organismos patogênicos é completa quando o pH atinge valores iguais ou inferiores a 4,0. Os resultados dos testes realizados por estes pesquisadores indicam que o ácido sulfúrico é mais eficiente do que o ácido acético na conservação do estoque de nutrientes da urina durante a estocagem, mas que ambos podem ser utilizados para inibir a decomposição da ureia.

3.4.3 Técnicas de redução de volume

Um dos principais problemas relacionados ao uso da urina na agricultura está na logística (LIND *et al.*, 2001). Tendo em vista as consideráveis quantidades necessárias para fertilização das terras agriculturáveis, como estocar e transportar grandes quantidades de urina das áreas urbanas para as rurais? A redução do volume e a concentração de nutrientes são objetivos de desenvolvimento a serem perseguidos, considerando os custos de transporte, estocagem e distribuição envolvidos.

3.4.3.1 Congelamento da urina

A concentração dos sólidos na urina pode ser atingida através do seu congelamento (GANROT *et al.*, 2005). Em contato indireto com o gelo, os sais presentes na urina precipitam na solução e se separam dos cristais de gelo que estão se formando. Isso faz com que haja uma diferenciação da densidade, e facilita a coleta da solução contendo os sais, reduzindo boa parte do volume.

Com a formação do gelo, torna-se quase impossível para as impurezas e sais em solução serem incorporados na estrutura cristalina (com exceção do fluoreto de amônio, que possui estrutura cristalina similar) (LIND *et al.*, 2001). Durante o lento congelamento da solução de sais, os compostos químicos e iônicos ficam concentrados na parte líquida e não no gelo. Esta técnica é a mesma utilizada para a recuperação de água doce a partir da água salgada, onde o interesse está na coleta dos cristais de gelo, que assim formados são enxaguados para remoção de sais que aderem as suas paredes e fundidos para obtenção de água doce (SOARES, 2004).

Ganrot *et al.*, (2005) ao utilizar MgO em urina estocada para precipitação aliada a técnica de congelamento, conseguiram recuperar até 80% dos nutrientes e reduzir o volume para 25% do inicial. Com o uso da técnica de congelamento esse autores consideraram possível utilizar o líquido concentrado como fertilizante, significando também menores custos de transporte e armazenagem.

No estudo de Lind *et al.*, (2001) a aplicação da técnica de congelamento apresentou resultados semelhantes ao de Ganrot *et al.*, (2005) para a recuperação de nutrientes (78%) e redução de volume (22% do volume inicial).

Segundo Rebouças *et al.*, (2007), quando ocorre um lento descongelamento da urina as impurezas presentes nos interstícios do gelo descongelam primeiro que a água, se concentrando nas primeiras frações descongeladas, contendo os macronutrientes e outras impurezas. Este experimento mostrou um rendimento satisfatório, pois aproximadamente 70% dos nutrientes se concentraram em apenas 30% do volume inicial, apresentando altos teores de nitrogênio, potássio e ortofosfato.

3.4.3.2 Precipitação de estruvita

Um grande esforço vem sendo empreendido nos últimos anos na busca do desenvolvimento de processos para recuperar nutrientes por meio da precipitação de estruvita nos mais variados tipos de efluentes (BOOKER *et al.*, 1999; BATTISTONI *et al.*, 2001; MÜNCH *et al.*, 2001; DOYLE *et al.*, 2002; EK *et al.*, 2006) e rejeitos orgânicos de animais (BURNS *et al.*, 2001; SUZUKI *et al.*, 2002; NELSON *et al.*, 2003). A precipitação da estruvita têm sido investigada em sistemas separadores de urina (LIND *et al.*, 2001; BÁN *et al.*, 2003; OTTERPOHL, 2003; RONTELTAP *et al.*, 2007) com o objetivo de reduzir o volume de urina a ser estocada, facilitando o tratamento e a higienização, e os cristais obtidos também podem ser guardados para uso posterior ou diretamente utilizados na agricultura.

De acordo com Stratful *et al.*, (2001), a um pH igual a 7,0 a estruvita não é produzida em quantidades detectáveis na urina. Para um valor de 7,5 apenas uma pequena quantidade de cristais podem ser produzidos. Já a um valor em torno de 8,5, cerca de 92% do magnésio são removidos da solução e 85% do fósforo se incorporam aos cristais. A um valor de pH entre 9,0 e 10,0, a remoção de magnésio atinge 97% e de fósforo 88%. Junto com a estruvita, outros minerais, tais como a epsomita [MgSO₄.7H₂O], brucita [Mg(OH)₂], montgomerita [Ca₄MgAl₄(PO₄)(OH)₄.12H₂O], podem também ser formados, dependendo da quantidades de outros cátions metálicos divalentes ou trivalentes disponíveis, em determinado pH na urina.

Alguns minerais naturais e materiais podem ser utilizados como adsorventes dos nutrientes e, mais tarde utilizados como adubo. Especialmente, materiais como zeólitas, wollastonita e carvão ativado têm sido intensamente estudados (BOOKER *et al.*, 1999; BAYKAL, 2003; JORGENSEN *et al.*, 2003). Embora estes materiais sejam eficientes na adsorção de amônia, tem a aplicação restrita devido ao seu alto custo.

Rebouças (2009) concluiu que a precipitação da estruvita na urina, utilizando magnésio na forma de óxido de magnésio em uma proporção molar de 1.3:1 (Mg:P), possibilitou a remoção de 99,2% do fósforo dissolvido na urina e 3,5% da amônia, obtendo um sólido rico em fósforo, nitrogênio e magnésio.

3.4.3.3 Evaporação

Considerada como a tecnologia mais promissora para a remoção de água da urina, a evaporação apresenta dois desafios principais: a perda de amônia e o consumo de energia. Alguns autores afirmam que perda da amônia pode ser evitada usando urina não hidrolisada ou pela acidificação. O consumo de energia pode ser minimizado pela utilização de energia solar ou pela recuperação de energia (MAURER *et al.*, 2006).

Segundo BEHRENDENT *et al.*, (2002), a concentração de ureia na urina, que corresponde a aproximadamente $10 \text{ g } \ell^{-1}$, pode chegar a $100 \text{ g } \ell^{-1}$ após a remoção da água de seu conteúdo. O resultado final é fertilizante em pó a base de sais fosfatados. Para ESREY (1998), as técnicas de evaporação e precipitação de estruvita poderiam ser conciliadas para produzir um fertilizante concentrado em pó.

O sistema de evaporação da urina mais sustentável consiste na utilização da energia solar como única fonte de calor. Zancheta (2007) avaliou a evaporação solar da urina em estufa aberta, com sistema não acidificado e sistema acidificado, obtendo uma taxa de evaporação de $2,6 \text{ } \ell/\text{m}^2.\text{d}$ e uma concentração final de nitrogênio de $13 \text{ g } \ell^{-1}$.

Tipos de Evaporação

Evaporação artificial

Maurer *et al.*, (2006) descreveram sobre alguns exemplos de evaporação artificial.

- Destilação por compressão de vapor (VCD), que recupera mais de 96% do teor de água e a energia requerida em pequena escala é 277–396. A NASA pretendia instalar na estação uma unidade de processamento de urina espacial internacional desde 2005, sendo finalmente instalada no final de 2008.
- Sistema de evaporação com membrana termoeétrica integrada (TIMES): a urina é pré-tratada com ozônio (ou UV) e ácido sulfúrico. É, em seguida, aquecida e bombeada através das fibras das membranas e exposta baixa pressão para que evapore.
- Sistema de evaporação com ar (AES): a urina é bombeada através de um filtro de partículas para um pavio e o ar aquecido é utilizado para evaporar a água do pavio, deixando o material sólido.

- Liofilização: a urina congelada é sublimada sob vácuo e é recuperada em $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ para produzir gelo com teor de sólidos totais de $51\text{ mg } \ell^{-1}$.

Tettenborn *et al.*, (2007) estudaram a evaporação num processo artificial, onde a urina utilizada era coletada de um banheiro público para homens em Hansaplatz em Hamburgo, Alemanha. O mictório era usado por aproximadamente 150 pessoas por dia e a urina era desviada para um tanque de armazenamento subterrâneo e recolhida duas vezes por mês. Em escala de laboratório, um evaporador por rotação (rotavapor) que foi operado para obter informações sobre o comportamento do substrato durante a evaporação. Para demonstrar a viabilidade técnica e obter maiores quantidades de concentrados, uma mini unidade de evaporação em escala de demonstração na empresa KMU Umweltschutz GmbH foi operada em batelada. Com uma taxa de evaporação de $4 - 10\ell/h$ e temperaturas entre $70-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a uma pressão de -300 mbar , um volume de urina equivalente a 80 pessoas poderiam ser processados.

Evaporação Solar

A evaporação solar da urina possibilita reduzir o volume da urina humana em aproximadamente 95%, obtendo-se 50 g de um resíduo com concentrações balanceadas de nitrogênio, fósforo e potássio (ZANCHETA, 2007).

Um estudo realizado por Thanh *et al.*, (2006), em um evaporador solar de concreto para tratar 30ℓ de urina, água destilada era removida por dois tubos de plástico e o concentrado coletado por um tubo equipado com uma válvula abaixo do processo. Eles concluíram que remover 50% é mais econômico que remover a água por completo e que, para preservar o Nitrogênio mineral, é necessário acidificar a urina.

Tipos de evaporadores

A concepção e funcionamento de um destilador ou evaporador são semelhantes, residindo a diferença no objetivo, ou seja, no produto final desejado. No caso da destilação, ocorre a recuperação de água doce a partir da água salgada, para uso da água doce para abastecimento doméstico ou para demandas industriais em países com alto déficit hídrico. Na evaporação, o sólido precipitado é o produto, como, por exemplo, em salinas que almejam recuperar os sais para beneficiamento. A evaporação da urina se

encaixa no último caso, pois o intuito é o uso do sólido remanescente na agricultura. Assim, os termos evaporador e destilador serão considerados como sendo o mesmo processo nesse texto.

O primeiro destilador solar moderno foi construído em Las Salinas, Chile, em 1872, por Charles Wilson. Consistia de 64 bacias (um total de 4459 m²) feitas de madeira e pintadas de preto com coberturas de vidro inclinadas. Esta instalação foi utilizada para abastecimento de água (20 mil litros por dia) para animais que trabalhavam nas minas. Após a abertura da região pela chegada da ferrovia, a instalação foi sendo deteriorada até o fim de sua operação em 1912, 40 anos após sua construção. Esta concepção tem formado a base para a maioria dos destiladores construídos desde aquela época. (McCRACKEN e GORDES, 2007).

Durante a década de 1950, o interesse em destilação solar foi reavivado, e praticamente em todos os casos o objetivo era construir grandes destiladores centralizados. Entretanto, após cerca de dez anos, os pesquisadores concluíram que a destilação solar para grandes demandas era demasiadamente custosa se comparada com sistemas baseados em combustíveis fósseis ou eletricidade. Então a pesquisa se voltou para sistemas de destilação de pequeno porte (MALUF, 2005).

Os destiladores/evaporadores podem ter configurações distintas, em relação ao material do qual é feita a base e laterais, a inclinação e material da cobertura, quantidade de coberturas e faces, área de base, cor, dentre outros.

Existem destiladores solares com cobertura única (simples efeito) podendo ser de 1, 2 ou 4 águas (faces) em vidro ou plástico, podendo ser de multiestágio, onde existem duas coberturas sobrepostas (duplo efeito), de filme capilar, onde um tecido fica embebido em água, utilizando a propriedade de capilaridade da água, além de associações entre tecnologias. A intenção dessas mudanças nas características originais do destilador é aumentar as taxas de evaporação, melhorando a eficiência do dispositivo e, conseqüentemente, aumentando a produção.

Bezerra (2004), no Rio Grande do Norte, utilizou de um destilador de simples efeito em fibra de vidro negra, com cobertura de vidro temperado e duas águas ou faces de escoamento com capacidade de 22,5 ℓ e lâmina d'água máxima de 2 cm (Figura 10). Seu objetivo foi evaporar a água presente no efluente de produção de petróleo para reúso na agricultura e geração de vapor. As taxas de evaporação obtidas neste trabalho variaram

de 2,85 a 7,14 ℓ/m^2 .dia de água produzida. O destilador com inclinação da cobertura de 45° obteve melhor rendimento comparado ao de 25°, mas o experimento foi realizado em dias diferentes, não sendo possível afirmar se a inclinação de 45° corresponde realmente à configuração mais produtiva e isso é fortemente dependente da latitude de instalação.



Figura 10: Destilador utilizado para evaporar água presente no efluente de produção de petróleo para reúso na agricultura e geração de vapor. Fonte: Bezerra, 2004.

No trabalho de Soares (2004), realizado em Florianópolis, SC, foi avaliado um destilador solar para produção de água doce para abastecimento de pequeno povoado a partir de água salgada ou salobra (Figura 11). A produção média mensal do equipamento foi de 3,1 a 3,7 ℓ/m^2 d, sendo a melhor inclinação para a produção a de 25°, comparada às de 15°, 30° e 45°. A recomendação do autor é que a inclinação de 25° seria a melhor para produção em todo território nacional.



Figura 11: Destilador utilizado para produção de água doce a partir de água salgada ou salobra. Fonte: Soares, 2004.

No trabalho de Pina (2004) foi concebido um destilador solar de águas salinas para abastecimento de uma família no Arquipélago de Cabo Verde. A unidade dessalinizadora seria formada por 10 módulos do tipo convencional com dimensão de 2 m x 5 m cada cobertura de vidro 3 mm para produção de por volta de 100 ℓ /dia.pessoa (Figura 12).

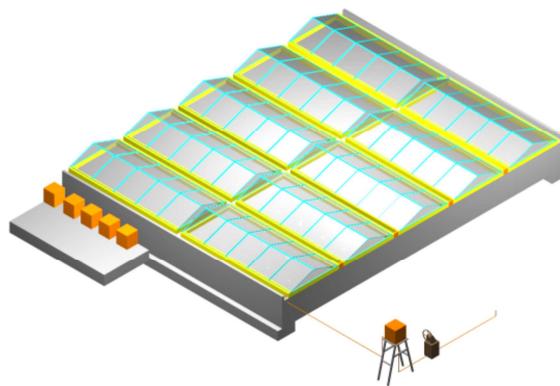


Figura 12: Destilador de águas salinas. Fonte: Pina, 2004.

Na literatura há poucos estudos que relatam o processo de evaporação da urina. Um estudo recente, realizado por Antonini *et al.*, (2012) no Vietnã, utilizou um evaporador solar com uma água (face) de escoamento, inclinação de 11°, área total de 2 m² e uma calha localizada na lateral mais baixa para recolhimento da água condensada. Eles adicionaram 50 l de urina e o ciclo de evaporação teve duração de 26 dias.

Por outro lado, o aproveitamento da energia solar aplicado a sistemas que requerem temperaturas mais elevadas ocorre por meio de concentradores solares, cuja finalidade é captar a energia solar incidente numa área relativamente grande e concentrá-la numa área muito menor, de modo a elevar substancialmente a temperatura. A superfície refletora (espelho) dos concentradores tem forma parabólica, de modo que os raios solares que nela incidem sejam refletidos para uma superfície bem menor, denominada foco, onde se localiza o material a ser aquecido. Os sistemas parabólicos de alta concentração atingem temperaturas bastante elevadas, aproveitamento da energia solar incidente, podendo ser utilizada para a geração de vapor e, conseqüentemente, de energia elétrica. Contudo, a necessidade de focalizar a luz solar sobre uma pequena área exige algum dispositivo de orientação, acarretando custos adicionais ao sistema, os quais tendem a ser minimizados em sistemas de grande porte (RAMOS *et al.* 2007a; RAMOS *et al.* 2007b; ANJOS, 2008).

A utilização de concentradores parabólicos para redução de urina ainda é novidade, como no trabalho de Botto *et al.*, (2010). Estes pesquisadores descreveram o desenvolvimento conceitual de um concentrador parabólico para evaporação da urina humana, porém os resultados da sua utilização ainda não foram publicados.

3.5 FERTILIZANTES

Segundo Andrade *et al.*, (1995) fertilizante é qualquer material, orgânico ou inorgânico, natural ou sintético, que quando utilizado na agricultura possa fornecer os nutrientes essenciais para o bom desenvolvimento da cultura e que os elementos : nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) são os mais importantes e utilizados na agricultura.

O Brasil ocupa o quarto lugar no consumo de fertilizantes, atrás de China, Índia e Estados Unidos. O consumo no Brasil ainda é pequeno, pois o consumo interno representa apenas 19% do consumo da China e em torno de 45% do consumo da Índia e dos Estados Unidos (SAMPAIO, 2008).

Pode-se presumir que a procura mundial de fertilizantes aumentará nos próximos anos devido ao crescimento econômico e levará entre outros parâmetros a mudança na dieta da população, com crescente consumo de proteínas, necessitando de mais grãos para os animais. Adicionalmente à procura de nitrogênio na agricultura, há uma demanda crescente por amônia pura e ureia para fins industriais como a produção de plástico e de processos de combustão (por exemplo, a incineração de resíduos) (TETTENBORN *et al.*, 2007).

3.5.1 Fertilizantes Artificiais

A deficiência de macronutrientes nos solos agrícolas representa uma preocupação crescente, com tendência a se acentuar num futuro próximo. O cultivo em solos de baixa fertilidade, a calagem e o aumento da produtividade, são fatores que têm favorecido o aumento das deficiências de macronutrientes. Os fertilizantes artificiais utilizados hoje em dia podem conter além dos elementos desejáveis, metais pesados tóxicos (GONÇALVES Jr, 2000).

3.5.2 Fertilizantes orgânicos

Fertilizantes orgânicos são assim chamados por serem de origem vegetal ou animal e possuírem quantidades de nutrientes necessários para serem utilizados na agricultura.

Segundo Nunes (2009) a produção da matéria orgânica pode ser feita com os resíduos disponíveis no local (resíduos de origem vegetal, como folhas, galhos, caules, palhas

etc. restos de capins da alimentação animal, restos vegetais resultantes de capinas, colheitas e podas de plantas, algas, plantas aquáticas, etc., ou de origem animal, esterco, ossos, casca de ovos, penas, vísceras, cascas de mariscos) e de maneira contínua.

Biossólidos também são utilizados como substrato para propiciar um melhor aproveitamento de nutrientes pelas plantas em relação à adubação mineral, visto que os mesmos estão na forma orgânica e são liberados gradativamente, suprindo de modo mais adequado as exigências nutricionais no decorrer do ciclo biológico (CARVALHO e BARRAL, 1981).

Pedroza (2005), em seu estudo sobre a utilização de biossólidos em culturas de algodoeiro herbáceo, caracterizou os nutrientes (N, P e K) e encontrou a quantidade de 4,4 kg para produzir 250 kg de grãos dos três nutrientes essenciais para fertilizar as plantas, quando comparado com a urina no estudo de Zancheta (2007), esse valor fica aquém da quantidade encontrada na urina que foi de 6,8 kg desses mesmos nutrientes.

3.5.3 A urina como fertilizante

A estruvita como fonte de nitrogênio e fósforo tem sido há várias décadas utilizada como fertilizante em muitas variedades de gramíneas, de plantas ornamentais e outras culturas. Os metais a base de fosfato de Amônia, devido sua baixa solubilidade e o sal não causam prejuízo para as sementes e plantas. Assim, eles podem ser usados em muitas aplicações onde os fertilizantes convencionais são solúveis e, portanto inadequadas em algumas culturas (BRIDGER, 1962).

Heinonen-Tanski *et al.*, (2005) afirmam que cada ser humano saudável excreta diariamente elementos químicos que podem ser usados como fertilizante para plantas, cultivos alimentícios, ervas medicinais, plantas ornamentais, fibras naturais e outras vegetações.

A urina pode ser aplicada pura ou diluída na agricultura, mas a taxa de aplicação deve ser adequada à demanda nutricional de cada cultura. Para evitar problemas com odor, perda de amônia e queima das folhas, a urina deve ser aplicada perto do solo e incorporada o mais rápido possível (JOHANSSON, 2001).

A quantidade de nutrientes é quase suficiente para produzir 250 kg de grãos e suprir as necessidades calóricas e proteicas de uma pessoa adulta por um ano, segundo WOLGAST *et al.*, (1993). Dos 7,5 kg de fertilizante industrial necessário para o cultivo, apenas uma pessoa poderia contribuir com 5,3 kg, ou seja, 71% da demanda (Tabela 4).

Tabela 4: Nutrientes na urina humana e a quantidade de fertilizante necessária para produzir 250 grãos por ano. Fonte: WOLGAST *et al.*, 1993.

Compostos	Urina 500 ℓ	Quantidade de Fertilizante necessária
Nitrogênio (N)	4,0 kg	5,6 kg
Fósforo (P)	0,4 kg	0,7 kg
Potássio (K)	0,9 kg	1,2 kg
N + P + K	5,3 kg (71%)	7,5 kg

3.5.3.1 Exemplos de aplicação da Urina Humana

O uso da urina na agricultura ou jardinagem é uma prática muito simples, podendo ser realizado pelos próprios moradores com o uso de uma enxada e um regador e também por mulheres em plantações de pequena escala (HEINONEN-TANSKI *et al.*, 2005). Segundo Esrey, 1998 a urina pode ser aplicada de várias maneiras na agricultura:

- Não diluída, antes de plantar (as bactérias no solo convertem a ureia para nitrato, que pode ser usado pelas plantas);
- Pode ser aplicada em grandes doses ou em doses menores diversas vezes durante a estação da colheita;
- Também pode ser aplicada diluída com água;
- A urina líquida pode ser adicionada ao solo onde os vegetais e as plantas estão crescendo;
- Uma vez por semana ou uniformemente duas ou três vezes por semana, contanto que as plantas sejam molhadas também em outras épocas;

No estudo realizado por Heinonen-Tanski *et al.*, (2007), os resultados mostraram que a urina pode ser utilizada como um valioso fertilizante para pepinos, e estes vegetais podem ser consumidos sem cozimento ou usado para a fermentação.

Rios (2008), utilizando urina diluída após 6 meses de estocagem a uma temperatura ambiente de 30 °C para cultivo hidropônico de alface, encontrou níveis de contaminação em valores inferiores aos estabelecidos pela Anvisa .

São poucos os estudos sobre o uso da urina humana como fertilizante na agricultura, o que resulta em uma compreensão limitada sobre o assunto. Há, entretanto, fertilizantes comparáveis, por exemplo, a urina animal, cujo conhecimento de sua aplicação é relativamente vasto. Na Suécia são aplicadas em torno de 2,3 milhões de toneladas de urina animal por ano na agricultura. A urina humana contém mais nitrogênio e fósforo que a urina de porcos e de bovinos, porém contém menos potássio (JOHANSSON, 2001).

3.5.4 Risco microbiológico no uso de urina como fertilizante

A recomendação para que a urina seja utilizada com segurança e higiene depende do tipo de cultivo a ser fertilizado. O risco aceitável dependerá de alguns fatores que determinarão sua utilização futura.

Hoglund (2001) utilizou a avaliação quantitativa de risco microbiológico (AQRM), estimando os riscos por infecções por bactérias e protozoários pelo uso da urina na agricultura em torno de $<10^{-3}$ independentemente do tempo de estocagem e da temperatura. O risco de infecção viral foi alto, calculado em 0,56 para ingestão acidental de 1 ml de urina não estocada. Se a urina for estocada em 20 °C por seis meses, o risco de infecção viral se reduz para $5,4 \times 10^{-4}$.

Os patógenos tradicionalmente presentes na urina são *Leptospira interrogans*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* e *Schistosoma haematobium*. Existe uma variedade de outros patógenos nela detectados, mas sua presença pode ser considerada insignificante para o risco da transmissão ambiental de doenças (Tabela 5). Dentre estas, a *E. coli* é a principal, que também possui alguns clones envolvidos com infecções gastrointestinais (SCHÖNNING *et al.*, 2004).

Tabela 5: Alguns patógenos que poderiam ser excretados na urina e a importância da urina como meio de transmissão. Fonte: SCHÖNNING *et al.*, 2004.

Patógenos	Urina como meio de transmissão	Importância
<i>Leptospira interrogans</i>	Usualmente através da urina animal	Provavelmente baixo
<i>Salmonella typhi</i> e <i>Salmonella paratyphi</i>	Provavelmente incomum, excretada na urina em infecção sistêmica	Baixo comparado com outros meios de transmissão
<i>Schistosoma haematobium</i> (ovos excretados)	Não direta mas indiretamente, a larva infecta os humanos através da água doce	É necessário considerar em áreas endêmicas onde água doce é disponível
Mycobacteria	Incomum, normalmente transportado pelo ar	Baixo
Vírus: citomegalovirus (CMV), JCV, BKV, adeno, hepatite e outros	Normalmente não reconhecido, com exceção de casos isolados de hepatite A e sugerido para a hepatite B. Necessita de mais informação	Provavelmente baixo
Microsporidia	Sugerido, mas não reconhecido	Baixo
Causadores das doenças venéreas	Não, não sobrevivem durante períodos significativos fora do corpo	-
Infecções do trato urinário	Não, não há uma transmissão ambiental direta	Baixo

Hoglund (2001) descreve ainda fatores reconhecidos como tendo um efeito sobre microrganismos entéricos:

- Temperatura: Muitos microorganismos sobrevivem em baixas temperaturas (5 °C) e rapidamente morrem em altas temperaturas (>40 °C). Entretanto em processos de compostagem é necessário temperatura em torno de 55 °C- 65 °C para matar todos os tipos de patógenos. A temperatura é considerada como fator predominante na inativação viral.
- pH: Muitos microorganismos são geralmente adaptados para o pH 7,0, embora os patógenos entéricos possam suportar as condições de ácido no estômago e causar uma infecção.

HEINONEN-TANSKI *et al.*, (2007) descrevem as seguintes precauções para que se assegure uma produção agrícola adequada:

1. Altas taxas de aplicação de urina humana podem aumentar a salinidade e a alta condutividade elétrica dos solos tratados;
2. A urina nunca deve ser aplicada diretamente sobre a parte da planta a ser colhida e as culturas não devem ser fertilizadas no mês antes da colheita seguido pelo teste de possível contaminação devido aos disruptores endócrinos;
3. O espalhamento da urina na hora errada ou de forma desigual no campo pode causar a perda de colheitas considerável;

4. Para se obter uma urina segura higienicamente, esta deve ser armazenada em reservatórios escuros e fechados por seis meses antes da utilização;
5. No entanto, se a remoção e recuperação de fósforo tem que ser assegurada, a técnica precisa ainda ser melhorada com relação à qualidade e quantidade do produto formado (CORRE *et al.*, 2009);
6. Naturalmente, como com esterco e efluentes, a lavagem das mãos, depois de se trabalhar com urina, é fortemente recomendada.

Ainda não se tem uma legislação específica para o uso da urina na agricultura de urina, há muito para ser feito, e assim conseguir um apoio governamental que incentive e normalize esse tipo de reuso.

As diretrizes utilizadas para o uso da urina na agricultura foram implementadas na Suécia, e foram estabelecidas tendo como principais parâmetros de controle da qualidade a temperatura e o período de estocagem para determinados tipos de cultivos (SCHÖNNING, 2004). O intuito é que a urina humana possa ser utilizada com segurança, minimizando assim o risco de transmissão de doenças infecciosas. Posteriormente, essas mesmas diretrizes foram adotadas pela Organização Mundial da Saúde, no ano de 2006 (Tabela 6).

Tabela 6: Diretriz sueca para a utilização da urina na agricultura em grandes sistemas^(a).
Fonte: SCHÖNNING, 2004.

Temperatura de estocagem (^o C).	Tempo de estocagem (meses)	Possíveis patógenos presentes na urina após estocagem ^(b)	Cultivos recomendados
4	≥ 1	Vírus e protozoários	Alimentos cultivados e forragem que serão processados.
4	≥ 6	Vírus	Alimentos cultivados que serão processados, forragem ^(c) .
20	≥ 1	Vírus	Alimentos cultivados que serão processados, forragem ^(c) .
20	≥ 6	Provavelmente nenhum	Todo tipo de cultivo ^(d) .

a)“Grandes sistemas” – significa que a urina humana é utilizada para cultivos que serão consumidos por outras pessoas que não os próprios geradores da mesma.

b)Bactérias gram-positivas e que formam esporos não incluídas.

c)Exceto pastagens para a produção de alimento para animais.

d)No caso de produtos consumidos crus é recomendada a fertilização com urina de forma descontínua, pelo menos um mês antes da colheita, e com a incorporação da urina no solo.

4. ARTIGOS

4. ARTIGOS

Os três artigos elaborados a partir da obtenção dos resultados obtidos e de acordo com os objetivos específicos são descritos a seguir:

Artigo 1: Desenvolvimento e validação de método para quantificação simultânea de ofloxacina, norfloxacina e ciprofloxacina em urina humana (ZANCHETA *et al.*, 2012a).

Artigo 2: Comportamento de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana durante tratamento para reciclagem de nutrientes via estocagem ácida (ZANCHETA *et al.*, 2012b).

Artigo 3: Comportamento do nitrogênio e de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana submetida a evaporação para redução de volume (ZANCHETA *et al.*, 2012c).

Artigo 4: Análise comparativa de desempenho de evaporadores solares para redução de volume da urina humana (ZANCHETA *et al.*, 2012d).

4.1 ARTIGO 1

Desenvolvimento e validação de método para quantificação simultânea de ofloxacina, norfloxacina e ciprofloxacina em urina humana

Priscilla Garozi Zancheta, Ricardo Franci Gonçalves e Angelina Pena

Resumo

Foi desenvolvido e validado um método de CLAE-DF para a determinação simultânea de ofloxacina (OFLO), norfloxacina (NOR) e ciprofloxacina (CIPRO) na urina humana. O método proposto descreve uma alternativa eficaz para a determinação de resíduos de fluoroquinolonas, eliminando o passo de limpeza. Além disso, o método proposto demonstrou ser seletivo, com boa linearidade ($r > 0,99$), sensibilidade, precisão (80% a 107) e repetitividade. Este método mostra ser adequado para análises de rotina (de baixo custo, simples, e utilização de pequeno volume de solventes) para abordagens ecológicas.

Palavras-chave: Fluoroquinolonas; Urina Humana; CLAE-DF.

Abstract

A HPLC-FD method for the simultaneous determination of ofloxacin (OFLO), norfloxacin (NOR) and ciprofloxacin (CIPRO) in human urine was developed and validated. The proposed method describes an efficient alternative for the determination of fluoroquinolone residues by eliminating the clean-up step. Moreover, the proposed method proved to be selective, with good linearity ($r > 0.99$), sensitivity, accuracy (80 a 107%) and repeatability. This method shows to be suitable for routine analyses (simple, low price and small volume of solvents) for ecological approaches.

Keywords: Fluoroquinolones; Human Urine; HPLC-FD.

1 INTRODUÇÃO

A urina contém macronutrientes que se encontram na forma ideal para serem aproveitados pelas plantas: o nitrogênio na forma de ureia, o fósforo como ortofosfato e o potássio como íon livre, além de alta qualidade dos nutrientes, ela é uma alternativa de baixo custo aos fertilizantes comerciais (ECOSANRES, 2008). Um dos fatores importantes que deve ser levado em consideração nas ações de saneamento ecológico, com vista à utilização da urina humana como fertilizante na agricultura, consiste no fato da excreção urinária constituir uma importante via de eliminação de fármacos.

Estudos de ecotoxicidade relativos à exposição a medicamentos utilizados na medicina humana concluíram que alguns fármacos, como, o ibuprofeno, a fluoxetina, o diclofenaco, o propranolol e o metoprolol possuem toxicidade aguda elevada para as espécies aquáticas estudadas, sendo a fluoxetina a que apresenta maior toxicidade (DORNE *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2010).

Foi também demonstrada a relação estreita entre a presença de resíduos de antibióticos no ambiente, a emergência e a propagação de cepas bacterianas resistentes aos antibióticos na população mundial, o que constitui, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), um dos principais problemas de saúde pública do século XXI (OMS, 2000).

Os antibióticos da classe das fluoroquinolonas (FQs) pertencem a uma classe de agentes antibacterianos com amplo espectro de atividade contra organismos Gram positivos e Gram negativos (SOUSA, 2005). As FQs em geral são bactericidas em baixas concentrações e possuem um espectro de ação mais abrangente, uma maior difusão para os tecidos incluindo os líquidos intracelulares e uma menor toxicidade. A principal via de eliminação das FQs é urinária, tanto de forma inalterada como na forma de metabólitos (ESPINOSA-MANSILLA, 2006).

A presença de resíduos de FQs na urina é um dos fatores que precisa ser criteriosamente avaliado antes da sua recomendação como fertilizante, uma vez que a sua presença no ambiente constitui um potencial risco (SEIFRTOVÁ *et al.*, 2009).

É de primordial importância o desenvolvimento de novos procedimentos de tratamento da urina humana, que devem contemplar os diferentes grupos de medicamentos existentes,

inclusive dos antibióticos do grupo das FQs, e adequar o tipo de tratamento com o objetivo de prevenir efeitos nocivos de eventuais contaminações.

Alguns processos de tratamentos têm sido alvos de estudos com a finalidade de promover a remoção dos produtos farmacêuticos na urina humana: ozonização (GULYAS *et al.*, 2007), eletrodialise (PRONK *et al.*, 2006), *steam stripping* (TETTENBORN *et al.*, 2007), destilação a vácuo (TETTENBORN *et al.*, 2007), irradiação UV (TETTENBORN *et al.*, 2007), contudo, os estudos são ainda muito escassos.

Para a correta avaliação e o controle da presença de FQs na urina humana é relevante o desenvolvimento de metodologias analíticas, sensíveis, seletivas, exatas e precisas para a identificação e quantificação destes resíduos nesta matriz.

Na literatura encontram-se descritas várias metodologias analíticas para a determinação de FQs em diversas matrizes (KROL *et al.*, 1995; SEIFRTOVÁ *et al.*, 2009; PENA *et al.*, 2010). Entre as técnicas utilizadas para a determinação de resíduos de FQs incluem-se a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção fluorimétrica (DF) e acoplada à espectrometria de massa (CLAE-EM).

O objetivo principal do trabalho foi o desenvolvimento e a validação de uma metodologia analítica sustentável para determinação de antibióticos do grupo das FQs, especificamente, ofloxacina (ácido (\pm)-9-fluoro-2, 3-dihidro-3-metil-10-(4-metil-1-piperazinil)- 7-oxo-7H-pirido [1,2,3-de]-1, 4-benzoxazino-6-carboxílico), norfloxacin (ácido (1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolinocarboxílico) e ciprofloxacina (1-ciclopropil-6-fluoro-4-oxo-7-piperazinil-quinolina-3-ácido carboxílico) via injeção direta, eliminando a etapa de purificação, por CLAE-DF na urina humana.

Uma vez que as FQs apresentam fluorescência nativa, a detecção fluorimétrica proporciona maior seletividade, constituindo um poderoso método analítico na análise de resíduos, principalmente quando há a necessidade de reduzir ou mesmo eliminar as interferências presentes na amostra. Constitui também uma alternativa à análise por CLAE-EM, que exige um equipamento muito dispendioso, nem sempre disponível num laboratório de análise.

O método analítico proposto é simples, rápido e seguro, apresentando boa recuperação e avaliação da precisão adequada à determinação das FQs em estudo na matriz urina

humana. Deste modo, será possível implementar soluções corretas, de forma a garantir a segurança ambiental e humana da utilização da urina humana como fertilizante na agricultura.

2 METODOLOGIA

2.1 Instrumentação e Condições Cromatográficas

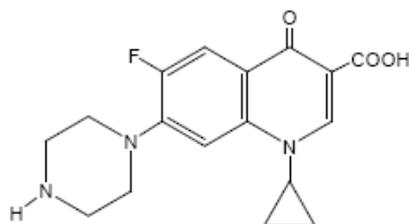
O sistema CLAE, é constituído por uma bomba Gilson modelo 305 (Gilson Medical Electronics, Villiers-le-Bel, França), um injetor Rheodyne modelo 7125 (Cotati, Califórnia, EUA) com um *loop* de 20 μl , um detector fluorimétrico LabAlliance e um integrador SP 4270 (Hewlett Packard, Filadélfia, E.U.A.).

Foi efetuada a análise com eluição isocrática com uma fase móvel constituída por uma solução de 0,025 M de ácido fosfórico (ajustada ao pH 3,0 com tetrabutylamônio -TBA), metanol (MeOH) e acetonitrila (ACN) (910:70:20; v/v/v), a um fluxo de 1,4 mL min^{-1} , sendo o volume de injeção de 20 μl .

Os comprimentos de onda, de emissão e de excitação foram otimizados através da obtenção do espectro de uma solução padrão com as respectivas FQs. Os comprimentos de onda de excitação e de emissão selecionados foram de 278 nm e 450 nm, respectivamente. A banda espectral de excitação e emissão foi de 10 nm.

2.2 Reagentes e Materiais

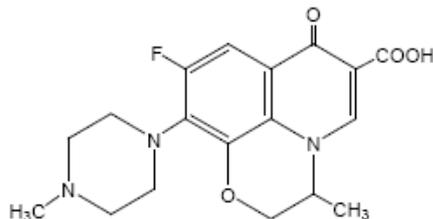
A ofloxacina (OFLO), a ciprofloxacina (CIPRO) e a norfloxacina (NOR) (Figura 13) foram adquiridos da Sigma-Aldrich Steinheim, (Alemanha). O MeOH e a ACN grau HPLC foram obtidos de Carlo Erba (Milão, Itália) e o ácido fosfórico 85% de RPE-ACS Merck (Alemanha). A centrífuga utilizada foi o modelo 3-16 K da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha), os filtros de membrana são NL16, 0,2 μm Ø 50 mm e filtro para seringa de 0,45 μm ambos da Milipore (E.U.A.).



Ciprofloxacina

$C_{17}H_{18}FN_3O_3$

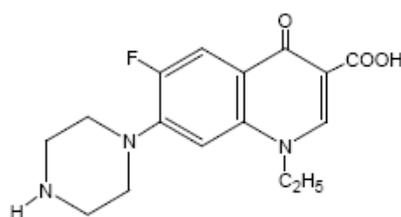
MM: 331,4



Ofloxacina

$C_{18}H_{20}FN_3O_4$

MM: 361,4



Norfloxacina

$C_{16}H_{18}FN_3O_3$

MM: 319,3

Figura 13: Estrutura química das três fluoquinolonas estudadas: ofloxacina (OFLO), norfloxacina (NOR) e ciprofloxacina (CIPRO).

2.3 Amostragem

As amostras de urina humana foram recolhidas em frascos estéreis, próprios para coleta de urina com capacidade de 60 ml, entre professores, alunos e técnicos da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, aos quais foi solicitado o preenchimento de um questionário a fim de avaliar a medicação utilizada por cada doador. As amostras de urina humana coletadas foram misturadas e homogeneizadas. As análises foram realizadas com urina fresca, logo após o recolhimento, acidificadas a pH 2,0.

2.4 Extração da Amostra

Uma alíquota de 4 de cada amostra foi transferida para um tubo de centrifugação de vidro âmbar, com mais 6 mL de H₂SO₄ 0,005 mol L⁻¹, agitada em vórtex e levada ao banho de ultrassom durante 5 min. Posteriormente procedeu-se à centrifugação durante 15 min a 4444 g, a 5 °C. O sobrenadante foi filtrado através de membrana filtrante de 0,45 µm antes da injeção no sistema cromatográfico. O tempo de total de corrida foi de 20 min.

2.5 Soluções estoque de fluoroquinolonas

As soluções estoque de OFLO, NOR e CIPRO 1 mg mL⁻¹ foram preparadas dissolvendo-se 50 mg do padrão respectivo, em ácido sulfúrico 0,005 mol L⁻¹ num balão de vidro âmbar de 50 mL. As soluções estoque foram armazenadas a 4 °C.

2.6 Validação do Método

Para validar esta metodologia analítica foi necessário observar condições essenciais: inexistência de interferentes (seletividade), proporcionalidade entre a resposta da área de cada composto e a concentração do mesmo (linearidade), a determinação do limite de detecção (LD) e do limite de quantificação (LQ), a recuperação e da precisão dos resultados através da repetitividade e da precisão intermediária (INMETRO, 2011; BRASIL, 2003; ALVES *et al.*, 2010).

3 RESULTADOS

3.1 Otimização das condições cromatográficas

As condições cromatográficas basearam-se no método de Pena *et al.*,(2010), ao qual foram efetuadas modificações. Neste trabalho, a eluição das FQs em estudo na matriz urina humana foi obtida com a fase móvel constituída por uma solução de H₃PO₄ 0,025 mol L⁻¹, ajustada ao pH 3,0 com TBA, metanol e acetonitrila nas seguintes proporções, 910:70:20 (v/v/v). Conforme a metodologia descrita anteriormente, o sistema escolhido foi a CLAE-DF para a separação e determinação das três FQs nas amostras de urina.

Antes de chegar à fase móvel (FM) ideal, outras fases móveis foram utilizadas. No total foram testadas 6 tipos de fases móveis (FM1, FM2, FM3, FM4, FM5 e FM6).

Para iniciar a otimização do método, a primeira FM testada (FM1) foi a mesma utilizada por Pena *et al.*, (2010), constituída por tampão fosfato ajustado ao pH 3,0 com TBA e metanol, na proporção 890:110 (v/v), respectivamente. Como essa FM não foi eficiente na separação das FQs na matriz urina humana testou-se o aumento da porcentagem de metanol, e foram testadas mais três fases móveis (885:115, 880:120 e 870:130 v/v).

Após os testes com essas quatro FM, não se obteve uma boa separação para a OFLO e decidiu-se utilizar uma FM com acetonitrila (ACN), alterando a seletividade da FM e mantendo a polaridade da mesma constante (COLLINS *et al.*, 2006).

A FM 5 testada era constituída de tampão fosfato ajustado ao pH 3,0 com TBA metanol (MeOH) e ACN, na proporção 920:70:10 (v/v/v), mas como a quantidade de ACN ainda não foi suficiente para uma boa determinação da OFLO, alterou-se mais uma vez a FM para a proporção 910:70:20 (v/v/v), para a qual se obteve melhores resultados. As separações cromatográficas foram realizadas à temperatura ambiente (15 a 20 °C) e o fluxo de injeção foi de 1,4 mL min⁻¹.

A variação no tempo de retenção (t_R) foi estudada nas soluções padrão injetadas no mesmo dia e em dias diferentes. O t_R médio obtido foi de 7,53, 11,11 e 13,06 para OFLO, NOR e CIPRO respectivamente, com um coeficiente de variação (CV) máximo de 5,21% para a OFLO, 3,95% para a NOR e 4,43% para a CIPRO obtidos a partir de 20 injeções de diferentes soluções de trabalho ao longo do mesmo dia (INMETRO, 2011; BRASIL, 2003).

No entanto, os resultados desse estudo mostram que esta variação é devida essencialmente à flutuação da temperatura do laboratório, o que influencia na viscosidade da fase móvel, e conseqüentemente a pressão da coluna e os t_R das FQs. Em outros estudos, será essencial usar um forno para colunas, para proceder à análise cromatográfica em temperatura controlada.

As FQs possuem propriedades fluorescentes e podem ser efetivamente detectadas por fluorimetria, uma vez que, a intensidade da emissão de fluorescência é diretamente proporcional ao poder da radiação de excitação. O espectro de fluorescência consiste numa banda larga dentro de 350-400 nm para as quinolonas ácidas e 440-500 nm para as quinolonas piperazínicas. Espinosa-Mansilla *et al.*, (2006) utilizaram excitação de

277 nm e comprimento de emissão máximo em 490 nm para as FQs, Krol *et al.*,(1995) utilizaram 277 nm a 418 nm e Marazuela *et al.*, (2004) e Vybíralová *et al.*, (2005) utilizaram comprimentos de onda bem parecidos, 280 a 440 nm e 280 a 446 nm respectivamente. O comprimento de onda na faixa de 277 a 490 nm são os que possuem melhores resoluções para as FQs segundo estudo realizado por Espinosa-Mansilla *et al.*, (2006) Os comprimentos de onda selecionados neste estudo correspondem a um comprimento de onda de excitação 278 nm e um comprimento de onda de emissão 450 nm, os mesmos comprimentos de onda também foram utilizados por Seifrtová *et al.*,(2009) e Pena *et al.*, (2010) para as fluoroquinolonas.

A fluorescência depende fortemente do pH do meio, sendo a maior intensidade de fluorescência obtida em pH baixo (de 2,5 a 4,5), o que está de acordo com a fase móvel escolhida (pH 3,0) (MIRANDA, 2001). Com estes valores de pH, a forma predominante das quinolonas piperazínicas é a catiônica (PICO *et al.*, 2007; PEREIRA, 2009; JIE *et al.*, 2009; VAZQUEZ-ROIG *et al.*, 2010).

A presença de um grupo ácido (grupo carboxílico) e de um grupo básico (amina terciária) atribui ao composto propriedades anfotéricas, podendo, deste modo, existir mais do que uma espécie presente em solução, dependendo do pH tal possibilidade decorre da protonação/desprotonação destes grupos, fazendo com que as quinolonas possam existir sob as formas catiônica, aniônica ou zwitteriônica (Figura 14).

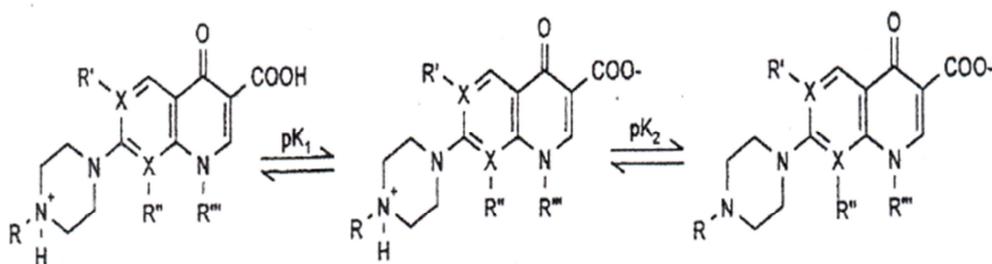


Figura 14: Comportamento ácido-base das fluoroquinolonas.

3.2 Otimização do método de extração

Tendo como objetivo principal desenvolver um método de extração o mais simples possível, na otimização da quantidade de urina humana a ser utilizada na preparação da amostra foram testados vários volumes. Inicialmente partimos de um volume maior de amostra para aumentar a sensibilidade do método, mas devido à influência de interferentes presentes na urina foi necessário reduzi-lo.

Nos estudos de otimização, o volume inicial de urina foi de 15 mL e a desproteínização da amostra foi testada com dois ácidos diferentes, ácido clorídrico e ácido sulfúrico. Procedeu-se de seguida a agitação em vórtex e no banho de ultrassom, e centrifugação final do extrato. Os tempo de extração no banho de ultrassom, de centrifugação e a temperatura de centrifugação foram otimizados.

Em relação ao agente desproteínizante, o ácido sulfúrico proporcionou uma melhor separação cromatográfica, enquanto que os extratos com o ácido clorídrico apresentavam efeito de cauda (QUEIROZ *et al.*, 2001). Assim, o volume final utilizado foi de 4,0 mL de urina acidificada a pH 2,0 com ácido sulfúrico.

De modo a maximizar a recuperação das 3 FQs, procedemos ao estudo de vários tempos de extração em banho de ultrassom, e os valores mais elevados ao fim de 5 min, o aumento do tempo de extração não correspondeu a um aumento na percentagens de recuperação. Devido aos interferentes presentes no extrato, e para minimizar o efeito de matriz, procedemos a um estudo de otimização da temperatura e força de centrifugação, fatores importantes na eliminação dos interferentes. Nesta fase, executaram-se vários ensaios a diferentes forças de centrifugação e a diferentes temperaturas de modo a avaliar a eliminação do maior número de interferentes. Assim, aumentando a força centrífuga a 4444 g, procedeu-se à apreciação do efeito da temperatura, a 20 °C, 10 °C e a 5 °C. Assim e de acordo com o esperado os melhores resultados foram obtidos a 5 °C (ZHAO *et al.*, 2007).

Antes da injeção no CLAE-DF, as amostras foram filtradas através de filtro de membrana (0,45 µm).

3.3 Validação

3.3.1 Seletividade

A matriz da amostra pode conter componentes que interferem no desempenho da medição. Os interferentes podem aumentar ou reduzir o sinal, e a magnitude do efeito também pode depender da concentração.

De modo a avaliar os interferentes presentes na amostra foram efetuados ensaios em branco, em um número de amostras representativas da urina humana (n=15). A figura 18 ilustra uma amostra de um branco na matriz urina, que demonstra a ausência de

interferentes nos t_R das FQs em estudo nas amostras analisadas segundo as condições de trabalho descritas, indicando a seletividade da metodologia proposta.

A figura 19 destaca o cromatograma obtido com a urina fortificada com as três fluoroquinolonas durante as análises do método.

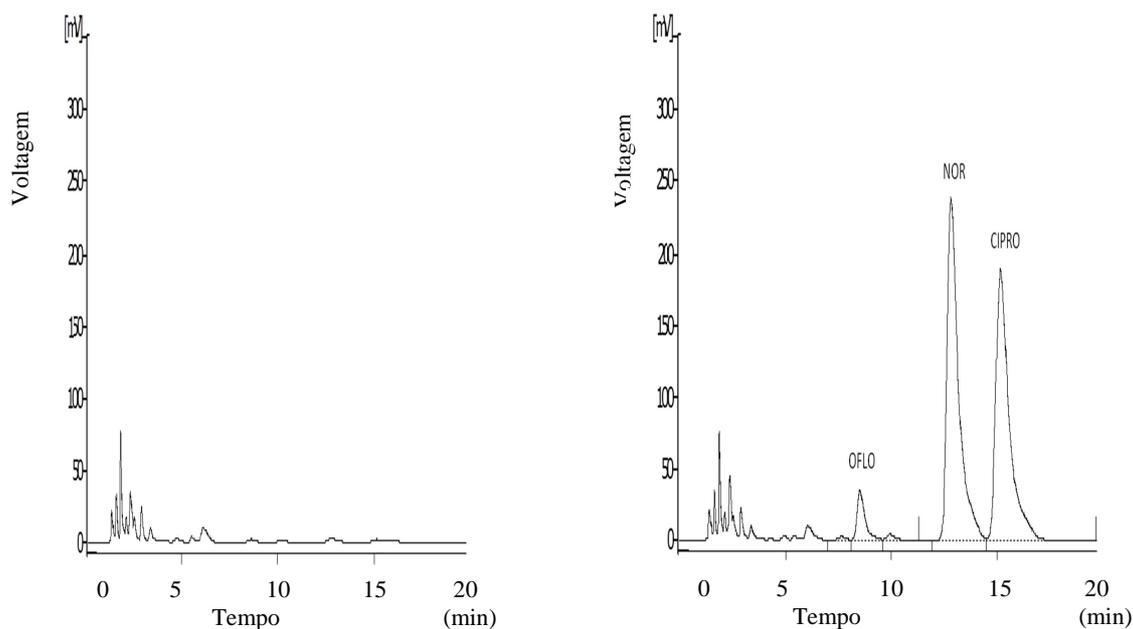


Figura 15: Cromatograma de amostra do ensaio em branco com urina humana; Figura 16: Cromatograma do ensaio de fortificação com $4 \mu\text{g mL}^{-1}$ de cada fluoroquinolona estudada na urina (ofloxacina, norfloxacina e ciprofloxacina).

3.3.2 Linearidade

A curva de calibração foi preparada com uma amostra de urina em branco com padrões de solução das três FQs diferenciando no intervalo de concentração que foi de 1 a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ para NOR e CIPRO e 1 a $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ para OFLO.

Os coeficientes de correlação da curva (r^2) foram de 0,9968, 0,9976 e 0,998 para a OFLO NOR e CIPRO, respectivamente. Observa-se que as três FQs apresentaram resposta na faixa linear das concentrações das três FQs utilizadas no estudo, estando de acordo com as normas exigidas pela Anvisa (BRASIL, 2003).

3.3.3 Limite de Detecção(LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Os LD e os LQ foram estabelecidos com base na relação de 3 vezes o ruído da linha de base, determinado pela equação 6 e 7.

$$LD = \frac{DP_a \times 3}{IC} \quad (6)$$

$$LD = \frac{DP_a \times 10}{IC} \quad (7)$$

Onde DP_a é o desvio padrão do intercepto com o eixo do Y nas 3 curvas de calibração e IC é o coeficiente angular da curva analítica (BRASIL, 2003).

Os LD obtidos para as três FQs foram de 0,3 µg mL⁻¹ e o LQ obtido segundo tais condições de trabalho foi de 1 µg mL⁻¹.

3.3.4 Recuperação

A recuperação foi para 5 níveis de fortificação, efetuando 5 ensaios, entre 1 a 20 µg mL⁻¹ para a OFLO, e entre 1 a 10 µg mL⁻¹ para a NOR e CIPRO.

As porcentagens de recuperação obtidas a partir de amostras de urina fortificadas com as FQs atingiram valores elevados, variando de 80 a 107% com coeficiente de variação relativamente baixo (CV) (Tabela 7). Esses valores demonstraram que o método está de acordo com o estabelecido pela Anvisa (BRASIL, 2003), que determinam que as porcentagens de recuperação devam estar próximas de 100% admitindo-se valores de CV menores ou iguais a 20% estabelecidos para os níveis de concentração em estudo.

Tabela 7: Linearidade, precisão e recuperação para OFLO, NOR e CIPRO em amostra de urina humana.

Fluoroquinolonas	Concentração adicionada (µg mL ⁻¹)	Concentração média encontrada (µg mL ⁻¹)	D.P. (µg mL ⁻¹)	CV (%)	Recuperação (%)
OFLOXACINA R ² = 0,9968	1	0,81	0,13	16,41	81,16
	2	1,72	0,20	11,65	85,85
	4	4,01	0,01	0,22	100,31
	10	10,74	0,52	4,86	107,39
	15	15,22	0,15	1,01	101,45
	20	19,50	0,35	1,8	97,52
NORFLOXACINA R ² = 0,9976	1	0,82	0,13	15,45	82,06
	2	1,99	0,01	0,33	99,53
	4	4,28	0,20	4,67	107,07
	6	6,00	0,00	0,03	99,96
	10	9,91	0,07	0,66	99,08
CIPROFLOXACINA R ² = 0,998	1	0,80	0,14	17,16	80,47
	2	2,13	0,09	4,38	106,60
	4	4,19	0,13	3,19	104,72
	6	5,89	0,08	1,29	98,20
	10	9,98	0,01	0,12	99,82

3.3.5 Repetitividade e Precisão Intermediária

A repetitividade foi avaliada por injeção no mesmo dia das soluções referidas em triplicata (n=3) e a precisão intermediária durante três dias consecutivos (BRASIL, 2003).

A repetitividade a precisão intermediária foram estabelecidas para as análises das amostras de urina fortificadas a três níveis de fortificação (1, 10 e 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para OFLO e 1,4 e 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para NOR e CIPRO) (Tabela 8).

Tabela 8: Repetitividade e Precisão Intermediária para ofloxacina, norfloxacina e ciprofloxacina.

Fluoroquinolonas	Nível de fortificação ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação (%)	Precisão	Repetitividade
			Intermediária CV (%)	CV (%)
OFLOXACINA	1	78,3	1,65	2,89
	10	93,95	7,48	4,37
	20	81,18	8,94	4,69
NORFLOXACINA	1	81,58	2,29	3,14
	4	97,87	5,24	3,91
	10	92,29	5,22	3,97
CIPROFLOXACINA	1	74,2	2,12	2,59
	4	96,27	5,72	6,03
	10	92,33	5,96	4,11

A repetitividade, expressa em coeficiente de variação (CV), foi inferior a 6% (tabela 2). Os valores de precisão intermediária, para os três níveis de fortificação, variaram entre 1,65 a 8,94% para a OFLO, 2,29 a 5,24% para a NOR e 2,12 a 5,96% para a CIPRO. Estes resultados provam que o método proposto apresenta uma avaliação da precisão adequada para a análise destes antibióticos em amostras de urina, uma vez que os valores de CV obtidos foram inferiores a 6%. A precisão intermediária se mostrou semelhante à repetitividade apresentando uma tendência de diminuição à medida que os níveis de fortificação aumentavam com valores de CV inferiores a 8,9%. Os valores estão de acordo com as características da amostra. Normalmente, métodos que quantificam compostos em macro quantidades requerem um CV de 1 a 2%. Em métodos de análise de traços ou impurezas, são aceitos CV de até 20%, dependendo da complexidade da amostra (RIBANI *et al.*, 2004).

4 DISCUSSÃO

Na literatura encontra-se descrito um número significativo de metodologias analíticas para a quantificação das FQs em diversas matrizes, como em plasma humano (LIANG *et al.*, 2002; DE SMET *et al.*, 2009; SOUSA *et al.*, 2010), em tecidos de animais (PEREIRA, 2009; SCHNEIDER *et al.*, 2002; POSYNIK *et al.*, 2001) e em amostras ambientais (SEIFRTOVÁ *et al.*, 2008; PENA *et al.*, 2010; PAYÁN *et al.*, 2011).

No que se refere à matriz urina humana, os métodos utilizados por Mascher *et al.* (1998) e Espinosa-Mansilla *et al.*, (2006) também utilizaram CLAE-DF para análise de FQs. Mascher *et al.*, (1998) estudaram apenas a identificação de NOR, enquanto Espinosa-Mansilla *et al.*, (2006) procederam à quantificação simultânea de mais de uma FQ porém sem contemplar a determinação de CIPRO. Dentre as FQs utilizadas hoje a CIPRO é a mais importante e está entre os 343 medicamentos mais utilizados no mundo estando presente no Formulário Terapêutico Nacional – RENAME 2010.

O método de Ballestreros *et al.*, (2003) determinou simultaneamente OFLO, NOR e CIPRO em urina por extração em fase-sólida em CLAE-IES-EM (ionização por *electrospray*). Eles conseguiram um limite de detecção bastante baixo, 13 $\mu\text{g } \ell^{-1}$ para NOR, 21 $\mu\text{g } \ell^{-1}$ para OFLO e 17 $\mu\text{g } \ell^{-1}$ para CIPRO, mas utilizando um método mais caro e mais trabalhoso do que o utilizado por este trabalho e por Espinosa-Mansilla *et al.* (2006) Já Goyal *et al.*, (2012) utilizaram um método de detecção eletroquímica que é um método menos seletivo que a CLAE e apenas para a norfloxacin o método foi desenvolvido.

O presente trabalho propôs uma metodologia analítica simples, sem necessidade de recorrer a etapa de clean-up que geralmente exige o uso de grandes quantidades de solventes orgânicos e outros procedimentos, como a extração em fase sólida. Estas simplificações não prejudicaram a qualidade dos resultados e contribuíram para a facilidade de operação, o baixo custo do método desenvolvido, a rapidez da análise laboratorial e a redução do consumo de solventes. A eliminação de interferentes e a obtenção de extratos límpidos foram alcançadas através da otimização da centrifugação, aumentando a força centrífuga (g) e reduzindo a temperatura de centrifugação como foi descrito anteriormente. O método foi validado e mostrou-se seletivo, preciso e com boa recuperação para a determinação simultânea das três FQs em estudo na matriz urina humana. Os resultados obtidos através da análise de regressão linear das curvas de

calibração obtidas para a matriz demonstram boa linearidade para todos os três compostos analisados. A análise desses dados permite inferir que os requisitos de linearidade exigidos pela Anvisa foram atendidos, já que o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r^2) deve ser igual a 0,99 (BRASIL, 2003).

A detecção fluorimétrica permitiu um maior grau de seletividade constituindo um poderoso método analítico na análise de resíduos de FQs, principalmente quando à necessidade de reduzir as interferências nas matrizes, uma vez que existem poucos compostos naturais que possuem fluorescência nativa (GOLET *et al.*, 2001; GONZALEZ *et al.*, 2006; SEIFRTOVÁ *et al.*, 2008; GIL, 2009; PENA *et al.*, 2010).

A fluorescência nativa das FQs permite a sua detecção seletiva podendo alcançar limites de detecção bastante baixos utilizando uma metodologia mais acessível e mais barato relativamente à espectrometria de massa permitindo a identificação e quantificação simultânea de OFLO, NOR e CIPRO na urina humana (PEREIRA, 2009; PENA *et al.*, 2010).

5 CONCLUSÕES

O método analítico desenvolvido e validado comprovou ser simples, seletivo, preciso e com boa recuperação para a determinação simultânea das três FQs em estudo, OFLO, NOR e CIPRO em amostras de urina humana.

A metodologia analítica proposta apresenta-se como importante ferramenta analítica na avaliação do comportamento das FQs em estudo na urina humana, para a avaliação da sua remoção durante os diferentes tipos de tratamentos propostos, com vista à sua utilização como fertilizante.

6 REFERÊNCIAS

ALVES, A. B.; SILVA, M. G.; CARVALHO, P. R. N.; VISSOTTO, L. C. Validação e estimativa da incerteza de método para análise de licopeno e β -caroteno em polpa de tomate por cromatografia líquida de alta eficiência. **Quim. Nova**, v. 33, n. 9, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000900025&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 15 jan. 2011.

BALLESTEROS, O.; TORO I.; SANZ-NEBOT, V.; NAVALÓN, A.; VÍLCHEZ, J. L.; BARBOSA, J. Determination Of Fluoroquinolones In Human Urine By Liquid

Chromatography Coupled To Pneumatically Assisted Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **J. Chromatogr. B**, v. 798, n. 1, p. 137-144, 2003.

BRASIL. Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003. **Determina a Publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 22 de junho de 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acesso em: 10 mai. 2010.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. L. **Fundamentos da Cromatografia**. Campinas: Editora da Unicamp, 2006. 452 p.

DE SMET, J.; BOUSSERY, K.; COLPAERT, K.; DE SUTTER, P.; DE PAEPE, P.; DECRUYENAERE, J.; VAN BOCXLAER, J. Pharmacokinetics Of Fluoroquinolones In Critical Care Patients: A Bio-Analytical Hplc Method For The Simultaneous Quantification Of Ofloxacin, Ciprofloxacin And Moxifloxacin In Human Plasma. **J. Chromatogr. B. Analyt Technol. Biomed Life Sci.**, v. 877, n. 10, p. 961-967, 2009.

DORNE, J. L. C. M.; SKINNER, L.; FRAMPTON, J. K.; SPURGEON, D. S.; RAGAS, A. M. J. Human and environmental risk assessment of pharmaceuticals: differences, similarities, lessons from toxicology. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 4, p. 1259-1268, 2007.

ECOSANRES. **Guidelines on the Use of Urine and Faeces in Crop Production**. 2008 Disponível em: <http://www.ecosanres.org/pdf_files/ESR-factsheet-06.pdf>. Acesso em: 15 ago de 2011.

ESPINOSA-MANSILLA, A.; PEÑA, A. M.; GÓMEZ, D. G.; LÓPEZ, F. S. Determination of fluoroquinolones in urine and serum by using high performance liquid chromatography and multiemission scan fluorimetric detection. **Talanta**, v. 68, n. 4, p. 1215-1221, 2006.

GIL, E.S. **Controle Físico-Químico de Qualidade de Medicamentos**. 3. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2009.

GOLET, E. M.; ALDER, A. C.; HARTMANN, A.; TERNES, T.; GIGER, W. Trace Determination Of Fluoroquinolone Antibacterial Agents In Urban Wastewater By Solid-Phase Extraction And Liquid Chromatography With Fluorescence Detection. **Anal. Chem.**, v. 73, n. 15, p. 3632-3638, 2001.

GONZÁLEZ, C.; MORENO, L.; SMALL, J.; JONES, D. G.; SÁNCHEZ BRUNI, S. F. A liquid chromatographic method, with fluorometric detection, for the determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in plasma and endometrial tissue of mares. **Anal. Chim. Acta.**, v. 560, n. 1-2, p. 227-234, 2006.

GOYAL, R. N.; RANA, A. R. S.; CHASTA, H. Electrochemical Sensor For The Sensitive Determination Of Norfloxacin In Human Urine And Pharmaceuticals. **Bioelectrochemistry**, v. 83, n. 46, 2012.

GULYAS, H.; GAJUREL, D. R.; KUCHAREK, K.; SKWIOT, R.; WINKER, M.; FURMANSKA, M.; OTTERPOHL R. **Elimination of human pharmaceuticals by yellow water ozonation**. In: Conferência Internacional de Saneamento Sustentável: "Food and Water Security for Latin America". 1, 2007, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: v.1, p. 186-187, 2005.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos analíticos: DOQ-CGCRE-008**. Rio de

- Janeiro, 2011. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2011.
- KROL, G. J.; BECK, G. W.; BENHAM, T. HPLC Analysis Of Ciprofloxacin And Ciprofloxacin Metabolites In Body Fluids. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 14, n. 1-2, p. 181-190, 1995.
- LIANG, H.; KAYS, M. B.; SOWINSKI, K. M. Separation Of Levofloxacin, Ciprofloxacin, Gatifloxacin, Moxifloxacin, Trovafloxacin And Cinoxacin By High-Performance Liquid Chromatography: Application To Levofloxacin Determination In Human Plasma. **J. Chromatogr. B.**, v. 772, n. 1, p. 53-63, 2002.
- MARAZUELA, M. D.; MORENO-BONDI, M. C. Multiresidue determination of fluoroquinolones in milk by column liquid chromatography with fluorescence and ultraviolet absorbance detection. **J. Chromatogr. A**, v. 1034, n. 1-2, p. 25-32, 2004.
- Mascher, H. J.; Kikuta, C. Determination Of Norfloxacin In Human Plasma And Urine By High-Performance Liquid Chromatography And Fluorescence Detection. **J. Chromatogr. A**, v. 812, n. 1-2, p. 381-385, 1998.
- MIRANDA, J. A. **Caracterização Fotofísica de Derivados de Cumarinas**. 2001. 144 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2001.
- OMS, Organização Mundial da Saúde. **Overcoming Antimicrobial Resistance: Report on Infectious Diseases 2000**. 2000. Disponível em: <<http://www.who.int/infectious-disease-report/2000>>. Acesso em: 18 out. 2011.
- PAYÁN, M. R.; LÓPEZ, M. A. B.; FERNÁNDES-TORRES, R.; GONZÁLEZ, J. A.; MOCHÓN, M. C. Hollow fiber-based liquid phase microextraction (HF-LPME) as a new approach for the HPLC determination of fluoroquinolones in biological and environmental matrices. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 55, n. 2, p. 332-341, 2011.
- PENA, A.; PINA, J.; SILVA, L. J. G.; MEISEL, L.; LINO, C. M. Fluoroquinolone antibiotics determination in piggeries environmental waters. **J. Environ. Monitoring**, v. 12, n. 3, p. 642-646, 2010b.
- PEREIRA, A. M. P. T. **Determinação de resíduos de fluoroquinolonas em amostras de tecido muscular de frangos e respectivo impacto na saúde humana**. 2009. 129 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2009.
- PICÓ, Y.; ANDREU, V. Fluoroquinolones in soil-risks and challenges. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 387, n. 4, p. 1287-1299, 2007.
- POSYNIK, A.; ZMUDZKI, J.; SEMENIUK, S. Effects of the matrix and sample preparation on the determination of fluoroquinolone residues in animal tissues. **J. Chromatogr. A**, v. 914, n. 1-2, p. 89-94, 2001.
- PRONK, W.; BIEBOW, M.; BOLLER, M. Treatment of Source-Separated Urine by a Combination of Bipolar Electrodialysis and a Gas Transfer Membrane. **Water Sci. Technol.**, v. 53, n. 3, p. 139-146, 2006c.
- QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Quím. Nova**, v. 24, n. 1, p. 68-76, 2001.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Quím. Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

SANTOS, L. H.; ARAÚJO, A.N.; FACHINI, A.; PENA, A.; DELERUE-MATOS, C.; MONTENEGRO, M. C. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. **J. Hazard. Mater.**, v. 175, n. 1-3, p. 45-95, 2010.

SCHNEIDER, M. J.; DONOGHUE, D. J. Multiresidue analysis of fluoroquinolone antibiotics in chicken tissue using liquid chromatography-fluorescence-multiple mass spectrometry. **J. Chromatogr. B.**, v. 780, n. 1, p. 83-92, 2002.

SEIFRTOVÁ, M.; NOVÁKOVÁ, L.; LINO, C. M.; PENA, A.; SOLICH, P. An overview of analytical methodologies for determination of antibiotics in environmental waters. **Anal. Chim. Acta.**, v. 649, n. 2, p. 158-179, 2009.

SEIFRTOVÁ, M.; PENA, A.; LINO, C. M.; SOLICH, P. Determination of fluoroquinolone antibiotics in hospital and municipal wastewaters in coimbra by liquid chromatography with a monolithic column and fluorescence detection. **Anal Bioanal Chem.**, v. 391, n. 3, p. 799-805, 2008.

SOUSA, J. C. **Manual de antibióticos antibacterianos**. 2. ed. Porto: Universidade Fernando Pessoa, 2005.

SOUSA, J.; ALVES, G.; FORTUNA, A.; PENA, A.; LINO, C.; FALCÃO, A. Development and validation of a fast isocratic liquid chromatography method for the simultaneous determination of norfloxacin, lomefloxacin and ciprofloxacin in human plasma. **Biomed. Chromatogr.**, v. 25, n. 5, p. 535-541, 2010.

TETTENBORN, F.; BEHRENDT, J.; OTTERPOHL, R. **Resource recovery and removal of pharmaceutical residues** – Treatment of separate collected urine. Instituto e Gestão de Águas Residuárias e Proteção da Água, Universidade de Tecnologia de Hamburg-Harburg - TUHH, 2007. 119 p.

VAZQUEZ-ROIG, P.; ANDREU, V.; BLASCO, C.; PICÓ, Y. SPE and LC-MS/MS determination of 14 illicit drugs in surface waters from the Natural Park of L'Albufera (Valência, Spain). **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 397, n. 7, p. 2851-2864, 2010.

VYBÍRALOVÁ, Z.; NOBILIS, M.; ZOULOVA, J.; KVETINA, J.; PETR, P. High-performance liquid chromatographic determination of ciprofloxacin in plasma samples. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 37, n. 5, p. 851-858, 2005.

ZHAO, A. J.; JIANG, H. Y.; DING, S. Y.; LI, X.L.; WANG, G. Q.; LI, C.; SHEN, J. Z. A reliable LC method with fluorescence detection for quantification of (fluoro)quinolone residues in chicken muscle. **Chromatographia**, v. 65, n. 9-10, p. 539-544, 2007.

Comportamento de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana durante tratamento para reciclagem de nutrientes via estocagem ácida

Priscilla Garozi Zancheta, Angelina Pena e Ricardo Franci Gonçalves

Resumo

O comportamento de três antibióticos da classe das fluoroquinolonas (FQs), ofloxacina (OFLO), norfloxacin (NOR) e ciprofloxacina (CIPRO), na urina humana durante tratamento para reciclagem de nutrientes via estocagem foi o objeto de interesse desse trabalho. Os resultados indicam que o tratamento da urina humana através de estocagem ou através de acidificação, com vista a sua utilização como fertilizante agrícola, são concorrentes. O principal objetivo da estocagem é a eliminação de microrganismos patogênicos, o que pode ser conseguido com uma perda considerável de nutrientes N (volatilização) e P (precipitação). O mesmo objetivo pode ser atingido através da acidificação a valores de pH próximos de 2,0, que, no entanto, permitem a preservação do estoque de nutrientes N e P na urina. A estocagem da urina acidificada não foi capaz de reduzir as concentrações destes fármacos em quantidades significativas, considerando-se o limite de detecção do método cromatográfico empregado ($1,0 \mu\text{g } \ell^{-1}$). Consequentemente, o monitoramento da presença destes fármacos na urina humana a ser utilizada na agricultura deve ser implementado, quando a estocagem for utilizada como método único de tratamento. Nos testes microbiológicos realizados com a urina normal constatou-se que após um período de 15 dias e em temperatura ambiente, as densidades de coliformes totais e *E. coli* mostram-se nulas.

Palavras-chave: Fluoroquinolonas; Nutrientes; Urina Humana; Estocagem.

Abstract

The behavior of three fluoroquinolones antibiotics class (FQs), ofloxacin (OFLO), norfloxacin (NOR) and ciprofloxacin (CIPRO), in human urine during storage treatment for nutrient recycling was the object of interest of this work. The results indicate that storage treatment of human urine or acidification with a view to use as an agricultural fertilizer, are concurrent. The main goal of storage is the elimination of pathogenic microorganisms, which can be achieved with a considerable loss of nutrients N (volatilization) and P (precipitation). The same goal can be reached by acidification at pH ~ 2.0 , however, permit the preservation of N and P in the urine. The storage of the acidified urine was not able to reduce the concentrations of these pharmaceuticals in significant quantities, considering the detection limit of the chromatographic method ($1.0 \mu\text{g } \ell^{-1}$). Therefore, monitoring the presence of these pharmaceuticals in human urine must be implemented, when the storage treatment is used as a single treatment. In microbiological tests realized with normal urine during the storage treatment, was found that after a period of 15 days and at room-temperature, the levels of total coliforms and *E. coli* tended to zero.

Keywords: Fluoroquinolones; Nutrients; Human Urine; Storage.

1 INTRODUÇÃO

O uso indiscriminado de antibióticos nas medicinas humana e veterinária é objeto de amplo debate atualmente, devido ao crescimento constante do fenômeno de resistência bacteriana a uma ampla variedade de medicamentos no mundo (RABOLLE *et al.*, 2000, GUARDABASSI *et al.*, 2002). Alguns grupos de fármacos também suscitam uma atenção especial, porque, uma vez excretados do corpo, passam a ser considerados como micropoluentes por oferecerem riscos importantes à saúde humana e ao meio ambiente (SEIFRTOVÁ *et al.*, 2009).

A urina, além das fezes, é o principal meio de excreção de fármacos e hormônios do corpo humano, podendo estes últimos serem eliminados na forma de metabólitos ou inalteradamente. Dentre os fármacos, merecem especial atenção os antibióticos do grupo das fluoroquinolonas (FQs), que experimentam uso crescente hoje em dia devido a sua alta potência e ao seu largo espectro de atividade contra organismos patogênicos Gram-negativos e Gram-positivos. Uma vez excretadas através da urina, as FQs continuam a persistir bioativamente em quantidades significativas em efluentes de estações de tratamento de águas residuárias (MOURA *et al.*, 2007) e podem ser adsorvidas nos solos de maneira estável e persistente (XU *et al.*, 2007; SEIFRTOVÁ *et al.*, 2009).

Por outro lado, a segregação da urina na fonte é considerada hoje uma importante medida na implementação de sistemas de saneamento sustentáveis, porque evita o aporte de importantes concentrações de nutrientes para o esgoto sanitário e, em última instância, para os corpos d' água (LARSEN E GUJER, 1996; HANÆUS *et al.*, 1997; OTTERPOHL *et al.*, 2001). Novos sistemas e equipamentos hidrossanitários recentemente desenvolvidos facultam a coleta da urina na escala das edificações, tendo como foco principal a recuperação e a reciclagem de nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio na agricultura (LARSEN E GUJER, 2001; EK *et al.*, 2006). Trata-se de uma prática que experimenta aceitação crescente, por oferecer importantes vantagens comerciais aos agricultores e por caracterizar-se pelo baixo risco à saúde e ao meio ambiente (JOHANSSON, 2001; RONTELTAP, 2011). Também é considerada como uma importante alternativa a ser implementada no combate à crescente deficiência de macronutrientes nos solos agrícolas e à exaustão das reservas superficiais de fosfato no planeta (GONÇALVES Jr, 2000 e EK *et al.*, 2006). Porém, o uso seguro da urina

humana como fertilizante agrícola exige um controle dos riscos químicos e biológicos envolvidos (PRONK e KONE, 2009).

Os riscos biológicos não são de alta magnitude e podem ser controlados através de uma simples estocagem da urina em reservatórios por períodos de tempo que podem atingir nas regiões frias até 6 meses de duração, de acordo com as recomendações de WHO (2006). A amonificação natural da urina ao longo do tempo e a consequente alcalinização da urina estocada asseguraram a inativação dos patógenos oriundos de eventuais contaminações fecais (HOGLUND *et al.*, 1998, 2001, 2002, JOHANSSON 2001; MANILA *et al.*, 2003; GAJUREL *et al.*, 2007;. HEINONEN-TANSKI *et al.*, 2007; ZANCHETA, 2007). Na tentativa de prevenir a perda de quantidades importantes de amônia por volatilização durante a estocagem Hellström *et al.*, (1999) estudaram a acidificação da urina a pH inferior a 4,0 previamente à sua introdução no reservatório .

Entretanto, dependendo do tipo de micropoluinte envolvido, os riscos químicos são mais sérios e podem exigir técnicas de controle mais complexas. A urina utilizada na agricultura pode conter alguns desses micropoluentes que podem ser absorvidos pelas plantas e, assim, entrar na cadeia alimentar humana. Este é um risco, mas é pequeno segundo Ronteltap, (2011) que sugere uma avaliação completa dos potenciais efeitos tóxicos de produtos farmacêuticos ingeridos por seres humanos através das culturas fertilizadas com urina. Os riscos potenciais de culturas fertilizadas com urina devem ser comparados com os riscos ligados aos pesticidas, bem como antibióticos e hormônios utilizados em animais (aves e gado) para consumo humano. Como exemplo dos efeitos tóxicos, pode ser citado o antibiótico ciprofloxacina (CIPRO), pertencente ao grupo das FQs, que foi testado em algas numa comunidade natural de água doce, a montante e a jusante do sistema de tratamento de águas residuárias, onde foram observadas diferenças significativas no rendimento final da biomassa, na estrutura das algas em suspensão, na capacidade de processamento de nutrientes e na cadeia alimentar natural do ecossistema (HALLING-SORENSEN *et al.*, 1998; HIRSCH *et al.*, 1999).

As FQs são quimicamente compostas por um hidrocarboneto heterocíclico com um grupo carboxila na posição 4, sendo a NOR também denominada por ácido 1-etil-6-fluoro-1,4-diidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolinocarboxílico, a OFLO por ácido (±)-9-fluoro-2, 3-dihidro-3-metil-10-(4-metil-1-piperazinil)-7-oxo-7H-pirido [1,2,3-de]-1, 4-enzoxazino-6-carboxílico e a CIPRO conhecida por 1-ciclopropil-6-fluoro-4-oxo-7-piperazinil-quinolina-3-ácido carboxílico. Essas FQs possuem um amplo espectro de

atividade antibacteriana e suas aplicações clínicas vão além das infecções do trato geniturinário, incluindo infecções respiratórias, gastrointestinais, ginecológicas, doenças sexualmente transmissíveis e algumas infecções de pele (NEMUTLU *et al.*, 2007; SILVA, 2010), sendo extensivamente utilizadas na medicina humana e veterinária podendo levar a um aumento significativo da resistência antimicrobiana, com importantes consequências para a saúde pública (TURIEL *et al.*, 2004).

Neste contexto, o presente estudo avaliou o comportamento de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana durante tratamento via estocagem ácida com vistas à reciclagem agrícola de nutrientes.

2 METODOLOGIA

A sequência das ações empreendidas nessa pesquisa foi: coleta e preparo das amostras de urina humana com e sem acidificação, preparação dos padrões de FQs, ensaios de estocagem da urina humana, monitoramento da qualidade e tratamento dos dados.

Coletas de amostras de urina humana - As amostras de urina foram recolhidas em frascos estéreis, próprios para coleta de urina com capacidade de 60 mL utilizando a primeira urina da manhã de 30 voluntários, com faixa etária entre 21 e 48 anos, sendo 20 pessoas do sexo feminino e 10 do sexo masculino, entre professores, alunos e técnicos da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, aos quais foi solicitado o preenchimento de um inquérito a fim de avaliar a medicação utilizada por cada voluntário. Os voluntários que estavam fazendo uso de qualquer tipo de medicamento durante o período de coleta, foram excluídos da amostragem. Do volume total recolhido (7,0 l) foi necessária a utilização de 2,0 l para preparação das amostras de estocagem.

Para as características médias da urina, foram utilizadas um n igual a 4, sendo que para cada n foram coletadas amostras como supracitado. Foram feitos os mesmo procedimentos com urina sem e com acidificação.

Preparações das amostras de urina humana e dos padrões de FQs - Dois tipos de amostras foram preparados a partir da urina coletada: urina não acidificada (urina normal) e urina acidificada. O preparo das amostras foi realizado logo após a entrega das amostras de urina pelos voluntários no período matutino e mantidas em temperatura

ambiente para manipulação. Do volume recolhido, 1,5 ℓ, foi acidificado com ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado (96% P.A; 98,08 g mol⁻¹ de massa molar) para abaixar o pH entre 2,0 e 2,5, onde foi necessário a adição de 18,4 mmol do ácido por litro de urina humana. O 0,5 ℓ restante de urina foi mantido em pH normal (~pH 6,0). As soluções estoque de OFLO, NOR e CIPRO 1 mg ml⁻¹ foram preparadas dissolvendo-se 50 mg do padrão respectivo em H₂SO₄ 0,005 mol ℓ⁻¹ num balão de vidro âmbar de 50 ml. As soluções estoque de trabalho foram uma mistura das três FQs preparadas por diluição adequada das soluções estoque também utilizando H₂SO₄ 0,005 mol ℓ⁻¹. As soluções estoque foram armazenadas a 4 °C.

Ensaio de estocagem - Para os ensaios de estocagem, 8 frações de 250ml, sendo seis frações de urina acidificada e duas frações de urina normal foram divididas em frascos tipo “shot” de igual volume e classificadas em três níveis: a) nível 1 – três frações, duas acidificadas e uma de urina normal foram mantidas em branco para controle, b) nível 2 – duas frações acidificadas com uma concentração de 1,6 µg ml⁻¹ da solução estoque de trabalho, c) nível 3 - três frações, duas acidificadas e uma com urina normal com uma concentração de 3,2 µg ml⁻¹. Duas amostras do nível 1, uma acidificada e uma normal, uma amostra do nível 2 e duas amostras do nível 3, uma acidificada e uma normal foram mantidas a 20 °C. As demais amostras foram mantidas a 4 °C. Ambas foram armazenadas durante 6 semanas no escuro e examinadas semanalmente e no mesmo dia. Para as análises físico-químicas foram utilizadas amostras do nível 3, sendo uma normal e uma acidificada que ficaram estocadas a 20 °C. Para as análises das fluoroquinolonas foram utilizadas as amostras de urina acidificada nos três níveis nas duas temperaturas de estocagem (Figura 17). As concentrações das FQs utilizadas foram selecionadas após o estabelecimento do limite de quantificação do método validado (1,0 µg ml⁻¹) (ver Zancheta *et al.*, 2012a), sendo propostas duas concentrações: 1,6 µg ml⁻¹ e 3,2 µg ml⁻¹. Para a definição destas concentrações levou-se em consideração que as FQs são prescritas em humanos entre 300-600 mg por dia para fins terapêuticos e são quase que totalmente eliminadas na forma de compostos inalterados na urina e conseqüentemente são lançadas no ambiente (SEIFRTOVÁ *et al.*, 2008).

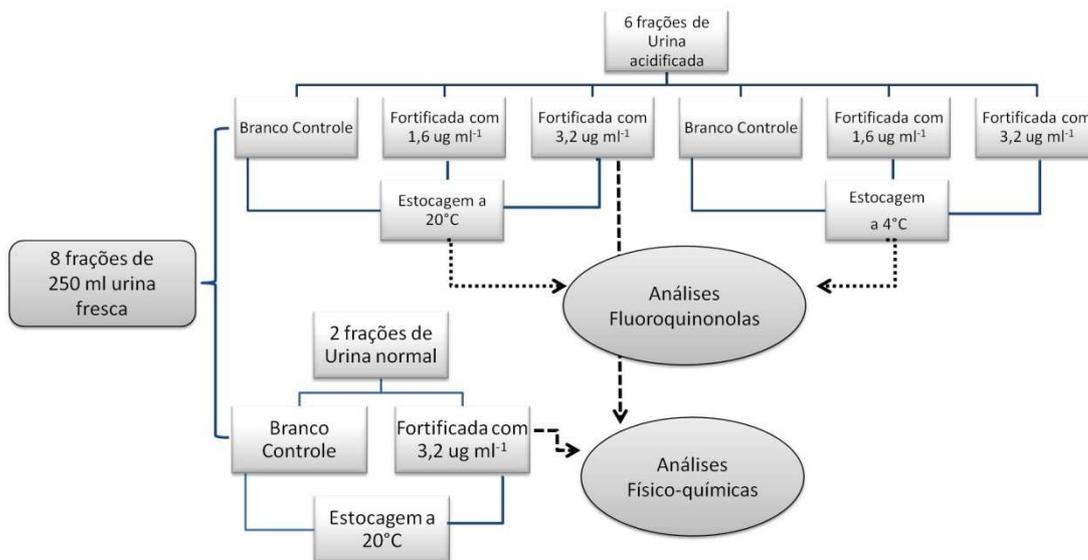


Figura 17: Fluxograma das análises de estocagem.

Monitoramento dos ensaios por CLAE-DF - Para o monitoramento das análises via cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi necessário à aquisição e utilização de vários reagentes e equipamentos. Os padrões de OFLO, NOR e CIPRO foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Estes padrões possuem > 98% de pureza. O metanol grau HPLC foi obtido de Carlo Erba (Milão, Itália), o ácido fosfórico 85% de Merck (Alemanha) e a acetonitrila grau HPLC de Pancreac Chemistry (Barcelona, Espanha). Todos os reagentes utilizados em CLAE foram desgaseificados durante 15 min em um banho de ultrassom (Sonorex RK 100 - Berlim, Alemanha) antes de sua utilização. Para a descontaminação, as vidrarias foram lavadas com uma solução de hipoclorito de sódio e depois imersos em $4 \text{ ml } \ell^{-1}$ de H_2SO_4 . Após, para neutralização do pH as vidrarias foram lavadas com água destilada. Um agitador magnético (Agimatic-S, Selecta, Barcelona, Espanha), um vórtex Retsh (Haan, Alemanha) e uma centrífuga modelo 3-16K da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) foram utilizados para preparação das amostras. O método CLAE aqui descrito foi realizado com uma bomba (modelo 305, Gilson Medical Electronics, França), um injetor (modelo 7125 Rheodyne, Cotati, Califórnia, EUA) com um *loop* de $20 \mu\ell$ e um detector de fluorescência (DF) (LabAlliance, State College) operado a um comprimento de onda de excitação de 278 nm e um comprimento de onda de emissão de 450 nm.

O método CLAE-DF baseou-se na utilização de uma coluna polimérica C18 (250 x 4,6 mm, 5 mm) Phenosphere ODS (2) (Phenomenex) equipada com pré-coluna Securityguard (Phenomenex). As três FQs foram eluídas em modo isocrático, com uma

solução filtrada a vácuo de H_3PO_4 0,025 M (pH 3,0 com hidróxido de tetrabutilamônio (TBA)) - metanol e acetonitrila (910:70:20; v/v/v) como fase móvel. O sistema de CLAE-DF foi operado a temperatura ambiente (15 °C a 25 °C), com fluxo de $1,4 \text{ mL min}^{-1}$. Uma alíquota de 4 mL de cada amostra dos ensaios de estocagem e evaporação foi transferida para um tubo de centrifugação de vidro âmbar, adicionada com 6 mL de H_2SO_4 0,005 mol ℓ^{-1} , após foi agitada em vórtex e levada ao banho de ultrassom durante 5 minutos e centrifugada (15 min, 4444g, a 5 °C). O sobrenadante foi filtrado através de um filtro de membrana de 0,45 μm e injetado no sistema cromatográfico.

Monitoramento dos ensaios através de métodos laboratoriais para a caracterização físico-química e microbiológica das amostras -A caracterização físico-química das amostras de urina foi realizada através das seguintes variáveis: pH, condutividade elétrica, cloreto, sulfato, fósforo total (P), amônia (N-NH₄), nitrogênio total Kjeldhal (NTK), potássio e sólidos totais (ST). A análise microbiológica foi realizada através da avaliação da densidade de *Escherichia coli* (*E.coli*) utilizando a técnica do substrato cromofluorogênico (Colilert®), com quantificação por meio de cartela.

Os métodos laboratoriais obedeceram aos procedimentos recomendados pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* – 21ª Edição (APHA, 2005).

Tratamento e interpretação dos dados - A análise estatística dos resultados físico-químicos e cromatográficos foi realizada utilizando o software Excel, para análise da estatística descritiva dos parâmetros analisados (média, máximo, mínimo, desvio padrão e coeficiente de variação). Ainda para as análises físico-químicas foi realizado teste de hipóteses para a diferença nas médias com variâncias desconhecidas com nível de confiança de 95%. A validação da metodologia analítica de CLAE-DF foi realizada através dos parâmetros de seletividade, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação e precisão como descrito em Zancheta *et al.*, 2012a.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Características médias da urina humana

Todas as concentrações dos elementos químicos analisados na urina normal encontram-se dentro da faixa de valores publicados por outros autores, caracterizando-se pelos elevados teores elevados de nitrogênio, fósforo, potássio, sulfato e cloreto e sólidos totais (JONSSON *et al.*, 1997; JOHANSSON, 2001; STOWA *et al.*, 2001; UDERT *et al.*, 2003; BAZZARELLA *et al.*, 2005; GONÇALVES, *et al.*, 2005; TETTENBORN *et al.*, 2007; ANTONINI *et al.*, 2012) (Tabela 9).

Tabela 9: Características da urina fresca (urina normal).

		Urina normal (n=4)	Máx.	Mín.	D. P.	C.V.(%)	JONSSON <i>et al.</i> , (1997); JOHANSSON, (2001); STOWA, (2001); UDERT <i>et al.</i> , (2003); BAZZARELLA <i>et al.</i> , (2005); GONÇALVES <i>et al.</i> , (2005); TETTENBORN <i>et al.</i> , (2007); ANTONINI <i>et al.</i> , (2012).
pH		6,3	6,7	5,9	0,4	5,9	4,8 a 8,2
Cond. Elétrica	mS cm ⁻¹	16,9	20,6	12,3	3,5	20,6	13,6 a 31,4
P-total	mg ℓ ¹	715,5	893,9	501,8	165,2	23,1	313 a 900
NTK	mg ℓ ¹	6975,8	8021,0	4578,0	1607,9	23,1	5000 a 10884
NNH ₄ ⁺	mg ℓ ¹	4500,3	6523,0	3826,0	1348,5	30,0	835 a 3576
Potássio	mg ℓ ¹	1058,1	1815,5	208,9	675,9	63,9	800 a 2200
Sulfato	mg ℓ ¹	1188,2	1587,1	633,0	401,1	33,8	748 a 1500
Cloreto	mg ℓ ¹	3923,7	5148,0	2849,0	956,6	24,4	3800 a 3830
ST	mg ℓ ¹	13,5	18,4	10,8	3,5	25,9	---

O pH normal da urina de um adulto é da ordem de 6,0, podendo variar de 4,8 a 8,2 (STOWA, 2001). Não obstante, doenças como diarreia, diabetes mellitus e insuficiência renal crônica tendem a gerar acidose no organismo, resultando em valores de pH inferiores. Os casos de alcalose são decorrentes de aumento de aldosterona, vômito do conteúdo gástrico e ingestão de fármacos alcalinos, o que pode gerar urinas alcalinas (GUYTON, 2008; LEAL *et al.*, 2008).

A ampla faixa de variação de concentrações de alguns elementos químicos presentes na urina humana é uma consequência da dieta alimentar dos indivíduos (TETTENBORN *et al.* 2007). Uma dieta rica em produtos lácteos, carnes e peixes resultam em elevados teores de fósforo na urina. No caso dos alimentos com proteínas ricas em aminoácidos, como ovos, alimentos de soja, peixes carnes, dentre outros, elevadas concentrações de nitrogênio são detectadas (MALISIE *et al.*, 2007). O mesmo pode ser afirmado com relação aos conteúdos de sulfato na urina.

CENEVIVA *et al.*, (2008) encontraram concentrações de 4602 mg ℓ^{-1} de cloro e 13.650 mg ℓ^{-1} de potássio na urina de em um adulto saudável com dieta livre. Esses autores ressaltam que medicamentos tais como aldosterona e diuréticos podem resultar em diminuição das concentrações de Cl^- e K^+ .

3.2 Impacto da acidificação nas características médias da urina

A acidificação da urina resultou na manutenção das concentrações dos diversos elementos químicos próximas aos valores encontrados na urina normal (Tabela 10). As médias obtidas para NTK, condutividade elétrica, amônia (NNH_4^+), fósforo, potássio, cloreto e sólidos totais na urina acidificada (UA) e na urina normal não diferiram entre si no nível de 95% de confiança segundo o teste de hipóteses.

Tabela 10: Característica da urina fresca acidificada.

		Urina acidificada (n=4)	Máx.	Mín.	D. P.	C.V.(%)	HELLSTRÖM <i>et al.</i> ,(1999).
pH		2,4	2,5	2,3	0,09	3,9	2,0 a 4,0
Cond. Elétrica	mS cm^{-1}	22,9	34,9	16,5	8,47	37	---
P-total	mg ℓ^{-1}	707,3	943,9	482,3	189,18	26,7	---
NTK	mg ℓ^{-1}	6155,8	6887,0	4286,0	1255,82	20,4	7100 a 8100
NNH_4^+	mg ℓ^{-1}	3416,5	3826,0	2188,0	819,00	24	250 a 380
Potássio	mg ℓ^{-1}	1219,4	1837,1	353,0	708,07	58,1	---
Sulfato	mg ℓ^{-1}	3539,4	5808,1	2476,3	1561,66	44,1	---
Cloreto	mg ℓ^{-1}	3879,9	5148,0	2899,0	962,06	24,8	---
ST	mg ℓ^{-1}	12,4	20,6	9,0	5,51	44,4	---

A quantidade ótima de ácido sulfúrico a ser adicionada na urina humana é condicionada pela concentração inicial de nitrogênio orgânico ou, mais precisamente, de ureia na urina. A adição de 18,4 mmol de ácido sulfúrico por litro de urina forneceu a concentração molar de $3,68 \cdot 10^{-2}$ mol de H^+ , valor suficiente para inibir a atividade da urease a um pH de 2,4. Este valor muito é muito inferior ao reportado por Tettenborn *et al.*, (2007), que utilizaram 73,6 mmol de ácido sulfúrico concentrado por litro de urina estocada por alguns dias para conseguir uma redução de pH de 9,0, resultante da amonificação, para 6,0. Para Hellström *et al.*, (1999), a inibição da urease ocorre quando o pH da urina atinge valores inferiores a 4,0.

O principal impacto da acidificação na urina foi, além da redução do pH, o aumento na concentração de sulfato (198% maior) e no valor médio da condutividade (36% maior).

A concentração de sulfato aportada pelo ácido aumentou em pelo menos 1,80 g ℓ^{-1} a concentração desse elemento na urina, o que pode ser interessante por se tratar de um macro-nutriente para a agricultura.

3.3 Estocagem

3.3.1 Urina normal

A variação nas características físico-químicas e biológicas da urina normal submetida a estocagem por um período de 840 horas (36 dias) está de acordo com o descrito por outros pesquisadores e é resumida na tabela 11.

Tabela 11: Variação dos parâmetros físico-químicos ao longo da estocagem da urina normal.

Parâmetro	Unidade	Variação	Faixa	Diferença	TETTENBORN <i>et al.</i> , 2007.
pH		Aumento	6,7 - 9,3	+2,6	6,2 - 9,1
N-NH ₄ ⁺	mg N ℓ^{-1}	Aumento	6563 - 10208	+3645	480 - 8100
P total	mg P ℓ^{-1}	Redução	690 - 493	-197	---
Ortofosfato	mg P ℓ^{-1}	Redução	582 - 465	-117	740 - 540
Potássio	mg K ℓ^{-1}	Constante	987 - 1002	+15	2200 - 2200
Sulfato	mg S ℓ^{-1}	Constante	1306 - 1294	-12	1500 - 1500
Cloreto	mg Cl ℓ^{-1}	Constante	4049 - 4098	+49	3800 - 3800
Condutividade	mS cm^{-1}	Aumento	16,7 - 38,9	+22,2	---

Os valores de pH atingiram o valor de 9,5 nas primeiras 120 horas de estocagem, em decorrência da hidrólise da ureia e a formação de amônia, mantendo-se praticamente constantes até o final do período de monitoramento (Figura 18). Este é um comportamento típico descrito por outros autores, caracterizado por uma variação dos valores de pH de 6,0 até 9,5 (HELLSTRÖM *et al.*, 1999, UDERT, 2002, GANROT, 2005).

A concentração de N-NH₄⁺ variou ao longo tempo de estocagem de acordo com a variação de pH da urina (Figura 19). Por dependerem da atividade enzimática da urease, a variação destes parâmetros obedeceu a uma cinética de 1ª ordem, caracterizada por taxas de variação que decresceram ao longo do tempo de estocagem. Constatou-se que ao final da estocagem a amonificação foi significativa, com uma concentração de NTK de 10503 mg ℓ^{-1} e de nitrogênio amoniaco de 10208 mg ℓ^{-1} . A concentração final de NTK foi semelhante à encontrada por Johansson (2001), que foi de 10000 mg ℓ^{-1} .

No caso das concentrações de fósforo, a redução ocorreu de forma linear ao longo do período de estocagem, observando-se ao final uma transformação do P orgânico em

ortofosfato (Figura 20 e Figura 21). A diminuição na concentração de ortofosfato ocorre em virtude da precipitação em pH alcalino de fosfatos de magnésio e cálcio, como estruvita $[\text{MgNH}_4\text{PO}_4]$ e hidroxiapatita $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_2(\text{OH})]$, além de CaCO_3 (UDERT *et al.*, 2003). A concentração final de fósforo total foi de $493 \text{ mg } \ell^{-1}$ na urina normal estocada, o que se aproxima do valor de $540 \text{ mg } \ell^{-1}$ encontrado por Tettenborn *et al.*, (2007) em experimento similar.

A condutividade elétrica na urina normal variou em uma faixa de $16,7$ a $39,3 \text{ mS cm}^{-1}$, permanecendo durante maior período de tempo na faixa em torno de $37,0$ a $39,0 \text{ mS cm}^{-1}$. A condutividade na urina fresca possui um valor médio de $17,8 \text{ mS cm}^{-1}$ ($\pm 6,56$) (GONÇALVES *et al.*, 2005), valor semelhante ao encontrado neste artigo no início do ciclo da estocagem. O valor mais elevado no decorrer do ciclo deve-se principalmente a formação do íon NH_4^+ através da hidrólise da ureia. Os íons diretamente responsáveis pelos valores da condutividade são, entre outros, amônio, o cálcio, o magnésio, o potássio, o sódio, carbonatos, sulfatos e cloretos (Figura 22 e Figura 23) (ZANCHETA, 2007).

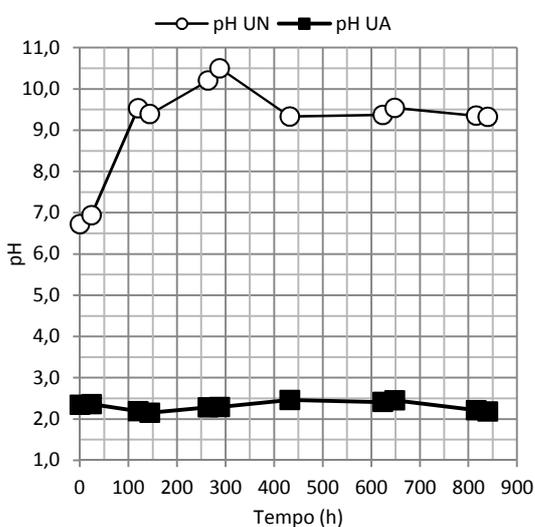


Figura 18: Comportamento do pH na urina normal (UN) e urina acidificada (UA).

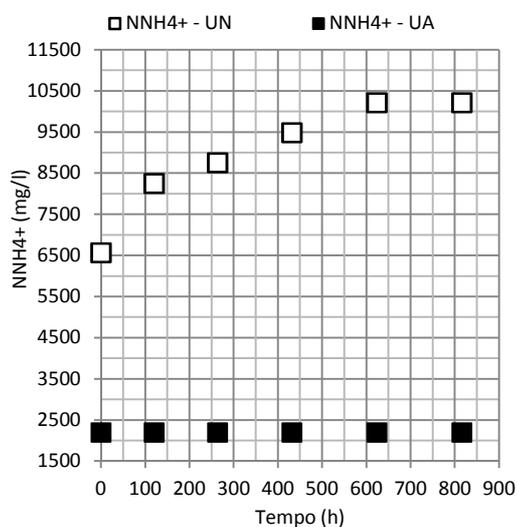


Figura 19: Comportamento da amônia na urina normal (UN) e urina acidificada (UA).

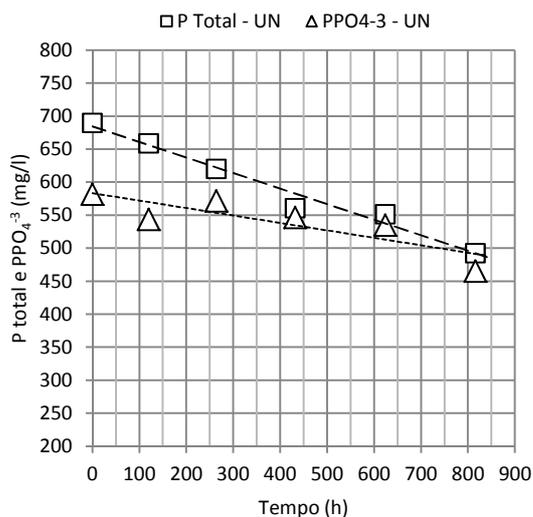


Figura 20: Comportamento do fósforo total e ortofosfato na urina normal (UN).

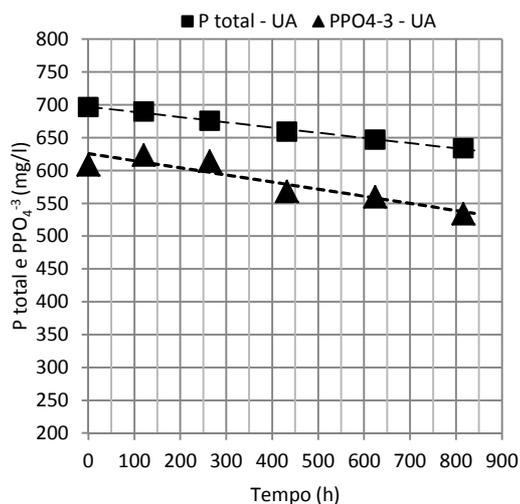


Figura 21: Comportamento do fósforo total e ortofosfato na urina acidificada (UA).

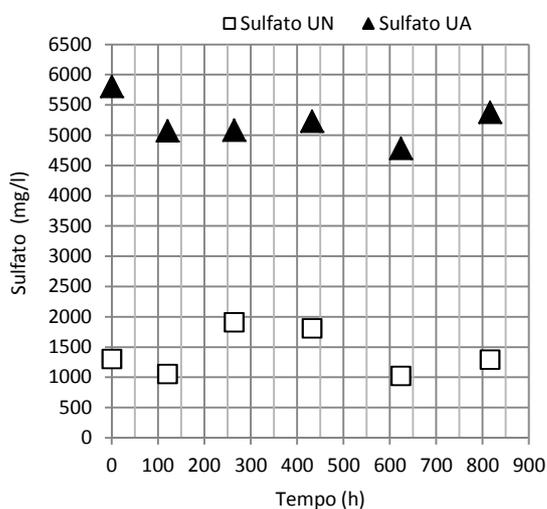


Figura 22: Comportamento do sulfato na urina normal (UN) e urina acidificada (UA).

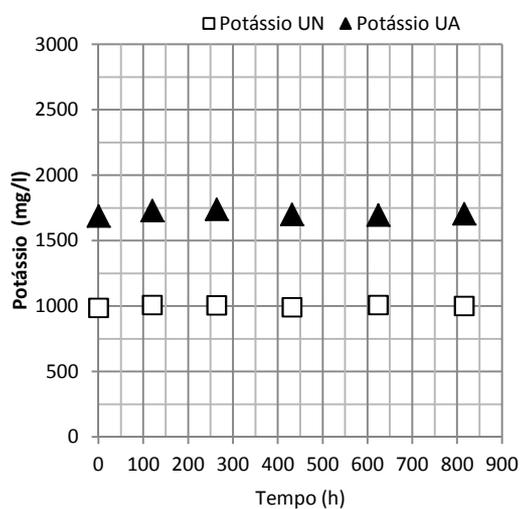


Figura 23: Comportamento do Potássio na urina normal (UN) e urina acidificada (UA).

3.3.2 Urina Acidificada

Nos reservatórios com urina acidificada o pH foi mantido praticamente estável durante todo o período de estocagem, com variação entre 2,3 e 2,5 do início ao fim do ciclo (Figura 18 e Tabela 12). Esse valor inicial de pH foi obtido pela adição de 18,4 mmol de H_2SO_4 concentrado por litro de urina, o que provou ser suficiente para assegurar a estabilidade por um período de 36 dias. Um resultado similar foi conseguido por Hellström *et al.*, (1999), que, com a 29,44 mmol de H_2SO_4 concentrado por litro de urina, conseguiu manter o pH em 2,2 por 45 dias.

Tabela 12: Variação dos parâmetros físico-químicos ao longo da estocagem da urina acidificada.

Parâmetro	Unidade	Variação	Faixa	Diferença	HELLSTRÖM <i>et al.</i> , (1999).
pH		Constante	2,34 - 2,18	-0,16	2,0 → 4,0
NTK	mg N ℓ ⁻¹	Constante	6563 - 6927	+364	7100 → 8100*
N-NH ₄ ⁺	mg N ℓ ⁻¹	Constante	2188 - 2188	0	250 → 380*
P total	mg P ℓ ⁻¹	Redução	697 - 634	-63	---
Ortofosfato	mg P ℓ ⁻¹	Redução	605 - 534	-71	---
Potássio	mg K ℓ ⁻¹	Constante	1690 - 1706	+16	---
Sulfato	mg S ℓ ⁻¹	Constante	5808 - 5380	-428	---
Cloreto	mg Cl ℓ ⁻¹	Constante	4024 - 3849	-175	---
Condutividade	mS cm ⁻¹	Constante	34,9 - 34,3	-0,6	---

*Valores iniciais.

O principal resultado da acidificação da urina foi a preservação da concentração de nitrogênio amoniacal praticamente constante ao longo do período de estocagem (~ 2000 mgN ℓ⁻¹). As concentrações de NTK obtidas ao final do ciclo de estocagem foram de 6927 mgN ℓ⁻¹ na urina acidificada, preservando as formas orgânicas de nitrogênio em uma concentração de 4927 mgN ℓ⁻¹. Na pesquisa realizada por Hellström *et al.*, (1999) também com urina acidificada, não apresentaram os valores de nitrogênio total ao final do período, apresentando apenas os valores iniciais, que variavam em torno de 7100 a 8100 mg ℓ⁻¹. Hellström *et al.*, (1999) concluíram que a adição de ácido sulfúrico no começo do ciclo de estocagem pode inibir a decomposição da ureia.

As concentrações finais de fósforo e ortofosfato foram de 634 mg ℓ⁻¹ e de 534 mg ℓ⁻¹ respectivamente na urina acidificada e estocada. Tilley *et al.*, (2008) relataram uma remoção de 31% da concentração de fósforo durante a estocagem de urina normal, em virtude da precipitação espontânea de fosfatos. Na urina acidificada do presente estudo, como o pH manteve-se em torno de 2,3 e 2,5, a diminuição na concentração de fósforo foi de apenas 9% contra uma remoção de 29% na urina normal (Figura 20 e Figura 21).

Na urina acidificada, devido à adição de ácido sulfúrico no início da estocagem, ocorreu um aumento na concentração de íons sulfato na urina, o que elevou o valor inicial da condutividade elétrica para 35,0 mS cm⁻¹. Concorrem para estes valores outros íons presentes em grande quantidade, tais como cloretos encontrados sob concentrações de 4000 mg ℓ⁻¹ na urina normal e de 3900 mg ℓ⁻¹ na urina acidificada. Para a irrigação recomenda-se uma condutividade de apenas 3,0 mS cm⁻¹ (AYERS E WESTCOT, 1991), o que indica que a urina estocada deve ser diluída em água para a fertirrigação (SOUSA *et al.*, 2008). Outra importante diferença com relação à estocagem normal foi

o aumento para 5200 mg ℓ^{-1} da concentração de sulfato na urina acidificada, devido ao aporte de sulfato pelo próprio ácido sulfúrico.

O valor médio de potássio obtido na urina normal foi de 1000 mg ℓ^{-1} enquanto na urina acidificada foi de 1700 mg ℓ^{-1} , acima do valor encontrado em urina normal por Udert e Wächter, (2012) (1400 mg ℓ^{-1}) e abaixo do encontrado por Tettenborn *et al.*, (2007) (2200 mg ℓ^{-1}) (Figura 23).

3.3.3 Variação das densidades de Coliformes Totais e de *E. coli*

Os testes microbiológicos não foram realizados na urina acidificada porque a adição do ácido sulfúrico resultou em pH de 2,4, assegurando a esterilização da urina. Segundo HELLSTRÖM *et al.*, (1999), valores de pH abaixo de 4,0 inibem o crescimento bacteriano na urina humana.

Elevadas densidades de coliformes totais e *E. coli* foram identificadas no início da estocagem, com densidades de 10^9 NMP/100 ml e em torno de 10^8 NMP/100 ml para *E.coli*. Estes valores elevados são atribuídos à contaminação da urina durante a excreção ou por ocasião da coleta das amostras, uma vez que não há excreção de bactérias do grupo coliformes através do trato urinário em pessoas saudáveis. Schürmann *et al.*, (2012) encontraram concentrações $<1 \times 10^2$ /100 ml de *E.coli* e coliformes totais na urina estocada. Este achado ilustra que a urina coletada de pessoas saudáveis, bem separada das fezes e estocada não é uma importante fonte de infecção. Silva *et al.*, (2005) afirmam que bactérias presentes em baixas densidades numa amostra não preservada podem se multiplicar na urina elevando suas contagens para valores superiores a 10^5 NMP/100 ml com extrema facilidade, especialmente em se tratando de bactérias de crescimento rápido como as enterobactérias. Não obstante, no presente estudo observou-se, a partir do décimo dia, uma queda de 5 logs para os coliformes totais e de 4 logs para a *E. coli*, devido à elevação do pH para valores próximos de 9,0. Após 15 dias de estocagem as densidades de coliformes totais e *E. coli* mostraram-se nulas na urina (Figura 24).

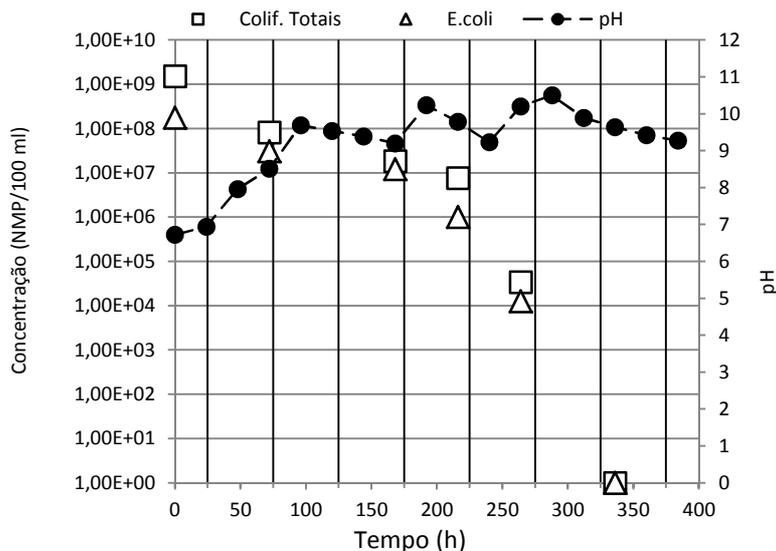


Figura 24: Comportamento dos coliformes totais e E.coli em relação ao pH durante a estocagem na urina normal.

Hoglund *et al.*, (2002) sustentam que os patógenos eventualmente transmitidos através da urina não são muito comuns para constituírem um importante problema de saúde pública em países de clima temperado. Uma exceção em áreas tropicais é o *Schistosoma haematobium*, que excretam os ovos na urina, durante toda a vida do hospedeiro. Os ovos eclodem no meio aquático se transformando em larvas que infectam certas espécies de caramujos aquáticos de água doce. Se os ovos não atingem o corpo do caramujo em alguns dias, o ciclo de infecção é quebrado. Depois de uma série de etapas de desenvolvimento, as larvas emergem do caramujo, prontos para infectar os seres humanos penetrando sua pele, porém se a urina é armazenada durante vários dias e é utilizada em terras aráveis, a estocagem reduz o risco de transmissão da esquistossomose, implicando em um baixo risco devido ao seu ciclo de vida e pelas melhorias do saneamento básico nos países em desenvolvimento (SCHONNING, 2004).

3.3.4 Comportamento das FQs na urina humana

Os resultados obtidos ao longo das 6 semanas de estocagem da urina ácida a 4 °C e a 20 °C indicam que não houve redução significativa nas concentrações das três FQs de interesse. Tal afirmativa baseia-se no limite de quantificação do método cromatográfico empregado, determinado em 1,0 µg mL⁻¹ por Zancheta *et al.*, (2012a). Apenas as concentrações de CIPRO a 4 °C apresentaram uma redução com magnitude superior ao limite de quantificação (Tabela 13).

A presença de fármacos na urina humana é objeto de interesse de alguns grupos de pesquisa de países onde sua utilização agrícola como fonte de nutrientes é considerada uma ação estratégica (KLINGEL *et al.*, 2006; LARSEN e LIENERT, 2007; KARAK. e BHATTACHARYYA, 2011). Não obstante, são escassos os registros de estudos nesse sentido sobre a presença das FQs e sobre processos de tratamento que resultem na sua remoção da urina humana.

Tabela 13: Concentração de fluoroquinolonas na urina durante 6 semanas.

FQs	Temperatura de Estocagem		20° C		4° C	
	Concentração	(ug ml ⁻¹)	1,6	3,2	1,6	3,2
OFLO	Semanas	1 ^a	1,87 (± 0,01)	3,62 (± 0,22)	1,50 (± 0,04)	3,77 (± 0,05)
		2 ^a	1,48 (± 0,08)	3,21 (± 0,03)	1,38 (± 0,49)	3,42 (± 0,02)
		3 ^a	1,50 (± 0,19)	3,25 (± 0,18)	1,46 (± 0,10)	3,41 (± 0,10)
		4 ^a	1,31 (± 0,04)	3,05 (± 0,02)	1,32 (± 0,01)	3,23 (± 0,09)
		5 ^a	1,56 (± 0,08)	3,21 (± 0,11)	1,38 (± 0,09)	3,25 (± 0,34)
		6 ^a	1,35 (± 0,21)	2,98 (± 0,20)	1,54 (± 0,14)	2,91 (± 0,70)
NOR	Semanas	1 ^a	1,81 (± 0,06)	3,76 (± 0,12)	1,70 (± 0,06)	4,03 (± 0,02)
		2 ^a	1,69 (± 0,02)	3,43 (± 0,03)	1,40 (± 0,04)	3,47 (± 0,07)
		3 ^a	1,53 (± 0,10)	3,26 (± 0,18)	1,50 (± 0,05)	3,22 (± 0,06)
		4 ^a	1,44 (± 0,01)	3,27 (± 0,03)	1,46 (± 0,01)	3,43 (± 0,07)
		5 ^a	1,57 (± 0,01)	3,27 (± 0,18)	1,36 (± 0,08)	3,20 (± 0,33)
		6 ^a	1,25 (± 0,02)	3,03 (± 0,23)	1,51 (± 0,12)	2,90 (± 0,70)
CIPRO	Semanas	1 ^a	1,78 (± 0,06)	3,70 (± 0,14)	1,67 (± 0,05)	3,90 (± 0,05)
		2 ^a	1,62 (± 0,04)	3,36 (± 0,02)	1,54 (± 0,12)	3,37 (± 0,05)
		3 ^a	1,45 (± 0,08)	3,21 (± 0,12)	1,50 (± 0,04)	3,13 (± 0,07)
		4 ^a	1,39 (± 0,06)	3,24 (± 0,14)	1,45 (± 0,05)	3,35 (± 0,05)
		5 ^a	1,48 (± 0,01)	3,16 (± 0,17)	1,35 (± 0,07)	3,09 (± 0,34)
		6 ^a	1,18 (± 0,04)	2,95 (± 0,20)	1,52 (± 0,11)	2,82 (± 0,74)

Durante 36 dias (~6 semanas) de estocagem sob temperaturas de 20 °C e 4 °C em pH 2,0 e ao abrigo da luz, as três FQs estudadas se mantiveram estáveis. Um estudo realizado por Turiel *et al.*, (2004) para avaliar a estabilidade da CIPRO e do ácido oxolínico (OXO) em amostras de água de rio, confirmaram que tanto a CIPRO quanto a OXO foram estáveis por 2 meses em temperatura ambiente e sob pH 4,0 e que ao estocá-las em baixas temperaturas (4 °C e -18 °C - pH 4,0) é possível manter a estabilidade por longos períodos de tempo. Kirbis *et al.*, (2005), Samanidou, (2005) e Zhao *et al.*,

(2007) em seus estudos confirmaram que não há degradação significativa de FQs conservadas sob temperaturas de 0 °C a 4 °C e ao abrigo da luz. Esses estudos reafirmam os resultados encontrados nesse artigo.

Ao estudar outros fármacos presentes na urina humana, Gajurel *et al.*, (2007) observaram que não houve alteração nas concentrações de carbamazepina, ibuprofeno e ácido clofíbrico mesmo durante um longo período de estocagem (12 meses) em diferentes condições de temperatura (4 °C e 20 °C) e pH (4,0; 7,0 e 10,0). Por outro lado, Butzen *et al.*, (2005), num estudo realizado ao longo de 11 meses de estocagem com urina acidificada em pH 2,0, observaram reduções de 40% da concentração de diclofenaco e tetraciclina durante o primeiro mês e depois de três a quatro meses a redução já era de 80 a 90% para os dois fármacos e de quase 100% após os 11 meses de estocagem, em compensação mesmo após os 11 meses o sulfametoxazol e a sulfametazina apresentaram reduções em torno de 40%. Schürmann *et al.*, (2012) estudaram o comportamento de seis fármacos (bisaprolol, diclofenaco, ibuprofeno, metoprolol, tramadol e sulfametazina) em três condições de estocagem (natural, acidificada e alcalina) durante 6 meses no escuro. Os resultados obtidos mostraram que o diclofenaco na estocagem acidificada teve uma remoção maior que 80%, como também observado por Butzen *et al.*, (2005) e o ibuprofeno na faixa de 60 a 80%. A sulfametazina teve uma remoção de 30 a 60%, enquanto os demais tiveram uma redução em torno de 10% apenas, já na urina alcalina a sulfametazina teve redução maior que 80% e o ibuprofeno, o diclofenaco, o bisaprolol e metoprolol apresentaram remoção em torno dos 30%. Com esses resultados é possível concluir que a remoção de diferentes fármacos varia em relação ao pH da urina e que não é possível regulamentar um único valor de pH para todos os fármacos como descrito em Schürmann *et al.*,(2012).

Os resultados aqui apresentados demonstram a grande estabilidade dos fármacos OFLO, NOR e CIPRO na urina humana acidificada e submetida a 36 dias de estocagem sob temperaturas de 20 °C ou 4 °C. Tal fato se contrapõe à eficiência do processo de estocagem no sentido de eliminar a presença de microrganismos patogênicos na urina humana, de acordo com as recomendações de WHO (2006). Segundo este relatório, o efeito combinado do pH elevado, da temperatura e das concentrações de amônia assegura a completa esterilização da urina estocada em reservatórios fechados por períodos relativamente longos e a condiciona para uso na agricultura sem riscos à saúde individual ou coletiva.

4 CONCLUSÕES

Os resultados desse trabalho indicam que o tratamento da urina humana através de estocagem ou através de acidificação, com vista a sua utilização como fertilizante agrícola, são concorrentes. O principal objetivo da estocagem é a eliminação de microrganismos patogênicos, o que pode ser conseguido com uma perda considerável de nutrientes N (volatilização) e P (precipitação). O mesmo objetivo pode ser atingido através da acidificação a pH ~2,0, que, no entanto, permite a preservação do estoque de nutrientes N e P na urina.

Nenhuma das condições de tratamentos estudados mostrou-se efetivo na remoção das FQs (OFLO, NOR e CIPRO) da urina humana. A estocagem da urina acidificada não foi capaz de reduzir as concentrações destes fármacos em quantidades significativas, considerando-se o limite de detecção do método cromatográfico empregado ($1,0 \mu\text{g } \ell^{-1}$). Consequentemente, o monitoramento da presença estes fármacos na urina humana a ser utilizada na agricultura deve ser implementado, quando a estocagem for utilizada como único método de tratamento.

5 REFERÊNCIAS

- ANTONINI, S.; NGUYEN, P.T.; ARNOLD, U.; EICHERT T.; CLEMENS J. Solar thermal evaporation of human urine for nitrogen and phosphorus recovery in Vietnam. **Science of the Total Environment**, n. 414, 2012.
- APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington: American Public Health Association, 2005.
- AYERS, R.S.; WESTCOT, D.W. **A qualidade da água na agricultura**. Traduzido por Gheyi H, Medeiros JF, Damasceno FV. UFPB, Campina Grande, PB, 1991, 218 p.
- BAZZARELLA, B. B.; DIAS, G. B.; BASTOS, F.P.; LEE, P.W.; GONÇALVES, R. F. Caracterização quali-quantitativa da urina humana com vistas ao aproveitamento agrícola. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 23, 2005, Campo Grande. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, v.1, p. 186-187, 2005.
- BUTZEN, A.; WERRES, F.; BALSAA, P. Establishment and application of a problem-oriented analytical procedure aiming to monitor selected pharmaceuticals in soils and urine (in German). Final Report Naehrstofftrennung und -verwertung in der Abwassertechnik am Beispiel der "Lambertsmuehle". **Bonner Agrikulturchemische Reihe**, v. 21, p. 25-51, 2005.
- CENEVIVA, R.; VICENTE, Y. A. M. V. A. Equilíbrio hidroeletrólítico e hidratação no paciente cirúrgico. In: Simpósio Fundamentos em Clínica Cirúrgica, 1, 2008, Ribeirão Preto. **Anais...** Medicina, v. 41, n. 3, p. 287-300, 2008.

- EK, M.; BERGSTRÖM, R.; BJURHEM, E.J.; BJÖRLENIUS, B.; HELLSTRÖM, D. Concentration of nutrients from urine and reject water from anaerobically sludge. **Water Science & Technology**, v. 54, n. 11-12, p. 437-444, 2006.
- GAJUREL, D. R.; GULYAS, H.; REICH, M.; OTTERPOHL, R. Behavior of four selected pharmaceuticals during long-time storage of yellow water. In: International Conference on Sustainable Sanitation: "Food and Water Security for Latin America". Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: ECOSAN, 2007.
- GANROT, Z. **Urine processing for efficient nutrient recovery and reuse in agriculture**. Göteborg University. 2005.
- GONÇALVES JR., A. C.; LUCHESE, E. B.; LENZI, E. Avaliação da fitodisponibilidade de cádmio, chumbo e crômio, em soja cultivada em latossolo vermelho escuro tratado com fertilizantes comerciais. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 173-177, 2000.
- GONÇALVES, J. G.; MORAES, J. B.; SEKO, L. M. D.; FÁVERO, M. E.; OLIVEIRA, J. A.; GORDAN, P. A. Condutividade Urinária: um método simples para estimar a concentração iônica e a osmolalidade. **J Bras Nefrol.**, v. 27, n. 4, 2005.
- GUARDABASSI, L.; WONG, D. M. A. L.; DALSGAARD, A. **Water Res.**, v. 36, 1955.
- GUYTON, A. C. **Fisiologia humana e mecanismos das doenças**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- HALLING-SORENSEN, B.; NIELSEN, S. N.; LANZKY, P. F.; INGERSLEV, F.; LÜTZHOFT, H. C. H.; JORGENSEN, S. E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment - A Review. **Chemosphere**, v. 36, n. 2, p. 357-393, 1998.
- HANEAUS, A.; HELLSTRÖM, D.; JOHANSSON, E. Conversion of urea during storage of human urine. **Vatten**, v. 96, n. 4, p. 263-270, 1997.
- HEINONEN-TANSKI, H.; SJÖBLOM, A.; FABRITIUS, H.; KARINEN, P. Pure human urine is a good fertiliser for cucumbers. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 1, p. 214-217, 2007.
- HELLSTRÖM, D.; JOHANSSON, E.; GRENNBERG, K. Storage of human urine: acidification as a method to inhibit decomposition of urea. **Ecological Engineering**, n. 12, p. 253-269, 1999.
- HIRSCH, R.; TERNES, T.; HABERER, K.; KRATZ, K-L. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. **Sci. Total Environ.**, n. 225, p. 109-118, 1999.
- HÖGLUND, C. **Evaluation of microbial health risks associated with the reuse of source-separated human urine**. 2001. 78 p. Tese (Doutorado) - Royal Institute of Technology –KTH, Department of Biotechnology, Applied Microbiology, Swedish Institute for Infectious Disease Control (SMI), Estocolmo, 2001.
- HÖGLUND, C., STENSTROM, T.A., JONSSON, H., SUNDIN, A. Evaluation of faecal contamination and microbial die-off in urine separating sewage systems. **Water Sci. Technol.**, v. 38, n. 6, p. 17-25, 1998.
- HÖGLUND, C.; ASHBOLT, N.; STENSTROM, T.A.; SVENSSON, L. Viral persistence in source-separated human urine. **Adv. Environ. Res.**, v. 6, n. 3, p. 265-275, 2002.

JOHANSSON, M. (ed.) **Urine separation – closing the nutrient cycle**. Verna Ecology. Estocolmo, 2001. Disponível em: <http://www.swedenviro.se/gemensamma_se/documents/Urinsep_eng.pdf>. Acesso em: 21 jul. 2010.

JÖNSSON, H.; STENSTRÖM, T.; SVENSSON, J.; SUNDIN, A. Source separated urine-nutrient and heavy metal content, water saving and faecal contamination. **Water Science Technology**, v. 35, p. 145-152, 1997.

JÖNSSON, H.; STENSTRÖM, T.; SVENSSON, J.; SUNDIN, A. Source separated urine-nutrient and heavy metal content, water saving and faecal contamination. **Water Science Technology**, v. 35, p. 145-152, 1997.

KARAK, T.; BHATTACHARYYA, P. Human urine as a source of alternative natural fertilizer in agriculture: a flight of fancy or an achievable reality. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 55, n. 4, p. 400-408, 2011.

KIRBIS, A.; MARINSEK, J.; FLAJS, V. C. Introduction of the HPLC method for the determination of quinolone residue in various muscle tissues. **Biomedical Chromatography**, v. 19, n. 4, p. 259-265, 2005.

KLINGEL, F.; WERNER, C.; BRACKEN, P.; RÄTH, N. **Urine diversion in GTZ's main building in Eschborn and utilization of diverted urine – a demonstration and research Project**. 2006. Disponível em: <<http://www2.gtz.de/Dokumente/oe44/ecosan/en-ud-in-main-gtz-building-iwa-abstract-2006.pdf>>. Acesso em: 18 nov. 2011.

LARSEN, T. A.; GUJER, W. Separate management of anthropogenic solutions (human urine). **Water Science and Technology**, v. 34, n. 3-4, p. 87-94, 1996.

LARSEN, T. A.; LIENERT, J. **NoMix – A new approach to urban water management. Novaquatis final report**. Eawag, Suíça. 2007. 32 p.

LEAL, V. O.; LEITE, M. Jr.; MAFRA, D. Acidose metabólica na doença renal crônica: abordagem nutricional. **Revista de Nutrição**, v. 21, n. 1, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=S1415-52732008000100010&lng=e&nrm=iso>>. Acesso em: 14 jun. 2012.

MALISIE, A. F.; PRIHANDRIJANTI, M.; OTTERPOHL, R. The potential of nutrient reuse from a source separation domestic wastewater system in Indonesia – Case study: Ecological Sanitation Pilot Plant in Surabaya. **Water Sci. Technol.**, v. 56, n. 5, p. 141-148, 2007. Disponível em: <<http://www2.gtz.de/Dokumente/oe44/ecosan/en-potential-of-nutrient-reuse-2007.pdf>>. Acesso em: 21 set. 2011.

MANILA, C. F. **Ecological Sanitation – An Introduction to the Philippines**. DILG-GTZ Water Program, Philippines, 2003.

MOURA, A.; HENRIQUES, I.; RIBEIRO, R.; CORREIA, A. Prevalence and characterization of integrons from bacteria isolated from a slaughterhouse wastewater treatment plant. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 60, n. 6, p. 1243-1250, 2007.

OTTERPOHL, R. Black, brown, yellow, grey – The new colors of sanitation. **Water** 21, n. 3,5, p. 37-41, 2001.

PRONK, W.; KONÉ D. Options for urine treatment in developing countries. **Desalination**, v. 248, n. 1-3, p. 360-368, 2009.

RABOLLE, M.; SPLIID, N. H. Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox, oxytetracycline and tylosin in soil. **Chemosphere**, v. 40, n. 7, p. 715-722, 2000.

RONTELTAP, M. **Urine treatment, reuse and diversion component technology review**. Literature Overview_Topico 5. 2011.

SAMANIDOU, V. F.; CHRISTODOULOU, E. A.; PAPADOYANNIS, I. N. Determination of fluoroquinolones in edible animal tissue samples by high performance liquid chromatography after solid phase extraction. **Journal of Separation Science**, v. 28, n. 6, p. 555-565, 2005.

SCHÖNNING, C.; STENSTRÖM, T. A. **Guidelines for the Safe Use of Urine and Feces in Ecological Sanitation Systems**. 2004. EcoSanRes Report 2004-1, SEI-Instituto Ambiental de Estocolmo, Estocolmo, Suécia. Disponível em: <www.ecosanres.org. 2004>. Acesso em: 12 mai. 2010.

SCHÜRMAN, B.; EVERDING, W.; MONTAG, D.; PINNEKAMP, J. Fate of pharmaceuticals and bacteria in stored urine during precipitation and drying of struvite. **Water Science & Technology**, v. 65, n. 10, p. 1774-1780, 2012.

SEIFRTOVÁ, M.; NOVÁKOVÁ, L.; LINO, C. M.; PENA, A.; SOLICH, P. An overview of analytical methodologies for determination of antibiotics in environmental waters. **Anal. Chim. Acta.**, v. 649, n. 2, p. 158-179, 2009.

SILVA P., **Farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010, 1352 p.

SILVA, C. H. P. M.; LINS, A. P.; MARTINS SOUZA, D. R.; CRUZ, C. S. O. Desenvolvimento e Utilização de Conservante Químico em Amostras de Urina para Análises Microbiológicas (Urocultura) e Rotina (E.A.S.). **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 37, n. 3, p. 137-147, 2005.

SOUSA, J. T.; HENRIQUE, I. N.; LOPES, W. S.; LEITE, V. D. Gerenciamento sustentável de água residuárias doméstica. **Revista Saúde e Ambiente/Health and Environmental Journal**, v. 9, n. 1, p. 38-46, 2008.

STOWA, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer. **Separate urine collection and treatment**. Options for sustainable wastewater systems and mineral recovery. STOWA report, 2001.

TETTENBORN, F.; BEHRENDT, J.; OTTERPOHL, R. **Resource recovery and removal of pharmaceutical residues** – Treatment of separate collected urine. Instituto e Gestão de Águas Residuárias e Proteção da Água, Universidade de Tecnologia de Hamburg-Harburg - TUHH, 2007. 119 p.

TILLEY, E.; LÜTHI, C.; MOREL, A.; ZURBRÜGG, C.; SCHERTENLEIB, R. **Compendium of Sanitation Systems and Technologies**. Disponível em: <http://www.eawag.ch/organisation/abteilungen/sandec/publikationen/compendium_e/index_EN>. Acesso em: 12 ago. 2008.

TURIEL, E.; MÁRTIN-ESTEBAN, A.; BORDIN, G.; RODRÍGUEZ, A. R. Stability of fluoroquinolone antibiotics in river water samples and in octadecyl sílica solid-phase extraction cartridges. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 380, n. 1, p. 123-128, 2004.

UDERT, K. M. **The Fate of Nitrogen and Phosphorous in Source-Separated Urine**. 2002. 132 p. Tese (Doutorado em Ciências Técnicas) - Instituto Federal Suíço de Tecnologia de Zurique, Zurique, 2002.

UDERT, K. M., WACHTER, M.; Complete nutrient recovery from source-separated urine by nitrification and distillation. **Water Research**, v. 46, n. 2, p. 453-464, 2012.

UDERT, K. M.; LARSEN, T. A.; GUJER, W. Estimating the precipitation potential in urine-collecting systems. **Water Research**, v. 37, n. 11, p. 2667–2677, 2003.

VINNERÅS, B. **Possibilities for Sustainable Nutrient Recycling by faecal Separation Combined with Urine Diversion**. 2002. 88 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola de Uppsala. Universidade Sueca de Ciências Agrárias, 2002.

WHO, World Health Organization. **Guidelines for the Safe Use of Wastewater, Excreta and Greywater**. Volume IV – Excreta and Greywater Use in Agriculture. 2006. Disponível em: <http://www.who.int/water_sanitation_health/wastewater/gsuweg4/en/index.html>. Acesso em: 5 jul. 2012.

WINKER, M.; GULYAS, H.; OTTERPOHL, R. Fertilization of rye grass with carbamazepine, ibuprofen, and 17 α - ethinylestradiol spiked urine – a greenhouse experiment. In: SWITCH Scientific Meeting, 3, 2008, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, Brasil, 2008.

XU, W.; ZHANG, G.; LI, X.; ZOU, S.; LI, P.; HU, Z.; LI, J. Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl River Delta (PRD), South China. **Water Research**, v. 41, n. 19, p. 4526–4534, 2007.

ZANCHETA, P. G. **Recuperação e tratamento da urina humana para uso agrícola**. 2007. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2007.

ZANCHETA, P. G.; GONÇALVES, R. F.; PENA, A. Desenvolvimento e validação de método para quantificação simultânea de ofloxacina, norfloxacina e ciprofloxacina em urina humana. **Submetido a Química Nova** (566/12), 2012a.

ZHAO, A. J.; JIANG, H. Y.; DING, S. Y.; LI, X.L.; WANG, G. Q.; LI, C.; SHEN, J. Z. A reliable LC method with fluorescence detection for quantification of (fluoro)quinolone residues in chicken muscle. **Chromatographia**, v. 65, n. 9-10, p. 539-544, 2007.

4.3 ARTIGO 3

Comportamento do nitrogênio e de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana submetida a evaporação para redução de volume

Priscilla Garozi Zancheta, Angelina Pena e Ricardo Franci Gonçalves

Resumo

Este trabalho descreve o comportamento de três antibióticos da classe das fluoroquinolonas (FQs): ofloxacina (OFLO), norfloxacina (NOR) e ciprofloxacina (CIPRO) na urina humana durante tratamento para reciclagem de nutrientes via evaporação. A evaporação de 80% do volume de urina a temperaturas de 50 °C, 75 °C e 100 °C, sem e com acidificação, resultou em perdas consideráveis do estoque de nitrogênio originalmente presente no líquido. Perdas da ordem de 50% de NTK foram observadas em quase todos os ensaios, inclusive naqueles em que o pH inicial foi próximo de 2,0. Os ensaios de evaporação evidenciaram uma maior resistência à degradação da OFLO e uma alta degradabilidade da NOR e da CIPRO sob as diferentes condições de pH e temperatura. A acidificação da urina aumentou a resistência à degradação das NOR e CIPRO sob as três temperaturas testadas, cujas velocidades e as eficiências de degradação mostraram-se bastante reduzidas com relação aos testes com urina normal. Conclui-se que a acidificação não é um método eficaz de conservação de nitrogênio e para a degradação do antibiótico OFLO na urina sob as condições de evaporação testadas.

Palavras-chave: Fluoroquinolonas; Nutrientes; Urina Humana; Evaporação.

Abstract

This paper describes the behavior of three fluoroquinolones antibiotics class (FQS): ofloxacin (OFLO), norfloxacin (NOR) and ciprofloxacin (CIPRO) in human urine during evaporation treatment for nutrient recycling. The evaporation of 80% of the urine volume at temperatures 50 °C, 75 °C and 100 °C, with and without acidification, resulted in substantial losses of nitrogen supply originally present in urine. Approximately 50% of NTK was lost in almost all tests, including the assays in which the initial pH was around 2.0. The evaporation tests showed greater resistance to degradation for OFLO and high degradability for NOR and CIPRO under different conditions of pH and temperature. The urine acidification increased the resistance to degradation the NOR and CIPRO under the temperatures used. The speeds and efficiencies of degradation were reduced relatively to the tests with normal urine. It is concluded that acidification is not an effective method for the conservation of nitrogen and degradation of the OFLO in urine under evaporation conditions tested.

Keywords: Fluoroquinolones; Nutrients; Human Urine; Evaporation.

1 INTRODUÇÃO

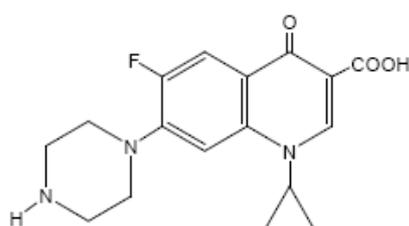
A reciclagem de nutrientes contidos na urina humana para as áreas agrícolas é considerada como uma alternativa interessante ao carreamento hídrico dos excretas nos sistemas convencionais de saneamento (KARAK E BHATTACHARYYA, 2011). Não obstante, uma gama importante de micropoluentes comumente presentes na urina, tais como compostos farmacêuticos, hormônios e agentes patogênicos, pode se constituir em ameaça à saúde coletiva e ao meio ambiente (PRONK E KONÉ, 2009).

Os antibióticos são considerados como um dos principais contaminantes ambientais emergentes, por terem como principais efeitos adversos o aumento da resistência bacteriana em seres humanos e nos ecossistemas (ESPINOSA-MANSILLA *et al.*, 2005). Todos os anos cerca de 100.000 toneladas de fármacos antimicrobianos são utilizados em todo o mundo (VELO E MORETTI, 2010), dos quais a ciprofloxacina (CIPRO) e a levofloxacina (LEVO) juntos perfazem cerca de 65% (\$ 3,3 bilhões) das vendas globais.

China, Índia, Alemanha, Japão e Estados Unidos são, ao mesmo tempo, os maiores produtores e consumidores no mundo, sendo a Índia responsável por 30% da capacidade mundial de produção de fluoroquinolonas (SHARMA *et al.*, 2010). Em Moshi, na Tanzânia, as vendas de fluoroquinolonas representaram 12% das vendas mundiais de antibacterianos em 2010 (VAN DEN BOOGAARD *et al.*, 2010). No Brasil, a CIPRO é a mais importante fluoroquinolonas (FQs) utilizada hoje em dia e está entre os 343 medicamentos mais utilizados no mundo, além de estar presente no Formulário Terapêutico Nacional - RENAME 2010.

As quinolonas e FQs são grupos relacionados de antibióticos, derivados do ácido nalidixico. As FQs são quimicamente compostas por um hidrocarboneto heterocíclico com um grupo carboxila na posição 4 e surgiram por adição de um átomo de flúor na posição 6 do núcleo das quinolonas, dando origem a uma nova classe de compostos, usados nos tratamentos de diversas infecções (Figura 25). Além do flúor na posição 6, um anel peperazínico na posição 7 geraram as quinolonas de segunda geração que, dentre as mais conhecidas, estão a norfloxacina, a ciprofloxacina e a ofloxacina. A NOR foi a primeira FQ introduzida no mercado, melhorando seu espectro de ação contra bactérias Gram-positivas, uma das limitações do ácido nalidixico. A CIPRO entrou no mercado em 1987 e ainda é muito utilizada em diversas infecções, como

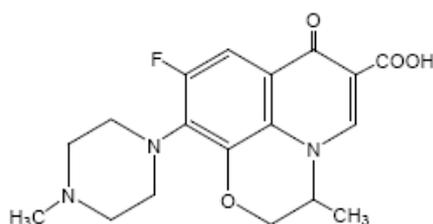
pneumonias, otites, sinusites, infecções oftalmológicas, dos rins, do trato urinário dentre outras e ainda foi o antibiótico mais utilizado nos EUA contra o surto de terrorismo biológico em 2001 e 2002 causado pelo *Bacillus anthracis*. A OFLO possui atividade semelhante a CIPRO em relação as bactérias e também é conhecida por ácido piridibenzoxacínico por possuir um anel extra (MOUTON e LEROY *et al.*, 1991). As quinolonas costumam ser bem toleradas, no entanto, seu alto custo, a não cobertura de anaeróbios e estreptococos e o aumento da resistência microbiana limitam o seu uso clínico. Na prática, deveriam utilizadas apenas quando não houvesse resposta ao primeiro esquema antimicrobiano.



Ciprofloxacina

$C_{17}H_{18}FN_3O_3$

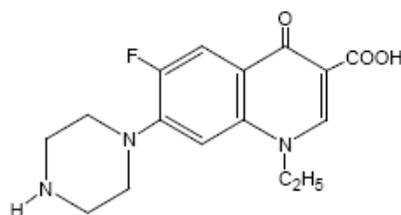
MM: 331,4



Ofloxacina

$C_{18}H_{20}FN_3O_4$

MM: 361,4



Norfloxacina

$C_{16}H_{18}FN_3O_3$

MM: 319,3

Figura 25: Estrutura química dos três antibióticos da classe das fluoroquinolonas estudadas, ofloxacina (OFLO), norfloxacina (NOR) e ciprofloxacina (CIPRO).

Após a sua administração a humanos, as FQs são excretadas através de urina como metabólitos e também na forma original. São adsorvidas nos solos e possuem alta

estabilidade e persistência, o que representa um risco significativo para a saúde humana. Xu *et al.*, (2007) e Moura *et al.*, (2007) demonstraram que os antibióticos e as bactérias resistentes a antibióticos continuam a persistir em quantidades importantes em efluentes tratados devido ao metabolismo incompleto dos antibióticos excretados. Além disso, altas cargas de nutrientes e intensas pressões seletivas impostas pelos antibióticos favorecem os eventos de transferência horizontal de genes, aumentando a resistência (SCHLÜTER *et al.*, 2007; XU *et al.*, 2007; MOURA *et al.*, 2007). Klingel *et al.*, (2006) relatam em seu trabalho que estudos comparativos sobre a remoção de antibióticos na urina em relação a sua utilização como fertilizante são urgentemente necessários.

Maurer *et al.*, (2006) afirmam que, para utilização da urina humana como um fertilizante natural, processos de tratamento devem ser adotados para o controle dos riscos químicos e biológicos. Vários processos podem ser utilizados com essa finalidade, sendo que as técnicas mais utilizadas atualmente são a estocagem e a redução de volume (MAURER *et al.*, 2006). A estocagem tem como foco a redução da patogenicidade da urina, o que pode ser atingido a níveis muito seguros em períodos de tempo diretamente proporcionais à temperatura em que a estocagem ocorre (SCHÖNNING *et al.*, 2004). A redução do volume permite o transporte dos nutrientes reciclados a longas distâncias de maneira mais fácil e economicamente viável (LIND *et al.*, 2001; TETTENBORN *et al.*, 2007).

Por mais simples que sejam os processos de tratamento da urina, deve sempre ser considerada a ocorrência de vários processos químicos e biológicos espontâneos na urina durante o transporte e o armazenamento, tais como a hidrólise da ureia, a precipitação e ou a volatilização (HOGLUND *et al.*, 1998; MAURER *et al.*, 2006). Tais processos alteram sua composição de forma significativa, causando perdas importantes de nutrientes, sobretudo por ocasião do tratamento via estocagem (UDERT *et al.*, 2003). UDERT *et al.*, (2006) relatam perdas da ordem de 87% de Norg e de 27% de P por ocasião da estocagem da urina em reservatórios fechados. Hellström *et al.*, (1999) adicionaram ácido sulfúrico no começo do ciclo de estocagem, conseguindo inibir a decomposição da ureia, concluindo ser a acidificação uma técnica interessante para a preservação do estoque original de nutrientes na urina. A rationale desta técnica reside na manutenção de valores de pH abaixo de 4,0, para impedir a atuação da enzima urease sobre a ureia, que resulta na produção de NH_3 e o consequente aumento de pH da urina estocada. Valores de pH acima de 8,0 inativam patógenos, mas propiciam a

volatilização da amônia e a precipitação de cristais de estruvita e hidroxiapatita ricos em fósforo (STRATFUL *et al.*, 2001).

No que tange a redução de volume da urina, técnicas tais como a precipitação de estruvita na urina foi estudada em escala de laboratório e em escala real (LIND *et al.*, 2001; GANROT *et al.*, 2005; RONTELTAP *et al.*, 2007). As principais vantagens desse processo são a produção de um fertilizante de liberação lenta e redução de quase 100% do teor de água. Sua principal desvantagem é o ajuste das frações de nutrientes para que ocorra a precipitação. Por outro lado, a evaporação natural da água da urina é considerada como a técnica mais simples e promissora, especialmente nas regiões agrícolas com suprimento energético ineficiente. Suas principais vantagens são redução do teor de água, quase tão eficaz quanto a precipitação e a utilização de energia solar. A principal desvantagem associada à evaporação natural da urina é a perda de amônia por volatilização. No caso da evaporação, Antonini *et al.*, (2012) observaram perdas da ordem de 32% de Norg em ensaios de evaporação da urina fresca sob temperaturas de 45 °C a 62 °C no interior do fotorreator durante o dia e em torno de 25 °C durante a noite e sugerem que a acidificação da urina antes do tratamento poderia minimizar as perdas de nitrogênio por volatilização.

Diante disso, o objetivo deste artigo foi avaliar o comportamento do nitrogênio e de antibióticos da classe das FQs durante ensaios de evaporação de urina fresca e de urina acidificada sob temperaturas de 50 °C, 75 °C e 100 °C. A expectativa inicial era de que a evaporação da urina sob pH ácidos resultaria em uma maior conservação do estoque de nitrogênio e uma degradação mais eficiente das FQs.

2 METODOLOGIA

Para os ensaios de evaporação foram realizadas as seguintes ações: coleta e preparo das amostras de urina humana com e sem acidificação, preparação dos padrões de FQs, e monitoramento da qualidade e tratamento dos dados.

Coletas de amostras de urina humana - As amostras de urina foram recolhidas em frascos estéreis, próprios para coleta de urina com capacidade de 60 mL utilizando a primeira urina da manhã de 30 voluntários, com faixa etária entre 21 e 48 anos. Esse grupo de doadores voluntários foi constituído por 20 pessoas do sexo feminino e 10 do sexo masculino, formado por professores, alunos e técnicos da Faculdade de Farmácia

da Universidade de Coimbra, aos quais foi solicitado o preenchimento de um inquérito a fim de avaliar a medicação utilizada por cada voluntário. Os voluntários que estavam fazendo uso de qualquer tipo de medicamento durante o período de coleta, foram excluídos da amostragem. O volume total recolhido para cada experimento foi de 7,0 ℓ, onde foi necessária a utilização de 3,0 ℓ para preparação das amostras de evaporação.

Preparações das amostras de urina humana e dos padrões de FQs - Dois tipos de amostras foram preparadas a partir da urina coletada: urina não acidificada (urina normal) e urina acidificada. O preparo das amostras foi realizado logo após a entrega das amostras de urina pelos voluntários no período matutino e mantidas em temperatura ambiente para manipulação. Do volume recolhido, 1,5 ℓ, foi acidificado com ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado (96% P.A; 98,08 g mol⁻¹ de massa molar) para abaixar o pH entre 2,0 e 2,5, onde foi necessário a adição de 18,4 mmol do ácido para cada litro de urina humana. O outro 1,5 ℓ de urina foi mantido em pH normal (~pH 6,0). As soluções estoque de OFLO, NOR e CIPRO 1 mg mL⁻¹ foram preparadas dissolvendo-se 50mg do padrão respectivo em H₂SO₄ 0,005 mol ℓ⁻¹ num balão de vidro âmbar de 50 mL. As soluções estoque de trabalho foram uma mistura das três FQs preparadas por diluição adequada das soluções estoque também utilizando H₂SO₄ 0,005 mol ℓ⁻¹. As soluções estoque foram armazenadas a 4 °C.

Ensaio de evaporação - Uma estufa elétrica foi utilizada para os ensaios de evaporação, onde foi realizado um experimento para cada temperatura controlada: 50 °C, 75 °C e 100 °C. Para cada experimento com as temperatura controladas foram utilizados duas amostras: uma de urina normal e outra de urina acidificada, sendo que ambas foram divididas em 3 frações de 500 mL em erlenmeyers e colocadas na estufa previamente aquecida com a temperatura determinada. As três frações de urina normal foram divididas da seguinte forma: Fração a) urina normal em branco para monitoramento de volume, medidas de pH e condutividade elétrica; Fração b) urina normal fortificada com uma concentração de 3,2 µg mL⁻¹ da solução estoque de trabalho; Fração c) urina normal mantida em branco para controle. Da mesma forma foram divididas as três frações de urina acidificada: Fração d) urina acidificada em branco para monitoramento de volume, medidas de pH e condutividade elétrica; Fração e) urina

acidificada fortificada com uma concentração de $3,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ da solução estoque de trabalho; Fração f) urina acidificada mantida em branco para controle.

As análises físico-químicas e cromatográficas foram realizadas a cada 100 mL de urina evaporada e tomou-se o cuidado para que os frascos não fossem agitados durante a evaporação. Para as análises físico-químicas foram utilizadas por experimento para cada temperatura controlada, uma amostra de urina normal e uma acidificada ambas fortificadas (Figura 26).

A concentração das FQs utilizadas foi selecionada após o estabelecimento do limite de quantificação do método validado ($1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$) (ZANCHETA *et al.*, 2012a), sendo utilizada a concentração de $3,2 \mu\text{g mL}^{-1}$. Para a definição desta concentração levou-se em consideração que as FQs são prescritas em humanos entre 300-600 mg por dia para fins terapêuticos e são quase que totalmente eliminadas na forma de compostos inalterados na urina e conseqüentemente são lançadas no ambiente (SEIFRTOVÁ *et al.*, 2009).

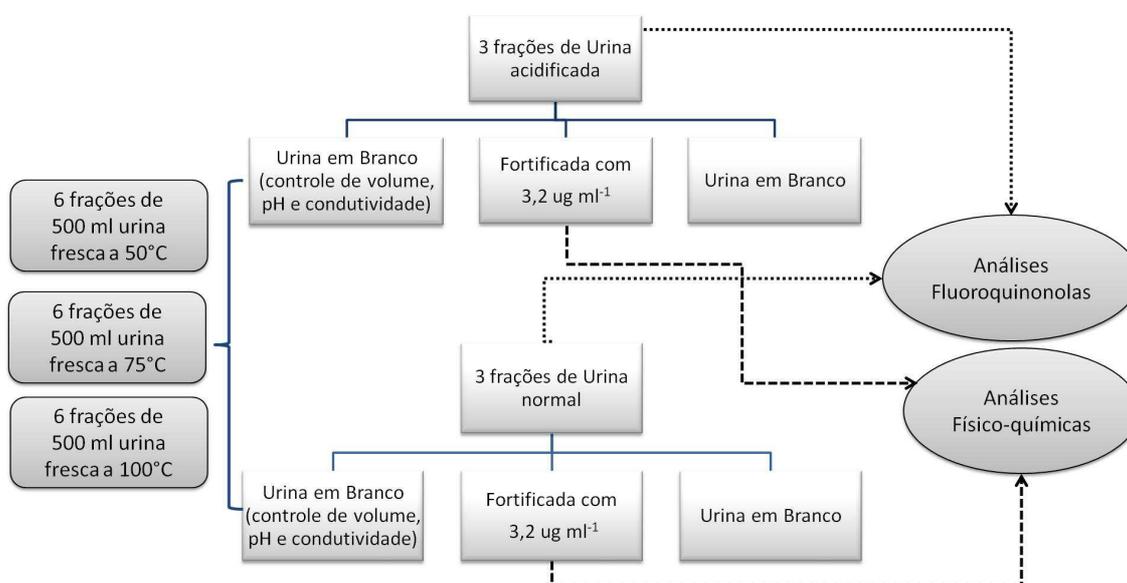


Figura 26: Fluxograma das análises de evaporação.

Monitoramento dos ensaios por CLAE-DF - Para o monitoramento das análises via cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi necessário à aquisição e utilização de vários reagentes e equipamentos. Os padrões de OFLO, NOR e CIPRO foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Estes padrões possuem > 98% de pureza. O metanol grau HPLC foi obtido de Carlo Erba (Milão, Itália), o ácido fosfórico

85% de Merck (Alemanha) e a acetonitrila grau HPLC de Pancreac Chemistry (Barcelona, Espanha).

Todos os reagentes utilizados em CLAE foram desgaseificados durante 15 min em um banho de ultrassom (Sonorex RK 100 - Berlim, Alemanha) antes de sua utilização. Para a descontaminação, as vidrarias foram lavadas com uma solução de hipoclorito de sódio e depois imersos em 4 mL ℓ^{-1} de H_2SO_4 . Após, para neutralização do pH as vidrarias foram lavadas com água destilada. Um agitador magnético (Agimatic-S, Selecta, Barcelona, Espanha), um vórtex Retsh (Haan, Alemanha) e uma centrífuga modelo 3-16K da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) foram utilizados para preparação das amostras. O método CLAE aqui descrito foi realizado com uma bomba (modelo 305, Gilson Medical Electronics, França), um injetor (modelo 7125 Rheodyne, Cotati, Califórnia, EUA) com um *loop* de 20 $\mu\ell$ e um detector de fluorescência (DF) (LabAlliance, State College) operado a um comprimento de onda de excitação de 278 nm e um comprimento de onda de emissão de 450 nm. O método CLAE-DF baseou-se na utilização de uma coluna polimérica C18 (250 x 4,6 mm, 5 μm) Phenosphere ODS (2) (Phenomenex) equipada com pré-coluna Securityguard (Phenomenex). As três FQs foram eluídas em modo isocrático, com uma solução filtrada a vácuo de H_3PO_4 0,025 M (pH 3,0 com hidróxido de tetrabutilamônio (TBA)) - metanol e acetonitrila (910:70:20; v/v/v) como fase móvel. O sistema de CLAE-DF foi operado a temperatura ambiente (15 °C a 25 °C), com fluxo de 1,4 mL min^{-1} . Uma alíquota de 4 mL de cada amostra dos ensaios de estocagem e evaporação foi transferida para um tubo de centrifugação de vidro âmbar, adicionada com 6 mL de H_2SO_4 0,005 mol ℓ^{-1} , após foi agitada em vórtex e levada ao banho de ultrassom durante 5 minutos e centrifugada (15 min, 4444 g, a 5 °C). O sobrenadante foi filtrado através de um filtro de membrana de 0,45 μm e injetado no sistema cromatográfico.

Monitoramento dos ensaios através de métodos laboratoriais para a caracterização físico-química e microbiológica das amostras - A caracterização físico-química das amostras de urina foi realizada através de análises laboratoriais dos seguintes parâmetros: pH, condutividade elétrica, cloreto, amônia (N-NH₃) e nitrogênio total Kjeldhal (NTK). Os métodos laboratoriais obedeceram aos procedimentos recomendados pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* – 21ª Edição (APHA, 2005).

Tratamento e interpretação dos dados- A análise estatística dos resultados físico-químicos e cromatográficos foi realizada utilizando o software Excel, para análise da estatística descritiva dos parâmetros analisados (média, máximo, mínimo, desvio padrão e coeficiente de variação).

Para expressar a eficiência na concentração de diferentes variáveis, um fator de concentração foi utilizado. Esse mesmo método foi utilizado por Tettenborn *et al.*, (2007) e é calculado dividindo a concentração final pela concentração inicial (Equação 8).

$$\text{Fator de concentração:} \quad cf_{final} = \frac{conc_{final}}{conc_{inicial}} \quad (8)$$

Onde:

cf_{final} - fator de concentração

$conc_{final}$ - concentração final [$\text{mg } \ell^{-1}$]

$conc_{inicial}$ - concentração inicial [$\text{mg } \ell^{-1}$]

A validação da metodologia analítica de CLAE-DF foi realizada através dos parâmetros de seletividade, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação e precisão como descrito em Zancheta *et al.*, 2012a.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3 Evaporação

3.3.1 Taxas de evaporação

A redução de volume durante o ensaio de evaporação ocorreu de forma linear com relação ao tempo nas três temperaturas estudadas (Figura 27 e Figura 28). As regressões lineares realizadas com os dados dos seis testes (3 temperaturas e 2 condições de pH) resultaram em coeficientes R^2 muito próximos da unidade em todos os casos (Tabela 14).

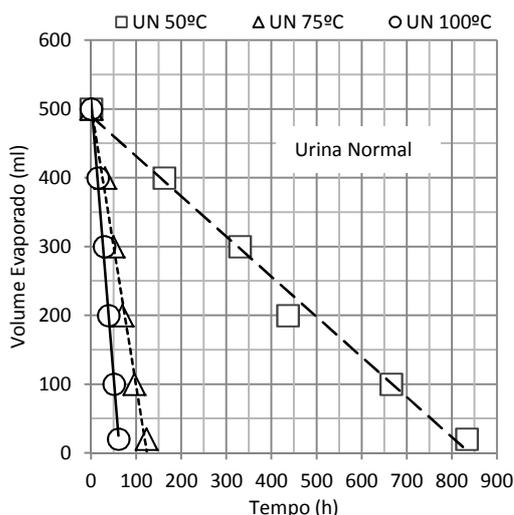


Figura 27: Redução de volume durante a evaporação na urina normal (UN).

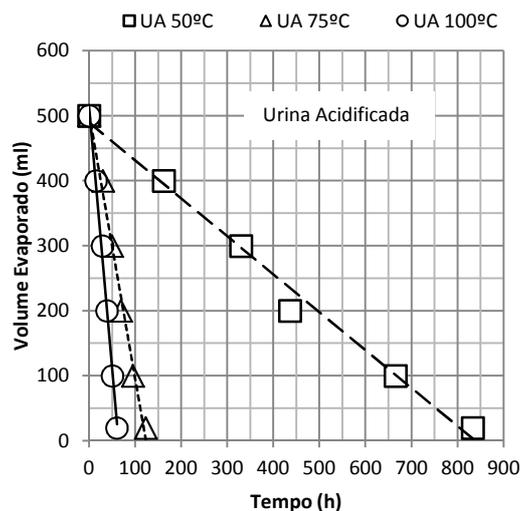


Figura 28: Redução de volume durante a evaporação na urina acidificada (UA).

Tabela 14: Taxas de evaporação nas diferentes temperaturas de evaporação.

Temperatura	Amostra	Equação do gráfico	R ²	Taxa de Evaporação (Vi - Vf)/(Tf - Ti) [ml h ⁻¹]**
50 °C	Urina Normal	$y = -0,5834x + 489,39$	0,99	0,58
	Urina acidificada			
75 °C	Urina Normal	$y = -4,0705x + 503,3$	0,9917	3,90
	Urina acidificada			
100 °C	Urina Normal	$y = -8,0686x + 514,22$	0,9953	7,92
	Urina acidificada			

**Vf = volume final; Vi = volume inicial; Tf = tempo final; Ti = tempo inicial

Observou-se também que as equações resultantes da regressão linear são as mesmas para os testes realizados com a mesma temperatura e com os diferentes tipos de urina (normal e acidificada), o que indica que a acidificação praticada não interfere no processo de redução de volume. A taxa de evaporação a 100 °C foi 13,8 vezes maior que na temperatura a 50 °C e 2,0 vezes maior que na temperatura a 75 °C nos testes com os dois tipos de urina.

3.3.2 Caracterização físico-química

O pH das amostras de urina normal permaneceu entre 6,0 e 7,0 até ao final do experimento (Figura 29). No caso da evaporação das amostras acidificadas (UA), estas apresentaram uma tendência de elevação do pH no decorrer do ciclo, atingindo valores

entre 5,0 e 7,0 ao final do experimento (Figura 30). Atribui-se esse aumento do pH à abertura do nitrogênio orgânico presente na ureia pelo efeito combinado da alta temperatura e da acidez do meio. Quanto mais elevada a temperatura, mais rápido e mais intenso foi o aumento do pH durante o ensaio, cujos valores tenderam a se estabilizar em torno de pH 6,0 nos três casos, esse efeito tampão também foi observado nos estudos realizado por Paulo*. A amonificação sempre presente na estocagem da urina, conforme ilustrado nas Figura 31 e Figura 32, tende a alcalinizar o meio, o que, por sua vez, favorece a volatilização da amônia.

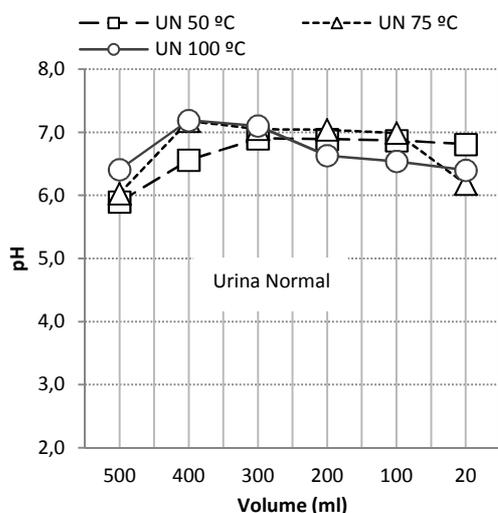


Figura 29: Comportamento do pH na urina normal durante a evaporação.

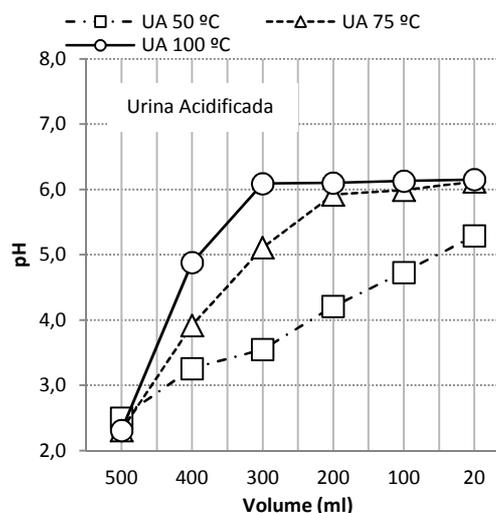


Figura 30: Comportamento do pH na urina acidificada durante a evaporação.

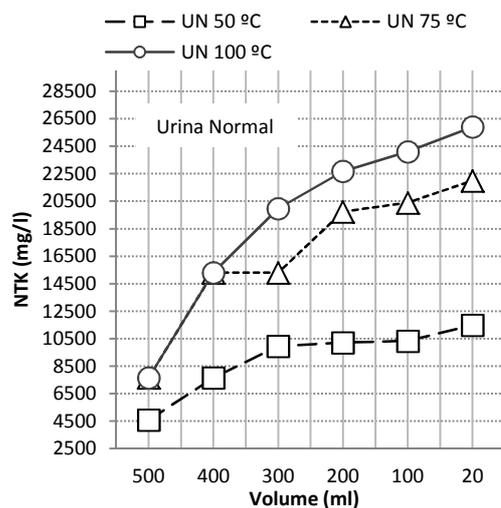


Figura 31: Comportamento da concentração de NTK na urina normal durante a evaporação.

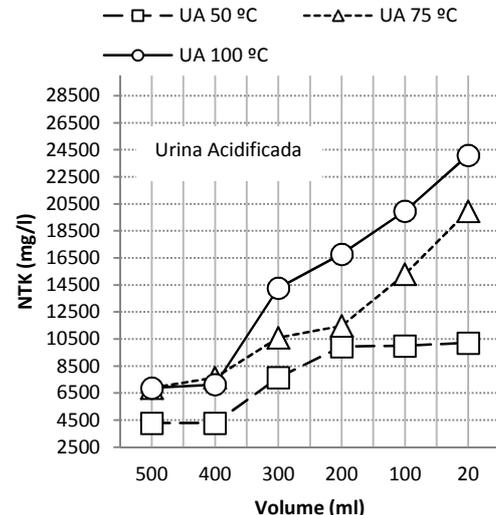


Figura 32: Comportamento da concentração de NTK na urina acidificada durante a evaporação.

*Comunicação pessoal de Paulo, P.L. (Universidade Federal do Mato Grosso do Sul) em 06 de setembro de 2012 por correio eletrônico.

Os balanços de massa realizados para NTK e $N-NH_4^+$ indicam uma perda de massa de ambos os compostos ao longo dos dois ensaios de evaporação. Conforme previsto *a priori*, no ensaio com urina normal, foi calculada uma perda média de 1,49 g de NTK e de 1,16 g de $N-NH_4^+$ com relação à massa inicial. Esses valores estão de acordo com os resultados obtidos nos ensaios realizados por Antonini *et al.*, (2012), que estudaram a evaporação de urina em um fotorreator com uma face de escoamento com 50 l de urina em batelada. Ao final de 26 dias para a evaporação completa estes autores observaram uma perda de 32% do nitrogênio inicial (250 g para 170 g). Entretanto, no ensaio com urina acidificada não era prevista uma perda de 1,5 g de NTK, justamente por conta da acidificação que deveria inibir a atividade da enzima urease desde o início do teste. Não obstante, tudo indica que o efeito da temperatura foi determinante na amonificação e posterior volatilização da amônia, conforme pode ser observado na Tabela 15. A evaporação completa praticamente eliminou o estoque de nitrogênio da urina, tanto sob condições normais quanto sob acidificação, o que leva a conclusão de que tal prática é contraindicada para a redução de volume da urina.

Tabela 15: Balanço de massa de NTK e $N-NH_4^+$.

Urina Normal																
Evap. 50°C					Evap. 75°C				Evap. 100°C							
		NTK		NNH4+			NTK		NNH4+			NTK		NNH4+		
Vol (mℓ)	Tempo (h)	pH	massa (g)	massa (g)	Tempo (h)	pH	massa (g)	massa (g)	Tempo (h)	pH	massa (g)	massa (g)	Tempo (h)	pH	massa (g)	massa (g)
500	0	5,9	2,29	1,14	0	6,0	3,83	1,91	0	6,4	3,83	1,91	0	6,4	3,83	1,91
100	665	6,9	1,03	0,10	95	6,7	2,04	1,15	50,6	6,5	2,41	0,24	50,6	6,5	2,41	0,24
Perda (g)			1,26	1,04	Perda (g)			1,79	0,77	Perda (g)			1,42	1,67		
Perda (%)			54,8	91,0	Perda (%)			46,7	40,0	Perda (%)			37,0	87,4		
Urina Normal																
Perda média NTK (g) = 1,49																
Perda média N-NH4+ (g) = 1,16																
Urina Acidificada																
Evap. 50°C					Evap. 75°C				Evap. 100°C							
		NTK		NNH4+			NTK		NNH4+			NTK		NNH4+		
Vol (mℓ)	Tempo (h)	pH	massa (g)	massa (g)	Tempo (h)	pH	massa (g)	massa (g)	Tempo (h)	pH	massa (g)	massa (g)	Tempo (h)	pH	massa (g)	massa (g)
500	0	2,5	2,14	1,91	0	2,3	3,44	1,91	0	2,3	3,44	1,72	0	2,3	3,44	1,72
100	665	4,7	1,00	0,38	95	6,0	1,53	0,77	50	6,1	2,00	0,20	50	6,1	2,00	0,20
Perda (g)			1,14	1,53	Perda (g)			1,91	1,15	Perda (g)			1,45	1,52		
Perda (%)			53,3	80,0	Perda (%)			55,6	60,0	Perda (%)			42,0	88,4		
Urina Acidificada																
Perda média NTK (g) = 1,50																
Perda média N-NH4+ (g) = 1,40																

A perda de nitrogênio no ensaio de evaporação acidificada ocorreu fundamentalmente por volatilização de amônia, tendo em vista a ausência de formação de precipitados durante o experimento. Da mesma maneira, no estudo realizado por Tettenborn *et al.*, (2007) também não foi observada a precipitação de cristais durante o processo de evaporação com urina estocada acidificada. Stratful *et al.*, (2001) observaram que, em pH abaixo de 8,0, nenhum cristal é produzido em quantidades detectáveis na urina.

Outro importante aspecto para o uso agrícola da urina concentrada foi o aumento observado da condutividade elétrica ao longo do ciclo de evaporação nas amostras de urina normal e acidificada para as três temperaturas estudadas. Os valores mais elevados foram obtidos a 75 °C, com valores de 60,4 mS cm⁻¹ na urina normal e 63,8 mS cm⁻¹ na urina acidificada. Os valores mais baixos foram obtidos durante a evaporação a 50 °C, com valores máximos de 28,2 e 26,9 mS cm⁻¹ na urina normal e urina acidificada, respectivamente. Tettenborn *et al.*, (2007), utilizando uma técnica diferente de evaporação, também observou o mesmo fenômeno atribuído à concentração paulatina de íons dissolvidos na amostra. O concentrado final de urina apresenta elevadas concentrações de substâncias conservativas, tais como cloretos, o que é prejudicial às culturas agrícolas (LIMA, 2005). As concentrações finais de cloreto ficaram em torno de 1,5 a 2,1 vezes mais concentradas na temperatura de 50 °C, de 6,0 a 6,9 vezes na temperatura de 75 °C e de 4,8 a 7,0 vezes na temperatura de 100 °C (Tabela 16).

Tabela 16: Concentrações iniciais e finais de cloreto na urina.

mg ℓ ⁻¹	Evap. 50°C				Evap. 75°C				Evap. 100°C			
	UN inicial	UN final	UA inicial	UA final	UN inicial	UN final	UA inicial	UA final	UN inicial	UN final	UA inicial	UA final
Cloreto	3649	7448	3449	10947	5148	35589	5148	31040	2849	19994	2899	13946
<i>cf final</i> <i>Eq. 09</i>	2,0		3,2		6,9		6,0		7,0		4,8	

3.3.3 Análise das FQs na urina humana

De um modo geral, os ensaios de evaporação evidenciaram uma maior resistência à degradação da OFLO e uma alta degradabilidade das NOR e CIPRO sob as diferentes condições de pH e temperatura (Figura 33 e Tabela 17). As eficiências de degradação atingiram valores superiores a 85% nos ensaios com NOR e CIPRO sob 75 °C e 100 °C, mas limitaram-se a valores inferiores a 68% sob as mesmas condições.

Observou-se que as temperaturas mais elevadas resultaram em velocidades de degradação (Vd) dos diferentes compostos mais elevadas nas fases iniciais dos testes

com urina normal. Para ilustrar esse fenômeno, tome-se como exemplo as velocidades de degradação de NOR calculadas na evaporação dos primeiros 100 ml (Tabela 17): $V_d = 7,0 \mu\text{g/h}$ a $50 \text{ }^\circ\text{C}$, $V_d = 48,0\mu\text{g/h}$ a $75 \text{ }^\circ\text{C}$ e $V_d = 105,0 \mu\text{g/h}$ a $100 \text{ }^\circ\text{C}$. A exceção a este comportamento foi a OFLO exposta a $100 \text{ }^\circ\text{C}$, cuja resistência à degradação foi considerável tanto nas amostras de urina normal quanto de urina acidificada.

Tabela 17: Eficiências e velocidades de degradação de massa das 3 FQs durante a evaporação de urina.

FQs	Vol (ml)	50 °C								75 °C								100 °C							
		Tempo (h)	Concentração (µg)		Degradação pela massa %		Vd (µg/h)		Tempo (h)	Concentração (µg)		Degradação pela massa %		Vd (µg/h)		Tempo (h)	Concentração (µg)		Degradação pela massa %		Vd (µg/h)				
			UN	UA	UN	UA	UN	UA		UN	UA	UN	UA	UN	UA		UN	UA	UN	UA	UN	UA			
OFLO	500	0,0	3,45	3,17	0	0	0	0	0,0	3,26	3,32	0	0	0	0	0,0	3,83	3,46	0	0	0	0			
	400	162,6	3,95	4,15	8	0	1	0	30,6	4,28	4,74	0	0	-3	-8	15,0	4,05	5,39	15	0	20	-28			
	300	330,0	5,61	5,37	2	0	0	0	49,6	5,58	5,73	0	0	1	4	29,2	5,65	6,02	11	0	-3	12			
	200	436,2	8,02	6,47	7	18	0	1	69,6	9,18	8,87	0	0	-2	-1	38,6	11,65	14,23	0	0	-16	-27			
	100	665,5	14,88	13,99	14	12	0	0	95,6	17,03	20,69	0	0	1	-3	50,6	17,04	21,14	11	0	12	14			
	20	833,5	48,30	28,10	44	65	1	1	123,1	29,17	26,78	64	68	9	12	60,6	112,68	66,16	0	24	-9	13			
NOR	500	0,0	3,52	3,47	0	0	0	0	0,0	3,32	3,39	0	0	0	0	0,0	3,19	2,93	0	0	0	0			
	400	162,6	1,54	3,99	65	8	7	1	30,6	0,48	3,97	88	6	48	3	15,0	0,05	3,88	99	-6	105	-6			
	300	330,0	1,21	4,95	79	14	1	0	49,6	0,41	5,16	93	9	1	1	29,2	0,17	3,50	97	28	-1	17			
	200	436,2	1,10	6,34	88	27	0	0	69,6	0,23	6,73	97	21	1	3	38,6	0,50	3,27	94	55	-1	10			
	100	665,5	2,63	10,32	85	41	0	0	95,6	0,99	10,29	94	39	-1	3	50,6	1,01	5,46	94	63	0	2			
	20	833,5	10,20	23,65	88	73	0	1	123,1	2,25	12,08	97	86	0	6	60,6	8,87	11,06	89	85	-1	5			
CIPRO	500	0,0	3,00	3,00	0	0	0	0	0,0	3,28	3,31	0	0	0	0	0,0	3,07	2,86	0	0	0	0			
	400	162,6	1,46	3,51	61	6	6	1	30,6	0,53	3,94	87	5	47	3	15,0	0,11	3,93	97	0	99	-9			
	300	330,0	1,31	4,35	74	13	1	0	49,6	0,62	5,18	89	6	1	0	29,2	0,13	3,26	97	32	0	20			
	200	436,2	1,27	5,22	83	30	0	1	69,6	0,30	6,79	96	18	2	3	38,6	0,81	3,15	89	56	-3	9			
	100	665,5	3,47	6,43	77	57	0	1	95,6	0,91	9,07	94	45	0	5	50,6	1,06	5,25	93	63	1	2			
	20	833,5	9,60	12,65	87	83	0	0	123,1	2,08	11,41	97	86	0	6	60,6	7,65	14,83	90	79	-1	4			

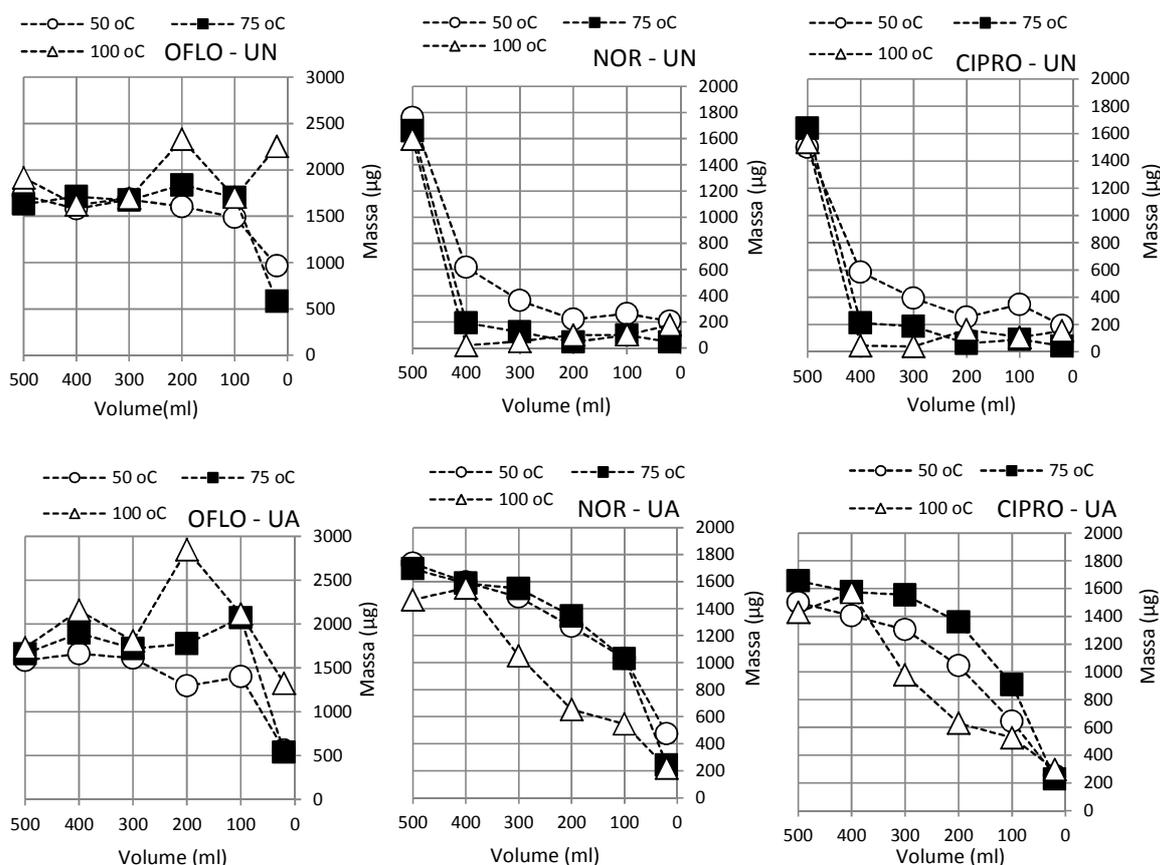


Figura 33: Massa das FQs (OFLO, NOR e CIPRO) durante a evaporação normal (UN) e acidificada (UA).

Também ficou evidente que a acidificação da urina potencializou a resistência das NOR e CIPRO às três temperaturas testadas, cujas velocidades e as eficiências de degradação mostraram-se bastante reduzidas com relação aos testes com urina normal. Em todos os ensaios foram observadas inicialmente eficiências e velocidades de degradação negativas, que só atingiram valores positivos praticamente na segunda metade do tempo de duração da evaporação. Também as eficiências finais de degradação das FQs foram inferiores nos testes com urina acidificada, indicando que a prática de acidificação da urina previamente à evaporação é contraindicada na mitigação de riscos advindos destes micropoluentes. O efeito negativo da acidez sobre a degradação das FQs na urina pode ser explicado pela estabilidade destes compostos em pHs inferiores a 4,0, de acordo com os resultados de estabilidade com formulações farmacêuticas (fármaco e excipientes) da CIPRO, realizado por Adam *et al.*, (2012). Segundo Shervington *et al.*, (2005), ainda no que se refere à influência do pH, observou-se que o comportamento da formulação farmacêutica da OFLO foi similar ao

observado nos testes de evaporação com urina normal, caracterizados por uma elevada resistência à degradação.

Quando se relaciona com as altas temperaturas utilizadas, Adam *et al.*, (2012) verificaram um aumento na taxa de decomposição térmica (a 30 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C e 70 °C) da CIPRO solução com o aumento da temperatura , o que foi justificado pelo aumento na frequência de colisões do soluto e as moléculas do solvente. Esse fenômeno pode ser explicado pela equação de Arrhenius, segundo os autores. Sateesha *et al.*, (2010), estudando a degradação da NOR em suspensão durante seu estudo de estabilidade, verificaram que quando essas foram expostas a umidade e a temperatura de 60 °C durante um mês, a degradação foi observada. Já a OFLO, de acordo com Shervington *et al.*, (2005), provou ser relativamente estável sob condições ácidas e alcalinas, resultando em uma pequena degradação quando a OFLO foi exposta a luz natural (240h) e a luz UV direta (24h), onde as recuperações foram de 80 a 85%, respectivamente, verificando baixa degradação da OFLO. A baixa de degradação também foi observada nos estudos realizados por Reddy *et al.*, (2010) sob diferentes condições, incluindo degradação fotolítica, onde o valor máximo de degradação foi de 15%.

As melhores eficiências de degradação observadas por esses autores dão a falsa impressão que, a evaporação pode ser um método amplamente eficiente para mitigar riscos químicos na reciclagem de nutrientes da urina na agricultura, devido às altas temperaturas, porém as reduzidas eficiências de degradação aqui observadas especialmente para OFLO comprovam que níveis reduzidos de risco somente serão assegurados mediante a aplicação de tratamentos diferentes da evaporação, tais como a produção de estruvita (LIND *et al.*, 2001.; GANROT *et al.*, 2005; RONTELTAP *et al.*, 2007). Além disso, ficou claro que a prática da acidificação, com a concentração de ácido sulfúrico utilizada e nas temperaturas de evaporação, não foi eficiente na preservação do estoque de nutrientes da urina sob evaporação e prejudicou a eficiência de degradação das três FQs estudadas. No estudo realizado por Paulo* com amostras de urina, em ambiente aberto, com temperatura controlada (em torno de 30°C) e com diferentes ácidos (ácido acético, ácido clorídrico e ácido sulfúrico) foi utilizado quantidades suficientes para abaixar o pH inicial para 2, 3, 4 e 5. Durante 12 dias o pH foi aferido para controlar se um dos reagentes era capaz de estabilizar o pH da urina. As amostras com pH 2,0 se mantiveram estáveis, porém o mesmo não foi observado para os outros valores

*Comunicação pessoal de Paulo, P.L. (Universidade Federal do Mato Grosso do Sul) em 06 de setembro de 2012 por correio eletrônico.

de pH. Nessa pesquisa não se observou o mesmo comportamento, pois as amostras que estavam com valor de pH 2,0 não se mostraram estáveis, o que pode ter ocorrido pelo tempo de análise ser superior a 12 dias e ainda as temperaturas utilizadas foram superiores a 30°C, e ainda segundo Paulo*, se faz necessário o aumento da concentração de ácido sulfúrico e ou utilização de outros ácidos, como o ácido acético para comprovação ou não da eficiência da acidificação durante a evaporação.

4 CONCLUSÕES

Nos testes realizados, a evaporação de 80% do volume de urina a temperaturas de 50 °C, 75 °C e 100 °C, sem e com acidificação, resultou em perdas consideráveis do estoque de nitrogênio originalmente presente no líquido. Perdas da ordem de 50% de NTK foram observadas em quase todos os ensaios, inclusive naqueles em que o pH inicial foi próximo de 2,0. Ficou claro que a acidificação com a concentração de ácido sulfúrico utilizada e nas temperaturas de evaporação, não foi um método eficaz de conservação de nitrogênio na urina, quando a evaporação for empreendida para reduzir volume.

Os ensaios de evaporação evidenciaram uma maior resistência à degradação da OFLO e uma alta degradabilidade da NOR e da CIPRO sob as diferentes condições de pH e temperatura. A acidificação da urina aumentou a resistência à degradação da NOR e da CIPRO sob as três temperaturas testadas, cujas velocidades e as eficiências de degradação mostraram-se bastante reduzidas com relação aos testes com urina normal. Também as eficiências finais de degradação das FQs foram inferiores nos testes com urina acidificada, indicando que a prática de acidificação da urina com a concentração de ácido utilizada, previamente à evaporação pode ser contraindicada na mitigação de riscos advindos destes micropoluentes, sendo necessários ainda mais estudos para confirmação de tal fato.

5 REFERENCIAS

ADAM, E. H. K.; ELAZIZ, M. E. M. A.; SAEED, A. E. M. Stability study of ciprofloxacin hydrochloride under stress conditions using reverse phase-high performance liquid chromatography method. **Der Pharmacia Sinica**, v. 3, n. 2, p 217-223, 2012.

*Comunicação pessoal de Paulo, P.L. (Universidade Federal do Mato Grosso do Sul) em 06 de setembro de 2012 por correio eletrônico.

ANTONINI, S.; NGUYEN, P.T.; ARNOLD, U.; EICHERT T.; CLEMENS J. Solar thermal evaporation of human urine for nitrogen and phosphorus recovery in Vietnam. **Science of the Total Environment**, n. 414, 2012.

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington: American Public Health Association, 2005.

ESPINOSA-MANSILLA, A.; PEÑA, A. M.; GÓMEZ, D. G.; SALINAS, F. HPLC determination of enoxacin, ciprofloxacin, norfloxacin and ofloxacin with photoinduced fluorimetric (PIF) detection and multiemission scanning application to urine and serum. **Journal of Chromatography B**, v. 822, n. 1-2, p. 185–193, 2005.

GANROT, Z. **Urine processing for efficient nutrient recovery and reuse in agriculture**. Göteborg University. 2005.

HELLSTRÖM, D.; JOHANSSON, E.; GRENNBERG, K. Storage of human urine: acidification as a method to inhibit decomposition of urea. **Ecological Engineering**, n. 12, p. 253-269, 1999.

HÖGLUND, C., STENSTROM, T.A., JONSSON, H., SUNDIN, A. Evaluation of faecal contamination and microbial die-off in urine separating sewage systems. **Water Sci. Technol.**, v. 38, n. 6, p. 17–25, 1998.

KARAK. T.; BHATTACHARYYA, P. Human urine as a source of alternative natural fertilizer in agriculture: a flight of fancy or an achievable reality. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 55, n. 4, p. 400-408, 2011.

KLINGEL, F.; WERNER, C.; BRACKEN, P.; RÄTH, N. **Urine diversion in GTZ's main building in Eschborn and utilization of diverted urine – a demonstration and research Project**. 2006. Disponível em: <<http://www2.gtz.de/Dokumente/oe44/ecosan/en-ud-in-main-gtz-building-iwa-abstract-2006.pdf>>. Acesso em: 18 nov. 2011.

LIMA, M. A. S. **Águas acumuladas em açudes e barragens na região de Santa Maria e flutuações em seus atributos físico-químicos**. 2005. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

LIND, B.; BAN, Z.; BYDÉN, S. Volume reduction and concentration of nutrients in human urine. **Ecological Engineering**, v. 16, n. 4, p. 561-566, 2001.

MAURER, M.; PRONK, M.; LARSEN, T. A. Treatment processes for source-separated urine. **Water Research**, v. 40, n. 17, p. 3151-3166, 2006.

MOURA, A.; HENRIQUES, I.; RIBEIRO, R.; CORREIA, A. Prevalence and characterization of integrons from bacteria isolated from a slaughterhouse wastewater treatment plant. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 60, n. 6, p. 1243–1250, 2007.

MOULTON, Y; LEROY, O. Ofloxacin. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 1, p. 57-74, 1991.

PRONK, W.; KONÉ D. Options for urine treatment in developing countries. **Desalination**, v. 248, n. 1-3, p. 360-368, 2009.

REDDY, B. V.; KUMAR, A. P.; REDDY, G. V. R.; SAHAI, M.; SREERAMULU, J.; PARK, J. H. Stability Indicating Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography Method for

Determination of Impurities in Ofloxacin Tablet Formulation. **Analytical Letters**, v. 43, p. 2653-2662, 2010.

RONTELTAP, M.; MAURER, M.; GUJER, W. The behaviour of pharmaceuticals and heavy metals during struvite precipitation in urine. **Water Research**, v. 41, n. 9, p. 1859-1868, 2007.

SATEESHA, S. B.; RAJAMMA, A. J. SHEKAR, H. S. MOHAMED, R. K. M.; JAYANTHI A. Formulation and stability study of palatable norfloxacin dry syrup: comparison among different preparation methods. **Palatable norfloxacin dry syrup/Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 2, p. 57-66, 2010.

SCHLÜTER, A.; SZCZEPANOWSKI, R.; KURZ, N.; SCHNEIKER, S.; KRAHN, I.; PÜHLER, A. Erythromycin resistance-conferring plasmid pRSB105, isolated from a sewage treatment plant, harbors a new macrolide resistance determinant, an integron-containing Tn402-like element, and a large region of unknown function. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 73, n. 6, p. 1952-1960, 2007.

SCHÖNNING, C.; STENSTRÖM, T. A. **Guidelines for the Safe Use of Urine and Feces in Ecological Sanitation Systems**. EcoSanRes Report 2004-1, SEI- Instituto Ambiental de Estocolmo, Estocolmo, Suécia. Disponível em: <www.ecosanres.org. 2004>. Acesso em: 12 mai. 2010.

SEIFRTOVÁ, M.; NOVÁKOVÁ, L.; LINO, C. M.; PENA, A.; SOLICH, P. An overview of analytical methodologies for determination of antibiotics in environmental waters. **Anal. Chim. Acta.**, v. 649, n. 2, p. 158-179, 2009.

SHARMA, P. C.; ALAWADHI, N.; ARCHANA, S.; PAHWA, R.; RAJAK, H. Fluoroquinolones in urinary tract infections: A study on perception analysis of prescribers. **Der Chemica Sinica**, v.1, n. 3, p. 84-90, 2010.

SHERVINGTON, L.A.; ABBA, M.; HUSSAIN, B.; DONNELLY, J. The simultaneous separation and determination of five quinolone antibiotics using isocratic reversed-phase HPLC: Application to stability studies on an ofloxacin tablet formulation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, n. 3-4, p. 769-775, 2005.

STRATFUL, I.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J. N. Conditions influencing the precipitation of Magnesium ammonium phosphate. **Water Research**, v. 35, n. 17, p. 4191-4199, 2001.

TETTENBORN, F.; BEHRENDT, J.; OTTERPOHL, R. **Resource recovery and removal of pharmaceutical residues** – Treatment of separate collected urine. Instituto e Gestão de Águas Residuárias e Proteção da Água, Universidade de Tecnologia de Hamburg-Harburg - TUHH, 2007. 119 p.

UDERT, K. M.; LARSEN, T. A.; GUJER, W. Fate of major compounds in source-separated urine. **Water Science and Technology**, v. 54, n. 11-12, p. 413-420, 2006.

UDERT, K. M.; LARSEN, T. A.; GUJER, W. Estimating the precipitation potential in urine-collecting systems. **Water Research**, v. 37, n. 11, p. 2667-2677, 2003.

VAN DEN BOOGAARD, J.; SEMVUA, H.H.; BOEREE M. J.; AARNOUTSE, R. E.; KIBIKI, G. S. Sale of fluoroquinolones in northern Tanzania: a potential threat for fluoroquinolone use in tuberculosis treatment. **J. Antimicrob. Chemother**, v. 65. n. 1, p. 145-147, 2010.

VELO, G.; MORETTI, U. Ecopharmacovigilance for better health. **Drug Safety**, v. 33, n. 11, p. 963-968, 2010.

XU, W.; ZHANG, G.; LI, X.; ZOU, S.; LI, P.; HU, Z.; LI, J. Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl River Delta (PRD), South China. **Water Research**, v. 41, n. 19, p. 4526–4534, 2007.

ZANCHETA, P. G.; GONÇALVES, R. F.; PENA, A. Desenvolvimento e validação de método para quantificação simultânea de ofloxacina, norfloxacin e ciprofloxacina em urina humana. **Submetido a Química Nova** (566/12), 2012a.

4.4 ARTIGO 4

Análise comparativa de desempenho de evaporadores solares para redução de volume da urina humana

Priscilla Garozi Zancheta, Rogério Ramos e Ricardo Franci Gonçalves

Resumo

A reciclagem de nutrientes da urina humana produzida em áreas urbanas é uma etapa importante em direção ao desenvolvimento ecologicamente sustentável. Para sua utilização como fertilizante natural, processos de tratamento devem ser adotados visando à estabilização das características físico-químicas e microbiológicas. Este artigo compara duas técnicas de evaporação solar para redução de volume da urina: evaporador de bandeja e concentrador solar parabólico. A comparação foi realizada com base em dois parâmetros de caracterização de desempenho: a taxa de evaporação e a eficiência energética, relacionando com a possível degradação das fluoroquinolonas (FQs). Os resultados mostraram que é possível reduzir o volume utilizando-se ambas as técnicas. Quando se relaciona as taxas de evaporação e a eficiência energética, o concentrador solar parabólico teve melhor desempenho em relação ao evaporador de bandeja, apresentando um tempo de residência menor e maiores taxas de degradação de FQs.

Palavras-Chave: Evaporação Solar; Taxa de Evaporação; Eficiência Energética; Urina Humana; Degradação de Fluoroquinolonas.

Abstract

The recycling of nutrients from human urine produced in urban areas is an important step towards ecologically sustainable development. For their use as natural fertilizer, management processes and treatment should be implanted in order to stabilize the physical-chemical and microbiological characteristics. This paper compares two solar evaporation techniques: pan evaporator and parabolic solar concentrator, proposing two criteria for evaluating performance: the rate of evaporation, energy efficiency, relating to the possible degradation of fluoroquinolones (FQs). The results showed that the volume can be reduced using both techniques. When related the rates of evaporation and energy efficiency, solar parabolic concentrator performed best over the evaporator tray, showing a shorter residence time and higher rates of degradation of FQs.

Keywords: Solar Evaporation; Evaporation Rate; Energy Efficiency; Human Urine; Fluoroquinolones Degradation.

1 INTRODUÇÃO

A reciclagem de nutrientes da urina humana produzida em áreas urbanas e utilizadas em terras cultiváveis é uma etapa importante em direção ao desenvolvimento ecologicamente sustentável. São grandes as quantidades de nutrientes nitrogênio, fósforo e potássio nela contidas o que faz com que seu aproveitamento como fertilizante atraia uma atenção crescente devido aos altos preços dos fertilizantes químicos (ANTONINI, *et al.*, 2012). Os picos extremos dos preços dos fertilizantes contendo N, P, K e S alcançados em meados de 2009 causaram temores ao redor do mundo (FIXEN, 2009).

A estimativa de utilização de fertilizantes na agricultura brasileira em 2015 é de 5,2 milhões de toneladas de P_2O_5 , 5,8 milhões de toneladas de K_2O e de 3,8 milhões de toneladas de N (FACRE, 2007). Em termos mundiais, a participação dos fertilizantes nitrogenados era bem equilibrada na década de 70, porém nas últimas décadas a eficiência da ureia em relação às outras formas nitrogenadas resultou no aumento de sua participação como fertilizante. Em 2007, a produção mundial de ureia alcançou 134,7 milhões de toneladas, com 49% da produção ocorrendo na China e na Índia. O Brasil possui grande utilização de fertilizantes e é um dos grandes importadores mundiais. Estima-se que até 2020 o consumo de ureia como fertilizante seja próximo de 5 milhões de toneladas por ano no Brasil, o que representa um grande desafio para os produtores, considerando que a capacidade de produção no país é de 1,5 milhão de toneladas em 2007 (FACRE, 2007).

Por outro lado, aglomerações humanas em grandes cidades podem gerar até 5000 toneladas de urina para cada grupo de um milhão de habitantes por ano. Se devidamente tratada, essa urina poderia gerar em torno de 500 toneladas de ureia de boa qualidade para utilização na agricultura, uma vez que a utilização de técnicas de baixo custo como a evaporação da urina pode concentrar a ureia em até 10 vezes o valor inicialmente encontrado (BEHRENDENT *et al.*, 2002).

Os macronutrientes da urina se encontram na forma ideal para serem aproveitados pelas plantas: o nitrogênio na forma de ureia, o fósforo como ortofosfato e o potássio como íon livre. Outra vantagem da utilização da urina como fertilizante é que ela apresenta concentrações muito baixas de metais pesados (ESREY, 1998). As concentrações de mercúrio e cádmio, segundo Jönsson *et al.*, (1997) e Kirchmann e Petterson (1995), variam de 0,33 a

0,55 $\mu\text{g } \ell^{-1}$ e de 0,0002 a 0,0010 $\text{mg } \ell^{-1}$, respectivamente. Ronteltap *et al.*, (2007) concluíram que, apesar de encontrarem traços de metais pesados na urina, as concentrações mais elevadas de As, Cd, Cr, Co, Cu, Ni, Pb, Zn, Al e Fe por grama de N e P são menores na urina humana que em fertilizantes artificiais e estrume.

Embora sejam encontrados apenas traços de metais pesados na urina, uma gama de contaminantes pode estar presente, incluindo compostos farmacêuticos, hormônios naturais, artificiais e agentes patogênicos, o que põe em causa a aplicação na agricultura da urina humana não tratada (PRONK e KONE, 2009). A utilização de excretas humanas na fertilização e adubação sem o tratamento adequado pode levar a contaminação de alimentos por algumas cepas de bactérias. Na Europa em 2011 foi notório o surto por alimentos contaminados por *Escherichia coli* Shiga Toxigênica (STEC-0104:H4), que vem a ser um patógeno emergente, causador de diarreia e doenças graves como colite hemorrágica e síndrome hemolítico-urêmica (SHU). Tal surto atingiu mais de 4 mil pessoas, incluindo quase 900 que desenvolveram a SHU, e deixou 48 mortos, (BORGOTTA, 2011).

Para a utilização da urina humana como fertilizante natural, processos de tratamento devem ser adotados visando à estabilização das características físico-químicas e microbiológicas. Sua utilização na agricultura pode ser feita sob a forma líquida ou na forma de cristais de estruvita $[\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ e hidroxiapatita $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_2(\text{OH})]$. Vários processos podem ser implantados para o tratamento da urina humana, sendo os mais utilizados a estocagem e técnicas de redução de volume (MAURER *et al.*, 2006). Estes autores revisaram várias opções de processos de engenharia disponíveis para o tratamento de coleta da urina, tais como:

- osmose reversa: com essa técnica se obtém altas taxas de retenção de microcontaminantes e nutrientes, entretanto não é possível a separação entre eles na utilização dessa técnica;
- nitrificação: como visto em Udert *et al.*, (2003) é um processo sensível a instabilidades;
- precipitação: que é a técnica utilizada para se recuperar fósforo na urina, sendo estruvita o produto predominante seguido de sais de fosfato de cálcio;
- eletrodialise: com o qual consegue se extrair seletivamente os nutrientes, mantendo os microcontaminantes (produtos farmacêuticos) no diluído como mostra o estudo realizado por Pronk *et al.*, (2006a);

- nanofiltração: que dependendo do tipo de membrana utilizada, promove uma taxa de remoção de um conjunto de hormônios e compostos farmacêuticos na urina excedendo 92%, entretanto 50 a 80% do nitrogênio amoniacal fica retido segundo Pronk *et al.*, (2006b).

- oxidação avançada: com essa técnica se consegue uma oxidação completa de um conjunto representativo de microcontaminantes, incluindo produtos farmacêuticos e hormônios sintéticos, segundo a conclusão de Pronk *et al.*, (2006b).

- evaporação: que foi definida por Maurer *et al.*, (2006) como o mais apropriado para as áreas agrícolas com fornecimento de energia deficiente.

Para PRONK e KONE (2009), os custos de investimento e de operação podem ser mantidos baixos com a construção de evaporadores simples, utilizando-se materiais disponíveis a partir de uma logística local. O custo da energia pode ser minimizado com a utilização da radiação solar, que é um recurso abundante na maioria das regiões do mundo, principalmente na maioria dos países em desenvolvimento.

A evaporação artificial da urina foi estudada por Tettenborn *et al.*, (2007) em um evaporador rotativo (rotavapor) operado para obter informações sobre o comportamento do substrato durante a evaporação. O rotavapor foi utilizado em escala de batelada, variando-se a taxa de evaporação de 4 a 10 ℓ/h e a temperatura entre 70 a 80 °C, sob uma pressão de -300 mbar.

Antonini *et al.*, (2012) aplicaram a energia solar na evaporação da urina humana no Vietnã utilizando um fotorreator com uma face de escoamento, evaporando 50 ℓ de urina em cada batelada. A duração do ciclo de evaporação utilizando apenas a energia solar como fonte de calor teve duração de 26 dias para evaporação completa da amostra.

Botto *et al.*, (2010) propuseram o desenvolvimento conceitual de um concentrador parabólico para realizar a evaporação da urina humana, sem no entanto tê-lo testado por ocasião da publicação. A proposta baseia-se no fato de que os sistemas parabólicos conseguem obter temperaturas bastante elevadas durante a evaporação, com eficiência energética de 14% a 22%. Entretanto, necessitam de construção mecânica apurada e sistemas de dimensionamento precisos para a formação do foco (RAMOS *et al.*, 2007a; RAMOS *et al.*, 2007b; ANJOS, 2008).

No contexto de desenvolvimento de tecnologias de baixo custo em países em desenvolvimento, este estudo compara duas técnicas de evaporação solar: evaporador de bandeja e concentrador solar parabólico, propondo três parâmetros de avaliação de desempenho: a taxa de evaporação, a eficiência energética, relacionando com a possível degradação de antibióticos fluoroquinolonas (FQs). Da sua realização baseia-se no reconhecimento de que, dentre os processos de redução de volume, a evaporação representa a mais simples tecnologia para remover água e concentrar dos nutrientes, facilitando o transporte e o armazenamento da urina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparação de amostras de urina humana e dos padrões de fluoroquinolonas

Todas as amostras de urina humana foram acidificadas com ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado (96% P.A; $98,08 \text{ g mol}^{-1}$ de massa molar) para reduzir o pH entre 2,0 e 2,5. Foi necessária a adição de 1ml do ácido para cada litro de urina humana.

Para as análises de antibióticos foram preparadas as soluções estoque de 1 mg mL^{-1} das três FQs, ofloxacina (OFLO), norfloxacin (NOR) e ciprofloxacina (CIPRO) dissolvendo-se 50 mg do padrão respectivo em H_2SO_4 $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ num balão de vidro âmbar de 50 mL. As soluções estoque de trabalho foram uma mistura das três FQs preparadas por diluição adequada das soluções estoque também utilizando H_2SO_4 $0,005 \text{ mol L}^{-1}$. As soluções estoque foram armazenadas a $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

2.2 Monitoramento dos ensaios por CLAE-DF com a urina fortificada com as FQs

Para o monitoramento das análises via cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi necessário utilização dos reagentes e equipamentos descritos a seguir.

Os padrões de OFLO, NOR e CIPRO foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Estes padrões possuem $> 98\%$ de pureza. O metanol grau HPLC foi obtido de Carlo Erba (Milão, Itália), o ácido fosfórico 85% de Merck (Alemanha) e a acetonitrila grau HPLC de Pancreac Chemistry (Barcelona, Espanha).

Todos os reagentes utilizados em CLAE foram desgaseificados durante 15 min em um banho de ultrassom (Sonorex RK 100 - Berlim, Alemanha) antes de sua utilização. Para a descontaminação, as vidrarias foram lavadas com uma solução de hipoclorito de sódio e depois imersos em $4 \text{ mL } \ell^{-1}$ de H_2SO_4 . Após, para neutralização do pH as vidrarias foram lavadas com água destilada.

O método CLAE aqui descrito foi realizado com uma bomba (modelo 305, Gilson Medical Electronics, França), um injetor (modelo 7125 Rheodyne, Cotati, Califórnia, EUA) com um *loop* de $20 \mu\ell$ e um detector de fluorescência (DF) (LabAlliance, State College) operado a um comprimento de onda de excitação de 278 nm e um comprimento de onda de emissão de 450 nm.

O método CLAE-DF baseia-se na utilização de uma coluna polimérica C18 (250 x 4,6mm, 5mm) Phenosphere ODS (2) (Phenomenex) equipada com pré-coluna Securityguard (Phenomenex). As três FQs foram eluídas em modo isocrático, com uma solução filtrada a vácuo de H_3PO_4 0,025 M (pH 3,0 com hidróxido de tetrabutilamônio (TBA)) - metanol e acetonitrila (910:70:20; v/v/v) como fase móvel. O sistema de CLAE-DF foi operado a temperatura ambiente (15 °C a 25 °C), com fluxo de $1,4 \text{ mL min}^{-1}$.

Uma alíquota de $4,0 \text{ mL}$ de cada amostra dos ensaios da evaporação com estufa elétrica foi transferida para um tubo de centrifugação de vidro âmbar, adicionada com 6 mL de H_2SO_4 $0,005 \text{ mol } \ell^{-1}$, após foi agitada em vórtex e levada ao banho de ultrassom durante 5 minutos e centrifugada (15 min, 4444 g, a 5 °C). O sobrenadante foi filtrado através de um filtro de membrana de $0,45 \mu\text{m}$ e injetado no sistema cromatográfico.

2.3 Descrição dos evaporadores utilizados

Dois tipos de evaporadores solares foram estudados: um evaporador de bandeja (EB) e um concentrador parabólico (CSP). Para efeito de comparação de desempenho, uma estufa elétrica (EE) foi utilizada como referência para o processo de evaporação.

Os testes foram realizados no campus universitário da Universidade Federal do Espírito Santo, na cidade de Vitória, cujas coordenadas são Latitude $-20^\circ 19' 10''$ e Longitude $40^\circ 20' 16''$. As medidas de radiação solar foram obtidas da estação meteorológica automática A-612, localizada a 50 m dos experimentos e acessada via internet (INMET, 2012).

O projeto do evaporador de bandeja foi concebido baseado em modelos desenvolvidos para destilação de águas salinas para uso familiar (Soares, 2004 e Pina, 2004). A unidade piloto foi construída em plástico reforçado com fibra de vidro (PRFV) com cobertura em vidro transparente branco, dispendo de 4 (quatro) faces de escoamento com angulação de 45° em forma piramidal, totalizando uma área envidraçada de $0,8024\text{m}^2$, e 2 (duas) calhas laterais para recolhimento do condensado (Figura 37).

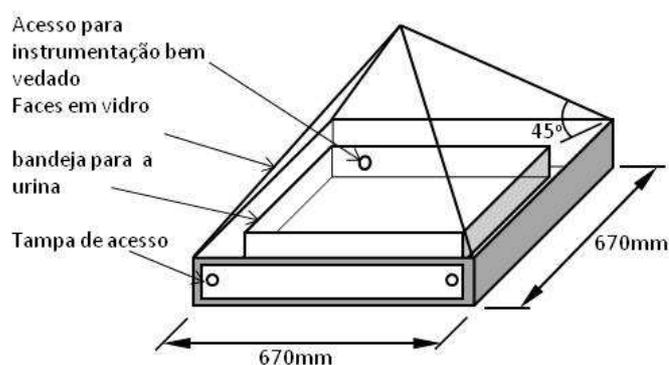


Figura 34: Croqui do evaporador de bandeja.

O concentrador solar parabólico foi escolhido por atingir temperaturas da ordem de 100°C , em detrimento aos coletores planos convencionais, que normalmente atingem temperaturas inferiores a 70°C . Seu princípio de funcionamento baseia-se no fato de que a radiação solar incidente sobre a superfície do espelho parabólico é refletida de maneira concentrada para o foco F (Figura 38).

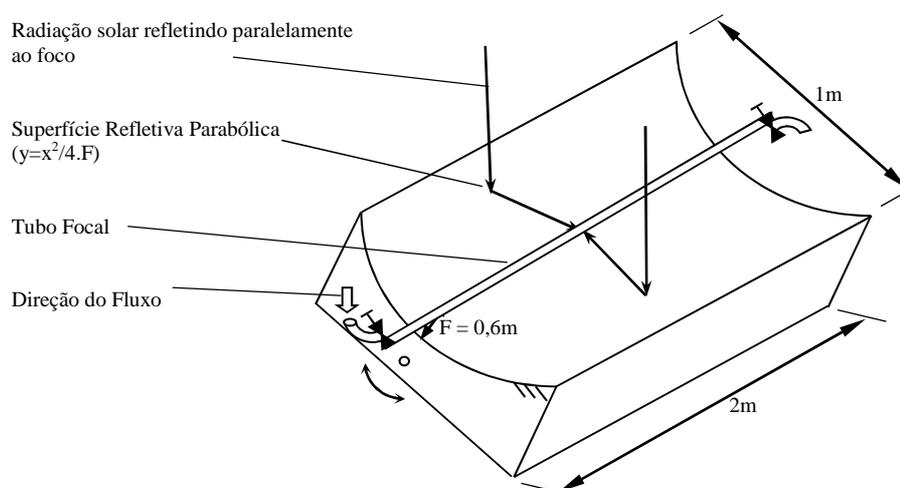


Figura 35: Croqui do concentrador solar parabólico. Fonte: Anjos, 2008.

O modelo utilizado nessa pesquisa possui seção parabólica com foco linear orientado na direção norte-sul, cilíndrico e articulado em apenas um eixo com a liberdade de girar em até 90° (de 45° leste para 45° oeste), o mesmo equipamento foi utilizado na pesquisa desenvolvida por Anjos (2008). Suas principais especificações encontram-se descritas na tabela 18.

Tabela 18: Principais especificações do projeto do concentrador solar parabólico. Fonte: Anjos (2008).

Perfil parabólico	$y = x^2 / 0,8$
Comprimento do concentrador	2 m
Abertura do concentrador	1 m
Distância focal do concentrador	200 mm
Fator de concentração da radiação solar	16,71
Área da superfície refletora	2,42 m ²
Área útil da superfície refletora	1,55 m ²
Eficiência (Área útil / Área total da superfície)	64%
Material da superfície refletora	Aço inox espelhado
Ângulo de aceitação dos raios solares	0,533°
Diâmetro externo do tubo absorvedor	19,05 mm
Espessura da parede	2 mm
Comprimento do tubo absorvedor	2 m
Material do tubo absorvedor	Cobre
Perdas ópticas:	
* devido às deformações nos bordos	0,8 m ²
* ao final do concentrador	0,0728 m ²

A estufa elétrica utilizada foi da marca Sterilifer Ind. e Com. LTDA, modelo SX 1.2 DTME, com potência de 700 w e capacidade para 40 ℓ.

2.4 Procedimentos operacionais dos evaporadores

Evaporador do tipo bandeja - O volume de 6,7 ℓ de urina foi colocado em uma bandeja de polietileno de alta densidade posicionada no evaporador. Os testes de evaporação tiveram duração suficiente para promover a redução de 50% do volume inicial, tendo sido realizados durante 16 dias no outono (Out.) e 10 dias na primavera (Prim.).

Concentrador solar parabólico - O concentrador foi basculado manualmente no sentido leste-oeste com velocidade angular de 15°/h, a fim de acompanhar a trajetória do Sol. A urina foi evaporada em regimes de batelada (Bat.) e em fluxo contínuo (FC). Para decisão do volume adicionado por batelada, foi medida a capacidade total do tubo absorvedor que opera inclinado na direção norte-sul, que é de 600 mℓ. Como o foco só atinge a parte inferior do tubo se fez necessário o enchimento apenas da metade do volume total. O período de 45 minutos

para redução do volume em 50% foi determinado após testes com diferentes períodos de tempo. Após esse período o volume não evaporado era recolhido. Em fluxo contínuo utilizou-se dois reservatórios graduados para medida de volume inicial e final, onde a vazão utilizada foi de $11 \text{ m}\ell \text{ min}^{-1}$.

Estufa elétrica – A estufa elétrica foi utilizada como referência com relação aos evaporadores, sendo regulada para realização dos testes de evaporação sob três temperaturas controladas: $50 \text{ }^\circ\text{C}$, $75 \text{ }^\circ\text{C}$ e $100 \text{ }^\circ\text{C}$. Para cada experimento, quatro frações de $500 \text{ m}\ell$ de urina foram armazenadas em erlenmeyers e colocadas na estufa previamente aquecida com a temperatura constante. Para se calcular a taxa de evaporação e a eficiência energética, o monitoramento da evaporação foi realizado a cada $100 \text{ m}\ell$ de urina evaporada.

2.5 Tratamento e interpretação dos dados

A taxa média de evaporação de cada ensaio foi calculada dividindo-se a massa de urina evaporada (50% da massa inicial) pelo tempo de duração do teste (Equação 9).

$$\text{taxa de evap} = \frac{(V_{\text{inicial}} - V_{\text{final}})}{\Delta t} \times 1000 [\text{m}\ell / \text{min}] \quad (9)$$

Onde:

taxa de evap – taxa de evaporação [$\text{m}\ell/\text{min}$]

V_{inicial} - Volume inicial de líquido a ser evaporado na temperatura inicial (T_{inicial}) [$\text{m}\ell$]

V_{final} - Volume final de líquido recolhido no final do processo na temperatura final (T_{final}) [$\text{m}\ell$]

Δt – Período de tempo de evaporação [min]

A eficiência energética foi calculada comparando-se a energia necessária para promover a redução de volume em 50%, com radiação total disponibilizada pelo sol durante o tempo de execução de cada experimento. No caso do cálculo da eficiência energética da estufa elétrica, foi considerada a energia necessária para manter a temperatura de cada experimento constante, calculando-se a entalpia de evaporação (kJ) dividida pela radiação diária (kJ). A entalpia de evaporação é o produto da massa evaporada (kg) em cada temperatura do processo pela entalpia de evaporação específica (kJ/kg), conforme equação 10. As propriedades termodinâmicas consideradas foram correspondentes às temperaturas em cada etapa do processo de evaporação e à pressão de 1 barA.

$$ef.energ = \frac{Q_{evap}}{G_{total\ sol}} = \frac{m_{inicial} \cdot c \cdot (T_{final} - T_{inicial}) + m_{condensado} \cdot h_{liq/vapor} + m_{vapor} \cdot h_{vapor}}{G_{total\ sol}} \quad (10)$$

Onde:

$ef.energ$ = energia absorvida no processo de evaporação [kJ] / energia disponibilizada pelo Sol [kJ] x 100 [%]

Q_{evap} - entalpia de evaporação [kJ]

$T_{inicial}$ - temperatura inicial [°C]

T_{final} - temperatura final [°C]

$m_{inicial}$ – massa inicial de líquido a ser evaporado na temperatura inicial ($T_{inicial}$) [kg]

$m_{condensado}$ – massa de líquido recolhido no final do processo na temperatura final (T_{final}) [kg]

m_{vapor} – massa de vapor no final do processo na temperatura final (T_{final}) [kg] (a massa de vapor é massa inicial menos a massa do condensado após a evaporação)

$$\text{Sendo que: } m_{inicial} = m_{condensado} + m_{vapor} \quad (10a)$$

c – calor específico de líquido [kJ/kg.K]

$h_{liq/vapor}$ – entalpia de vaporização do fluido [kJ/kg]

h_{vapor} – entalpia de vapor do fluido [kJ/kg]

$G_{total\ sol}$ – Irradiação total do Sol durante o periodo do experimento [kJ]

Nos ensaios realizados na estufa elétrica foi considerada a entalpia de evaporação com a entalpia de aquecimento. No entanto, ao invés da utilização da radiação solar diária, foi utilizado o produto do tempo de evaporação do teste (s) pela potência determinada (kw) através de um analisador de energia (equação 11).

$$ef.energ = \frac{Q_{evap}}{Q_{eletrica}} = \frac{m_{inicial} \cdot c \cdot (T_{final} - T_{inicial}) + m_{condensado} \cdot h_{liq/vapor} + m_{vapor} \cdot h_{vapor}}{Q_{eletrica}} \quad (11)$$

Onde:

Q_{evap} - entalpia de evaporação [kJ]

$Q_{eletrica}$ - entalpia de aquecimento [kJ]

$T_{inicial}$ - temperatura inicial [°C]

T_{final} - temperatura final [°C]

$m_{inicial}$ – massa inicial de líquido a ser evaporado na temperatura inicial ($T_{inicial}$) [kg]

$m_{condensado}$ – massa de líquido recolhido no final do processo na temperatura final (T_{final}) [kg]

m_{vapor} – massa de vapor no final do processo na temperatura final (T_{final}) [kg]

Sendo que: $m_{inicial} = m_{condensado} + m_{vapor}$

c – calor específico de líquido [kJ/kg.K]

$h_{liq/vapor}$ – entalpia de vaporização do fluido [kJ/kg]

h_{vapor} – entalpia de vapor do fluido [kJ/kg]

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Taxas de evaporação e as eficiências energéticas dos evaporadores

As máximas temperaturas foram obtidas no CSP, atingindo valores superiores a 80 °C tanto nos ensaios em batelada quanto nos com fluxo contínuo de urina. Consequentemente, esse evaporador apresentou as mais altas taxas de evaporação, que atingiram 10,93 ml min⁻¹ sob batelada e 1,61 ml min⁻¹ sob fluxo contínuo. Apesar deste valor mais baixo da taxa de evaporação, o ensaio de evaporação do CSP sob fluxo contínuo foi o que apresentou a maior eficiência energética dentre todos os realizados: 13,82%.

As menores taxas de evaporação ocorreram nos experimentos com o evaporador de bandeja, no outono e na primavera, cujos valores médios foram de apenas 0,022 e, 0,032 ml min⁻¹, respectivamente. A eficiência energética calculada para estes ensaios foi de 5,08% (outono) e 7,55% (primavera) (Tabela 19).

Comparando-se o desempenho dos dois evaporadores com o evaporador de referência (estufa elétrica), observa-se que as taxas de evaporação obtidas no CSP superam amplamente as taxas obtidas naquele processo, mesmo nos ensaios com temperatura de 100 °C. A taxa de evaporação calculada no ensaio com o CSP sob fluxo contínuo (10,93 ml min⁻¹) corresponde a aproximadamente 42 vezes a taxa de evaporação do ensaio com a estufa a 100 °C (0,259 ml min⁻¹). O evaporador de bandeja apresentou eficiências energéticas equivalentes em ordem de grandeza e taxas de evaporação significativamente inferiores aos ensaios realizados com a estufa a 75 °C e 100 °C.

Antonini *et al.*, (2012), trabalhando com um evaporador solar de bandeja com uma face de escoamento e com 2 m², obteve uma taxa de evaporação média de 1,33 ml min⁻¹ ao evaporar

completamente 50 ℓ de urina em 26 dias. Nos ensaios realizados por Barreto (2009), ao trabalhar com 5 evaporadores de bandeja, sendo 3 com 1 face de escoamento e três diferentes angulações (25°, 30° e 45°) e dois com quatro faces de escoamento e duas angulações (25° e 45°), obteve taxas médias de evaporação de urina variando entre 0,885 a 1,248 $\text{m}\ell \text{ min}^{-1}$, utilizando apenas energia solar no período de outono/inverno.

Os testes realizados por Bezerra, (2004) com dessalinizadores do tipo bandeja com duas faces de escoamento e duas diferentes angulações (20° e 45°), no nordeste brasileiro, resultaram em taxas de evaporação variando entre 1,73 $\text{m}\ell \text{ min}^{-1}$ (taxa mínima) e 5,2 $\text{m}\ell \text{ min}^{-1}$ (taxa máxima). Estes valores são superiores aos observados no presente estudo em relação ao EB nas duas épocas do ano, porém a taxa mínima foi próxima da média alcançada pelo CSP sob fluxo contínuo e muito inferior a taxa de evaporação média alcançada pelo CSP sob batelada. As diferenças apresentadas se devem a lâmina de líquido utilizada durante a evaporação em relação área de exposição e também em relação à região e época do ano.

Tabela 19: Comparação dos processos de evaporação de urina.

Tabela sintética de comparação dos processos de evaporação de urina para redução de 50% do volume inicial aproximadamente (valores médios).							
Dados médios dos processo	Evaporador de Bandeja (Outono)	Evaporador de Bandeja (Primavera)	Concentrador solar parabólico (Batelada)	Concentrador solar parabólico (Fluxo contínuo)	Estufa elétrica a 50°C	Estufa elétrica a 75°C	Estufa elétrica a 100°C
	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)	(G)
Volume inicial das amostras de urina (mℓ)	6700	6700	300	2648	500	500	500
Volume final das amostras (mℓ)	0	0	150	150	20	20	20
Tempo de evaporação para redução de 50% de volume (min)	23040	14400	45	364,2	26169	4176	2316
Temperatura máxima das amostras (°C)	51	50	83	86	50	75	100
Temperatura média das amostras (°C)	34	35	65	81	50	75	100
Taxa de Evaporação (mℓ min ⁻¹)	0,022	0,032	10,93	1,61	0,023	0,144	0,259
Eficiência Energética (%)	5,08	7,55	6,23	13,82	1,48	4,26	5,22

3.2 Análise das fluoroquinolonas na urina humana

O evaporador de bandeja possui uma temperatura máxima próxima a da estufa a 50 °C, bem como o concentrador solar parabólico consegue atingir temperaturas semelhantes à estufa a 75 °C e a 100 °C. As análises das FQs foram realizadas apenas na estufa elétrica e relacionadas aos evaporadores solares EB e CSP pela temperatura.

Ao considerar a remoção das fluoroquinolonas, nas três temperaturas (Tabela 20), a análise global indica que a temperatura a 50 °C obteve uma remoção mais homogênea das três fluoroquinolonas em 50% do volume, todavia ao analisar individualmente a degradação para cada FQ, a melhor média de resultados foi encontrada a 100 °C para NOR e CIPRO. Nota-se que a OFLO é mais resistente à temperatura que as outras duas FQs. No estudo de degradação sob diferentes condições realizado por Shervintgton *et al.*, (2005) a OFLO também provou ser relativamente estável com 80 e 85% de recuperação quando exposta a luz natural e a luz UV direta, respectivamente (Ver Zancheta *et al.*, 2012b).

Outra questão que deve ser observada é que em temperaturas mais baixas o tempo de evaporação é mais longo e mesmo assim as FQs não são completamente removidas.

Esses resultados indicam que a acidificação da urina previamente a evaporação apesar de ter degradado em torno de 50% da NOR e da CIPRO no tratamento a 100 °C em 50% do volume, pode ser contraindicada na mitigação de riscos advindos destes micropoluentes. Adam *et al.*, (2012) ao estudarem a estabilidade com formulações farmacêuticas (fármaco e excipientes) da CIPRO verificaram o efeito negativo da acidez sobre a degradação das FQs na urina e pode ser explicado pela estabilidade destes compostos em pHs inferiores a 4,0.

Tabela 20: Porcentagem de remoção das FQs durante a evaporação em 50% do volume final.

FQs	50°C	75°C	100°C
	Degradação pela massa %	Degradação pela massa %	Degradação pela massa %
	UA	UA	UA
OFLO	18	0	0
NOR	27	21	55
CIPRO	30	18	56

4 CONCLUSÕES

Ao relacionar as taxas de evaporação, a eficiência energética e a remoção das FQs, o concentrador solar parabólico foi superior ao evaporador de bandeja, e ainda com menor tempo de residência.

Embora as taxas de evaporação e eficiência energética (quando considerada a energia utilizada para a realização dos processos e aquela disponibilizada pelo sol) do concentrador solar parabólico serem superiores ao evaporador de bandeja, essas taxas são relativamente baixas, com eficiência energética inferior a 15%, porém, esse trabalho é pioneiro na comparação de técnicas de redução de volume de baixo custo, indicando um vasto campo a se estudar, de forma a aperfeiçoar a técnica, reduzir as dimensões dos equipamentos, e aumentar a quantidade de urina tratada.

Ademais, estudos anteriores realizados por outros autores (MAURER *et al.*, 2006; ANTONINI *et al.*, 2012) sugerem que a radiação solar pode ser uma forma de higienização adequada, desde que realizada em temperaturas relativamente elevadas, indicando a necessidade de pesquisas em concentração da irradiação ao invés de processos simples de captação de energia solar, a fim de produzir um fertilizante seguro sem a presença de patógenos e microcontaminantes. Esta hipótese e os mecanismos de desinfecção solar da urina humana ainda requerem uma investigação mais aprofundada.

A evaporação se apresentou como uma boa alternativa de tratamento, reduzindo o volume de urina, facilitando o transporte e a aplicação, e ainda apresentando 50% de degradação da NOR e CIPRO, quando realizada a 100 °C.

5 REFERÊNCIAS

ADAM, E. H. K.; ELAZIZ, M. E. M. A.; SAEED, A. E. M. Stability study of ciprofloxacin hydrochloride under stress conditions using reverse phase -high performance liquid chromatography method. **Der Pharmacia Sinica**, v. 3, n. 2, p 217-223, 2012.

ANJOS, V. L. R. **Análise experimental dos processos de transferência de calor aplicados à concentração solar**. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2008.

ANTONINI, S.; NGUYEN, P.T.; ARNOLD, U.; EICHERT T.; CLEMENS J. Solar thermal evaporation of human urine for nitrogen and phosphorus recovery in Vietnam. **Science of the Total Environment**, n. 414, 2012.

BARRETO, J. A. **Dimensionamento e comparação de eficiência de evaporadores de urina e estudo da variação das propriedades da urina durante o ciclo de evaporação**. 2009. 91 f. Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) – Departamento de Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2009.

BEHRENDT, J.; AREVALO E.; GULYAS, H.; NIEDERSTE-HOLLENBERG, J.; NIEMIEC, A.; ZHOU, J.; OTTERPOHL, R. Production of value added products from separately collected urine. **Water Science & Technology**, v. 46, n. 6-7, p. 341-346, 2002.

BEZERRA, M. A. S. **Desenvolvimento de um destilador solar para tratamento de águas de produção de petróleo com vistas a sua utilização na agricultura e geração de vapor**. 2004. 106 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2004.

BORGOTTA, B.; KMETLUNA, N.; RELLOC, J. Síndrome Hemolítico-Urêmica e Escherichia coli o 104:H4 e o Surto na Alemanha. **Enfermedades Respiratorias (CIBERes)**, Barcelona, Espanha, 2011.

BOTTO, M. P.; SANTOS, A. B; COON, E.; NETO, E. F. A. Concentração dos nutrientes contidos na urina humana por meio de concentrador solar parabólico: um estudo da concepção do sistema. In: Simpósio Ítalo-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 10, 2010, Maceió. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, 2010.

ESREY, S. A. ; GOUGH, J. ; RAPAPORT, D. ; SAWYER, R. ; SIMPSON-HEBERT, M. ; VARGAS, J. ; WINBLAD, U. **Ecological sanitation**. Sida, Estocolmo, 1998. Disponível em: < <http://www.ecosanres.org/PDF%20files/Ecological%20Sanitation.pdf> > Acesso em: 11 mai. 2005.

FACRE, W. R. Três formas de fertilizantes nitrogenados e o futuro. **Informações Agronômicas**, n. 120, 2007. IPNI-BRASIL: Nova missão, novos tempos. 2007.

FIXEN, P. E. Reservas mundiais dos nutrientes dos fertilizantes. **Informações agronômicas**, IPNI: Piracicaba. n. 126, 2009. Disponível em: <[http://www.potafos.org/ppiweb/BRAZIL.NSF/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/4eac3d6afc6798af03257537007fac91/\\$FILE/Page8-14-126.pdf](http://www.potafos.org/ppiweb/BRAZIL.NSF/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/4eac3d6afc6798af03257537007fac91/$FILE/Page8-14-126.pdf)>. Acesso em: 20 mai. 2012.

JÖNSSON, H.; STENSTRÖM, T.; SVENSSON, J.; SUNDIN, A. Source separated urine-nutrient and heavy metal content, water saving and faecal contamination. **Water Science Technology**, v. 35, p. 145-152, 1997.

KIRCHMANN, H; PETTERSSON, S. Human urine - chemical composition and fertilizer use efficiency. **Fertilizer Research**, v. 40, p. 149-154, 1995.

MAURER, M.; PRONK, M.; LARSEN, T. A. Treatment processes for source-separated urine. **Water Research**, v. 40, n. 17, p. 3151-3166, 2006.

PINA, A. V. V. **Dessalinização solar no abastecimento de água para uma família no arquipélago de cabo verde**. 2004. Monografia (Graduação em Engenharia Mecânica) – Graduação em Engenharia Mecânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

PRONK, W., PALMQUIST, H., BIEBOW, M., BOLLER, M. Nanofiltration for the separation of pharmaceuticals from nutrients in source-separated urine. **Water Res.**, v. 40, n. 7, p. 1405–1412, 2006b.

PRONK, W.; BIEBOW, M.; BOLLER, M. Electrodialysis for the recovery of salts from a micropollutant-containing urine solution. **Environ. Sci. Technol.**, v. 40, n. 7, p. 2414-2420, 2006a.

PRONK, W.; KONÉ D. Options for urine treatment in developing countries. **Desalination**, v. 248, n. 1-3, p. 360-368, 2009.

RAMOS, R.; GASPARINI, J. C.; ANJOS, V. L. R. Estudo experimental da eficiência de captação de calor em função do projeto do tubo focal para um concentrador solar parabólico. In: Congresso Brasileiro de Eficiência Energética, 2, Vitória. **Anais...** CBEE, 2007a.

RAMOS, R.; GASPARINI, J. C.; ANJOS, V. L. R. Solar concentration applied to oil heating: an experimental focal tube enhanced design. In: Congresso Internacional de Engenharia Mecânica, 19, Brasília. **Anais...** COBEM, 2007b.

RONTELTAP, M.; MAURER, M.; GUJER, W. The behaviour of pharmaceuticals and heavy metals during struvite precipitation in urine. **Water Research**, v. 41, n. 9, p. 1859-1868, 2007.

SHERVINGTON, L.A.; ABBA, M.; HUSSAIN, B.; DONNELLY, J. The simultaneous separation and determination of five quinolone antibiotics using isocratic reversed-phase HPLC: Application to stability studies on an ofloxacin tablet formulation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, n. 3-4, p. 769-775, 2005.

SOARES, C. **Tratamento de água unifamiliar através da destilação solar natural utilizando água salgada, salobra e doce contaminada**. 2004. 110 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

TETTENBORN, F.; BEHRENDT, J.; OTTERPOHL, R. **Resource recovery and removal of pharmaceutical residues** – Treatment of separate collected urine. Instituto e Gestão de Águas Residuárias e Proteção da Água, Universidade de Tecnologia de Hamburg-Harburg - TUHH, 2007. 119 p.

UDERT, K.M.; FUX, C., MÜNSTER, M.; LARSEN, T.A.; SIEGRIST, H.; GUJER, W. Nitrification and autotrophic denitrification of source-separated urine. **Water Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 119-130, 2003.

ZANCHETA, P. G.; PENA, A.; GONÇALVES, R. F. Comportamento de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana durante tratamento para reciclagem de nutrientes via estocagem ácida. **A ser submetido à Revista Biosource Technology**, 2012b.

5.DISSCUSSÃO GERAL

5. DISCUSSÃO GERAL

A presente tese destacou o estudo do comportamento de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana durante o tratamento para reciclagem de nutrientes via estocagem e evaporação.

Os resultados enfatizaram a utilização de uma metodologia analítica por CLAE-DF para avaliação das FQs na matriz urina, o comportamento dos nutrientes e das FQs durante a estocagem e a evaporação e ainda a comparação de técnicas de evaporação solar com intuito de avaliar as taxas de evaporação e a eficiência energética.

O método desenvolvido para a análise de FQs na matriz urina humana torna-se importante, por ser simples, sem necessidade de recorrer à etapa de clean-up que geralmente exige o uso de grandes quantidades de solventes orgânicos e outros procedimentos, como a extração em fase sólida. Estas simplificações não prejudicaram a qualidade dos resultados e contribuíram para a facilidade de operação, o baixo custo do método desenvolvido, a rapidez da análise laboratorial e a redução do consumo de solventes.

No estudo do comportamento de nutrientes e das FQs pelo método supracitado, verificou-se que as características da urina normal quando comparadas com a urina acidificada resultaram na manutenção das concentrações dos diversos elementos químicos próximas aos valores encontrados na urina normal e as médias obtidas não diferiram entre si no nível de 95% de confiança segundo o teste de hipóteses para a maioria das variáveis com exceção do sulfato. O principal impacto da acidificação observado na urina foi, além da redução do pH, aumento na concentração de sulfato (198% maior) e no valor médio da condutividade (36% maior).

Quando estas foram estocadas durante 840 horas (36 dias), os valores de pH na urina normal atingiram o valor de 9,5 nas primeiras 120 horas de estocagem, em decorrência da hidrólise da ureia e da formação de amônia, mantendo-se praticamente constantes até o final do período de monitoramento. Este mesmo comportamento também foi descrito por outros autores, com uma variação dos valores de pH de 6,0 até 9,5 (HELLSTRÖM *et al.*, 1999, UDERT, 2002, GANROT, 2005), onde as concentrações de N-NH_4^+ variaram ao longo do tempo de estocagem de acordo com a variação de pH da urina normal. Ao final da estocagem constatou-se que a amonificação foi praticamente integral, com uma concentração final de NTK de 10503 mg ℓ^{-1} e de nitrogênio amoniacal de 10208 mg ℓ^{-1} . A concentração de NTK foi semelhante à encontrada por Johansson, (2001), que foi de 10000 mg ℓ^{-1} . Em relação ao

fósforo, a redução foi linear ao longo do período de estocagem, com uma transformação praticamente completa do P orgânico em ortofosfato ao final da estocagem. O valor encontrado para a condutividade no início do ciclo de estocagem foi semelhante ao valor descrito para a condutividade elétrica na urina fresca segundo Gonçalves *et al.*, (2005) de $17,8 \text{ mS cm}^{-1}$ ($\pm 6,56$). A condutividade elétrica na urina normal variou em uma faixa de $16,7$ a $39,3 \text{ mS cm}^{-1}$, permanecendo durante o maior tempo na faixa em torno de $37,0$ a $39,0 \text{ mS cm}^{-1}$. O valor mais elevado no decorrer do ciclo deve-se principalmente a formação do íon NH_4^+ através da hidrólise da ureia. Os íons diretamente responsáveis pelos valores da condutividade são, entre outros, amônio, o cálcio, o magnésio, o potássio, o sódio, carbonatos, sulfatos e cloretos (ZANCHETA, 2007).

Nos reservatórios com urina acidificada o pH foi mantido praticamente estável durante todo o período de estocagem (2,3 e 2,5). Esse valor inicial de pH foi obtido pela adição de $18,4 \text{ mmol}$ de H_2SO_4 concentrado por litro de urina, o que provou ser suficiente para assegurar a estabilidade por um período de 36 dias. Um resultado similar foi conseguido por Hellström *et al.*, (1999), que, com a $29,44 \text{ mmol}$ de H_2SO_4 concentrado por litro de urina, conseguiu manter o pH em 2,2 por 45 dias. O principal resultado da acidificação da urina foi a preservação da concentração de nitrogênio amoniacal praticamente constante ao longo do período de estocagem ($\sim 2000 \text{ mgN } \ell^{-1}$). As concentrações de NTK obtidas ao final do ciclo de estocagem foram de $6927 \text{ mgN } \ell^{-1}$ na urina acidificada, preservando as formas orgânicas de nitrogênio em uma concentração de $4927 \text{ mgN } \ell^{-1}$. Na pesquisa realizada por Hellström *et al.*, (1999) também com urina acidificada, os valores de nitrogênio total variavam em torno de 7100 a $8100 \text{ mg } \ell^{-1}$. Hellström *et al.*, (1999) concluíram que a adição de ácido sulfúrico no começo do ciclo de estocagem pode inibir a decomposição da ureia.

As concentrações finais de fósforo e ortofosfato foram de $634 \text{ mg } \ell^{-1}$ e de $534 \text{ mg } \ell^{-1}$ respectivamente na urina acidificada e estocada. Tilley *et al.*, (2008) relataram uma remoção de 31% da concentração de fósforo durante a estocagem de urina normal, em virtude da precipitação espontânea de fosfatos. Na urina acidificada do presente estudo, como o pH manteve-se em torno de 2,3 e 2,5, a diminuição na concentração de fósforo foi de apenas 9% contra uma remoção de 29% na urina normal.

Ainda na urina acidificada, com a adição de ácido sulfúrico no início da estocagem, ocorreu um aumento na concentração de íons sulfato na urina, elevando o valor inicial da condutividade elétrica para $35,0 \text{ mS cm}^{-1}$. Outros íons presentes em grande quantidade, tais

como cloretos encontrados sob concentrações de 4000 mg ℓ^{-1} na urina normal e de 3900 mg ℓ^{-1} na urina acidificada sugerem também esse aumento. Para a irrigação recomenda-se uma condutividade de apenas 3,0 mS cm^{-1} (AYERS E WESTCOT, 1991), o que indica que a urina estocada deve ser diluída em água para a fertirrigação (SOUSA *et al.*, 2008). Outra importante diferença com relação à estocagem normal foi o aumento para 5200 mg ℓ^{-1} da concentração de sulfato na urina acidificada, devido ao aporte de sulfato pelo próprio ácido sulfúrico.

O valor médio de potássio obtido na urina normal foi de 1000 mg ℓ^{-1} enquanto na urina acidificada foi de 1700 mg ℓ^{-1} , acima do valor encontrado em urina normal por Udert e Wächter, (2012) (1400 mg ℓ^{-1}) e abaixo do encontrado por Tettenborn *et al.*, (2007) (2200 mg ℓ^{-1}).

Nos testes microbiológicos realizados na urina normal durante a estocagem foram identificados elevadas densidades de coliformes totais e *E. coli* no início da estocagem, com densidades de 10^9 NMP/100 ml e em torno de 10^8 NMP/100 ml para *E.coli*. As altas densidades foram atribuídas à contaminação da urina durante a excreção ou por ocasião da coleta das amostras, uma vez que não excreção de bactérias coliformes através do trato urinário em pessoas saudáveis. Schürmann *et al.*, (2012) encontraram concentrações $<1 \times 10^2/100$ ml de *E.coli* e coliformes totais na urina estocada. Esse resultado ilustra que a urina coletada de pessoas saudáveis, bem separada das fezes e estocada não é uma importante fonte de infecção. Segundo Silva *et al.*, (2005) bactérias presentes em baixas densidades numa amostra não preservada podem se multiplicar na urina elevando suas contagens para valores superiores a 10^5 NMP/100 ml com extrema facilidade, especialmente em se tratando de bactérias de crescimento rápido como as enterobactérias. Não obstante, no presente estudo observou-se, a partir do décimo dia, uma queda de 5 logs para os coliformes totais e de 4 logs para a *E. coli*, devido à elevação do pH para valores próximos de 9,0. Após 15 dias de estocagem as

Durante os 36 dias (~6 semanas) de estocagem sob temperaturas de 20 °C e 4 °C em pH 2,0 e ao abrigo da luz, as três FQs estudadas se mantiveram estáveis. Um estudo realizado por Turiel *et al.*, (2004) para avaliar a estabilidade da CIPRO e do ácido oxolínico (OXO) em amostras de água de rio, confirmaram que tanto a CIPRO quanto a OXO foram estáveis por 2 meses em temperatura ambiente e sob pH 4,0 e que ao estocá-las em baixas temperaturas (4 °C e -18 °C - pH 4,0) a estabilidade foi mantida por longos períodos de tempo. Kirbis *et al.*, (2005), Samanidou, (2005) e Zhao *et al.*, (2007) em seus estudos confirmaram que não há

degradação significativa de FQs conservadas sob temperaturas de 0 °C a 4 °C e ao abrigo da luz. Esses estudos reafirmam os resultados encontrados nesse artigo.

Gajurel *et al.*, (2007) ao estudar outros fármacos presentes na urina humana, não observaram alterações nas concentrações de carbamazepina, ibuprofeno e ácido clofíbrico mesmo durante um longo período de estocagem (12 meses) em diferentes condições de temperatura (4 °C e 20 °C) e pH (4,0; 7,0 e 10,0). Butzen *et al.*, (2005), por outro lado, num estudo realizado ao longo de 11 meses de estocagem com urina acidificada em pH 2,0, observaram reduções de 40% da concentração de diclofenaco e tetraciclina durante o primeiro mês e uma redução de 80 a 90% depois de três a quatro meses para os dois fármacos e de quase 100% após os 11 meses de estocagem, em compensação após os 11 meses o sulfametoxazol e a sulfametazina apresentaram reduções de apenas 40%. Schürmann *et al.*, (2012) estudaram o comportamento de seis fármacos (bisaprolol, diclofenaco, ibuprofeno, metoprolol, tramadol e sulfametazina) em três condições de estocagem (natural, acidificada e alcalina) durante 6 meses no escuro. Os resultados obtidos mostraram que o diclofenaco na estocagem acidificada teve uma remoção maior que 80%, como também observado por Butzen *et al.*, (2005) e o ibuprofeno na faixa de 60 a 80%. A sulfametazina teve uma remoção de 30 a 60%, enquanto os demais tiveram uma redução em torno de 10% apenas, já na urina alcalina a sulfametazina teve redução maior que 80% e o ibuprofeno, o diclofenaco, o bisaprolol e metaprolol apresentaram remoção em torno dos 30%. Com esses resultados pode-se concluir que a remoção de diferentes fármacos varia em relação ao pH da urina e que não é possível regulamentar um único valor de pH para todos os fármacos como descrito em Schürmann *et al.*, (2012).

Os resultados apresentados demonstram a grande estabilidade dos fármacos OFLO, NOR e CIPRO na urina humana acidificada e submetida a 36 dias de estocagem sob temperaturas de 20 °C ou 4 °C. Se contrapondo à eficiência do processo de estocagem no sentido de eliminar a presença de microrganismos patogênicos na urina humana, segundo as recomendações de WHO (2006).

No decorrer dos processos de evaporação observou-se um padrão nos valores de pH nas diferentes temperaturas de evaporação, permanecendo entre 6,0 e 7,0 até ao final do experimento. Na evaporação das amostras acidificadas, estas apresentaram uma tendência de elevação do pH durante o ciclo, atingindo valores entre 5,0 e 7,0 ao final do experimento. Atribui-se esse aumento do pH à abertura do nitrogênio orgânico presente na ureia pelo efeito combinado da alta temperatura e da acidez do meio. Quanto mais elevada a temperatura, mais rápido e mais intenso foi o aumento do pH durante o ensaio, cujos valores tenderam a se

estabilizar em torno de pH 6,0 nos três casos. A amonificação sempre presente na estocagem da urina, tende a alcalinizar o meio, o que, por sua vez, favorece a volatilização da amônia.

Os balanços de massa realizados para NTK e $N-NH_4^+$ indicam significativa perda de massa de ambos os compostos ao longo dos dois ensaios de evaporação. Conforme previsto *a priori*, no ensaio com urina normal, foi calculada uma perda média de 1,49 g de NTK e de 1,16 g de $N-NH_4^+$ com relação à massa inicial. Valores próximos foram encontrados por Antonini *et al.*, (2012), que estudaram a evaporação de urina em um fotorreator com uma face de escoamento com 50 ℓ de urina em batelada. Ao final de 26 dias para a evaporação completa estes autores observaram uma perda de 32% do nitrogênio inicial (250 g para 170 g). Já no ensaio com urina acidificada não era prevista uma perda de 1,5 g de NTK, justamente por conta da acidificação que deveria inibir a atividade da enzima urease desde o início do teste. Todavia, isso indica que o efeito da temperatura foi determinante na amonificação e posterior volatilização da amônia. Com isso a evaporação completa praticamente eliminou o estoque de nitrogênio da urina, tanto sob condições normais quanto sob acidificação, o que leva a conclusão de que tal prática é contraindicada para a redução de volume da urina.

A perda de nitrogênio no ensaio de evaporação acidificada ocorreu pela volatilização de amônia, tendo em vista a ausência de formação de precipitados durante o experimento. Como também observado no estudo realizado por Tettenborn *et al.*, (2007) onde não foi observada a precipitação de cristais durante o processo de evaporação com urina estocada acidificada. Stratful *et al.*, (2001) observaram que, em pH abaixo de 8,0, nenhum cristal é produzido em quantidades detectáveis na urina.

Outro ponto importante com vistas ao uso agrícola da urina concentrada foi o aumento da condutividade elétrica observado ao longo do ciclo de evaporação nas amostras de urina normal e acidificada para as três temperaturas estudadas. Os valores mais elevados foram obtidos a 75 °C (60,4 $mS\ cm^{-1}$ na urina normal e 63,8 $mS\ cm^{-1}$ na urina acidificada). Os valores mais baixos foram obtidos a 50 °C, com valores máximos de 28,2 e 26,9 $mS\ cm^{-1}$ na urina normal e urina acidificada, respectivamente. Esse mesmo fenômeno foi observado por Tettenborn *et al.*, (2007), utilizando uma técnica diferente de evaporação, e atribuído à concentração paulatina de íons dissolvidos na amostra. O concentrado final de urina apresenta elevadas concentrações de substâncias conservativas, tais como cloretos, o que é prejudicial às culturas agrícolas (LIMA, 2005). As concentrações finais de cloreto ficaram em torno de

1,5 a 2,1 vezes mais concentradas na temperatura de 50 °C, de 6,0 a 6,9 vezes na temperatura de 75 °C e de 4,8 a 7,0 vezes na temperatura de 100 °C.

De um modo geral, os ensaios de evaporação evidenciaram uma maior resistência à degradação da OFLO e uma alta degradabilidade das NOR e CIPRO sob as diferentes condições de pH e temperatura. As eficiências de degradação atingiram valores superiores a 85% nos ensaios com NOR e CIPRO sob 75 °C e 100 °C, porém limitaram-se a valores inferiores a 68% sob as mesmas condições.

Observou-se que as temperaturas mais elevadas resultaram em velocidades de degradação (Vd) dos diferentes compostos mais elevadas nas fases iniciais dos testes com urina normal. Para ilustrar esse fenômeno, tome-se como exemplo as velocidades de degradação de NOR calculadas na evaporação dos primeiros 100 mL: Vd = 7,0 µg/h a 50 °C, Vd = 48,0 µg/h a 75 °C e Vd = 105,0 µg/h a 100 °C. A exceção a este comportamento foi a OFLO exposta a 100 °C, cuja resistência à degradação foi considerável tanto nas amostras de urina normal quanto de urina acidificada.

Evidenciou-se que a acidificação da urina potencializou a resistência das NOR e CIPRO às três temperaturas testadas, cujas velocidades e as eficiências de degradação mostraram-se bastante reduzidas com relação aos testes com urina normal. Em todos os ensaios foram observadas inicialmente eficiências e velocidades de degradação negativas, que só atingiram valores positivos praticamente na segunda metade do tempo de duração da evaporação. As eficiências finais de degradação das FQs foram inferiores nos testes com urina acidificada, indicando que a prática de acidificação da urina previamente à evaporação é contraindicada na mitigação de riscos advindos destes micropoluentes. O efeito negativo da acidez sobre a degradação das FQs na urina pode ser explicado pela estabilidade destes compostos em pHs inferiores a 4,0, de acordo com os resultados de estabilidade com formulações farmacêuticas (fármaco e excipientes) da CIPRO, realizado por Adam *et al.*, (2012). Segundo Shervington *et al.*, (2005), ainda no que se refere à influência do pH, observou-se que o comportamento da formulação farmacêutica da OFLO foi similar ao observado nos testes de evaporação com urina normal, caracterizados por uma elevada resistência à degradação.

Quando se relaciona com as altas temperaturas utilizadas, Adam *et al.*, (2012) verificaram um aumento na taxa de decomposição térmica (a 30 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C e 70 °C) da CIPRO

solução com o aumento da temperatura, o que foi justificado pelo aumento na frequência de colisões do soluto e as moléculas do solvente. Sateesha *et al.*, (2010), ao estudar a degradação da NOR em suspensão durante seu estudo de estabilidade, verificaram que quando essas foram expostas a umidade e a temperatura de 60 °C durante um mês, a degradação foi observada. Em compensação, Shervington *et al.*, (2005), provou que a OFLO é relativamente estável sob condições ácidas e alcalinas, resultando em uma pequena degradação quando a OFLO foi exposta a luz natural (240h) e a luz UV direta (24h), onde as recuperações foram de 80 a 85%, respectivamente, verificando baixa degradação da OFLO. A baixa de degradação também foi observada nos estudos realizados por Reddy *et al.*, (2010) sob diferentes condições, incluindo degradação fotolítica, onde o valor máximo de degradação foi de 15%.

As melhores eficiências de degradação observadas por esses autores dão a falsa impressão que, a evaporação pode ser um método amplamente eficiente para mitigar riscos químicos na reciclagem de nutrientes da urina na agricultura, devido às altas temperaturas, porém as reduzidas eficiências de degradação aqui observadas especialmente para OFLO comprovam que níveis reduzidos de risco somente serão assegurados mediante a aplicação de tratamentos diferentes da evaporação, tais como a produção de estruvita (LIND *et al.*, 2001; GANROT *et al.*, 2005; RONTELTAP *et al.*, 2010). Além disso, ficou claro que a prática da acidificação, com a concentração de ácido sulfúrico utilizada e nas temperaturas de evaporação, não foi eficiente na preservação do estoque de nutrientes da urina sob evaporação e prejudicou a eficiência de degradação das três FQs estudadas.

Em relação à acidificação durante a estocagem e a evaporação, observou-se que ao adicionar 18 mmol de H₂SO₄ durante a estocagem foi suficiente para manter as concentrações de nitrogênio e os valores de pH estáveis durante o período de monitoramento, porém a mesma concentração de ácido não foi suficiente para manter os níveis de nitrogênio e os valores de pH durante a evaporação. Segundo Paulo*, se faz necessário o aumento da concentração de ácido sulfúrico e ou utilização de outros ácidos, como o ácido acético para comprovação ou não da eficiência da acidificação durante a evaporação.

Duas técnicas de evaporação utilizando energia solar também foram comparadas nesse trabalho. As máximas temperaturas foram obtidas no CSP, atingindo valores superiores a 80 °C tanto nos ensaios em batelada quanto nos com fluxo contínuo de urina. Conseqüentemente,

*Comunicação pessoal de Paulo, P.L. (Universidade Federal do Mato Grosso do Sul) em 06 de setembro de 2012 por correio eletrônico.

esse evaporador apresentou as mais altas taxas de evaporação nos dois sistemas e a eficiência energética foi superior quando utilizado em fluxo contínuo.

As menores taxas de evaporação ocorreram nos experimentos com o evaporador de bandeja, no outono e na primavera.

Comparando-se o desempenho dos dois evaporadores com o evaporador de referência (estufa elétrica), observa-se que as taxas de evaporação obtidas no CSP superam amplamente as taxas obtidas naquele processo, mesmo nos ensaios com temperatura de 100 °C. A taxa de evaporação calculada no ensaio com o CSP sob fluxo contínuo ($10,93 \text{ m}\ell \text{ min}^{-1}$) corresponde a aproximadamente 42 vezes a taxa de evaporação do ensaio com a estufa a 100 °C ($0,259 \text{ m}\ell \text{ min}^{-1}$). O evaporador de bandeja apresentou eficiências energéticas equivalentes em ordem de grandeza e taxas de evaporação significativamente inferiores aos ensaios realizados com a estufa a 75 °C e 100 °C.

Antonini *et al.*, (2012), trabalhando com um evaporador solar de bandeja com uma face de escoamento e com 2 m², obteve uma taxa de evaporação média de $1,33 \text{ m}\ell \text{ min}^{-1}$ ao evaporar completamente 50 ℓ de urina em 26 dias. Nos ensaios realizados por Barreto (2009), ao trabalhar com 5 evaporadores de bandeja, sendo 3 com 1 face de escoamento e três diferentes angulações (25°, 30° e 45°) e dois com quatro faces de escoamento e duas angulações (25° e 45°), obteve taxas médias de evaporação de urina variando entre 0,885 a $1,248 \text{ m}\ell \text{ min}^{-1}$, utilizando apenas energia solar no período de outono/inverno.

Bezerra, (2004) observou valores superiores aos descritos nesse estudo ao trabalhar com dessalinizadores do tipo bandeja com duas faces de escoamento e duas diferentes angulações (20° e 45°), no nordeste brasileiro, resultando em taxas de evaporação que variaram entre $1,73 \text{ m}\ell \text{ min}^{-1}$ (taxa mínima) e $5,2 \text{ m}\ell \text{ min}^{-1}$ (taxa máxima), porém a taxa mínima foi próxima da média alcançada pelo CSP sob fluxo contínuo e muito inferior a taxa de evaporação média alcançada pelo CSP sob batelada. As diferenças apresentadas se devem a lâmina de líquido utilizada durante a evaporação em relação área de exposição e também em relação à região e época do ano.

Ao considerar a remoção das fluoroquinolonas, nas três temperaturas, a análise global indica a 50 °C obteve-se uma remoção mais homogênea das três fluoroquinolonas em 50% do volume, todavia ao analisar individualmente a degradação para cada FQ, a melhor média de resultados foi encontrada a 100 °C para NOR e CIPRO. Nota-se que a OFLO é mais resistente à

temperatura que as outras duas FQs. No estudo de degradação sob diferentes condições realizado por Shervintgton *et al.*, (2005) a OFLO também provou ser relativamente estável com 80 e 85% de recuperação quando exposta a luz natural e a luz UV direta, respectivamente (Ver ZANCHETA *et al.*, 2012b).

Outra questão que deve ser observada é que em temperaturas mais baixas o tempo de evaporação é mais longo e mesmo assim as FQs não são completamente removidas.

Esses resultados indicam que a acidificação da urina previamente a evaporação apesar de ter degradado em torno de 50% da NOR e da CIPRO no tratamento a 100 °C em 50% do volume, pode ser contraindicada na mitigação de riscos advindos destes micropoluentes. Adam *et al.*, (2012) ao estudarem a estabilidade com formulações farmacêuticas (fármaco e excipientes) da CIPRO verificaram o efeito negativo da acidez sobre a degradação das FQs na urina pode ser explicado pela estabilidade destes compostos em pHs inferiores a 4,0.

6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

6.1 CONCLUSÕES INTEGRADAS

- O método analítico desenvolvido e validado para a determinação das três FQs simultaneamente provou ser simples, sensível e preciso para as amostras de urina humana.
- Os resultados encontrados durante os tratamentos de estocagem indicam que o tratamento da urina humana através de estocagem normal ou apenas da acidificação (sem estocar), com vista a sua utilização como fertilizante agrícola, são concorrentes. O principal objetivo da estocagem é a eliminação de microrganismos patogênicos, o que pode ser conseguido com uma perda considerável de nutrientes N (volatilização) e P (precipitação). O mesmo objetivo pode ser atingido através da acidificação a pH ~2,0, que, no entanto, permite a preservação do estoque de nutrientes N e P na urina.
- Nenhuma das condições de tratamentos de estocagem estudados mostrou-se efetivo na remoção das FQs (OFLO, NOR e CIPRO) da urina humana. A estocagem da urina acidificada não foi capaz de reduzir as concentrações destes fármacos em quantidades significativas, considerando-se o limite de detecção do método cromatográfico empregado ($1,0 \mu\text{g } \ell^{-1}$). Consequentemente, o monitoramento da presença destes fármacos na urina humana a ser utilizada na agricultura deve ser implementado, quando a estocagem for utilizada como método único de tratamento.
- Nos testes realizados, a evaporação de 80% do volume de urina a temperaturas de 50 °C, 75 °C e 100 °C, sem e com acidificação, resultou em perdas consideráveis do estoque de nitrogênio originalmente presente no líquido. Perdas da ordem de 50% de NTK foram observadas em quase todos os ensaios, inclusive naqueles em que o pH inicial foi próximo de 2,0. Ficou claro que a acidificação com a concentração de ácido sulfúrico utilizada e nas temperaturas de evaporação, não foi um método eficaz de conservação de nitrogênio na urina, quando a evaporação for empreendida para reduzir volume.
- Os ensaios de evaporação ainda evidenciaram uma maior resistência à degradação da OFLO e uma alta degradabilidade da NOR e da CIPRO sob as diferentes condições de pH e temperatura. A acidificação da urina aumentou a resistência à degradação da NOR e da CIPRO sob as três temperaturas testadas, cujas velocidades e as eficiências de degradação mostraram-se bastante reduzidas com relação aos testes com urina normal. Também as

eficiências finais de degradação das FQs foram inferiores nos testes com urina acidificada, indicando que a prática de acidificação da urina previamente à evaporação é contraindicada na mitigação de riscos advindos destes micropoluentes.

- O concentrador solar parabólico foi superior ao evaporador de bandeja em relação às taxas de evaporação e a eficiência energética, e ainda com menor tempo de residência.
- Embora as taxas de evaporação e eficiência energética (quando considerada a energia utilizada para a realização dos processos e aquela disponibilizada pelo sol) do concentrador solar parabólico serem superiores ao evaporador de bandeja, essas taxas são relativamente baixas, com eficiência energética inferior a 15%, porém, esse trabalho é pioneiro na comparação de técnicas de redução de volume de baixo custo, indicando um vasto campo a se estudar, de forma a aperfeiçoar a técnica, reduzir as dimensões dos equipamentos, e aumentar a quantidade de urina tratada.
- A evaporação se apresentou como uma boa alternativa de tratamento, reduzindo o volume de urina, facilitando o transporte e a aplicação, e ainda apresentando 50% de degradação da NOR e CIPRO, quando realizada a 100 °C.

6.2 RECOMENDAÇÕES

- Desenvolver outros métodos analíticos e de baixo custo para identificação e quantificação de outros fármacos e hormônios na urina humana;
- Estudar o comportamento das FQs e de outros fármacos na urina humana durante um período maior de estocagem;
- Estudar o comportamento de outros fármacos e hormônios na urina humana em diferentes tipos de tratamentos;
- Avaliar o comportamento e as possíveis alterações dos fármacos e hormônios contidos na urina utilizada como fertilizante no sistema solo-planta;
- Avaliar os possíveis riscos à saúde humana, associados ao uso da urina humana como fertilizante agrícola;
- Estudar outros métodos para a remoção de fármacos e disruptores endócrinos contidos na urina humana, antes de seu uso como fertilizante agrícola;

- Aprimorar o desenvolvimento de técnicas de evaporação solar para o tratamento da urina humana.

7. REFERÊNCIAS

7. REFERENCIAS

ABIFARMA, Associação Brasileira da Indústria Farmacêutica. Disponível em: <<http://www.abifarma.com.br/>>. Acesso em: 15 março 2010.

ADAM, E. H. K.; ELAZIZ, M. E. M. A.; SAEED, A. E. M. Stability study of ciprofloxacin hydrochloride under stress conditions using reverse phase -high performance liquid chromatography method. **Der Pharmacia Sinica**, v. 3, n. 2, p 217-223, 2012.

ALVES, A. B.; SILVA, M. G.; CARVALHO, P. R. N.; VISSOTTO, L. C. Validação e estimativa da incerteza de método para análise de licopeno e β -caroteno em polpa de tomate por cromatografia líquida de alta eficiência. **Quim. Nova**, v. 33, n. 9, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000900025&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 15 jan. 2011.

ANA, Agência Nacional das Águas. 2009 Disponível em: <www.ana.gov.br/GestaoRecHidricos/CobrancaUso/_ARQS-Estudos/PCJ/Questao-Carga-Organica.pps> Acesso em: 17 maio 2009.

ANDRADE, J. E. P.; PAN, S. S. K.; DANTAS, C. A. D.; MELO, K. C. A. **A indústria de Fertilizantes**. p. 94-108, 1995. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/bndes/bndes_pt/Institucional/Publicacoes/Consulta_Expressa/Setor/Complexo_Quimico/199507_2.html>. Acesso em: 29 jan. 2010.

ANDRIOLE, V. T. **The Quinolones**. 3. ed. Maryland Haight: Elsevier, 2000.

ANJOS, V. L. R. **Análise experimental dos processos de transferência de calor aplicados à concentração solar**. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2008.

ANTONINI, S.; NGUYEN, P.T.; ARNOLD, U.; EICHERT T.; CLEMENS J. Solar thermal evaporation of human urine for nitrogen and phosphorus recovery in Vietnam. **Science of the Total Environment**, n. 414, 2012.

ANTUNES, M. V.; FELTRACO, L. L.; MORISSO, F. D. P.; LINDEN, R. Determinação de 2,5-hexanodiona em urina empregando cromatografia líquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina. **Quim. Nova**, v. 34, n. 1, p. 151-155, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422011000100028&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 02 mai. 2012.

APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington: American Public Health Association, 2005.

APPELBAUM, P. C.; HUNTER, P. A. The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.16, p.5-15, 2000.

AYERS, R.S.; WESTCOT, D.W. **A qualidade da água na agricultura**. Traduzido por Gheyi H, Medeiros JF, Damasceno FV. UFPB, Campina Grande, PB, 1991, 218 p.

BALLESTEROS, O.; TORO I.; SANZ-NEBOT, V.; NAVALÓN, A.; VÍLCHEZ, J. L.; BARBOSA, J. Determination Of Fluoroquinolones In Human Urine By Liquid Chromatography Coupled To Pneumatically Assisted Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **J. Chromatogr. B**, v. 798, n. 1, p. 137-144, 2003.

BAMBIRRA, S.A.; LOYOLA, Y.C.S. **Farmacoterapia Hormonal**. Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” Especialização: Farmacologia – Atualização e Novas Perspectivas. Lavras: UFLA/FAEPE. 2003.

BÁN, Z.; DAVE, G. Laboratory studies on recovery of N and P from human urine through struvite crystallisation and zeolite adsorption. **Environmental Technology**, v. 25, p. 111-119, 2004.

BARANOWSKA, I.; MARKOWSKI, P.; BARANOWSKI, J. Simultaneous determination of 11 drugs belonging to four different groups in human urine samples by reversed-phase high-performance liquid chromatography method. **Analytica Chimica Acta**, n. 570, p. 46–58, 2006.

BARRETO, J. A. **Dimensionamento e comparação de eficiência de evaporadores de urina e estudo da variação das propriedades da urina durante o ciclo de evaporação**. 2009. 91 f. Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) – Departamento de Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2009.

BAYKAL, B.B. Ion exchange with clinoptilolite. A potential alternative for ammonia recovery from domestic wastewater. In: International Symposium on Ecological Sanitation, 2, 2003.

BAZZARELLA, B. B.; DIAS, G. B.; BASTOS, F.P.; LEE, P.W.; GONÇALVES, R. F. Caracterização quali-quantitativa da urina humana com vistas ao aproveitamento agrícola. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 23, 2005, Campo Grande. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, v.1, p. 186-187, 2005.

BEHRENDT, J.; AREVALO E.; GULYAS, H.; NIEDERSTE-HOLLENBERG, J.; NIEMIEC, A.; ZHOU, J.; OTTERPOHL, R. Production of value added products from separately collected urine. **Water Science & Technology**, v. 46, n. 6-7, p. 341-346, 2002.

BERNDTSSON, J. C. Experiences from the implementation of a urine separation systems: Goals, planning, reality. **Building and Environment**, v. 41, n. 4, p. 427-437, 2006.

BERTOLDI, A. D.; BARROS, A. J. D.; HALLAL, P. C.; LIMA, R. C. Utilização de medicamentos em adultos: prevalência e determinantes individuais. **Rev. Saúde Pública**, v. 38, n. 2, p. 228-238, 2004.

BEZERRA, M. A. S. **Desenvolvimento de um destilador solar para tratamento de águas de produção de petróleo com vistas a sua utilização na agricultura e geração de vapor**. 2004. 106 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2004.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no Meio Ambiente. **Quím. Nova**, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.

BIRKETT, J. W.; LESTER, J. N. **Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes**. 1. ed. IWA Publishing, Lewis Publishers CRC Press LLC: USA, 2003.

BLUMBERG, H.M.; RIMLAND, D.; CARROLL, D.J.; TERRY, P.; WACHSMUTH, I.K. Rapid development of ciprofloxacin resistance in methicillin-susceptible and -resistant *Staphylococcus aureus*. **J Infect Dis**, n. 163, p. 1279-85, 1991.

BOOKER, N.A.; PRIESTLEY, A.J.; FRASER, I.H. Struvite formation in wastewater treatment plants: opportunities for nutrient recovery. **Environmental Technology**, v. 20, p. 777-782, 1999.

BORBA, C. E.; GUILHARDELLO, R.; SILVA, E. A. **Modelagem da remoção de metais pesados em coluna de leito fixo**. 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

BORGES, L. Z. **Caracterização da água cinza para promoção da sustentabilidade dos recursos hídricos**. 2003. 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) - Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

BORGOTTA, B.; KMETLUNA, N.; RELLOC, J. Síndrome Hemolítico-Urêmica e Escherichia coli o 104:H4 e o Surto na Alemanha. **Enfermedades Respiratorias (CIBERes)**, Barcelona, Espanha, 2011.

BOTTO, M. P.; SANTOS, A. B; COON, E.; NETO, E. F. A. Concentração dos nutrientes contidos na urina humana por meio de concentrador solar parabólico: um estudo da concepção do sistema. In: Simpósio Ítalo-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 10, 2010, Maceió. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, 2010.

BRASIL. Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003. **Determina a Publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 22 de junho de 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acesso em: 10 mai. 2010.

BRIDGER. G. L.; SALUTSKY, M. L.; STAROSTKA. R. W. Micronutrient Sources, Metal Ammonium Phosphates as Fertilizers. **J. Agric. Food Chem.**, v. 10, n. 3, p. 181–188, 1962.

BURNS, R.T.; MOODY, L.B.; WALKER, F.R.; RAMAN, D.R. Laboratory and in-situ reductions of soluble phosphorus in swine waste slurries. **Environmental Technology**, v.22, p. 1273-1278, 2001.

BUTZEN, A.; WERRES, F.; BALSAA, P. Establishment and application of a problem-oriented analytical procedure aiming to monitor selected pharmaceuticals in soils and urine (in German). Final Report Naehrstofftrennung und –verwertung in der Abwassertechnik am Beispiel der “Lambertsmuehle”. **Bonner Agrikulturchemische Reihe**, v. 21, p. 25-51, 2005.

CALMANO, W.; BILITEWSKI, U.; FLEMMING, H. C.; HOFMANN, T.; PEIFFER, S.; TERNES, S.; WILKEN, R. D. The German Water Chemical Society: Actual Trends And Fields Of Research In The Principle Committee “Basic Research”. **Acta Hydrochimica Et Hydrobiologica**, v. 29. n. 6-7, p. 419-427, 2001.

CARVALHO, P. C. T.; BARRAL, M. F. Aplicação de lodo de esgoto como fertilizante. **Fertilizantes**, v. 3, n. 2, p. 1-4, 1981.

CENEVIVA, R.; VICENTE, Y. A. M. V. A. Equilíbrio hidroeletrólítico e hidratação no paciente cirúrgico. In: Simpósio Fundamentos em Clínica Cirúrgica, 1, 2008, Ribeirão Preto. **Anais...** Medicina, v. 41, n. 3, p. 287-300, 2008.

COLBORN, T.; DUMANOSKI, D.; MYERS, J. P. **O futuro roubado**. Porto Alegre: L&PM, 2002. 354 p.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. L. **Fundamentos da Cromatografia**. Campinas: Editora da Unicamp, 2006. 452 p.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. L. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1997. 279 p.

- COOMBES, P. J.; KUCZERA G. NikkinbaRidge Fletcher: analysis of stormwater management options. **Research Report for Newcastle City Council**. Department of Civil, Surveying and Environmental Engineering. University of Newcastle. 2000.
- CORRADO, M.L.; STRUBLE W.E.; PETER, C.; HOAGLAND, V.; SABBAJ, J. **Am. J. Med.**, v. 82, n. 22, 1987.
- CORRE, K. S. L.; E. VALSAMI-JONES. "Phosphorus Recovery from Wastewater by Struvite Crystallization: A Review." **Critical Reviews in Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 6, p. 433-477, 2009.
- DE SMET, J.; BOUSSERY, K.; COLPAERT, K.; DE SUTTER, P.; DE PAEPE, P.; DECRUYENAERE, J.; VAN BOCXLAER, J. Pharmacokinetics Of Fluoroquinolones In Critical Care Patients: A Bio-Analytical Hplc Method For The Simultaneous Quantification Of Ofloxacin, Ciprofloxacin And Moxifloxacin In Human Plasma. **J. Chromatogr. B. Analyt Technol. Biomed Life Sci.**, v. 877, n. 10, p. 961-967, 2009.
- de VOOGT, P.; JANEX-HABIBI, M. L.; SACHER, F.; PUIJKER; L.; MONS, M. Development of a common priority list of pharmaceuticals relevant for the water cycle. **Water Sci. Technol.**, v. 59, n. 1, p. 39-46, 2009.
- DEAN, J. R. **Methods for Environmental Trace Analysis**. Reino Unido: John Wiley & Sons Ltd, 2003. 284 p.
- DIFRANCESCO, A. M. Dissipation of fragrance materials in sludge-amended soils. **Environ. Sci. Technol.**, n. 38, p. 194-201, 2004.
- DORNE, J. L. C. M.; SKINNER, L.; FRAMPTON, J. K.; SPURGEON, D. S.; RAGAS, A. M. J. Human and environmental risk assessment of pharmaceuticals: differences, similarities, lessons from toxicology. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 4, p. 1259-1268, 2007.
- DOYLE, J.D; PARSON, S. A. Struvite formation, control and recovery. **Water Research**, v. 36, p. 3925-3940, 2002.
- DRANGERT, J. O. Fighting the urine blindness to provide more sanitation options. **Water South Africa**, v. 24, n. 2, 1998.
- EK, M.; BERGSTRÖM, R.; BJURHEM, J. E.; BJÖRLENIUS, B.; HELLSTRÖM, D. Concentration of nutrients from urine and reject water from anaerobically digested sludge. **Water Sci. Technol.**, v. 54, n. 11-12, p. 437-444, 2006.
- ESPINOSA-MANSILLA, A.; PEÑA, A. M.; GÓMEZ, D. G.; SALINAS, F. HPLC determination of enoxacin, ciprofloxacin, norfloxacin and ofloxacin with photoinduced fluorimetric (PIF) detection and multiemission scanning application to urine and serum. **Journal of Chromatography B**, v. 822, n. 1-2, p. 185-193, 2005.
- ESPINOSA-MANSILLA, A.; PEÑA, A. M.; GÓMEZ, D. G.; LÓPEZ, F. S. Determination of fluoroquinolones in urine and serum by using high performance liquid chromatography and multiemission scan fluorimetric detection. **Talanta**, v. 68, n. 4, p. 1215-1221, 2006.
- ESREY, S. A. ; GOUGH, J. ; RAPAPORT, D. ; SAWYER, R. ; SIMPSON-HEBERT, M. ; VARGAS, J. ; WINBLAD, U. **Ecological sanitation**. Sida, Estocolmo, 1998. Disponível em: < <http://www.ecosanres.org/PDF%20files/Ecological%20Sanitation.pdf> > Acesso em: 11 mai. 2005.
- FACRE, W. R. Três formas de fertilizantes nitrogenados e o futuro. **Informações Agronômicas**, n. 120, 2007. IPNI-BRASIL: Nova missão, novos tempos. 2007.

FENAFAR – Federação Nacional dos Farmacêuticos. **Mercado Farmacêutico deve movimentar em 2010 US\$ 830 bi.** 2010. Disponível em: <http://www.fenafar.org.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=425:mercado-farmacutico-deve-movimentar-em-2010-us-830-bi&catid=67:geral&Itemid=146>. Acesso em: 3 de out. 2010.

FERRARI B.; PAXÉUS, N.; GIUDICE, R.; POLLIO, A.; GARRIC, J. Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibrac acid, and diclofenac. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 55, n. 3, p. 359-370, 2003.

FERREIRA, F. N.; MONTEIRO, M. I. C.; SILVA, L. I. D.; CARNEIRO, M. C. Determinação de nitrogênio total em amostras de rocha petrolífera pelo Método Kjeldahl/Indofenol. In: Jornada do Programa de Capacitação Interna, 1, 2007. **Anais...** Centro de Tecnologia Mineral. Disponível em: <http://www.cetem.gov.br/publicacao/serie_anais_XII_jic_2004/13Artigo%20JIC%202004%20Fernanda%20Nunes%20e%20Maria%20Ines.pdf>. Acesso em: 05 jul. 2012.

FERREIRA, Milena Guedes Maniero. **Remoção da atividade estrogênica de 17 β -estradiol e de 17 α -etinilestradiol pelos processos de ozonização e O₃/H₂O₂.** 2008. 173 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

FERREIRÓS, N.; IRIARTE, G.; ALONSO, R. M.; JIMÉNEZ, R. M. Development of a solid phase extraction procedure for HPLC–DAD determination of several angiotensin II receptor antagonists in human urine using mixture design. **Talanta**, v. 73, n. 4, p. 748–756, 2007.

FITTSCHEN, I.; HAHN, H. H. Characterization of the municipal wastewater parameters human urine and preliminary comparison with liquid cattle excretion. **Water science technology**, v. 38, n. 6, p. 9-16, 1998.

FIXEN, P. E. Reservas mundiais dos nutrientes dos fertilizantes. **Informações agrônomicas**, IPNI: Piracicaba. n. 126, 2009. Disponível em: <[http://www.potafos.org/ppiweb/BRAZIL.NSF/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/4eac3d6afc6798af03257537007fac91/\\$FILE/Page8-14-126.pdf](http://www.potafos.org/ppiweb/BRAZIL.NSF/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/4eac3d6afc6798af03257537007fac91/$FILE/Page8-14-126.pdf)>. Acesso em: 20 mai. 2012.

FU, F.; WANG, Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 3, p. 407-418, 2011.

FURA, A.; Harper, T. W.; Zhang, H.; FUNG, L.; SHYU, W. C. Shift in pH of biological fluids during storage and processing: effect on bioanalysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 32, n. 3, p. 513-522, 2002.

GAJUREL, D. R.; GULYAS, H.; REICH, M.; OTTERPOHL, R. Behavior of four selected pharmaceuticals during long-time storage of yellow water. In: International Conference on Sustainable Sanitation: “Food and Water Security for Latin America”. Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: ECOSAN, 2007.

GALLOWAY, J. N., & COWLING, E. B. Reactive nitrogen and the world: 200 years of change. **Ambio**, v. 31, n. 2, p. 64-71, 2002.

GANROT, Z. **Urine processing for efficient nutrient recovery and reuse in agriculture.** Göteborg University. 2005.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. **Interferentes Endócrinos no Ambiente.** Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, Brasil. 2007.

GIL, E.S. **Controle Físico-Químico de Qualidade de Medicamentos**. 3. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2009.

GIMENO, S.; KOMEN, H.; JOBLING, S.; SUMPTER, J.; BOWMER, T. **Aquat. Toxicol.**, v. 43, n. 93, 1998.

GOLET, E. M.; ALDER, A. C.; HARTMANN, A.; TERNES, T.; GIGER, W. Trace Determination Of Fluoroquinolone Antibacterial Agents In Urban Wastewater By Solid-Phase Extraction And Liquid Chromatography With Fluorescence Detection. **Anal. Chem.**, v. 73, n. 15, p. 3632-3638, 2001.

GONÇALVES JR., A. C.; LUCHESE, E. B.; LENZI, E. Avaliação da fitodisponibilidade de cádmio, chumbo e crômio, em soja cultivada em latossolo vermelho escuro tratado com fertilizantes comerciais. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 173-177, 2000.

GONÇALVES, J. G.; MORAES, J. B.; SEKO, L. M. D.; FÁVERO, M. E.; OLIVEIRA, J. A.; GORDAN, P. A. Condutividade Urinária: um método simples para estimar a concentração iônica e a osmolalidade. **J Bras Nefrol.**, v. 27, n. 4, 2005.

GONÇALVES, Ricardo Franci (Coord.). **Uso racional da água em edificações**. ABES: Rio de Janeiro, Sermograf, 2006.

GONZÁLEZ, C.; MORENO, L.; SMALL, J.; JONES, D. G.; SÁNCHEZ BRUNI, S. F. A liquid chromatographic method, with fluorometric detection, for the determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in plasma and endometrial tissue of mares. **Anal. Chim. Acta.**, v. 560, n. 1-2, p. 227-234, 2006.

GOYAL, R. N.; RANA, A. R. S.; CHASTA, H. Electrochemical Sensor For The Sensitive Determination Of Norfloxacin In Human Urine And Pharmaceuticals. **Bioelectrochemistry**, v. 83, n. 46, 2012.

GUARDABASSI, L.; WONG, D. M. A. L.; DALSGAARD, A. **Water Res.**, v. 36, 1955.

GULYAS, H.; GAJUREL, D. R.; KUCHAREK, K.; SKWIOT, R.; WINKER, M.; FURMANSKA, M.; OTTERPOHL R. **Elimination of human pharmaceuticals by yellow water ozonation**. In: Conferência Internacional de Saneamento Sustentável: "Food and Water Security for Latin America". 1, 2007, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: v.1, p. 186-187, 2005.

GUYTON, A. C. **Fisiologia humana e mecanismos das doenças**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

HALLING-SORENSEN, B.; NIELSEN, S. N.; LANZKY, P. F.; INGERSLEV, F.; LÜTZHOFT, H. C. H.; JORGENSEN, S. E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment - A Review. **Chemosphere**, v. 36, n. 2, p. 357-393, 1998.

HAMMER, M. J.; HAMMER JR., M. J. **Water and wastewater technology**. 4. ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. 2001.

HANEAUS, A.; HELLSTRÖM, D.; JOHANSSON, E. Conversion of urea during storage of human urine. **Vatten**, v. 96, n. 4, p. 263-270, 1997.

HEINONEN-TANSKI, H.; SJÖBLOM, A.; FABRITIUS, H.; KARINEN, P. Pure human urine is a good fertiliser for cucumbers. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 1, p. 214-217, 2007.

HEINONEN-TANSKI, H.; van WIJK-SIJBESMA, C. Human excreta for plant production. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 4, p. 403-411, 2005.

HELLSTRÖM, D.; JOHANSSON, E.; GRENNBERG, K. Storage of human urine: acidification as a method to inhibit decomposition of urea. **Ecological Engineering**, n. 12, p. 253-269, 1999.

HERAUSGEGEBEN, von; FALBE, J.; REGITZ, M. **Römpp Chemie Lexikon**. 10 ed., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York. 1997.

HIGGINS, P.G.; FLUIT, A.C.; SCHMITZ, F.J. Fluoroquinolones: structure and target sites. **Current Drug Targets**, v. 4, p.181-189, 2003.

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

HÖGLUND, C. **Evaluation of microbial health risks associated with the reuse of source-separated human urine**. 2001. 78 p. Tese (Doutorado) - Royal Institute of Technology – KTH, Department of Biotechnology, Applied Microbiology, Swedish Institute for Infectious Disease Control (SMI), Estocolmo, 2001.

HÖGLUND, C., STENSTROM, T.A., JONSSON, H., SUNDIN, A. Evaluation of faecal contamination and microbial die-off in urine separating sewage systems. **Water Sci. Technol.**, v. 38, n. 6, p. 17–25, 1998.

HÖGLUND, C.; ASHBOLT, N.; STENSTROM, T.A.; SVENSSON, L. Viral persistence in source-separated human urine. **Adv. Environ. Res.**, v. 6, n. 3, p. 265–275, 2002.

HOGLUND, C.; VINNERAS, B.; STENSTROM, T. A.; JÖNSSON, H. Variation of chemical and microbial parameters in collection and storage tanks for source separated human urine. **J. Environ. Sci. Health Part A-Toxic/Hazard. Substances Environ. Eng.**, v. 35, n. 8, p. 1463–1475, 2000.

IMS Health – Intercontinental Marketing Services. Disponível em: <<http://www.imshealth.com>>. Acesso em: 10 fev. 2010.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos analíticos: DOQ-CGCRE-008**. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2011.

INSTITUTO DE BIOLOGIA DE PELOTAS. **Hormônios: Regulação e Ação**. Universidade Federal de Pelotas. 2005. Disponível em: <<http://www.ufpel.tche.br/ib/hormonios-%20regulacao%20e%20acao.pdf>>. Acesso em: 04 ago. 2008.

JOHANSSON, M. (ed.) **Urine separation – closing the nutrient cycle**. Verna Ecology. Estocolmo, 2001. Disponível em: <http://www.swedenviro.se/gemensamma_se/documents/Urinsep_eng.pdf>. Acesso em: 21 jul. 2010.

JÖNSSON, H. Urine separating sewage systems: environmental effects and resource usage. **Water Science and Technology**, v. 46, n. 6-7, p. 333-340, 2002.

JÖNSSON, H.; BAKY, A.; JEPPSSON, U. Composition of urine, faeces, greywater and biowaste for utilization in the URWARE Model. **Urban Water Report**, v. 6, n. 1., p. 1650-3791, 2005.

JÖNSSON, H.; STENSTRÖM, T.; SVENSSON, J.; SUNDIN, A. Source separated urine-nutrient and heavy metal content, water saving and faecal contamination. **Water Science Technology**, v. 35, p. 145-152, 1997.

- JÖNSSON, H.; STINTZING, A. R.; VINNERAS, B.; SALOMON, E. **Guidelines on the use of urine and faeces in crop production**. EcoSanRes Publications Series, Instituto Ambiental de Estocolmo, Estocolmo. 2000.
- JÖNSSON, H.; STINTZING, A. R.; VINNERAS, B.; SALOMON, E. **Guidelines on the use of urine and faeces in crop production**. EcoSanRes Publications Series, Instituto Ambiental de Estocolmo, Estocolmo. 2004.
- JORGENSEN, S.E. Drugs in the environment. **Chemosphere**, n. 40, p. 691–699, 2000.
- KANG, I. J.; YOKOTA, H.; OSHIMA, Y.; TZURUDA, Y.; YAMAGUCHI, T.; MAEDA, M.; IMADA, N.; TADOKORO, H.; HONJO, T. **Chemosphere**, v. 47, 71, 2002.
- KARAK. T.; BHATTACHARYYA, P. Human urine as a source of alternative natural fertilizer in agriculture: a flight of fancy or an achievable reality. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 55, n. 4, p. 400-408, 2011.
- KIRBIS, A.; MARINSEK, J.; FLAJS, V. C. Introduction of the HPLC method for the determination of quinolone residue in various muscles tissues. **Biomedical Chromatography**, v. 19, n. 4, p. 259-265, 2005.
- KIRCHMANN, H; PETTERSSON, S. Human urine - chemical composition and fertilizer use efficiency. **Fertilizer Research**, v. 40, p. 149-154, 1995.
- KLINGEL, F.; WERNER, C.; BRACKEN, P.; RÄTH, N. **Urine diversion in GTZ's main building in Eschborn and utilization of diverted urine – a demonstration and research Project**. 2006. Disponível em: <<http://www2.gtz.de/Dokumente/oe44/ecosan/en-ud-in-main-gtz-building-iwa-abstract-2006.pdf>>. Acesso em: 18 nov. 2011.
- KOLPIN, D.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER, L. B.; BUXTON, H. T. Pharmaceuticals, Hormones, And Other Organic Wastewater Contaminants In U.S. Streams, 1999- 2000: A National Reconnaissance. **Environ. Sci. Technol.**, v.36, n. 6, p. 1202-1211, 2002.
- KOROLKOVAS, A. **Dicionário terapêutico Guanabara 2002/2003**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- KREUZIG, R.; KULLMER, C.; MATTHIES, B.; HOELTGE, S.; DIECKMANN, H. Fate and behavior of pharmaceutical residues in soils. **Fresenius Environ. Bull**, v. 12, n. 6, p. 550-558, 2003.
- KROL, G. J.; BECK, G. W.; BENHAM, T. HPLC Analysis Of Ciprofloxacin And Ciprofloxacin Metabolites In Body Fluids. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 14, n. 1-2, p. 181-190, 1995.
- LANDRIGAN, P.; GARG, A.; DROLLER, D. B. J. Assessing the effects of endocrine disruptors in the National Children's Study. **Environmental Health Perspectives**, v. 111, n. 13, p. 1678-1682, 2003.
- LANGERGRABER, G., MÜLLEGGER, E. Ecological sanitation - A way to solve global sanitation problems?. **Environment International**, v. 31, n. 3, p. 433-444, 2005.
- LARSEN T. A.; LIENERT, J. **Managing Diffuse Sources: Alternative Concepts for Urban Water Infrastructure**. Eawag, Suíça, 2006. Disponível em: <<http://www.dbu.de/media/130508051557a525.pdf>>. Acesso em: 08 set. 2011.
- LARSEN, T. A.; GUJER, W. Separate management of anthropogenic solutions (human urine). **Water Science and Technology**, v. 34, n. 3-4, p. 87–94, 1996.

LARSEN, T. A.; GUJER, W. Waste design and source control lead to flexibility in wastewater management. **Water Science and Technology**, v. 43, n. 5, p. 309-317, 2001.

LARSEN, T. A.; LIENERT, J. **NoMix – A new approach tourban water management. Novaquatis final report.** Eawag, Suíça. 2007. 32 p.

LEAL, V. O.; LEITE, M. Jr.; MAFRA, D. Acidose metabólica na doença renal crônica: abordagem nutricional. **Revista de Nutrição**, v. 21, n. 1, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=S1415-52732008000100010> &lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 14 jun. 2012.

LEGLER, J.; DENNEKAMP, M.; VETHAAK, A. D.; BROWWER, A.; KOEMAN, J. H.; van der BURG, B.; Murk, A. J. Detection of estrogenic activity in sediment-associated compounds using in vitro reporter gene assays. **Science of The Total Environment**, v. 293, n. 1-3, p. 69-83, 2002.

LESMANA, S. O; FEBRIANA, N; SOETAREDJO, F. E.; SUNARSO, J; ISMADJI, S. Studies on potential applications of biomass for the separation of heavy metals from water and wastewater. **Biochem. Eng. J.**, v. 44, n. 1, p. 19-41, 2009.

LIANG, H.; KAYS, M. B.; SOWINSKI, K. M. Separation Of Levofloxacin, Ciprofloxacin, Gatifloxacin, Moxifloxacin, Trovafloxacin And Cinoxacin By High-Performance Liquid Chromatography: Application To Levofloxacin Determination In Human Plasma. **J. Chromatogr. B.**, v. 772, n. 1, p. 53-63, 2002.

LIMA, M. A. S. **Águas acumuladas em açudes e barragens na região de Santa Maria e flutuações em seus atributos físico-químicos.** 2005. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

LIND, B.; BAN, Z.; BYDÉN, S. Volume reduction and concentration of nutrients in human urine. **Ecological Engineering**, v. 16, n. 4, p. 561-566, 2001.

MALISIE, A. F.; PRIHANDRIJANTI, M.; OTTERPOHL, R. The potential of nutrient reuse from a source separation domestic wastewater system in Indonesia – Case study: Ecological Sanitation Pilot Plant in Surabaya. **Water Sci. Technol.**, v. 56, n. 5, p. 141-148, 2007. Disponível em: <<http://www2.gtz.de/Dokumente/oe44/ecosan/en-potential-of-nutrient-reuse-2007.pdf>>. Acesso em: 21 set. 2011.

MALUF, A. P. **Destiladores Solares no Brasil.** 2005. 39 f. Monografia (Especialização em Fontes Alternativas de Energia) – Curso de Pós-graduação Lato Sensu em Fontes Alternativas de Energia, Departamento de Engenharia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

MANILA, C. F. **Ecological Sanitation – An Introduction to the Philippines.** DILG-GTZ Water Program, Philippines, 2003.

MARAZUELA, M. D.; MORENO-BONDI, M. C. Multiresidue determination of fluoroquinolones in milk by column liquid chromatography with fluorescence and ultraviolet absorbance detection. **J. Chromatogr. A**, v. 1034, n. 1-2, p. 25-32, 2004.

MARTINEZ, J. L. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 55, n. 4, p. 400-408, 2011.

MASCHER, H. J.; KIKUTA, C. Determination Of Norfloxacin In Human Plasma And Urine By High-Performance Liquid Chromatography And Fluorescence Detection. **J. Chromatogr. A**, v. 812, n. 1-2, p. 381-385, 1998.

- MATSCHEKO, N.; TYSKLIND, M.; de WIT, C.; BERGEK, S.; ANDERSSON, R.; SELLSTRÖM, S. Application of sewage sludge to arable land-soil concentrations of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls, and their accumulation in earthworms. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 21, n. 12, p. 2515–2525, 2002.
- MAURER, M.; PRONK, M.; LARSEN, T. A. Treatment processes for source-separated urine. **Water Research**, v. 40, n. 17, p. 3151-3166, 2006.
- MAURER, M.; SCHWEGLER, P.; LARSEN, T. A. Nutrients un urine: energetic aspects of removal end recovery. **Water Science Technology**, v. 48, n. 1, p. 37-46, 2003.
- McCRACKEN, H.; GORDES J. **Understanding Solar Stills**, 2007. Disponível em:<http://www.appropedia.org/Understanding_Solar_Stills#HISTORY_OF_SOLAR_DISTILLATION>. Acesso em: 01 dez. 2008.
- MIRANDA, J. A. **Caracterização Fotofísica de Derivados de Cumarinas**. 2001. 144 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2001.
- MOURA, A.; HENRIQUES, I.; RIBEIRO, R.; CORREIA, A. Prevalence and characterization of integrons from bacteria isolated from a slaughterhouse wastewater treatment plant. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 60, n. 6, p. 1243–1250, 2007.
- MOUTON, Y; LEROY, O. Ofloxacin. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 1, p. 57-74, 1991.
- MÜNCH, E. V.; BARR, K. Controlled struvite crystallisation for removing phosphorus from anaerobic digester sidestreams. **Water Research**, v. 35, n. 1, p. 151-159, 2001.
- NELSON, N. O.; MIKKELSEN, R. L.; HESTERBERG, D. L. Struvite precipitation in anaerobic swine lagoon liquid: effect of pH and Mg:P ration and determination of rate constant. **Bioresource Technology**, v. 89, n. 3, p. 229-236, 2003.
- NEMUTLU, E.; KIR, S.; ÖZYÜNCÜ, Ö.; BEKSAÇ, M. S. Simultaneous Separation and Determination of Seven Quinolones Using HPLC: Analysis of Levofloxacin and Moxifloxacin in Plasma and Amniotic Fluid. **Chromatographia**, v. 66, n. 1, p. 15-24, 2007.
- NICHOLSOM, B. C.; BURCH, M. D. **Evaluation of analytical methods for detection e quantification of cyanotoxins in relation to Australian drinking water guidelines. Cooperative Research**. Austrália: Commonwealth of Australia, 2001. 57 p.
- NIEDERSTE-HOLLENBERG, J.; BEHRENDT, J.; LINDNER, B.; SHALABI, M.; OTTERPOHL, R. Evaluation of techniques for concentrating nutrients in human urine collected in ecological sanitation systems. In: Simpósio Internacional de Saneamento Ecológico, 2, 2003, CIDADE. **Anais...** Lübeck: GTZ, 2003.
- NOGUEIRA, J. M. F. Desreguladores endócrinos: Efeitos adversos e Estratégias para Monitorização dos Sistemas Aquáticos. **Química**, n. 88, p. 65-71, 2005. Disponível em: <http://www.spq.pt/boletim/docs/BoletimSPQ_088_065_09.pdf>. Acesso em: 05 jun. 2009.
- NUNES, M. U. C. **Compostagem de Resíduos para Produção de Adubo Orgânico na Pequena Propriedade**. Circular técnica, n. 59, Aracaju, 2009. Disponível em: <http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2010/ct_59.pdf>. Acesso em 20 jun 2011.
- OLIPHANT, C. M.; GREEN, G. M. Quinolones: A comprehensive review. **American Family Physician**, v. 65, n. 3, p. 455-464, 2002.

OMS, Organização Mundial da Saúde. **Overcoming Antimicrobial Resistance: Report on Infectious Diseases 2000**. 2000. Disponível em: <<http://www.who.int/infectious-disease-report/2000>>. Acesso em: 18 out. 2011.

ÖSTERLUND, M. K.; HURD, Y. L. Estrogen receptors in the human forebrain and relation to neuropsychiatric disorders. **Prog. Neurobiol.**, v. 64, n. 3, p. 251-267, 2001.

OTTERPOHL, R. Black, brown, yellow, grey – The new colors of sanitation. **Water** **21**, n. 3,5, p. 37-41, 2001.

OTTERPOHL, R. New technological developments in ecological sanitation. In: International Symposium on Ecological Sanitation, 2, 2004, Lübeck. **Anais...** Lübeck, Alemanha: GTZ, 2004. Disponível em: <<http://www2.gtz.de/dokumente/bib/04-5004a.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2010.

OTTERPOHL, R., GROTTKER, M., LANGE, J. Sustainable water and waste management in urban areas. **Water Science Technologies**, v. 35, n. 9, p. 121 – 133, 1997.

PAULINO, A. T.; GUILHERME, M. R.; REIS, A. V.; CAMPESE, G. M.; MUNIZ, E. C.; NOZAKI, J. Removal of Methylene blue dye from an aqueous media using superabsorbent hydrogel supported on modified polysaccharide. **J. Colloid Interface Sci.**, v. 301, p. 55-62, 2006.

PAYÁN, M. R.; LÓPEZ, M. A. B.; FERNÁNDES-TORRES, R.; GONZÁLEZ, J. A.; MOCHÓN, M. C. Hollow fiber-based liquid phase microextraction (HF-LPME) as a new approach for the HPLC determination of fluoroquinolones in biological and environmental matrices. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 55, n. 2, p. 332-341, 2011.

PEDROSO, R. C. R. **Desenvolvimento de métodos de análise por CLAE-UV para os antimicrobianos tetraciclina, sulfametoxazol e trimetoprima utilizando materiais à base de sílica e polímeros como sistema de pré-concentração**. 2007. 105 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

PENA, A.; PINA, J.; SILVA, L. J. G.; MEISEL, L.; LINO, C. M. Fluoroquinolone antibiotics determination in piggy environmental waters. **J. Environ. Monitoring**, v. 12, n. 3, p. 642-646, 2010b.

PENA, A.; SILVA, L. J. G.; PEREIRA, A.; MEISEL, L.; LINO, C. M. Determination of fluoroquinolones residues determination in poultry muscle in Portugal. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**, v. 397, n. 6, p. 2615-2621, 2010a.

PEREIRA, A. M. P. T. **Determinação de resíduos de fluoroquinolonas em amostras de tecido muscular de frangos e respectivo impacto na saúde humana**. 2009. 129 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2009.

PICÓ, Y.; ANDREU, V. Fluoroquinolones in soil-risks and challenges. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 387, n. 4, p. 1287-1299, 2007.

PINA, A. V. V. **Dessalinização solar no abastecimento de água para uma família no arquipélago de cabo verde**. 2004. Monografia (Graduação em Engenharia Mecânica) – Graduação em Engenharia Mecânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

- POSYNIAK, A.; ZMUDZKI, J.; SEMENIUK, S. Effects of the matrix and sample preparation on the determination of fluoroquinolone residues in animal tissues. **J. Chromatogr. A**, v. 914, n. 1-2, p. 89-94, 2001.
- PRONK, W., PALMQUIST, H., BIEBOW, M., BOLLER, M. Nanofiltration for the separation of pharmaceuticals from nutrients in source-separated urine. **Water Res.**, v. 40, n. 7, p. 1405–1412, 2006b.
- PRONK, W.; BIEBOW, M.; BOLLER, M. Electrodialysis for the recovery of salts from a micropollutant-containing urine solution. **Environ. Sci. Technol.**, v. 40, n. 7, p. 2414-2420, 2006a.
- PRONK, W.; BIEBOW, M.; BOLLER, M. Treatment of Source-Separated Urine by a Combination of Bipolar Electrodialysis and a Gas Transfer Membrane. **Water Sci. Technol.**, v. 53, n. 3, p. 139-146, 2006c.
- PRONK, W.; KONÉ D. Options for urine treatment in developing countries. **Desalination**, v. 248, n. 1-3, p. 360-368, 2009.
- QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Quím. Nova**, v. 24, n. 1, p. 68-76, 2001.
- QUEIROZ, V. S. **Enzimoimunoensaio (ELISA), imunoeletrortransferência (EITB) e cromatografia líquida de Alta Eficiência (HPLC), como diagnóstico de Fasciolose Hepática em Bubalinos (*Bubalus bubalis Linnaeus, 1758*)**. 2005. 96 p. Tese (Doutorado em Processo Biotecnológicos) – Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.
- RABOLLE, M.; SPLIID, N. H. Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox, oxytetracycline and tylosin in soil. **Chemosphere**, v. 40, n. 7, p. 715-722, 2000.
- RAIMUNDO, Cassiana Carolina Montagner. **Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia**. 2007. 108 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, 2007.
- RAMOS, R.; GASPARINI, J. C.; ANJOS, V. L. R. Estudo experimental da eficiência de captação de calor em função do projeto do tubo focal para um concentrador solar parabólico. In: Congresso Brasileiro de Eficiência Energética, 2, Vitória. **Anais...** CBEE, 2007a.
- RAMOS, R.; GASPARINI, J. C.; ANJOS, V. L. R. Solar concentration applied to oil heating: an experimental focal tube enhanced design. In: Congresso Internacional de Engenharia Mecânica, 19, Brasília. **Anais...** COBEM, 2007b.
- RAUCH, W.; BROCKMANN, D.; PETERS, I.; LARSEN, T. A.; GUJER, W. Combining urine separation with waste design: an analysis using a stochastic model for urine production. **Water Research**, v. 37, n. 3, p. 681-689, 2003.
- REBOUÇAS C. C.; ZANCHETA, P, G.; SANTOS, T. O.; GONCALVES, R. F. Concentração de nutrientes na urina humana através de congelamento objetivando o aproveitamento para fins produtivos na agricultura. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 24, 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, v. 2, p. 110-111, 2007.
- REBOUÇAS, C. C. **Caracterização e Tratamento da Urina Humana Visando a Utilização de Nutrientes na Agricultura**. 2009. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso de

Química) – Curso de graduação em Química da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2009.

REDDY, B. V.; KUMAR, A. P.; REDDY, G. V. R.; SAHAI, M.; SREERAMULU, J.; PARK, J. H. Stability Indicating Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography Method for Determination of Impurities in Ofloxacin Tablet Formulation. **Analytical Letters**, v. 43, p. 2653-2662, 2010.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Quím. Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIOS, E. C. S. V. **Uso de águas amarelas como fonte alternativa de nutriente em cultivo hidropônico da alface (*lactuca sativa*)**. 2008. 85 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Curso de Pós graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2008.

RONTELTAP, M. **Urine treatment, reuse and diversion component technology review**. Literature Overview_Topico 5. 2011.

RONTELTAP, M.; MAURER, M.; GUJER, W. The behaviour of pharmaceuticals and heavy metals during struvite precipitation in urine. **Water Research**, v. 41, n. 9, p. 1859-1868, 2007.

SAMANIDOU, V. F.; CHRISTODOULOU, E. A.; PAPADOYANNIS, I. N. Determination of fluoroquinolones in edible animal tissue samples by high performance liquid chromatography after solid phase extraction. **Journal of Separation Science**, v. 28, n. 6, p. 555-565, 2005.

SAMPAIO, M. **Fertilizantes no Brasil**. Folha da região. 01/04/2008. Disponível em: <<http://www.folhadaregiao.com.br>>. Acesso em: 10 dez. 2008.

SAMWEL, M. et al. **Dry urine diverting school toilets**. Gozhuli, Ucrânia, 2007.

SANTOS, J. H. Z.; PIZZOLATO, T. M.; CUNHA, A. C. B. Desenvolvimento de metodologia analítica para quantificação de fármacos em meio aquático por extração em fase sólida e HPLC. **Revista de ciências ambientais**, v. 1, n. 2, p. 19-34, 2007.

SANTOS, L. H.; ARAÚJO, A.N.; FACHINI, A.; PENA, A.; DELERUE-MATOS, C.; MONTENEGRO, M. C. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. **J. Hazard. Mater.**, v. 175, n. 1-3, p. 45-95, 2010.

SASSE, A. **Sanitation Concepts for Separate Treatment of Urine, Faeces and Greywater**. Task 8, Fertilizer usage. Berlin, 2005.

SATEESHA, S. B.; RAJAMMA, A. J. SHEKAR, H. S. MOHAMED, R. K. M.; JAYANTHI A. Formulation and stability study of palatable norfloxacin dry syrup: comparison among different preparation methods. **Palatable norfloxacin dry syrup/Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 2, p. 57-66, 2010.

SCHLÜTER, A.; SZCZEPANOWSKI, R.; KURZ, N.; SCHNEIKER, S.; KRAHN, I.; PÜHLER, A. Erythromycin resistance-conferring plasmid pRSB105, isolated from a sewage treatment plant, harbors a new macrolide resistance determinant, an integron-containing Tn402-like element, and a large region of unknown function. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 73, n. 6, p. 1952-1960, 2007.

SCHNEIDER, M. J.; DONOGHUE, D. J. Multiresidue analysis of fluoroquinolone antibiotics in chicken tissue using liquid chromatography-fluorescence-multiple mass spectrometry. **J. Chromatogr. B.**, v. 780, n. 1, p. 83-92, 2002.

SCHÖNNING, C.; STENSTRÖM, T. A. **Guidelines for the Safe Use of Urine and Feces in Ecological Sanitation Systems**. EcoSanRes Report 2004–1, SEI- Instituto Ambiental de Estocolmo, Estocolmo, Suécia. Disponível em: <www.ecosanres.org. 2004>. Acesso em: 12 mai. 2010.

SCHULTZ, M. M.; FURLONG, E. T. Trace Analysis of Antidepressant Pharmaceuticals and Their Select Degradates in Aquatic Matrixes by LC/ESI/MS/MS. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 5, p. 1756-1762, 2008.

SCHÜRMAN, B.; EVERDING, W.; MONTAG, D.; PINNEKAMP, J. Fate of pharmaceuticals and bacteria in stored urine during precipitation and drying of struvite. **Water Science & Technology**, v. 65, n. 10, p. 1774-1780, 2012.

SEIFRTOVÁ, M.; NOVÁKOVÁ, L.; LINO, C. M.; PENA, A.; SOLICH, P. An overview of analytical methodologies for determination of antibiotics in environmental waters. **Anal. Chim. Acta.**, v. 649, n. 2, p. 158-179, 2009.

SEIFRTOVÁ, M.; PENA, A.; LINO, C. M.; SOLICH, P. Determination of fluoroquinolone antibiotics in hospital and municipal wastewaters in coimbra by liquid chromatography with a monolithic column and fluorescence detection. **Anal Bioanal Chem.**, v. 391, n. 3, p. 799-805, 2008.

SHARMA, P. C.; ALAWADHI, N.; ARCHANA, S.; PAHWA, R.; RAJAK, H. Fluoroquinolones in urinary tract infections: A study on perception analysis of prescribers. **Der Chemica Sinica**, v.1, n. 3, p. 84-90, 2010.

SHERVINGTON, L.A.; ABBA, M.; HUSSAIN, B.; DONNELLY, J. The simultaneous separation and determination of five quinolone antibiotics using isocratic reversed-phase HPLC: Application to stability studies on an ofloxacin tablet formulation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, n. 3-4, p. 769–775, 2005.

SILVA, J. M. B.; HOLLENBACH, C. B. Fluoroquinolonas x Resistência Bacteriana na Medicina Veterinária. **Arq. Inst. Biol.**, v. 77, n. 2, p. 363-369, 2010.

SILVA P., **Farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010, 1352 p.

SILVA, C. H. P. M.; LINS, A. P.; MARTINS SOUZA, D. R.; CRUZ, C. S. O. Desenvolvimento e Utilização de Conservante Químico em Amostras de Urina para Análises Microbiológicas (Urocultura) e Rotina (E.A.S.). **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 37, n. 3, p. 137-147, 2005.

SIMÕES, M. J. S.; FARACHE FILHO, A. Consumo de medicamentos em região do Estado de São Paulo (Brasil), **Rev. Saúde Pública**, v. 22, n. 6, p. 494-499, 1988.

SOARES, C. **Tratamento de água unifamiliar através da destilação solar natural utilizando água salgada, salobra e doce contaminada**. 2004. 110 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

SONNENSCHNEIN, C.; SOTO, A. M. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. **J Steroid Biochem Mol Biol.**, v. 65, n. 1-6, p. 143-150, 1998.

- SOUSA, I. C. S. C. **Interação da Enrofloxacin com modelos biomembranares: influência das suas propriedades físico-químicas**. 2007. 107 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia, Ciência e Segurança Alimentar) - Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto, 2007.
- SOUSA, J. C. **Manual de antibióticos antibacterianos**. 2. ed. Porto: Universidade Fernando Pessoa, 2005.
- SOUSA, J. T.; HENRIQUE, I. N.; LOPES, W. S.; LEITE, V. D. Gerenciamento sustentável de água residuária doméstica. **Revista Saúde e Ambiente/Health and Environmental Journal**, v. 9, n. 1, p. 38-46, 2008.
- SOUSA, J.; ALVES, G.; FORTUNA, A.; PENA, A.; LINO, C.; FALCÃO, A. Development and validation of a fast isocratic liquid chromatography method for the simultaneous determination of norfloxacin, lomefloxacin and ciprofloxacin in human plasma. **Biomed. Chromatogr.**, v. 25, n. 5, p. 535-541, 2010.
- SOUSA, R. V.; SANTANA, M. A. **Farmacologia Geral**. Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” Especialização: Farmacologia – Atualização e Novas Perspectivas. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000.
- STOWA, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer. **Separate urine collection and treatment**. Options for sustainable wastewater systems and mineral recovery. STOWA report, 2001.
- STRATFUL, I.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J. N. Conditions influencing the precipitation of Magnesium ammonium phosphate. **Water Research**, v. 35, n. 17, p. 4191-4199, 2001.
- SUZUKI, K.; TANAKA, Y.; OSADA, T.; WAKI, M. Removal of phosphate, magnesium and calcium from swine wastewater through crystallization enhanced by aeration. **Water Research**, v. 36, n. 12, p. 2991-2998, 2002.
- SWEETMAN, S. **Martindale: The complete drug reference**. 37. ed. Grayslake: The Pharmaceutical Press. 123 p. 2011.
- TAPIERO, H.; BA, G. N.; TEW, K. D. Estrogens and environmental estrogens. **Biomed Pharmacother**, v. 56, n. 1, p. 36-44, 2002.
- TETTENBORN, F.; BEHRENDT, J.; OTTERPOHL, R. **Resource recovery and removal of pharmaceutical residues** – Treatment of separate collected urine. Instituto e Gestão de Águas Residuárias e Proteção da Água, Universidade de Tecnologia de Hamburg-Harburg - TUHH, 2007. 119 p.
- THANH, P. N.; ANH, T. L.; VAN, N.D.; CUHLS, C.; CLEMENS, J. **Urine separation and urine concentration to produce a mineral fertilizer**. Sanced – Closing Nutrient Cycles In Decentralised Water Treatment Systems In The Mekong Delta. 2001. Disponível em: <http://www.sanced.uni-bonn.de/Poster%20Tropentag/Sanced_Achim_DTT2006.pdf>. Acesso em: 21 jul. 2010.
- TILLEY, E.; LÜTHI, C.; MOREL, A.; ZURBRÜGG, C.; SCHERTENLEIB, R. **Compendium of Sanitation Systems and Technologies**. Disponível em: <http://www.eawag.ch/organisation/abteilungen/sandec/publikationen/compendium_e/index_EN>. Acesso em: 12 ago. 2008.

TURIEL, E.; MÁRTIN-ESTEBAN, A.; BORDIN, G.; RODRÍGUEZ, A. R. Stability of fluoroquinolone antibiotics in river water samples and in octadecyl silica solid-phase extraction cartridges. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 380, n. 1, p. 123-128, 2004.

UDERT, K. M. **The Fate of Nitrogen and Phosphorous in Source-Separated Urine**. 2002. 132 p. Tese (Doutorado em Ciências Técnicas) - Instituto Federal Suíço de Tecnologia de Zurique, Zurique, 2002.

UDERT, K. M., WACHTER, M.; Complete nutrient recovery from source-separated urine by nitrification and distillation. **Water Research**, v. 46, n. 2, p. 453-464, 2012.

UDERT, K. M.; LARSEN, T. A.; GUJER, W. Estimating the precipitation potential in urine-collecting systems. **Water Research**, v. 37, n. 11, p. 2667-2677, 2003.

UDERT, K. M.; LARSEN, T. A.; GUJER, W. Fate of major compounds in source-separated urine. **Water Science and Technology**, v. 54, n. 11-12, p. 413-420, 2006.

UDERT, K.M.; FUX, C., MÜNSTER, M.; LARSEN, T.A.; SIEGRIST, H.; GUJER, W. Nitrification and autotrophic denitrification of source-separated urine. **Water Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 119-130, 2003.

VAN DEN BOOGAARD, J.; SEMVUA, H.H.; BOEREE M. J.; AARNOUTSE, R. E.; KIBIKI, G. S. Sale of fluoroquinolones in northern Tanzania: a potential threat for fluoroquinolone use in tuberculosis treatment. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 65. n. 1, p. 145-147, 2010.

VAZQUEZ-ROIG, P.; ANDREU, V.; BLASCO, C.; PICÓ, Y. SPE and LC-MS/MS determination of 14 illicit drugs in surface waters from the Natural Park of L'Albufera (València, Spain). **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 397, n. 7, p. 2851-2864, 2010.

VELO, G.; MORETTI, U. Ecopharmacovigilance for better health. **Drug Safety**, v. 33, n. 11, p. 963-968, 2010.

VINNERÅS, B. **Possibilities for Sustainable Nutrient Recycling by faecal Separation Combined with Urine Diversion**. 2002. 88 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola de Uppsala. Universidade Sueca de Ciências Agrárias, 2002.

VON WOLFFERSDORFF, S.; WRIEGE-BECHTOLD, A.; BARJENBRUCH, M.; ECKSTÄDT, H. **Untersuchungen zu Sortier Toiletten unter Berücksichtigung der Urinverwertung**. Universidade de Rostock, 2004.

VYBÍRALOVÁ, Z.; NOBILIS, M.; ZOULOVA, J.; KVETINA, J.; PETR, P. High-performance liquid chromatographic determination of ciprofloxacin in plasma samples. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 37, n. 5, p. 851-858, 2005.

WERNER, C.; FALL, P. A.; SCHLICK, J.; MANG, H. P. Reasons for and principles of ecological sanitation. In: Simpósio Internacional sobre Saneamento Ecológico, 2, 2003, Lübeck. **Anais...** Lübeck, Alemanha: IWA/GTZ, 2003, p. 23-30.

WHO, World Health Organization. **Guidelines for the Safe Use of Wastewater, Excreta and Greywater**. Volume IV – Excreta and Greywater Use in Agriculture. 2006. Disponível em: <http://www.who.int/water_sanitation_health/wastewater/gsuweg4/en/index.html>. Acesso em: 5 jul. 2012.

WILSENACH, J.; LOOSDRECHT, M. Van. Impact of separate urine collection on wastewater treatment systems. **Water Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 103-110, 2003.

WINKER, M.; GULYAS, H.; OTTERPOHL, R. Fertilization of rye grass with carbamazepine, ibuprofen, and 17 α - ethinylestradiol spiked urine – a greenhouse experiment. In: SWITCH Scientific Meeting, 3, 2008, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte, Brasil, 2008.

WOLGAST, M. **Rena vatten - om tankar I kretslopp**. Uppsala, Suécia: Creamon HB, 1993. 186 p.

XU, W.; ZHANG, G.; LI, X.; ZOU, S.; LI, P.; HU, Z.; LI, J. Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl River Delta (PRD), South China. **Water Research**, v. 41, n. 19, p. 4526–4534, 2007.

ZANCHETA, P. G. **Recuperação e tratamento da urina humana para uso agrícola**. 2007. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2007.

ZANCHETA, P. G.; GONÇALVES, R. F.; PENA, A. Desenvolvimento e validação de método para quantificação simultânea de ofloxacina, norfloxacina e ciprofloxacina em urina humana. **Submetido a Química Nova** (566/12), 2012a.

ZANCHETA, P. G.; PENA, A.; GONÇALVES, R. F. Comportamento de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana durante tratamento para reciclagem de nutrientes via estocagem ácida. **A ser submetido à Revista Biosource Technology**, 2012b.

ZANCHETA, P. G.; PENA, A.; GONÇALVES, R. F. Comportamento do nitrogênio e de antibióticos da classe das fluoroquinolonas na urina humana submetida a evaporação para redução de volume. **A ser submetido à Revista Biosource Technology**, 2012c.

ZANCHETA, P. G.; RAMOS, R.; GONÇALVES, R. F. Proposta de Parâmetros de Avaliação da Evaporação de Urina Humana por Energia Solar. **A ser submetido à Revista Desalination**, 2012d.

ZHANG, J.; LI, Z.; GE, G.; SUN, W.; LIANG, Y.; WU, L. Impacts of soil organic matter, pH and exogenous copper on sorption behavior of norfloxacin in three soils. **J. Environ. Sci.**, v.21, n. 5, p. 632-640, 2009.

ZHANG, Z.; ZHANG, C.; SU, X.; MA, M.; CHEN, B.; YAO, S. Carrier-mediated liquid phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography for determination of illicit drugs in human urine. **Analytica Chimica Acta**, v. 621, n. 2, p. 185–192, 2008.

ZHAO, A. J.; JIANG, H. Y.; DING, S. Y.; LI, X.L.; WANG, G. Q.; LI, C.; SHEN, J. Z. A reliable LC method with fluorescence detection for quantification of (fluoro)quinolone residues in chicken muscle. **Chromatographia**, v. 65, n. 9-10, p. 539-544, 2007.

8. APÊNDICES

8. APÊNDICES

APÊNDICE A – CARACTERIZAÇÃO DOS DIAS DE EXECUÇÃO DURANTE A REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS DE EVAPORAÇÃO

Para melhor caracterização dos dias de execução dos experimentos foram elaborados os gráficos apresentados a seguir sobre a temperatura, velocidade do vento e radiação do período de evaporação com o Evaporador de Bandeja no outono (maio e junho de 2009), primavera (outubro de 2009) e para os dias semelhantes para o Concentrador Solar Parabólico (2010), com os dados fornecidos pelo site do INMET (INMET, 2012), para a estação meteorológica automática A612, localizada na Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Universitário de Goiabeiras, latitude 20°19'09', longitude 40°20'50'.

E ainda para um melhor acompanhamento e comparações futuras, também estão apresentadas as curvas de interpolação dos dados médios diários de cada propriedade.

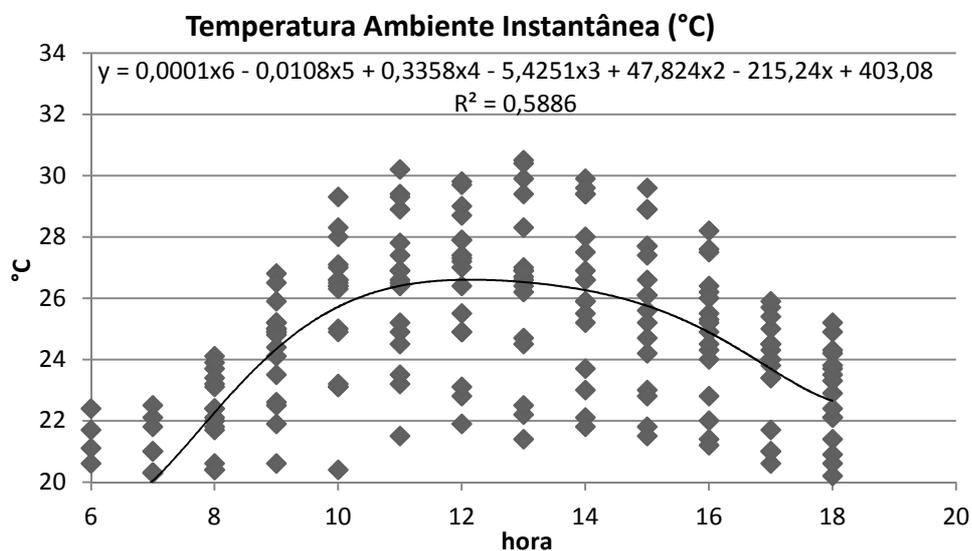


Figura A-1 – Temperatura nos dias de execução da evaporação no Evaporador de Bandeja no Outono.

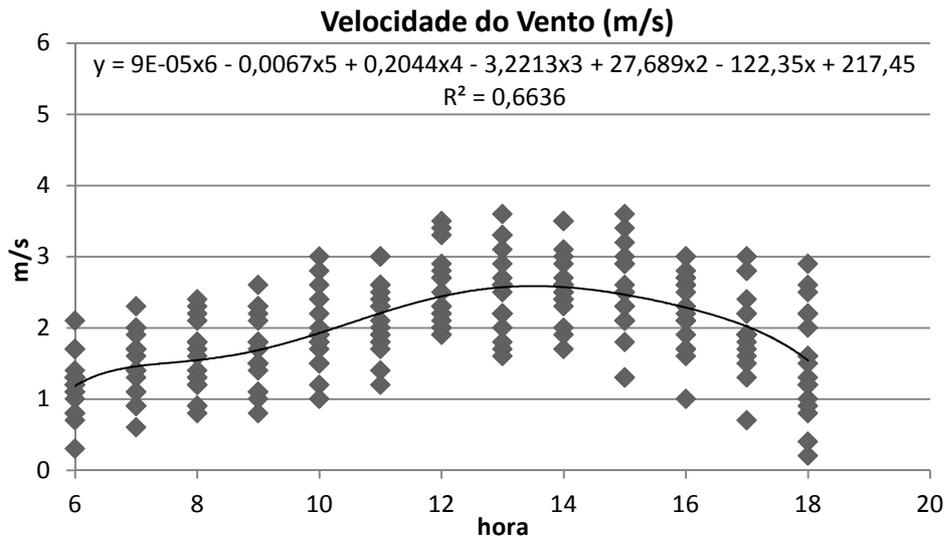


Figura A-2 – Velocidade do Vento nos dias de execução da evaporação no Evaporador de Bandeja no Outono.

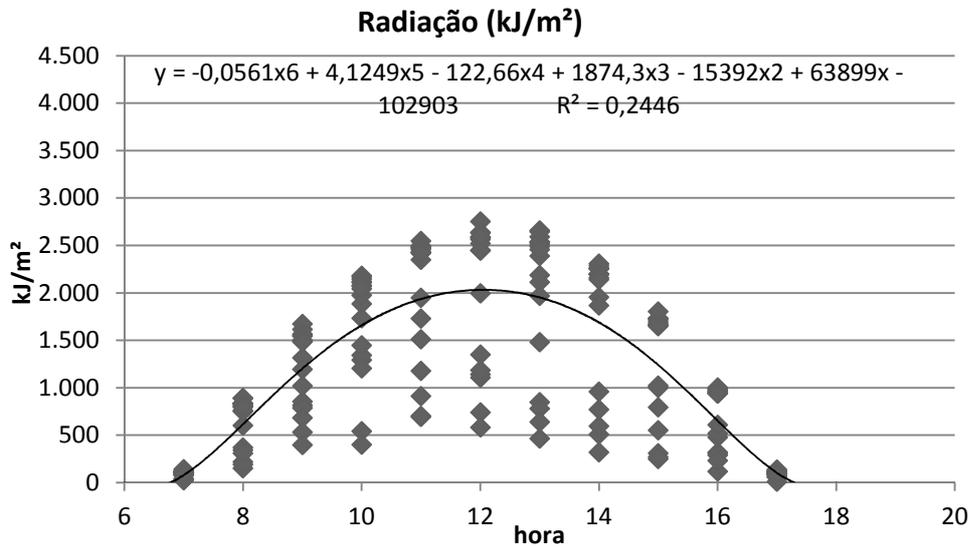


Figura A-3 – Radiação nos dias de execução da evaporação no Evaporador de Bandeja no Outono.

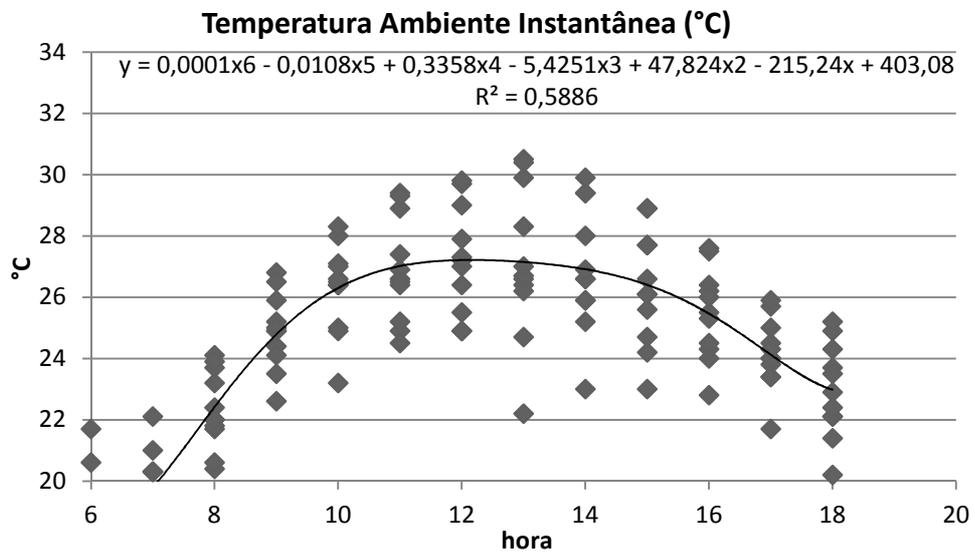


Figura A-4 – Temperatura nos dias de execução da evaporação no Evaporador de Bandeja na Primavera.

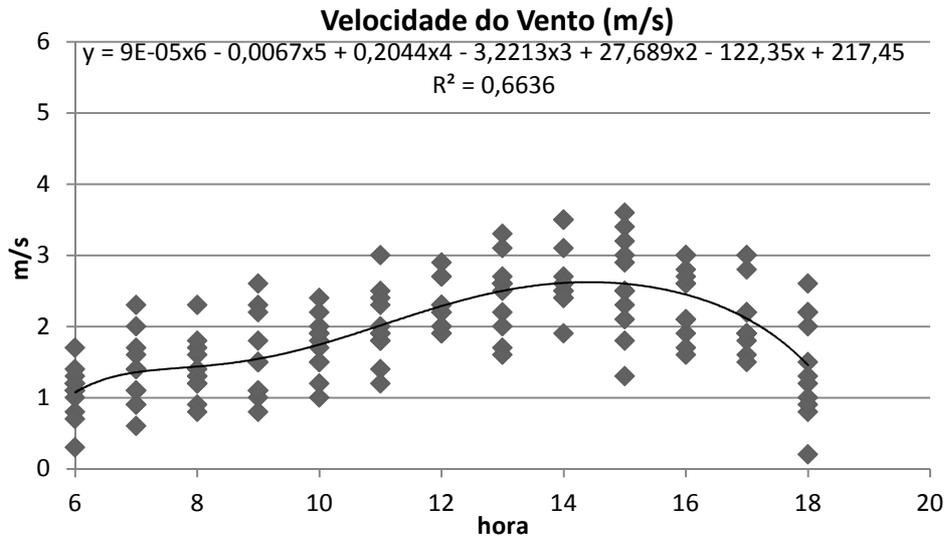


Figura A-5 – Velocidade do Vento nos dias de execução da evaporação no Evaporador de Bandeja na Primavera.

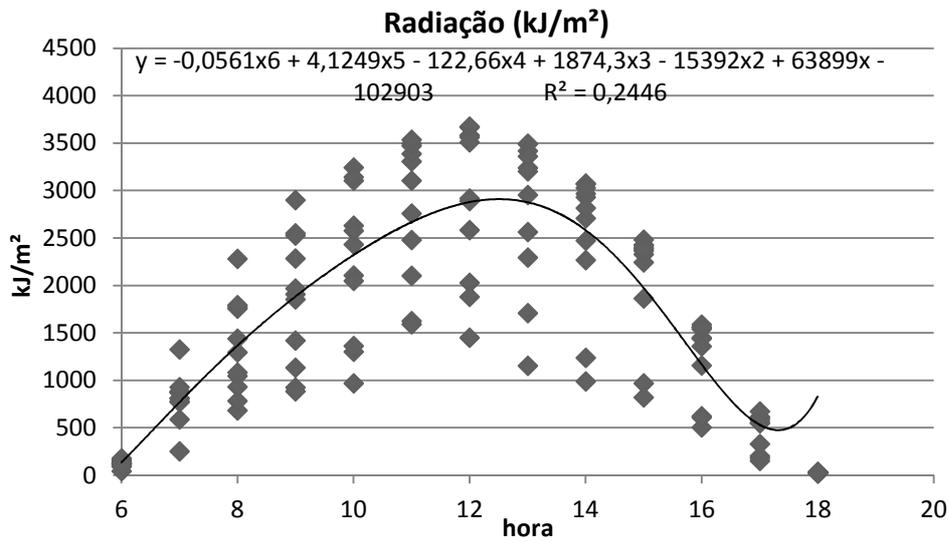


Figura A-6 – Radiação nos dias de execução da evaporação no Evaporador de Bandeja na Primavera.

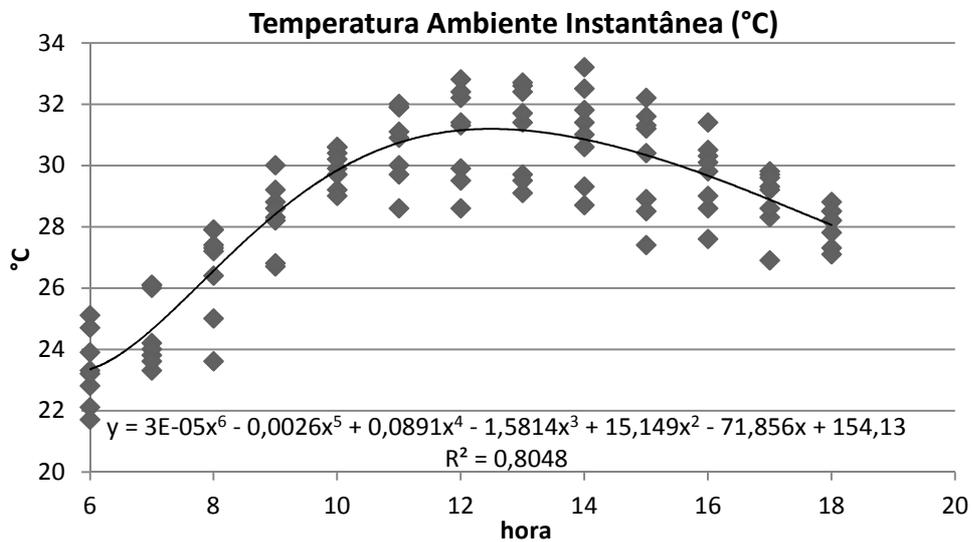


Figura A-7 – Temperatura nos dias semelhantes da evaporação no Concentrador Solar Parabólico.

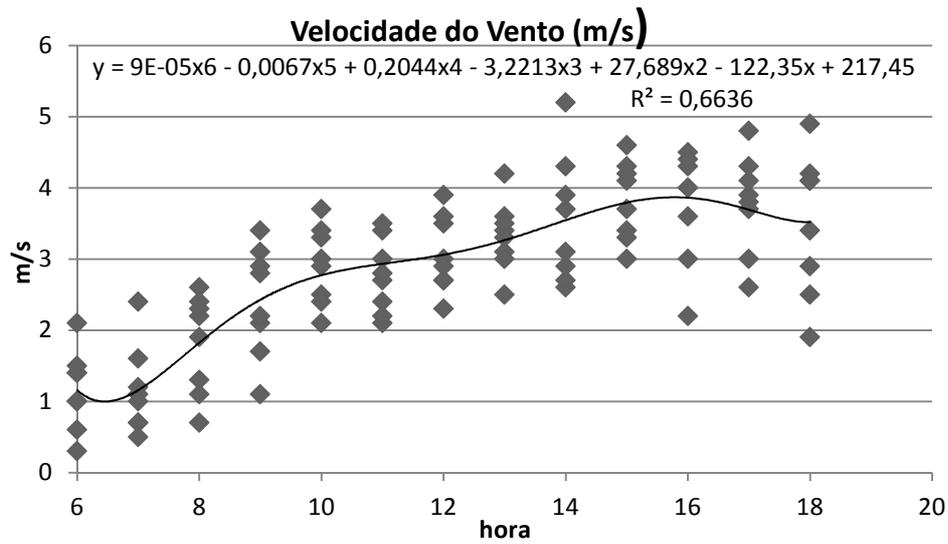


Figura A-8 – Velocidade do Vento nos dias semelhantes da evaporação no Concentrador Solar Parabólico.

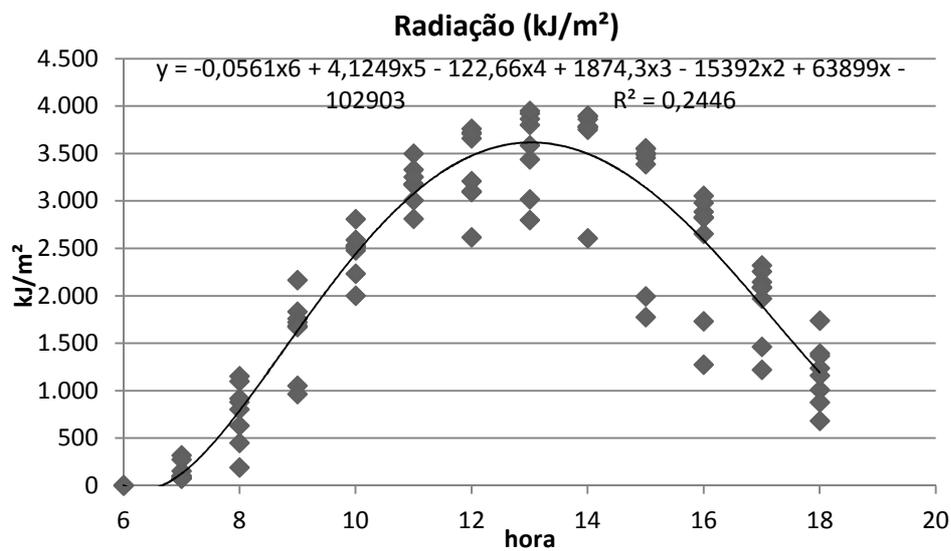


Figura A-9– Radiação nos dias semelhantes da evaporação no Concentrador Solar Parabólico.

9. ANEXOS

9. ANEXOS

ANEXO A - METODOLOGIA DAS ANÁLISES DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICO

Parâmetro	Métodos	Referência
pH	Método Eletrométrico	STANDARD METHODS 4500 H+ B, 2005
Condutividade Elétrica	Método Condutivimétrico	STANDARD METHODS 2510 B, 2005
Cloreto	Método Argentométrico	STANDARD METHODS 4500-H+ B, 2005
NTK e N-NH ₃	Método Semi-Micro Kjeldahl	STANDARD METHODS 4500 C, 2005
Sulfato	Método Turbidimétrico	STANDARD METHODS 4500 SO ₄ , 2005
<i>E. coli</i>	Método do Substrato Cromofluorogênico	STANDARD METHODS 9223A, 2005
P _{total}	Método do Acido ascórbico pela oxidação em meio ácido	STANDARD METHODS 4500 P, 2005
Ortofosfato	Método do Acido ascórbico pela oxidação em meio ácido	STANDARD METHODS 4500 P, 2005
Potássio	Método de Fotometria de chama	STANDARD METHODS 3500-K D, 2005
Sólidos Totais (ST)	Método Gravimétrico	STANDARD METHODS 2540 B, 2005