



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

THAÍS SALVADOR ARGENTA

**ESTUDO DA REMOÇÃO DE PARABENOS EM SISTEMA DE LODO GRANULAR
AERÓBIO**

FORTALEZA
2020

THAÍS SALVADOR ARGENTA

ESTUDO DA REMOÇÃO DE PARABENOS EM SISTEMA DE LODO GRANULAR
AERÓBIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil. Área de concentração: Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Igor Milen Firmino.

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A736e Argenta, Thais Salvador.
Estudo da remoção de parabenos em sistema de lodo granular aeróbio / Thais Salvador Argenta. – 2020.
72 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental, Fortaleza, 2020.
Orientação: Prof. Dr. Paulo Igor Milen Firmino.

1. Parabenos. 2. Lodo granular aeróbio. 3. Tratamento de esgoto. 4. Micropoluentes. I. Título.

CDD 628

THAÍS SALVADOR ARGENTA

ESTUDO DA REMOÇÃO DE PARABENOS EM SISTEMA DE LODO GRANULAR
AERÓBIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil. Área de concentração: Saneamento Ambiental.

Aprovada em 30/01/2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo Igor Milen Firmino (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. André Bezerra dos Santos
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Cesar Rossas Mota Filho
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Aos meus pais, Zenith e Volnei, e minha irmã,
Júlia.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus pais, Zenith e Volnei, e à minha irmã, Júlia, que são meu porto seguro, minha fortaleza e meu núcleo familiar, por serem exemplo de amor, companheirismo, dedicação, caráter e responsabilidade. Eles que não mediram esforços em me apoiar em todos os momentos e situações. Tudo o que sou devo a eles e sem o apoio, o carinho e o amor deles, jamais estaria aqui. Amo vocês.

Separadamente, agradeço à minha irmã maravilhosa Júlia, que desde o início me apoiou e ajudou e nos momentos de angústia me acalmou. Foram intensos dois anos e mesmo ela não estando perto por morar em outra cidade, se fazia presente em todos os momentos com palavras e afetos. Obrigada por ser uma pessoa tão humana e ter um coração tão bom. Obrigada também pelas traduções e ajuda nas formatações. Amo você!

Agradeço ao meu orientador, o Prof. Dr. Paulo Igor Milen Firmino, que me acompanhou e orientou durante esses dois anos e mesmo a distância não me desamparou. Obrigada pela excelente orientação e dedicação a esta Dissertação, com suas sugestões, correções e leituras meticulosas. Minha mais sincera gratidão!

Agradeço à banca examinadora, composta pelo Prof. Dr. André Bezerra dos Santos, da UFC e pelo Prof. Dr. Cesar Rossas Mota Filho, da UFMG. Agradeço, de antemão, todas as contribuições e comentários que certamente contribuirão para o aperfeiçoamento desta Dissertação.

Agradeço, separadamente ao Prof. Dr. André Bezerra dos Santos, coordenador do LABOSAN, por exercer um excelente trabalho, com muito zelo e responsabilidade. Sou muito grata por ter feito parte da Família Labosan.

Agradeço aos amigos do curso de pós-graduação Camylla, Jessyca, Gilmar, Ricardo e Plínio pelos momentos de felicidade e angústias compartilhados, pelos nossos almoços no RU ou no shopping e nossas conversas que serviam de terapia em muitas ocasiões. Agradeço também à Amanda pelos momentos que dividimos ao longo do primeiro ano, pelas disciplinas cursadas juntas e todos os trabalhos realizados em parceria. Gratidão por todos vocês!

Agradeço, separadamente, ao meu amigo Gilmar que me fez querer estudar os parabenos e que tanto me ajudou no entendimento dos mecanismos de remoção e da cromatografia. Obrigada pela paciência e parceria!

Agradeço ao meu amigo de projeto, Ricardo, que me ajudou muito ao longo de toda a pesquisa. Obrigada por ser, praticamente, um coorientador e obrigada pela parceria na realização de análises e escrita dos artigos e desta dissertação. Sou muito grata!

Agradeço também aos meus colegas de LABOSAN, minha equipe linda e maravilhosa, composta por Suiane, Clara, Taynara, Paloma, Ian e Mardones. Sem a ajuda de vocês na realização das análises essa pesquisa não seria possível. Gratidão!

Agradeço aos meus familiares, em especial minhas avós Vilma e Aparecida, tia Liduina e Celso Filho, sei que todos, mesmo distantes, torcem pelo meu sucesso.

Agradeço imensamente aos meus amigos Micaely, Larisse, Luiz Fabiano, Amanda, Thais, Mariane, Espedito Junior, Jamylle, Felipe e Davi pelo apoio e pelos momentos de descontração e alegrias compartilhados. Vocês foram fundamentais ao longo desse processo. É como dizem, quem tem amigo, tem tudo! E eu com certeza tenho os melhores!

Agradeço aos professores do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental pelo conhecimento transmitido.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradeço também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto (INCT ETEs Sustentáveis) pelos apoios financeiros.

“Educação não é transferir conhecimento, mas criar as possibilidades para a sua própria produção ou a sua construção.”

Paulo Freire

RESUMO

Os parabenos são ésteres do ácido p-hidroxibenzoico amplamente utilizados como conservantes em produtos de cuidados pessoais, fármacos, alimentos e bebidas, sendo os primeiros uma das principais fontes desses micropoluentes em estações de tratamento de águas residuárias. Como esses compostos vêm sendo associados a problemas de saúde humana, por atuarem como disruptores endócrinos, a remoção deles das águas residuárias pode ser feita, principalmente por tecnologias compactas de alta capacidade de remoção de matéria orgânica e nutrientes e que apresentem bom custo-benefício. Assim, neste estudo, avaliou-se o desempenho operacional de um sistema de lodo granular aeróbio (LGA) no tratamento de água residuária sintética contendo os parabenos (200 $\mu\text{g L}^{-1}$ cada) metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP), propilparabeno (PrP) e butilparabeno (BuP). Além do impacto desses compostos no processo de granulação aeróbia e na estabilidade dos grânulos, foi avaliada a remoção de matéria orgânica, nutrientes (N e P) e dos próprios parabenos, para os quais também foram identificados os possíveis mecanismos de remoção. Finalmente, avaliou-se, por respirometria, a influência dos parabenos na atividade microbiana de remoção de matéria orgânica e nutrientes (N e P). Para isso, dois reatores em batelada sequencial de volume variável (volume útil de 7,2 L), R₁ (controle) e R₂ (com parabenos), suplementados com acetato, foram operados com ciclos de 6 h e troca volumétrica de 50% ao longo de três etapas, em que o tempo de sedimentação foi diminuído gradualmente de 20 para 10 e, em seguida, para 5 min. Ao final do experimento, na presença de parabenos, foram desenvolvidos grânulos aeróbios com boa sedimentabilidade, porém com estrutura frágil e desuniforme devido à menor produção de SPE, o que também afetou a concentração de sólidos do sistema. Em relação à remoção de matéria orgânica, N e P, não foi evidenciado efeito significativo dos parabenos nas concentrações testadas. Quanto a esses micropoluentes, elevadas eficiências de remoção foram alcançadas (> 85%), tendo sido, provavelmente, o MeP o mais recalcitrante. Embora os parabenos tenham sido parcialmente removidos na fase anaeróbia, a fase aeróbia foi a principal responsável pela remoção desses compostos, muito provavelmente por cometabolismo. Enquanto a adsorção não contribuiu evidentemente para a remoção de EtP, PrP e BuP, foi o principal mecanismo de remoção de MeP (~57%), o qual foi sugerido como provável intermediário da degradação dos demais parabenos. Os testes respirométricos mostraram que os parabenos, nas concentrações testadas, não alteraram a atividade dos organismos heterotróficos. Quanto aos organismos nitrificantes, esses compostos afetaram negativamente apenas o crescimento das bactérias oxidantes de amônia, porém isso não comprometeu a eficiência de nitrificação do sistema. Finalmente, em

relação à remoção de N e P, enquanto a taxa de desnitrificação, via nitrito ou nitrato, foi maior no R₂, a taxa de absorção de P, notadamente dos organismos acumuladores de fósforo, foi maior no R₁. Mesmo assim, não houve diferença significativa entre os desempenhos remoção de N e P dos dois reatores.

Palavras-chave: Lodo granular aeróbio. Tratamento de esgoto. Micropoluentes. Parabenos.

ABSTRACT

Parabens are esters of the p-hydroxybenzoic acid widely used as preservatives in personal care products, drugs, foods and beverages, the first ones being one of the main sources of these micropollutants in wastewater treatment plants. As these compounds have been associated with human health problems, as they act as endocrine disruptors, they must be removed from wastewater prior to their release into water bodies, mainly by compact and cost-effective technologies with high capacity to remove organic matter and nutrients. Thus, in this study, the operational performance of an aerobic granular sludge (AGS) system was evaluated for the treatment of synthetic wastewater containing the parabens ($200 \mu\text{g L}^{-1}$ each) methylparaben (MeP), ethylparaben (EtP), propylparaben (PrP) and butylparaben (BuP). In addition to the impact of these compounds on the aerobic granulation process and granule stability, the removal of organic matter, nutrients (N and P) and the parabens themselves was assessed, for which the possible removal mechanisms were also identified. Finally, the influence of parabens on the microbial activity of organic matter and nutrient removal (N and P) was evaluated by respirometry. For this, two sequential batch reactors (7.2-L working volume), R₁ (control) and R₂ (paraben-supplemented), were operated with 6-h cycles and 50% volumetric exchange rate over three stages, in which the settling time was gradually decreased from 20 to 10 and then to 5 min. At the end of the experiment, in the presence of parabens, aerobic granules with good settleability, but with fragile and irregular structure due to lower SPE production, which also affected the solids concentration of the system, were developed. Regarding the removal of organic matter, N and P, no significant effect of parabens was evidenced. For these micropollutants, high removal efficiencies were achieved ($> 85\%$), with MeP being the most recalcitrant. Although parabens were partially removed in the anaerobic phase, the aerobic phase was primarily responsible for the removal of these compounds, most likely by cometabolism. Whereas adsorption did not contribute evidently to the removal of EtP, PrP and BuP, it was the main MeP removal mechanism ($\sim 57\%$), which was suggested as a probable intermediate of degradation of the other parabens. Respirometric tests showed that parabens did not alter the activity of heterotrophic organisms. As for nitrifying organisms, these compounds negatively affected only the growth of ammonia-oxidizing bacteria, but this did not compromise the nitrification efficiency of the system. Finally, regarding the removal of N and P, whereas the denitrification rate, via nitrite or nitrate, was higher in R₂, the absorption rate of P, notably that of phosphorus-accumulating organisms, was higher in R₁. Nonetheless, there was no significant

difference between the N and P removal performances of the two reactors. Therefore, the AGS system is considered as a very efficient and robust treatment technology.

Keywords: Aerobic granular sludge. Wastewater treatment. Micropollutants. Parabens.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estrutura do floco ativado (A) e do grânulo aeróbio (B)	18
Figura 2	– Fluxograma de etapas para formação dos grânulos aeróbios	19
Figura 3	– Esquema de transformação dos nutrientes no grânulo aeróbio	24
Figura 4	– Estrutura química dos parabenos mais comumente encontrados no meio ambiente	28
Figura 5	– Rotas de degradação dos parabenos sob condições aeróbias	32
Figura 6	– Exemplo de um respirograma com detalhamento das etapas	38
Figura 7	– Caracterização do LGA dos reatores R_1 e R_2 ao longo do experimento	42
Figura 8	– Micrografia eletrônica por varredura dos grânulos dos reatores R_1 e R_2 (etapa III)	43
Figura 9	– Concentrações afluentes e efluentes e eficiências de remoção de parabenos do reator R_2	47
Figura 10	– Remoção de parabenos (a), matéria orgânica, N e P (b) ao longo de um ciclo do reator R_2 no final da etapa III	49
Figura 11	– Remoção de parabenos ao longo de um ciclo do reator R_2 quando alimentado sem MeP	51
Figura 12	– Balanço de massa de parabenos no R_2	53
Figura 13	– Diversidade dos microrganismos por família (a) e gênero (b) do inóculo e dos reatores R_1 e R_2	54
Figura 14	– Parâmetros biocinéticos dos OAFs e ODAFs em R_1 (esquerda) e R_2 (direita)	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Eficiência de remoção de parabenos em diferentes tipos de tratamento biológicos (continua)	30
Tabela 2 – Detalhamento dos ciclos de operação (6 h) dos reatores R ₁ e R ₂ durante as etapas I, II e III	34
Tabela 3 – Eficiência de remoção de matéria orgânica, N e P dos reatores R ₁ e R ₂	45
Tabela 4 – Valores médios das concentrações afluentes e efluentes e das eficiências de remoção de parabenos do reator R ₂	46
Tabela 5 – Valores das constantes cinéticas das bactérias nitrificantes para os reatores R ₁ (controle) e R ₂ (parabenos)	57
Tabela 6 – Taxas de consumo médias (mg N g SSV ⁻¹ h ⁻¹) no processo de desnitrificação para os reatores R ₁ (controle) e R ₂ (parabenos)	57
Tabela 7 – Valores de absorção de fosfato (mg P-PO ₄ ³⁻ g SSV ⁻¹ h ⁻¹) dos OAFs e ODAFs para os reatores R ₁ (controle) e R ₂ (parabenos)	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AB	Ácido benzoico
AGV	Ácido graxo volátil
BOA	Bactéria oxidante de amônia
BON	Bactéria oxidante de nitrito
BuP	Butilparabeno
DQO	Demanda química de oxigênio
ETA	Estação de tratamento de água
ETE	Estação de tratamento de esgoto
EtP	Etilparabeno
IVL	Índice volumétrico de lodo
LA	Lodo ativado
LGA	Lodo granular aeróbio
MeP	Metilparabeno
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NDS	Nitrificação e desnitrificação simultânea
OAF	Organismo acumulador de fósforo
OAG	Organismo acumulador de glicogênio
OD	Oxigênio dissolvido
ODAF	Organismo desnitrificante acumulador de fósforo
ODAG	Organismo desnitrificante acumulador de glicogênio
ODH	Organismo desnitrificante heterotrófico
OHO	Organismo heterotrófico ordinário
PHA	Polihidroxialcanoato
PHB	Polihidroxibutirato
PrP	Propilparabeno
RBS	Reator em batelada sequencial
RFC	Reator de fluxo contínuo
SPE	Substância polimérica extracelular
SSV	Sólidos suspensos voláteis
TCO	Taxa de consumo de oxigênio
TDH	Tempo de detenção hidráulica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1	Lodo granular aeróbio: formação e caracterização	17
3.1.1	<i>Operação do sistema</i>	21
3.1.2	<i>Mecanismos de remoção de nutrientes em LGA</i>	22
3.1.3	<i>A função das SPE e a estabilidade dos grânulos</i>	25
3.2	Remoção de micropoluentes em LGA	26
3.2.1	<i>Parabenos: caracterização, ocorrência e remoção</i>	27
3.2.2	<i>Rotas de biodegradação de parabenos</i>	32
4	METODOLOGIA	34
4.1	Configuração experimental	34
4.2	Perfil de remoção de parabenos, matéria orgânica, N e P ao longo do ciclo	35
4.3	Monitoramento do sistema	35
4.3.1	<i>Análises físico-químicas</i>	35
4.3.2	<i>Análises morfológicas e microbiológicas do lodo</i>	36
4.4	Testes respirométricos	37
4.4.1	<i>Atividade heterotrófica aeróbia e nitrificante</i>	37
4.4.2	<i>Testes de desnitrificação</i>	39
4.4.3	<i>Atividade biodesfosfatadora</i>	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1	Formação, estabilidade e características do LGA	41
5.2	Remoção de matéria orgânica, N e P	44
5.3	Remoção de parabenos	46
5.4	Perfil de remoção de parabenos, matéria orgânica, N e P ao longo do ciclo	48
5.5	Balanco de massa de parabenos	52
5.6	Caracterização microbiológica	53

5.7	Testes respirométricos	56
6	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

A crescente presença de micropoluentes no meio ambiente é resultante do intenso uso de produtos farmacêuticos e de higiene pessoal. Entre esses compostos, citam-se os parabenos, ésteres do ácido para-hidroxibenzoico utilizados como conservantes em cosméticos, fármacos e alguns produtos alimentícios e industriais. O metilparabeno (MeP), o etilparabeno (EtP), o propilparabeno (PrP) e o butilparabeno (BuP) são os parabenos mais utilizados e, logo, os mais comumente encontrados nos corpos hídricos, sendo, geralmente, o MeP o de maior concentração ($\leq 200 \text{ ng L}^{-1}$), seguido pelo PrP ($\leq 50 \text{ ng L}^{-1}$), enquanto os demais se apresentam em concentrações de poucos ng L^{-1} (BLEDZKA; GROMADZIŃSKA; WASOWICZ, 2014; HAMAN *et al.*, 2015; MA *et al.*, 2018b). Porém, é importante ressaltar que não foram encontradas legislações no Brasil e no mundo que padronizem alguma concentração limite para lançamento desses compostos em efluentes tratados.

Esses compostos, no entanto, vêm sendo associados a problemas de saúde humana, como câncer de mama e alterações hormonais, por atuarem como disruptores endócrinos (BOBERG *et al.*, 2010; DARBRE *et al.*, 2004; NOWAK *et al.*, 2018).

O sistema de lodo ativado (LA), geralmente, apresenta boas eficiências de remoção desses micropoluentes ($> 80\%$), atribuídas principalmente à biodegradação aeróbia, enquanto a adsorção tem um papel secundário (ASHFAQ *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2015; LU *et al.*, 2018; WANG; WANG; SUN, 2017). Porém, é relevante investigar o potencial de remoção de parabenos de sistemas de tratamento de águas residuárias mais compactos com alta capacidade de remoção de matéria orgânica e nutrientes, e que apresentem melhor custo-benefício, como os sistemas de lodo granular aeróbio (LGA).

O LGA é uma variante do processo de LA que surgiu no final da década de 1990, sendo cultivado principalmente em reatores em batelada sequencial (RBS) (MORGENROTH *et al.*, 1997). Quando comparado ao LA, o LGA apresenta várias vantagens, como maior velocidade de sedimentação e retenção de biomassa na forma de grânulos compactos e densos ($> 0,2 \text{ mm}$), e remoção simultânea de carbono, nitrogênio e fósforo devido à presença das zonas aeróbia, anóxica e anaeróbia nos grânulos, o que proporciona maior cooperação metabólica entre os microrganismos (AB HALIM *et al.*, 2015; NANCHARAI AH; REDDY, 2018; ROLLEMBERG *et al.*, 2018; WINKLER *et al.*, 2018).

Embora as grânulos aeróbios já tenham sido avaliados quanto à remoção de compostos aromáticos, como fenol, o-cresol e p-nitrofenol (RAMOS; SUÁREZ-OJEDA; CARRERA, 2015), e, até mesmo, de alguns fármacos (ibuprofeno, prednisona, sulfametoxazol,

entre outros) (AMORIM *et al.*, 2016, 2018; ZHAO *et al.*, 2015), ainda não há estudos de remoção de parabenos em sistemas de LGA. Segundo a literatura, os fármacos e produtos de higiene pessoal afetam negativamente a qualidade dos grânulos, podendo comprometer sua estabilidade e atividade (ZHAO *et al.*, 2015). Assim, é importante avaliar o desempenho geral de sistemas de LGA durante o tratamento de águas residuárias contendo parabenos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o desempenho operacional de um sistema de lodo granular aeróbio no tratamento de água residuária sintética contendo os parabenos metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e butilparabeno.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o impacto desses parabenos no processo de granulação aeróbia e na estabilidade dos grânulos;
- Analisar o desempenho de remoção de matéria orgânica, nutrientes (N e P) e parabenos do sistema de lodo granular aeróbio;
- Identificar os possíveis mecanismos de remoção desses parabenos no sistema de lodo granular aeróbio;
- Avaliar a dinâmica microbiana durante o processo de formação dos grânulos aeróbios formados na presença desses parabenos;
- Avaliar a influência desses parabenos na atividade microbiana de remoção de matéria orgânica e nutrientes (N e P), a partir de ensaios respirométricos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Lodo granular aeróbio: formação e caracterização

O lodo granular aeróbio (LGA) é uma variante do processo de lodo ativado (LA) que surgiu no final da década de 1990, principalmente nos chamados reatores em batelada sequencial (RBS) (MORGENROTH *et al.*, 1997), capaz de realizar diversos processos biológicos, como biodegradação, bioacumulação e bioissorção de contaminantes (SARMA; TAY; CHU, 2017).

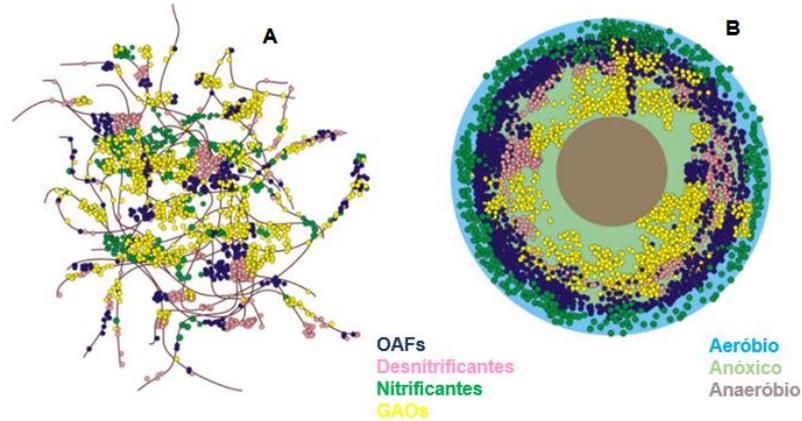
Na maioria dos estudos, os grânulos aeróbios são cultivados a partir de inóculos de LA (ADAV *et al.*, 2008), cujas características influenciam na formação dos grânulos, sendo uma delas a hidrofobicidade das superfícies celulares, que está relacionada à aderência de células nos flocos de LA (ZITA; HERMANSSON, 1997). Desse modo, a utilização de inóculos com características específicas pode ser uma estratégia para aperfeiçoar a granulação. Entretanto, a natureza do inóculo não é absoluta, pois, durante a granulação, ocorre uma seleção das espécies que pode produzir grânulos com microrganismos semelhantes ou diferentes. Liu *et al.* (2010), por exemplo, obtiveram grânulos com comunidades microbianas similares àsquelas dos flocos do lodo de inóculo, enquanto Yang, Li e Yu (2008) conseguiram formar grânulos predominantemente fúngicos ou bacterianos a partir do mesmo inóculo apenas variando a alcalinidade do meio.

Dentre os critérios para a identificação de LGA, citam-se a ausência de meio suporte, a presença de microrganismos ativos em aglomerados com tamanho mínimo de 0,2 mm e a alta sedimentabilidade, caracterizada pelo uso do parâmetro índice volumétrico de lodo (IVL) (DE KREUK, KISHIDA E VAN LOOSDRECHT, 2007). A Figura 1 mostra a diferença na estrutura dos grânulos aeróbios e dos flocos de lodo ativado.

Os grânulos apresentam em sua estrutura um gradiente de penetração de oxigênio responsável por formar diferentes camadas denominadas aeróbia, anóxica e anaeróbia (Figura 1), resultando em grande variedade populacional de microrganismos (ROLLEMBERG *et al.*, 2018). A zona aeróbia, a mais externa, é caracterizada pela predominância de microrganismos heterotróficos, responsáveis pela degradação de matéria orgânica. A zona intermediária possui oxigênio suficiente para oxidação de amônia, onde predominam os microrganismos nitrificantes, responsáveis pelos processos de nitrificação. Por fim, a zona anóxica-anaeróbia, no centro do grânulo, apresenta predominância dos processos de desnitrificação, remoção de

fósforo e anammox (oxidação anaeróbia de amônia) (SENGAR *et al.*, 2018), além da presença de células microbianas mortas (SARMA; TAY; CHU, 2017).

Figura 1 – Estrutura do floco de lodo ativado (A) e do grânulo aeróbio (B).



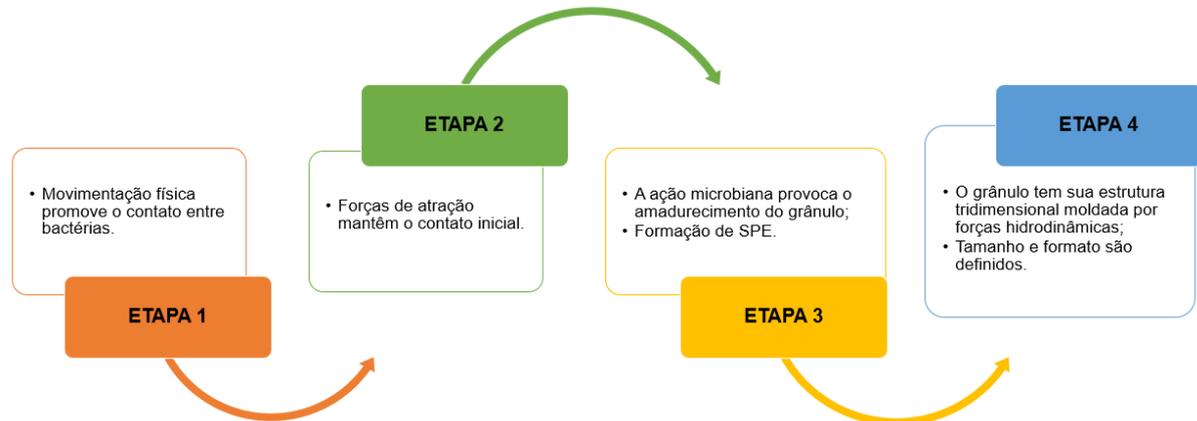
Fonte: Adaptado de Winkler *et al.* (2013).

Essa presença de zonas nos grânulos aeróbios permite que eles possuam uma estrutura microbiana forte, com excelentes capacidades de sedimentação e retenção de biomassa, além da habilidade de suportar grandes variações de carga orgânica (ZHENG *et al.*, 2006). Entretanto, a característica mais promissora dessa tecnologia, em comparação à de LA, é a possibilidade de remoção de metais pesados, como níquel, cádmio, cobre e zinco (LIU *et al.*, 2003; XU; LIU; TAY, 2006), além de poluentes emergentes, como fármacos, produtos de higiene pessoal e produtos químicos industriais (SARMA; TAY; CHU, 2017) de forma mais eficiente e relevante.

Os principais fatores que ajudam no processo de iniciação da granulação são a força de cisalhamento hidrodinâmica, definida com base na velocidade ascensional das bolhas de ar, e o regime de alimentação *feast-famine* (períodos sequenciais de abundância e escassez de substrato) (NANCHARAIAH; REDDY, 2018), os quais ajudam na indução de fenótipos agregadores, na produção de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) e na modelagem dos agregados sob a forma de grânulos densos e compactos (LV *et al.*, 2014).

Liu e Tay (2002), por sua vez, propõem um mecanismo mais geral para a formação de grânulos aeróbios, dividindo-o em quatro etapas, como mostra a Figura 2.

Figura 2 – Fluxograma de etapas para formação dos grânulos aeróbios.



Fonte: Adaptado de Liu e Tay (2002).

Além dos fatores que afetam esse processo já mostrados, incluem-se também a composição da alimentação (substrato), tempo de detenção hidráulica (TDH), temperatura, oxigênio dissolvido (OD), tempo de sedimentação, velocidade mínima de sedimentação, taxa de aeração e volume de troca do reator. Esses fatores são chamados de pressões de seleção e são estratégias utilizadas para estimular a mudança da atividade dos microrganismos, propiciando a formação de grânulos mais resistentes e mais densos. Isso é possível, pois a adoção dessas medidas favorece a sedimentação ótima do lodo, e os grânulos mais leves bem como os flocos que podem estar presentes são lavados do reator no momento do descarte (ROLLEMBERG *et al.*, 2018).

- Substrato

A literatura reporta que os grânulos cultivados em diferentes fontes de carbono podem apresentar diferentes comunidades microbianas, além de diferentes morfologia e estrutura interna dos grânulos (ROLLEMBERG *et al.*, 2018). Portanto, a fonte de carbono influencia na eficiência do LGA em estabilidade dos grânulos e remoção de nutrientes, principalmente quando a remoção de carbono e nutrientes é avaliada em conjunto. Também há estudos que mostram que a glicose tende a favorecer a formação de grânulos filamentosos, enquanto o acetato levou a grânulos esféricos e densos (LI *et al.*, 2008; YUAN *et al.*, 2019).

Rolleberg *et al.* (2019) analisaram o efeito de três diferentes substratos (acetato, etanol e glicose) para o processo de granulação e encontraram que o acetato se mostrou um substrato ideal para o cultivo de LGA, pois apresentou rápida granulação (~14 dias) e maturação do sistema em aproximadamente 60 dias. Os grânulos formados a partir do etanol também

apresentaram resultados interessantes em relação à estabilidade, porém o tempo de granulação foi de 40 dias. Já a glicose foi a fonte de carbono que menos favoreceu a formação dos grânulos aeróbios, propiciando a formação de flocos ou grânulos leves que foram lavados do sistema facilmente.

- Velocidade e tempo de sedimentação

O tempo de sedimentação (t_s) é um elemento essencial para a formação de grânulos aeróbios, sendo considerado a principal estratégia de seleção microbiana. Uma sedimentabilidade ótima reflete que os grânulos possuem uma elevada velocidade de sedimentação (V_s) e, conseqüentemente, baixo tempo de sedimentação. Isso significa que os agregados microbianos que apresentarem tempo de sedimentação maior que aquele projetado para o reator serão descartados, permanecendo os mais densos. A operação de LGA com um tempo de sedimentação pequeno (< 10 min) permite uma rápida seleção de agregados microbianos, causando a lavagem de flocos microbianos leves (LIU; WANG; TAY, 2005; ROLLEMBERG *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2019).

- Volume de troca do reator

O volume de troca da fração líquida do reator é comumente representado pela taxa de troca volumétrica aplicada na operação dos ciclos do sistema que corresponde à quantidade de líquido que será descartado ao final do ciclo e está diretamente ligada à profundidade da porta de descarte (L) deste ou à distância que as partículas percorrem até serem eliminadas na fase de descarte (LIU; WANG; TAY, 2005). Quanto maior o valor de L , maior deve ser o valor mínimo de V_s , e, conseqüentemente, maior é a pressão de seleção sobre os grânulos. A taxa de troca volumétrica associada à velocidade e ao tempo de sedimentação proporcionam uma excelente pressão de seleção ao meio, favorecendo a manutenção de um lodo granular denso e estável. A literatura reporta taxas de troca volumétrica que variam de 20 a 80%, sendo as mais adotadas entre 50 e 60% (AB HALIM *et al.*, 2016; NANCHARAI AH; REDDY, 2018; NANCHARAI AH; SARVAJITH, 2019; PISHGAR *et al.*, 2019).

- Tempo de descarte mínimo

O tempo de descarte mínimo ($t_{d,mín}$) pode ser definido como o tempo para que a fração de grânulos aeróbios no reator seja próxima de 100%, ou seja, uma manta de lodo granular completa é desenvolvida em $t_{d,mín}$. Com isso, sabe-se que, se o tempo de descarte (t_d) configurado para determinado reator for maior que $t_{d,mín}$, uma parte do licor misto que está

acima da altura da porta de descarte continuará sedimentando durante o processo de descarte, diminuindo a pressão de seleção ao longo do tempo (LIU; WANG; TAY, 2005).

Liu, Wang e Tay (2005) combinaram as três últimas pressões de seleção citadas e elaboraram uma equação que define de forma fácil e prática o parâmetro da velocidade mínima de sedimentação ($V_{s,mín}$):

$$V_{s,mín} = \frac{L}{t_s + \frac{(t_d - t_{d,mín})^2}{t_d}} \quad (1)$$

Essa fórmula indica a possibilidade de melhora na seleção de biopartículas para uma granulação rápida através do controle adequado do t_s , do t_d e da taxa de troca volumétrica do reator. Os autores afirmam ainda que é possível observar um aumento na fração de grânulos aeróbios a partir do aumento da $V_{s,mín}$. Valores menores que $1,0 \text{ m h}^{-1}$ tendem a desenvolver flocos e nenhum grânulo. A partir de uma velocidade de $4,0 \text{ m h}^{-1}$, os grânulos prevalecem, porém, a $V_{s,mín}$ deve ser maior ou igual a 8 m h^{-1} para se obter um domínio de espécies granulares sobre floculentas.

3.1.1 Operação do sistema

Quanto à operação do reator de LGA, pode ser em RBS ou em fluxo contínuo (RFC). Geralmente, a configuração mais utilizada é a em batelada sequencial, pois o RBS permite a formação e o cultivo rápido e seguro dos grânulos aeróbios em um único reator, caracterizado por operações de ciclos contendo as fases de alimentação, reação, sedimentação e descarte do efluente tratado. A maioria dos sistemas encontrados na literatura apresentam ciclos com tempo entre 4 e 12 horas, pois esse intervalo favorece a formação e a densidade dos grânulos (CORRINO *et al.*, 2017; ROLLEMBERG *et al.*, 2018).

Três tipos de configurações de ciclo foram encontradas: i) alimentação (30 min), reação anaeróbia, reação aeróbia, sedimentação e descarte (BARROS *et al.*, 2020; ROLLEMBERG *et al.*, 2019b); ii) alimentação longa (40 a 60 min), reação aeróbia, sedimentação e descarte (CORRINO *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2018b); e, iii) alimentação curta (5 min), reação aeróbia, sedimentação e descarte (LIU *et al.*, 2016b). Observou-se que, nos diferentes tipos de ciclo, a granulação foi obtida, e o tratamento efetivo.

Outra variante de operação dos RBS é que podem apresentar volume constante ou volume variável. Os RBS de volume constante possuem alimentação e descarte simultâneos,

mantendo o reator sempre com mesmo nível. Já no reator de volume variável, como o próprio nome sugere, o volume dentro do reator ao longo do ciclo muda, pois, ao final do ciclo, o efluente é descartado, e, só após esse descarte, é que ocorre o bombeamento do afluente para dentro do reator (NANCHARAI AH; REDDY, 2018; NANCHARAI AH; SARVAJITH, 2019).

Os RFCs, no entanto, são menos utilizados por serem mais complexos e necessitarem de diferentes câmaras para etapas diferentes ao longo do processo. Dentre as vantagens deles, comparados aos RBS, tem-se a fácil operação e tratamento de maior volume de esgoto, sendo mais atrativos em escala real (JUANG *et al.*, 2010).

Li *et al.* (2019a), por sua vez, desenvolveram um outro sistema de LGA, denominado RBS-RFC, que mesclou as vantagens dos reatores em batelada sequencial e reatores de fluxo contínuo. O sistema consistiu de quatro RBS, cada um com alimentação anaeróbia, reação aeróbia e descarte, e foram estudados os efeitos da intensidade de aeração e do TDH no sistema. Os resultados mostraram que o LGA foi formado e operado com sucesso e que uma forte intensidade de aeração ($9,74 \text{ h}^{-1}$) e TDH de 9 h foram mais favoráveis à remoção de nutrientes.

3.1.2 Mecanismos de remoção de nutrientes em LGA

O sistema de LGA é capaz de promover vários processos de conversão biológica, dentre eles degradação da matéria orgânica, nitrificação, desnitrificação e remoção de fósforo, devido à coexistência de diferentes populações de microrganismos no grânulo (YANG; TAY; LIU, 2004).

A remoção convencional de nitrogênio requer as condições aeróbias e anóxicas/anaeróbias para a nitrificação da amônia e desnitrificação de nitrato ou nitrito, respectivamente. Além disso, a alternância de períodos com baixo e alto OD é necessária para a remoção completa de nitrogênio (NANCHARAI AH; REDDY, 2018).

Para a remoção do nitrogênio em águas residuárias, dois processos são necessários. O primeiro é a nitrificação, em que a fração amoniacal (NH_4^+) é oxidada a nitrito (NO_2^-), na etapa denominada nitrificação, e, em seguida, a nitrato (NO_3^-), através da nitratação. Essas transformações acontecem pela ação das bactérias oxidantes de amônia (BOAs) e das bactérias oxidantes de nitrito (BONs), respectivamente. Após o processo de nitrificação, ocorre a desnitrificação, que consiste na redução do nitrito ou do nitrato a nitrogênio gasoso (N_2) pelas bactérias heterotróficas desnitrificantes (SARMA; TAY; CHU, 2017). Ressalta-se também que, além das BOAs, há a presença das *anammox*, as quais também realizam oxidação de nitrogênio

amoniacal, mas de forma anaeróbia e utilizando o nitrito como acceptor de elétrons, em vez do oxigênio (O₂).

Os processos de nitrificação e desnitrificação simultâneas (NDS) podem ocorrer em grânulos aeróbios por conta da existência das zonas aeróbias e das zonas anóxicas. A amônia é convertida a nitrato nas camadas externas, o qual é, então, difundido até o interior do grânulo para ser usado como acceptor de elétrons pelos microrganismos desnitrificantes (FRANCA *et al.*, 2018).

Para a remoção de fósforo em reatores contendo LGA, as técnicas se baseiam na capacidade de algumas bactérias heterotróficas realizarem o processo de bioacumulação, que consiste no acúmulo de fosfato em suas células, na forma de polifosfatos (WANG *et al.*, 2008). Sabe-se que os microrganismos denominados organismos acumuladores de fósforo (OAFs) têm um potencial de acumular fósforo em suas células, havendo uma simultânea absorção de carbono orgânico solúvel e liberação de fosfato na fase anaeróbia, seguido por uma rápida captura desse íon no estágio aeróbio (ADAV *et al.*, 2008). A remoção do fósforo propriamente dita envolve a sua incorporação na biomassa celular e posterior descarte desta (ROLLEMBERG *et al.*, 2018).

Além desse grupo de bactérias, há, ainda, os organismos desnitrificantes acumuladores de fósforo (ODAFs), os quais, além de estarem envolvidos nos processos de remoção de fósforo, também auxiliam os de remoção de nitrogênio, diferenciando-se dos OAFs por não utilizarem oxigênio como acceptor, e sim nitrito ou nitrato.

Com relação à taxonomia, as principais BOAs são as *Nitrosomonas europaea* e as *Paracoccus aminovorans*, e as BONs mais conhecidas são *Nitrospira defluvii*, *Nitrobacter*, *Nitrospiraceae* e *Bradyrhizobiaceae* (NANCHARAIH; SARVAJITH; LENS, 2018; SZABÓ *et al.*, 2017; WINKLER; KLEEREBEZEM; VAN LOOSDRECHT, 2012). Já os grupos de microrganismos responsáveis pelo processo de desnitrificação são os organismos desnitrificantes heterotróficos (ODHs) e são representados principalmente pelos grupos *Pseudomonas*, *Rhizobiales*, *Zoogloea sp.* e *Acinetobacter sp.* (LIN; SHARMA; VAN LOOSDRECHT, 2013; WAN *et al.*, 2015; WEISSBRODT *et al.*, 2013).

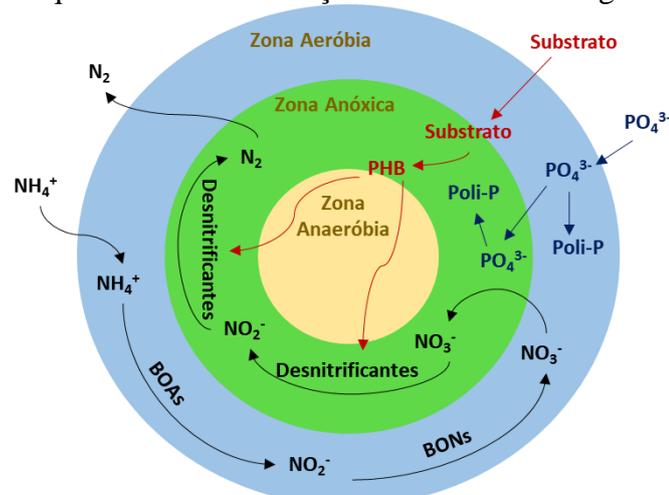
Os principais OAFs observados nos estudos são *Accumulibacter spp.*, *Rhodocyclus spp.* e *Enterobacter spp.* (ROLLEMBERG *et al.*, 2018) Os ODAGs são responsáveis por realizarem desnitrificação e acumulação de glicogênio, e os ODAFs, já citados anteriormente, são geralmente representados por microrganismos das famílias Comamonadaceae, Sphingomonadaceae, Hyphomicrobiaceae, Rhodobacteriaceae, Xanthomonadaceae e

Rhodocyclaceae, especialmente dos gêneros *Thauera*, *Zoogloea*, *Meganema*, *Devosia* e *Stenotrophomonas* (WEISSBRODT *et al.*, 2013).

Por fim, os processos responsáveis pela remoção de matéria orgânica, na forma de carbono solúvel e quantificada pelo parâmetro DQO, envolvem principalmente os organismos heterotróficos (OH) e os organismos acumuladores de glicogênio (OAG) (ROLLEMBERG *et al.*, 2018). Devido à presença das diferentes zonas nos grânulos aeróbios, a remoção de matéria orgânica ocorre simultaneamente à de nitrogênio (FIGUEROA *et al.*, 2009).

Após a fase de alimentação do sistema, a concentração de substrato orgânico (fonte de carbono) é elevada, sendo completamente difundido para o interior dos grânulos. Então, este é parcialmente convertido e armazenado na forma de polímero, como os polihidroxibutiratos (PHBs). Nas zonas mais internas, esses PHBs encontram-se disponíveis para serem utilizados como fonte de carbono no processo de desnitrificação, auxiliando a remoção de nitrogênio. Durante a fase anaeróbia do ciclo, a maior parte da DQO é absorvida pelos microrganismos, principalmente por OAGs, os quais armazenam o carbono como polímeros intracelulares. Finalmente, durante a fase aeróbia, esses microrganismos oxidam os polímeros armazenados previamente (WAGNER, 2015). Os principais grupos de bactérias reportados por serem responsáveis por esses processos são do filo Chloroflexi, dos gêneros *Flavobacterium* e *Beggiatoa*, da espécie *Thiothrix nivea*, dentre outras (FIGUEROA *et al.*, 2015; WAN *et al.*, 2015). A Figura 3 traz um esquema de transformação de C, N e P dentro do grânulo aeróbio com suas respectivas zonas.

Figura 3 – Esquema de transformação dos nutrientes no grânulo aeróbio.



Fonte: Adaptado de Guimarães (2017) e Nancharaiah e Reddy (2018).

3.1.3 A função das SPE e a estabilidade dos grânulos

Outro parâmetro importante durante a formação dos grânulos são as SPE. Elas são constituídas de um material viscoso composto por substâncias secretadas pelas bactérias sob determinadas condições impostas pelo meio em que se encontram, formado principalmente por proteínas, polissacarídeos, ácidos húmicos e lipídeos (ADAV *et al.*, 2008). Esses polímeros auxiliam e são extremamente necessários aos processos de agregação de microrganismos, formação dos grânulos aeróbios e estabilidades desses agregados. Geralmente, a tensão de cisalhamento hidrodinâmica causada pelas bolhas da aeração induz a produção de SPE e um aumento na hidrofobicidade das superfícies celulares, melhorando o processo de formação granular (NANCHARAIH; REDDY, 2018).

Muitos estudos demonstraram que a maior parte das SPE são produzidas durante a fase de *feast* no ciclo dos RBSs, logo após o período de alimentação, no qual a DQO é predominantemente degradada. Em contrapartida, há um consumo significativo dessas substâncias poliméricas na fase *famine*, na qual o substrato se encontra em concentrações limitantes, fazendo com que as bactérias utilizem as SPE como fonte de carbono e energia para fazer respiração endógena (CORSINO *et al.*, 2015).

Além das SPE, o conceito de estabilidade de um LGA envolve a não variação das suas propriedades de tamanho e bioatividade, bem como a ausência de desintegração e lavagem de grânulos do reator (FRANCA *et al.*, 2018). Apesar da extensa gama de estudos acerca do assunto de granulação aeróbia e das diversas vantagens reportadas em comparação aos processos de tratamento por LA convencional, a questão da instabilidade dos grânulos, principalmente em operações de reatores a longo prazo, ainda é um grande desafio a ser enfrentado.

Um dos objetivos de alguns estudos recentes é justamente estudar como os parâmetros de operação do reator podem influenciar e melhorar a estabilidade dos grânulos aeróbios, pois esses fatores estão intimamente relacionados (SHOW; LEE; TAY, 2012). Parâmetros, como carga orgânica, condições do regime *feast-famine*, tensão de cisalhamento, nível de OD e tipo de substrato, podem influenciar nas características morfológicas e de sedimentabilidade dos agregados microbianos, além da distribuição interna das bactérias e suas atividades metabólicas. Consequentemente, espera-se que esses fatores também afetem a estabilidade dos grânulos em questão (FRANCA *et al.*, 2018).

Peyong *et al.* (2012) cultivaram grânulos maduros, com tamanho médio de 2,2 mm, alimentados com esgoto doméstico real com carga orgânica baixa ($0,54 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$), os

quais sofreram deterioração depois de dois meses de operação. Os grânulos maiores foram se desintegrando aos poucos em pequenos detritos, que eram posteriormente lavados para fora do reator. Entretanto, em uma subsequente aplicação de carga orgânica de $0,6 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, conseguiu-se manter a estabilidade destes. Ademais, Zhang *et al.* (2011) reportaram que grânulos aeróbios cultivados sob baixa carga orgânica ($0,58 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) e baixas taxas de aeração, apresentaram estrutura frouxa e porosa e se mostraram instáveis quando atingiam diâmetros maiores que 1 mm, fortalecendo a teoria de que grânulos pequenos são mais favoráveis para operações de tratamento de esgotos a longo prazo.

Entretanto, grânulos cultivados em cargas orgânicas altas também apresentaram comportamento semelhante, com o crescimento excessivo de organismos filamentosos, resultando em instabilidade de operação do RBS (BEUN *et al.*, 1999). Essa instabilidade sob alta carga orgânica tem sido indicada como tendo três razões principais: o excesso de crescimento de microrganismos filamentosos (LIU; LIU, 2006), a hidrólise das proteínas intracelulares e degradação do núcleo anaeróbio do grânulo (ZHENG *et al.*, 2006) e a perda da capacidade de agregação das bactérias em decorrência da deficiência de produção de SPE (ADAV; LEE; LAI, 2010).

3.2 Remoção de micropoluentes em LGA

A capacidade da tecnologia de LGA em biotransformar micropoluentes emergentes ainda é pouco conhecida (MERY-ARAYA *et al.*, 2019), porém já existem estudos de LGA para remoção de alguns compostos pertencentes a esse grupo. Kent e Tay (2019) operaram um sistema LGA em RBS com ciclos de 205 minutos e TDH de 8,3 h para remoção de 17α -etinilestradiol (EE), 4-nonilfenol (NF) e carbamazepina (CBZ), com concentrações de 530, 485 e $510 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. As remoções no sistema foram de aproximadamente 70% para o EE e superiores a 80% para o NF, enquanto, para a CBZ, as remoções foram inferiores a 25%. Os autores relataram também que os compostos não interferiram negativamente na formação dos grânulos e na quantidade de biomassa, e apresentaram efeito mínimo nas remoções de DQO, nitrogênio e fósforo.

Outro composto testado em LGA foi a fluoxetina (FLX). Moreira *et al.* (2015) também operaram um LGA em RBS, porém o período de operação foi dividido em sete fases com ciclos variando de 3 a 12 h. A remoção da FLX, de concentração inicial entre 3 e $4 \mu\text{M}$, ocorreu por adsorção/dessorção nos grânulos aeróbios, e as eficiências de remoção de DQO, nitrogênio e fósforo não foram prejudicadas. Os autores afirmam também que a estrutura LGA

protegeu a população microbiana dos efeitos tóxicos da FLX, resultando na manutenção dos principais processos biológicos.

Observa-se, nos dois trabalhos citados, que a presença dos micropoluentes não afetaram de forma negativa o sistema e suas eficiências. Em contrapartida, Amorim *et al.* (2016) operaram um LGA em RBS com ciclos de 6 h, TDH de 9,7 h e taxa de troca volumétrica de 40% para avaliar a influência de oito fármacos quirais (alprenolol, bisoprolol, metoprolol, propranolol, venlafaxina, salbutamol, fluoxetina e norfluoxetina), com concentração de $1,3 \mu\text{g L}^{-1}$ cada, na estrutura do sistema. Os resultados mostraram que esses compostos foram removidos em maior parte por adsorção no lodo, porém afetaram a remoção de DQO, fósforo e nitrogênio, desestabilizaram os grânulos e prejudicaram o metabolismo dos organismos acumuladores de fosfato (OAFs).

A partir dessas informações, pode-se perceber que, dependendo do micropolvente presente no sistema, este reage de forma diferente. Quando se trata de parabenos, compostos também pertencentes aos micropoluentes emergentes, ainda não há relatos de remoção em sistemas de LGA nem do seu impacto sobre a formação e a estabilidade dos grânulos.

3.2.1 Parabenos: caracterização, ocorrência e remoção

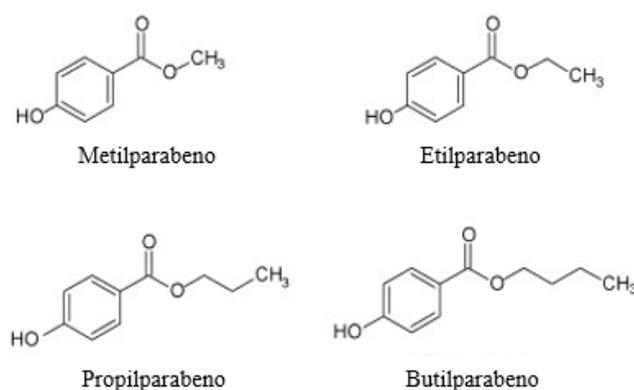
Os parabenos são uma classe de compostos usados como conservantes desde 1920 em produtos farmacêuticos, alimentícios e cosméticos (HAMAN *et al.*, 2015). Mais recentemente, eles também foram detectados em notas de dinheiro e produtos de papel, incluindo lenços sanitários (LIAO; KANNAN, 2014). Quanto à composição química, os parabenos são ésteres do ácido para-hidroxibenzóico, e os mais conhecidos são o metilparabeno (MeP), o etilparabeno (EtP), o propilparabeno (PrP), o butilparabeno (BuP), o benzilparabeno e o heptilparabeno (MA *et al.*, 2018a). Todos esses compostos possuem estrutura química semelhante formada por um anel aromático ligado a uma hidroxila e um grupo éster. Ao grupo éster é ligada a cadeia de hidrocarbonetos que diferencia cada um. Dentre eles, os mais comumente encontrados no meio ambiente são o MeP, o EtP, o PrP e o BuP (Figura 4), sendo, geralmente, o MeP o de maior concentração ($\leq 200 \text{ ng L}^{-1}$), seguido pelo PrP ($\leq 50 \text{ ng L}^{-1}$), enquanto os demais se apresentam em concentrações de poucos ng L^{-1} (BŁEDZKA; GROMADZIŃSKA; WASOWICZ, 2014; HAMAN *et al.*, 2015).

Essas substâncias causam diversos problemas à saúde do ser humano e dos demais seres, pois estudos relatam alterações das glândulas suprarrenais e da tireoide causadas pela

exposição aos parabenos (NOWAK *et al.*, 2018). Esses compostos também estão associados ao surgimento de câncer de mama em mulheres (DARBRE *et al.*, 2004).

Essa exposição acontece, além das formas diretas (via oral ou cutânea), pelo lançamento de esgotos não tratados e/ou de efluentes de estações de tratamento de esgotos (ETEs) nos corpos hídricos, podendo ocorrer bioacumulação nos organismos aquáticos (BŁEDZKA; GROMADZIŃSKA; WASOWICZ, 2014; HAMAN *et al.*, 2015; NOWAK *et al.*, 2018). Outro agravante é que ocorrem reações químicas desses compostos com o cloro residual oriundo da água de torneira ou dos processos de cloração das estações de tratamento de água (ETAs), formando os parabenos clorados, compostos mais estáveis e com potencial estrogênico desconhecido, além de serem mais tóxicos para os organismos aquáticos (CANOSA *et al.*, 2006). Sendo assim, são fundamentais os estudos para remoção desses compostos em ETAs e ETEs.

Figura 4 – Estrutura química dos parabenos mais comumente encontrados no meio ambiente.



Fonte: Adaptado de Boberg *et al.* (2010).

Entretanto, há poucos trabalhos sobre a remoção de parabenos em sistemas biológicos de tratamento de esgotos, sendo mais utilizadas tecnologias aeróbias, como o LA e variantes (Tabela 1). Em ETEs compostas por LA, foram registradas eficiências globais de remoção superiores a 60% para os parabenos MeP, EtP, PrP e BuP (GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2011; KARTHIKRAJ *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2015). González-Mariño *et al.* (2011) afirmam que não observaram alterações em nenhum composto durante todo o estudo, provando que não ocorreu adsorção nem degradação devido a processos abióticos e que as perdas nas soluções foram atribuídas às rotas biológicas (biotransformação).

Ma *et al.* (2018) analisaram a remoção de parabenos em duas ETEs na China, uma composta por lodo ativado cíclico e a outra por reator anaeróbio/óxico. As eficiências globais

de remoção nas duas ETEs foram superiores a 94%, e, quando compararam todas as unidades de tratamento de cada uma, verificaram que as concentrações de parabenos diminuíram acentuadamente nas unidades de tratamento biológico. No entanto, as concentrações de parabenos no tanque anaeróbio foram menores do que no tanque aeróbio seguinte, levando os autores a supor que isso acontece porque o lodo foi devolvido ao tanque aeróbio (recirculado).

Em uma ETE composta por valo de oxidação seguido de desinfecção por radiação ultravioleta (UV), foram observadas eficiências globais de remoção de MeP e PrP variando de 81 a 91% e 63 a 98%, respectivamente (SUN *et al.*, 2014). No entanto, não foi especificado que unidade do tratamento foi responsável pela maior contribuição na remoção desses compostos, embora grande parte dos parabenos tenha sido encontrada adsorvida na fração sólida do tratamento primário, chegando a 71% para o MeP e 50% para o PrP.

Por outro lado, em uma ETE com reator anaeróbio/anóxico/aeróbio, em que foram monitorados 49 micropoluentes, dentre eles o MeP e o PrP, mais de 70% da remoção dos parabenos foi atribuída à biodegradação, sendo apenas uma pequena quantidade encontrada adsorvida no lodo e nos sólidos suspensos (ASHFAQ *et al.*, 2017).

Conforme exposto, as tecnologias de tratamento de esgoto apresentam um bom desempenho de remoção de parabenos, além de serem eficientes na remoção de matéria orgânica e nutrientes. Porém, são importantes o constante aperfeiçoamento e a criação de novas tecnologias para a melhoria dos sistemas de tratamento dos esgotos de forma a atender padrões de lançamento cada vez mais restritivos. Assim, nesse cenário, o sistema de LGA vem se destacando pelo seu desempenho e vantagens operacionais, podendo ser também uma alternativa promissora na remoção de parabenos (HAMZA; IORHEMEN; TAY, 2016; NANCHARAIAH; REDDY, 2018).

Tabela 1 – Eficiência de remoção de parabenos em diferentes tipos de tratamento biológicos (continua).

Tipo de tratamento	Composto	Concentração afluente (ng L⁻¹)	Eficiência de remoção (%)	Referência
Lodo ativado	MeP	567,0	98,8	Li <i>et al.</i> (2015)
	EtP	140,0	99,8	
	PrP	438,0	99,9	
	BuP	27,9	99,7	
Lodo ativado	MeP	4200	99,4	González-Mariño <i>et al.</i> (2011)
	EtP	880	99,5	
	PrP	1400	99,7	
	BuP	140	98,4	
Lodo ativado	MeP	151,0	81,4	Karthikraj <i>et al.</i> (2017)
	EtP	40,5	80,1	
	PrP	68,1	85,7	
	BuP	10,5	79,8	
Lodo ativado	MeP	51,0	91,3	Karthikraj <i>et al.</i> (2017)
	EtP	11,6	83,8	
	PrP	38,2	92,7	
	BuP	8,9	66,9	
Lodo ativado	MeP	267,0	86,6	Karthikraj <i>et al.</i> (2017)
	EtP	58,4	83,3	
	PrP	583,0	96,7	
	BuP	4,4	100,0	
Lodo ativado	MeP	138,0	79,0	Karthikraj <i>et al.</i> (2017)
	EtP	16,2	75,9	
	PrP	50,2	63,4	
	BuP	5,2	100,0	
Lodo ativado	MeP	209,0	80,4	Karthikraj <i>et al.</i> (2017)
	EtP	53,0	86,4	
	PrP	55,4	84,8	
	BuP	4,1	100,0	

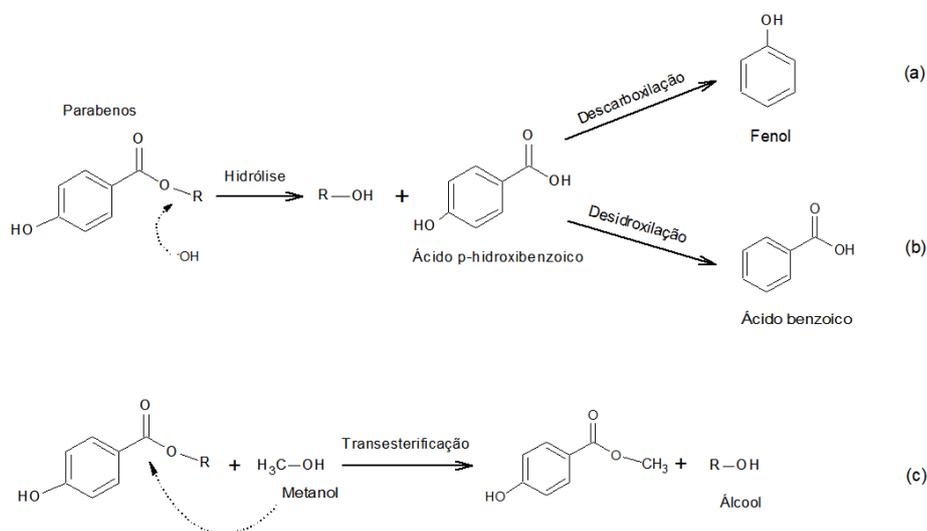
Tabela 1 – Eficiência de remoção de parabenos em diferentes tipos de tratamento biológicos (conclusão).

Tipo de tratamento	Composto	Concentração afluente (ng L⁻¹)	Eficiência de remoção (%)	Referência
Lodo ativado	MeP	36,8	95,8	Wang e Kannan (2016)
	EtP	4,0	89,8	
	PrP	12,9	88,5	
	BuP	5,8	70,8	
Lodo ativado	MeP	97,9	95,2	Wang e Kannan (2016)
	EtP	2,75	90,1	
	PrP	20,9	95,0	
	BuP	7,25	91,1	
Lodo ativado cíclico	MeP	1310	94,9	Ma <i>et al.</i> (2018)
	EtP	362	99,5	
	PrP	496	97,2	
	BuP	7	96,1	
Reator anaeróbio/óxico	MeP	968,0	94,1	Ma <i>et al.</i> (2018)
	EtP	133,0	98,6	
	PrP	364,0	97,8	
	BuP	29,3	99,9	
Valo de oxidação + radiação UV	MeP	150-270	81,6-91,0	Sun <i>et al.</i> (2014)
	PrP	130-400	63-98,0	
Reator anaeróbio/anóxico/óxico	MeP	128-244	70,5-97,6	Ashfaq <i>et al.</i> (2017)
	PrP	96,2-212	75,5-98,5	

3.2.2 Rotas de biodegradação de parabenos

Com relação à biodegradação dos parabenos, a literatura reporta algumas possibilidades de rotas sob condições aeróbias e estão ilustradas na Figura 5. Valkova *et al.*, (2001) testaram a degradação de parabenos por cepas isoladas de *Enterobacter cloacae* cultivados em meio ágar contendo MeP e PrP, separadamente, e verificaram que a rota de degradação desses compostos, sob essas condições específicas, aconteceu através da hidrólise da ligação éster formando o ácido 4-hidroxibenzoico, seguida da descarboxilação em condição aeróbia formando fenol (Figura 5a).

Figura 5 – Rotas de degradação dos parabenos sob condições aeróbias.



Fonte: Elaborado pela autora (2020) a partir de Valkova *et al.*, (2001), Wang *et al.* (2018a) e Wu *et al.* (2017).

Já Wu *et al.* (2017), ao avaliarem também a degradação de MeP e PrP, identificaram o ácido benzoico como intermediário. Os autores, então, inferiram que a biodegradação dos parabenos selecionados ocorreu por clivagem das ligações de carbono presentes nas cadeias carbônicas por microrganismos aeróbios, porém não identificaram os grupos taxonômicos específicos. Os autores relatam ainda que o ácido p-hidroxibenzoico, metabólito comum relatado de todos os parabenos, não foi detectado nas amostras coletadas e nem nas soluções padrão de MeP e PrP. Dessa forma, eles concluem que é possível que o ácido p-hidroxibenzoico seja oxidado a ácido benzoico por microrganismos durante o rápido processo de degradação aeróbia (Figura 5b).

Outra hipótese existente é a de que ocorra a transesterificação entre os parabenos e álcoois. Wang *et al.* (2018a) descobriram que, quando o metanol ou o etanol estão presentes no lodo ativado, a transesterificação é muito importante para a degradação dos ésteres do ácido

para-hidroxibenzoico (parabenos) e que, nas soluções de lodo ativado com adição de 1% de metanol, a contribuição da transesterificação para a degradação do PrP e do EtP representou 46% e 83%, respectivamente, no estágio inicial da reação. Isso indica que em ambientes aquáticos com presença de álcoois, os parabenos preferem formar homólogos de moléculas pequenas do que a hidrólise em ácido (Figura 5c).

Com relação aos metabólitos de parabenos, a literatura reporta que os parabenos podem se degradar em seus metabólitos sob certas condições, e esses compostos são frequentemente presentes nos sistemas de tratamento de águas residuárias, indicando seu papel como poluentes comuns nas águas e esgotos (MA *et al.*, 2018a). O protocatecuato de metila (OH-MeP) e o protocatecuato de etila (OH-EtP) são metabólitos dos parabenos correspondentes produzidos através de processos de hidroxilação. O ácido 4-hidroxibenzoico (4-HB) é o principal metabólito comum de todos os parabenos, mas o 4-HB possui propriedades estrogênicas, que podem ter efeitos de toxicidade e autotoxicidade no crescimento e desenvolvimento das plantas. Além disso, a hidroxilação do ácido 4-HB ao 3,4-di-hidroxibenzoico (3,4-DHB) também foi relatada em estudos com animais de laboratório (BOBERG *et al.*, 2010; MA *et al.*, 2018a). Além desses quatro compostos, Karthikraj *et al.* (2017) mencionam a presença do metabólito ácido benzoico (AB) tanto em amostras afluentes como efluentes das ETEs.

Entretanto, outros pesquisadores alertam também para a produção dos metabólitos chamados parabenos halogenados, sendo os mais comuns os clorados. Os parabenos reagem com o cloro livre, produzindo vários subprodutos, em que os níveis de cloro normalmente contidos na água da torneira são suficientes para produzir quantidades significativas de seus subprodutos clorados em poucos minutos (CANOSA *et al.*, 2006; TERASAKI; TAKEMURA; MAKINO, 2012). Portanto, considerando o emprego de parabenos em produtos de cuidados pessoais, atividades diárias como tomar banho ou lavar as mãos constituem uma fonte de exposição dérmica a subprodutos clorados de parabenos. Dentre os parabenos clorados investigados na literatura são relatados o 3-clorometilparabeno (3-CIMeP), o 3-cloroetilparabeno (3-CIEtP), o 3,5-diclorometilparabeno (3,5-2CIMeP) e o 3,5-dicloroetilparabeno (3,5-2CIEtP) (CANOSA *et al.*, 2006; LI *et al.*, 2015; WANG; WANG; SUN, 2017).

Além disso, também é reportado na literatura que os derivados diclorados são altamente resistentes a sofrer mais reações de oxidação, e sua presença foi encontrada pela primeira vez em amostras de água de esgoto. Se quantidades mínimas de brometo são

apresentadas em fontes de água da torneira, as reações de halogenação são deslocadas para a produção de parabenos bromados (CANOSA *et al.*, 2006; LI *et al.*, 2015).

4 METODOLOGIA

4.1 Configuração experimental

O experimento foi realizado em dois reatores em batelada sequencial (RBS) (diâmetro: 100 mm, altura: 1 m e volume útil: 7,2 L), inoculados com lodo aeróbio (2,8 g SSV L⁻¹) de um sistema de lodo ativado do tipo carrossel da estação de tratamento de residuária doméstica de uma fábrica têxtil localizada no município de Fortaleza, Ceará, Brasil.

Ambos os reatores (R₁ e R₂) foram alimentados com a mesma água residuária sintética, contendo ácido acético (500 mg DQO L⁻¹), cloreto de amônio (75 mg NH₄⁺-N L⁻¹), fosfato de potássio (10 mg PO₄³⁻-P L⁻¹), cloreto de cálcio dihidratado (10 mg Ca²⁺ L⁻¹), sulfato de magnésio heptahidratado (5 mg Mg²⁺ L⁻¹), micronutrientes (1 mL L⁻¹), cuja solução foi preparada de acordo com Rollemberg *et al.* (2019), e bicarbonato de sódio (1 g L⁻¹), usado como tampão para manter o pH próximo a 7,0. Porém, enquanto o R₁ foi mantido como controle, o R₂ foi suplementado com os parabenos MeP, EtP, PrP e BuP (200 µg L⁻¹ cada) (Sigma Aldrich, EUA) desde o início do experimento. O afluente de cada reator foi armazenado em um refrigerador, a temperatura de 4 °C, com o objetivo de impedir a proliferação de microrganismos no tanque de alimentação e, conseqüentemente, a sua degradação prematura.

Os RBS foram operados, a temperatura ambiente (27 °C), na modalidade convencional, com ciclos de 6 h, tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12 h e troca volumétrica de 50% ao longo de três etapas (Tabela 2).

Tabela 2 – Detalhamento dos ciclos de operação (6 h) dos reatores R₁ e R₂ durante as etapas I, II e III.

Etapa	I	II	III
Duração da etapa (dias)	46	57	105
Fases do ciclo (min)			
Alimentação	30	30	30
Reação anaeróbia	60	60	60
Reação aeróbia	248	258	263
Sedimentação	20	10	5
Descarte	1	1	1
Descanso	1	1	1

O tempo de sedimentação foi diminuído gradualmente de 20 (etapa I) para 10 (etapa II) e, em seguida, para 5 min (etapa III) para atuar como pressão de seleção sobre os microrganismos filamentosos e promover a granulação do lodo. Para manter o tempo de ciclo constante (6 h) ao longo do experimento, o tempo subtraído da fase de sedimentação foi adicionado à fase de reação aeróbia. Durante essa fase, a aeração foi realizada por meio de compressores (Aco-002, Sunsun, China), produzindo uma velocidade ascensional de bolhas de aproximadamente $1,5 \text{ cm s}^{-1}$.

4.2 Perfil de remoção de parabenos, matéria orgânica, N e P ao longo do ciclo

Ao final da etapa III (após maturação dos grânulos), o perfil de remoção de parabenos, matéria orgânica (DQO), N (amônio, nitrito, nitrato) e P (fosfato) ao longo do ciclo do R₂ foi avaliado em duplicata (dois ciclos). Durante cada ciclo, o oxigênio dissolvido (OD) foi medido continuamente (YSI 5000, YSI Incorporated, EUA).

Posteriormente, avaliou-se o MeP como possível intermediário da biotransformação dos demais parabenos. Para isso, o R₂ foi, inicialmente, alimentado com água residuária sintética livre de parabenos, por 15 dias (aproximadamente 60 ciclos), para a completa eliminação desses compostos do licor misto (verificado pela sua ausência no efluente). Em seguida, o reator foi suplementado apenas com EtP, PrP e BuP por 7 dias (28 ciclos), sendo, finalmente, realizada mais uma análise de ciclo em relação apenas aos parabenos.

4.3 Monitoramento do sistema

4.3.1 Análises físico-químicas

DQO, amônio, sólidos suspensos totais e sólidos suspensos voláteis foram determinados de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

Nitrito, nitrato e fosfato foram determinados por um cromatógrafo de íons Dionex™ ICS-1100 equipado com uma pré-coluna Dionex™ IonPac™ AG23 (2×50 mm), uma coluna Dionex™ IonPac™ AS23 (2×250 mm) e uma supressora Dionex™ AERS™ 500 (2 mm) (Thermo Scientific, EUA). Eram injetados 5 µL da amostra filtrada (0,45 µm), os quais eram eluídos por uma solução aquosa contendo 4,5 mM de carbonato de sódio e 0,8 mM de

bicarbonato de sódio em um fluxo constante de $0,25 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. A temperatura do forno era $30 \text{ }^\circ\text{C}$, a corrente aplicada, 7 mA, e o tempo de corrida, 30 min.

Os parabenos foram determinados tanto no líquido quanto no lodo a partir de cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC, *high-performance liquid chromatograph*) LC-20A Prominence equipado com uma coluna Shim-pack CLC-ODS(M)® C18 ($4,6 \times 150 \text{ mm}$, $5 \text{ } \mu\text{m}$) e um detector UV-Vis SPD-20A (Shimadzu Corporation, Japão).

Para a determinação de parabenos no líquido, 500 mL de amostra previamente filtradas ($0,45 \text{ } \mu\text{m}$) eram percoladas através de cartuchos Oasis HLB (3 cc, 60 mg, $30 \text{ } \mu\text{m}$) (Waters Corporation, EUA) para a extração em fase sólida (EFS) dos parabenos, os quais eram posteriormente eluídos por 4 mL de metanol grau HPLC/UV (99,8%, Neon, Brasil). Em seguida, $10 \text{ } \mu\text{L}$ dessa solução metanólica eram injetados e eluídos por uma fase móvel composta por água ultrapura e acetonitrila grau HPLC/UV (99,9%, Sigma-Aldrich, Alemanha) em um fluxo constante de $1,2 \text{ mL min}^{-1}$, utilizando o seguinte gradiente: aumento de 10 a 60% de acetonitrila em 8 min, seguido de redução a 10% em 4 min. A temperatura do forno foi mantida a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ durante toda a corrida.

Para a determinação de parabenos no lodo, foi utilizada metodologia adaptada de López-Serna *et al.* (2018) conforme descrito a seguir. 100 mL de amostra de lodo fresco eram liofilizados (Liofilizador L101, Liobras, Brasil), e, em seguida, o lodo seco era pesado em um frasco de vidro de 20 mL, ao qual foram adicionados 5 mL de acetona (99%, Sigma-Aldrich, Alemanha). Após completa agitação em vórtex, a mistura permanecia em repouso durante a noite para permitir a evaporação do solvente. Em seguida, 12 mL de água MilliQ® a pH 9 eram adicionados ao frasco, o qual era novamente agitado em vórtex para obter uma suspensão homogênea. O frasco, então, era submetido a extração assistida por ultrassom (EAU) por 30 min a 60 Hz e temperatura ambiente (Cristófoli Biossegurança, Brasil). Posteriormente, a suspensão era centrifugada por 5 min a 3600 rpm (Excelsa II 206 BL, Fanem, Brasil), e o sobrenadante era transferido para um balão volumétrico de 25 mL. O processo de extração por água MilliQ® era repetido mais uma vez com o pellet, sendo o sobrenadante adicionado àquele já presente no balão volumétrico, cujo volume era completado com água MilliQ®. Finalmente, os parabenos eram extraídos da solução resultante e determinados conforme descrito anteriormente para amostras líquidas. A partir dos resultados da extração foi feita a estimativa de recuperação para o cálculo do balanço de massa do sistema.

4.3.2 Análises morfológicas e microbiológicas do lodo

A formação e o desenvolvimento dos grânulos foram avaliados por peneiramento e gravimetria a cada 15 dias de operação, aproximadamente, e a estrutura dos grânulos maduros foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Inspect S50, FEI Company, EUA), realizada na Central Analítica da UFC.

A sedimentabilidade do lodo foi avaliada pelo índice volumétrico de lodo (IVL) dinâmico – uma versão modificada do IVL proposto por Schwarzenbeck, Erley e Wilderer (2004) que permite determinar o IVL em vários tempos. Neste trabalho, o IVL foi determinado para os tempos de sedimentação de 5 e 30 min (IVL₅ e IVL₃₀, respectivamente). A velocidade de sedimentação do lodo foi determinada, em triplicata, de acordo com Wang *et al.* (2018), utilizando uma coluna de acrílico com altura de trabalho de 0,4 m e diâmetro de 75 mm, preenchida com efluente sintético.

O teor de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) da biomassa granular foi medido em termos de proteínas (PN) e polissacarídeos (PS), cujos teores foram medidos pelo método de Lowry modificado e fenol-ácido sulfúrico (LONG *et al.*, 2014), respectivamente.

A identificação dos microrganismos presentes nos grânulos aconteceu conforme a metodologia do índice diversidade das espécies em que a sequenciação de DNA do gene 16S rRNA foi realizada extraíndo 0,5 g (peso úmido total) das amostras de lodo coletadas no final da fase de aeração usando o kit PowerSoil® MOBIO. A extração de DNA foi feita em triplicata para cada amostra de lodo. A qualidade e concentração do DNA extraído foi estimada utilizando um Nanodrop 1000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA). Para o perfil taxonômico de comunidades bacterianas, a biblioteca de amplicon da região V4 do gene 16S rRNA foi preparada utilizando os iniciadores específicos da região (515F / 806R) (CAPORASO *et al.*, 2011). Os dados obtidos por sequenciamento foram analisados utilizando ferramentas de bioinformática. Análises de biologia molecular foram realizadas no Centro de Genômica e Bioinformática (CeGenBio) do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da Universidade Federal do Ceará, Brasil.

4.4 Testes respirométricos

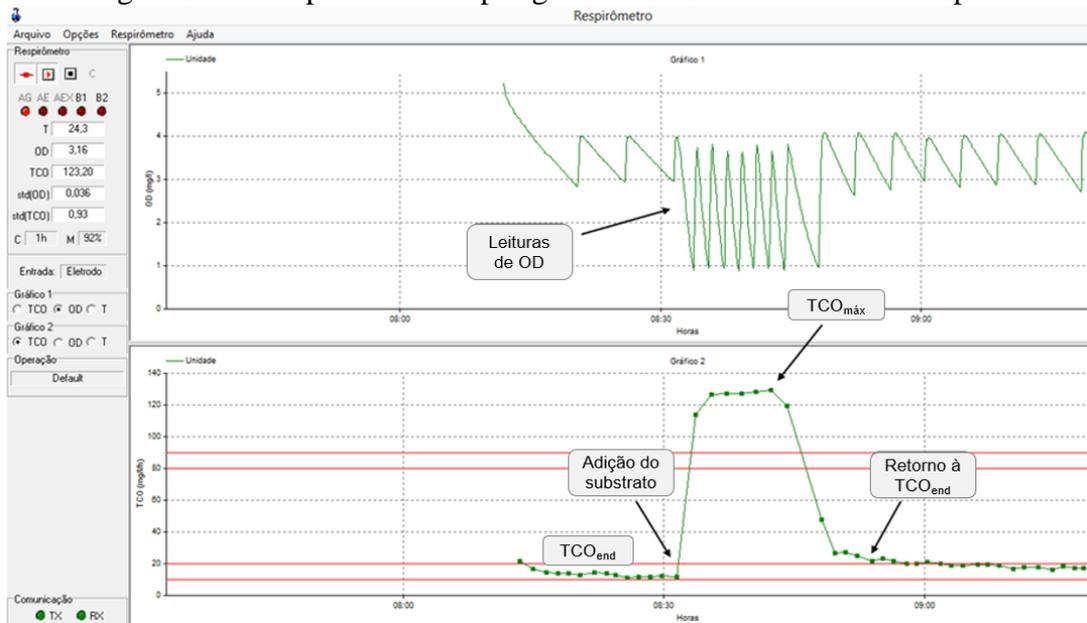
4.4.1 Atividade heterotrófica aeróbia e nitrificante

A taxa de consumo de oxigênio (TCO) foi o parâmetro utilizado para obter as características da biomassa dos principais grupos funcionais que utilizam o oxigênio como aceptor final de elétron, especificamente bactérias heterotróficas e nitrificantes. Assim, os

valores de TCO permitem conhecer e monitorar a atividade metabólica dos microrganismos presentes no lodo em tempo real através do respirograma (Figura 6). As taxas foram obtidas através do respirômetro Beluga e do *software* Resp43 com concentração de OD mínima e máxima fixadas em 1,0 e 3,0 mg L⁻¹, respectivamente, para garantir condições metabólicas ideais para os diferentes grupos estudados.

Para a execução desses testes, além do respirômetro acima citado, foram utilizados: um béquer de 2 litros para comportar o licor misto de lodo, um agitador mecânico para manter a biomassa em constante suspensão durante os testes, um aerador com pedra porosa, um eletrodo de oxigênio (Modelo YSI 5718), um notebook com o *software* Resp43 instalado para gerar o respirograma e os substratos acetato de sódio (120 mg DQO L⁻¹), cloreto de amônio (10 mg N-NH₄⁺ L⁻¹) e nitrito de sódio (8 mg N-NO₂⁻ L⁻¹).

Figura 6 – Exemplo de um respirograma com detalhamento das etapas.



A partir dos dados gerados pelo *software* (TCO × tempo), foram calculadas as áreas de cada ponto de TCO exógena (TCO_{exo}) no tempo e a concentração de lodo ativo (X_a) de acordo com Barros (2013) e Silva Filho *et al.* (2015). A biocinética dos microrganismos aeróbios, como a constante específica máxima de crescimento (μ_m), foi estimada de acordo com Rollemberg *et al.* (2019), Zafiriadis *et al.* (2017) e Chandran e Smets (2000). Neste estudo, para as heterotróficas, foram adotados a fração catabólica de 55% e o coeficiente de rendimento (Y_{ae}) de 0,3 g SSV g DQO_{rem}⁻¹. Para as BOAs e as BONs, foram adotados Y_n iguais a 0,10 g SSV g N-NH₄⁺ e 0,04 g SSV·g N-NO₂⁻¹, respectivamente.

O procedimento realizado durante os testes foram:

- i) coletava-se 1 litro de licor misto de lodo ao fim da fase de aeração do ciclo para os testes com acetato de sódio, e, para os testes com cloreto de amônio e nitrito de sódio, eram coletados 2 litros de licor misto de lodo a fim de concentrar e conseguir uma maior representação das bactérias nitrificantes;
- ii) ligavam-se os equipamentos (notebook e respirômetro), e, então, calibrava-se o eletrodo de oxigênio;
- iii) colocava-se o béquer com a amostra no agitador mecânico, e, então, o aerador e o eletrodo de oxigênio eram colocados dentro do béquer em contato com a amostra;
- iv) após isso, o teste era iniciado, e o *software* monitorava a aeração. Sob agitação constante, o substrato remanescente na amostra era consumido para que se pudesse ter uma TCO constante e mínima, chamada de TCO_{end}, que corresponde à respiração endógena;
- v) após detectar a TCO_{end}, adicionava-se o substrato para determinar as constantes cinéticas;
- vi) os dados de TCO eram gerados pelo *software* e salvos automaticamente pelo programa.

A partir dos resultados obtidos, as constantes específicas máximas de crescimento (μ_m) para os organismos heterotróficos e nitrificantes foram calculadas.

4.4.2 Testes de desnitrificação

Os testes foram feitos em condições de endogenia e com a presença de substrato externo. Para cada teste, foi coletado uma amostra de 1 litro de licor misto de lodo ao final da fase de aeração. Em um béquer de 2 litros, era colocada a amostra, e a respiração endógena era identificada com auxílio do respirômetro. Para a primeira condição, após a identificação da condição endógena da amostra, era adicionado nitrato (100 mg L^{-1}) ou nitrito (100 mg L^{-1}). Para a segunda condição, além das frações de nitrogênio, adicionava-se o substrato de matéria orgânica rapidamente biodegradável ($400 \text{ mg DQO L}^{-1}$ de acetato de sódio).

As taxas de desnitrificação foram determinadas pela diminuição das concentrações de nitrito ou nitrato e matéria orgânica ao longo do tempo do teste. Esses dados foram obtidos através de análises físico-químicas de DQO, nitrito, nitrato e SSV (APHA, 2012).

4.4.3 Atividade biodesfosfatadora

Os testes de biodesfosfatação foram baseados em análises de DQO, nitrito, nitrato, fosfato e SSV (APHA, 2012). Coletava-se 1 litro de lodo dos reatores, e esperava-se que se atingisse a TCO endógena, com o auxílio do respirômetro. Então, eram adicionados aproximadamente 400 mg DQO L⁻¹ na forma de acetato, deixando o lodo sob leve agitação. Posteriormente, eram coletadas alíquotas de 50 mL em intervalos de trinta minutos durante duas horas. Então, a amostra de lodo era submetida a três situações diferentes:

- i) Injeção de O₂ através do aerador conectado ao respirômetro, o qual era ligado e desligado quando atingia valores de OD mínimo e máximo de 1 mg L⁻¹ e 3 mg L⁻¹, respectivamente, com o objetivo de analisar a atividade cinética dos OAFs;
- ii) Adição de nitrito (30 mg N-NO₂⁻ L⁻¹) a fim de serem obtidas as constantes cinéticas dos ODAFs que utilizam nitrito como acceptor final de elétrons no processo de biodesfosfatação, além de realizarem desnitrificação;
- iii) Adição de nitrato (30 mg N-NO₃⁻ L⁻¹) a fim de serem obtidas as constantes cinéticas dos ODAFs que utilizam nitrato como acceptor final de elétrons no processo de biodesfosfatação, além de realizarem desnitrificação.

Em cada uma dessas três situações, determinavam-se as concentrações de ortofosfato, DQO, nitrito e nitrato, possibilitando, a partir desses valores, o cálculo das constantes cinéticas de cada grupo de microrganismos relacionados à remoção de fósforo.

Ressalta-se que os testes se iniciavam em ambiente anaeróbico com grande oferta de substrato, e, após a adição de cada oxidante, aguardava-se até haver um ambiente anaeróbico novamente, em que o fósforo armazenado anteriormente tivesse liberado mais uma vez.

A partir dos resultados das análises físico-químicas, foram calculadas as taxas de liberação e absorção médias de fosfato, em mg g SSV⁻¹ h⁻¹.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

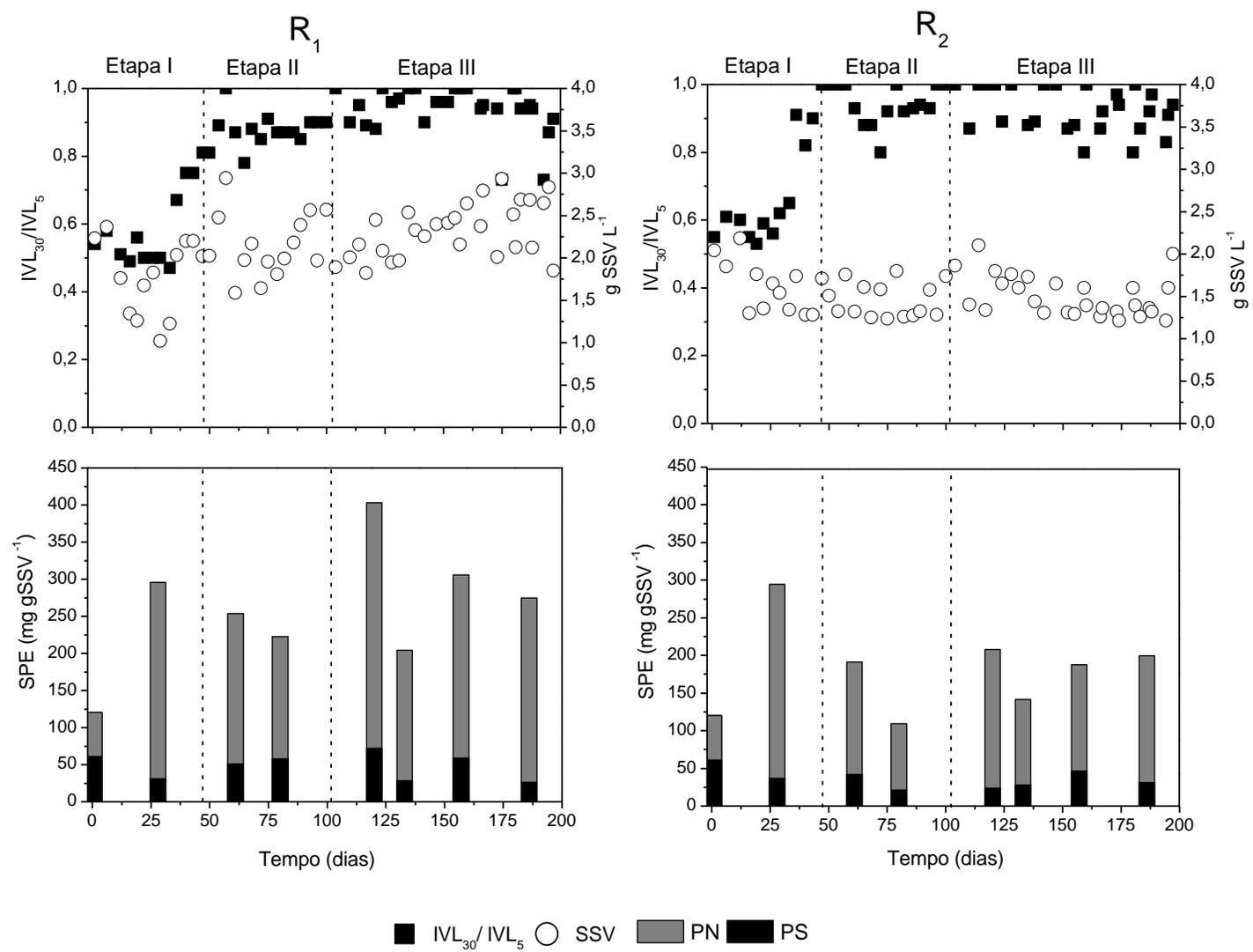
5.1 Formação, estabilidade e características do LGA

O lodo de inóculo possuía IVL_5 e IVL_{30} iguais a 189 e 93 $mL\ g^{-1}$, respectivamente, e, logo, razão IVL_{30}/IVL_5 de 0,5. Ao longo da etapa I, observou-se a formação dos grânulos acompanhada do decaimento dos valores de IVL_{30} e IVL_5 e do aumento do IVL_{30}/IVL_5 nos dois reatores (Figura 7). O valor de SSV, que, no início, era de 2,8 $g\ L^{-1}$, também diminuiu nessa fase, apresentando valores médios de 1,8 $g\ L^{-1}$, no R_1 , e 1,6 $g\ L^{-1}$, no R_2 . Com a diminuição do tempo de sedimentação (etapas II e III), a razão IVL_{30}/IVL_5 de ambos os reatores aumentou consideravelmente até próximo de 1. Porém, com relação à biomassa nas etapas II e III, enquanto, no R_1 , o valor médio de SSV aumentou para aproximadamente 2,2 $g\ L^{-1}$, no R_2 , permaneceu próximo a 1,5 $g\ L^{-1}$ (Figura 7). Essa diminuição inicial de SSV após a inoculação acontece porque, em sistemas de LGA, a maioria dos sólidos filamentosos presentes no lodo de inóculo são lavados pelas pressões de seleção impostas (curto tempo de sedimentação, volume de troca do reator de 50% e velocidade de descarte). Nas etapas seguintes, a tendência é o sistema se adaptar, e a biomassa crescer, como observado no R_1 (ROLLEMBERG *et al.*, 2019; WANG; DU; CHEN, 2004). Porém, provavelmente, no R_2 , o crescimento da biomassa foi controlado pela presença dos parabenos, já que eles possuem ação antimicrobiana (DORON *et al.*, 2001; HAMAN *et al.*, 2015).

Quanto ao tamanho dos grânulos, os dois reatores apresentaram elevadas proporções de grânulos com diâmetro superiores a 1 mm ($> 70\%$) ainda na etapa I. Após a maturação do LGA (final da etapa III), os grânulos maiores que 1 mm eram cerca de 97,4% do lodo, no R_1 , e 92,7%, no R_2 . Em relação à velocidade de sedimentação, os grânulos cultivados no R_1 apresentaram velocidade média de 21,3 $m\ h^{-1}$, e os cultivados no R_2 , de 22,2 $m\ h^{-1}$. Logo, os parabenos não interferiram no processo de sedimentação, o que também foi confirmado pelos valores de IVL_{30} dos dois reatores ($< 40\ mL\ g^{-1}$).

A idade de lodo também foi monitorada durante todo o período de operação, mantendo-se entre 6 e 11 dias, no R_1 , e entre 5 e 9 dias, no R_2 . Esses valores favoreceram a estabilidade dos grânulos, pois, conforme Zhu *et al.* (2013), os quais avaliaram a descarga seletiva de lodo em RBS de LGA com volume de troca de 75%, longas idades de lodo (> 11 dias) levam à deterioração dos grânulos aeróbios.

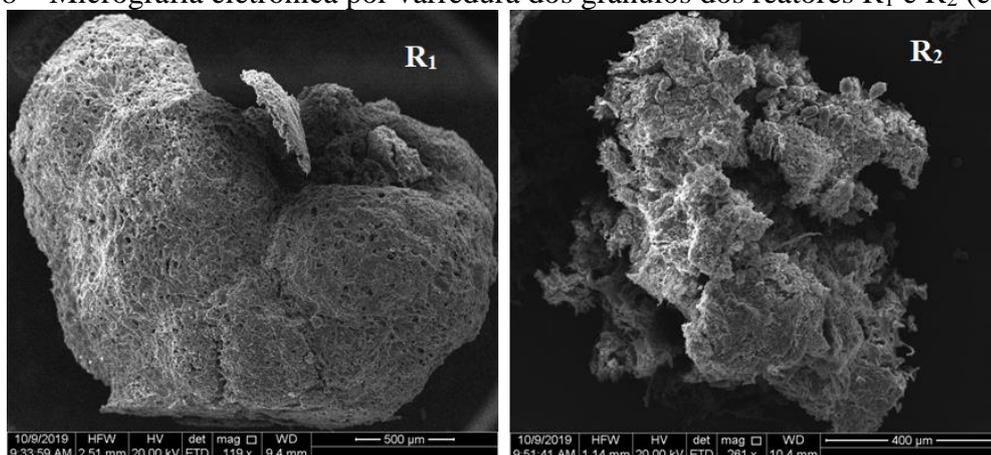
Figura 7 – Caracterização do LGA dos reatores R_1 e R_2 ao longo do experimento.



As SPE são biopolímeros, compostos de proteínas (PN), polissacarídeos (PS) e outras substâncias, que atuam na formação e na estabilidade dos grânulos (ROLLEMBERG *et al.*, 2018), sendo um parâmetro fundamental para entender a estrutura dos grânulos formados, principalmente na presença de micropoluentes. No momento da partida dos reatores, as quantidades eram de 61 mg PS g SSV⁻¹ e 59 mg PN g SSV⁻¹. Com 28 dias de operação, observou-se um aumento expressivo no teor de SPE, e, conforme o LGA foi sendo formado, a quantidade de PN se manteve superior à de PS nos dois reatores, chegando a ser 9 vezes maior, no R₁, e 7 vezes maior, no R₂, na etapa III (Figura 7). A partir desses valores, entende-se, que as bactérias produtoras de SPE foram beneficiadas pela estratégia de granulação utilizada no sistema. Porém, no R₂, a produção de SPE foi menor devido provavelmente à presença dos parabens.

De fato, os grânulos do R₁ possuíam estrutura mais densa e compacta, enquanto os do R₂ apresentaram uma estrutura frágil e sem uniformidade (Figura 8). Possivelmente, a ação microbicida dos parabens (DARWISH; BLOOMFIELD, 1995; DORON *et al.*, 2001) pode ter influenciado na produção de SPE e, logo, na formação dos grânulos, justificando a menor concentração de SSV do R₂.

Figura 8 – Micrografia eletrônica por varredura dos grânulos dos reatores R₁ e R₂ (etapa III).



Ao contrário do observado no presente trabalho, Zhao *et al.* (2015) reportaram aumento de SPE em um sistema de LGA tratando água residuária sintética (1000 mg DQO L⁻¹, 90-110 mg NH₄⁺-N L⁻¹ e 4-7 mg PO₄³⁻-P L⁻¹) em ciclos de 3 h após a adição de cinco fármacos (ibuprofeno, naproxeno, prednisolona, norfloxacino e sulfametoxazona, a 50 µg L⁻¹ cada). Segundo os autores, esse aumento foi o mecanismo de defesa dos microrganismos contra a toxicidade dos micropoluentes adicionados.

5.2 Remoção de matéria orgânica, N e P

Os resultados de remoção de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo são apresentados na Tabela 3. Durante todo o período de operação, a eficiência de remoção de DQO foi superior a 90% nos dois reatores, indicando que o lodo apresentava grande atividade biológica, mesmo com a presença de parabenos. Para o nitrogênio, a eficiência de remoção cresceu da etapa I para as duas últimas, mantendo-se maior que 74% na etapa de maturação e estabilização (etapa III). A nitrificação foi bastante satisfatória em ambos os reatores, apresentando-se superior a 92% desde o início da operação, sugerindo que o lodo era rico em BOAs e BONs. No entanto, entre a etapa I e as subsequentes, foi observado um aumento no processo de desnitrificação, possivelmente relacionado ao crescimento dos grânulos, que favoreceu o estabelecimento da zona anóxica/anaeróbia neles e, conseqüentemente, o mecanismo de nitrificação e desnitrificação simultâneas. Já para a remoção de fósforo, o processo de granulação com a distribuição de fases no ciclo operacional, com fase anaeróbia de 1,5 h, favoreceu o metabolismo dos microrganismos, havendo um aumento na eficiência de remoção da etapa I para a etapa III (de 55 para 73%, no R₁, e de 51 para 69%, no R₂), cuja concentração efluente de fósforo manteve-se em torno de 2 mg L⁻¹, para os dois reatores.

Embora não tenham sido encontrados trabalhos que relatem o efeito de parabenos sobre a atividade dos microrganismos responsáveis pela remoção de matéria orgânica, N e P, há alguns estudos com outros tipos de micropoluentes (Amorim *et al.*, 2016; Moreira *et al.*, 2015). Por exemplo, Amorim *et al.* (2016) avaliaram o desempenho de um RBS de LGA (ciclos de 6 h, taxa de troca volumétrica de 40% e TDH de 9,7 h) na presença de uma mistura de oito fármacos quirais (alprenolol, bisoprolol, metoprolol, propranolol, venlafaxina, salbutamol, fluoxetina e norfluoxetina, a 1,3 µg L⁻¹ cada). Os resultados mostraram que, após a alimentação anaeróbia, tanto a absorção de DQO quanto a liberação de P diminuíram porque, provavelmente, a atividade dos OAFs foi afetada. Os autores também relataram que a nitrificação foi afetada pela presença dos micropoluentes. Moreira *et al.* (2015), ao avaliarem a influência de elevada concentração de fluoxetina (1,2 mg L⁻¹) em um RBS de LGA operado em ciclos de 12 h, observaram que, enquanto a remoção de DQO não foi afetada, a remoção de fosfato e amônio foi seriamente prejudicada.

Tabela 3 – Eficiência de remoção de matéria orgânica, N e P dos reatores R₁ e R₂.

Reator		R ₁			R ₂		
Etapa		I	II	III	I	II	III
DQO	Afluente (mg L ⁻¹)	578 ± 97	602 ± 65	571 ± 70	611 ± 60	561 ± 23	590 ± 56
	Efluente (mg L ⁻¹)	53 ± 20	28 ± 10	42 ± 17	36 ± 16	20 ± 8	45 ± 20
	Eficiência (%)	91 ± 9	95 ± 3	92 ± 3	93 ± 3	98 ± 1	92 ± 3
Frações de nitrogênio	NH ₄ ⁺ afluente (mg NH ₄ ⁺ -N L ⁻¹)	64,9 ± 10,9	54,9 ± 5,1	50,1 ± 5,5	60,4 ± 12,1	57,5 ± 10,6	52,2 ± 3,1
	NH ₄ ⁺ efluente (mg NH ₄ ⁺ -N L ⁻¹)	5,1 ± 2,2	1,9 ± 0,5	3,5 ± 1,5	2,2 ± 1,7	2,4 ± 0,6	3,6 ± 1,5
	NO ₂ ⁻ efluente (mg NO ₂ ⁻ -N L ⁻¹)	10,3 ± 4,5	2,9 ± 1,5	2,2 ± 0,7	9,9 ± 5,7	2,1 ± 0,9	2,8 ± 0,9
	NO ₃ ⁻ efluente (mg NO ₃ ⁻ -N L ⁻¹)	6,0 ± 2,6	7,1 ± 1,6	6,5 ± 1,4	6,8 ± 2,0	6,7 ± 2,3	7,0 ± 0,9
	Eficiência de nitrificação (%)	92,5 ± 6,4	96,3 ± 1,1	92,9 ± 3,1	96,4 ± 7,7	95,6 ± 1,4	92,0 ± 3,0
	Eficiência de remoção de nitrogênio total (%)	68,3 ± 9,0	77,9 ± 2,6	75,0 ± 3,0	69,4 ± 7,0	79,1 ± 6,3	74,0 ± 4,5
	Fósforo	Afluente (mg PO ₄ ³⁻ -P L ⁻¹)	7,5 ± 0,9	7,7 ± 0,7	7,4 ± 0,7	7,1 ± 0,9	7,7 ± 0,7
Efluente (mg PO ₄ ³⁻ -P L ⁻¹)		3,3 ± 0,7	2,1 ± 0,4	1,9 ± 0,4	3,5 ± 1,1	2,3 ± 0,5	2,1 ± 0,4
Eficiência (%)		55,0 ± 10,0	71,9 ± 5,3	73,1 ± 5,8	51,3 ± 14,2	69,5 ± 9,0	69,2 ± 8,1

5.3 Remoção de parabenos

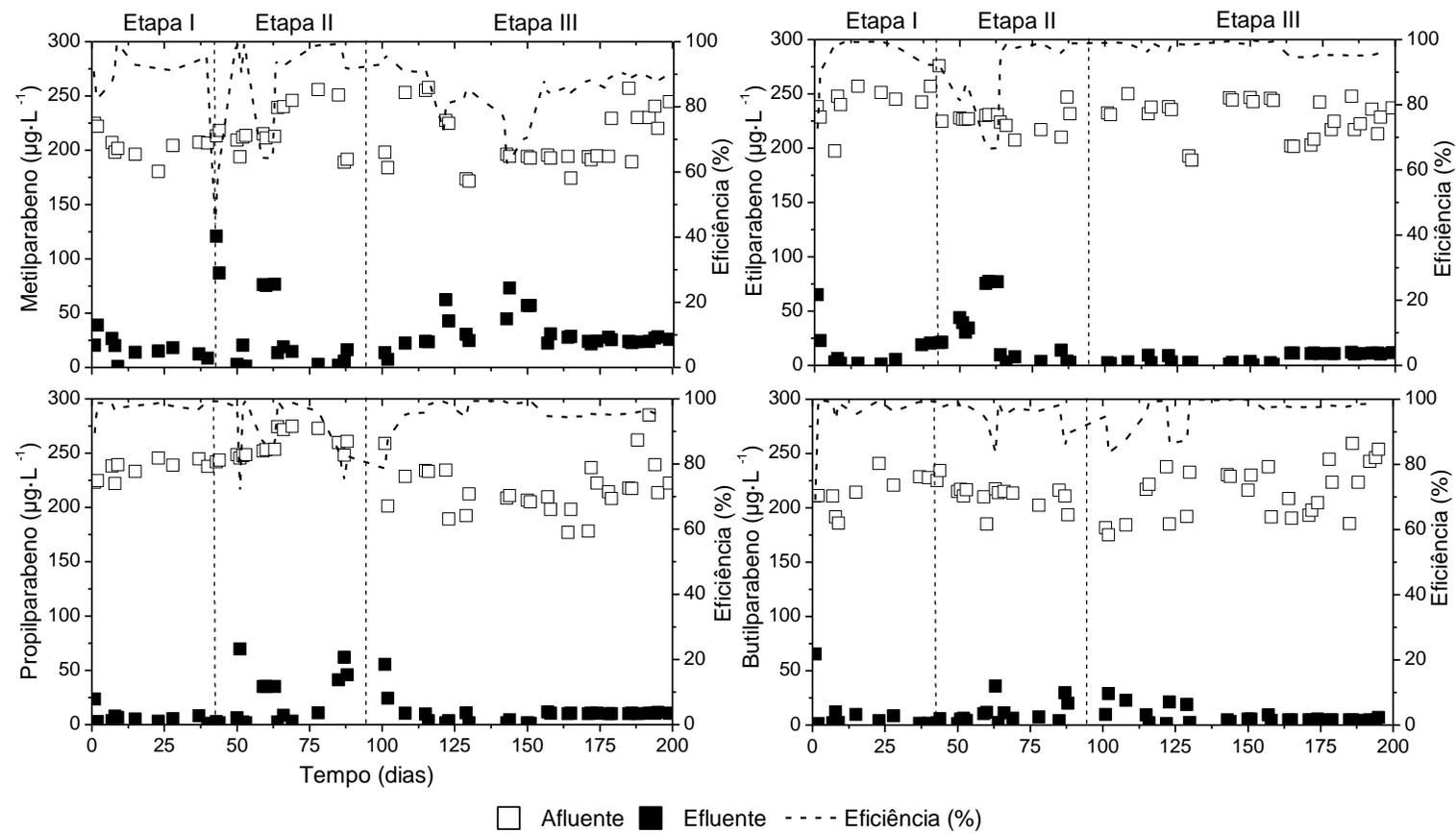
Já na etapa I, o sistema alcançou altas eficiências médias de remoção para todos os compostos (> 90%), sendo o menor valor obtido para o MeP (Tabela 4). Porém, na etapa II, com exceção do BuP, essas eficiências foram afetadas negativamente, principalmente as de MeP e de EtP (Tabela 4), cujos valores mínimos foram próximos a 50 e 65%, respectivamente (Figura 9). Provavelmente, a diminuição do tempo de sedimentação de 20 para 10 min foi responsável pela instabilidade inicial observada (Figura 9).

Tabela 4 – Valores médios das concentrações afluentes e efluentes e das eficiências de remoção de parabenos do reator R₂.

Etapa		I	II	III
MeP	Afluente ($\mu\text{g L}^{-1}$)	205 \pm 9	219 \pm 17	210 \pm 24
	Efluente ($\mu\text{g L}^{-1}$)	17 \pm 7	14 \pm 7	31 \pm 11
	Eficiência (%)	91,6 \pm 3,3	84,5 \pm 15,8	85,1 \pm 5,6
EtP	Afluente ($\mu\text{g L}^{-1}$)	245 \pm 16	247 \pm 28	223 \pm 24
	Efluente ($\mu\text{g L}^{-1}$)	15 \pm 14	18 \pm 9	7 \pm 4
	Eficiência (%)	94,0 \pm 5,6	87,6 \pm 9,7	93,7 \pm 6,2
PrP	Afluente ($\mu\text{g L}^{-1}$)	235 \pm 7	256 \pm 10	212 \pm 25
	Efluente ($\mu\text{g L}^{-1}$)	7 \pm 4	14 \pm 9	11 \pm 6
	Eficiência (%)	97,1 \pm 1,7	91,6 \pm 8,1	91,8 \pm 7,9
BuP	Afluente ($\mu\text{g L}^{-1}$)	214 \pm 12	212 \pm 8	213 \pm 38
	Efluente ($\mu\text{g L}^{-1}$)	10 \pm 4	11 \pm 7	7 \pm 5
	Eficiência (%)	95,1 \pm 5,4	95,1 \pm 3,5	93,1 \pm 8,3

Após o reator atingir a estabilização na etapa II, o tempo de sedimentação foi diminuído para 5 min (etapa III). Novamente, com exceção do EtP, observou-se oscilação inicial na eficiência de remoção de parabenos, principalmente na de MeP (Figura 9). Enquanto as eficiências de remoção de PrP e de BuP estabilizaram um pouco após o dia 125 de operação (Figura 9), garantindo valores médios maiores do que 90% (Tabela 4), a eficiência de remoção de MeP continuou bastante instável até aproximadamente o dia 155 de operação, a partir do qual mostrou uma tendência crescente, alcançando valores próximos a 90% apenas no fim do experimento (Figura 9). Consequentemente, a eficiência média de remoção de MeP permaneceu semelhante à da etapa anterior (85%) e a menor dos quatro compostos testados (Tabela 4).

Figura 9 – Concentrações afluentes e efluentes e eficiências de remoção de parabenos do reator R₂.



As eficiências obtidas no presente trabalho estão dentro da mesma faixa de eficiências globais de remoção de parabenos ($< 5 \mu\text{g L}^{-1}$) de ETEs do tipo lodo ativado (60-100% dependendo do composto) (GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2011; KARTHIKRAJ *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2015; WANG; KANNAN, 2016). Contudo, normalmente, não é especificado que unidade de tratamento (primário, secundário ou terciário) é a principal responsável por essa remoção.

Em sistemas de lodo ativado, a remoção de parabenos pode ser resultante da ação conjunta dos processos de biodegradação e adsorção (LU *et al.*, 2018). Sun *et al.* (2014) observaram elevadas eficiências de remoção de MeP ($140\text{-}270 \text{ ng L}^{-1}$) e PrP ($125\text{-}390 \text{ ng L}^{-1}$) já no tratamento primário de uma ETE composta por valo de oxidação seguido de desinfecção UV, atingindo valores máximos próximos a 70% e 50% para o MeP e o PrP, respectivamente. Logo, esses autores sugeriram a adsorção como um processo significativo de remoção de parabenos. Por outro lado, Lu *et al.* (2018), em ensaios em batelada com lodo ativado ($5,5 \text{ g SS L}^{-1}$) sob condições aeróbias, não observaram remoção significativa de MeP, EtP, PrP e BuP (1 mg L^{-1} cada) por adsorção (1-15%).

Com relação à preferência de remoção dos compostos, embora não haja uma tendência clara de que parabenos são mais facilmente removidos nas ETEs supracitadas, González-Mariño *et al.* (2011) e Lu *et al.* (2018) observaram que, sob condições aeróbias, os parabenos de cadeia alquílica mais longa são degradados mais rapidamente. Por outro lado, é válido mencionar que Wu *et al.* (2017) observaram esse mesmo comportamento apenas sob condições anaeróbias, não havendo diferença significativa na cinética de degradação aeróbia dos parabenos testados. Logo, de maneira geral, o MeP parece ser o mais recalcitrante dos parabenos, o que pode justificar as menores eficiências de remoção obtidas no presente trabalho para esse composto (Tabela 4).

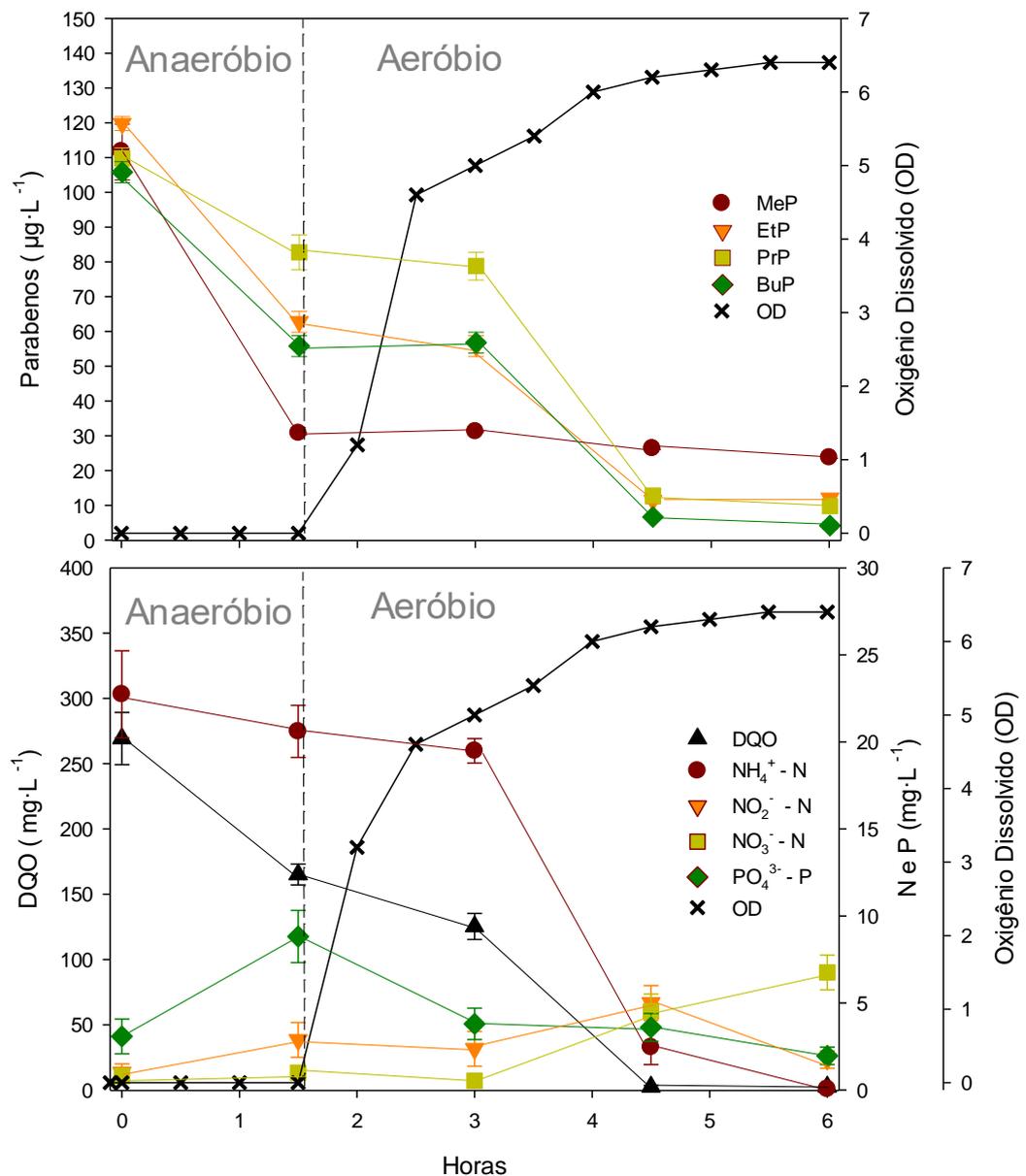
5.4 Perfil de remoção de parabenos, matéria orgânica, N e P ao longo do ciclo

A fim de avaliar, mais detalhadamente, a remoção dos parabenos no sistema de LGA e identificar uma possível correlação com a ação de determinados grupos microbianos funcionais responsáveis pela remoção de matéria orgânica, N e P, foram realizados ensaios para determinação do perfil de remoção desses elementos e dos parabenos ao longo do ciclo (Figura 10).

Na fase anaeróbia, todos os parabenos foram removidos concomitantemente com o consumo de matéria orgânica por organismos heterotróficos ordinários (OHOs),

principalmente, assim como por acumuladores de fósforo (OAFs) e de glicogênio (OAGs) (Figura 10). Portanto, aparentemente, a presença de um cossustrato facilmente biodegradável (acetato) não atrapalhou a remoção de parabenos.

Figura 10 – Remoção de parabenos (a), matéria orgânica, N e P (b) ao longo de um ciclo do reator R₂ no final da etapa III.



Por estarem em concentrações muito baixas, é bastante improvável que esses compostos sejam utilizados como fonte principal de carbono e energia por algum grupo de microrganismos. Logo, a hipótese mais provável é que micropoluentes sejam degradados por

vias cometabólicas pela ação de enzimas não específicas (FISCHER; MAJEWSKY, 2014). De fato, Fan e Wang (2017) observaram efeito cometabólico na remoção de elevadas concentrações de MeP, EtP e PrP (50 mg L^{-1}) quando foram adicionados a esgoto sintético contendo 50 mg DQO L^{-1} em um filtro horizontal aberto. Porém, é importante mencionar que, mesmo quando esses parabenos eram dissolvidos somente em água, ou seja, na ausência de um cossustrato orgânico, eles eram efetivamente removidos, embora com eficiências menores, pois estavam em quantidades suficientes para serem utilizados como fonte de carbono e energia pela microbiota do sistema de tratamento (FAN; WANG, 2017).

As remoções de parabenos, na fase anaeróbia, foram bastante expressivas, particularmente a do MeP (~70%) (Figura 10). Entretanto, isso não era esperado, principalmente considerando o curto tempo dessa fase (1,5 h), pois a degradação de parabenos, normalmente, é bastante lenta sob condições anaeróbias e anóxicas (WU *et al.*, 2017). Logo, muito provavelmente, a adsorção teve um papel importante na remoção desses compostos. Em contraste, Ashfaq *et al.* (2017) registraram eficiências de remoção de MeP (166 ng L^{-1}) e PrP (170 ng L^{-1}) acima de 70% no tanque anaeróbio de um sistema de tratamento A2/O (TDH não especificado), em que a remoção por adsorção foi mínima. Todavia, o LGA possui teor de SPE bem maior do que o LA, e estas estão diretamente relacionadas à remoção de compostos recalcitrantes em sistemas granulares aeróbios (ROLLEMBERG *et al.*, 2018). Portanto, a hipótese de adsorção não pode ser desprezada.

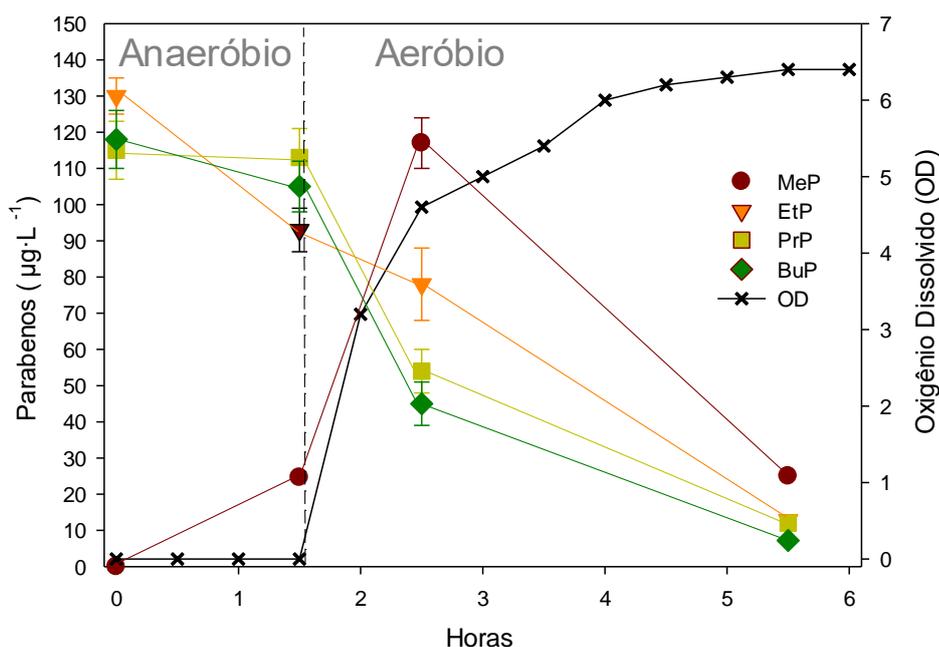
Após 1,5 h de aeração (3 h de ciclo), com o aumento do OD e o início da nitrificação, houve redução da concentração de EtP, PrP e BuP juntamente com a de DQO e amônio, estabilizando-se quando o cossustrato (acetato) foi quase totalmente consumido e o nitrogênio amoniacal atingiu concentrações abaixo de 3 mg L^{-1} às 4,5 h do ciclo (Figura 10). Esses resultados reforçam a hipótese de cometabolismo como principal mecanismo de remoção de micropoluentes, especialmente pela atividade das BOAs, já que sua enzima não específica amônia mono-oxigenase é capaz de degradar uma série de compostos (NSENGA KUMWIMBA; MENG, 2019). Com relação ao metabolismo de acumulação de fósforo, aparentemente, aconteceu independentemente da remoção de parabenos (Figura 10).

Inesperadamente, o MeP apresentou concentração praticamente constante durante toda a fase aeróbia (Figura 10a), contrariando os resultados reportados por Wu *et al.* (2017), em que os parabenos são rapidamente degradados sob condições aeróbias (tempo de meia-vida < 20 min). Uma hipótese que poderia justificar a aparente persistência de MeP no meio seria a conversão dos outros parabenos no referido composto durante o processo de degradação. Entretanto, segundo Wang *et al.* (2018a), tal conversão só acontece na presença de metanol por

meio da reação de transesterificação (Figura 5). Na ausência de álcoois, a degradação dos parabenos ocorre por meio de hidrólise da ligação éster, sendo gerados um álcool e o ácido p-hidroxibenzoico (WANG *et al.*, 2018a), o qual pode ser posteriormente biotransformado em fenol (VALKOVA *et al.*, 2001) ou ácido benzoico (WU *et al.*, 2017) (Figura 5). Portanto, no presente trabalho, em que o cossustrato utilizado era o acetato, é bastante improvável a formação de MeP por transesterificação.

Para verificar a hipótese de conversão dos parabenos maiores em MeP, inicialmente, o R₂ foi alimentado com água residuária sintética livre de parabenos até que não fossem mais detectados no efluente (~15 dias). Então, passou a ser suplementado apenas com EtP, PrP e BuP, e, após 7 dias de operação, fez-se uma nova análise de ciclo (Figura 11).

Figura 11 – Remoção de parabenos ao longo de um ciclo do reator R₂ quando alimentado sem MeP.



Durante a fase anaeróbica, os três compostos começaram a ser removidos (principalmente o EtP) (Figura 11), porém não com a mesma intensidade observada no teste anterior, com os quatro parabenos (Figura 10). Interessantemente, o MeP foi detectado em concentração aproximada de 25 µg L⁻¹ logo no final da fase anaeróbica (Figura 11). Isso reforça a hipótese de que há biotransformação dos parabenos testados em MeP sob essas condições e que a remoção não é resultado exclusivo de adsorção, embora ela ainda possa ter um papel relevante, já que a concentração de MeP esperada, levando em consideração a reação

supracitada, era de aproximadamente $40 \mu\text{g L}^{-1}$. Todavia, também é provável que uma fração do MeP não recuperado ($\sim 15 \mu\text{g L}^{-1}$) tenha sido biotransformada.

Na fase aeróbia, o EtP, o PrP e o BuP foram degradados mais expressivamente (Figura 11) como observado anteriormente (Figura 10). Quando o OD atingiu uma concentração maior do que 4 mg L^{-1} (2,5 h de ciclo), a concentração de MeP foi aproximadamente $125 \mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 11), um pouco menor do que a esperada ($\sim 150 \mu\text{g L}^{-1}$), reforçando a hipótese proposta e indicando que a reação pode ocorrer independentemente das condições redox. A partir de então, todos os compostos foram removidos, e, ao final dessa fase, as concentrações de EtP, PrP e BuP foram menores do que $15 \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto a do MeP foi próxima a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 11), semelhantes às encontradas nos ciclos anteriores (Figura 10). É importante enfatizar que, apesar de o MeP ter sido apontado como um provável intermediário da degradação anaeróbia e aeróbia dos parabenos de cadeia alquílica mais longa, investigações mais aprofundadas sobre as rotas de degradação de parabenos devem ser conduzidas, incluindo o monitoramento de outros intermediários citados na literatura, como o ácido p-hidroxibenzoico, o fenol e o ácido benzoico, para confirmar a hipótese levantada.

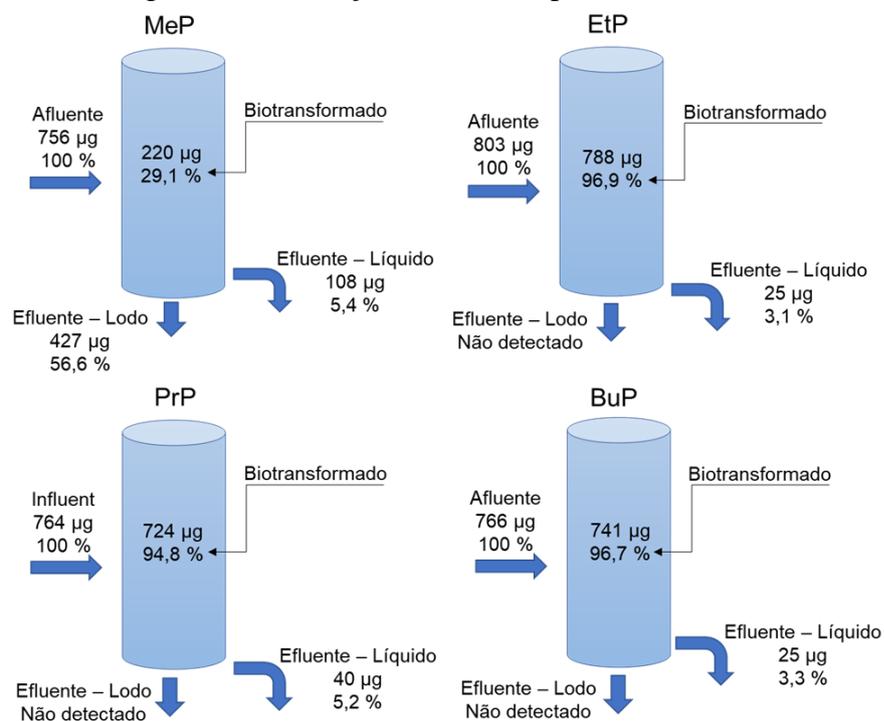
5.5 Balanço de massa de parabenos

Como mencionado anteriormente, outro provável mecanismo de remoção de parabenos, além da biodegradação, é a adsorção no lodo, uma vez que é característico do LGA adsorver micropoluentes nas SPE (NANCHARAI AH; REDDY, 2018). Quando o R₂ foi alimentado com água residuária sintética contendo os quatro parabenos, apenas o MeP foi detectado no lodo ($\sim 300 \mu\text{g g}^{-1}$). Logo, para esse composto, a adsorção foi o principal mecanismo de remoção ($\sim 57\%$). Por outro lado, a remoção dos parabenos de cadeia alquílica maior ocorreu predominantemente por biotransformação (94-97%), já que não foram detectados no lodo (Figura 12). Considerando a hipótese de que o MeP é um dos intermediários da rota de degradação deles, foi estimado o balanço de massas dos poluentes no reator, em termos de MeP. Constatou-se que a fração de poluente que sofreu biotransformação no reator foi de 76,7%, enquanto 6,5% foram eliminados no efluente líquido, e 16,8%, no lodo de descarte.

Ashfaq *et al.* (2017), ao avaliarem um sistema A2/O durante o tratamento de água residuária contendo 166 ng L^{-1} de MeP e 170 ng L^{-1} de PrP, verificaram que 88,6% da carga diária de MeP e 93,5% da de PrP foram removidos por biotransformação, enquanto a adsorção no lodo de descarte foi responsável por apenas 1,4% e 0,3% da remoção de MeP e PrP,

respectivamente. Li *et al.* (2015), também em um sistema A2/O, observaram que os parabenos de cadeia alquílica mais longa (EtP, PrP e BuP em concentrações de 140, 438 e 28 ng L⁻¹) foram quase totalmente removidos (>99%), sendo majoritariamente removidos por biotransformação (95-99%). Por outro lado, assim como no presente trabalho, o MeP (567 ng L⁻¹) teve uma parcela significativa removida por adsorção (no lodo primário e de descarte) (~22%), mas a biotransformação ainda foi o principal mecanismo de remoção do sistema, diferentemente dos resultados supracitados (Figura 12).

Figura 12 – Balanço de massa de parabenos no R₂.

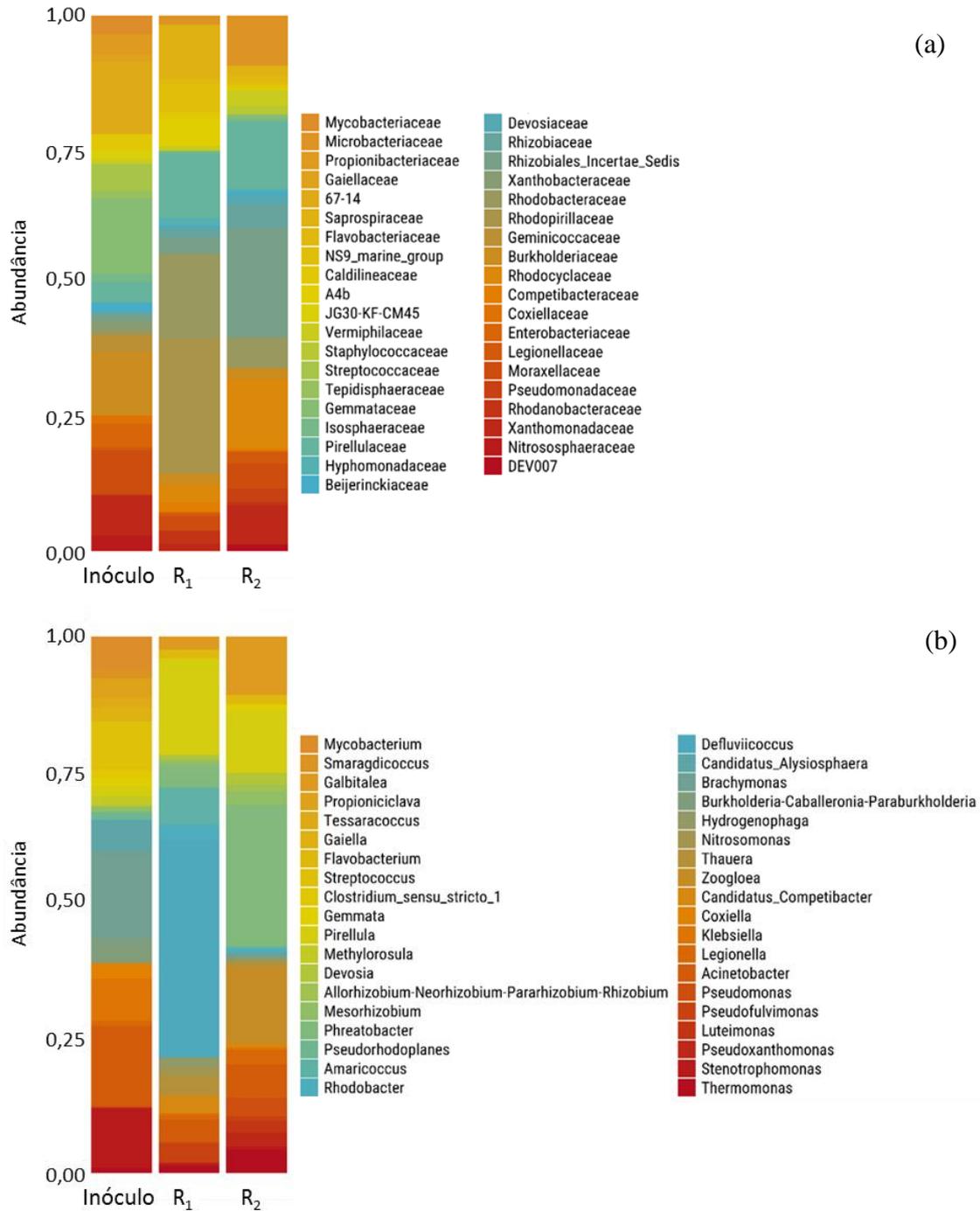


5.6 Caracterização microbiológica

A análise microbiológica foi realizada no lodo de inóculo e nos lodos do R₁ e do R₂ no dia 180 de operação. O lodo de inóculo apresentou 28 famílias diferentes de microrganismos, sendo as de maiores abundâncias: Burkholderiaceae (20,7%), Moraxellaceae (14,8%), Xanthomonadaceae (13,5%), Streptococcaceae (9%), Enterobacteriaceae (7,9%) e Mycobacteriaceae (6,2%). Com o processo de granulação, o lodo do R₁ apresentou 32 famílias, sendo as mais abundantes: Rhodospirillaceae (39,3%), Pirellulaceae (17,4%), Rhodobacteraceae (9,8%) e Moraxellaceae (4%). Em contraste, no lodo do R₂, foram identificadas 29 famílias, sendo as de maior proporção: Rhizobiales incertae sedis (25,8%), Rhodocyclaceae (14,7%), Pirellulaceae (11,5%), Microbacteriaceae (10,6%) e Moraxellaceae

(6,1%) (Figura 13a). Portanto, a presença de parabenos parece ter influenciado a dinâmica populacional durante o processo de granulação, refletindo, consequentemente, nas características físico-químicas do grânulo (item 5.1).

Figura 13 – Diversidade dos microrganismos por família (a) e gênero (b) do inóculo e dos reatores R_1 e R_2 .



A Figura 13b apresenta a diversidade de microrganismos por gênero, presentes no lodo de inóculo e nos reatores. Observou-se que, nas três amostras, a predominância foi de bactérias heterotróficas. No R₁, os gêneros dominantes são *Defluviicoccus* (39,3%), que são organismos desnitrificantes acumuladores de glicogênio (ODAGs), e *Amaricoccus* (6,7%), que são OAGs (FALVO *et al.*, 2001; WONG; LIU, 2007). Já no R₂, predominaram os gêneros *Phreatobacter* (25,8%), que são OHOs (TÓTH *et al.*, 2014), e *Zoogloea* (14,1%), que são desnitrificantes. Segundo Rollemberg *et al.* (2018), os OHOs não têm um papel direto na granulação. Assim, o fato de estarem em abundância no R₂ pode estar relacionado com a estrutura frágil dos grânulos. Ainda que o gênero *Zoogloea* seja reportado como produtora de SPE (TANSEL, 2018), ele estava em menor quantidade.

As nitrificantes são caracterizadas pela presença das BOAs do gênero *Nitrosomonas* (1,5% no R₁ e 0,5% no R₂) e das BONs do gênero *Candidatus Nitrotoga* (0,7% no R₁ e 0,1% R₂) (LÜCKER *et al.*, 2015; WAGNER *et al.*, 2000). Apesar de o R₂ apresentar menor quantidade de nitrificantes, a remoção de nitrogênio não foi prejudicada (Tabela 5). No entanto, a diferença de abundância pode estar relacionada à ação dos parabens na zona externa dos grânulos. Em contraste, Zhou *et al.* (2019) operaram um RBS de LA com ciclos de 12 h, TDH de 24 h e taxa de troca volumétrica de 40% na presença de ibuprofeno e constataram que esse micropoluentes, apesar de não ter ação antimicrobiana predominante, interferiu negativamente na nitrificação, pois inibiu o crescimento das BOAs e das BONs.

Com relação à remoção de fósforo, citam-se, principalmente, os OAFs do gênero *Acinetobacter* (MINO; VAN LOOSDRECHT; HEIJNEN, 1998), com abundância de 4%, no R₁, e 6,1%, no R₂. Como essas proporções são bem próximas, podem justificar a similaridade entre o desempenho dos dois reatores (Tabela 5).

Outro aspecto relevante é a produção de SPE. No R₁, foram identificados os gêneros produtores de SPE *Thauera* (3,3%) e *Thermomonas* (1,3%), enquanto, no R₂, *Zoogloea* (14,1%) e *Thermomonas* (4,2%). Ainda, esses grupos também estão relacionados com o processo de desnitrificação (LARSEN *et al.*, 2008; TANSEL, 2018; TIAN *et al.*, 2019). Embora o R₂ tenha apresentado abundância de produtores de SPE maior do que o R₁, o teor de SPE foi quase 30% menor, sobretudo devido ao menor teor de PN (Figura 7). Mesmo assim, os resultados evidenciam que a presença dos parabens pode ter gerado pressão seletiva que favoreceu a sobrevivência de bactérias produtoras de SPE, as quais são utilizadas como mecanismo de defesa contra agentes tóxicos (ROLLEMBERG *et al.*, 2018; TIAN *et al.*, 2019; ZHAO *et al.*, 2015).

Não foram encontrados estudos que relacionam a degradação de parabenos a grupos específicos de bactérias. Porém, alguns gêneros identificados no R₂ estão relacionados à degradação de compostos com estruturas semelhantes. Tian *et al.* (2019) afirmam que as SPE produzidas pelo gênero *Zoogloea* podem ser responsáveis por remover hidrocarbonetos aromáticos policíclicos por adsorção, podendo ser posteriormente degradados. Li *et al.* (2019) apontam que bactérias dos gêneros *Acinetobacter* e *Pseudomonas* estão relacionadas à degradação de fenol.

Finalmente, como não foram encontradas evidências de microrganismos específicos responsáveis pela degradação de parabenos, reforça-se a hipótese de que a degradação é, provavelmente, resultado de cometabolismo.

5.7 Testes respirométricos

A bioatividade do R₁ e R₂ foi quantificada com base na taxa de consumo de oxigênio (TCO) através da análise respirométrica. No início, as TCO_{end} das biomassas eram de 14,8 e 17,5 mg O₂ L⁻¹ h⁻¹, que correspondiam a um X_a de 1,1 e 0,8 mg X_a L⁻¹ para R₁ e R₂, respectivamente. Durante os testes de oxidação aeróbia para matéria orgânica (120 mg DQO L⁻¹), a razão TCO_{exo}/X_a máxima foi de 93,4 e 90,2 mg O₂ g X_a⁻¹ h⁻¹ para R₁ e R₂, respectivamente, indicando que não houve evidência de inibição desse grupo por parte dos parabenos nas concentrações testadas, como foi observado no item 5.2, em que as eficiências de remoção de DQO dos reatores foram superiores a 90%.

Os valores das constantes μ_m encontrados neste estudo, no R₁ e no R₂, foram 1,24 e 1,26 d⁻¹, respectivamente. Tais resultados permitem inferir que a presença dos parabenos não interferiu no metabolismo desses microrganismos, o que era esperado, já que os parabenos não apresentaram resistência de degradação e estavam na ordem de ng L⁻¹. Esses valores foram semelhantes aos reportados pela literatura. Liu *et al.* (2016) obtiveram valores entre 0,5 e 1,5 d⁻¹, e Rollemberg *et al.* (2019) obtiveram 0,9 d⁻¹.

Com relação aos organismos nitrificantes, os valores médios das constantes cinéticas encontram-se na Tabela 5. Pode-se perceber que a constante μ_m foi cinco vezes maior no R₁, para as BOAs, em comparação ao R₂, indicando que os parabenos prejudicaram bastante a atividade desse grupo, enquanto, para as BONs, percebe-se que esses compostos podem não ter sido prejudiciais, pois os valores de μ_m foram iguais. Zhou *et al.* (2019) operaram um RBS de LA com ciclos de 12 h, TDH de 24 h e taxa de troca volumétrica de 40% na presença de ibuprofeno e constataram que esse micropoluinte foi prejudicial para as BOAs e as BONs,

inibindo o crescimento delas. Logo, no presente estudo, é possível que o mesmo tenha acontecido com as BOAs na presença dos parabens.

Tabela 5 – Valores das constantes cinéticas das bactérias nitrificantes para os reatores R₁ (controle) e R₂ (parabens).

Reator	Grupo de bactéria	μ_m (d ⁻¹)
R ₁	BOAs	0,5
	BONs	0,1
R ₂	BOAs	0,1
	BONs	0,1

Essa diferença de crescimento entre BOAs e BONs, no R₁, permite inferir que há uma tendência de acúmulo de nitrito (XAVIER, 2017), já que teoricamente há uma alta taxa de conversão de amônia a nitrito, e baixa taxa de conversão deste a nitrato. Já no R₂, mesmo com μ_m iguais, pela Figura 10, percebe-se que durante 4,5 h do ciclo o nitrito aparece em concentração levemente maior, que marca o início da atividade das BONs. Entretanto, nos dois reatores, mesmo com essa limitação de BONs, os valores da eficiência de nitrificação mantiveram-se altos (superior a 92%) durante toda a operação, provavelmente porque o período aeróbio do ciclo é suficientemente grande para promover toda a conversão de NO₂⁻ a NO₃⁻. Comparando-se as constantes μ_m encontradas no R₁ com as de Rollemberg *et al.* (2019), os resultados foram parecidos, 0,3 d⁻¹ e 0,2 d⁻¹ para BOAs e BONs, respectivamente.

Para os organismos desnitrificantes, a Tabela 6 demonstra os valores das taxas de consumo médias de nitrogênio (mg N g SSV⁻¹ h⁻¹) da desnitrificação endógena e exógena, tanto via nitrito quanto via nitrato.

Tabela 6 – Taxas de consumo médias (mg N g SSV⁻¹ h⁻¹) no processo de desnitrificação para os reatores R₁ (controle) e R₂ (parabens).

Reator	Aceptor	Condição	
		Endógena	Exógena
R ₁	NO ₂ ⁻	7,1	37,5
	NO ₃ ⁻	3,9	50,2
R ₂	NO ₂ ⁻	12,1	70,9
	NO ₃ ⁻	7,4	106,9

Observa-se que todas as taxas de consumo médias sob a condição exógena, ou seja, utilizando a matéria orgânica extracelular (acetato) como doador de elétrons, foram consideravelmente maiores que a endógena, conforme esperado. No geral, os valores da taxa de consumo para a desnitrificação endógena foram menores que os obtidos por Rollemberg *et*

al. (2019) quando estes utilizaram LGA, porém maiores quando utilizaram lodo ativado (LA), principalmente via nitrito, possivelmente por causa da maior quantidade de SPE presente no LGA, o qual passa a ser utilizado como fonte de carbono, na ausência de acetato (HE *et al.*, 2018).

Outro fato observado é que, comparando-se uma mesma situação em reatores diferentes, as taxas de consumo médias foram maiores em todo o período no R₂, levantando uma hipótese de que, por possuírem menos SPE e apresentarem os microrganismos mais expostos, conforme mostra a Figura 8, os grânulos desse reator possibilitaram uma melhor penetração do substrato, fazendo com que os organismos desnitrificantes o consumissem mais rapidamente que os do R₁, os quais apresentaram grânulos mais compactos, e conseqüentemente, uma difusão mais dificultada. No entanto, tal aumento na rapidez das reações aparentemente não interferiu no resultado final, visto que as eficiências de remoção de nitrogênio foram semelhantes nos dois reatores.

Comparando-se os resultados obtidos nesta pesquisa com os de Rollemberg *et al.* (2019), na desnitrificação exógena, eles encontraram valores de 36,5 mg N-NO₂⁻ g SSV⁻¹ h⁻¹ e 57 mg N-NO₃⁻ g SSV⁻¹ h⁻¹ para o LGA, apresentando uma grande semelhança com os obtidos no R₁. Já na desnitrificação endógena, comparando-se esse mesmo reator (R₁), o valor médio foi similar para a via nitrito (8,0 mg N-NO₂⁻ g SSV⁻¹ h⁻¹) e bastante acima para a via nitrato (12,5 mg N-NO₃⁻ g SSV⁻¹ h⁻¹).

E, por fim, para os testes respirométricos de fósforo, analisaram-se as taxas de liberação e absorção de fosfato pelos OAFs e pelos ODAFs. No R₁, as taxas de liberação foram de aproximadamente 3 mg P-PO₄³⁻ g SSV⁻¹ h⁻¹, enquanto, no R₂, elas foram próximas de 1,5 mg P-PO₄³⁻ g SSV⁻¹ h⁻¹. Isso indica que os parabens interferiram na ação dos microrganismos responsáveis pela liberação de fósforo. No entanto, os dois reatores apresentaram valores menores que os obtidos por Rollemberg *et al.* (2019), que foi de aproximadamente 6,2 mg P-PO₄³⁻ g SSV⁻¹ h⁻¹.

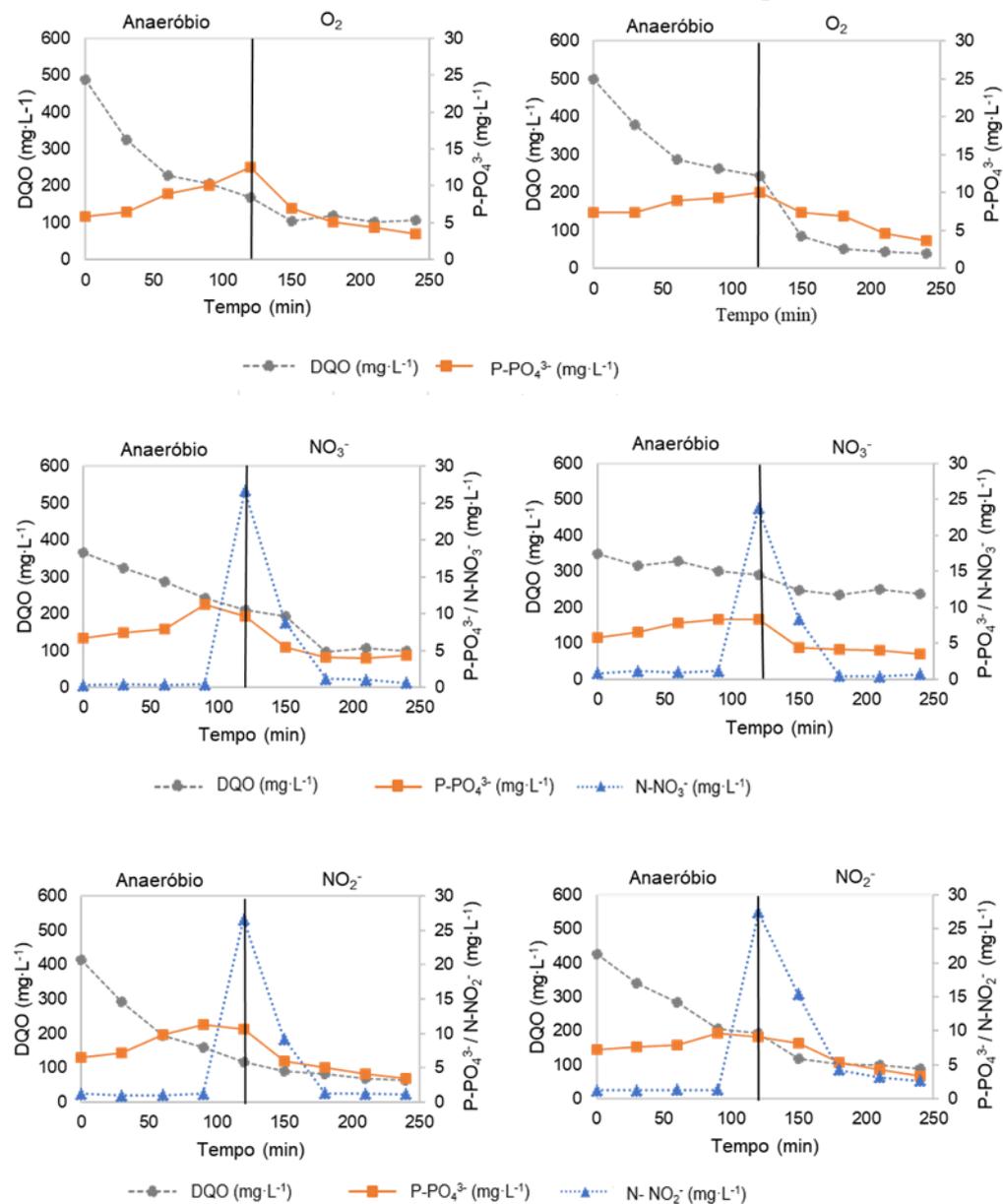
Quanto à absorção de fósforo, os dados estão apresentados na Tabela 7. Pode-se perceber que, no R₁, a absorção dos OAFs é bem maior que a dos ODAFs, isso pode indicar que existe maior quantidade do primeiro grupo no sistema em comparação com o segundo. Porém, no R₂, não houve grande diferença entre os valores de absorção dos OAFs e dos ODAFs. Comparando-se os dois reatores, a menor absorção dos OAFs apresentada pelo R₂ pode significar que a presença dos parabens interferiram negativamente na atividade desse grupo funcional de organismos. Para os ODAFs, as absorções nos dois reatores foram similares, indicando que a presença dos parabens provavelmente não interferiu na atividade desse grupo.

Tabela 7 – Valores de absorção de fosfato ($\text{mg P-PO}_4^{3-} \text{ g SSV}^{-1} \text{ h}^{-1}$) dos OAFs e ODAFs para os reatores R_1 (controle) e R_2 (parabenos).

Reator	Grupo de microrganismos		
	OAFs	ODAFs (via NO_3^-)	ODAFs (via NO_2^-)
R_1	4,5	2,4	2,1
R_2	2,3	1,8	2,0

A Figura 14 traz os gráficos de concentração de P-PO_4^{3-} ao longo do ensaio.

Figura 14 – Parâmetros biocinéticos dos OAFs e ODAFs em R_1 (esquerda) e R_2 (direita).



Nota-se que, após a introdução de O_2 (para os OAFs), a diminuição da concentração de fosfato foi mais acentuada em R_1 que em R_2 . Quando o aceptor final de elétrons era NO_3^- ou NO_2^- (para os ODAFs), houve uma diminuição sutil na concentração de fosfato, sendo os valores similares nos dois reatores. Entretanto, a concentração de fósforo, ao final de todos os testes, foi semelhante, em torno de 4 a 5 mg P- PO_4^{3-} L⁻¹.

6 CONCLUSÃO

Foi possível desenvolver grânulos aeróbios, na presença de parabenos, com boa sedimentabilidade, porém com estrutura frágil e desuniforme devido à menor produção de SPE, o que também afetou a concentração de sólidos do sistema.

Em relação à remoção de matéria orgânica, N e P, não foi evidenciado efeito significativo dos parabenos nas concentrações testadas.

Elevadas eficiências de remoção de parabenos foram alcançadas (> 85%), tendo sido verificado acumulado MeP, possivelmente por ser um intermediário na conversão dos demais parabenos. Embora os parabenos tenham sido parcialmente removidos na fase anaeróbia, a fase aeróbia foi a principal responsável pela remoção desses compostos, muito provavelmente por cometabolismo.

Enquanto a adsorção não contribuiu evidentemente para a remoção de EtP, PrP e BuP, foi o principal mecanismo de remoção de MeP (~57%), o qual foi sugerido como provável intermediário da degradação dos demais parabenos.

Os testes respirométricos mostraram que os parabenos nas concentrações testadas não alteraram a atividade dos organismos heterotróficos. Quanto aos organismos nitrificantes (BOAs e BONs), esses compostos afetaram negativamente apenas o crescimento das BOAs, porém isso não comprometeu a eficiência de nitrificação do sistema. Finalmente, em relação à remoção de N e P, enquanto a taxa de desnitrificação, via nitrito ou nitrato, foi maior no R₂, a taxa de absorção de P, notadamente dos OAFs, foi maior no R₁. Mesmo assim, não houve diferença significativa entre os desempenhos remoção de N e P dos dois reatores.

REFERÊNCIAS

- AB HALIM, M. H. et al. Aerobic sludge granulation at high temperatures for domestic wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 185, p. 445–449, 2015.
- AB HALIM, M. H. et al. Influence of high temperature on the performance of aerobic granular sludge in biological treatment of wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 184, p. 271–280, 2016.
- ADAV, S. S. et al. Aerobic granular sludge: Recent advances. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 5, p. 411–423, 2008.
- ADAV, S. S.; LEE, D.-J.; LAI, J.-Y. Potential cause of aerobic granular sludge breakdown at high organic loading rates. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 5, p. 1601–1610, 2010.
- AMORIM, C. L. et al. Treatment of a simulated wastewater amended with a chiral pharmaceuticals mixture by an aerobic granular sludge sequencing batch reactor. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 115, p. 277–285, 2016.
- AMORIM, C. L. et al. Bacterial community dynamics within an aerobic granular sludge reactor treating wastewater loaded with pharmaceuticals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, n. September 2017, p. 905–912, 2018.
- APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22. ed. Washington, DC, USA.: Amer Public Health Ass, 2012.
- ASHFAQ, M. et al. Occurrence, fate, and mass balance of different classes of pharmaceuticals and personal care products in an anaerobic-anoxic-oxic wastewater treatment plant in Xiamen, China. **Water Research**, v. 123, p. 655–667, 2017.
- BARROS, A. R. M. **Avaliação dos parâmetros cinéticos de biomassa gerada em sistemas de lodo ativado**. 2014. 104 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2014.
- BARROS, A. R. M. et al. Effect of calcium addition on the formation and maintenance of aerobic granular sludge (AGS) in simultaneous fill/draw mode sequencing batch reactors (SBRs). **Journal of Environmental Management**, v. 255, 2020.
- BEUN, J. J. et al. Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. **Water Research**, v. 33, n. 10, p. 2283–2290, 1999.
- BŁEDZKA, D.; GROMADZIŃSKA, J.; WASOWICZ, W. Parabens. From environmental studies to human health. **Environment International**, v. 67, p. 27–42, 2014.
- BOBERG, J. et al. Possible endocrine disrupting effects of parabens and their metabolites. **Reproductive Toxicology**, v. 30, n. 2, p. 301–312, 2010.
- CANOSA, P. et al. Formation of halogenated by-products of parabens in chlorinated water.

Analytica Chimica Acta, v. 575, n. 1, p. 106–113, 2006.

CAPORASO, J. G. et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. SUPPL. 1, p. 4516–4522, 2011.

CHANDRAN, K.; SMETS, B. F. Single-step nitrification models erroneously describe batch ammonia oxidation profiles when nitrite oxidation becomes rate limiting. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 68, n. 4, p. 396, 2000.

CORSINO, S. F. et al. Cultivation of granular sludge with hypersaline oily wastewater. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 105, p. 192–202, 2015.

CORSINO, S. F. et al. Effect of extended famine conditions on aerobic granular sludge stability in the treatment of brewery wastewater. **Bioresource Technology**, v. 226, p. 150–157, 2017.

DARBRE, P. D. et al. Concentrations of Parabens in human breast tumours. **Journal of Applied Toxicology**, v. 24, n. 1, p. 5–13, 2004.

DARWISH, R. M.; BLOOMFIELD, S. F. The effect of co-solvents on the antibacterial activity of paraben preservatives. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 119, p. 183–192, 1995.

DE KREUK, M. K.; KISHIDA, N.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Aerobic granular sludge – state of the art. **Water Science & Technology**, v. 55, n. 8–9, p. 75, 2007.

DORON, S. et al. Antibacterial effect of parabens against planktonic and biofilm *Streptococcus sobrinus*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 18, p. 575–578, 2001.

FALVO, A. et al. Synthesis of intracellular storage polymers by *Amaricoccus kaplicensis*, a tetrad forming bacterium present in activated sludge. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 2, p. 299–305, 2001.

FAN, C.; WANG, S. C. Co-metabolic enhancement of organic removal from waste water in the presence of high levels of alkyl paraben constituents of cosmetic and personal care products. **Chemosphere**, v. 179, p. 306–315, 2017.

FIGUEROA, M. et al. Nitrogen removal in aerobic granular systems. **Environmental Technologies to Treat Nitrogen Pollution**, p. 432, 2009.

FIGUEROA, M. et al. Filamentous bacteria existence in aerobic granular reactors. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, n. 5, p. 841–851, 2015.

FISCHER, K.; MAJEWSKY, M. Cometabolic degradation of organic wastewater micropollutants by activated sludge and sludge-inherent microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 15, p. 6583–6597, 2014.

FRANCA, R. D. G. et al. Stability of aerobic granules during long-term bioreactor operation.

Biotechnology Advances, v. 36, n. 1, p. 228–246, 2018.

GONZÁLEZ-MARIÑO, I. et al. Evaluation of the occurrence and biodegradation of parabens and halogenated by-products in wastewater by accurate-mass liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry (LC-QTOF-MS). **Water Research**, v. 45, n. 20, p. 6770–6780, 2011.

GUIMARÃES, L. B. **Caracterização microbiológica do lodo granular na remoção de nutrientes e potencial de recuperação de exopolímeros de efluentes reatores em bateladas sequenciais**. 2017. 261 f. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

HAMAN, C. et al. Occurrence, fate and behavior of parabens in aquatic environments: A review. **Water Research**, v. 68, p. 1–11, 2015.

HAMZA, R. A.; IORHEMEN, O. T.; TAY, J. H. Occurrence, impacts and removal of emerging substances of concern from wastewater. **Environmental Technology and Innovation**, v. 5, p. 161–175, 2016.

HE, Q. et al. Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in aerobic granular sequencing batch reactors with high aeration intensity: Impact of aeration time. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 214–222, 2018.

JUANG, Y. C. et al. Stable aerobic granules for continuous-flow reactors: Precipitating calcium and iron salts in granular interiors. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 8051–8057, 2010.

KARTHIKRAJ, R. et al. Occurrence and fate of parabens and their metabolites in five sewage treatment plants in India. **Science of the Total Environment**, v. 593–594, p. 592–598, 2017.

KENT, J.; TAY, J. H. Treatment of 17 α -ethinylestradiol, 4-nonylphenol, and carbamazepine in wastewater using an aerobic granular sludge sequencing batch reactor. **Science of the Total Environment**, v. 652, p. 1270–1278, 2019.

LARSEN, P. et al. Amyloid-like adhesins produced by floc-forming and filamentous bacteria in activated sludge. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 5, p. 1517–1526, 2008.

LI, A. J. et al. Microbial population dynamics during aerobic sludge granulation at different organic loading rates. **Water Research**, v. 42, p. 3552–3560, 2008.

LI, D. et al. Aerobic granular sludge operation and nutrients removal mechanism in a novel configuration reactor combined sequencing batch reactor and continuous-flow reactor. **Bioresource Technology**, v. 292, 2019a.

LI, H. et al. Biodegradation of phenol in saline or hypersaline environments by bacteria: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 184, 2019b.

LI, W. et al. Occurrence, fate and risk assessment of parabens and their chlorinated

- derivatives in an advanced wastewater treatment plant. **Journal of Hazardous Materials**, v. 300, p. 29–38, 2015.
- LIAO, C.; KANNAN, K. Concentrations and composition profiles of parabens in currency bills and paper products including sanitary wipes. **Science of the Total Environment**, v. 475, p. 8–15, 2014.
- LIN, Y. M.; SHARMA, P. K.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. The chemical and mechanical differences between alginate-like exopolysaccharides isolated from aerobic flocculent sludge and aerobic granular sludge. **Water Research**, v. 47, n. 1, p. 57–65, 2013.
- LIU, Y. et al. A general model for biosorption of Cd²⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ by aerobic granules. **Journal of Biotechnology**, v. 102, n. 3, p. 233–239, 2003.
- LIU, Y.; LIU, Q. S. Causes and control of filamentous growth in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 1, p. 115–127, 2006.
- LIU, Y. Q. et al. Formation, physical characteristics and microbial community structure of aerobic granules in a pilot-scale sequencing batch reactor for real wastewater treatment. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 46, n. 6, p. 520–525, 2010.
- LIU, Y. Q. et al. Effects of hydraulic retention time on aerobic granulation and granule growth kinetics at steady state with a fast start-up strategy. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 1, p. 469–477, 2016a.
- LIU, Y.; TAY, J. H. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. **Water Research**, v. 36, n. 7, p. 1653–1665, 2002.
- LIU, Y.; WANG, Z.; TAY, J. A unified theory for upscaling aerobic granular sludge sequencing batch reactors. **Biotechnology Advances**, v. 23, n. 5, p. 335–344, 2005.
- LIU, Z. et al. Poly aluminum chloride (PAC) enhanced formation of aerobic granules: Coupling process between physicochemical-biochemical effects. **Chemical Engineering Journal**, v. 284, p. 1127–1135, 2016b.
- LONG, B. et al. Rapid cultivation of aerobic granular sludge in a pilot scale sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 57–63, 2014.
- LÓPEZ-SERNA, R. et al. Multiresidue analytical method for pharmaceuticals and personal care products in sewage and sewage sludge by online direct immersion SPME on-fiber derivatization – GCMS. **Talanta**, v. 186, p. 506–512, 2018.
- LU, J. et al. Biodegradation of four selected parabens with aerobic activated sludge and their transesterification product. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 156, p. 48–55, 2018.
- LÜCKER, S. et al. Nitrotoga-like bacteria are previously unrecognized key nitrite oxidizers in full-scale wastewater treatment plants. **ISME Journal**, v. 9, n. 3, p. 708–720, 2015.
- LV, Y. et al. Microbial communities of aerobic granules: Granulation mechanisms.

Bioresource Technology, v. 169, p. 344–351, 2014.

MA, W. L. et al. Concentrations and fate of parabens and their metabolites in two typical wastewater treatment plants in northeastern China. **Science of the Total Environment**, v. 644, p. 754–761, 2018a.

MA, X. et al. Occurrence of benzophenones, parabens and triclosan in the Yangtze River of China, and the implications for human exposure. **Chemosphere**, v. 213, p. 517–525, 2018b.

MERY-ARAYA, C. et al. Using carbon substrate as a selection pressure to enhance the potential of aerobic granular sludge microbial communities for removing contaminants of emerging concern. **Bioresource Technology**, v. 290, 2019.

MINO, T.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. **Water Research**, v. 32, n. 11, p. 3193–3207, 1998.

MOREIRA, I. S. et al. Removal of fluoxetine and its effects in the performance of an aerobic granular sludge sequential batch reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 287, p. 93–101, 2015.

MORGENROTH, E. et al. Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor. **Water Research**, v. 31, n. 12, p. 3191–3194, 1997.

NANCHARAI AH, Y. V.; REDDY, G. K. K. Aerobic granular sludge technology: Mechanisms of granulation and biotechnological applications. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1128–1143, 2018.

NANCHARAI AH, Y. V.; SARVAJITH, M.; LENS, P. N. L. Selenite reduction and ammoniacal nitrogen removal in an aerobic granular sludge sequencing batch reactor. **Water Research**, v. 131, p. 131–141, 2018.

NANCHARAI AH, Y. V.; SARVAJITH, M. Aerobic granular sludge process: A fast growing biological treatment for sustainable wastewater treatment. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 12, p. 57–65, 2019.

NOWAK, K. et al. Parabens and their effects on the endocrine system. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 474, p. 238–251, 2018.

NSENGA KUMWIMBA, M.; MENG, F. Roles of ammonia-oxidizing bacteria in improving metabolism and cometabolism of trace organic chemicals in biological wastewater treatment processes: A review. **Science of the Total Environment**, v. 659, p. 419–441, 2019.

PEYONG, Y. N. et al. The effect of organic loading rates and nitrogenous compounds on the aerobic granules developed using low strength wastewater. **Biochemical Engineering Journal**, v. 67, p. 52–59, 2012.

PISHGAR, R. et al. Influence of operation mode and wastewater strength on aerobic granulation at pilot scale: Startup period, granular sludge characteristics, and effluent quality. **Water Research**, v. 160, p. 81–96, 2019.

- RAMOS, C.; SUÁREZ-OJEDA, M. E.; CARRERA, J. Long-term impact of salinity on the performance and microbial population of an aerobic granular reactor treating a high-strength aromatic wastewater. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 844–851, 2015.
- ROLLEMBERG, S. L. DE S. et al. Aerobic granular sludge: Cultivation parameters and removal mechanisms. **Bioresource Technology**, v. 270, p. 678–688, 2018.
- ROLLEMBERG, S. L. DE S. et al. Effects of carbon source on the formation, stability, bioactivity and biodiversity of the aerobic granule sludge. **Bioresource Technology**, v. 278, p. 195–204, 2019a.
- ROLLEMBERG, S. L. DE S. et al. Influence of sequencing batch reactor configuration on aerobic granules growth: engineering and microbiological aspects. **Journal of Cleaner Production**, v. 238, 2019b.
- ROLLEMBERG, S. L. DE S. et al. Comparison of the dynamics, biokinetics and microbial diversity between activated sludge flocs and aerobic granular sludge. **Bioresource Technology**, v. 294, 2019c.
- SARMA, S. J.; TAY, J. H.; CHU, A. Finding Knowledge Gaps in Aerobic Granulation Technology. **Trends in Biotechnology**, v. 35, n. 1, p. 66–78, 2017.
- SCHWARZENBECK, N.; ERLEY, R.; WILDERER, P. A. Aerobic granular sludge in an SBR-system treating wastewater rich in particulate matter. **Water Science Technology**, v. 49, n. 11–12, p. 41–46, 2004.
- SENGAR, A. et al. Aerobic granulation technology: Laboratory studies to full scale practices. **Journal of Cleaner Production**, v. 197, p. 616–632, 2018.
- SHOW, K.-Y.; LEE, D.-J.; TAY, J.-H. Aerobic Granulation: Advances and Challenges. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 167, n. 6, p. 1622–1640, 2012.
- SILVA FILHO, H. A. et al. Seleção de substratos padrões para ensaios respirométricos aeróbios com biomassa de sistemas de lodo ativado. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 20, n. 1, p. 141–150, 2015.
- SUN, Q. et al. Seasonal variation in the occurrence and removal of pharmaceuticals and personal care products in a wastewater treatment plant in Xiamen, China. **Journal of Hazardous Materials**, v. 277, p. 69–75, 2014.
- SZABÓ, E. et al. Microbial population dynamics and ecosystem functions of anoxic/aerobic granular sludge in sequencing batch reactors operated at different organic loading rates. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1–14, 2017.
- TANSEL, B. Morphology, composition and aggregation mechanisms of soft bioflocs in marine snow and activated sludge: A comparative review. **Journal of Environmental Management**, v. 205, p. 231–243, 2018.
- TERASAKI, M.; TAKEMURA, Y.; MAKINO, M. Paraben-chlorinated derivatives in river

waters. **Environmental Chemistry Letters**, v. 10, n. 4, p. 401–406, 2012.

TIAN, X. et al. The effect of extracellular polymeric substances on exogenous highly toxic compounds in biological wastewater treatment: An overview. **Bioresource Technology Reports**, v. 5, p. 28–42, 2019.

TÓTH, E. M. et al. Phreatobacter oligotrophus gen. nov., sp. nov., an alphaproteobacterium isolated from ultrapure water of the water purification system of a power plant. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 64, p. 839–845, 2014.

VALKOVA, N. et al. Hydrolysis of 4-Hydroxybenzoic Acid Esters (Parabens) and Their Aerobic Transformation into Phenol by the Resistant Enterobacter cloacae Strain EM. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 6, p. 2404–2409, 2001.

WAGNER, M. et al. Phylogeny of All Recognized Species of Ammonia Oxidizers Based on Comparative 16S rRNA and. **Society**, v. 66, n. 12, p. 5368–5382, 2000.

WAN, C. et al. Formation of bacterial aerobic granules: Role of propionate. **Bioresource Technology**, v. 197, p. 489–494, 2015.

WANG, D. et al. Biological phosphorus removal in sequencing batch reactor with single-stage oxic process. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p. 5466–5473, 2008.

WANG, L. et al. Transesterification of para-hydroxybenzoic acid esters (parabens) in the activated sludge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 354, p. 145–152, 2018a.

WANG, Q. et al. Aerobic granules cultivated with simultaneous feeding/draw mode and low-strength wastewater: Performance and bacterial community analysis. **Bioresource Technology**, v. 261, p. 232–239, 2018b.

WANG, Q.; DU, G.; CHEN, J. Aerobic granular sludge cultivated under the selective pressure as a driving force. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 557–563, 2004.

WANG, S.; WANG, J.; SUN, Y. Degradation of chlorinated paraben by integrated irradiation and biological treatment process. **Journal of Environmental Management**, v. 189, p. 29–35, 2017.

WANG, W.; KANNAN, K. Fate of Parabens and Their Metabolites in Two Wastewater Treatment Plants in New York State, United States. **Environmental Science and Technology**, v. 50, n. 3, p. 1174–1181, 2016.

WEISSBRODT, D. G. et al. Assessment of bacterial and structural dynamics in aerobic granular biofilms. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 1–18, 2013.

WINKLER, M.-K. H.; KLEEREBEZEM, R.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Integration of anammox into the aerobic granular sludge process for main stream wastewater treatment at ambient temperatures. **Water Research**, v. 46, n. 1, p. 136–144, 2012.

WINKLER, M. K. et al. Microbial diversity differences within aerobic granular sludge and activated sludge flocs. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 16, p. 7447–

7458, 2013.

WINKLER, M. K. H. et al. An integrative review of granular sludge for the biological removal of nutrients and recalcitrant organic matter from wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 336, p. 489–502, 2018.

WONG, M. T.; LIU, W. T. Ecophysiology of *Deffluviococcus*-related tetrad-forming organisms in an anaerobic-aerobic activated sludge process. **Environmental Microbiology**, v. 9, n. 6, p. 1485–1496, 2007.

WU, Y. et al. Comparative studies of aerobic and anaerobic biodegradation of methylparaben and propylparaben in activated sludge. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 138, p. 25–31, 2017.

XAVIER, J. A. **Granulação natural da biomassa em reator operado em bateladas sequenciais para tratamento de esgoto sanitário**. 2017. 141 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

XU, H.; LIU, Y.; TAY, J.-H. Effect of pH on nickel biosorption by aerobic granular sludge. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 3, p. 359–363, fev. 2006.

YANG, S.-F.; TAY, J.-H.; LIU, Y. Inhibition of free ammonia to the formation of aerobic granules. **Biochemical Engineering Journal**, v. 17, n. 1, p. 41–48, 2004.

YANG, S. F.; LI, X. Y.; YU, H. Q. Formation and characterisation of fungal and bacterial granules under different feeding alkalinity and pH conditions. **Process Biochemistry**, v. 43, n. 1, p. 8–14, 2008.

YUAN, Q. et al. Strategies to improve aerobic granular sludge stability and nitrogen removal based on feeding mode and substrate. **Journal of Environmental Sciences**, v. 84, p. 144–154, 2019.

ZAFIRIADIS, I. et al. Inhibition of the respiratory chain reactions in denitrifying EBPR biomass under simultaneous presence of acetate and electron acceptor. **New Biotechnology**, v. 36, p. 42–50, 2017.

ZHANG, H. et al. Aerobic granulation with low strength wastewater at low aeration rate in A/O/A SBR reactor. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 49, n. 2, p. 215–222, 2011.

ZHANG, Y. et al. Rapid granulation of aerobic granular sludge: A mini review on operation strategies and comparative analysis. **Bioresource Technology Reports**, v. 7, 2019.

ZHAO, X. et al. Remediation of pharmaceuticals and personal care products using an aerobic granular sludge sequencing bioreactor and microbial community profiling using Solexa sequencing technology analysis. **Bioresource Technology**, v. 179, p. 104–112, 2015.

ZHENG, Y.-M. et al. Formation and instability of aerobic granules under high organic loading conditions. **Chemosphere**, v. 63, n. 10, p. 1791–1800, 2006.

ZHOU, G. et al. Chemical composition of extracellular polymeric substances and evolution of microbial community in activated sludge exposed to ibuprofen. **Journal of Environmental Management**, v. 246, p. 267–274, 2019.

ZHU, L. et al. Optimization of selective sludge discharge mode for enhancing the stability of aerobic granular sludge process. **Chemical Engineering Journal**, v. 217, p. 442–446, 2013.

ZITA, A.; HERMANSSON, M. Effects of bacterial cell surface structures and hydrophobicity on attachment to activated sludge flocs. **Applied And Environmental Microbiology**, v. 63, n. 3, p. 1168–1170, 1997.