

II-050 - REMOÇÃO DE ESTROGÊNIOS EM REATOR DE LEITO MÓVEL COM BIOFILME (MBBR) COM DISTINTAS COMUNIDADES MICROBIANAS

Elisângela Edila Schneider⁽¹⁾

Engenheira Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Mestre e Doutora em Engenharia Química pelo Programa de Engenharia Química (PEQ/COPPE) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Atuou profissionalmente na Companhia Estadual de Águas e Esgotos (CEDAE) e no Centro Brasileiro de Pesquisas da *General Electric* (GE). Atualmente é aluna de pós-doutorado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Marcia Dezotti⁽²⁾

Bacharel, Mestre e Doutora em Química pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Realizou pós-doutorado no Programa de Engenharia Química da COPPE/UFRJ e na *North Carolina State University*. Atualmente é Professora Titular do Programa de Engenharia Química da COPPE/UFRJ e coordenadora do Laboratório de Controle de Poluição das Águas do Programa de Engenharia Química da COPPE/UFRJ.

Endereço⁽¹⁾: Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEA), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) – Trindade – Florianópolis – SC – CEP: 88040-900 – Brasil - Tel: (48) 3721-7740 – e-mail: elis_schneider@yahoo.com.br

RESUMO

Reatores de leito móvel com biofilme (MBBR) com distintas comunidades microbianas foram utilizados para avaliar a remoção/destino dos estrogênios 17 β -estradiol (E2) e 17 α -etinilestradiol (EE2), considerando tanto as concentrações na fase aquosa quanto na biomassa. Três sistemas MBBR operaram em paralelo com distintos efluentes sintéticos para o desenvolvimento de culturas ricas em bactérias heterotróficas (MBBR-H), em bactérias autotróficas (MBBR-A) e com ambos os grupos (MBBR-HA). A biodegradação foi a principal forma de remoção dos estrogênios nos sistemas MBBR. O MBBR-A apresentou as melhores eficiências de remoção do EE2 por biodegradação (69,6 – 71,2%). Com relação ao E2, a biodegradação (87,1 – 93,1%) e a adsorção na biomassa (1,2 – 7,4%) foram similares entre as comunidades microbianas investigadas. A remoção dos estrogênios por adsorção no biofilme correspondeu a valores inferiores a 0,001%, devido ao baixo crescimento da biomassa aderida. Já a adsorção aos sólidos em suspensão se mostrou mais evidente na biomassa heterotrófica (15,5 – 24,9%). A influência do tempo de retenção hidráulica (TRH) entre 8 e 12 h não foi significativa na remoção global dos estrogênios em cada um dos sistemas MBBR.

PALAVRAS-CHAVE: Micropoluentes, desreguladores endócrinos, estrogênios, tratamento biológico, MBBR.

INTRODUÇÃO

O intenso e crescente desenvolvimento de novos compostos sintéticos tem resultado em um número cada vez maior de contaminantes encontrados nas matrizes ambientais (BOLONG *et al.*, 2009; DÍAZ-CRUZ *et al.*, 2009). Inúmeras pesquisas têm sido realizadas nos últimos anos, entretanto, ainda se conhece muito pouco sobre as concentrações no meio ambiente, os destinos, as formas de degradação e os efeitos tóxicos de muitos destes compostos sintéticos oriundos das atividades humanas (PLÓSZ *et al.*, 2010; SIPMA *et al.*, 2010; HE *et al.*, 2013).

Arelado a isto, o progresso na química analítica instrumental e nas técnicas de extração de amostras ambientais tem permitido a detecção de uma faixa mais ampla de compostos e em concentrações cada vez menores, contribuindo para o conhecimento da problemática dos micropoluentes (poluentes que estão presentes no meio ambiente em concentrações na ordem de microgramas e nanogramas por litro) (GUITART e READMAN, 2010). Dentre os compostos classificados como micropoluentes existem os desreguladores endócrinos (DE) que são substâncias exógenas que interferem de diversas formas no sistema endócrino dos organismos. De acordo com CONROY *et al.* (2007), os estrogênios naturais e sintéticos são os desreguladores endócrinos que apresentam maior estrogenicidade. A principal fonte de estrogênios no meio ambiente é o

esgoto sanitário (SIM *et al.*, 2011; SHI *et al.*, 2013), devido à presença de estrogênios naturais (estrone, 17 β -estradiol, estriol) e sintéticos (17 α -etinilestradiol) que são excretados pelos seres humanos diariamente através da urina e fezes.

As Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) existentes atualmente foram projetadas basicamente para a remoção de material particulado, substâncias carbonáceas e nutrientes. Entretanto, a remoção dos DEs, como os estrogênios naturais e sintéticos, ocorre apenas parcialmente. A maior parte dos DEs que entra nas ETEs é constantemente despejada no meio ambiente devido ao desconhecimento dos mecanismos completos de degradação e das melhores condições operacionais que favoreçam a sua remoção, além da ausência de uma legislação específica (BOLONG *et al.*, 2009; LUO *et al.*, 2014).

Distintas alternativas têm sido investigadas para remover os DEs de forma mais efetiva nas ETEs, como por exemplo: adsorção em carvão ativado (CHANG *et al.*, 2009), ozonização (MARGOT *et al.*, 2013), processo Fenton (LI e ZHANG, 2014), radiação UV solar (KOUTANTOU *et al.*, 2013), oxidação catalítica (HAN *et al.*, 2012) e processos de separação por membranas (SILVA *et al.*, 2012). Apesar das altas eficiências de remoção observadas em alguns destes processos, o uso de tratamentos adicionais para polimento do efluente pode resultar em um aumento considerável do custo operacional das ETEs, além do custo adicional de instalação de uma nova etapa de tratamento (DE GUSSEME *et al.*, 2009).

Neste contexto, os tratamentos biológicos têm sido avaliados na remoção de DEs como uma alternativa economicamente viável, já que este tipo de tratamento é considerado a principal forma de remoção destes compostos nas ETEs convencionais, tanto por biodegradação quanto por adsorção na biomassa. Uma grande variabilidade na eficiência de remoção de estrogênios tem sido observada na literatura, possivelmente devido às diferenças entre as ETEs, no que se refere ao tipo de reator biológico, às características do esgoto sanitário (pH, carga orgânica, concentração de estrogênios), às condições operacionais (tempo de retenção dos sólidos – TRS, tempo de retenção hidráulica – TRH) e à diversidade da comunidade microbiana envolvida.

Estudos da literatura têm demonstrado que a composição da comunidade microbiana afeta diretamente a biodegradação de estrogênios: as bactérias que oxidam a amônia são capazes de cometabolizar os estrogênios pela enzima amônia monooxigenase (KHUNJAR *et al.*, 2008), enquanto que as bactérias heterotróficas podem metabolizar ou cometabolizar estes compostos (KHUNJAR *et al.*, 2011; TRAN *et al.*, 2013). De acordo com KHUNJAR *et al.* (2011), a biodegradação do EE2 pelas bactérias que oxidam a amônia é cinco vezes mais rápida do que pelas bactérias heterotróficas (sem considerar a sua mineralização). Existem algumas rotas propostas para a biodegradação de estrogênios que não estão completamente definidas, que incluem a contribuição de ambos os grupos de bactérias na biodegradação destes compostos (TRAN *et al.*, 2013).

Grande parte das investigações relatadas na literatura sobre remoção de estrogênios por tratamentos biológicos avaliam as concentrações destes compostos apenas na fase aquosa, apesar dos valores dos coeficientes de partição octanol-água (K_{ow}) indicarem a sua tendência à adsorção na biomassa (TERNES *et al.*, 2002). Para identificar o destino real dos estrogênios nos tratamentos biológicos, faz-se necessária a sua quantificação tanto na fase aquosa quanto na biomassa. Na literatura não há um consenso quanto à efetividade da adsorção dos estrogênios na biomassa: alguns autores reconhecem a sua importância (CLARA *et al.*, 2004; DE GUSSEME *et al.*, 2009), enquanto outros relatam ser insignificante (JOSS *et al.*, 2004; GABET-GIRAUD *et al.*, 2010). A razão para esta variabilidade parece ser a diferença entre cada sistema, o que afeta as características da biomassa e, consequentemente, a adsorção dos estrogênios. Altos valores de TRS nos reatores biológicos tem sido correlacionados com maiores eficiências de remoção de estrogênios (TRAN *et al.*, 2013; LUO *et al.*, 2014; PETRIE *et al.*, 2014), possivelmente devido ao fato de que neste caso as bactérias de crescimento lento se desenvolvem melhor e há uma maior diversidade na comunidade microbiana (JOSS *et al.*, 2004).

Os tratamentos biológicos utilizados para investigar a remoção de estrogênios são, na sua maioria, sistemas com biomassa em suspensão, sendo pouco avaliado o desempenho dos reatores de biomassa fixa. O excesso de lodo dos sistemas biológicos das ETEs, após uma etapa de estabilização, pode ser utilizado como fertilizante, entretanto, esta prática seria um risco potencial de contaminação do meio ambiente pelos estrogênios. A utilização de biorreatores com biofilme com baixa produção de lodo de excesso é uma opção interessante para reduzir a propagação da contaminação do meio ambiente por DEs, além de reduzir os custos com a correta destinação/reutilização deste rejeito.

Um dos reatores de biomassa fixa existentes é o reator de leito móvel com biofilme (*Moving Bed Biofilm Reactor* – MBBR) que é um reator híbrido onde a biomassa se desenvolve aderida em pequenos suportes que se movimentam livremente pelo meio reacional. Este tipo de reator apresenta algumas vantagens frente aos sistemas convencionais de lodos ativados: redução na área requerida para construção, área interfacial elevada entre biofilme e substratos, estabilidade operacional com resistência a cargas de choque e tempo de retenção de sólidos elevado (RUSTEN *et al.*, 2006). Apesar das vantagens do sistema MBBR, existem poucos estudos na literatura utilizando este biorreator para remoção de micropoluentes (LUO *et al.*, 2014; AHMED *et al.*, 2017; GRANDCLÉMENT *et al.*, 2017).

OBJETIVOS

Com o intuito de avaliar o impacto da comunidade microbiana na remoção de estrogênios, investigou-se a utilização de sistemas com reatores MBBR na remoção de dois estrogênios (17β -estradiol, 17α -etinilestradiol) em efluente sintético com distintos TRH na presença de três comunidades microbianas: (i) cultura predominantemente heterotrófica (MBBR-H), (ii) cultura predominantemente autotrófica (MBBR-A) e (iii) cultura com a presença de ambos os grupos (MBBR-HA). Para investigar o efeito da adsorção dos estrogênios na biomassa de sistemas com biofilme, foram avaliados os balanços de massa globais considerando a concentração dos estrogênios nas fases líquida e sólida (biomassa em suspensão/biofilme).

METODOLOGIA UTILIZADA

• Sistemas MBBR

O aparato experimental utilizado era composto de três sistemas MBBR em escala de bancada (2 L cada) operados em paralelo durante 480 dias. Utilizou-se uma fração de enchimento (volume do suporte plástico/volume do reator) do suporte K1 (AnoxKaldnes®) de 50%. A aeração do sistema foi regulada para manter os suportes plásticos K1 em suspensão e para suprir a quantidade de oxigênio dissolvido necessária para manutenção da atividade biológica. Três efluentes sintéticos distintos foram alimentados com o intuito de desenvolver as diferentes culturas dos sistemas MBBR-A, MBBR-H e MBBR-HA, conforme descrito anteriormente. Uma corrente com os estrogênios 17β -estradiol (E2) e 17α -etinilestradiol (EE2) (ambos com pureza superior a 98%, Sigma-Aldrich) foi adicionada aos reatores, separadamente dos efluentes sintéticos, a partir de uma solução estoque para obtenção de concentração no efluente de $10^3 \mu\text{g.L}^{-1}$. Os MBBRs operaram em fluxo contínuo em duas condições operacionais com TRH de 8 e 12 h. Os três sistemas MBBR foram inoculados previamente com lodo ativado proveniente de uma ETE para o desenvolvimento do biofilme nos suportes. Durante este período não foram adicionados os estrogênios no efluente sintético.

• Efluentes Sintéticos

A composição do efluente sintético para o MBBR-A foi preparado baseado em LIANG *et al.* (2011), com adaptações para obter uma carga volumétrica de nitrogênio amoniacal de $0,2 - 0,3 \text{ kg N-NH}_4^+.\text{m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Os efluentes do MBBR-H e MBBR-HA foram preparados com base em KHUNJAR *et al.* (2008) com carga volumétrica de matéria orgânica de $0,8 - 1,2 \text{ kg DQO}.\text{m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ e com cargas volumétricas de nitrogênio amoniacal de $0,04 - 0,06$ e $0,10 - 0,15 \text{ kg N-NH}_4^+.\text{m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, respectivamente. No efluente do MBBR-H foi adicionado 10 mg.L^{-1} de 1-alil-2-tiouréia (ATU) (pureza de 98%, Sigma-Aldrich) para inibir a nitrificação (KHUNJAR *et al.*, 2011; RACZ *et al.*, 2012). Uma solução de micronutrientes baseada em VISHNIAC e SANTER (1957) foi adicionada aos três efluentes sintéticos na proporção de 0,1 mL por litro de efluente.

• Métodos Analíticos – Estrogênios

Procedimentos de Preparação das Amostras

As amostras aquosas passaram pelas seguintes etapas de preparo: (i) filtração em membrana de acetato de celulose ($0,45 \mu\text{m}$) para remover sólidos em suspensão, (ii) ajuste do pH para 3,0 e (iii) concentração da amostra por extração em fase sólida (EFS) baseado em TERNES *et al.* (1999). Os cartuchos C18 (500 mg, 3 mL, Varian) foram utilizados para a EFS, sendo previamente condicionados pela passagem de $3 \times 2 \text{ mL}$ de hexano (pureza de 95%, Tedia), seguido por 2 mL de acetona (pureza $>99,9\%$, Sigma-Aldrich) e $3 \times 2 \text{ mL}$ de metanol (grau CG, Tedia), com posterior lavagem com $5 \times 2 \text{ mL}$ de água ultrapura em pH 3. Os cartuchos foram acoplados a um sistema automático de EFS (*Manifold* da Agilent Technologies) e este a uma bomba de vácuo utilizada para regulação da vazão de alimentação das amostras para aproximadamente $20 \text{ mL}.\text{min}^{-1}$,

com posterior descarte do eluato. Os compostos adsorvidos no cartucho foram eluídos com acetona (4 x 1 mL) e uma corrente de nitrogênio foi utilizada para evaporação do solvente.

As metodologias para extração dos estrogênios e limpeza das amostras da biomassa foram baseadas em TERNES *et al.* (2002). A extração por ultrassom com solvente ocorreu utilizando 0,5 g da amostra liofilizada do lodo (peso seco) com 2 x 4 mL de metanol e 2 x 3 mL de acetona. Em cada uma das quatro etapas da extração a amostra foi colocada durante 10 minutos em um ultrassom (Thornton, modelo MS 200) passando, posteriormente, por centrifugação (1.500 x g, 5 minutos), sendo os sobrenadantes coletados todos em um mesmo frasco. Para eliminar as interferências da matriz, uma etapa de limpeza foi realizada pela passagem da amostra por uma coluna de sílica gel (tamanho de poro 60 Å, 70 – 230 mesh, Sigma-Aldrich). Esta coluna foi preparada em uma seringa de vidro com 1 g de sílica (previamente desativada com 1,5% de água (m/m)) e 5 mL de hexano/acetona (65:35, v/v). As amostras da etapa de extração foram transferidas para a coluna de sílica gel e então eluídas com 5 mL de hexano/acetona (65:35, v/v), sendo posteriormente secas por uma corrente de nitrogênio.

Análises por Cromatografia Gasosa

Os resíduos secos obtidos nas etapas de preparação das amostras líquidas e sólidas foram derivatizados pela adição de 50 µL de piridina (pureza ≥99,9%, Sigma-Aldrich) e 50 µL BSTFA/TMCS (99:1, Supelco Analytical), durante 30 minutos a 60°C (ZUO e ZHANG, 2005), sendo então resfriadas até temperatura ambiente. A quantificação dos estrogênios foi realizada por cromatografia gasosa (GC System 7890A com detector por ionização em chama, Agilent Technologies) com uma coluna DB-17ht (0,25 mm x 30 m x 0,15 µm). A metodologia utilizada para determinação simultânea dos estrogênios foi a seguinte: 180°C por 3 min, rampa de aquecimento de 10°C.min⁻¹ até 250°C, posteriormente 2,5°C.min⁻¹ até 270°C, e finalmente 10°C.min⁻¹ até 300°C por 2 min. A temperatura de injeção foi 180°C em modo *split* (1:50) e o volume de amostra foi 1 µL. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio, com fluxo constante de 1,22 mL.min⁻¹. A temperatura do detector por ionização em chama foi de 320°C.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

• Adsorção dos Estrogênios na Biomassa

A adsorção pode ser considerada como o primeiro passo na remoção dos estrogênios; entretanto, um aumento na adsorção destes compostos na biomassa não representa uma maior biodegradação dos mesmos (PETRIE *et al.*, 2014). As concentrações dos estrogênios adsorvidos no biofilme e nos sólidos em suspensão dos três sistemas MBBR (quantificadas nos seguintes dias de operação: 48, 118, 160 e 230 – após a adição dos estrogênios) estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Concentração dos estrogênios adsorvidos no biofilme e nos sólidos em suspensão (SST).

Sistema	Local	E2 (µg.g ⁻¹)		EE2 (µg.g ⁻¹)	
		TRH = 12 h	TRH = 8 h	TRH = 12 h	TRH = 8 h
MBBR-A	Biofilme	0,035 ± 0,009	0,062 ± 0,010	0,327 ± 0,036	0,355 ± 0,054
	SST	0,073 ± 0,008	0,084 ± 0,014	0,494 ± 0,081	0,495 ± 0,103
MBBR-H	Biofilme	0,124 ± 0,028	0,139 ± 0,011	0,422 ± 0,035	0,412 ± 0,016
	SST	0,180 ± 0,018	0,181 ± 0,025	0,640 ± 0,060	0,607 ± 0,037
MBBR-HA	Biofilme	0,098 ± 0,012	0,102 ± 0,013	0,455 ± 0,059	0,441 ± 0,059
	SST	0,192 ± 0,013	0,187 ± 0,028	0,575 ± 0,079	0,577 ± 0,025

Devido à hidrofobicidade do EE2, observou-se uma maior afinidade de adsorção ao biofilme e aos sólidos em suspensão quando comparado ao E2, conforme já relatado por outros autores (REN *et al.*, 2007). Apesar da similaridade das concentrações de polissacarídeos e proteínas (dados não apresentados) observados entre os sólidos em suspensão e o biofilme, a adsorção dos estrogênios foi maior em todas as amostras de sólidos em

suspensão. A biomassa possui uma grande área superficial e sua concentração, composição e morfologia podem influenciar na adsorção dos estrogênios. A biomassa em suspensão apresenta uma área superficial mais disponível para adsorção do que a biomassa aderida, o que poderia explicar parcialmente os resultados obtidos. LUO *et al.* (2014) obtiveram resultados similares na adsorção de micropoluentes em biomassa aderida e em suspensão, e justificaram este comportamento à melhor capacidade de biodegradação destes compostos pelos biofilmes, devido a sua diversidade microbiana e composição. Entretanto, outros estudos precisam ser conduzidos para melhor compreender o impacto das características da biomassa na adsorção destes compostos.

LUO e colaboradores (2014) realizaram uma investigação sobre adsorção de estrogênios utilizando o sistema MBBR e observaram concentrações menores de E2 e EE2 adsorvidas na biomassa: aproximadamente 0,025 – 0,050 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e 0,100 – 0,500 $\mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente. Neste estudo, o sistema operou com TRH de 24 h, concentração inicial de estrogênios de 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e efluente sintético similar ao utilizado no MBBR-HA. Na literatura já foram publicados uma faixa ampla de concentração de estrogênios adsorvidos na biomassa, desde valores baixos entre <0,002 e 0,049 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (TERNES *et al.*, 2002) até concentrações altas na ordem de 10^1 – 10^3 $\mu\text{g.g}^{-1}$ (FENG *et al.*, 2010; RACZ *et al.*, 2012). A razão para esta variabilidade pode ser a combinação das diferenças entre as ETEs, como, por exemplo, as características do efluente (esgoto sanitário ou efluente sintético, carga orgânica, pH e temperatura), concentração de estrogênios e condições operacionais (TRH, TRS). FENG e colaboradores (2010) observaram em seus estudos que a concentração de equilíbrio da adsorção do EE2 não sofreu nenhuma alteração com o pH entre 2 e 6, entretanto, houve uma redução na quantidade de estrogênio adsorvido de 2,14 para 1,43 mg.g^{-1} de SST com valores de pH superiores a 6. Os mesmos autores investigaram o efeito da concentração inicial de estrogênio no efluente e verificaram que quantidades maiores de EE2 adsorveram no lodo com o aumento da quantidade de estrogênio adicionado.

No presente estudo, nenhuma variabilidade significativa na adsorção dos estrogênios foi observada devido a redução do TRH de 12 para 8 h. Na avaliação do impacto da comunidade microbiana, observou-se uma menor capacidade de adsorção de E2 e EE2 no MBBR-A do que em comparação com os outros sistemas. O mesmo comportamento foi observado por KHUNJAR *et al.* (2008) ao investigar a adsorção de EE2 em culturas puras de *Nitrosomonas europaea* e culturas heterotróficas. A adsorção do E2 foi similar entre os sistemas MBBR-H e MBBR-HA; por outro lado, o EE2 apresentou uma adsorção levemente superior no MBBR-H. Comparando estes dois sistemas, observa-se que há uma baixa influência da presença do lodo autotrófico na adsorção de estrogênios quando baixas cargas de amônia são aplicadas.

• Balanço de Massa dos Estrogênios

O balanço de massa dos estrogênios, baseado em LUO *et al.* (2014), foi realizado nos sistemas MBBR considerando a adsorção na biomassa (aderida e em suspensão) e a biotransformação como mecanismos de remoção. A volatilização dos estrogênios através do arraste com o ar do sistema de aeração não foi considerada, com base nos baixos valores das constantes da lei de Henry destes compostos (SUAREZ *et al.*, 2010). A carga de cada estrogênio (representado por E_i) alimentada nos reatores biológicos ($L_{E_i,ENT}$ em μg) foi calculada conforme a Equação 1, apenas a partir da concentração de estrogênio na fase aquosa, já que não existiam sólidos em suspensão nos três efluentes sintéticos utilizados. A carga de estrogênio dissolvida que deixava os sistemas MBBR na fase aquosa ($L_{E_i,SAÍDA}$ em μg) foi calculada através da Equação 2.

$$L_{E_i,ENT} = Q.C_{E_i,ENT}.t \quad (\text{Equação 1})$$

$$L_{E_i,SAÍDA} = Q.C_{E_i,SAÍDA}.t \quad (\text{Equação 2})$$

onde, Q é a vazão de afluente no sistema MBBR (em L.d^{-1}), $C_{E_i,ENT}$ e $C_{E_i,SAÍDA}$ são as concentrações médias de estrogênio no afluente sintético e no efluente final, respectivamente (em $\mu\text{g.L}^{-1}$), e t é o tempo de operação considerado para os cálculos (em d). Neste caso, utilizou-se um período de operação dos reatores biológicos de 80 d, sendo o início do período após 40 d da adição dos estrogênios e após 40 dias da redução do TRH.

O equilíbrio de adsorção dos estrogênios na biomassa ocorre rapidamente em sistemas de tratamento biológico, sendo necessário um tempo de apenas alguns minutos até horas para ser estabelecido (REN *et al.*, 2007; FENG *et al.*, 2010; PETRIE *et al.*, 2014). Por esta razão, no estado estacionário da operação contínua

dos biorreatores, a contribuição da adsorção na remoção de estrogênios pode ser atribuída apenas à nova biomassa produzida, uma vez que teoricamente o equilíbrio da adsorção já foi atingido (JOSS *et al.*, 2005). De acordo com REN *et al.* (2007), a adsorção dos estrogênios é predominantemente física devido às baixas energias de ligação, o que torna a dessorção uma possibilidade, porém, como a taxa de dessorção é mais lenta do que a adsorção, esta pode ser desconsiderada. Desta forma, a carga de estrogênios removida por adsorção à biomassa ($L_{Ei,ADS}$ em μg) pode ser calculada de acordo com a Equação 3, composta pelas contribuições dos sólidos em suspensão e da biomassa aderida.

$$L_{Ei,ADS} = Q.C_{Ei,SST}.SST.t + \Delta_{BIO}.C_{Ei,BIO} \quad (\text{Equação 3})$$

onde, $C_{Ei,SST}$ e $C_{Ei,BIO}$ são as concentrações dos estrogênios adsorvidos nos sólidos em suspensão e no biofilme (em $\mu\text{g.g}^{-1}$), respectivamente, apresentados na Tabela 1. SST é a concentração média de sólidos suspensos totais no efluente final de cada reator (em mg.L^{-1}) e Δ_{BIO} é a diferença entre a biomassa aderida aos suportes plásticos (em g) no início e no final do período de operação de 80 dias considerado nos cálculos de cada TRH investigado.

A carga de estrogênios correspondente a biotransformação ($L_{Ei,BIO}$ em μg) pode ser calculada pela Equação 4, através da diferença entre as cargas de estrogênios: entrando no sistema, no efluente final e adsorvido no lodo. Na Figura 1 estão apresentados os resultados do balanço de massa do 17 β -estradiol (E2) e do 17 α -etinilestradiol (EE2), onde se pode visualizar o destino de ambos os estrogênios nos experimentos realizados: biodegradação, adsorção ou descarte com o efluente final.

$$L_{Ei,BIO} = L_{Ei,ENT} - L_{Ei,SAÍDA} - L_{Ei,ADS} \\ = Q.t.(C_{Ei,ENT} - C_{Ei,SAÍDA} - C_{Ei,SST}.SST) - \Delta_{BIO}.C_{Ei,BIO} \quad (\text{Equação 4})$$

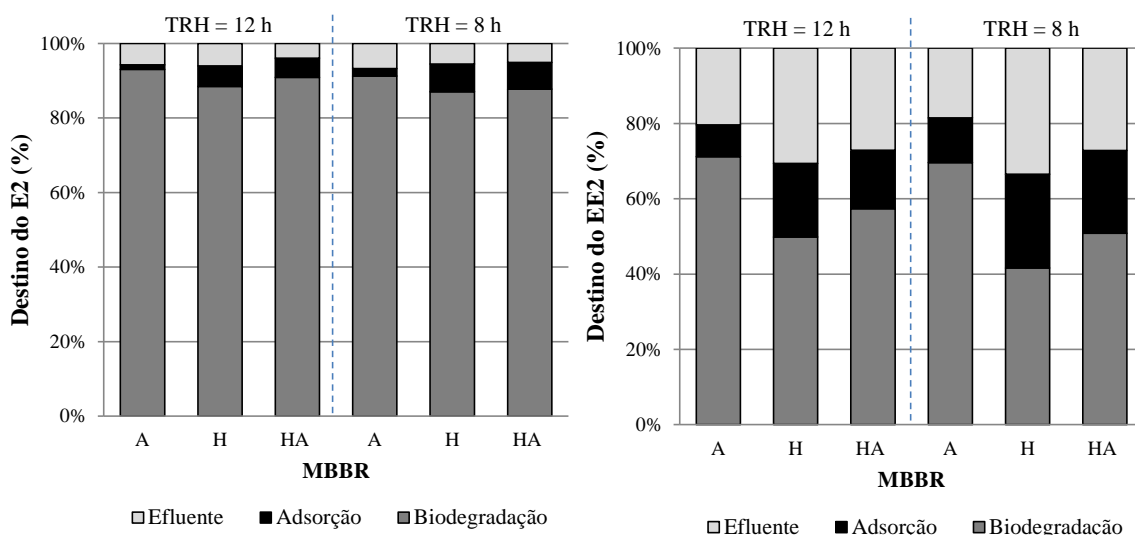


Figura 1: Influência da comunidade microbiana no destino dos estrogênios (a) 17 β -estradiol (E2) e (b) 17 α -etinilestradiol (EE2).

Na Figura 1 observa-se que a biodegradação foi o principal destino dos estrogênios investigados nos sistemas MBBR. Os percentuais de biodegradação do E2 foram similares entre as distintas comunidades microbianas investigadas (87,1 – 93,1%). Em contrapartida, os percentuais de biodegradação do EE2, que é um estrogênio sintético e mais recalcitrante, foram menores. A remoção do EE2 por biodegradação via co-metabolismo no MBBR-A foi a maior (69,6 – 71,2%), seguida pelo MBBR-HA (50,9 – 57,4%) e MBBR-H (41,6 – 49,9%). É importante ressaltar que a biodegradação não representa a mineralização destes compostos e a identificação

dos produtos formados não foi o foco desta investigação. Os resultados observados nos sistemas MBBR pelas bactérias nitrificantes estão de acordo com o que foi apresentado por KHUNJAR e colaboradores (2011), que observaram que a biodegradação do EE2 por bactérias que oxidam a amônia é cinco vezes mais rápida do que por bactérias heterotróficas, considerando apenas a biotransformação (não mineralização). O efeito positivo da presença das bactérias nitrificantes pode ser observado comparando os resultados da biodegradação do EE2 entre os sistemas MBBR-HA e MBBR-H.

No balanço de massa, a adsorção dos estrogênios no biofilme foi praticamente nula ($< 0,001\%$), em todos os casos, e por este motivo, os valores apresentados de adsorção dos estrogênios são apenas referentes ao que foi adsorvido nos sólidos em suspensão. Os sistemas MBBR-H e MBBR-HA apresentaram os maiores percentuais de adsorção do E2 com $5,2 - 5,5\%$ e $7,1 - 7,4\%$ para os TRH de 12 e 8 h, respectivamente. A adsorção do EE2 foi mais evidente no MBBR-H e no MBBR-HA, provavelmente devido às melhores taxas de remoção pelo MBBR-A e as diferenças na composição/morfologia da biomassa. As eficiências globais de remoção dos estrogênios (biodegradação + adsorção) observadas ficaram entre $93,3 - 96,1\%$ para o E2 e $69,4 - 81,5\%$ para o EE2, cujos valores são similares aos atingidos em sistemas de lodos ativados (RACZ *et al.*, 2012; PETRIE *et al.*, 2014).

Nas Figuras 2 e 3 podem-se verificar as concentrações e eficiências globais de remoção de E2 e EE2 (biodegradação e adsorção), respectivamente, nos efluentes finais produzidos pelos três reatores biológicos. Nestes gráficos fica evidente a similaridade entre as concentrações obtidas com os distintos TRH investigados ao longo dos 120 dias de operação em cada condição operacional. Durante os primeiros dias de operação após a adição dos estrogênios, as concentrações determinadas nos efluentes finais de E2 e EE2 foram levemente inferiores aos observados posteriormente por causa da alta capacidade de adsorção da biomassa neste período. Posteriormente, a remoção dos estrogênios se deu principalmente pela contribuição da biodegradação. Em comparação ao balanço de massa calculado para o MBBR investigado por LUO *et al.* (2014), as eficiências de remoção globais obtidas pelos autores foram similares para o E2 ($96,2 \pm 2,2\%$) e levemente superiores para o EE2 ($85,2 \pm 4,5\%$).

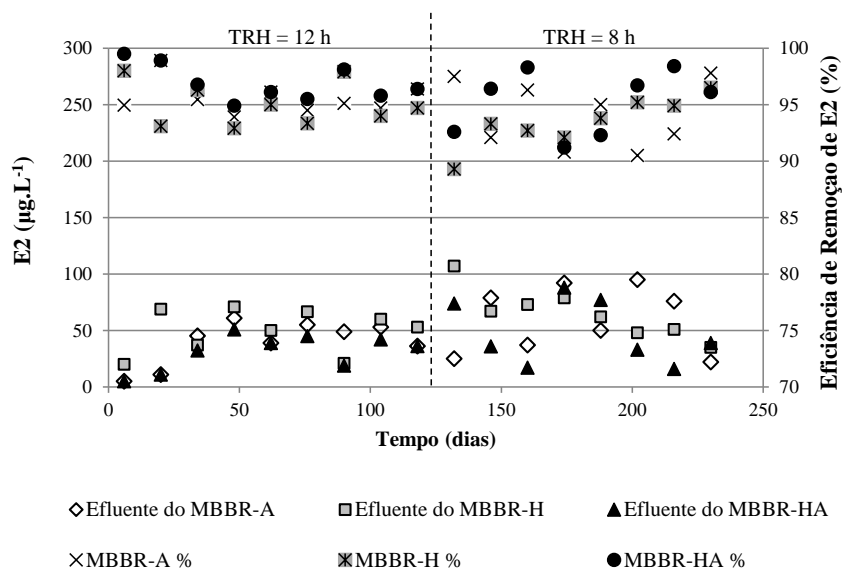


Figura 2: Concentração média de E2 no efluente final dos sistemas MBBR e as respectivas eficiências de remoção.

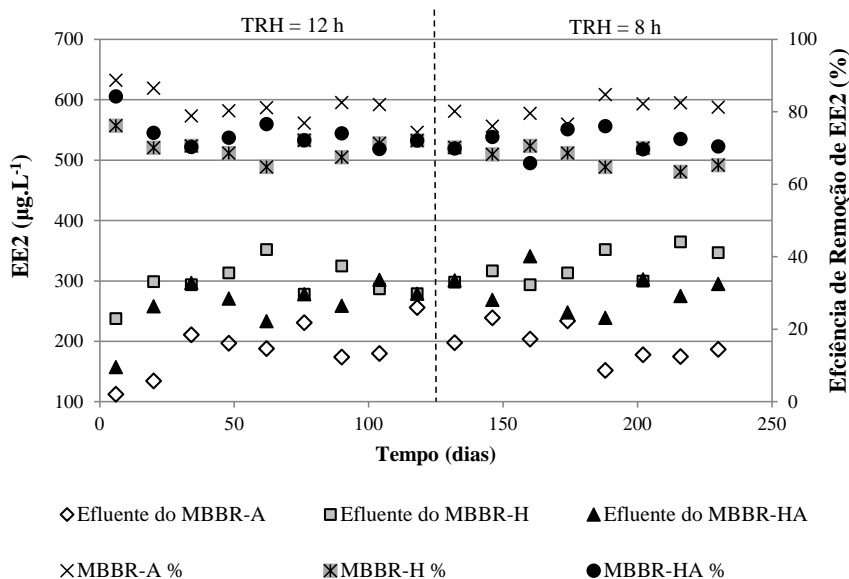


Figura 3: Concentração média de EE2 no efluente final dos sistemas MBBR e as respectivas eficiências de remoção.

A influência do TRH na remoção dos estrogênios utilizando o sistema MBBR pode ser considerada insignificante, já que se observaram diferenças irrelevantes nos resultados obtidos neste estudo (TRH de 8 e 12 h) e no estudo de LUO *et al.* (2014) (TRH de 24 h). Outros autores que investigaram a remoção de estrogênios em reatores de leito fixo chegaram as mesmas conclusões, de que o TRH tem nenhum ou pouco impacto nas eficiências de remoção destes compostos (JOSS *et al.*, 2004; PIEPER e ROTARD, 2011). De acordo com estes autores, as altas remoções atingidas ocorreram por causa das características do lodo biológico, resultante do TRS elevado e da biomassa na forma de biofilme.

CONCLUSÕES

A biodegradação e a adsorção do E2 foram similares entre as comunidades microbianas investigadas, com eficiências de remoção globais tão altas quanto as relatadas em sistemas convencionais de lodos ativados. O MBBR-A apresentou melhor eficiência de remoção do EE2 por biodegradação (69,6 – 71,2%), enquanto a remoção do EE2 por adsorção aos sólidos em suspensão foi mais evidente na biomassa heterotrófica (15,5 – 24,9%). Constatou-se que a biodegradação foi a principal rota de remoção dos estrogênios nos sistemas MBBR, e a adsorção no biofilme pode ser negligenciada nestes sistemas, porém, não na biomassa em suspensão proveniente do desprendimento do biofilme. A influência do TRH, na faixa investigada, pode ser considerada insignificante na remoção global dos estrogênios nos sistemas MBBR.

O sistema MBBR apresentou eficiências de remoção de estrogênios promissoras além da consequente redução no excesso de lodo a ser tratado e/ou disposto em comparação com sistemas de lodos ativados. Desta forma, este biorreator com biofilme pode ser considerado um tratamento de custo relativamente baixo com potencial para ser utilizado com o intuito de remover estrogênios. Além disso, este biorreator previne o arraste das bactérias nitrificantes do biorreator e, consequentemente, pode melhorar a remoção dos estrogênios pelo desenvolvimento da nitrificação. Faz-se necessária uma investigação mais ampla sobre a utilização deste tipo de biorreator para remoção de estrogênios em amostras *in natura* de esgoto sanitário, com concentrações de estrogênios mais próximas do que é encontrado em amostras ambientais e com TRH menores.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e a CAPES pelo suporte financeiro desta investigação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AHMED, M.B., ZHOU, J.L., NGO, H.H., *et al.* Progress in biological and chemical treatment technologies for emerging contaminant removal from wastewater: a critical review. *Journal of Hazardous Material*, v.323, p.274-298, 2017.
2. BOLONG, N., ISMAIL, A.F., SALIM, M.R., *et al.*, A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal, *Desalination*, v.239, p.229-246, 2009.
3. CHANG, H., CHOO, K., LEE, B., *et al.*, The methods of identification, analysis, and removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) in water, *Journal of Hazardous Materials*, v.172, p.1-12, 2009.
4. CLARA, M., STRENN, B., SARACEVIC, E., *et al.*, Adsorption of bisphenol-A, 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol to sewage sludge, *Chemosphere*, v.56, p.843-851, 2004.
5. CONROY, O., SÁEZ, A.E., QUANRUD, D., *et al.*, Changes in estrogen/anti-estrogen activities in ponded secondary effluents, *Science of the Total Environment*, v.382, p.311-323, 2007.
6. DE GUSSEME, B., PYCKE, B., HENNEBEL, T., *et al.*, Biological removal of 17 α -ethinylestradiol by a nitrifier enrichment culture in a membrane bioreactor, *Water Research*, v.43, p. 2493-2503, 2009.
7. DÍAZ-CRUZ, M.S., GARCÍA-GALÁN, M.J., GUERRA, P., *et al.*, Analysis of selected emerging contaminants in sewage sludge, *Trends in Analytical Chemistry*, v.28, n.11, p.1263-1275, 2009.
8. FENG .Y., ZHANG, Z., GAO, P., *et al.*, Adsorption behavior of EE2 (17 α -ethinylestradiol) onto the inactivated sewage sludge: kinetics, thermodynamics and influence factors, *Journal of Hazardous Materials*, v.175, p.970-976, 2010.
9. GABET-GIRAUD, V., MIÈGE, C., CHOUBERT, J.M., *et al.*, Occurrence and removal of estrogens and beta blockers by various processes in wastewater treatment plants, *Science of the Total Environment*, v.408, p.4257-4269, 2010.
10. GRANDCLÉMENT, C., SEYSSIECQ, I., PIRAM, A., *et al.* From the conventional biological wastewater treatment to hybrid processes, the evaluation of organic micropollutant removal: a review, *Water Research*, v.111, p.297-317, 2017.
11. GUITART, C., READMAN, J.W., Critical evaluation of the determination of pharmaceuticals, personal care products, phenolic endocrine disruptors and faecal steroids by GC/MS and PTV-GC/MS in environmental waters, *Analytica Chimica Acta*, v.658, p.32-40, 2010.
12. HAN, J., LIU, Y., SINGHAL, N., *et al.*, Comparative photocatalytic degradation of estrone in water by ZnO and TiO₂ under artificial UVA and solar irradiation, *Chemical Engineering Journal*, v.213, p.150-162, 2012.
13. HE, Y., CHEN, W., ZHENG, X., *et al.*, Fate and removal of typical pharmaceuticals and personal care products by three different treatment processes, *Science of the Total Environment*, v.447, p.248-254, 2013.
14. JOSS, A., ANDERSEN, H., TERNES, T., *et al.*, Removal of estrogens in municipal wastewater treatment under aerobic and anaerobic conditions: consequences for plant optimization, *Environmental Science and Technology*, v.38, p.3047-3055, 2004.
15. JOSS, A., KELLER, E., ALDER, A.C., *et al.*, Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment, *Water Research*, v.39, p.3139-3152, 2005.
16. KHUNJAR, W.O., MACKINTOSH, S.A., SKOTNICKA-PITAK, J., *et al.*, Elucidating the relative roles of ammonia oxidizing and heterotrophic bacteria during the biotransformation of 17 α -ethinylestradiol and trimethoprim, *Environmental Science & Technology*, v.45, p.3605-3612, 2011.
17. KHUNJAR, W.O., SKOTNICKA-PITAK, J., LOVE, N.G., *et al.*, Biotransformation of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) during nitrification: the role of ammonia oxidizing bacteria versus heterotrophic bacteria, In: *Proceedings of World Environmental and Water Resources Congress 2008*, p.1-10, 2008.
18. KOUTANTOU, V., KOSTADIMA, M., CHATZISYMEON, E., *et al.*, Solar photocatalytic decomposition of estrogens over immobilized zinc oxide, *Catalysis Today*, v.209, p.66-73, 2013.
19. LI, Y., ZHANG, A., Removal of steroid estrogens from waste activated sludge using Fenton oxidation: influencing factors and degradation intermediates, *Chemosphere*, v.105, p.24-30, 2014.
20. LIANG, Z., CHEN, Y., LI, W., *et al.*, Autotrophic nitrogen removal in one lab-scale vertical submerged biofilm reactor, *Physics and Chemistry of the Earth*, v.36, p.470-474, 2011.
21. LUO, Y., GUO, W., NGO, H.H., *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.

22. MARGOT, J., KIENLE, C., MAGNET, A., *et al.*, *Treatment of micropollutants in municipal wastewater: ozone or powdered activated carbon?*, *Science of the Total Environment*, v.461-462, p.480-498, 2013.
23. PETRIE, B., MCADAM, E.J., HASSARD, F., *et al.*, *Diagnostic investigation of steroid estrogen removal by activated sludge at varying solids retention time*. *Chemosphere*, v.113, p.101-108, 2014.
24. PIEPER, C., ROTARD, W., *Investigation on the removal of natural and synthetic estrogens using biofilms in continuous flow biofilm reactors and batch experiments analysed by gas chromatography/mass spectrometry*, *Water Research*, v.45, p.1105-1114, 2011.
25. PLÓSZ, B.G., LEKNES, H., LILTVED, H., *et al.*, *Diurnal variations in the occurrence and the fate of hormones and antibiotics in activated sludge wastewater treatment in Oslo, Norway*, *Science of the Total Environment*, v.408, p.1915-1924, 2010.
26. RACZ, L., MULLER, J.G., GOEL, R.K., *Fate of selected estrogens in two laboratory scale sequencing batch reactors fed with different organic carbon sources under varying solids retention times*, *Bioresource Technology*, v.110, p.35-42, 2012.
27. REN, Y., NAKANO, K., NOMURA, M., *et al.*, *Effects of bacterial activity on estrogen removal in nitrifying activated sludge*, *Water Research*, v.41, p.3089-3096, 2007.
28. RUSTEN, B., EIKEBROKK, B., ULGENES, Y. *et al.*, *Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors*, *Aquacultural Engineering*, v.34, p.322-331, 2006.
29. SHI, J., CHEN, Q., LIU, X., *et al.*, *Sludge/water partition and biochemical transformation of estrone and 17 β -estradiol in a pilot-scale step-feed anoxic/oxic wastewater treatment system*, *Biochemical Engineering Journal*, v.74, p.107-114, 2013.
30. SILVA, C.P., OTERO, M., ESTEVES, V., *Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: a review*, *Environmental Pollution*, v.165, p.38-58, 2012.
31. SIM, W., LEE, J., SHIN, S., *et al.*, *Assessment of fates of estrogens in wastewater and sludge from various types of wastewater treatment plants*, *Chemosphere*, v.82, p.1448-1453, 2011.
32. SIPMA, J., OSUNA, B., COLLADO, N., *et al.*, *Comparison of removal of pharmaceuticals in MBR and activated sludge systems*, *Desalination*, v.250, p.653-659, 2010.
33. SUAREZ, S., LEMA, J.M., OMIL, F., *Removal of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions*, *Water Research*, v.44, p.3214-3224, 2010.
34. TERNES, T.A., ANDERSEN, H., GILBERG, D., *et al.*, *Determination of Estrogens in Sludge and Sediments by Liquid Extraction and GC/MS/MS*, *Analytical Chemistry*, v.74 (14), p.3498-3504, 2002.
35. TERNES, T.A., STUMPF, M., MUELLER, J., *et al.*, *Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil*, *The Science of the Total Environment*, v.225, p.81-90, 1999.
36. TRAN, N.H., URASE, T., NGO, H.H., *et al.*, *Insight into metabolic and cometabolic activities of autotrophic and heterotrophic microorganisms in the biodegradation of emerging trace organic contaminants*, *Bioresource Technology*, v.146, p.721-731, 2013.
37. VISHNIAC, W., SANTER, M., *The thiobacilli*, *Bacteriological Reviews*, v.21, p.195-213, 1957.
38. ZUO, Y., ZHANG, K., *Suitability of N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide as derivatization reagent for the determination of the estrogens estrone and 17 α -ethinylestradiol by gas chromatography-mass spectrometry*, *Journal of Chromatography A*, v.1095, p.201-202, 2005.