

II-131 - INFLUÊNCIA DO FERRO E DO SULFATO NA BIODEGRADABILIDADE DO PARACETAMOL EM MEIO ANAERÓBIO

Andrezza e Silva Melo ⁽¹⁾

Graduada em Química-Lic. pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental da UFPE.

Caroline Isabele Nepomuceno ⁽²⁾

Graduanda do Curso de Bacharelado em Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Estagiária do Laboratório de Engenharia Ambiental do Centro Acadêmico do Agreste da UFPE.

Luiza Feitosa Cordeiro de Souza ⁽³⁾

Farmacêutica pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestre em Tecnologia Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da UFPE. Doutora em Tecnologia Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da UFPE. Professora da Associação Caruaruense de Ensino Superior (ASCES-UNITA).

Kenia Kelly Barros da Silva ⁽⁴⁾

Engenheira Civil pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestre em Tecnologia Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da UFPE. Doutora em Tecnologia Ambiental pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da UFPE. Professora do Centro Acadêmico do Agreste da UFPE.

Endereço⁽¹⁾: Rua Josefa Celina de Holanda, 205 - Rendeiras - Caruaru - PE - CEP: 55022-430 - Brasil - Tel: (81) 3136-0809 - e-mail: asm.ufpe@gmail.com

RESUMO

Apesar da importância que os fármacos têm para os seres humanos na restauração da sua saúde, o potencial de contaminação destes produtos pode tornar-se uma ameaça para esses e para o meio ambiente. O paracetamol, por exemplo, é um medicamento amplamente utilizado no Brasil e no mundo por suas propriedades analgésica e antitérmica, e vem sendo um dos principais micropoluentes encontrados nos efluentes das estações de tratamento. Diante deste cenário, este trabalho objetivou estudar a influência do Fe e do SO_4^{2-} na biodegradabilidade do paracetamol em meio anaeróbico. O experimento foi realizado no Laboratório de Engenharia Ambiental (LEA), localizado no Campus Agreste da Universidade Federal de Pernambuco, em Caruaru – PE, e consistiu na montagem em duplicata, com ponto central em triplicata, de 19 reatores em frascos de penicilina com volume útil de 92 mL. Os reatores foram inoculados com lodo anaeróbico e a esses foram adicionadas uma solução de paracetamol, com concentração final de 0,2 mg.L⁻¹; e uma solução de contendo macro e micronutrientes. Como fontes de Fe e do SO_4^{2-} , foram adicionadas soluções de Na_2SO_4 anidro e de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ a diferentes concentrações e sob pH de 6,0 – 8,0. Os reatores inoculados foram mantidos em sala climatizada durante 30 dias, a uma temperatura média de $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Ao fim do experimento, observou-se que os valores médios de pH final foram $5,9 \pm 0,2$ para todos os reatores, o que indicou o favorecimento de bactérias da fase ácida. A melhor eficiência de remoção de paracetamol obtida foi de 87%, atingida para as condições iniciais de 100 mg Fe.L⁻¹, 200 mg SO_4^{2-} .L⁻¹ e pH igual a 8,0. Concluiu-se que a biodegradabilidade do paracetamol foi favorecida pela presença de Fe, uma vez que o SO_4^{2-} adicionado pode ter sido inativado, quando possivelmente foi reduzido a sulfeto de ferro (Fe_2SO_4), através da ligação do sulfato ao Fe (II) presente na solução de inóculo. Acredita-se que o Fe enquanto doador de elétrons pode ter estimulado a atividade microbiana do lodo anaeróbico e então acelerado a hidrólise e a fermentação do paracetamol, visto que esta condição foi potencializada para as condições de concentração máxima (100 mg.L⁻¹), visto que os maiores valores de remoção (78% e 87%) foram obtidos justamente nesta condição.

PALAVRAS-CHAVE: Biodegradabilidade, Paracetamol, Digestão anaeróbia, Ferro, Sulfato.

INTRODUÇÃO

Apesar de serem imprescindíveis ao tratamento de diversas enfermidades que acometem principalmente os humanos, os fármacos têm gerado preocupação quanto ao seu potencial de contaminação, que compromete seriamente a integridade do meio ambiente e, conseqüentemente, a dos seres vivos que nele habitam.

Considerados pela comunidade científica como um dos poluentes emergentes da atualidade, esses compostos são encontrados principalmente no meio aquático em concentrações ínfimas, na ordem de ng.L^{-1} a $\mu\text{g.L}^{-1}$. Entretanto, essas quantidades são suficientes para causar problemas como, por exemplo, o desenvolvimento de patógenos resistentes, a desregulação endócrina e a bioacumulação em seres aquáticos (REIS FILHO, LUVIZOTTO-SANTOS & VIEIRA, 2007; GEISSEN *et al.*, 2015; BISOGNIN, WOLFF & CARISSIMI, 2018).

Micropoluentes emergentes atingem as redes coletoras de esgotos geralmente por meio do lançamento de águas cinzas, derivadas dos chuveiros, lavatórios e lavanderias; de águas negras, que podem conter medicamentos e hormônios naturais não metabolizados; e do descarte nas instalações sanitárias domésticas e industriais de medicamentos não utilizados ou vencidos e de rejeitos farmacologicamente ativos. No entanto, em função do custo elevado de implantação e operação de tratamentos analíticos mais sofisticados, muitas estações de tratamentos de esgotos sanitários (ETE) são projetadas apenas para reduzir as cargas de poluentes orgânicos e, ocasionalmente, patógenos e nutrientes (AQUINO, BRANDT & CHERNICHARO, 2013). Logo, bem como outros micropoluentes, os fármacos continuam presentes nos esgotos mesmo após seu tratamento, podendo apresentar características ecotoxicológicas, de persistência e de toxicidade iguais ou superiores aos compostos precursores despejados no esgoto bruto, uma vez que os fármacos podem ser rapidamente transformados ou conjugados a outras moléculas presentes no meio em que serão inseridos (GROSSELI, 2016).

Dentre o grupo de poluentes emergentes, merece destaque o acetaminofeno, mais conhecido como paracetamol. O acetaminofeno é um composto com propriedades analgésica e antitérmica, indicado para a redução da febre e o alívio de dores moderadas (dores associadas a resfriados comuns, dores musculares e dores de cabeça). Sua estrutura molecular complexa (Figura 1) inclui alguns grupos funcionais que podem ser dificilmente biodegradáveis em meio anaeróbico, como os anéis benzênicos e as amidas.

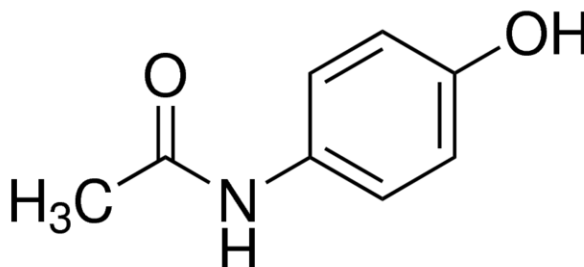


Figura 1: Estrutura molecular do acetaminofeno (paracetamol). Fonte: SIGMA-ALDRICH (2018).

Kleywegt *et al.* (2016) identificaram a presença de 141 compostos farmacêuticos nos esgotos de dois hospitais em Ontário (Canadá) e, dentre eles, o paracetamol teve a maior concentração encontrada ($593 \mu\text{g.L}^{-1}$). Kosma *et al.* (2014) avaliaram a presença de contaminantes emergentes no esgoto bruto de oito ETE da Grécia, e encontraram uma concentração de $8,3 \mu\text{g.L}^{-1}$ de paracetamol. Rosal *et al.* (2010) constataram a presença de paracetamol no esgoto bruto de uma ETE espanhola, em concentrações superiores a $20 \mu\text{g.L}^{-1}$. Esse cenário nos dá uma ideia da disponibilidade desse fármaco em efluentes e do seu potencial de acúmulo nos resíduos de ETE.

Quanto à eficiência de remoção de compostos farmacêuticos dos processos convencionais, Zwiener e Frimmel (2003) avaliaram a remoção de ibuprofeno e diclofenaco de potássio promovida por reatores aeróbios e anaeróbios em uma ETE piloto, e concluíram que ambos os tratamentos reduziram as concentrações iniciais destes fármacos, e que o tratamento anaeróbico alcançou porcentagens de remoção entre 60-80%. Em contrapartida, Lajeunesse *et al.* (2012) reportaram resultados diferentes em ETE do Canadá que contavam com cinco tratamentos biológicos distintos. Nessa pesquisa, dos quinze fármacos identificados nos afluentes, treze deles ainda se faziam presentes nos efluentes tratados. Esses resultados evidenciaram que a capacidade de remoção dos compostos farmacêuticos estudados foi moderada.

Santos (2014) afirma que a ineficiência dos processos de tratamentos biológicos em remover fármacos pode ser explicada por se tratar, em sua maioria, de compostos orgânicos quimicamente estáveis e recalcitrantes, tais como os antibióticos, por exemplo. Por outro lado, as altas taxas de remoção também obtidas em reatores biológicos podem ser justificadas pela sorção e/ou sedimentação desses compostos no lodo. Deste modo, há apenas a mudança de fase desses compostos, e não a remoção total, o que os tornam ainda disponíveis no meio e potencialmente perigosos ao meio ambiente, em si tratando do descarte desse lodo no meio ambiente. Portanto, nota-se que o uso de tratamentos convencionais (especialmente o tratamento anaeróbico) para remoção de fármacos é possível, mas é necessário que haja alguma complementação com o objetivo de remover especificamente tais componentes.

De acordo com Romero-Güiza *et al.* (2016, p. 1487), vários estudos apontam que o fornecimento de certas concentrações de micro e macronutrientes em reatores anaeróbios são capazes de estimular ou inibir a produção de metano e promover estabilidade às condições do meio. Macronutrientes como P, N e S, por exemplo, podem participar tanto como constituintes da biomassa, quanto podem atuar como tampões durante a digestão anaeróbia. Concentrações acima de $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$ de Fe podem estimular igualmente a digestão anaeróbia de um reator. Diante disso, este trabalho buscou fazer uso destas informações para elaborar um experimento direcionado à remoção do paracetamol via digestão anaeróbia.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Engenharia Ambiental (LEA), este localizado no Campus Agreste da Universidade Federal de Pernambuco, em Caruaru – PE. O experimento foi montado em duplicata, com ponto central em triplicata, totalizando 19 reatores. Os reatores foram montados em frascos de penicilina, com volume total de 102 mL e volume útil de 92 mL (Figura 2).

Na montagem do experimento, foram adicionados aos reatores 12,3 mL da solução de paracetamol, com concentração final de $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$, seguidos de 18,4 mL da solução de nutrientes (20% do volume útil) e 1,8 g de lodo anaeróbio ($2,0 \text{ g SSV.L}^{-1}$), este proveniente de uma estação de tratamento de água residuária de cervejaria.

O preparo da solução de nutrientes foi realizado de acordo com o procedimento descrito em Florencio (1994). Sua composição continha macronutrientes, 1 mL de uma solução de micronutrientes, proteínas, lipídios e carboidratos. A concentração do fármaco escolhida foi baseada na quantidade de paracetamol detectada previamente por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) no esgoto real (bruto) do município de Caruaru – PE.



Figura 2: Esquema real dos reatores montados. Fonte: Própria (2017).

Quanto ao lodo anaeróbio, antes do início do experimento, o mesmo passou por um processo de aclimação para aumentar a atividade da biomassa nas condições de inoculação. Para tal, foram adicionadas soluções de ácidos orgânicos voláteis (AOV), composta por uma mistura de ácidos acético, propiônico e butírico (1:1:1), e de nutrientes. Após a adição dessas soluções, a biomassa foi mantida em sala climatizada, com temperatura controlada a $30 \pm 2^\circ\text{C}$, durante 48 horas.

Como fonte de Fe e de SO_4^{2-} , foram adicionadas aos reatores soluções de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e de cloreto ferroso tetraidratado ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) a diferentes concentrações e sob diferentes valores de pH (6,0 – 8,0), como descrito na Tabela 1:

Tabela 1: Composição dos reatores.

REATOR	CONCENTRAÇÃO Fe (mg.L^{-1})	CONCENTRAÇÃO SO_4^{2-} (mg.L^{-1})	pH	Nº DE FRASCOS
R1	50	200	6.0	2
R2	50	400	6.0	2
R3	50	200	8.0	2
R4	50	400	8.0	2
R5	100	200	6.0	2
R6	100	400	6.0	2
R7	100	200	8.0	2
R8	100	400	8.0	2
R9	75	300	7.0	3
Total de frascos				19

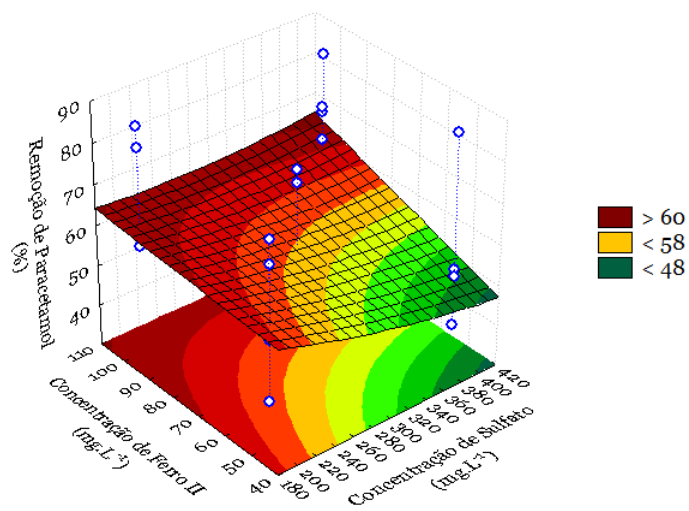
Após a montagem, os reatores foram tampados com rolhas de silicone, lacrados e perfurados com agulha de seringa de 5,0 mL, para possibilitar o escape do biogás gerado para o meio externo. Os reatores foram mantidos em sala climatizada durante 30 dias, a uma temperatura média de $30 \pm 2^\circ\text{C}$. A concentração inicial de sólidos suspensos voláteis (SSV) do lodo anaeróbico industrial foi de $7,3 \pm 0,2 \text{ g SSV.L}^{-1}$.

Os parâmetros utilizados para analisar a influência do SO_4^{2-} e do Fe na biodegradabilidade do paracetamol foram, no início e ao final do experimento, o pH (método Potenciométrico, APHA, 2005); e apenas ao final do experimento, ferro férrico (método colorimétrico, ABNT 1997), sulfato (método Cromatográfico de íons, APHA, 2005) e paracetamol (método Cromatográfico/ HPLC, APHA, 2005).

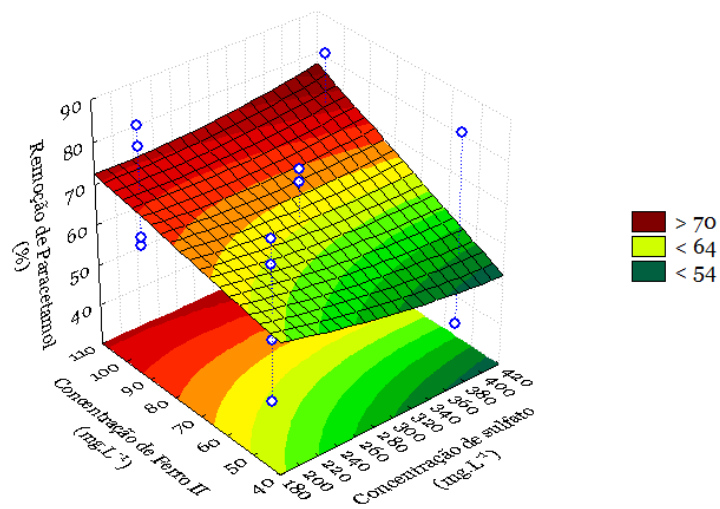
Na identificação do paracetamol, a metodologia original foi adaptada para melhor atender às características físico-químicas das amostras a serem avaliadas. Inicialmente, as amostras foram filtradas em filtro para seringa de celulose regenerada de $0,45\mu\text{m}$ e transferidas para um *vial* de 2 mL, modelo LC-20AT. Injetou-se $100\mu\text{L}$ de cada analito em uma coluna de HPLC (C 18 4.6 x 250 mm $5\mu\text{m}$), com fluxo de 1mL/min e temperatura do forno de 40°C . As soluções eluentes utilizadas foram de acetonitrila grau HPLC (solução A) e tampão fosfato (H_3PO_4 e Na_2HPO_4 mM, pH 2,5) (solução B) na proporção de 10:90 (%), respectivamente. A corrida foi de 6 minutos de duração para cada, e a leitura das amostras se deu no comprimento de onda de 248 nm.

RESULTADOS OBTIDOS

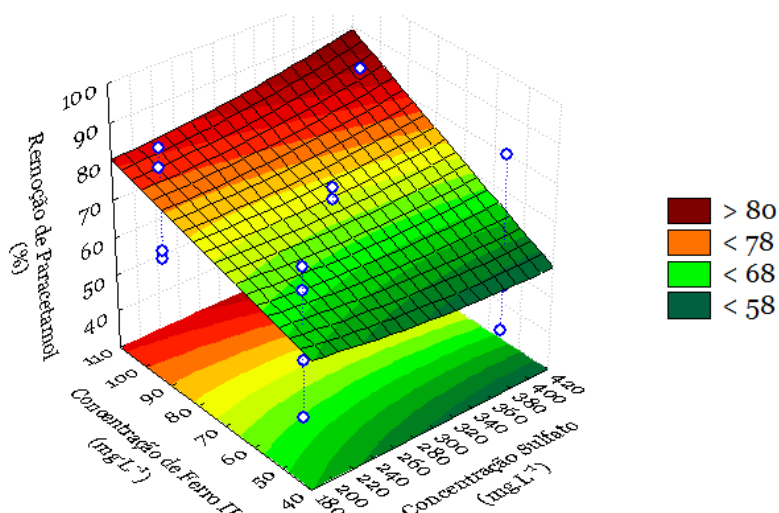
Ao final de 30 dias de inoculação, foram obtidos os seguintes valores de remoção de paracetamol (Figura 3):



(a) pH = 6,0



(b) pH = 7,0



(c) pH = 8,0

Figura 3: Remoção de Paracetamol em porcentagem.

Após 30 dias de experimento, em todas as condições estudadas, os valores médios de pH final foram $5,9 \pm 0,2$, o que indica o favorecimento de bactérias da fase ácida. Essa acidez pode ter comprometido o desempenho das bactérias metanogênicas, bem como a formação de substratos para que as fases acetogênica e metanogênica prosseguissem de forma mais efetiva. É importante ressaltar que, para bactérias acidófilas, as condições ideais são de pH entre 5,5 a 6,6; e para as formadoras de metano, a faixa ideal de pH está entre 6,6 e 7,6 (SOUSA, PEIXOTO & TOLEDO, 1995, p. 426). Com relação à porcentagem de remoção de paracetamol, o melhor resultado (87%) (Figura 3c) foi obtido para as seguintes condições iniciais: 100 mg Fe.L⁻¹, 200 mg SO₄²⁻.L⁻¹ e pH igual a 8,0.

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A adição de micronutrientes pode estimular positivamente a digestão anaeróbia. Neste trabalho, a biodegradabilidade do paracetamol foi influenciada pelo Fe, uma vez que o SO₄²⁻ adicionado pode ter sido reduzido a sulfeto de ferro (Fe₂SO₄), através da ligação do sulfato ao Fe (II) presente na solução de inóculo.

Micronutrientes como o Ni, Co e Fe são essenciais para favorecer a rota metanogênica, acetotrófica, a qual vem sendo alvo de muitas pesquisas (ROMERO-GÜIZA *et al.* 2016). Além disso, há indícios também de que o ferro seja capaz de estimular a atividade da comunidade microbiana através da sua propriedade metálica de doar elétrons, que pode acelerar a hidrólise e a fermentação. Segundo Chen *et al.* (2014), no controle de sulfetos, a introdução de sais metálicos, como uma combinação de Fe (II) e Fe (III), é mais comumente utilizada.

Outro ponto importante que reforça a hipótese de que o ferro pode ter atuado positivamente na degradação do paracetamol, diz respeito ao fato de que os maiores valores de remoção do fármaco estudado (78% e 87%) foram obtidos justamente na presença da maior concentração de Fe utilizada neste trabalho (100 mg.L⁻¹), corroborando os resultados obtidos por Zandvoort *et al.* (2003). Esses autores verificaram que o Fe foi o único micronutriente que apresentou efeito sobre a degradação do metanol, e concluíram que o aumento gradual de concentrações de Fe implicou diretamente em uma melhor atividade metanogênica.

A remoção do paracetamol também pode estar relacionada ao maior valor inicial de pH (pH = 8,0); pois, partindo de um meio mais alcalino e com maior disponibilidade de Fe, as bactérias metanogênicas puderam atuar na biodegradabilidade do fármaco de forma mais efetiva, alcançando resultados mais satisfatórios. O balanço químico das espécies sulfídricas depende do pH, uma vez que mais sulfeto na forma ionizada (HS-) será formado em pH 8,0. Além disso, alguns autores relatam que o aumento do pH pode mitigar a inibição do enxofre no crescimento de bactérias formadoras de metano (CHEN *et al.*, 2014; YAN *et al.*, 2018). Assim, neste experimento, a influência do sulfato na biodegradabilidade não foi considerada significativa e é possível que o aumento da disponibilidade de Fe em meio alcalino tenha promovido a biodegradabilidade anaeróbia do paracetamol de forma mais efetiva.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, foi possível concluir que a ação do ferro na biodegradabilidade do paracetamol, em meio anaeróbio, foi mais significativa, haja vista que a maior concentração de Fe empregada no experimento (100 mg.L⁻¹) retornou as melhores eficiências de remoção. Apesar de não ter havido medições do metano produzido nos reatores montados, a proporcionalidade das concentrações de Fe com a atividade metanogênica discutida por Zandvoort *et al.* (2003) para o metanol poderia ter ocorrido também para o paracetamol; hipótese que se espera investigar posteriormente. Com relação à influência do sulfato, constatou-se que a eficiência de remoção nos reatores foi, em sua maioria, desprezível. Estudos mais aprofundados quanto ao esclarecimento de sua influência no processo de biodegradabilidade do paracetamol, bem como o da comunidade bacteriana empregada, deverão ser também realizados para levantar maiores informações do processo. A respeito do pH empregado, concluiu-se que os valores iniciais mais altos (7,0 e 8,0) foram mais eficientes para o processo de remoção do fármaco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA, AWWA, WPCF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington D.C, 21^a ed., 2005.
2. AQUINO, S. F.; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão de literatura. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 18, n. 3, p.187-204, 2013.
3. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. NBR 13.934: Água-Determinação de ferro-Método colorimétrico da ortofenantrolina. Rio de Janeiro (RJ), 1997.
4. BISOGNIN, R. P.; WOLFF, D. B.; CARISSIMI, E. Revisão sobre fármacos no ambiente. *DAE*, n. 210, v. 66, abr./jun. 2018.
5. CHEN, J. L.; ORTIZ, R.; STEELE, T. W. J.; STUCKEY, D. C. *Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review. Biotechnology Advances*, n. 32, v. 8, p. 1523-1534, 2014.
6. FLORENCIO, L. *The Fate of Methanol in Anaerobic Bioreactors. Netherland*, 1994. *Ph.D. Thesis - Wageningen Agricultural University*, 1994.
7. GEISSEN, V.; MOL, H.; KLUMPP, E.; UMLAUF, G.; NADAL, M.; VAN DER PLOEG, M. VAN DE ZEE, S. E. A. T. M.; RITSEMA, C. J. *Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. International Soil and Water Conservation Research*, v. 3, p. 57-65, 2015.
8. GROSSELI, G. M. Contaminantes Emergentes em Estações de Tratamento de Esgoto Aeróbia e Anaeróbia. São Carlos (SP), 2016. Tese (Doutorado em Ciências – Química Analítica) - Universidade Federal de São Carlos - Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, 2016.
9. KLEYWEGT, S.; PILEGGI, V.; LAM, Y. M.; ELISES, A.; PUDDICOMB, A.; PURBA, G.; CARO, J.; FLETCHER, T. *The contribution of pharmaceutically active compounds from healthcare facilities to a receiving sewage treatment plant in Canada. Environmental Toxicology and Chemistry*, n. 35, v. 4, p. 850-862, 2016.
10. KOSMA, C. I.; LAMBROPOULOU, D. A.; ALBANIS, T. A. *Investigation of PPCPs in wastewater treatment plants in Greece: Occurrence, removal and environmental risk assessment. Science of the Total Environment*, v. 466-467, p. 421-438, 2014.
11. LAJEUNESSE, A.; SMYTH, S. A.; BARCLAY, K.; SAUVÉ, S.; GAGNON, C. *Distribution of antidepressant residues in wastewater and biosolids following different treatment processes by municipal wastewater treatment plants in Canada. Water Research*, n. 46, p. 5600-5612, 2012.
12. REIS FILHO, R. W.; LUVIZOTTO-SANTOS, R.; VIEIRA, E. M. Poluentes Emergentes como Desreguladores Endócrinos. *Journal of the Brazilian Society Ecotoxicology*, v. 2, n. 3, p. 283-288, 2007.
13. ROMERO-GÜIZA, M. S.; VILA, J.; MATA-ALVAREZ, J.; CHIMENOS, J. M.; ASTALS, S. *The role of additives on anaerobic digestion: a review. Renewable and Sustainable Energy Review*, v. 58, p. 1486-1499, 2016.
14. ROSAL, R.; RODRÍGUEZ, A.; PERDIGÓN-MELÓN, J. A.; PETRE, A.; GARCÍA-CALVO, E.; GÓMEZ, M. J.; AGÜERA, A.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. *Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. Water Research*, v. 44, n. 2, p. 578-588, 2010.
15. SANTOS, L. V. Utilização de processos biológicos e oxidativos avançados no tratamento dos antibióticos norfloxacino e sulfato de gentamicina presentes em meio aquoso. Belo Horizonte (MG), 2014. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Universidade Federal de Minas Gerais - Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, 2014.
16. SOUSA, J. S. I.; PEIXOTO, A. M.; TOLEDO, F. F. *Enciclopédia Agrícola Brasileira: A-B*. São Paulo (SP): Edusp, v. 1, 499 p., 1995.
17. YAN L.; YE, J.; ZHANG, P.; XU, D.; WU, Y.; LIU J.; ZHANG, H.; FANG, W.; WANG, B.; ZENG, G. *Hydrogen sulphide formation control and microbial competition in bath anaerobic digestion of slaughterhouse wastewater sludge: Effect of initial sludge pH. Bioresource Technology*, n. 259, p. 67-74, 2018.
18. ZANDVOORT, M. H.; GEERTS, R.; LETTINGA, G.; LENS, P. N. L. *Methanol degradation in granular sludge reactors at sub-optimal metal concentrations: role of iron, nickel and cobalt. Renewable and Sustainable Energy Review*, v. 33, p.190-198, 2003.
19. ZWIENER, C.; FRIMMEL, F. H. *Short-term tests with a pilot sewage plant and biofilm reactors for the biological degradation of the pharmaceutical compounds clofibric acid, ibuprofen and diclofenac. Science Total Environmental*, n. 309, p. 201-211, 2003.