

II-093 - PERFIL DE DEGRADAÇÃO DE PARABENOS EM RBS DE LODO GRANULAR AERÓBIO ASSOCIADO À REMOÇÃO DE CARBONO E NUTRIENTES

Thaís Salvador Argenta⁽¹⁾

Engenheira Ambiental e Sanitarista pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará. Mestre em Engenharia Civil: Saneamento ambiental pela Universidade Federal do Ceará. Doutoranda em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos na Universidade de Brasília.

Antônio Ricardo Mendes Barros

Tecnólogo em Saneamento Ambiental pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará. Mestre em Engenharia Civil e Ambiental pela Universidade Federal de Campina Grande. Doutorando em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental na UFC.

Clara de Amorim de Carvalho

Engenheira Ambiental pela UFC. Mestranda em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental pela UFC.

André Bezerra dos Santos

Engenheiro Civil pela UFC. Mestre em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental pela UFC. Doutor em Environmental Sciences pela Wageningen University. Professor Associado III do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da UFC.

Paulo Igor Milen Firmino

Engenheiro Civil pela UFC. Mestre em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental pela UFC. Doutor em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental pela UFC. Professor Adjunto C do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da UFC.

Endereço⁽¹⁾: Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Campus do Pici, Bloco 713, Pici – Fortaleza – CE - CEP: 60455-900 - Brasil - e-mail: thais.argenta@gmail.com

RESUMO

Os parabenos são ésteres do ácido p-hidroxibenzoico utilizados como conservantes em produtos de higiene pessoal, fármacos, alimentos e bebidas, sendo os primeiros uma das principais fontes desses micropoluentes em estações de tratamento de águas residuárias. Esses compostos vêm sendo associados a problemas de saúde humana por atuarem como disruptores endócrinos, logo é relevante avaliar a remoção deles das águas residuárias, principalmente por tecnologias compactas de alta capacidade de remoção de carbono e nutrientes e que apresentem bom custo-benefício. O efeito da adição desses parabenos na formação e manutenção do LGA operado com ciclos de 6 h e TDH de 12 h, assim como o perfil de remoção de carbono, nutrientes e dos parabenos ao longo do ciclo foram analisados. Os grânulos aeróbios se desenvolveram com boa sedimentabilidade, porém com estrutura frágil pela menor produção de SPE provocada pelos parabenos. A fase aeróbia foi a principal responsável pela remoção dos parabenos, nutrientes e carbono, muito provavelmente por cometabolismo. Dentre os quatro parabenos utilizados, o MeP foi o que apresentou menor remoção.

PALAVRAS-CHAVE: Parabenos, Micropoluentes, Carbono e nutrientes, Lodo granular aeróbio, Tratamento de esgoto.

INTRODUÇÃO

Os parabenos, como metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP), propilparabeno (PrP) e butilparabeno (BuP), são substâncias utilizadas como conservantes em produtos de higiene pessoal, cosméticos e alimentos (NOWAK et al., 2018). Apresentam-se em concentrações muito pequenas no meio ambiente. Por exemplo, Derisso (2017) encontrou concentrações de parabenos de 0,11 a 11 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ em amostras de quatro corpos

hídricos e de esgoto bruto de uma ETE em São Paulo, Brasil, e Ma et al. (2018) encontraram concentrações variando entre 0,029 a 1,31 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ no esgoto bruto de duas ETEs em Harbin, China. Porém, mesmo em baixas concentrações, eles vêm sendo associados a diversos problemas de saúde na população, como alteração hormonal, transtornos de tireoide e câncer de mama, e a efeitos ecotoxicológicos, sendo reportados como substâncias bioativas, ambientalmente persistentes e com potencial de bioacumulação (BOBERG et al., 2010; CANOSA et al., 2006; DARBLE et al., 2004). Logo, é importante remover esses compostos dos efluentes antes do seu descarte nos corpos receptores.

O lodo granular aeróbio (LGA) é um tipo de tratamento biológico que vem recebendo grande atenção nos últimos anos pelo seu usual melhor desempenho e vantagens operacionais, em relação ao lodo ativado, como a retenção de grande quantidade de microrganismos em um volume menor de lodo, que possibilita também a metabolização de poluentes com maior rapidez, e sedimentação rápida, que facilita a separação sólido/líquido (NANCHARAIAH; REDDY, 2018). Essas vantagens são possíveis, pois o grânulo aeróbio é definido como um pacote microbiano que contém milhões de microrganismos por grama de biomassa, podendo ter diferentes tipos de espécies de bactérias, que possuem funções específicas na degradação de poluentes biodegradáveis presentes nas águas residuárias. Essa variedade é causada pelo gradiente de oxigênio no grânulo, formando zonas aeróbias, anóxicas e anaeróbias (LIU et al., 2005). No entanto, o processo de granulação é afetado por certos parâmetros operacionais, como composição e taxa de consumo do substrato, força de cisalhamento hidrodinâmico, regime de *feast and famine*, estratégia de alimentação, concentração de oxigênio dissolvido, configuração do reator, tempo de retenção de sólidos, tempo de acomodação e taxa de troca de volume.

Contudo, poucos trabalhos investigaram a possibilidade ou não de formação e manutenção de lodo granular aeróbio e as eficiências de remoção alcançadas com a presença de micropoluentes, particularmente os parabenos. Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar o perfil de degradação dos parabenos relacionados à remoção de matéria orgânica e dos nutrientes ao longo de um ciclo de operação do sistema.

MATERIAIS E MÉTODOS

CONFIGURAÇÃO EXPERIMENTAL

O experimento foi realizado em reator de bateladas sequenciais (RBS), confeccionado em acrílico alimentado com esgoto sintético contendo parabenos. Ele operou em regime descontínuo por 104 dias com ciclo de 6 h, tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12 h e troca volumétrica de 50%. Os ciclos foram divididos em 30 minutos de alimentação, 60 minutos de período anaeróbio/anóxico, 263 minutos de aeração, 5 minutos de sedimentação, 1 minuto para descarte e 1 minuto para descanso. A aeração do sistema aconteceu através de aeradores, e o lodo de inóculo foi proveniente de um sistema de lodo ativado que tratava esgoto doméstico de uma fábrica têxtil localizada no município de Fortaleza, Ceará, Brasil.

O afluente sintético era armazenado em um refrigerador, a temperatura de 4 °C, com o objetivo de impedir sua degradação e proliferação de microrganismos no tanque de alimentação. Sua composição continha: ácido acético (500 mg DQO/L), cloreto de amônio (75 mg $\text{NH}_4^+\text{-N/L}$), fosfato de potássio (10 mg $\text{P-PO}_4^{3-}/\text{L}$), cálcio dihidratado (10 mg Ca^{2+}/L) e sulfato de magnésio heptahidratado (5 mg Mg/L). A solução de micronutrientes utilizada foi semelhante à de dos Santos et al., (2005). Para manter o pH próximo a 7,0, tamponava-se a solução com bicarbonato de sódio (NaHCO_3) na proporção de 2,5 g para cada litro de afluente sintético. Os parabenos adicionados foram metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP), propilparabeno (PrP) e butilparabeno (BuP), todos adquiridos da Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, USA) e com concentração aproximada de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$, cada.

MONITORAMENTO DO CICLO

A análise de ciclo foi realizada em triplicata com a finalidade de conhecer o perfil de biodegradação dos parabenos e também da matéria orgânica, nitrogênio e fósforo. Durante as 6 horas do ciclo, o oxigênio dissolvido foi monitorado continuamente (YSI 5000, YSI Incorporated, EUA).

As análises físico-químicas foram realizadas conforme as metodologias recomendadas pelo Standard Methods (APHA, 2012). As análises realizadas e o método de cada uma foram: amônia (método titulométrico); nitrito nitrito e fosfato (cromatografia iônica); demanda química de oxigênio (método colorimétrico em refluxo

fechado); sólidos suspensos totais e voláteis (método gravimétrico em membrana de fibra de vidro - 0,47 μ m). Já o acompanhamento da formação e do desenvolvimento dos grânulos foi feito através da segregação física por peneiramento e gravimetria, o conteúdo de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) da biomassa granular foi extraído, e os teores de proteína (PN) e carboidrato (PS) foram medidos pelo método de Lowry modificado e fenol-ácido sulfúrico (LONG et al., 2014), respectivamente. Para caracterizar a sedimentabilidade do lodo, utilizou-se o método chamado índice volumétrico do lodo (IVL) dinâmico – uma versão modificada do IVL proposto por Schwarzenbeck, Erley e Wilderer (2004).

Para a medição dos parabenos, 500 mL de amostra filtrada foram concentrados por extração em fase sólida utilizando cartuchos de equilíbrio hidrofílico-lipofílico, Oasis HLB (Waters Corporation, Milford, MA) com alíquotas de 4 mL de metanol como eluente. A quantificação da matriz ambiental aquosa foi feita utilizando um cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC) Shimadzu (20A Prominence) com detector UV-Vis (SPD-M20A) (258 nm). A metodologia utilizada para a leitura dos parabenos foi adaptada de Piao, Chen e Wang (2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ASPECTOS MORFOLÓGICOS DOS GRÂNULOS

Os grânulos utilizados na análise de degradação foram provenientes de um processo de seleção de biomassa com diminuição do tempo de sedimentação e com presença dos parabenos. A granulação no reator ocorreu durante os primeiros 30 dias, e observou-se o decaimento do IVL₃₀ e aumento da relação IVL₃₀/IVL₅ quando comparado com o lodo de inóculo (Tabela 1). Também ocorreu a presença de grânulos com diâmetro maiores que 1 mm em proporção predominante (~92,7%), sugerindo que os poluentes não afetaram a formação dos grânulos aeróbios (WINKLER et al., 2018).

Tabela 1: Caracterização do lodo e dos grânulos no reator.

Parâmetro	Inóculo	Reator com parabenos
IVL ₃₀ (mL/g)	93	35 (10)
IVL ₃₀ /IVL ₅	0,5	0,9 (0,1)
SSV (g/L)	2,8	1,5 (0,3)
Proporção de lodo > 1,0 mm (%)	0	92,7
PS (mg/g SSV)	61,1	50,9
PN (mg/g SSV)	59,4	164,9
PS/PN	1	0,30

Os desvios padrão são mostrados entre parênteses.

A capacidade de sedimentação do lodo granular formado pode ser avaliada pelo IVL. Segundo Sperling, (2012), quanto menor o IVL, melhor é a sedimentabilidade do lodo, e, para valores de IVL entre 0 e 50 mL/g, tem-se a sedimentabilidade ótima. Nota-se, então, a partir dos valores de IVL₃₀ e da relação IVL₃₀/IVL₅, que o reator apresenta sedimentabilidade ótima e que os parabenos não interferiram na referida propriedade. Em relação à composição das SPE, verificou-se que o lodo de inóculo possuía PS de 61 mg/g SSV e PN de 59 mg/g SSV. Analisando a SPE do LGA formado, o PS foi quantificado em 50,9 mg/g SSV e o PN em 164,9 mg PN/g SSV, esses dados nos permitem inferir que as bactérias produtoras de SPE foram beneficiadas pela estratégia de granulação utilizada no sistema. Porém, a relação PS/PN do LGA formado na presença de parabenos mostra que esses compostos interferiram na formação dos grânulos, deixando-os menos densos. Esse fato pode ter influenciado na concentração de SSV dentro do sistema, pois os grânulos mais frágeis tendem a se desfragmentar e serem descartados pelas pressões de seleção impostas (ZHAO et al., 2015).

REMOÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA, NUTRIENTES E PARABENOS

A fim de avaliar, mais detalhadamente, a remoção dos parabenos no sistema de LGA e identificar uma possível correlação com a ação de determinados grupos microbianos funcionais responsáveis pela remoção de matéria orgânica, N e P, foram realizados ensaios para determinação do perfil de remoção desses elementos e dos parabenos ao longo do ciclo (Figura 1).

Na fase anaeróbia, todos os parabenos foram removidos concomitantemente com o consumo de matéria orgânica, principalmente, por organismos heterotróficos ordinários (OHOs), assim como por acumuladores de fósforo (OAFs) e de glicogênio (OAGs) (Figura 1). Portanto, aparentemente, a presença de um cossubstrato facilmente biodegradável (acetato) não atrapalhou a remoção de parabenos.

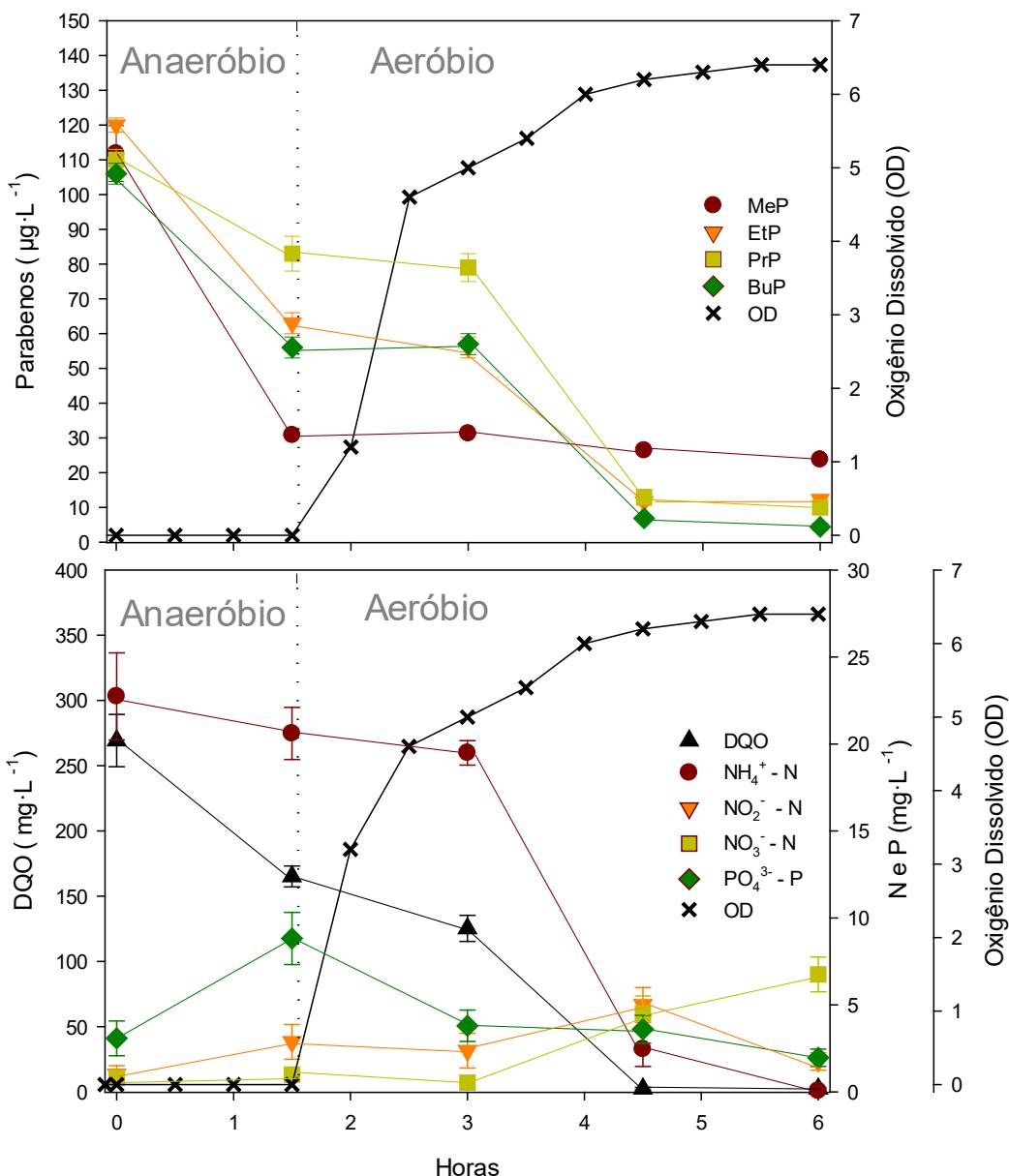


Figura 1 – Remoção de parabenos (a), matéria orgânica, N e P (b) ao longo de um ciclo.

Por estarem em concentrações muito baixas, é bastante improvável que esses compostos sejam utilizados como fonte principal de carbono e energia por algum grupo de microrganismos. Logo, a hipótese mais provável é que micropoluentes sejam degradados por vias cometabólicas pela ação de enzimas não específicas (FISCHER; MAJEWSKY, 2014). De fato, Fan e Wang (2017) observaram efeito cometabólico na remoção de elevadas concentrações de MeP, EtP e PrP (50 mg/L) quando foram adicionados a esgoto sintético contendo 50 mg DQO/L em um filtro horizontal aberto. Porém, é importante mencionar que, mesmo quando esses parabenos eram dissolvidos somente em água, ou seja, na ausência de um cossubstrato orgânico, eles eram efetivamente removidos, embora com eficiências menores, pois estavam em quantidades suficientes para serem utilizados como fonte de carbono e energia pela microbiota do sistema de tratamento (FAN; WANG, 2017).

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

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

Inesperadamente, o MeP apresentou concentração praticamente constante durante toda a fase aeróbia (Figura 1a), contrariando os resultados reportados por Wu *et al.* (2017), em que os parabenos são rapidamente degradados sob condições aeróbias (tempo de meia-vida < 20 min). Uma hipótese que poderia justificar a aparente persistência de MeP no meio seria a conversão dos outros parabenos no referido composto durante o processo de degradação. Entretanto, segundo Wang *et al.* (2018a), tal conversão só acontece na presença de metanol por meio de reação de transesterificação. Na ausência de álcoois, a degradação dos parabenos ocorre por meio de hidrólise da ligação éster, sendo gerados um álcool e o ácido p-hidroxibenzoico (WANG *et al.*, 2018), o qual pode ser posteriormente biotransformado em fenol (VALKOVA *et al.*, 2001) ou ácido benzoico (WU *et al.*, 2017). Portanto, no presente trabalho, em que o cossubstrato utilizado era o acetato, é bastante improvável a formação de MeP por transesterificação. Porém, maiores investigações são necessárias a fim de se conhecer a rota de degradação desses compostos nessas condições.

CONCLUSÕES

A presença dos parabenos não teve efeito significativo no processo de formação de grânulo aeróbio e estabilidade operacional do grânulo. O lodo granulou com 30 dias de operação do reator. A análise do ciclo permitiu concluir que, em relação à remoção de matéria orgânica, N e P, não foi evidenciado efeito significativo dos parabenos nas concentrações testadas e que os parabenos foram parcialmente removidos na fase anaeróbia, sendo a fase aeróbia a principal responsável pela remoção desses compostos, muito provavelmente por cometabolismo. O MeP foi o que apresentou menor remoção sendo necessário um estudo das rotas de degradação desses compostos para entender que fatores podem ter impactado na sua remoção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22. ed. Washington, DC, USA.: Amer Public Health Ass, 2012.
2. ASHFAQ, M. *et al.* Occurrence, fate, and mass balance of different classes of pharmaceuticals and personal care products in an anaerobic-anoxic-oxic wastewater treatment plant in Xiamen, China. *Water Research*, v. 123, p. 655–667, 2017.
3. BOBERG, J. *et al.* Possible endocrine disrupting effects of parabens and their metabolites. *Reproductive Toxicology*, v. 30, n. 2, p. 301–312, 2010.
4. CANOSA, P. *et al.* Formation of halogenated by-products of parabens in chlorinated water. *Analytica Chimica Acta*, v. 575, n. 1, p. 106–113, 2006.

5. DARBRE, P. D. et al. Concentrations of Parabens in human breast tumours. *Journal of Applied Toxicology*, v. 24, n. 1, p. 5–13, 2004.
6. DERISSO, C. R. *Análise de parabenos em amostras de água de rios e de esgoto sanitário da cidade de São Carlos/SP*. 2017. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.
7. FAN, C.; WANG, S. C. Co-metabolic enhancement of organic removal from waste water in the presence of high levels of alkyl paraben constituents of cosmetic and personal care products. *Chemosphere*, v. 179, p. 306–315, 2017.
8. FISCHER, K.; MAJEWSKY, M. Cometabolic degradation of organic wastewater micropollutants by activated sludge and sludge-inherent microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 98, n. 15, p. 6583–6597, 2014.
9. LIU, Y. et al. Selection pressure-driven aerobic granulation in a sequencing batch reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 67, n. 1, p. 26–32, 2005.
10. MA, W. L. et al. Concentrations and fate of parabens and their metabolites in two typical wastewater treatment plants in northeastern China. *Science of the Total Environment*, v. 644, p. 754–761, 2018.
11. NANCHARAIH, Y. V.; REDDY, G. K. K. Aerobic granular sludge technology: Mechanisms of granulation and biotechnological applications. *Bioresource Technology*, v. 247, p. 1128–1143, 2018.
12. NOWAK, K. et al. Parabens and their effects on the endocrine system. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 474, p. 238–251, 2018.
13. NSENGA KUMWIMBA, M.; MENG, F. Roles of ammonia-oxidizing bacteria in improving metabolism and cometabolism of trace organic chemicals in biological wastewater treatment processes: A review. *Science of the Total Environment*, v. 659, p. 419–441, 2019.
14. ROLLEMBERG, S. L. DE S. et al. Aerobic granular sludge: Cultivation parameters and removal mechanisms. *Bioresource Technology*, v. 270, p. 678–688, 2018.
15. SPERLING, M. VON. *Lodos Ativados: princípios do tratamento biológico de águas residuárias*. 3. ed. Belo Horizonte, MG, 2012.
16. VALKOVA, N. et al. Hydrolysis of 4-Hydroxybenzoic Acid Esters (Parabens) and Their Aerobic Transformation into Phenol by the Resistant Enterobacter cloacae Strain EM. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 67, n. 6, p. 2404–2409, 2001.
17. WANG, L. et al. Transesterification of para-hydroxybenzoic acid esters (parabens) in the activated sludge. *Journal of Hazardous Materials*, v. 354, p. 145–152, 2018.
18. WINKLER, M. K. H. et al. An integrative review of granular sludge for the biological removal of nutrients and recalcitrant organic matter from wastewater. *Chemical Engineering Journal*, v. 336, p. 489–502, 2018.
19. WU, Y. et al. Comparative studies of aerobic and anaerobic biodegradation of methylparaben and propylparaben in activated sludge. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 138, p. 25–31, 2017.
20. ZHAO, X. et al. Remediation of pharmaceuticals and personal care products using an aerobic granular sludge sequencing bioreactor and microbial community profiling using Solexa sequencing technology analysis. *Bioresource Technology*, v. 179, p. 104–112, 2015.