

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

GISELE MIRANDA GOMES

Avaliação da codigestão de glicerol com esgoto sanitário em reator
anaeróbio de leito fixo visando a biodegradação de micropoluentes
orgânicos

São Carlos
2024

GISELE MIRANDA GOMES

Avaliação da codigestão de glicerol com esgoto sanitário em reator anaeróbio de leito fixo visando a biodegradação de micropoluentes orgânicos

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia Ambiental, da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheira Ambiental.

Orientador: Dr. Rodrigo Braz Carneiro

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos
2024

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

G
633a

Gomes, Gisele Miranda
Avaliação da codigestão de glicerol com esgoto sanitário em reator anaeróbio de leito fixo visando a biodegradação de micropoluentes orgânicos / Gisele Miranda Gomes; orientador Rodrigo Braz Carneiro. São Carlos, 2024.

Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2024.

1. Fármacos. 2. acidogênese. 3. metanogênese. 4. sistema duplo estágio. 5. contaminantes emergentes. 6. cinética . I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): **Gisele Miranda Gomes**

Data da Defesa: 08/11/2024

Comissão Julgadora:

Resultado:

Rodrigo Braz Carneiro (Orientador(a))


Aprovada

Sarah Regina Vargas

Aprovada

Elis Watanabe Nogueira

Aprovada


Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

A minha família e amigos e a todos os professores que confiaram no meu potencial e me incentivaram durante minha trajetória, agradeço pela compreensão, carinho, conselhos e apoio.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha gratidão aos meus professores, em especial ao Prof. Marcelo Zaiat, cujo ensinamento e apoio foram fundamentais para meu crescimento acadêmico e científico, especialmente nos momentos de dificuldade. Ao meu orientador, Dr. Rodrigo Carneiro, agradeço imensamente pela paciência e atenção dedicadas ao longo do desenvolvimento deste trabalho, sempre disposto a compartilhar sua experiência na vida acadêmica.

Agradeço também às técnicas do Laboratório de Processos Biológicos (LPB), Carolina Sabatini, Eloiza Pozzi, Isabel Sakamoto e Maria Angela Adorno, por todo o auxílio no laboratório, assim como a todos os colegas e pesquisadores que me apoiaram durante essa jornada.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio essencial por meio da bolsa de iniciação científica - Processo nº 2021/05052-5, que possibilitou o desenvolvimento deste projeto e contribuiu para o avanço da ciência e tecnologia no Brasil.

Um agradecimento especial vai para minha família, que esteve ao meu lado em todos os momentos. Não foi uma jornada fácil, mas o apoio incondicional de cada um de vocês me manteve forte. Mesmo àqueles que não puderam estar presentes fisicamente, sinto sua força comigo. Ubuntu: eu sou porque nós somos.

Por fim, agradeço de coração aos meus amigos, em especial Alan, Danilo, Milena e Lucas, pelos momentos de leveza e encorajamento que me ajudaram a seguir em frente, sempre oferecendo o suporte emocional necessário em cada etapa desta caminhada.

RESUMO

GOMES, G. M. Avaliação da codigestão de glicerol com esgoto sanitário em reator anaeróbio de leito fixo visando a biodegradação de micropoluentes orgânicos. 2024. 76 f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2024.

A presença de micropoluentes orgânicos (MPOs) no meio aquático vem se mostrando uma questão ambiental mundialmente relevante nas últimas décadas. Os micropoluentes, embora presentes em concentrações traço, podem causar malefícios tanto à saúde humana quanto no ambiente, apresentando associações com o desenvolvimento de cânceres, infertilidades, resistência antimicrobiana, entre outros. No Brasil, o estudo de sistemas de tratamento biológico anaeróbios para lidar com os diferentes MPOs têm alcançado posição de destaque devido às condições climáticas favoráveis para os biorreatores anaeróbios. Entretanto, a digestão anaeróbia de águas residuárias domésticas apresenta um baixo potencial de geração e reaproveitamento de biogás. Nesse sentido, surge como alternativa a codigestão anaeróbia que também é capaz de oferecer uma destinação ambientalmente correta de rejeitos passíveis de serem utilizados como cosubstratos. Portanto, o presente trabalho propõe a avaliação da codigestão da glicerina, subproduto proveniente da produção de biodiesel, com esgoto sanitário em reator anaeróbio de leito fixo, acidogênico (Ac) e metanogênico (Met), visando a biodegradação dos seguintes micropoluentes orgânicos: o anti-inflamatório acetaminofeno; os antibióticos sulfametoxazol e ciprofloxacina; o betabloqueador metoprolol e o psicoativo carbamazepina. O estudo visa, portanto, elucidar o cometabolismo orgânico como um potencial mecanismo de biodegradação dos micropoluentes, bem como estabelecer uma alternativa viável de otimização da produção e aproveitamento do biogás a partir do esgoto sanitário. A eficiência média de remoção de matéria orgânica do sistema foi superior a 94% durante toda a operação dos reatores, enquanto que a remoção de carboidratos teve um valor médio de 99%, indicando um ótimo desempenho da digestão anaeróbia, com total conversão de carboidratos e teor irrisório de matéria orgânica residual. A codigestão de glicerol (GOH) durante a acidogênese levou a um aumento significativo na biodegradação de ciprofloxacina (de 25% para 46%) e do metoprolol (de 45% para 59%). O cometabolismo heterotrófico de MPOs impulsionado pelo glicerol foi confirmado pela cinética de biodegradação, na qual os valores de k_{bio} (constante de cinética de biodegradação) aumentaram. Houve remoção completa do acetaminofeno e do sulfametoxazol, tanto sem a adição do cosubstrato (Fase 1) quanto com a adição do glicerol

(Fase 2). Já em termos de remoção global para a ciprofloxacina e a carbamazepina foram observados, respectivamente, 56% e 77% durante a Fase 1 e de 63% para o antibiótico e 67% para o antiepilético durante a Fase 2. A partir do perfil cinético de decaimento dos micropoluentes no sistema, observou-se que a concentração residual para todos os MPOs, exceto o metoprolol na fase 1, foram baixos, demonstrando o bom desempenho do sistema, sem afetar a produção de biometano, uma vez que o reator Met teve uma alta porcentagem de metano no biogás com uma média acima de 88% durante toda a operação. Além disso, a cofermentação de glicerol proporcionou um aumento no potencial de geração de biometano no sistema (potencial energético de 5,0 e 6,3 kJ g⁻¹-DQOremovida, sem e com GOH, respectivamente). Desta forma, a utilização do glicerol como cosubstrato além de promover a melhoria na remoção de MPOs mostrou ser energeticamente vantajosa.

Palavras-chave: Fármacos; acidogênese; metanogênese; sistema duplo estágio; contaminantes emergentes; cinética

ABSTRACT

GOMES, G. M. Evaluation of the co-digestion of glycerol with sanitary sewage in a fixed-bed anaerobic reactor aiming at the biodegradation of organic micropollutants. 2024. 76 f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2024.

The presence of organic micropollutants (OMPs) in aquatic environments has emerged as a globally relevant environmental issue over the past few decades. Although OMPs are found in trace concentrations, they can negatively impact both human and the environment, with associations to cancer development, infertility, antimicrobial resistance, among others. In Brazil, the study of anaerobic biological treatment systems for addressing various OMPs has gained prominence due to favorable climatic conditions for anaerobic bioreactors. However, anaerobic digestion of domestic wastewater exhibits a low potential for biogas generation and reuse. As an alternative, anaerobic co-digestion offers an environmentally sound solution for waste that can be utilized as co-substrates. Therefore, this study proposes the evaluation of co-digestion of glycerol, a by-product of biodiesel production, with domestic sewage in a fixed-bed anaerobic reactor, both acidogenic (Ac) and methanogenic (Met), aiming at the biodegradation of the following organic micropollutants: the anti-inflammatory acetaminophen; the antibiotics sulfamethoxazole and ciprofloxacin; the beta-blocker metoprolol; and the psychoactive carbamazepine. The study aims to elucidate organic cometabolism as a potential mechanism for OMP biodegradation and to establish a viable alternative for optimizing biogas production and utilization from domestic sewage. The system's average organic matter removal efficiency was over 94% throughout the reactor operation, while carbohydrate removal had an average of 99%, indicating excellent anaerobic digestion performance with complete carbohydrate conversion and negligible residual organic matter content. The co-digestion of glycerol (GOH) during acidogenesis led to a significant increase in the biodegradation of ciprofloxacin (from 25% to 46%) and metoprolol (from 45% to 59%). The heterotrophic cometabolism of OMPs driven by glycerol was confirmed by biodegradation kinetics, where k_{bio} (biodegradation kinetic constant) values increased. Complete removal of acetaminophen and sulfamethoxazole was achieved, both without the addition of co-substrate (Phase 1) and with the addition of glycerol (Phase 2). Regarding overall removal, ciprofloxacin and carbamazepine achieved, respectively, 56% and 77% in Phase

1, and 63% and 67% for the antibiotic and the antiepileptic in Phase 2. The kinetic decay profile of the micropollutants in the system showed that residual concentrations for all OMPs, except for metoprolol in Phase 1, were low, demonstrating the system's good performance without affecting biomethane production. The Met reactor had a high methane percentage in the biogas, with an average of over 88% during the entire operation. Moreover, glycerol co-fermentation enhanced the system's biomethane generation potential (energy potential of 5,0 and 6,3 kJ g⁻¹-CODremoved, without and with GOH, respectively). Thus, using glycerol as a co-substrate not only improved OMP removal but also proved to be energetically advantageous.

Keywords: Pharmaceuticals; acidogenesis; methanogenesis; two-stage system; emerging contaminants; kinetics

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Origem e vias de contaminação dos corpos d’água por fármacos.....	28
Figura 2 – Sequências metabólicas da digestão anaeróbia	35
Figura 3 – Geração de glicerol no processo de produção de biodiesel.....	37
Figura 4 – Esquema das fases experimentais adotadas para a operação dos reatores.....	38
Figura 5 – Modelo esquemático do reator de duplo estágio acidogênico-metanogênico.....	39
Figura 6 – Concentração média (a) e composição percentual (b) dos metabolitos de fermentação no Ac para cada fase operacional (Fase 1 – "Sem GOH"; Fase 2 – "GOH")	51
Figura 7 – A via do ácido dicarboxílico para a fermentação do ácido propiônico a partir do glicerol por <i>Propionibacterium</i>	52
Figura 8 – Boxplot da eficiência de remoção de DQO e CHs nos reatores.....	53
Figura 9 – Boxplot da remoção de MPOs comparando o reator acidogênico e o sistema global (Ac + Met) durante cada fase operacional (Fase 1 – 'Sem GOH', n = 31; Fase 2 – 'GOH', n = 20).....	54
Figura 10 – Contribuição da acidogênese na remoção dos MPOs em cada fase operacional (Fase 1 – “Sem GOH”; Fase 2 – “GOH”).....	56
Figura 11 – Perfis espaciais de remoção de CH e DQO ao longo dos biorreatores na Fase 1	58
Figura 12 – Perfis espaciais de remoção de CH e GOH ao longo dos biorreatores – Fase 2. As linhas indicam os ajustes obtidos de acordo com a Equação 11, aplicando o software Origin (Versão 8.5), e os pontos representam os dados experimentais	59
Figura 13 – Perfis espaciais de remoção de MPOs ao longo dos bioreatores para cada fase operacional (Fase 1 – 'Sem GOH'; Fase 2 – 'GOH'). As linhas indicam os ajustes obtidos de acordo com a Equação 11 utilizando o software Origin (Versão 8.5) e os pontos representam os dados experimentais	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características físico-químicas dos MPOs.....	31
Tabela 2 – Análises físico-químicas realizadas na pesquisa.....	40
Tabela 3 – Composição da solução enzimática comercial utilizada na análise de glicerol.....	46
Tabela 4 – Concentrações de afluentes e efluentes de MPOs, e eficiências de remoção em cada biorreator durante ambas as fases operacionais (Fase 1 – “Sem GOH”; Fase 2 – “GOH”).....	55
Tabela 5 – Constantes cinéticas de biodegradação (k_1 e k_{bio}) de MPOs, CH e GOH em cada fase operacional (Fase 1 – “Sem GOH”; Fase 2 – “Com GOH”).....	59
Tabela 6 – As expressões cinéticas de primeira ordem estimadas para a remoção de MPOs em ambas as fases operacionais (Fase 1 – 'Sem GOH'; Fase 2 – 'GOH').....	61
Tabela 7 – Composição do biogás (%) em cada biorreator, em termos de metano, hidrogênio, nitrogênio, gás carbônico e sulfeto de hidrogênio.....	63
Tabela 8 – Valores médios referentes à vazão de biogás (Q_{biogas}), taxa de produção de metano (PVM) e potencial energético estimado ($EPCH_4$) durante ambas as fases operacionais (Fase 1 – “Sem GOH”; Fase 2 – “GOH”).....	63

Sumário

1 INTRODUÇÃO	23
2 OBJETIVOS	26
2.1 Objetivo principal	26
2.2 Objetivos específicos	26
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
3.1 Fármacos e seus efeitos no ambiente	27
3.1.1 Acetaminofeno (ACT)	28
3.1.2 Carbamazepina (CBZ)	29
3.1.3 Sulfametoxazol (SMX)	29
3.1.4 Ciprofloxacina (CIP)	30
3.1.5 Metoprolol (MTP)	31
3.2 Remoção de fármacos em estações de tratamento convencionais e mecanismos de remoção	32
3.3 Mecanismos de digestão anaeróbia	34
3.4 Sistema de duas fases	35
3.5 Codigestão anaeróbia de glicerol	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Estratégia operacional	38
4.2 Configuração dos reatores anaeróbios de leito fixo estruturado e material suporte	38
4.3 Preparo e Composição do Substrato Sintético	39
4.4 Micropoluentes selecionados para avaliação na pesquisa e análises físico-químicas de monitoramento do sistema	40
4.4.1 pH e alcalinidade	41
4.4.2 Ácidos voláteis totais	41
4.4.3 Demanda Química de Oxigênio (DQO)	41
4.4.4 Sólidos	42
4.4.5 Produção e composição de biogás	43
4.4.6 Determinação de MPOs	44
4.4.7 Carboidratos – Método Fenol-Sulfúrico (Espectrofotométrico)	45
4.4.8 Glicerol - Método Enzimático (Espectrofotométrico)	45
4.5 Perfis espaciais de DQO/CHs e MPOs	46
4.6 Cálculos avaliação de desempenho	47
4.8 Teste estatístico de hipótese t de Student	48
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	49
5.1 pH, alcalinidade e ácidos voláteis	49
5.2 Remoção de matéria orgânica (DQO e carboidratos)	52
5.3 Remoção de Micropoluentes	53
5.4 Perfis cinéticos espaciais de remoção de matéria orgânica (DQO e CHs) e MPOs	58
5.5 Sólidos	62
5.6 Composição do biogás	62
6 CONCLUSÃO	64
7 REFERÊNCIAS	65

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a presença de micropoluentes orgânicos (MPOs) no meio aquático mostra-se uma questão ambiental mundialmente relevante. Os MPOs, que se enquadram na lista dos chamados contaminantes emergentes, consistem em substâncias antropogênicas, tais como produtos farmacêuticos, produtos de higiene pessoal, hormônios esteroides, produtos químicos industriais, pesticidas, entre outros. Normalmente, estão presentes nas águas em concentrações traço variando na faixa de ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$ (Azevedo, 2018).

Sendo assim, em conjunto com a diversidade apresentada desses contaminantes emergentes, os procedimentos de detecção e análise tornam-se cada vez mais complexos, bem como os processos de tratamento de água e esgoto contendo esses MPOs. Configura-se, portanto, uma situação preocupante devido à capacidade de causarem malefícios tanto à saúde humana quanto ambiental (Luo et al., 2014).

Com relação aos fármacos, após a sua administração, as moléculas são absorvidas, distribuídas, parcialmente metabolizadas e, finalmente, excretadas na forma original, ativa e ou como metabólito nas fezes ou dissolvidas na urina (Rasheeda, 2019). Como a remoção desses contaminantes pelos processos biológicos em estações de tratamento convencionais não é observada de forma eficaz, os fármacos são capazes de atingir corpos hídricos e, conseqüentemente, expor organismos de diferentes níveis tróficos, incluindo os humanos, aos seus potenciais efeitos tóxicos. Isso ocorre devido ao potencial de bioacumulação desses compostos na cadeia alimentar, o que pode estar associado ao desenvolvimento de algumas enfermidades tais como cânceres, infertilidades e resistência antimicrobiana (Alves; Giraldi; Pinheiro, 2017).

Desse modo, novas alternativas de tratamento, notadamente baseadas em processos físico-químicos, têm sido estudadas para remoção desses compostos, como a oxidação avançada, ultrafiltração, adsorção em carvão ativado, entre outros (Chatila et al., 2015). Porém, estas alternativas são onerosas e possuem requisitos mais altos de operação e manutenção, bem como maior consumo de energia.

Logo, uma alternativa aos processos físico-químicos são os reatores anaeróbios, amplamente utilizados no tratamento de águas residuárias domésticas e industriais sendo interessantes energeticamente, já que a energia pode ser obtida por meio da recuperação do metano produzido. No entanto, sob condições de estresse, como um choque de carga orgânica elevada e presença de materiais tóxicos na digestão anaeróbia, pode ocorrer desequilíbrio devido às limitações cinéticas e termodinâmicas, principalmente no processo de

metanogênese (Mota; Zaiat, 2018).

Assim, uma forma possível de melhorar o desempenho da digestão anaeróbia é o sistema anaeróbio de duas fases que consiste em dois reatores colocados em série, onde a acidogênese e a metanogênese prevalecem no primeiro e no segundo, respectivamente, devido à pressão seletiva (Peixoto, 2011). As vantagens mais significativas de sistemas anaeróbios de dois estágios aplicados ao tratamento de efluentes líquidos são: a possibilidade de operar com cargas orgânicas maiores; aumento do valor calorífico do biogás, ou seja, maior conteúdo de metano; maior eficiência de remoção da demanda química de oxigênio (DQO); e maior rendimento de metano (Mota; Zaiat, 2018).

Vale ressaltar que as águas residuárias domésticas apresentam carga orgânica reduzida, sendo possível aumentar o seu potencial de geração e reaproveitamento de biogás com a codigestão anaeróbia, ou seja, a digestão combinada de diferentes resíduos de alta carga orgânica juntamente ao esgoto sanitário, sendo considerada uma opção viável para aumentar a eficiência do processo de digestão anaeróbia, diluir substâncias tóxicas e otimizar a produção de biometano e biohidrogênio (Shah et al, 2015).

Segundo Mata-Alvarez (2014), a codigestão anaeróbia supera os inconvenientes da digestão com um único substrato, tais como limitação orgânica e nutricional, aumenta a viabilidade econômica dos biorreatores, devido à maior produção de biogás. Além disso, a codigestão tem surgido como uma alternativa promissora não somente para otimização da produção de biogás, como também para destinação ambiental correta de rejeitos passíveis de serem utilizados como cosubstratos. Como exemplo há a glicerina, que tem se destacado por seu alto potencial de geração de metano devido à sua alta concentração de matéria orgânica prontamente biodegradável (Budyh-Gorzna; Smoczynski; Oleskowick-Popiel, 2016).

A geração de glicerina como subproduto da reação de síntese de biodiesel (transesterificação) ocorre em uma proporção de aproximadamente 1 kg por 12,6 L de biodiesel produzido. Cabe ressaltar que o alto custo associado aos processos de purificação e refino da glicerina bruta representam problemas relacionados ao reaproveitamento deste resíduo (Figueiredo et al., 2014). Dessa forma, a sua utilização como cosubstrato é uma estratégia interessante para destinação de tal resíduo frente a tendência de aumento do uso de biodiesel e o fato de que o grau de pureza necessário para utilização da glicerina em indústrias de cosméticos, por exemplo, é muito alto, fator esse que limita seu consumo para esse setor industrial (Baba et al., 2013).

Estudos têm apontado que devido a presença de fármacos em concentrações traço nas

águas residuárias, eles podem não ser considerados uma fonte primária de carbono e energia para os microrganismos, que desta forma não excretarão para o meio enzimas capazes de degradar tal micropoluente. Neste contexto, é indispensável que haja uma fonte de substrato orgânico para a manutenção do crescimento da biomassa e conseqüentemente a indução das enzimas específicas para a biodegradação, no processo chamado de cometabolismo (Tran et al., 2013).

Sendo assim, levanta-se a hipótese de que a codigestão anaeróbia de substratos de alta carga orgânica, como é o caso da glicerina, junto ao esgoto sanitário poderia otimizar a biodegradação de MPOs. Muitos autores têm atribuído ao cometabolismo a degradação de MPOs como os produtos farmacêuticos em sistemas biológicos de tratamento (Dawasmassalha et al., 2014; Kassotaki et al., 2016).

Diante do exposto acima, a presente pesquisa propõe o estudo e avaliação da codigestão de glicerol com esgoto sanitário em reator anaeróbio de leito fixo estruturado de duplo estágio acidogênico-metanogênico com espuma de poliuretano, visando a otimização da remoção de micropoluentes orgânicos frequentemente encontrados nas águas residuárias domésticas, além do aproveitamento de um subproduto da cadeia de produção do biodiesel que oferece riscos ambientais, contribuindo para a diminuição dos impactos à saúde humana e ao ecossistema como um todo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo principal

A presente pesquisa tem como objetivo principal estudar a influência da codigestão do glicerol com esgoto sanitário na biodegradação de micropoluentes orgânicos em um sistema de reatores anaeróbios de leito fixo de fase dupla (acidogênico – metanogênico).

2.2 Objetivos específicos

Além disso, a pesquisa prevê como objetivos específicos: avaliar a produção de metano no sistema, bem como a cinética de biodegradação de matéria orgânica e dos micropoluentes.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Fármacos e seus efeitos no ambiente

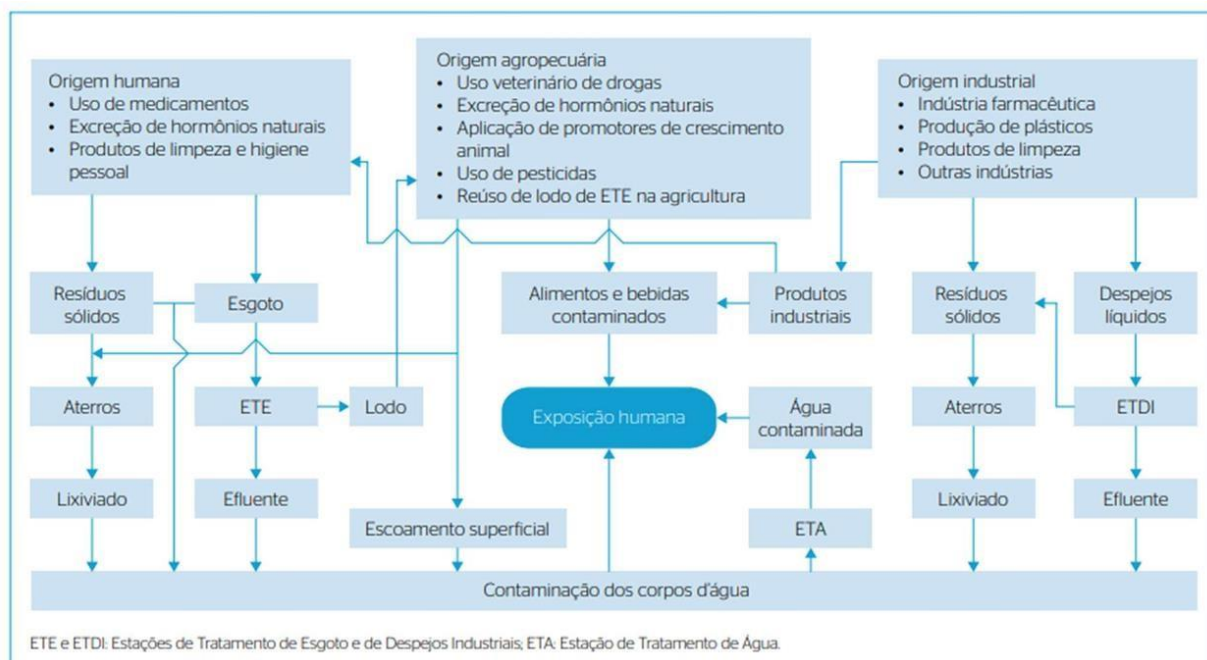
Dentre as diversas substâncias que se caracterizam como micropoluentes orgânicos, destacam-se os compostos com atividade farmacológica definidos como substâncias químicas moderadamente solúveis em água, bem como lipofílicos, biodisponíveis e biologicamente ativos, compostos por substâncias orgânicas e inorgânicas, que atuam como analgésicos, antibióticos, anti-inflamatórios, betabloqueadores, compostos neuroativos, dentre outros (Ikehata et al., 2006).

Os resíduos farmacêuticos são de considerável interesse devido à sua relativa estabilidade, ou seja, são difíceis de biodegradar e de serem completamente assimilados por animais e humanos durante o uso. Devido à alta estabilidade, esses contaminantes farmacêuticos são desafios para a digestão completa, sendo excretados através das fezes e urina, proporcionando uma conexão das fontes aos receptores, ou seja, a estação de tratamento de esgoto e a água superficial (Yan et al., 2017).

Dada a variedade de estruturas químicas e propriedades dos fármacos, desreguladores endócrinos e seus metabólitos, não é possível fazer generalizações sobre o seu comportamento e o destino no ambiente aquático. O escoamento superficial, juntamente com o escoamento proveniente de atividades agrícolas, como mostra a Figura 1, pode atuar como uma via de introdução desses compostos no ambiente. Além disso, muitos desses contaminantes emergentes podem passar por transformações no ambiente, como a degradação microbiana, fotólise e hidrólise. Esses compostos podem ainda reagir com desinfetantes utilizados no tratamento de água potável ou de águas residuárias, gerando subprodutos de desinfecção, que podem ser mais tóxicos do que os compostos originais (Richardson, 2017).

Entretanto, os recursos hídricos podem ser contaminados tanto por águas residuárias descartadas diretamente sem o devido tratamento - de origem doméstica, hospitalar ou industrial - quanto por efluentes de estações com baixa ou moderada eficiência de remoção (Lima et al., 2017). Embora a biodegradação seja uma das transformações mais importantes no tratamento de esgoto, no caso dos fármacos o processo é limitado do ponto de vista cinético, isto se deve às baixas concentrações dos compostos verificadas no esgoto bruto e ao fato de que a sua taxa de biodegradação é diretamente proporcional à concentração do fármaco presente na fase líquida, ou seja, quanto menos dissolvido na água, menor será a degradação (Aquino; Brandt; Chernicharo, 2013).

Figura 1: Origem e vias de contaminação dos corpos d'água por fármacos.



Fonte: Aquino; Brandt; Chernicharo (2013)

Pesquisas têm mostrado que muitos compostos farmacêuticos podem ter um tempo de degradação superior a 100 dias, com alguns persistindo no ambiente por anos. Além disso, esses compostos demonstram resistência aos processos naturais de degradação tanto em ambientes aquáticos quanto no solo. A incapacidade dos atuais métodos de tratamento de efluentes domésticos e hospitalares de remover completamente esses contaminantes reforça a necessidade de estudos aprofundados sobre o risco ambiental associado ao descarte de medicamentos (Kümmerer et al., 2016; Lutterbeck et al., 2016).

No Brasil, a falta de regulamentação a nível federal, estadual ou municipal para o monitoramento de contaminantes emergentes (CEs) em águas e efluentes industriais e domésticos é um problema significativo. Um exemplo recente é a Portaria nº 888 de maio de 2021, emitida pelo Ministério da Saúde, que estabelece procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano. No entanto, essa portaria abrange principalmente agrotóxicos entre os compostos orgânicos regulados, deixando de fora fármacos, hormônios e outras substâncias que também são contaminantes emergentes (BRASIL, 2021).

3.1.1 Acetaminofeno (ACT)

O paracetamol, ou N-acetil-aminofenol ou acetaminofeno é um pó branco cristalino solúvel em água, pertence à classe dos analgésicos não opioide e antipiréticos (Tonon, 2020).

É válido ressaltar que este medicamento é muito utilizado pela população sem prescrição médica (Caparrotta, 2017). Como é possível observar na Tabela 1, o log Kow do acetaminofeno indica uma baixa lipofilicidade, o que sugere que sua bioacumulação em organismos aquáticos seja limitada. É um ácido fraco com pKa de aproximadamente 9,4 e sua eliminação ocorre por via hepática, onde 95 % do fármaco administrado é oxidado, glucuronizado, sulfatado e excretado na urina, sendo 5% restante eliminado intacto (Nucci, 2021; Drugbank, 2024).

3.1.2 Carbamazepina (CBZ)

Dentre os psicotrópicos mais conhecidos e utilizados, destaca-se a carbamazepina (Elhussein et al.,2020). Este fármaco apresenta-se estruturalmente como um derivado tricíclico do iminostibeno, sendo utilizado no tratamento de epilepsia e pode oferecer riscos à biota por ser descartada continuamente, sendo assim válido ressaltar que a bioacumulação de CBZ deve ser levada em consideração, uma vez que este fármaco pode ser transferido ao longo da cadeia alimentar e afetar organismos não-alvo (Almeida et al., 2014).

É uma das drogas de maior persistência em corpos d'água que recebem efluentes e é resistente tanto ao tratamento de águas residuárias convencional quanto ao avançado, com um log Kow (variando de 2,3 a 2,77) como visto na Tabela 1 e com um pKa elevado que sugere que ela esteja predominantemente em forma neutra na maioria dos ambientes aquáticos, o que também favorece sua persistência e mobilidade (Beretta et al., 2014). Além de ser estável no ambiente, estudos mostram que ela é absorvida por plantas irrigadas com águas residuárias, assim como se bioacumula em organismos aquáticos (Tomei; Garrido, 2021). Além disso, como droga psicoativa, a carbamazepina tem o potencial de tornar os peixes mais vulneráveis a predadores (Keen et al., 2012).

Ademais, a carbamazepina tem uma absorção de 75-85% e metaboliza na passagem pelo fígado principalmente nas formas hidroxilada e conjugada. Os metabólitos são excretados na urina e somente uma quantidade baixa é eliminada intacta. Esse fármaco de cadeia química estrutural fechada é difícil de hidrolisar e consequentemente degradar, mesmo em condições ácidas ou base (Nucci, 2021; Drugbank, 2023).

3.1.3 Sulfametoxazol (SMX)

O sulfametoxazol é um antibiótico bacteriostático que pode agir sozinho ou na forma combinada, quando está associado ao trimetoprima, em uma razão de 5:1, obtendo efeito sinérgico minimizando o desenvolvimento de estirpes resistentes. Dessa forma, ele é utilizado na atividade pecuária para o tratamento em amplo espectro para infecções intestinais e

respiratórias, tais como: Doença crônica respiratória (DCR), colibacilose, pasteureose, tifo aviário, purulose, coriza infecciosa, infecções primárias e secundárias, purulentas ou não (Barros,2016).

O grupo bactericida sulfonamida é considerado um dos primeiros antibióticos utilizados no combate de infecções humanas e vem sendo produzido intensamente desde os anos 1940. Tal grupo consiste em antibióticos sintéticos, de amplo espectro, que inibem a síntese do ácido fólico das bactérias, composto essencial para sua sobrevivência (Bastos,2012). Os metabólitos acetilados e os glucoronados (resultantes da biotransformação hepática do SMX), são excretados pela urina, onde aproximadamente 20% do sulfametoxazol corresponde a sua forma ativa inalterada, 50 – 70% corresponde ao metabólito acetilado e 15 – 20% corresponde ao metabólito glucoronado (Barros, 2016).

A presença de antibióticos como sulfametoxazol tem sido relatada com bastante frequência em esgoto e águas naturais, o que representa um alerta para a necessidade de se desenvolver tecnologia de tratamento adequada (Cruz et al., 2010). Além disso, é válido ressaltar que a presença de antibióticos nos afluentes das ETEs pode ser prejudicial ao sistema biológico, uma vez que podem inibir a atividade de microrganismos responsáveis pelo tratamento, como já foi observado para o caso da atividade de bactérias nitrificantes de lodos ativados (Halling-Sorensen et al., 1998).

O sulfametoxazol tem pKa de 5,7, o que significa que ele pode estar presente em formas ionizadas e neutras no ambiente, dependendo do pH. O log Kow baixo (entre 0,7 e 0,89) indica que ele tem baixa tendência de se acumular em organismos aquáticos.

3.1.4 Ciprofloxacina (CIP)

A Ciprofloxacina é um antibiótico sintético da classe das Fluorquinolonas que são amplamente utilizadas em hospitais, domicílios e aplicações veterinárias (Tran et al., 2018). Ela é frequentemente empregada no tratamento de infecções do trato respiratório, ouvidos, olhos, rins, órgãos reprodutores e articulações e após a administração terapêutica os níveis de excreção pelo organismo humano se apresentam entre 40 e 50 % da dose total administrada (Guzmán et al., 2018). Além disso, é preocupante a falta de biodegradação e alta afinidade por adsorção resulta em tempo de residência no ambiente, com os tempos de meia-vida 10,6 dias em águas superficiais (Andreozzi et al., 2003).

Ela possui características ácido-básicas distintas, com múltiplos valores de pKa, indicando que ela pode estar tanto em forma protonada quanto não protonada em diferentes condições ambientais. Dado o uso elevado de ciprofloxacina, ela pode ser encontrada em

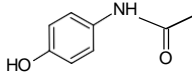
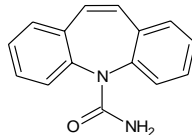
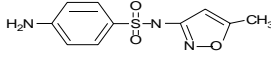
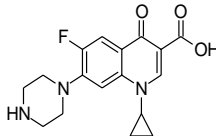
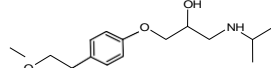
efluentes hospitalares e industriais em concentrações superiores a 31 mg/L. É um fármaco particularmente preocupante, já que efeitos genotóxicos e mutagênicos foram relatados em bactérias (Kümmerer et al., 2000; Richard et al., 2014).

3.1.5 Metoprolol (MTP)

O metoprolol é indicado para a diminuição da pressão arterial, tratamento de manutenção após infarto do miocárdio, tratamento sintomático em hipertireoidismo. O composto é absorvido rapidamente pelo organismo e 95% é excretado pelos rins na forma de metabólitos como o alfa-hidroxi metoprolol e cerca de 5% é eliminado sem alteração (Osawa et al., 2015).

Na Tabela 1 abaixo estão apresentadas as características físico-químicas dos fármacos em estudo neste trabalho, incluindo informações sobre a estrutura molecular, grupo químico, hidrofobicidade (log Kow) e reatividade ácido-base (pKa).

Tabela 1: Características físico-químicas dos MPOs.

MPOs	Estrutura	Classe/Grupo químico	Massa molecular (g/mol)	pKa ^{a,b}	log Kow ^{a,b}
ACT		Anti-inflamatório	151,16	9,38	0,46; 0,49
CBZ		Antiepiléptico	236,27	15,96; 13,9	2,3; 2,45; 2,77
SMX		Antibiótico	253,28	5,7	0,7; 0,89
CIP		Antibiótico	331,34	Ácido 6,16; 6,25; 6,09; Básico 8,74; 8,62	0,28; 2,3
MTP		Betabloqueadores	267,36	9,56; 9,7	1,88; 2,15

Fonte: Drugbank; Chemspider (2024)

3.2 Remoção de fármacos em estações de tratamento convencionais e mecanismos de remoção

Os sistemas convencionais de tratamento de esgoto, como lodos ativados, reatores UASB, filtros biológicos percoladores e sistemas naturais como lagoas de estabilização e wetlands construídos, são amplamente utilizados. No entanto, a literatura concentrasse predominantemente em lodos ativados, conforme demonstrado em estudos anteriores (Tomei; Garrido, 2021), uma vez que outros sistemas não são tão comuns em países que lideram pesquisas sobre fármacos, como EUA, Canadá e diversos países europeus (Aquino; Brandt; Chernicharo, 2013).

Os sistemas tradicionais de tratamento de águas residuárias domésticas então são projetados principalmente para remover sólidos, matéria orgânica e macronutrientes. No entanto, micropoluentes orgânicos presentes nesses efluentes, que não são especificamente alvo dos processos de tratamento, variam em sua remoção devido a uma combinação de mecanismos bióticos e abióticos. A remoção dos MPs pode ocorrer por meio de degradação abiótica (fotólise, oxidação química, hidrólise), volatilização, adsorção na fase sólida e biotransformação. A eficácia desses mecanismos depende das características físico-químicas dos MPOs, das tecnologias de tratamento, das condições ambientais nas estações de tratamento e dos parâmetros operacionais (Tomei; Garrido, 2021).

Nos reatores de lodos ativados, a degradação de fármacos ocorre por meio da biodegradação, que pode ser metabólica ou cometabólica, além da sorção nos flocos de lodo e, em menor escala, por degradação química abiótica (Bittencourt et al., 2016; Grandclément et al., 2017). A volatilização de produtos farmacêuticos é considerada insignificante devido à sua elevada massa molar e à constante de Henry (KH), que geralmente não atinge valores que favoreçam esse processo (Suárez et al., 2008).

Os microrganismos nitrificantes são fundamentais para a remoção de fármacos, pois a oxidação da amônia em nitrato também pode levar à oxidação de micropoluentes orgânicos, devido à presença da enzima amônia mono-oxigenase (Margot et al., 2016).

A presença contínua no ambiente indica que muitos são quimicamente estáveis e resistem à degradação abiótica. A volatilização afeta apenas compostos com alta pressão de vapor, enquanto a adsorção e a biotransformação são os principais mecanismos de remoção durante o tratamento secundário (biológico). A adsorção ocorre devido a interações hidrofóbicas, eletrostáticas e à formação de complexos com íons metálicos presentes nos

sólidos (Tran et al., 2018). Além disso, a remoção dos MPOs por adsorção depende tanto das propriedades dos MPOs (tamanho molecular, carga, hidrofobicidade, grupos funcionais) quanto das características dos sorventes, como tipo de lodo e idade, e fatores ambientais como pH e temperatura.

A previsão teórica da sorção de MPO é inviável devido à complexidade dos diversos parâmetros envolvidos na caracterização dos fenômenos. Assim, o efeito combinado desses parâmetros é refletido nos coeficientes de partição líquido-sólido (K_d), que podem ser determinados experimentalmente para o par sorbato-sorbente. Esses coeficientes são frequentemente utilizados como indicadores do potencial de sorção de um MPO na fase particulada em estações de tratamento (Berthod et al., 2016). A intensidade da interação entre o sorbato e o sorbente é um fator determinante na reversibilidade da adsorção, o que, por sua vez, impacta a mobilidade do MPO no meio ambiente, especialmente após a remoção da fase particulada.

Nos reatores aeróbios, que utilizam a tecnologia de lodo ativado e costumam operar sob tempo de retenção celular (TRC) curto (3 a 10 dias), há uma remoção significativa dos MPOs que se adsorvem ao lodo descartado. Em contraste, os processos anaeróbios apresentam menor rendimento de biomassa em comparação com os aeróbios e são geralmente operados com tempo de retenção celular muito mais longos (centenas de dias), resultando em um descarte de lodo mínimo. O tempo necessário para a saturação dos MPOs adsorvidos ao lodo aneróbio é insignificante em relação ao TRC, tornando a adsorção um caminho de remoção negligenciável quando comparado às reações de biotransformação (Harb et al., 2019).

A biotransformação dos MPOs envolve a degradação parcial, conjugação com outros compostos ou mineralização completa em CO_2 , H_2O e CH_4 . A conjugação é um processo de biotransformação no qual grupos funcionais são adicionados a um micropoluinte geralmente tornando-o menos tóxico, mais solúvel em água ou mais suscetível à biodegradação. Os produtos conjugados resultantes podem ser revertidos ao composto original, o que é frequentemente observado em estações de tratamento de águas residuárias (Verlicchi et al., 2012).

Os produtos orgânicos da biotransformação, sejam provenientes de biodegradação ou conjugação, são comumente chamados de produtos de transformação, eles podem ser mais tóxicos ou persistentes que o composto original, o que exige cautela ao avaliar a eficiência dos sistemas de tratamento (Escher; Fenner, 2011). A completa mineralização ou a formação de produtos inofensivos são os objetivos desejáveis. Fatores como temperatura, pH, diversidade

microbiana, tempo de retenção e as propriedades físico-químicas dos MPs são essenciais para a biotransformação, e a presença de outros substratos é crucial para suportar o crescimento microbiano (Falås et al., 2016). O carbono e a energia derivados da degradação dos MPOs não seriam suficientes para sustentar o crescimento da biomassa. Assim, entende-se que a biotransformação depende necessariamente de outros substratos que suportem o crescimento (Kennes-Veiga et al., 2022). Logo, a biodegradação cometabólica é igualmente importante, já que os fármacos muitas vezes estão em concentrações tão baixas que não servem de substrato viável para os microrganismos (Fischer; Majewsky, 2014; Grandclément et al., 2017).

A complexidade dos mecanismos de remoção, junto com os múltiplos fatores envolvidos, explica a variação na eficiência de remoção de MPOs em tecnologias de tratamento semelhantes (Alvarino et al., 2018). Compreender esses mecanismos é essencial para desenvolver novas tecnologias de tratamento mais eficazes.

3.3 Mecanismos de digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é realizada por uma comunidade diversa de microrganismos que interagem de forma complexa ao longo de uma série de etapas interdependentes, em que os produtos da etapa anterior servem como substrato para o passo seguinte (Van, 2008). É frequentemente considerada um processo complexo, sendo baseada em um processo de redução que consiste em várias reações bioquímicas que ocorrem sob condições anóxicas (Aslanzadeh, 2014). O processo de digestão anaeróbia envolve quatro etapas distintas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese conforme ilustrado na Figura 2.

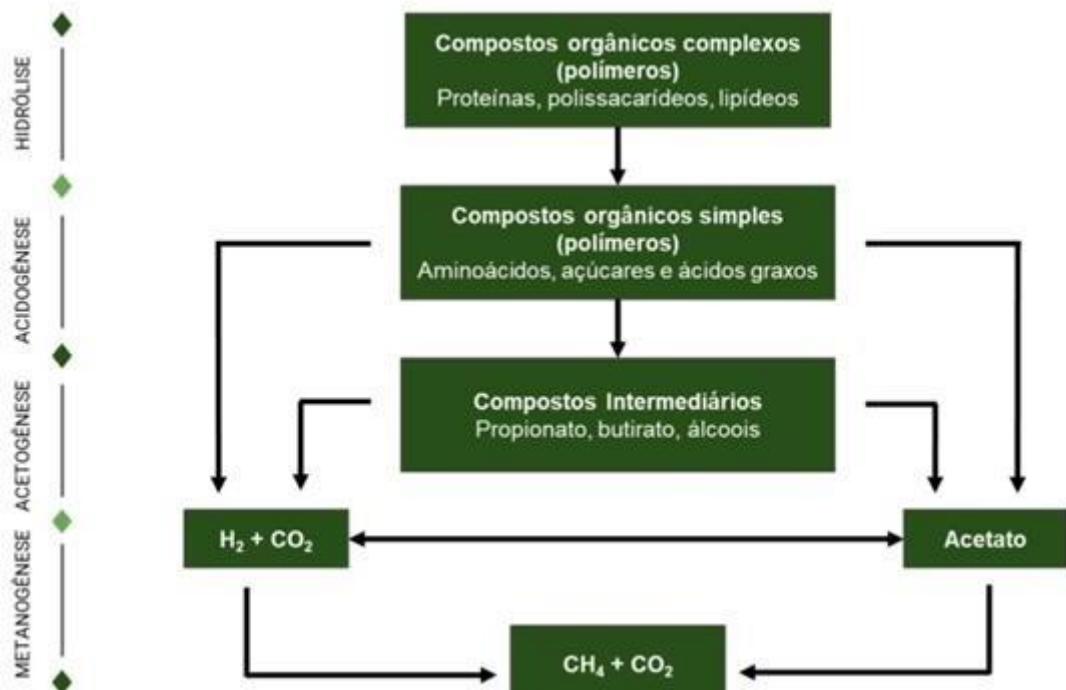
A fase inicial (hidrólise) consiste na hidrólise de materiais particulados complexos, na qual as bactérias hidrolíticas transformam os biopolímeros (proteínas, polissacarídeos e lipídios) em moléculas mais simples por ação de enzimas extracelulares (Chernicharo, 1997). Essa fase usualmente ocorre de forma lenta sendo que vários fatores podem influenciar como por exemplo a temperatura operacional do reator e o pH do meio (Lettinga et al., 1996).

A fase acidogênica (acidogênese) corresponde a metabolização dos produtos orgânicos solúveis provenientes da hidrólise, no interior celular das bactérias fermentativas acidogênicas, produzindo ácidos graxos voláteis (acetato, butirato, propionato, lactato, etc), álcoois, gás carbônico, hidrogênio, amônia e outras novas células (Chernicharo, 1997).

Na etapa acetogênica, os produtos gerados na fase acidogênica são oxidados por bactérias acetogênicas, em substrato apropriado para as bactérias metanogênicas. Os produtos dessa fase são o hidrogênio, o dióxido de carbono e o acetato (Chernicharo, 1997).

A etapa final no processo global de degradação anaeróbia de matéria orgânica é realizada pelas arqueias metanogênicas. Elas são divididas em dois grupos principais, em função da extrema afinidade pelo substrato precursor. As metanogênicas acetoclásticas produzem metano a partir do acetato, sendo cerca de 60% a 70% de todo o metano produzido por elas que são pertencentes a dois principais gêneros: *Methanosarcina* e *Methanosaeta*. Já as metanogênicas hidrogenotróficas são capazes de converter o hidrogênio e o dióxido de carbono produzidos nas fases anteriores em metano (Chernicharo, 1997). É válido ressaltar que ao realizar a separação de fases da digestão anaeróbia é possível obter gases como hidrogênio (H_2) na fase acidogênica, e metano (CH_4) na metanogênica, ambos com elevado valor energético. Dessa forma, a separação de fases em digestão ácidogênica e metanogênica tem sido explorada.

Figura 2: Sequências metabólicas da digestão anaeróbia



Fonte: Adaptado de Chernicharo (1997)

3.4 Sistema de duas fases

A adoção de reatores com separação de fases (acidogênicos–metanogênicos) pode ser uma estratégia viável para melhorar a remoção de micropoluentes. Carneiro et al. (2020) observaram que a fase acidogênica é crucial na biotransformação de alguns MPOs, enquanto a hidrólise de carboidratos não contribui significativamente para a transformação metabólica desses compostos. A remoção de alguns compostos, como galaxolida, celestolida, tonalida, eritromicina e roxitromicina, foi favorecida sob condições acidogênicas em comparação com a acetogênese/metanogênese, enquanto a remoção de outros compostos, como triclosan,

fluoxetina, bisfenol A e carbamazepina, depende da acetogênese/metanogênese.

Macêdo et al. (2021) avaliaram a remoção de tetrabromobisfenol A em dois reatores anaeróbios com leito estruturado sob condições acidogênicas e metanogênicas e observaram que a biodegradação ocorreu durante a acidogênese via cometabolismo. Já Pirete et al. (2022) reportaram que bactérias acidogênicas foram responsáveis pela biodegradação de diclofenaco e ibuprofeno em um reator aneróbio de leito fluidizado.

A utilização de reatores anaeróbios de duas fases, que consistem em estágios hidrolítico–acidogênico e acetogênico–metanogênico separados, demonstrou ser vantajosa para o tratamento de águas residuais domésticas em comparação com reatores tradicionais de fase única. Inicialmente desenvolvida para tratar resíduos de alta carga, essa abordagem tem mostrado levar a um processo mais estável, com taxas e rendimentos aumentados de produção de metano e maior diversidade microbiana do que os reatores de fase única (Carneiro et al., 2022; Rajagopal et al., 2019; Smith et al., 2017). O desempenho aprimorado resulta da oferta de condições ambientais ótimas para os grupos microbianos espacialmente separados, que atuam no processo anaeróbio.

Assim, por meio da identificação e otimização das etapas limitantes, essa configuração possibilita a manutenção de condições mais favoráveis para grupos microbianos distintos, evitando o desequilíbrio entre a produção de ácido orgânico por bactérias acidogênicas, que possuem taxas de crescimento maiores, e o consumo de ácido orgânico pelas arqueias metanogênicas que são mais sensíveis às condições ambientais como pH, compostos tóxicos e temperatura inadequada (Mota; Zaiat, 2018). É válido destacar que segundo Del Nery (1993), embora haja uma separação física entre o reator acidogênico e o metanogênico, é muito difícil o processo de digestão anaeróbia em dois estágios ocorrer totalmente separado.

3.5 Codigestão anaeróbia de glicerol

A produção de biodiesel vem se desenvolvendo rapidamente em todo mundo, gerando uma grande quantidade de resíduos. O principal subproduto orgânico da produção de biodiesel é o glicerol (Figura 3). As aplicações químicas e farmacêuticas tradicionais hoje são insuficientes para absorver a oferta de 551.941 m³ de glicerol, geradas no ano de 2022 (ANP, 2023). Paralelo a isso, o glicerol destacasse como um cosubstrato ideal para codigestão de resíduos, devido à sua alta produção de metano teórica (0,43 m³ CH₄ Kg⁻¹) e biodegradabilidade (≈100%) (Alves, 2016).

O glicerol é considerado uma fonte de carbono simples e assimilável por bactérias sob condições aeróbias e anaeróbias para obtenção de energia metabólica, como regulador do potencial redox e para reciclagem de fosfato inorgânico dentro da célula. Uma vez que o glicerol é assimilado no interior da célula, numerosos compostos são produzidos como consequência do metabolismo celular (1,3 propanodiol, etanol, ácido succínico, ácido lático, ácido cítrico, ácido acético, polihidroxicanoatos, hidrogênio, ácido graxo poliinsaturado ômega-3) (Thompson; He, 2006). A estequiometria da degradação anaeróbia do glicerol pode ser resumida como a Equação 1 a seguir (Silva, 2019). Segundo Baba et al. (2013), a taxa diária máxima de carregamento de glicerol bruto é um fator importante na eficácia de produção de metano e o potencial de carregamento permanece mais elevado se a carga de glicerol é aumentada de forma gradual.

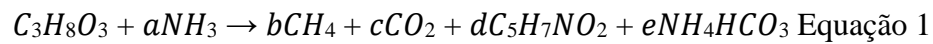
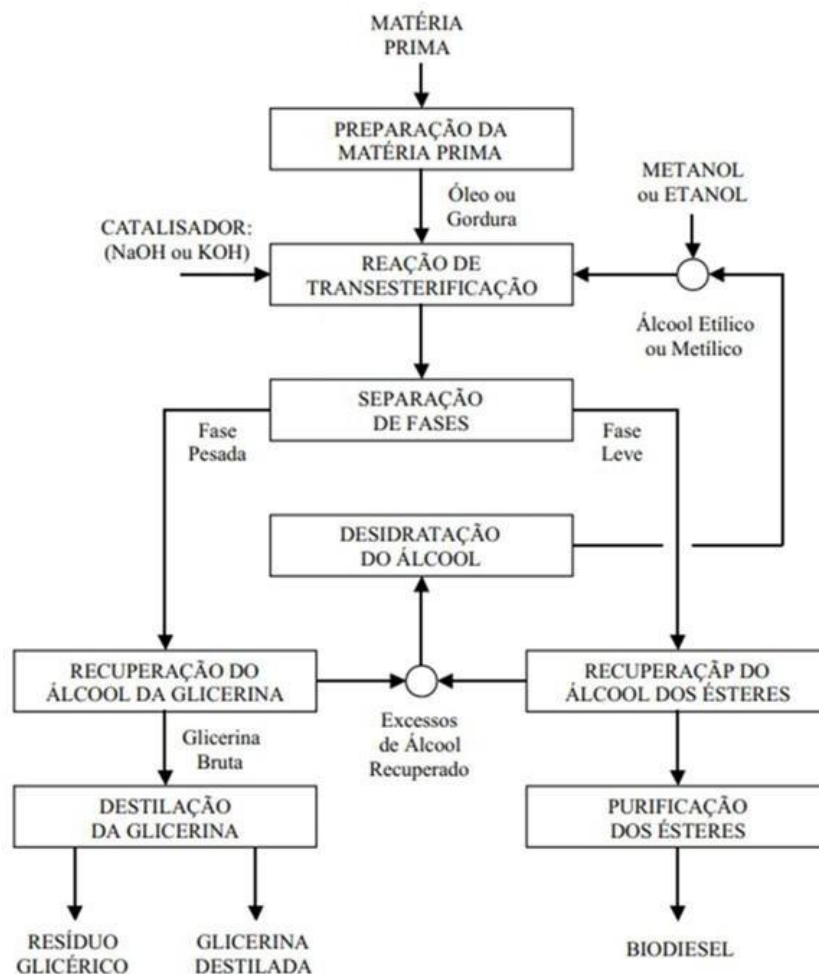


Figura 3: Geração de glicerol no processo de produção de biodiesel.



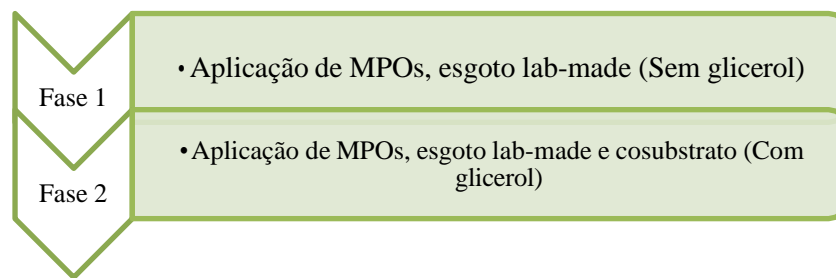
Fonte: Parente (2003)

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Estratégia operacional

Os reatores foram operados nas dependências do Laboratório de Processos Biológicos (LPB) do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC). A operação do sistema foi dividida em 2 diferentes fases operacionais, conforme detalhado na Figura 4: a primeira fase com esgoto, com os MPOs e sem glicerol; a segunda fase contendo glicerol, esgoto e MPOs. Assim, na segunda fase foi possível avaliar a codigestão de GOH com o esgoto e sua influência na remoção dos MPOs.

Figura 4: Esquema das fases experimentais adotadas para a operação dos reatores.

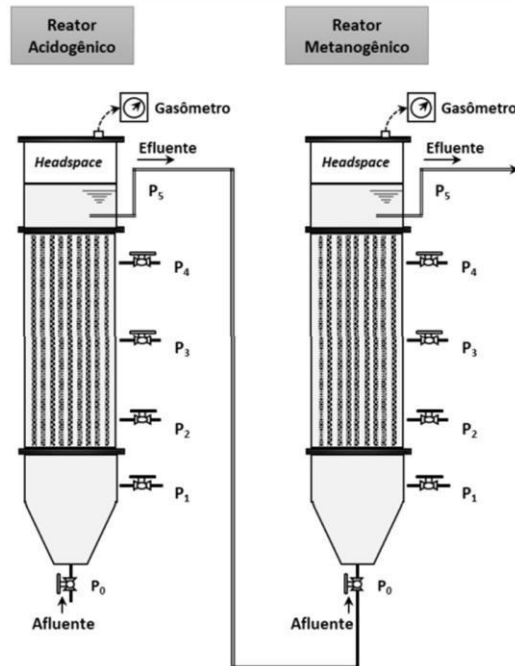


Fonte: O autor (2024)

4.2 Configuração dos reatores anaeróbios de leito fixo estruturado e material suporte

A Figura 5 apresenta o esquema do sistema de tratamento utilizado no presente trabalho, que consiste em um sistema de fase dupla (reator acidogênico seguido de um reator metanogênico). Os reatores são anaeróbios de leito fixo estruturado construídos em acrílico transparente, apresentando como material suporte tiras verticais de espuma de poliuretano ao longo do leito reacional, conforme apresentado. O volume útil de cada reator é de 2 L, o que resulta em uma carga orgânica volumétrica aplicada no sistema de $2 \text{ kgDQO m}^{-3}\text{d}^{-1}$. As espumas de poliuretano foram utilizadas para imobilização da biomassa de inóculo e formação do biofilme no reator.

Figura 5: Modelo esquemático do reator de duplo estágio acidogênico-metanogênico.



Fonte: Carneiro et. al (2021)

Os reatores foram acondicionados em câmara com controle de temperatura, mantida a 30°C, e alimentados por bombas dosadoras peristálticas. O tempo de detenção hidráulica total adotado para a operação do sistema de reatores foi de 12 h, conforme Carneiro et al. (2019). Portanto, neste sistema de duplo estágio cada reator é operado em TDH de 6 h. Para o inóculo do reator metanogênico foi utilizado um lodo granular proveniente de um reator UASB em operação tratando água residuária de abatedouro de aves (Avícola Dacar S.A.), localizado na cidade de Tietê/SP. Já para o reator acidogênico foi realizado um pré-tratamento ácido no lodo granular a pH 3 para inativação das arqueias metanogênicas e seleção dos microrganismos fermentativos. Esse pré-tratamento ácido (pH 3, HCl 5 mol L⁻¹) foi no mesmo inóculo do reator metanogênico, antes da imobilização da biomassa no material de suporte. Nesse caso, a biomassa permaneceu em contato com a espuma por 24 horas antes de iniciar a alimentação do reator (Carneiro et. al, 2022).

4.3 Preparo e Composição do Substrato Sintético

Para a alimentação do reator foi utilizado um substrato sintético que simula a fração solúvel do esgoto sanitário, cuja composição está baseada em Macêdo et al. (2021), na seguinte concentração para uma DQO de 1g L⁻¹ (valores entre parênteses são as concentrações em mg.L⁻¹): extrato de carne (510), sacarose (211), amido solúvel (221), NaCl (250), MgCl₂.6H₂O (28), CaCl₂.2H₂O (18), KH₂PO₄ (30) e micronutrientes – ácido nitriloacético (12,8),

FeCl₃.6H₂O (1,35), MnCl₂.4H₂O (0,1), CoCl₂.6H₂O (0,024), CaCl₂.2H₂O (0,1), ZnCl₂.4H₂O (0,1), CuCl₂.2H₂O (0,025), H₃BO₃ (0,01), Na₂MoO₄.2H₂O (0,024), Na₂SeO₃.5H₂O (0,026), e NiCl₂.6H₂O (0,12). O meio de alimentação foi armazenado em balde plástico e sob refrigeração a 4 °C em geladeira para evitar sua fermentação prévia à entrada no sistema de tratamento.

4.4 Micropoluentes selecionados para avaliação na pesquisa e análises físico-químicas de monitoramento do sistema

Para o presente trabalho foram selecionados alguns micropoluentes orgânicos, que são frequentemente detectados nas águas residuárias domésticas, no lodo e nos efluentes de estações de tratamento de esgotos, pertencentes a diferentes classes - os antibióticos sulfametoxazol e ciprofloxacina; o anti-inflamatório acetaminofeno; o psicoativo carbamazepina; e o betabloqueador metoprolol. As concentrações de trabalho para os MPOs neste estudo foram baseadas nas faixas de concentrações afluentes às estações de tratamento de esgotos, conforme apresentado por Mailler et al. (2014), Park et al. (2020), Santos et al. (2009), Sousa et al. (2018), Tran et al. (2018) e Verlicchi et al. (2012), sendo adotado o valor de 10 µg L⁻¹ para cada MPO.

O monitoramento do desempenho dos reatores (acidogênico e metanogênico) foi realizado por meio de análises físico-químicas conforme mostrado na Tabela 2.

Tabela 2: Análises físico-químicas realizadas na pesquisa

Parâmetro (Unidade)	Método	Frequência	Referência
pH	Potenciométrico	2 vezes / semana	APHA (2005)
Alcalinidade (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	Titulométrico	2 vezes / semana	Ripley; Boyle; Converse (1986)
Ácidos Voláteis (mg L ⁻¹)	Cromatografia Gasosa	1 vez / semana	Adorno; Hirasawa; Varesche (2014)
DQO (mg O ₂ L ⁻¹)	Espectrofotométrico	2 vezes / semana	APHA (2005)
Série de Sólidos (mg L ⁻¹)	Gravimétrico	Quinzenal	APHA (2005)
Biogás (CH ₄ , CO ₂ , H ₂ S e H ₂)	Cromatografia Gasosa	2 vezes / semana	Lebrero et al. (2016) e Perna et al. (2013)
MPOs (µg L ⁻¹)	LC-MS/MS	2 vezes / semana	Silva et al. (2020) e Carneiro et al. (2024)
Carboidratos	Espectrofotométrico	2 vezes / semana	Dubois et al. (1956); Blundi; Gadelha (2001)
Glicerol	Enzimático (Espectrofotométrico)	2 vezes / semana	Greenhill, 2003; Valdez et al., 2012

Fonte: O autor (2024)

4.4.1 pH e alcalinidade

Para realizar a análise, foram separados inicialmente 25 mL das amostras de afluente e efluente. O pH foi medido utilizando um pHmetro modelo Digimed DM-22, previamente calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e 4,0, mantidas em temperatura ambiente. Após determinar o pH, as amostras foram tituladas com ácido sulfúrico 0,0359 M, utilizando o mesmo equipamento e um agitador magnético, até alcançarem os valores de pH aproximados de 5,75 e 4,30, correspondentes à determinação da alcalinidade parcial e total, respectivamente.

4.4.2 Ácidos voláteis totais

Os ácidos voláteis totais (AVT) foram monitorados através do de Adorno et al. (2014), abrangendo a análise de sete ácidos orgânicos voláteis (acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico e capróico), além de solventes como acetona, metanol, etanol e n-butanol. A quantificação dos compostos foi realizada por meio de cromatografia gasosa utilizando o equipamento GC-2010 Shimadzu com detector de ionização por chama (GC/FID) e coluna HP INNOWAX (30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura do filme).

Inicialmente, foram coletadas 3,5 mL das amostras do afluente e do efluente, que foram armazenadas em congelador até a análise. Para a leitura no cromatógrafo, foram transferidos 2,0 mL da amostra para um vial de 10 mL. Em seguida, adicionaram-se 1,0 g de cloreto de sódio previamente seco, além de padrões internos: 70 µL de isobutanol e 100 µL de ácido crotônico. Por fim, antes da injeção no cromatógrafo, foram adicionados 200 µL de ácido sulfúrico (2 mol.L^{-1}) à mistura.

4.4.3 Demanda Química de Oxigênio (DQO)

Para determinar a concentração de matéria orgânica expressa em mg.L^{-1} , foram utilizados tubos padrão de DQO da HACH. Com uma pipeta automática, adicionaram-se 1,25 mL das amostras coletadas (afluente e efluente). Em seguida, foram inseridos 0,75 mL de solução de dicromato de potássio ($0,035 \text{ mol.L}^{-1}$ de dicromato de potássio e $0,134 \text{ mol.L}^{-1}$ de sulfato de mercúrio) e 1,75 mL de solução de sulfato de prata ($0,032 \text{ mol.L}^{-1}$), utilizando dispensadores automáticos para maior precisão. Foi preparada uma amostra em branco contendo apenas água destilada, seguindo as mesmas proporções de reagentes.

Após a adição dos reagentes, os tubos foram agitados manualmente por inversão e

colocados em um digestor HACH COD Reactor, previamente aquecido a 150°C. As amostras permaneceram no digestor por 120 minutos para a digestão química. Ao término do período, os tubos foram deixados para resfriar antes da análise de absorvância.

As leituras foram realizadas em um espectrofotômetro Nanocolor Vis (Macherey-Nagel), utilizando diferentes comprimentos de onda: 420 nm para a curva de baixa DQO (efluente) e 600 nm para a curva de alta DQO (afluente). O branco foi utilizado como referência para a calibração do equipamento. Todo o procedimento foi realizado em duplicata para as amostras de afluente e efluente previamente filtradas em membrana de 0,45 µm.

4.4.4 Sólidos

Para a análise de sólidos totais (ST), inicialmente, as amostras do efluente foram coletadas e armazenadas em congelador. Antes do início da análise, uma cápsula de porcelana foi calcinada em mufla a 550 °C por 15 minutos até alcançar uma massa constante. Após esse tempo, a mufla foi resfriada até 300 °C, temperatura segura para manuseio, e a cápsula foi transferida para uma estufa ajustada a 103-105 °C para estabilização da temperatura. Depois, a cápsula foi colocada em um dessecador até atingir a temperatura ambiente. O peso da cápsula foi então determinado em balança analítica, registrando-se sua massa inicial (P₀). Em seguida, foram transferidos 50 mL da amostra para a cápsula previamente pesada, garantindo que o volume fosse suficiente para que o resíduo seco não excedesse 200 mg. A amostra foi então seca em estufa a 105 °C por 24 horas. Após o resfriamento no dessecador, a cápsula contendo a amostra foi novamente pesada para determinar sua nova massa (P₁). O cálculo dos sólidos totais (ST) em mg. L⁻¹ foi realizado utilizando a Equação 2.

$$ST = \frac{P_1 - P_0}{V_{amostra}} \cdot 1000 \text{ Equação 2}$$

Em que: P₀ é a massa da cápsula de porcelana em g; P₁ é a massa do conjunto cápsula e amostra em g após secagem em estufa a 100 °C; V_{amostra} é o volume da amostra utilizado em mL.

Após a determinação da concentração de sólidos totais, a cápsula foi calcinada novamente em mufla a 550°C durante 15 minutos. Após resfriado, a massa do conjunto foi determinada, P₂ em g. Em seguida, calculou-se o valor de sólidos totais fixos (STF) e voláteis (STV) em mg.L⁻¹ de acordo com as Equações 3 e 4.

$$STF = \frac{P_2 - P_0}{V_{amostra}} \cdot 1000 \text{ Equação 3}$$

$$STV = \frac{P1 - P2}{Vamostra} \cdot 1000 \text{ Equação 4}$$

Em que: P2 é a massa do conjunto cápsula e amostra em g após calcinação em mufla a 550 °C.

Para a determinação de sólidos suspensos totais (SST), inicialmente, uma membrana filtrante de microfibras de vidro (0,45 µm) foi lavada com água Milli-Q. Em seguida, a membrana foi transferida para uma cápsula de porcelana com o auxílio de uma pinça metálica e calcinada em mufla a 550 °C por 15 minutos. Após o resfriamento, a membrana foi pesada em balança analítica para registrar sua massa inicial (P₃).

Posteriormente, 50 mL da amostra foram filtrados utilizando a membrana em um sistema de filtração a vácuo. A membrana contendo o resíduo foi transferida para a cápsula e seca em estufa a 100 °C por 24 horas. Após o resfriamento no dessecador, a membrana foi pesada novamente para determinar sua nova massa (P₄). Em seguida, a membrana foi submetida à calcinação na mufla a 550 °C, e, após o resfriamento, sua massa final foi registrada (P₅).

Os cálculos das concentrações de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e sólidos suspensos voláteis (SSV) em mg. L⁻¹ foram realizados a partir das Equações 5, 6 e 7:

$$SST = \frac{P4 - P3}{Vamostra} \cdot 1000 \text{ Equação 5}$$

$$SSF = \frac{P5 - P4}{Vamostra} \cdot 1000 \text{ Equação 6}$$

$$SSV = \frac{P4 - P5}{Vamostra} \cdot 1000 \text{ Equação 7}$$

Em que: P3 é a massa da membrana filtrante em g; P4 é a massa da membrana em g após secagem em estufa a 100 °C; P5 é a massa da membrana em g após calcinação em mufla a 550 °C; Vamostra é o volume da amostra utilizado em mL.

4.4.5 Produção e composição de biogás

A composição do biogás (dióxido de carbono, metano, sulfeto, nitrogênio e hidrogênio) foi determinada por cromatografia gasosa com detector de condutividade térmica (GC/TCD), conforme detalhado em Lebrero et al. (2016) e Perna et al. (2013). A taxa de fluxo de biogás foi medida utilizando um medidor de gás semicontínuo com válvula hidráulica em tubo J, de acordo com Veiga et al. (1990), e os dados discretos foram

adquiridos continuamente por meio de um software desenvolvido internamente. De acordo com o número de pulsos registrados, o volume de biogás produzido foi obtido seguindo a calibração pré-estabelecida do tubo J.

4.4.6 Determinação de MPOs

O método desenvolvido para a detecção e quantificação dos MPOs alvo foi adaptado de Silva et al. (2020). O sistema de análise consistiu em um cromatógrafo líquido (Agilent Technologies 1260 Infinity) e um espectrômetro de massas (ABSciex QTRAP 5500) acoplados por uma interface de ionização por electrospray (ESI). As análises foram realizadas no modo SRM (*selected reaction monitoring*), com resolução unitária em ambos os analisadores de massa. O sistema de troca de colunas prepara a amostra por extração em fase sólida (*solid-phase extraction - SPE*) online, utilizando uma coluna de extração (Waters Oasis HLB phase - 20 mm x 2,1 mm, 25 μm) e uma coluna de separação (Agilent Poroshell 120 EC-C18 - 50 mm x 2,1 mm, 2,7 μm). O sistema opera no modo *backflush*, com inversão da direção de eluição da coluna de extração. A fonte de íons foi operada em modo positivo e negativo de ionização por electrospray, dependendo do analito. Os demais parâmetros do espectrômetro de massas foram: gás de cortina 20 psi; gás de colisão de nitrogênio médio; voltagem do spray de íons - 5500 V; temperatura da fonte 650 °C; gases da fonte 50 psi.

A fase móvel aquosa (A) consistiu em água ultrapura contendo ácido fórmico 0,1% (v/v), enquanto a fase móvel orgânica (B) foi uma solução de acetonitrila: metanol (80:20 v/v), aplicada com uma vazão de 0,4 mL min⁻¹. O gradiente da fase A foi definido como: 0–3 min - 95%; 3–3,5 min - de 95% a 35%; 3,5–9 min - 35%; 9–10 min - de 35% a 10%; 10–12 min - 10%; 12–14 min - de 10% a 95%. A porcentagem restante em cada intervalo de tempo corresponde à fase B. As curvas analíticas de calibração foram preparadas a partir de soluções padrão de MPOs de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ em água ultrapura. Diluições seriadas, na faixa de 0,5 a 16 $\mu\text{g L}^{-1}$, foram preparadas na matriz (efluente do reator anaeróbico) livre de MPOs para evitar a falta de precisão. O efluente anaeróbico foi filtrado (0,22 μm) e acidificado a pH 3 com ácido fórmico (98% v/v). As amostras foram tratadas da mesma forma (filtração e acidificação). Duas transições foram analisadas para cada analito, e o fragmento mais significativo foi considerado para a quantificação. A eficiência de recuperação (ER) foi calculada pela razão das áreas cromatográficas em três níveis de concentração (1, 8 e 16 $\mu\text{g L}^{-1}$) da curva analítica de MPOs adicionados antes e após a SPE. Maiores detalhes da validação do método analítico podem ser encontrados em Carneiro et al. (2024).

4.4.7 Carboidratos – Método Fenol-Sulfúrico (Espectrofotométrico)

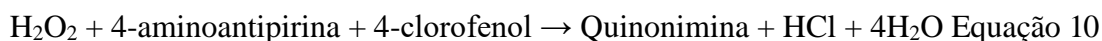
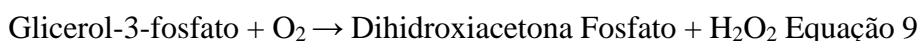
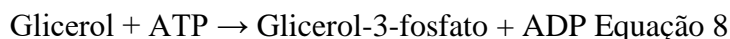
Descrito por Dubois et al. (1956), o método utilizado para a determinação de carboidratos consiste na desidratação destas substâncias pela ação do ácido sulfúrico concentrado e na complexação dos compostos formados (furfural para pentoses e hidroximetilfurfural para hexoses) com o fenol, levando à produção de uma substância de coloração alaranjada, com pico de absorbância próximo de 490 nm.

A concentração de carboidratos da amostra é determinada através de uma reta de calibração previamente construída com uma solução do carboidrato de interesse (glicose ou sacarose, por exemplo).

Inicialmente transferiu-se 500 µL de amostra bruta (carboidratos totais) para tubo de DQO padrão HACH®; na capela, com a exaustão ligada e auxílio de pipeta de vidro, adicionou-se 500 µL da solução de fenol 5%; ainda sob exaustão, adicionou-se, com auxílio de dispensador automático, 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado, rapidamente e com o jato direcionado para a superfície do líquido, de modo a obter uma boa mistura; tampou-se o tubo e ficou em repouso por 10 min; após esse período, agitou-se e imergiu-se os tubos em banho de água por cerca de 15 min para o resfriamento até a temperatura ambiente; zerou-se o espectrofotômetro com o teste em branco (água deionizada no lugar da amostra) em comprimento de onda de 490 nm e foi efetuada a leitura das absorbâncias das amostras.

4.4.8 Glicerol - Método Enzimático (Espectrofotométrico)

A análise foi realizada por meio de um método enzimático baseado em Greenhill (2003), o qual é caracterizado como um procedimento fotoenzimático e não tóxico, uma vez que dispensa o uso do solvente piridina. De acordo com Valdez et al. (2012), tal método é preciso, podendo ser realizado em curto período de tempo. As reações enzimáticas envolvidas neste método são descritas a seguir:



O glicerol, na presença da adenosina trifosfato (ATP) e da enzima glicerol-quinase (GK), produz adenosina difosfato (ADP) e glicerol-3-fosfato (Equação 8) que, na presença de glicerol-3-fosfato oxidase (GPO) e oxigênio, produz di-hidroxiacetona fosfato (DAP) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (Equação 9). Tal peróxido, na presença de uma peroxidase (POD), de um

aceptor de oxigênio (4-clorofenol) e da 4-aminoantipirina, formam água e a quinonimina (Equação 10), um composto colorido que pode ser determinado em espectrofotômetro com comprimento de onda de 500 nm.

A solução enzimática comercial Triglycerides FS Diasys pode ser utilizada para a determinação de glicerol pela presente metodologia, adaptada para amostras aquosas:

Tabela 3: Composição da solução enzimática comercial utilizada na análise de glicerol

Componente	Concentração	Unidade
Tampão – pH 7,2	50	mmol/L
4-Clorofenol	4	mmol/L
ATP	2	mmol/L
Mg ²⁺	15	mmol/L
GK (Glicerol quinase)	≥4	kU/L
POD (Peroxidase)	≥ 2	kU/L
LPL (Lipase Lipoproteica)	≥ 2	kU/L
4 - Aminoantipirina	0,5	mmol/L
GPO (Glicerol-3-fosfato oxidase)	0,5	kU/L

Fonte: Carneiro (2015)

4.5 Perfis espaciais de DQO/CHs e MPOs

Para avaliar a cinética de remoção de matéria orgânica (em termos de DQO e CHs) e de MPOs ao longo dos reatores, foram realizados perfis espaciais por meio da análise de amostras pontuais coletadas nos pontos laterais de cada reator ao final de cada fase de operação. As concentrações obtidas em cada ponto foram ajustadas por um modelo cinético de primeira ordem (Equação 11a) levando em conta que o sistema se comportou como um reator de fluxo plug ideal, como demonstrado anteriormente por Carneiro et al. (2019).

$$C = CR + (C0 - CR) \cdot e^{(-k1app \cdot \theta h)} \quad \text{Equação 11 a}$$

$$k_{bio} = \frac{k1}{SSV_{reator}} \quad \text{Equação 11 b}$$

Em que: C é a concentração de DQO/CH/MPO; CR é a concentração residual de DQO/MPO; C0 é a concentração inicial de DQO/CH/MPO; $k1_{app}$ é a constante cinética de primeira ordem; θh é o tempo de detenção hidráulica; constante de cinética de biodegradação (k_{bio} , em $L \ g^{-1} \ SSV \ d^{-1}$); SSV_{reator} ($g\text{-}SSV \ L^{-1}$) corresponde à concentração de sólidos suspensos voláteis do

sistema.

O software utilizado na análise cinética foi o Origin Pro, que calcula a derivada da concentração em relação ao tempo (Método diferencial) e assim foi realizado o ajuste desses dados ao modelo. A partir disto foi possível plotar os gráficos de decaimento no Excel.

4.6 Cálculos avaliação de desempenho

A avaliação de desempenho do sistema de tratamento foi monitorada em termos de eficiência de remoção de matéria orgânica, considerando a DQO e a conversão de CH, ou GOH, de acordo com a Equação 12, onde C representa a DQO, CH ou GOH em mg L⁻¹. A eficiência de remoção de MPOs também foi medida em cada reator, de forma análoga.

$$\text{Remoção} = 1 - \frac{C_{\text{efluente}}}{C_{\text{afluente}}} \quad \text{Equação 12}$$

Essa abordagem sugere que a mesma equação foi utilizada para calcular a eficiência de remoção de diferentes compostos (DQO, CH, GOH, MPOs) em termos de concentração no afluente e efluente, facilitando a avaliação e comparação do desempenho do sistema para diferentes substâncias.

Os reatores também foram avaliados em termos de produção de metano para comparar o efeito da adição de GOH na metanogênese. Para esse propósito, a taxa de produção de metano (PVM, em mLCH₄ L⁻¹ d⁻¹, Equação 13) e o potencial energético do biogás (EPCH₄, em kJ g⁻¹- DQOremovida, Equação 14) foram quantificados em cada fase operacional. Em que, XCH₄ é a porcentagem de metano no biogás; Vreator é o volume útil do reator (2 L); Qbiogás é a taxa de fluxo de biogás em mL d⁻¹, determinada por medidores de gás conectados ao espaço de cabeça dos biorreatores com base em uma técnica de pulsometria (Veiga et al., 1990); Qafluente é a taxa de fluxo de substrato afluente de cada reator em L d⁻¹; HVCH₄ é o valor calorífico do metano - 40,68 kJ L⁻¹CH₄ (Wang et al., 2018).

$$\text{PVM} = \frac{Q_{\text{biogás}} \cdot X_{\text{CH}_4}}{V_{\text{reator}}} \quad \text{Equação 13}$$

$$\text{EPCH}_4 = \frac{Q_{\text{biogás}} \cdot X_{\text{CH}_4}}{Q_{\text{afluente}} (DQO_{\text{afluente}} - DQO_{\text{efluente}})} \cdot HV_{\text{CH}_4} \quad \text{Equação 14}$$

A alcalinidade produzida no reator metanogênico foi utilizada para verificar a capacidade de tamponamento contra variações de pH do meio e a estabilidade da metanogênese. Para esse propósito, a alcalinidade parcial (PA) em relação à produção de bicarbonato foi medida (referente ao volume gasto do ácido titulante até pH 5,75). Em seguida, a relação entre

PA e consumo de matéria orgânica, em termos de DQO, foi medida de acordo com a Equação 15.

$$\frac{Alcproduzida}{DQOremovida} = \frac{AlcEfluente - AlcAfluente}{DQOAfluente - DQOEfluente} \quad \text{Equação 15}$$

4.8 Teste estatístico de hipótese t de Student

Foram feitas para cada fase comparações entre os valores de eficiência de remoção de matéria orgânica e carboidratos, composição/produção do biogás, por meio do teste estatístico de hipótese t de Student no Excel. Ele tem como objetivo avaliar a diferença estatística entre a média de dois grupos.

A comparação foi entre os valores da Fase 1 e Fase 2. O teste foi realizado com a função do Excel e o nível de significância admitido foi de 5%. Foram consideradas as seguintes hipóteses: Hipótese nula: os valores entre as fases comparadas são iguais; Hipótese alternativa: os valores entre as fases comparadas são diferentes.

Por fim, obteve-se o valor - p e comparou-se com o nível de significância admitido. Nos casos em que o valor -p é menor que 5%, a hipótese nula foi rejeitada, já quando o valor -p é maior que 5%, a hipótese nula foi aceita.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O sistema anaeróbio (acidogênico-metanogênico) foi operado durante 169 e 80 dias durante as fases 1 e 2, respectivamente. Neste capítulo estão apresentados os resultados obtidos durante a operação dos reatores e sua discussão em função dos objetivos supracitados deste estudo.

5.1 pH, alcalinidade e ácidos voláteis

No Ac a média do pH efluente na 1ª fase foi de $5,46 \pm 0,58$ (que por estar em série com o metanogênico é o pH afluente deste) e na 2ª de $4,19 \pm 0,15$. Sendo assim o teste t de Student apresentou diferença estatística ($p = 2,89 \cdot 10^{-12}$) nos pH efluentes do reator Ac variando significativamente entre as fases. Já no Met o pH nas 2 fases Met se manteve dentro da faixa de 7,0 a 7,5 durante toda a operação. A média do pH efluente na primeira fase foi de $7,22 \pm 0,23$ e na segunda de $7,45 \pm 0,28$, estando de acordo com Riuji (2009) que afirma que o crescimento ótimo das arqueas metanogênicas ocorre em faixa relativamente estreita do pH (em torno de 6,5 a 7,5).

Observou-se que a adição de GOH na fase 2 proporcionou uma diminuição no pH do efluente do Ac de 5,46 para 4,19, indicando um favorecimento das comunidades microbianas fermentativas para a produção de ácidos orgânicos e solventes, os quais causaram essa redução no pH. Estudos apontam que o acúmulo de ácidos orgânicos e solventes em ambientes acidogênicos é comum durante a fermentação de compostos ricos em carbono, como o glicerol, o que resulta na queda do pH (Fountoulakis et al., 2010; Silva et al., 2018). Esse aumento de Ácidos Voláteis Totais e Solventes (de um total de 342–904 mg-DQO L⁻¹) sem consumo direto no reator acidogênico explica a diminuição observada no pH (Shahbaz et al., 2019).

A média de alcalinidade total gerada pelo reator metanogênico na fase 1 foi de $237,1 \pm 81,2$ mgCaCO₃ L⁻¹ e de $676,5 \pm 137,2$ mgCaCO₃ L⁻¹ na fase 2, e a relação AI/AP média foi de $0,37 \pm 0,10$ na fase 1 e de $0,28 \pm 0,05$ na fase 2. Esses valores evidenciam que não houve distúrbios no processo, uma vez que o desbalanceamento na produção e no consumo de ácidos voláteis provocaria o aumento expressivo da relação AI/AP, demonstrando que houve alcalinidade suficiente para tamponamento do meio durante a metanogênese (Ripley et al., 1986).

Desta maneira, o controle do pH torna-se elemento central na busca da operação

eficiente de reatores anaeróbios. O equilíbrio da digestão anaeróbia está associado à capacidade da alcalinidade do sistema em neutralizar os ácidos formados e tamponar o pH quando ocorre acumulação de ácidos voláteis. Mesmo sem suplementação de bicarbonato no efluente do reator acidogênico (afluente do metanogênico), observou-se uma maior capacidade de tamponamento no biorreator Met, visto a maior produção de alcalinidade parcial no meio (Alcalinidade produzida/DQO removida: Met = $0,28 \text{ gCaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}$ durante a fase 1 e Met = $0,33 \text{ gCaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}$ durante a fase 2) uma vez que os ácidos graxos voláteis (AGVs) estavam prontamente biodisponíveis para os microrganismos acetogênicos/metanogênicos.

O estudo da acidogênese também foi avaliado por meio do perfil da produção de alguns ácidos orgânicos. A Figura 6 ilustra a evolução da concentração de alguns ácidos graxos voláteis detectados durante as fases 1 e 2 no reator acidogênico, enquanto no metanogênico não houve detecção de ácidos durante toda a operação, ou seja, não houve acúmulo de ácidos voláteis. A digestão anaeróbia é um processo composto de várias etapas sucessivas e em uma delas há a formação de ácidos graxos de cadeia curta, como o ácido acético, propiônico, butírico, etc., conhecidos como ácidos voláteis. Se houver um desequilíbrio entre as várias etapas sucessivas, pode ocorrer o acúmulo desses ácidos voláteis (Craveiro, 1982). Um acúmulo excessivo desses ácidos pode causar inibição das archaeas metanogênicas.

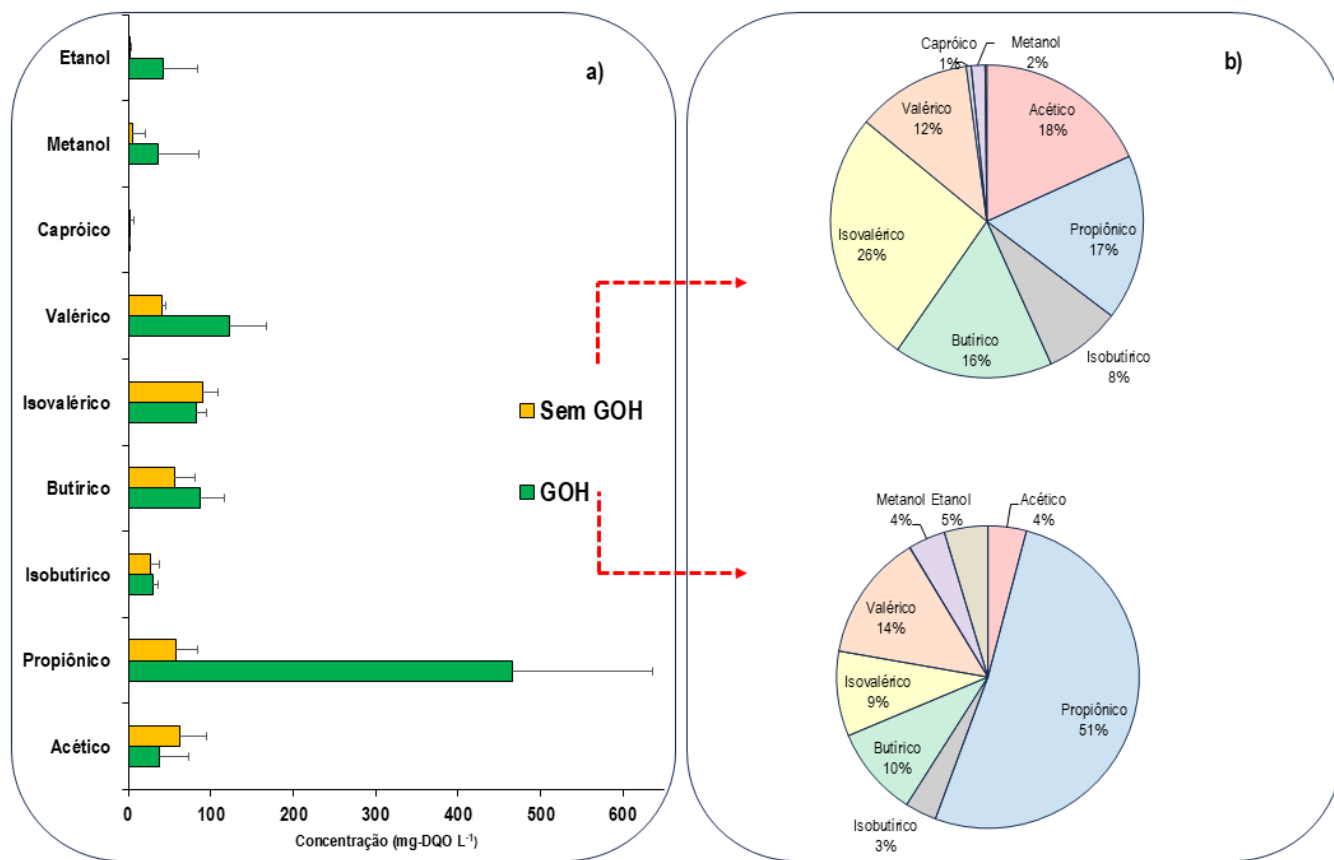
Em suma, observa-se que na fase 1, em ordem decrescente, houve maior produção de ácido isovalérico, acético, propiônico e butírico. Já na fase 2 em ordem decrescente, houve maior produção de ácido propiônico (51%), valérico, butírico e isovalérico.

Houve um desvio na via metabólica para a produção de ácido propiônico durante a fermentação de GOH (Figura 6b). Alguns estudos mostraram a presença de bactérias que produzem ácido propiônico (gênero *Propionibacterium*) a partir da fermentação de GOH, e observaram uma mudança na rota biológica de produção de acetato para propiônico ao mudar o substrato de glicose para GOH (Clomburg; Gonzalez, 2013), o que corrobora os resultados encontrados no trabalho. GOH demonstrou sua capacidade fermentativa, como também observado anteriormente por Zahedi et al. (2017) e Meier et al. (2020), contribuindo para a produção de ácidos orgânicos (principalmente ácido propiônico, valérico e butírico) e solventes (etanol e metanol) durante a fase acidogênica da digestão anaeróbia.

O glicerol, sendo um substrato mais reduzido, desloca a via metabólica em direção à

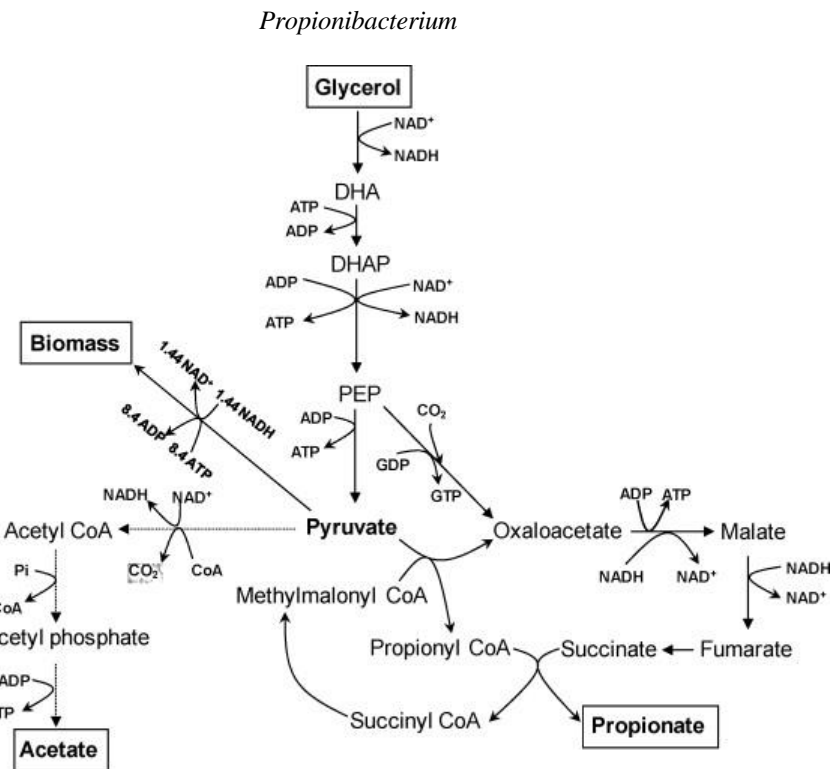
produção de ácido propiônico para que as células mantenham o equilíbrio redox. Isso ocorre porque cada mol de glicerol convertido em piruvato geraria 2 moles de NADH, que devem passar pela via de síntese do ácido propiônico para converter completamente o NADH de volta em NAD⁺ e manter o equilíbrio redox (ver Figura 7). Em contraste, um mol de NADH seria gerado se o piruvato fosse convertido em acetato, resultando em um desequilíbrio redox (Zhang; Yang, 2009).

Figura 6: Concentração média (a) e composição percentual (b) dos metabolitos de fermentação no Ac para cada fase operacional (Fase 1 – "Sem GOH"; Fase 2 – "GOH").



Fonte: Carneiro et al. (2024)

Figura 7: A via do ácido dicarboxílico para a fermentação do ácido propiônico a partir do glicerol por



Fonte: Zhang;Yang (2009)

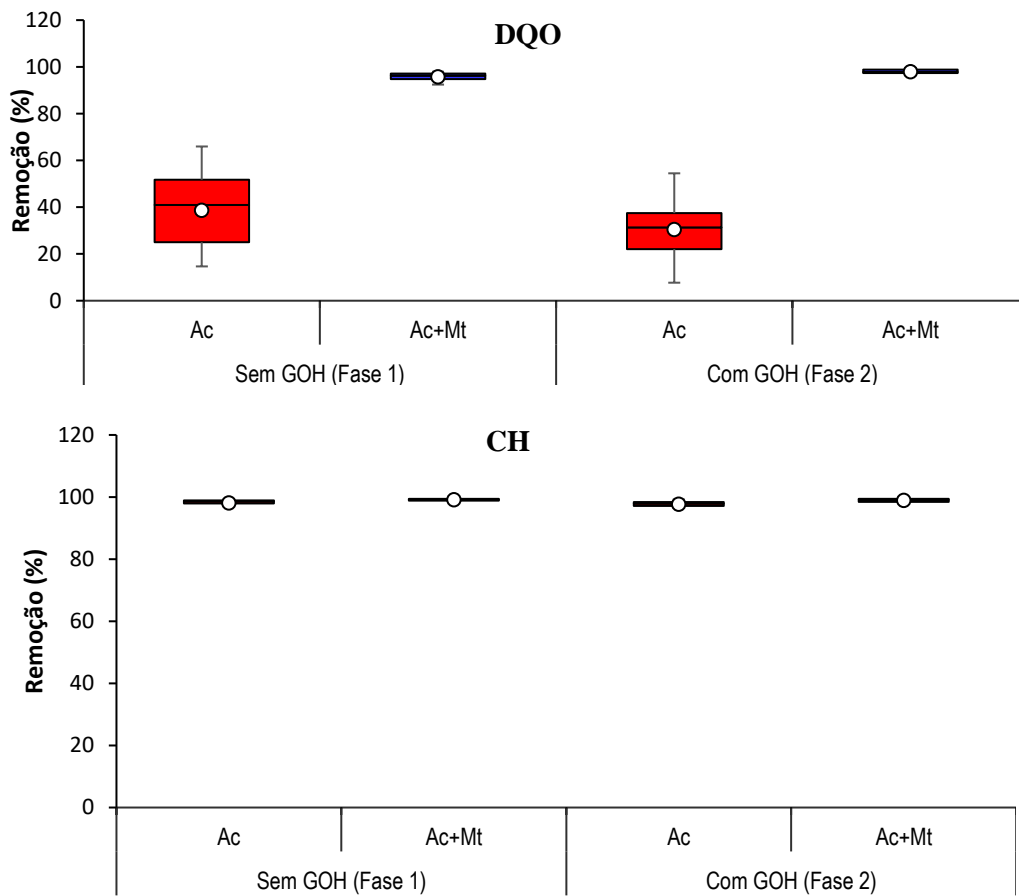
5.2 Remoção de matéria orgânica (DQO e carboidratos)

A Figura 8 apresenta o boxplot de distribuição dos resultados de remoção percentual global de DQO e carboidratos (CHs) para cada fase operacional. As concentrações médias de DQO do efluente do reator acidogênico (Ac) e metanogênico (Met) na etapa 1 foram $650 \pm 194 \text{ mg L}^{-1}$ e $49 \pm 19 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, já na etapa 2 foram de $1586 \pm 380 \text{ mg L}^{-1}$ e $44 \pm 27 \text{ mg L}^{-1}$. As eficiências médias de remoção de DQO na fase 1 acidogênica e metanogênica foram de $38,6 \pm 15,9\%$ e $93 \pm 4\%$, respectivamente, enquanto na fase 2 foram de $30,4 \pm 13,1\%$ e $97 \pm 2\%$. Como era esperado, a remoção de DQO ocorreu principalmente no reator metanogênico, já que com a separação de fases a maior degradação de matéria orgânica ocorre na etapa metanogênica. Por fim, a eficiência de remoção total do sistema foi de $96 \pm 1\%$ e $98 \pm 1\%$ para as fases 1 e 2 respectivamente. Comparando-se os resultados da operação das fases 1 e 2, foi constatado que foram estatisticamente similares na remoção de DQO, ou seja, a adição de glicerol não afetou a remoção de matéria orgânica.

Com relação a análise de carboidratos, esta foi feita para monitorar a conversão dos carboidratos totais e a eficiência do processo. O reator acidogênico apresentou alta eficiência

de remoção de carboidratos e glicerol, estes foram totalmente bioconvertidos no reator acidogênico (remoção de CH = 98%, remoção de GOH = 100%), o que era esperado tendo em vista que ao separar as fases os carboidratos foram convertidos em ácidos, álcoois, acetato, H₂ e CO₂, na fase acidogênica. A eficiência global teve um valor médio de 99% para todas as fases operacionais, sendo assim, estatisticamente iguais, indicando alta eficiência de remoção de carboidratos, bem como um ótimo desempenho da etapa hidrolítica / fermentativa no reator acidogênico, além de indicar que a entrada de DQO pela adição de GOH no meio não influenciou na eficiência do sistema.

Figura 8: Boxplot da eficiência de remoção de DQO e CHs nos reatores.

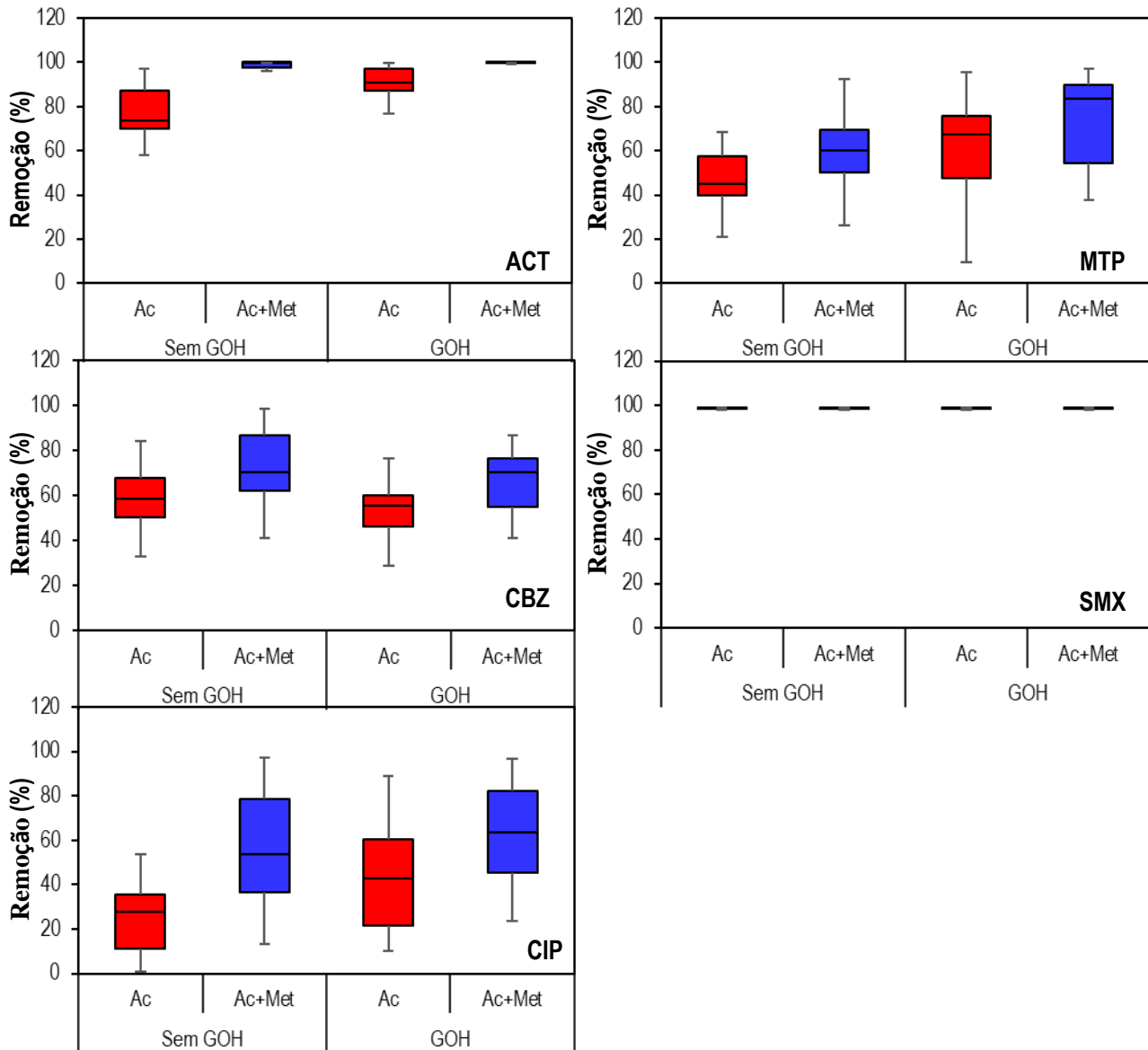


Fonte: O autor (2024)

5.3 Remoção de Micropoluentes

Os gráficos de boxplot na Figura 9 ilustram a eficiência de remoção de MPOs para cada fase operacional ("Sem GOH" e "Com GOH"). Na Tabela 4, são apresentadas as concentrações médias do afluente e efluente, assim como as taxas de remoção em cada reator.

Figura 9: Boxplot da remoção de MPOs comparando o reator acidogênico e o sistema global (Ac + Met) durante cada fase operacional (Fase 1 – 'Sem GOH', n = 31; Fase 2 – 'GOH', n = 20)



Fonte: O autor (2024)

Tabela 4: Concentrações de afluentes e efluentes de MPOs, e eficiências de remoção em cada biorreator durante ambas as fases operacionais (Fase 1 – “Sem GOH”; Fase 2 – “GOH”).

MPO	Fase 1 - Sem GOH				Fase 2 - GOH					
	Afl.	Efl. Ac.	Efl. Met.	Rem. Ac. (%)	Rem. Global (%)	Afl.	Efl. Ac.	Efl. Met.	Rem. Ac. (%)	Rem. Global (%)
ACT	11,96 ± 2,70	2,66 ± 1,48	0,29 ± 0,46	78 ± 11	97 ± 4	9,62 ± 2,43	1,00 ± 0,94	0,05 ± 0,06	89 ± 13	99 ± 1
CBZ	8,69 ± 1,80	3,90 ± 1,76	0,59 ± 0,09	55 ± 19	73 ± 16	13,29 ± 2,46	6,41 ± 2,36	4,51 ± 2,16	53 ± 13	67 ± 14
MTP	16,00 ± 3,93	8,46 ± 1,93	6,43 ± 2,41	45 ± 14	58 ± 18	9,11 ± 2,94	3,82 ± 2,72	2,52 ± 2,26	59 ± 24	73 ± 21
SMX	11,30 ± 1,33	0,16 ± 0,07	0,14 ± 0,00	99 ± 1	99 ± 0	11,22 ± 1,44	0,14 ± 0,00	0,14 ± 0,00	99 ± 0	99 ± 0
CIP	12,04 ± 1,96	9,02 ± 2,18	5,24 ± 3,28	25 ± 15	56 ± 26	11,72 ± 2,14	6,55 ± 3,34	4,51 ± 3,20	46 ± 25	63 ± 23

Fonte: O autor (2024)

A adição de GOH ao reator acidogênico resultou em um aumento significativo (valor $p = 0,007$; $p = 0,02$; $p = 0,003$ no Teste t de Student) na remoção de vários MPOs, como ACT (de 78 para 89%), MTP (de 45 para 59%) e CIP (de 25 para 46%). Isso indica um efeito metabólico na biodegradação desses compostos durante a fermentação do substrato orgânico. Estudos anteriores também demonstram que o aumento da carga orgânica pode influenciar a remoção de micropoluentes (Guo et al., 2024).

Cosubstratos, tipicamente caracterizados por sua fácil biodegradabilidade e abundância de carbono apoiam a degradação do poluente-alvo ao desencadear maior atividade metabólica e diversidade da comunidade microbiana (Gonzalez- Gil et al., 2017). Nesse processo, os cosubstratos servem como fontes de nutrientes e energia para a comunidade microbiana, permitindo que eles cresçam e se reproduzam de forma mais ativa, o que, consequentemente, leva a uma degradação mais completa do poluente-alvo (Khan et al., 2023). Resultados de várias pesquisas demonstraram que o cometabolismo pode ser particularmente útil ao lidar com poluentes complexos ou recalcitrantes (Gonzalez-Gil et al., 2019; Tang et al., 2022b; Zumstein; Helbling, 2019), o que destaca fortemente o potencial do cometabolismo.

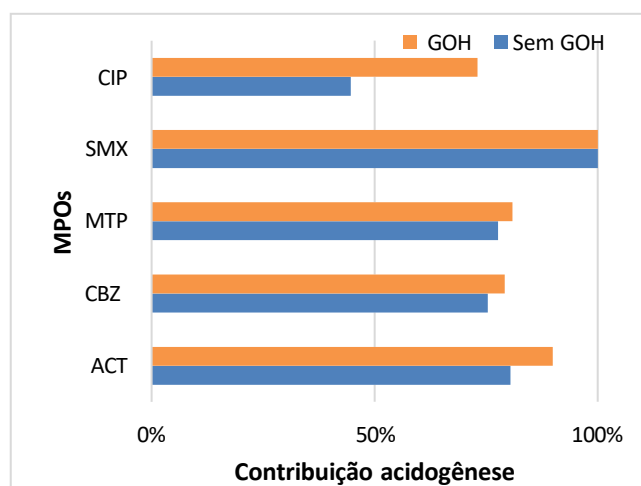
A fermentação de GOH envolve diversos mecanismos enzimáticos que contribuem para a geração de ácidos orgânicos e solventes, os quais podem melhorar a remoção dos compostos estudados. Um mecanismo viável para o cometabolismo enzimático desses micropoluentes está relacionado à enzima glicerol quinase (GK), responsável pela fosforilação do grupo hidroxila, transferindo um fosfato do ATP para o GOH. De forma semelhante, a GK pode atuar na biotransformação de micropoluentes orgânicos. Isso também explicaria a ausência de efeito

cometabólico na remoção de SMX e CBZ durante a fermentação com GOH, uma vez que esses compostos não apresentam grupos carboxila ou hidroxila em suas estruturas moleculares, sugerindo que outros mecanismos podem estar envolvidos em sua biodegradação (Carneiro et al., 2024).

Ademais, o glicerol atua como fonte de carbono e doador de elétrons em organismos fermentativos, sendo metabolizado por vias bioquímicas distintas que dependem das condições ambientais. Em sistemas anaeróbios, o glicerol é utilizado por microrganismos como *E. coli* que convertem o glicerol intracelularmente em di-hidroxiacetona (DHA) ou sn-glicerol-3-fosfato (G3P) via enzimas como a glicerol quinase, conforme descrito por Clomburg e Gonzalez (2013) e Poblete-Castro et al. (2020). Esses processos promovem a geração de ATP, essencial para a fosforilação de moléculas como micropoluentes orgânicos (MPOs), favorecendo sua biodegradação (Wilk et al., 2020).

Ao comparar a fase acidogênica com o desempenho global do sistema, observa-se que a acidogênese contribui significativamente para a remoção de todos os MPOs estudados. Isso pode ser visualizado na Figura 10, com a contribuição variando de 73% (CIP) a 100% (SMX) durante a fermentação com GOH. Estudos anteriores também sugerem que a acidogênese tem um papel crucial na degradação de micropoluentes orgânicos na digestão anaeróbia (Carneiro et al., 2020; Arcila-Saenz et al., 2023).

Figura 10: Contribuição da acidogênese na remoção dos MPOs em cada fase operacional (Fase 1 – “Sem GOH”; Fase 2 – “GOH”)



Fonte: O autor (2024)

Já considerando o desempenho geral do sistema dupla fase, alguns compostos foram removidos de forma eficaz (eficiência de remoção > 95%) nas duas fases operacionais – SMX e ACT. Estudos destacam a alta biodegradabilidade do SMX, como observado por Wei et al. (2019), em escala laboratorial utilizou um biorreator aneróbio de membrana (AnMBR) para

tratar esgoto sintético com diferentes concentrações de Sulfametoxazol (SMX) e matéria orgânica. Durante 170 dias de operação com tempo de detenção hidráulica de 1 dia, observou-se que a remoção média de SMX foi de 97,1% para concentrações entre 10–1000 µg/L. No entanto, à medida que a concentração de SMX aumentou para 10.000 e 100.000 µg/L, a remoção diminuiu para 91,6% e 88,0%, respectivamente, devido aos efeitos inibitórios das altas cargas de SMX sobre os microrganismos anaeróbios.

Outro estudo observou a remoção de sulfametoxazol (SMX) em reatores sequenciais anóxicos/aneróbios/óxicos, utilizando biomassa suspensa e granular. Durante 12 horas de tempo de detenção hidráulica, a eficiência de remoção de SMX foi de 84% com biomassa granular e 73% com biomassa suspensa (Kang et al., 2018). Estudos também destacam alta biodegradabilidade do ACT, por exemplo a biodegradação anaeróbia do paracetamol, a qual foi estudada utilizando lodo enriquecido com ácido húmico em estações de tratamento de águas residuárias, onde foi constatado que 90% do paracetamol foi degradado (Weirong et al., 2007). Também foi reportado que 87,8% do paracetamol (2,70 µg/L) foi removido por um reator anaeróbio de leito fluidizado e 97,9% por um biorreator anaeróbio de membrana fluidizada (Dutta et al., 2014). Da mesma forma, constatou-se que o reator anaeróbio de leito empacotado tem uma boa capacidade de tratamento de águas residuárias de cervejaria contendo paracetamol (Abdullah et al., 2016).

Os demais compostos (CBZ, MTP e CIP) tiveram uma remoção total moderada. O MTP mostrou um aumento na eficiência global comparando a fase com GOH (Fase 2 - 73%) e sem GOH (Fase 1 - 58%). A moderada biodegradabilidade da CBZ também foi observada em um estudo com um reator aneróbio de manta de lodo de fluxo ascendente (UASB) de águas residuárias municipais. Durante os diferentes estágios de carga orgânica (alta, média e baixa), as eficiências de remoção de CBZ alcançaram 48,9%, 48,0% e 38,2%, respectivamente (Moya-Llamas; Trapote; Prats, 2021). Já para o MTP outro estudo com reator UASB demonstrou uma taxa de remoção de metoprolol de aproximadamente 60% (Tang; Zhao; Liu, 2020). Já o CIP, um estudo examinou a remoção de concentrações variadas ao longo de um período prolongado (120 dias) em um biorreator aneróbio de membrana (AnMBR). Os resultados mostraram que 50 a 76% do CIP foi removido com concentrações de 0,5 a 1,5 mg/L (Do; Stuckey, 2019). As eficiências de remoção alcançadas no presente trabalho, comparadas com valores da literatura, mostram que a separação de fases da digestão aneróbia com a aplicação de cosubstratos orgânicos pode aumentar a biodegradação de MPOs.

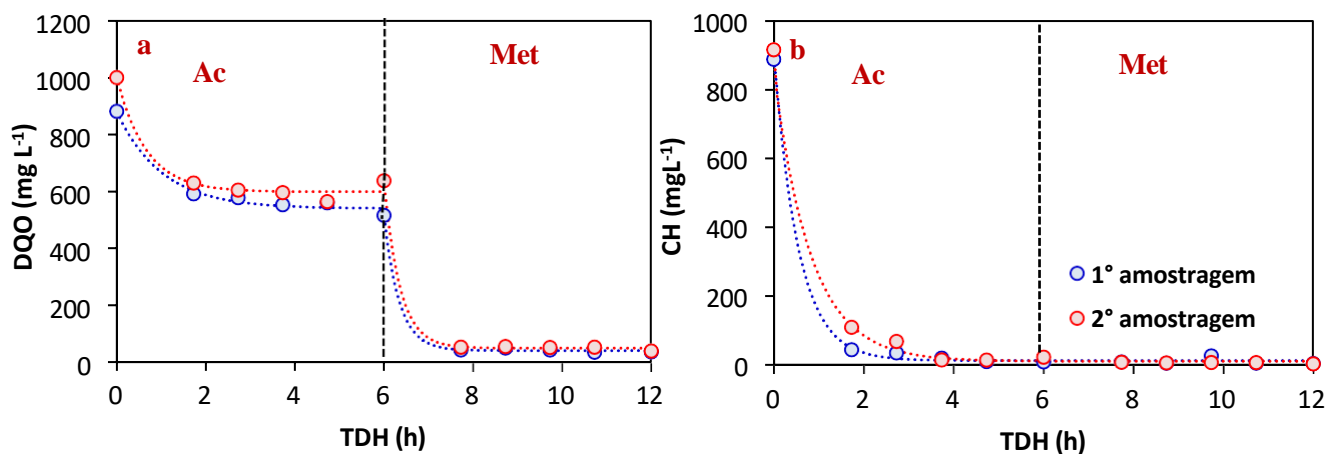
5.4 Perfis cinéticos espaciais de remoção de matéria orgânica (DQO e CHs) e MPOs

Para a primeira e segunda fase foram realizados perfis cinéticos de DQO, conforme mostrado na Figura 11. Para a realização deles, assumiu-se que o decaimento da matéria orgânica ao longo do TDH segue decaimento cinético de primeira ordem com concentração residual, além de considerar os reatores como tubulares ideal, isotérmicos, homogêneos e em regime permanente.

Observa-se que houve uma remoção de matéria orgânica (DQO) mais acentuada no reator metanogênico, ocorrendo principalmente entre o ponto de entrada e o terceiro ponto. Já para o acidogênico a cinética de remoção de matéria orgânica (DQO) foi menos favorável, o que já era esperado para esse reator uma vez que nele a maior parte da matéria orgânica não é removida, mas sim convertida em ácidos graxos voláteis, com assim maior remoção de carboidratos.

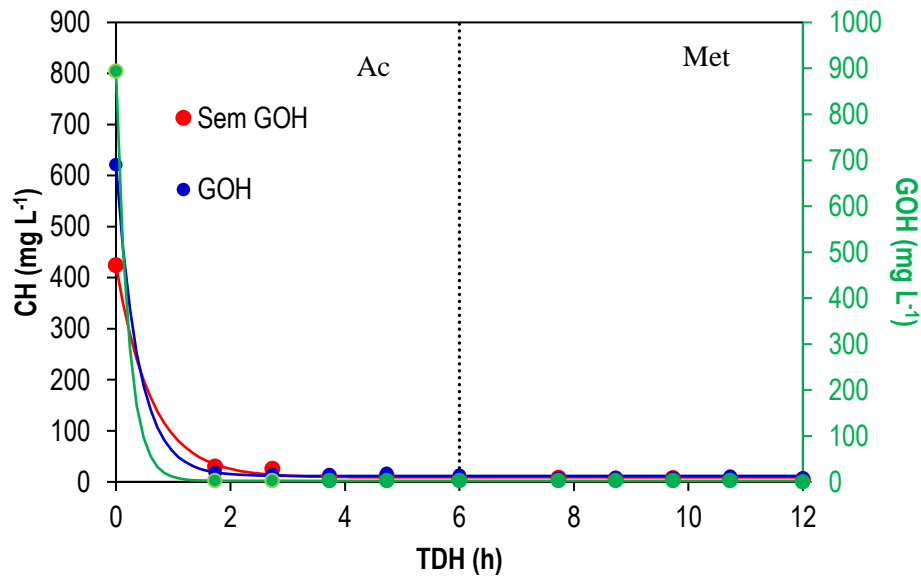
Para a segunda fase procedeu-se analogamente, havendo no entanto a adição do perfil de remoção de GOH (Figura 12), também apresentando cinética de remoção mais favorável na acidogênese. Na Tabela 5 observa-se que na fase dois, onde o glicerol foi introduzido como substrato, as constantes cinéticas aumentaram para CH de $k_1 = 1,61 \text{ h}^{-1}$ e $k_{bio} = 2,56 \text{ L g}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$ para $k_1 = 1,71 \text{ h}^{-1}$ e $k_{bio} = 2,72 \text{ L g}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$. Este aumento nas constantes cinéticas sugere que a adição do glicerol como um substrato mais eficiente e de fácil assimilação favoreceu microrganismos com maior capacidade de degradação. O glicerol, assim, resulta em uma cinética de degradação mais favorável em comparação aos carboidratos, refletindo a importância do tipo de substrato na eficiência do tratamento anaeróbico.

Figura 11: Perfis espaciais de remoção de CH e DQO ao longo dos biorreatores na Fase 1



Fonte: O autor (2024)

Figura 12: Perfis espaciais de remoção de CH e GOH ao longo dos biorreatores – Fase 2. As linhas indicam os ajustes obtidos de acordo com a Equação 11, aplicando o software Origin (Versão 8.5), e os pontos representam os dados experimentais



Fonte: O autor (2024)

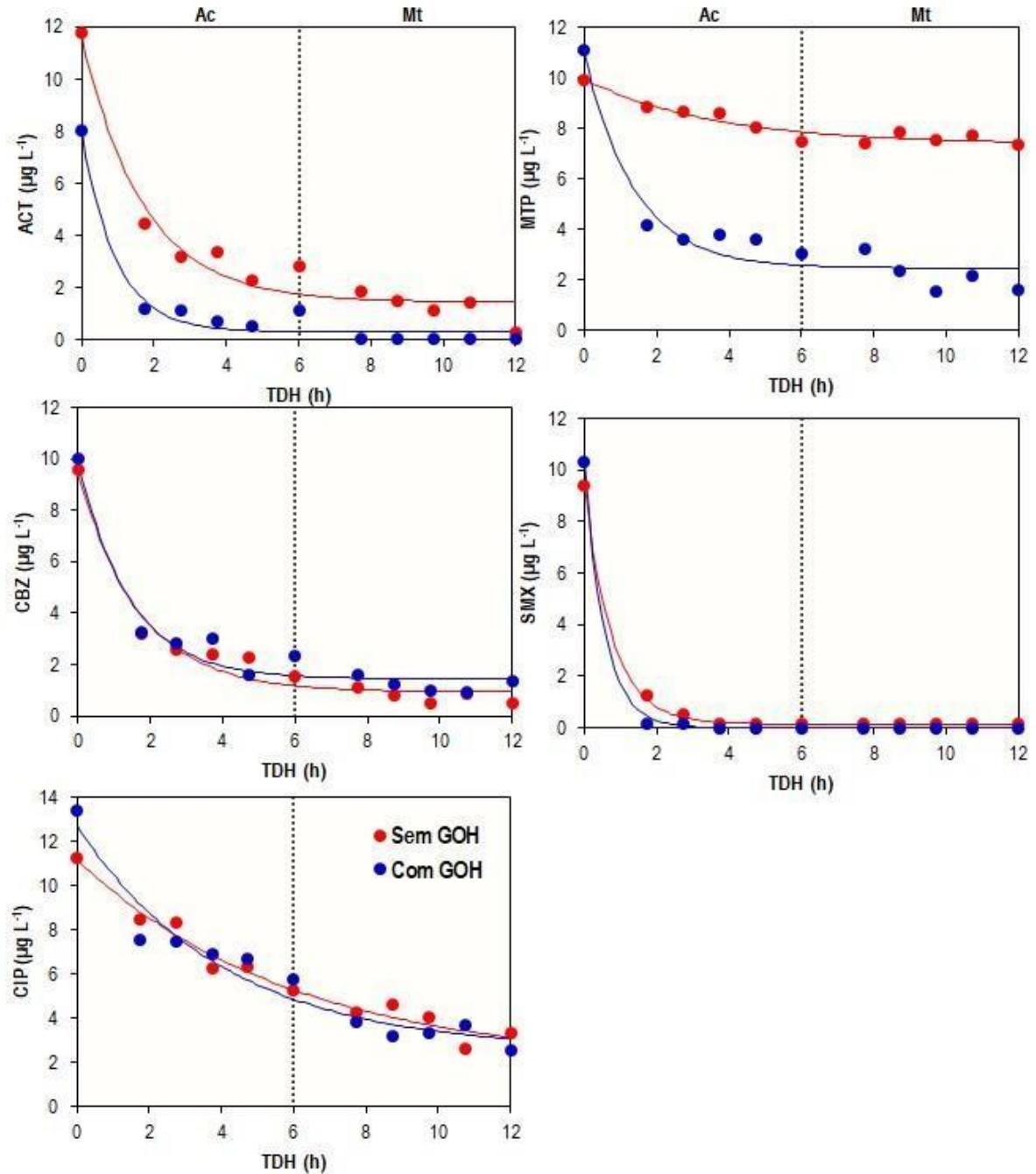
Tabela 5: Constantes cinéticas de biodegradação (k_1 e k_{bio}) de MPOs, CH e GOH em cada fase operacional (Fase 1 – “Sem GOH”; Fase 2 – “Com GOH”).

Compostos	Fase 1- Sem GOH		Fase 2- GOH	
	k_1 (h^{-1})	k_{bio} ($L\ g^{-1}\ SSV\ d^{-1}$)	k_1 (h^{-1})	k_{bio} ($L\ g^{-1}\ SSV\ d^{-1}$)
ACT	0,58	0,62	1,06	1,13
CBZ	0,59	0,63	0,66	0,70
MTP	0,28	0,30	0,71	0,75
SMX	1,31	1,39	1,80	1,91
CIP	0,17	0,18	0,25	0,27
CH	1,61	2,56	1,71	2,72
GOH	-	-	4,65	4,94

Fonte: O autor (2024)

A biodegradação heterotrófica dos MPOs, auxiliada pelo glicerol, foi demonstrada pelas cinéticas de biodegradação, onde os valores da constante cinética de biodegradação (k_{bio}) aumentaram de 0,18–1,39 para 0,27–1,91 $L\ g^{-1}\ SSV\ d^{-1}$ nas fases sem e com a adição de GOH, respectivamente. O modelo cinético de primeira ordem foi aplicado com sucesso para descrever a biodegradação dos MPOs nos reatores ($R^2 > 0,9$). A Figura 13 mostra os perfis espaciais de remoção dos MPOs nas fases 1 e 2, enquanto a Tabela 6 apresenta os parâmetros estimados para o modelo cinético de primeira ordem (Equação 11).

Figura 13: Perfis espaciais de remoção de MPOs ao longo dos bioreatores para cada fase operacional (Fase 1 – 'Sem GOH'; Fase 2 – 'GOH'). As linhas indicam os ajustes obtidos de acordo com a Equação 11 utilizando o software Origin (Versão 8.5) e os pontos representam os dados experimentais.



Fonte: O autor (2024)

Tabela 6: As expressões cinéticas de primeira ordem estimadas para a remoção de MPOs em ambas as fases operacionais (Fase 1 – 'Sem GOH'; Fase 2 – 'GOH').

MPOs	Fase 1 - Sem GOH				Fase 2 - GOH			
	MPO ₀ (mg·L ⁻¹)	MPO _R (mg·L ⁻¹)	k ₁ (h ⁻¹)	R ²	MPO ₀ (mg·L ⁻¹)	MPO _R (mg·L ⁻¹)	k ₁ (h ⁻¹)	R ²
ACT	11,63 ± 0,81	1,45 ± 0,31	0,58 ± 0,09	0,95	7,99 ± 0,47	0,31 ± 0,15	1,06 ± 0,19	0,97
CBZ	9,44 ± 0,61	0,93 ± 0,23	0,59 ± 0,09	0,96	9,86 ± 0,71	1,32 ± 0,26	0,66 ± 0,12	0,94
MTP	9,97 ± 0,34	7,37 ± 0,21	0,28 ± 0,07	0,90	10,97 ± 0,88	2,41 ± 0,32	0,71 ± 0,16	0,91
SMX	9,43 ± 0,08	0,14 ± 0,03	1,31 ± 0,04	0,99	10,30 ± 0,13	0,14 ± 0,04	1,80 ± 0,15	0,99
CIP	11,21 ± 1,26	1,92 ± 0,94	0,17 ± 0,04	0,96	12,76 ± 1,28	2,54 ± 0,85	0,25 ± 0,06	0,92

Fonte: O autor (2024)

Notou-se uma diferença substancial na cinética de degradação dos MPOs com a adição de GOH, resultando em uma maior taxa de biodegradação dos MPOs (valores de k_{bio} elevados). A redução na concentração de MPOs foram predominantemente observadas durante a fase acidogênica, acompanhando a redução na concentração de carboidratos e GOH, reforçando a hipótese de cometabolismo heterotrófico associado à produção de ácidos orgânicos. Oliveira, Zaiat e Oliveira (2019) viram que a presença de glicose, frutose, sacarose e extrato de carne exerceu um efeito indutor na degradação do antibiótico sulfametazina, resultando em eficiências de remoção de 54%, 53%, 58% e 61%, respectivamente, indicando a ocorrência de cometabolismo, sendo assim um indicativo de que a suplementação de substratos orgânicos está associada a um aumento na taxa de biotransformação do micropoluinte, em concordância com os resultados deste trabalho.

Os valores calculados de k_{bio} variaram de 0,18 (CIP) a 1,39 (SMX) L g⁻¹ SSV d⁻¹ para as fases sem GOH e de 0,27 (CIP) a 1,91 (SMX) L g⁻¹ SSV d⁻¹ para as fases com GOH. Carneiro et al. (2020) compararam constantes cinéticas (k_{bio}) obtidas no reator hidrolítico/acidogênico com resultados bibliográficos previamente obtidas por Alvarino et al. (2016) em um reator UASB em escala piloto e observaram os seguintes valores de k_{bio} (L g⁻¹ SSV d⁻¹): SMX = 0,36, CBZ = 0,003. Kennes-Veiga et al. (2021) observaram valores mais altos de k_{bio} em um sistema de lodo ativado aeróbio (L g⁻¹ SSV d⁻¹): SMX = 1,0 - 2,9 e CBZ = 0,1 - 0,5. Esses resultados sugerem que para esses compostos os sistemas aeróbios têm maior capacidade de biodegradação do que biorreatores anaeróbios convencionais. Por outro lado, os resultados encontrados neste trabalho são semelhantes ou superiores aos encontrados em sistemas aeróbios, demonstrando a viabilidade de reatores anaeróbios de leito fixo para

melhorar a biodegradabilidade de micropoluentes orgânicos em plantas de tratamento de águas residuais anaeróbias.

5.5 Sólidos

Na fase 1, a concentração média de sólidos suspensos totais (SST) no efluente foi de $80 \pm 18 \text{ mg L}^{-1}$ para o reator acidogênico e de $29 \pm 9 \text{ mg L}^{-1}$ para o metanogênico, já na fase 2 foi de 72 ± 20 para o Ac e $43 \pm 9 \text{ mg L}^{-1}$ para o Met. Enquanto para sólidos suspensos voláteis (SSV) na fase 1 os valores médios foram de $76 \pm 17 \text{ mg L}^{-1}$ e $26 \pm 7 \text{ mg L}^{-1}$ para acidogênico e metanogênico, respectivamente, já na fase 2 foi de $68 \pm 19 \text{ mg L}^{-1}$ para o Ac e $37 \pm 19 \text{ mg L}^{-1}$ para o Met. Esses resultados demonstram que as bactérias acidogênicas apresentaram uma taxa de crescimento maior que as arqueias metanogênicas, o que já era esperado pela maior quantidade de matérias orgânica afluyente ao reator acidogênico comparativamente ao reator metanogênico.

A massa de microrganismos que saíram do reator é medida em forma de sólidos suspensos voláteis (SSV), assim conclui-se que não houve arraste expressivo de biomassa do sistema no reator em ambas as fases, denotando a eficiência do material suporte na aderência da biomassa no sistema, mantendo um alto tempo de retenção celular, que é característico de reatores anaeróbios de leito fixo.

5.6 Composição do biogás

Em relação ao desempenho da metanogênese, pode-se ver na Tabela 7 que a maior fração do biogás no reator metanogênico corresponde ao biometano ($\text{XCH}_4 = 88,5 \pm 3,9\%$ e $89,0 \pm 4,9\%$, para as fases 1 e 2, respectivamente). Além disso, a viabilidade da reutilização do biogás como fonte de bioenergia em plantas de tratamento em escala real foi demonstrada pelo potencial energético estimado a partir do biometano ($\text{EPCH}_4 = 5,0$ e $6,3 \text{ kJ g}^{-1}\text{-DQOremovida}$, para a fase 1 e fase 2, respectivamente). Ademais, a taxa de produção de metano foi aumentada com a adição de GOH como cosubstrato para a digestão aneróbia, aumentando de 321 ± 80 para $848 \pm 506 \text{ mLCH}_4 \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Tabela 8). Chernicharo et al. (2015) avaliaram ETes em escala real com reatores UASB tratando águas residuais domésticas ao redor do mundo e observaram um potencial energético do biogás gerado variando de 4,6 a 8,0 $\text{kJ g}^{-1}\text{-DQOremovida}$, compatível com a faixa de valores observada neste estudo.

Tabela 7: Composição do biogás (%) em cada biorreator, em termos de metano, hidrogênio, nitrogênio, gás carbônico e sulfeto de hidrogênio.

Parâmetro	Fase 1 - Sem GOH		Fase 2 - GOH	
	Ac	Met	Ac	Met
X _{CH₄}	17,9 ± 9,1	88,5 ± 3,9	21,2 ± 5,0	89,0 ± 4,9
X _{CO₂}	8,4 ± 3,3	11,5 ± 3,9	8,8 ± 1,4	11,0 ± 4,9
X _{N₂}	72,5 ± 11,6	ND	68,1 ± 6,5	ND
X _{H₂}	1,2 ± 0,7	ND	1,9 ± 1,3	ND
X _{H₂S}	ND	ND	ND	ND

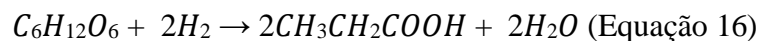
Fonte: O autor (2024)

Tabela 8: Valores médios referentes à vazão de biogás (Q_{biogás}), Produção Volumétrica de Metano (PVM) e potencial energético estimado (EP_{CH₄}) durante ambas as fases operacionais (Fase 1 – “Sem GOH”; Fase 2 – “GOH”).

Parâmetro	Fase 1 - Sem GOH	Fase 2 - GOH
Q _{biogás} (mL d ⁻¹)	725 ± 178	1961 ± 955
PVM (mLCH ₄ L ⁻¹ d ⁻¹)	321 ± 80	848 ± 506
EP _{CH₄} (kJ g ⁻¹ -DQO _{removida})	5,0 ± 1,5	6,3 ± 4,3

Fonte: O autor (2024)

É válido ressaltar que manter a concentração de ácido propiônico (Figura 6) baixa no sistema acidogênico seria importante para a produção de H₂ (Oliveira, 2018). Isto porque a formação desse ácido consome H₂ do sistema em questão (Equação 16), o que explica a baixa detecção de hidrogênio (X_{H₂}=1,2 ± 0,7% e 1,9 ± 1,3%, para as fases 1 e 2, respectivamente).



Desta forma, como recomendação para trabalhos futuros indica-se o enriquecimento seletivo de gêneros bacterianos, como *Clostridium* e *Enterobacter*, que possuem maior potencial de produção de H₂. Esse enriquecimento poderia aumentar a taxa de geração de hidrogênio. Alguns estudos mostraram que lodos de estação de tratamento de esgoto sanitário podem ter microbiota capaz de produzir H₂, composta por *Klebsiellaoxytoca*, *Klebsiellapneumoniae*, *Enterobactersakazakii* e *Clostridium beijerinckii* (Chen et al., 2001; Kang et al., 2012), desde que se estabeleçam condições ambientais ou operacionais adequadas (Xing et al., 2008; Chang; Lin, 2004; Lin; Lay, 2004). A capacidade de produção de hidrogênio está ligada à alta diversidade desse tipo de inóculo, comprovada em outros estudos (Wagner et al., 2002). Xing et al. (2008) observaram aumento do número de espécies concomitantemente com o aumento da taxa de produção de H₂ em reatores CSTR.

6 CONCLUSÃO

O GOH provou ser uma fonte de carbono viável para fermentação na fase acidogênica da digestão anaeróbia, levando a um aumento na geração de solventes e ácidos orgânicos, especialmente o ácido propiônico. Além disso, impulsionou o cometabolismo heterotrófico da dos seguintes MPOs durante a acidogênese – acetaminofeno, ciprofloxacina e metoprolol, também evidenciado pelo aumento da taxa de biodegradação dos MPOs no sistema (maior k_{bio}).

A separação de fases da digestão anaeróbia em acidogênese e metanogênese é uma alternativa promissora para otimizar a produção de biometano e o reuso de energia a partir do biogás, impulsionada pela codigestão com glicerol como uma fonte orgânica facilmente biodegradável. Ademais, a separação de fases mostrou-se essencial para a eficiência global do sistema. Enquanto o reator acidogênico desempenhou um papel central na remoção dos micropoluentes orgânicos, favorecendo sua biodegradação, o reator metanogênico destacou-se pela remoção da matéria orgânica remanescente (> 90%) durante toda a operação, garantindo a estabilidade e a sustentabilidade do sistema.

7 REFERÊNCIAS

- ADORNO, M. A. T.; HIRASAWA, J. S.; VARESCHE, M. B. A. Development and validation of two methods to quantify volatile acids (C2-C6) by GC/FID: headspace (automatic and manual) and liquid-liquid extraction (LLE). **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 5, n. 07, p. 406, 2014.
- ABDULLAH, N. et al. Assessing the treatment of acetaminophen-contaminated brewery wastewater by an anaerobic packed-bed reactor. **Journal of Environmental Management**, v. 168, p. 273–279, 2016.
- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, Gás Natural e Biocombustíveis (Brasil). **Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis: 2023**. Rio de Janeiro: ANP, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/anuario-estatistico/arquivos-anuario-estatistico-2023/anuario-2023.pdf>. Acesso em: 23 jul. 2024.
- ALMEIDA, A.; CALISTO, V.; ESTEVES, V. I.; SCHNEIDER, R. J.; SOARES, A. M. V. M.; FIGUEIRA, E.; FREITAS, R. Presence of the pharmaceutical drug carbamazepine in coastal systems: effects on bivalves. **Aquatic Toxicology**, v. 156, p. 74-87, 2014.
- ALVARINO, T.; SUAREZ, S.; LEMA, J. M.; OMIL, F. Understanding the removal mechanisms of PPCPs and the influence of main technological parameters in anaerobic UASB and aerobic CAS reactors. **Journal of Hazardous Materials**, v. 278, p. 506–513, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.06.031>.
- ALVARINO, T.; LEMA, J.; OMIL, F.; SUÁREZ, S. Trends in organic micropollutants removal in secondary treatment of sewage. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 17, p. 447–469, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11157-018-9472-3>.
- ALVES, Thiago; GIRARDI, Rubia; PINHEIRO, Adilson. Micropoluentes orgânicos: ocorrência, remoção e regulamentação. **Revista de Gestão de Água da América Latina**, v. 14, p. 1, 2017. DOI: <10.21168/reg.v14e1>.
- ALVES, Ingrid Roberta de França Soares. **Avaliação da Codigestão na Produção de Biogás**. 2016. 168 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Civil, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.
- ANDREOZZI, R.; MAROTTA, R.; PAXÉUS, N. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. **Chemosphere**, v. 50, n. 10, p. 1319–1330, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00769-5](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00769-5).
- APHA – American Public Health Association; AWWA – American Water Works Association; WEF – Water Environment Federation. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington D.C.: American Public Health Association, 2005. 1600 p.
- AQUINO, S. F.; EMANUEL, M. F.; BRANDT, E. M. F.; CARLOS, A. L.; CHERNICHARO,

- C. A. L. Destino e mecanismos de remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 18, p. 5-9, 2013.
- ARCILA-SAENZ, J.; HINCAPIÉ-MEJÍA, G.; LONDOÑO-CANAS, Y. A. et al. Role of the hydrolytic-acidogenic phase on the removal of bisphenol A and sildenafil during anaerobic treatment. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 195, n. 1552, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-023-12009-8>.
- ASLANZADEH, S. **Pretreatment of cellulosic waste and high rate biogas production**. 2014. Tese (Doutorado em Recuperação de Recursos) – Universidade de Borås, Borås, 2014. 50 p.
- AZEVEDO, João Lúcio; PAMPHILE, João Alencar; QUECINE, Maria Carolina; LACAVA, Paulo Teixeira (Orgs.). **Biotecnologia microbiana ambiental**. Maringá: Eduem, 2018. 331 p. Il. algumas color. ISBN 978-85-7628-734-6. Disponível em: <https://www.dmp.ufscar.br/arquivos/biotecnologia-microbiana-ambiental.pdf>. Acesso em: 14 out. 2024.
- BABA, Y. et al. Anaerobic digestion of crude glycerol from biodiesel manufacturing using a large-scale pilot plant: Methane production and application of digested sludge as fertilizer. **Bioresource Technology**, v. 140, p. 342–348, 2013.
- BARROS, M. A. M. F. **Estudo da interação do sulfametoxazol (SMX) em solos de pastagem do município de São João - PE**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares (PROTEN), Departamento de Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.
- BASTOS, R. V. **Estudo da degradação do antibiótico sulfametoxazol em solução aquosa por fotólise**. 98 p. (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- BERETTA, M.; BRITTO, V.; TAVARES, T. M.; SILVA, S. M. T.; PLETSCHE, A. L. Occurrence of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in marine sediments in the Todos os Santos Bay and the north coast of Salvador, Bahia, Brazil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 14, n. 7, p. 1278-1286, 2014.
- BERTHOD, L.; ROBERTS, G.; SHARPE, A.; WHITLEY, D. C.; GREENWOOD, R.; MILLS, G. A. Effect of sewage sludge type on the partitioning behaviour of pharmaceuticals: a meta- analysis. **Environmental Science**, 2016.
- BITTENCOURT, S. et al. Sorção de poluentes orgânicos emergentes em lodo de esgoto. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 21, n. 1, p. 43-53, 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. **Portaria nº 888, de 04 de maio de 2021**. Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.
- BUDYCH-GORZNA, M.; SMOCZYNSKI, M.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. Enhancement of biogas production at the municipal wastewater treatment plant by co-digestion with

- poultry industry waste. **Applied Energy**, v. 161, p. 387–394, 2016.
- BLUNDI, C. E., GADÊLHA, R. F. Método para Determinação de Matéria Orgânica Específica em Águas Residuárias. In: Chernicharo, C.A.L. (coord.). **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios: aspectos metodológicos**. Belo Horizonte: PROSAB. p.9-17, 2001.
- CAPARROTTA, T. M. et al. Algumas pessoas têm risco aumentado de lesão hepática induzida pelo paracetamol: uma revisão crítica da literatura. **Jornal Europeu de Farmacologia Clínica**, v. 74, n. 2, p. 147-160, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00228-017-2356-6>.
- CARNEIRO, R. B.; GOMES, G. M.; CAMARGO, F. P.; ZAIAT, M.; SANTOS-NETO, Á. J. Anaerobic co-metabolic biodegradation of pharmaceuticals and personal care products driven by glycerol fermentation. **Chemosphere**, v. 357, p. 142006, 2024. ISSN 0045-6535. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.142006>.
- CARNEIRO, Rodrigo B.; GOMES, Gisele M.; SABATINI, Carolina A.; GAGO-FERRERO, Pablo; ZAIAT, Marcelo; SANTOS-NETO, Álvaro J. Enhancing Organic Micropollutants Removal in Wastewater with an Innovative Two-Stage Anaerobic Fixed-Film Bioreactor: Role of Acidogenic and Methanogenic Steps. **ACS ES&T Engineering**, v. 4, n. 2, p. 354–364, 2024. DOI: 10.1021/acsestengg.3c00334.
- CARNEIRO, Rodrigo B.; GOMES, Gisele M.; ZAIAT, Marcelo; SANTOS-NETO, Álvaro J. Two-phase (acidogenic-methanogenic) anaerobic fixed bed biofilm reactor enhances the biological domestic sewage treatment: Perspectives for recovering bioenergy and value-added by-products. **Journal of Environmental Management**, v. 317, 2022, p. 115388. ISSN 0301-4797. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115388>.
- CARNEIRO, R.B. et al. **Tratamento de esgoto sanitário em sistema de tratamento anaeróbio de duplo estágio acidogênico metanogênico visando a remoção de micropoluentes orgânicos**. Anais do seminário do projeto temático FAPESP - Aplicação do conceito de biorrefinaria a estações de tratamento biológico de águas residuárias: o controle da poluição ambiental aliado à recuperação de matéria e energia, 2021.
- CARNEIRO, R. B. et al. Acidogenesis is a key step in the anaerobic biotransformation of organic micropollutants. **Journal of Hazardous Materials**, v. 389, p. 121888, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121888>.
- CARNEIRO, R.B. et al. Feasibility of anaerobic packed and structured-bed reactors for sulfamethoxazole and ciprofloxacin removal from domestic sewage. **Science of the Total Environment**, v. 678, p. 419–429, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.437>.
- CARNEIRO, R. B. **Utilização de glicerol como fonte de carbono para desnitrificação e remoção biológica de fósforo em reator submetido à aeração intermitente**. Dissertação de Mestrado, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos/USP, 2015.
- CHANG, F.-Y.; LIN, C.-Y. Biohydrogen production using an up-flow anaerobic sludge blanket reactor. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, n. 1, p. 33-39, 2004

- CHATILA, S. et al. Sulfamethoxazole and ciprofloxacin removal using a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor. **Environmental Technology**, p. 1-7, 2015.
- CHEN, C. C.; LIN, C. Y.; CHANG, J. S. Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic cultures utilizing sucrose as the limiting substrate. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 57, n. 1-2, p. 56-64, 2001.
- CHERNICHARO, C. A. L.; van LIER, J. B.; NOYOLA, A.; BRESSANI RIBEIRO, T. Anaerobic sewage treatment: state of the art, constraints and challenges. **Revista de Ciências Ambientais e Biotecnologia**, v. 14, p. 649-679, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9377-3>.
- CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias - Reatores Anaeróbios**. Vol. 5. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 1997. 246 p.
- CHEMSPIDER. **Royal Society of Chemistry**, 2024. Disponível em: <https://www.chemspider.com/>. Acesso em: 01 de ago. de 2024.
- CLOMBURG, J. M.; GONZALEZ, R. Anaerobic fermentation of glycerol: a platform for renewable fuels and chemicals. **Trends in Biotechnology**, v. 31, p. 20-28, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.10.006>.
- CRAVEIRO, A. M. **Desempenho e Estudos Cinéticos de Biodigestores Híbridos com Diferentes Porcentagens de Enchimento**. Tese de D.Sc., Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil, 1994.
- CRAVEIRO, A. M. **Influência da Proporção de Lixo e Lodo de Esgoto no Processo de Digestão Anaeróbia Desses Resíduos**. Tese de M.Sc., Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil, 1982.
- CRUZ, Lutécia H. et al. Degradação fotocatalítica de sulfametoxazol, trimetoprima e diclofenaco em solução aquosa. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1270-1274, 2010.
- DAWASMASSALHA, A.; GUR-REZNIK, S.; LERMAN, S.; SABBAH, I.; DOSORETZ, C. G. Cometabolic oxidation of pharmaceutical compounds by a nitrifying bacterial enrichment. **Bioresource Technology**, v. 167, p. 336-342, 2014.
- DEL NERY, V. **Digestão Anaeróbia em Duas Fases com Culturas Mistas Acidogênicas e Metanogênicas Imobilizadas Separadamente em Gel Agar**. Tese de D.Sc., Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, Departamento de Hidráulica e Saneamento, São Carlos, SP, Brasil, 1993.
- DO, M. T.; STUCKEY, D. C. Fate and removal of ciprofloxacin in an anaerobic membrane bioreactor (AnMBR). **Bioresource Technology**, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121683>.
- DRUGBANK. **DRUGBANK**. (OMx Personal Health Analytics, Inc. 2024). Disponível em: DRUGBANK Online: go.drugbank.com. Acesso em 19 de ago. de 2024.

- DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. K., REBERS, P. A., SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n.3, p.350-356, 1956.
- DUTTA, K. et al. Removal of pharmaceuticals and organic matter from municipal wastewater using two-stage anaerobic fluidized membrane bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 165, p. 42–49, 2014.
- ELHUSSEIN, Elaf Abdelillah Ali; ŞAHIN, Selin; BAYAZIT, Şahika Sena. Removal of carbamazepine using UiO-66 and UiO-66/graphene nanoplatelet composite. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 2020.
- ESCHER, B. I.; FENNER, K. Recent advances in environmental risk assessment of transformation products. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 9, p. 3835–3847, 2011. <https://doi.org/10.1021/es1030799>.
- FALÁS, P. et al. Tracing the limits of organic micropollutant removal in biological wastewater treatment. **Water Research**, v. 95, p. 240–249, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.009>.
- FIGUEIREDO, T. V. B. et al. Produção e caracterização de polihidroxialcanoatos obtidos por fermentação da glicerina bruta residual do biodiesel. **Química Nova**, v. 37, n. 7, p. 1111–1117, 2014. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140183>.
- FISCHER, K.; MAJEWSKY, M. Cometabolic degradation of organic wastewater micropollutants by activated sludge and sludge-inherent microorganisms. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 98, p. 6583–6597, 2014.
- FOUNTOULAKIS, M. S. et al. Co-digestion of sewage sludge with glycerol to boost biogas production. **Waste Management**, v. 30, n. 10, p. 1849-1853, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.04.011>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956053X18301053>. Acesso em: 14 ago. 2024.
- GRANDCLÉMENT, C. et al. From the conventional biological wastewater treatment to hybrid processes, the evaluation of organic micropollutant removal: A review. **Water Research**, 2017. DOI: [10.1016/j.watres.2017.01.005](https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.005).
- GREENHILL, Stacey. **Method for determination of free and combined glycerin in biodiesel**. U.S. Patent Application 10/744,272, 22 dez. 2003.
- GONZALEZ-GIL, L. et al. Reversibility of enzymatic reactions might limit biotransformation of organic micropollutants. **Science of the Total Environment**, v. 665, p. 574-578, 2019.
- GONZALEZ-GIL, Lorena; CARBALLA, Marta; LEMA, Juan M. Cometabolic enzymatic transformation of organic micropollutants under methanogenic conditions. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 5, p. 2963-2971, 2017.
- GUO, Yutong et al. A review on co-metabolic degradation of organic micropollutants during

- anaerobic digestion: Linkages between functional groups and digestion stages. **Water Research**, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.121598>.
- GUZMAN, M. L. et al. Urinary excretion of ciprofloxacin after administration of extended release tablets in healthy volunteers. Swellable drug-polyelectrolyte matrix versus bilayer tablets. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 8, p. 123 - 131, 2018.
- HALLING-SØRENSEN, B. et al. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. **Chemosphere**, v. 36, n. 2, p. 357-393, 1998.
- HARB, M. et al. Differences in microbial communities and performance between suspended and attached growth anaerobic membrane bioreactors treating synthetic municipal wastewater. **Environmental Science: Water Research & Technology**, v. 1, n. 6, p. 800–813, 2015. <https://doi.org/10.1039/C5EW00162E>.
- KANG, J.-H.; KIM, D.; LEE, T.-J. Hydrogen production and microbial diversity in sewage sludge fermentation preceded by heat and alkaline treatment. **Bioresource Technology**, v. 109, p. 239-243, 2012.
- KANG, Abbass Jafari et al. Removal of antibiotic sulfamethoxazole by anoxic/anaerobic/oxic granular and suspended activated sludge processes. **Bioresource Technology**, v. 251, p. 151- 157, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.021>. Acesso em: 01 set. 2024.
- KASSOTAKI, E. et al. Enhanced sulfamethoxazole degradation through ammonia oxidizing bacteria co-metabolism and fate of transformation products. **Water Research**, v. 94, p. 111– 119, 2016.
- KEEN, O. S. et al. Enhanced biodegradation of carbamazepine after UV/H₂O₂ advanced oxidation. **Environmental Science & Technology**, v. 46, p. 6222–6227, 2012. <https://doi.org/10.1021/es300897u>.
- KENNES-VEIGA, D. M. et al. The organic loading rate affects organic micropollutants' cometabolic biotransformation kinetics under heterotrophic conditions in activated sludge. **Water Research**, v. 189, p. 116587, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116587>.
- KHAN, N. et al. Mycelial nutrient transfer promotes bacterial co-metabolic organochlorine pesticide degradation in nutrient-deprived environments. **The ISME Journal**, v. 17, n. 4, p. 570-578, 2023.
- KÜMMERER, K. et al. Antineoplastic compounds in the environment-substances of special concern. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 15, p. 14791-14804, 2016.
- KÜMMERER, K. et al. Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test. **Chemosphere**, v. 40, p. 701–710, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00439-7](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00439-7).
- LETTINGA, G.; HULSHOFF POL, L. W.; ZEEMAN, G. **Biological wastewater treatment Part I: Anaerobic wastewater treatment**. Lecture notes. Wageningen Agricultural

University, January 1996.

- LEBRERO, Raquel et al. Biogas upgrading from vinasse digesters: a comparison between an anoxic biotrickling filter and an algal-bacterial photobioreactor. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 91, n. 9, p. 2488-2495, 2016.
- LIMA, Diego Roberto Sousa et al. Fármacos e desreguladores endócrinos em águas brasileiras: ocorrência e técnicas de remoção. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 22, n. 06, p. 1043- 1054, 2017. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522017165207>.
- LIN, C. Y.; LAY, C. H. Effects of carbonate and phosphate concentrations on hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 29, n. 3, p. 275-281, 2004.
- LUO, Y. et al. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, v. 473-474, p. 619–641, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.065>.
- LUTTERBECK, C. et al. Degradation of cyclophosphamide and 5-fluorouracil by UV and simulated sunlight treatments: Assessment of the enhancement of the biodegradability and toxicity. **Environmental Pollution**, v. 208, p. 467-476, 2016.
- MACÊDO, W. V. et al. Tetrabromobisphenol A (TBBPA) anaerobic biodegradation occurs during acidogenesis. **Chemosphere**, v. 282, p. 130995, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130995>.
- MAILLER, R. et al. Priority and emerging pollutants in sewage sludge and fate during sludge treatment. **Waste Management**, v. 34, p. 1217–1226, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.03.028>.
- MARGOT, J. et al. Role of ammonia-oxidizing bacteria in micropollutant removal from wastewater with aerobic granular sludge. **Water Science and Technology**, v. 73, p. 564–575, 2016.
- MATA-ALVAREZ, J. et al. Uma revisão crítica sobre as conquistas da co-digestão aneróbia entre 2010 e 2013. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 412-427, 2014.
- MEIER, Thompson Ricardo Weiser; CREMONEZ, Paulo André; MANIGLIA, Thiago Cintra; SAMPAIO, Sílvio César; TELEKEN, Joel Gustavo; SILVA, Edson Antônio da. Production of biohydrogen by an anaerobic digestion process using the residual glycerol from biodiesel production as additive to cassava wastewater. **Journal of Cleaner Production**, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120833>.
- MOTA, V. T.; ZAIAT, M. Two- vs. single-stage anaerobic reactors: Evaluation of effluent quality and energy production potential using sucrose-based wastewater. **Water Sci. Technol.** 2018, 9, 1966–1979.
- MOYA-LLAMAS, M. J.; TRAPOTE, A.; PRATS, D. Carbamazepine removal from low-strength municipal wastewater using a combined UASB-MBR treatment system. **Water**

- Science & Technology**, v. 83, n. 8, p. 1920–1931, 15 abr. 2021. <https://doi.org/10.2166/wst.2021.096>.
- NUCCI, G. **Tratado de farmacologia clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021.
- OLIVEIRA, Bruna M.; ZAIAT, Marcelo; OLIVEIRA, Guilherme H. D. The contribution of selected organic substrates to the anaerobic cometabolism of sulfamethazine. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, 2019. DOI: 10.1080/03601234.2018.1553909.
- OLIVEIRA, Cristiane Arruda de. **Digestão anaeróbia termofílica do melaço de cana-de-açúcar em reatores de leito fixo estruturado de duas fases e fase única para a produção de biogás**. 2018. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2018. doi:10.11606/D.18.2019.tde-18032019-160951.
- OSAWA, R.; IDE, A.; SAMPAIO, N.; AZEVEDO, J. Determinação de fármacos anti-hipertensivos em águas superficiais na região metropolitana de Curitiba. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 20, n. 4, p. 1039–1050, 2015. <https://doi.org/10.21168/rbrh.v20n4.p1039-1050>.
- PARENTE, E. J. S. **Biodiesel: Uma aventura tecnológica num país engraçado**. Fortaleza, CE: Tecbio, 2003.
- PARK, J.; KIM, C.; HONG, Y.; LEE, W.; CHUNG, H.; JEONG, D. H.; KIM, H. Distribution and removal of pharmaceuticals in liquid and solid phases in the unit processes of sewage treatment plants. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, 17, 2020. <https://doi.org/10.3390/ijerph17030687>.
- PEIXOTO, G. **Sistema fermentativo de duas fases para a produção de hidrogênio e metano a partir de esgoto sanitário combinado com águas residuárias industriais**. 191 f. Tese (Doutorado em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 2011.
- PERNA, Verónica et al. Hydrogen production in an upflow anaerobic packed bed reactor used to treat cheese whey. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 1, p. 54-62, 2013.
- PIRETE, L. de M.; CAMARGO, F. P.; DORNELLES, H. S.; GRANATTO, C. F.; SAKAMOTO, I. K.; GROSSELI, G. M.; FADINI, P. S.; SILVA, E. L.; VARESCH, M. B. A. Biodegradation of diclofenac and ibuprofen in fluidized bed reactor applied to sanitary sewage treatment in acidogenic and denitrifying conditions. **Journal of Water Process Engineering**, 49, 102964, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2022.102964>.
- POBLETE-CASTRO, I.; WITTMANN, C.; NIKEL, P. I. Biochemistry, genetics and biotechnology of glycerol utilization in *Pseudomonas* species. **Microbial Biotechnology**, v. 13, n. 1, p. 32–53, 2020. doi: 10.1111/1751-7915.13400.
- RAJAGOPAL, R.; CHOUDHURY, M.; ANWAR, N.; GOYETTE, B.; RAHAMAN, M. Influence of pre-hydrolysis on sewage treatment in an up-flow anaerobic sludge blanket

- (UASB) reactor: a review. **Water** (Basel), 11, 372, 2019.
- RASHEEDA, T.; BILALB, M. F. N.; ADEELA, M.; IQBALC, H. M. Environmentally-related contaminants of high concern: Potential sources and analytical modalities for detection, quantification, and treatment. **Environ. Intern.**, 122, p. 52-66, 2019.
- RICHARD, J.; BOERGERS, A.; VOM EYSER, C.; BESTER, K.; TUERK, J. Toxicity of the micropollutants bisphenol A, ciprofloxacin, metoprolol and sulfamethoxazole in water samples before and after the oxidative treatment. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, 217, p. 506–514, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2013.09.007>.
- RICHARDSON, S. D. Emerging environmental contaminants: Challenges facing our next generation and potential engineering solutions. **Environ. Technol. Innovation**, 8, p. 40-56, 2017.
- RIPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, L. C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal WPCF**, v. 58, p. 106-111, 1986.
- RIUJI, L.C. (2009) **Research on anaerobic digestion of organic solid waste at household level in Dar Es Salaam, Tanzania**. Tese (Bachelor) – Zurich University, Zurich.
- SANTOS, J. L.; APARICIO, I.; CALLEJÓN, M.; ALONSO, E. Occurrence of pharmaceutically active compounds during 1-year period in wastewaters from four wastewater treatment plants in Seville (Spain). **Journal of Hazardous Materials**, v. 164, p. 1509-1516, 2009.
- SILVA, Fabrícia M. S.; MAHLER, Claudio F.; OLIVEIRA, Luciano B.; BASSIN, João P. Hydrogen and methane production in a two-stage anaerobic digestion system by co-digestion of food waste, sewage sludge and glycerol. **Waste Management**, v. 76, p. 339-349, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.02.039>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956053X18301053>. Acesso em: 14 jul. 2024.
- SILVA, Maryelli Ludmylla Rodrigues da. **Uso de glicerol bruto da produção do biodiesel como fonte de carbono para desnitrificação**. 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019. Orientador: Cláudio Fernando Mahler. Coorientador: João Paulo Bassin.
- SILVA, T. H. G. da; FURTADO, R. X. de S.; ZAIAT, M.; AZEVEDO, E. B. Tandem Anaerobic-Aerobic Degradation of Ranitidine, Diclofenac, and Simvastatin in Domestic Sewage. **Science of the Total Environment**, v. 721, p. 137589, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137589>.
- SMITH, A. L.; SHIMADA, T.; RASKIN, L. A comparative evaluation of community structure in full-scale digesters indicates that two-phase digesters exhibit greater microbial diversity than single-phase digesters. **Environmental Science**, v. 3, p. 304-311, 2017.
- SHAH, F.A; Mahmood, Q.; Rashid, N.; Pervez, A.; Raja, I.A.; Shah, M.M.; Co-digestion,

- pretreatment and digester design for enhanced methanogenesis. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 42. 10.1016/j.rser.2014.10.053, 2014.
- SHAHBAZ, M.; AMMAR, M.; ZOU, D.; KORAI, R. M.; LI, X. J. An insight into the anaerobic Co-digestion of municipal solid waste and food waste: influence of Co-substrate mixture ratio and substrate to inoculum ratio on biogas production. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, v. 187, p. 1356–1370, 2019. <https://doi.org/10.1007/s12010-018-2891-3>.
- SOUSA, J. C. G.; RIBEIRO, A. R.; BARBOSA, M. O.; PEREIRA, M. F. R.; SILVA, A. M. T. A review on environmental monitoring of water organic pollutants identified by EU guidelines. **J. Hazard. Mater.**, v. 344, p. 146–162, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.09.058>.
- SUÁREZ, S. et al. How are pharmaceutical and personal care products (PPCPs) removed from urban wastewaters? **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 7, p. 125–138, 2008.
- TANG, T.; LIU, M.; DU, Y.; CHEN, Y. Deciphering the internal mechanisms of ciprofloxacin affected anaerobic digestion, its degradation and detoxification mechanism. **Science of The Total Environment**, 2022.
- TANG, Y.; ZHAO, B.; LIU, C. Removal mechanisms of β -blockers by anaerobic digestion in a UASB reactor with carbon feeding. **Bioresource Technology Reports**, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100531>.
- THOMPSON, J. C.; HE, B. B. Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple feedstocks. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 22, n. 2, p. 261–265, 2006.
- TONON, A. V., et al. Consequência e uso indiscriminado do anti-inflamatório não esteroide paracetamol em adultos. **Revista Artigos**, 2020. <https://acervomais.com.br/index.php/artigos/article/view/5797>.
- TOMEI, Maria Concetta; GARRIDO, Juan Manuel (Ed.). Anaerobic Treatment of Domestic Wastewater: Present Status and Potentialities. London: **IWA Publishing**, 2021. DOI: <https://doi.org/10.2166/9781789063479>.
- TRAN, N. H., CHEN, H., REINHARD, M., MAO, F. Occurrence and removal of multiple classes of antibiotics and antimicrobial agents in biological wastewater treatment processes. **Water research**. v. 104, p. 461 - 472, 2016.
- TRAN, N. H.; URASE, T.; NGO, H. H.; HU, J.; ONG, S. L. Insight into metabolic and cometabolic activities of autotrophic and heterotrophic microorganisms in the biodegradation of emerging trace organic contaminants. **Bioresource Technology**, 146: 721–731, 2013.
- TRAN, N.H.; REINHARD, M.; GIN, K.Y.H. Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions-a review. **Water Research**, v. 133, p. 182–207, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.029>.

- VALDEZ, H. C.; AMADO, R. S.; SOUZA, F. C.; D'ELIA, E.; VIEIRA, E. C. Determinação de glicerol livre e total em amostras de biodiesel por método enzimático com detecção colorimétrica. **Química Nova**, v. 35, p. 601-607, 2012.
- VAN LIER, B. et al. **Biological wastewater treatment: principles, modelling and design**. Londres: IWA Publishing, 2008. Cap. 16.
- VEIGA, M. C.; SOTO, M.; MÉNDEZ, R.; LEMA, J. M. A new device for measurement and control of gas production by bench scale anaerobic digesters. **Water Research**, v. 24, p. 1551– 1554, 1990. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(90\)90090-S](https://doi.org/10.1016/0043-1354(90)90090-S).
- VERLICCHI, P.; AL AUKIDY, M.; ZAMBELLO, E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-A review. **Science of the Total Environment**, v. 429, p. 123-155, 2012.
- WAGNER, M.; LOY, A.; NOGUEIRA, R.; PURKHOLD, U.; LEE, N.; DAIMS, H. Microbial community composition and function in wastewater treatment plants. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 81, p. 665-680, 2002.
- WANG, S.; JENA, U.; DAS, K. C. Biomethane production potential of slaughterhouse waste in the United States. **Energy Conversion and Management**, v. 173, p. 143–157, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.07.059>.
- WEI, Chun-Hai; SANCHEZ-HUERTA, Claudia; LEIKNES, Tor-Ove; AMY, Gary; ZHOU, Hong; HU, Xiaodong; FANG, Qian; RONG, Hongwei. Removal and biotransformation pathway of antibiotic sulfamethoxazole from municipal wastewater treatment by anaerobic membrane bioreactor. **Journal of Hazardous Materials**, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120894>. Acesso em: 19 de set. 2024.
- WEIRONG, S. et al. Anaerobic biodegradation of acetaminophen by sludge enriched with Humic-reducing microorganism. **Environmental Pollution Control**, 2007.
- WILK, P. et al. Structural characterization of glycerol kinase from the thermophilic fungus *Chaetomium thermophilum*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, p. 1– 15, 2020. doi: 10.3390/ijms21249570.
- XING, D.; REN, N.; RITTMANN, B. E. Genetic diversity of hydrogen-producing bacteria in an acidophilic ethanol-H₂-coproducing system, analyzed using the [Fe]-hydrogenase gene. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 4, p. 1232-1239, 2008
- YAN, S. Y. Development of fluorescence surrogates to predict the photochemical transformation of pharmaceuticals in wastewater effluents. **Environ. Sci. Technol.**, 51(5), p. 2738-2747, 2017.
- ZAHEDEI, S.; SOLERA, R.; GARCÍA-MORALES, J. L.; ENNOURI, H.; SALES, D. Evaluation of the effect of glycerol supplementation on the anaerobic digestion of real municipal solid waste in batch mode. **Fuel**, v. 193, p. 15-21, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.12.024>.

ZHANG, An; YANG, Shang-Tian. Propionic acid production from glycerol by metabolically engineered *Propionibacterium acidipropionici*. **Process Biochemistry**, v. 44, issue 12, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.07.013>.

ZUMSTEIN, M. T.; HELBLING, D. E. Biotransformation of antibiotics: exploring the activity of extracellular and intracellular enzymes derived from wastewater microbial communities. **Water Research**, v. 155, p. 115-123, 2019.