

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

JENY ELIHUT VENTURA GUTIERREZ

Remoção e degradação de nonilfenol etoxilado em codigestão com esgoto doméstico e água residuária de lavanderia comercial em reator anaeróbio de leito granular expandido: caracterização taxonômica e produção de biogás

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos
2021

JENY ELIHUT VENTURA GUTIERREZ

Remoção e degradação de nonilfenol etoxilado em codigestão com esgoto doméstico e água residuária de lavanderia comercial em reator anaeróbio de leito granular expandido: caracterização taxonômica e produção de biogás

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como requisito para a obtenção do Título de Doutora em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Profa. Dra. Maria Bernadete A. Varesche

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos
2021

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).

V469r Ventura Gutiérrez, Jeny Elihut
Remoção e degradação de nonilfenol etoxilado em codigestão com esgoto doméstico e água residuária de lavanderia comercial em reator anaeróbio de leito granular expandido: caracterização taxonômica e produção de biogás / Jeny Elihut Ventura Gutiérrez; orientadora Maria Bernadete Amâncio Varesche. São Carlos, 2021.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2021.

1. surfactantes não-iônicos. 2. contaminantes emergentes. 3. reator EGSB. 4. cossustrato metabólico. 5. produção de metano. I. Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Engenheira **JENY ELIHUT VENTURA GUTIERREZ.**

Título da tese: "Remoção e degradação de nonilfenol etoxilado em codigestão com esgoto doméstico e água residuária de lavanderia comercial em reator anaeróbio de leito granular expandido: caracterização taxonômica e produção de biogás".

Data da defesa: 20/09/2021.

Comissão Julgadora

Resultado

Profa. Associada **Maria Bernadete Amancio Varesche Silva**
(Orientador)
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC-USP)

Aprovada

Prof. Dr. **Fabricio Motteran**
(Universidade Federal de Pernambuco/UFPE)

Aprovada

Profa. Dra. **Suelen Osmarina Paesi**
(Universidade de Caxias do Sul/UCS)

Aprovada

Prof. Dr. **Gunther Brucha**
(Universidade Federal de Alfenas/UNIFAL)

Aprovada

Prof. Dr. **Marcelo Loureiro Garcia**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP-Rio Claro)

Aprovada

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Prof. Dr. **Luiz Antonio Daniel**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Fermín e Maria, a meu esposo Gustavo e aos meus irmãos, de quem tenho recebido o amor maior neste mundo e a meu amado Samuel que me inspira a ser melhor cada dia. Com carinho, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que fez tudo isto possível. À Rainha do céu e seu esposo São José que sempre intercedem por mim e me acompanham na luta.

Ao meu amado Gustavo, pelo seu carinho e cuidado de querer satisfazer sempre os meus desejos, você tem sido para mim a melhor companhia nesta caminhada.

À minha família, primeiramente aos meus pais, pelos ensinamentos, amor incondicional e por me apoiar sempre. Aos meus irmãos, sogros, cunhados e sobrinhos, pelo amor, apoio e encorajamento que sempre me deram. Certamente, vocês fazem minha vida mais feliz e agradeço a Deus por isso.

À Prof^a. Maria Bernadete, por ter acreditado em mim e ter aceitado ser minha orientadora, contribuindo para o meu crescimento profissional e pessoal. Sua orientação e conselhos foram essenciais para alcançar a meta. Ao Prof. Tininho, pela sua contribuição e disposição para a realização deste trabalho. Serei eternamente grata a vocês.

Aos amigos Hondurenhos e Guatemaltecos que de diferentes formas contribuíram para tornar este sonho realidade, especialmente a Dona Maria (*in memoriam*), Don Dani, Pe. Juan Donald, Pedro Alvarenga, tia Loly, tio German (*in memoriam*) e Élfego Orozco.

Às células Jaraguá e São Francisco de Salles, pela amizade, carinho e apoio que sempre me deram. Agradeço a Deus por ter colocado vocês no meu caminho.

Aos colegas, professores, pessoal técnico e administrativo do LPB e SHS pela ajuda fornecida durante minha estadia no programa. A todos que gentilmente me ajudaram sempre que precisei. Sou grata a vocês.

À equipe “Bernadete”, pela paciência, parceria e amizade. Sou grata a todos, especialmente a Fabricio.

Aos meus amigos Loana, Jorge, Kike, Jadson, Alex, Yuri, Heitor e Juliana. Às “marombas” Juka e Inaê. Às amigas do 4to andar Suzana e Mariana. À “Mara pipoca” Felipe, Diana, Willi e Rodrigo. Vocês fizeram minha vida São Carlense mais leve.

Ao Brasil, Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, Programa de Pós-Graduação e Engenharia Hidráulica e Saneamento, Laboratório de Processos Biológicos (LPB).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Meus sinceros agradecimentos a todos!

“Se te parece que muito conheces e muito bem o entendes, hás de saber, todavia, que muitas mais são as coisas que ignoras. No te ensoberbeças, mas confessa antes tua ignorância”

Tomás de Kempis (2019)

RESUMO

VENTURA, J. E. **Remoção e degradação de nonilfenol etoxilado em codigestão com esgoto doméstico e água residuária de lavanderia comercial em reator anaeróbio de leito granular expandido**: caracterização taxonômica e produção de biogás. 2021. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2021.

Nonilfenol etoxilado (NFEO) é um surfactante não-iônico usado na formulação de produtos de limpeza, classificado como Contaminante Emergente (CE) e de difícil remoção em Estações de Tratamento de Esgoto (ETE). Assim, NFEO e seus metabolitos são frequentemente observados em ecossistemas aquáticos. Neste estudo, foi investigada a remoção e degradação de NFEO em codigestão com esgoto doméstico (ED) e água residuária de lavanderia comercial (ARLC) em reator EGSB (*Expanded Granular Sludge Bed*) escala aumentada (62L). O reator foi operado durante 637 dias em TDH de 41 ± 5 h, V_{asc} de 7 m h^{-1} e 23 ± 4 °C. Na fase I, o reator foi alimentado com substrato sintético (SS) – sem NFEO. Nas Fases II e III com SS foi adicionado $3,5 \pm 1 \text{ mgNFEO L}^{-1}$ e $8 \pm 2 \text{ mgNFEO L}^{-1}$, respectivamente. Na Fase IV com SS e ARLC como fonte de NFEO ($4 \pm 1 \text{ mg L}^{-1}$). A Fase V ocorreu com ED e ARLC contendo $4 \pm 1 \text{ mgNFEO L}^{-1}$. Remoção de matéria orgânica mínima de $90 \pm 5\%$ (para $574 \pm 130 \text{ mgDQO L}^{-1}$) foi observada durante toda a operação do EGSB. A remoção de NFEO em SS foi de $82 \pm 9\%$ ($4 \pm 1 \text{ mg NFEO L}^{-1}$), porém, para $8 \pm 2 \text{ mg NFEO L}^{-1}$ ocorreu diminuição significativa da sua remoção para $60 \pm 2\%$. Na fase IV com ARLC e SS também ocorreu diminuição significativa da remoção de NFEO para $48 \pm 2\%$ ($4 \pm 1 \text{ mgNFEO L}^{-1}$). Não houve diferença significativa na remoção de NFEO entre as fases IV e V ($49 \pm 2\%$ para $4 \pm 1 \text{ mgNFEO L}^{-1}$). A adição de NFEO levou a alteração da comunidade microbiana, favorecendo a abundância relativa de bactérias pertencentes à família Spirochaetacea de 0,63% (fase I) para 65% (fase III), 92%, (fase IV) e 76% (fase V). Ademais, a adição de NFEO afetou negativamente a produção de metano, mesmo com remoção de matéria orgânica. Entre as arqueias metanogênicas, *Methanosaeta* foi a mais abundante em todas as fases (I, III, IV e V), porém, após a adição de NFEO ocorreu diminuição de 9% (fase I) para 0,1% (fase V). Todavia, após 549 dias de operação foi observado $0,30 \pm 0,14 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}_{removida}$. Ensaio em reatores em batelada foram realizados para avaliar o efeito do extrato de levedura (ELV) e fumarato de sódio (FS) na remoção de NFEO em esgoto doméstico, via Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). Sob tais condições foi possível inferir que a adição de ELV e FS pode influenciar significativamente a remoção de NFEO e no rendimento de CH_4 . Os valores ótimos de ELV (400 mg L^{-1}) e FS (200 mg L^{-1}) resultaram em remoção de 97% (5 mgNFEO L^{-1}), sendo a biodegradação (86%) o principal mecanismo de remoção. A remoção de matéria orgânica foi 92% (677 mgDQO L^{-1}) e o rendimento de CH_4 foi de $134 \pm 4 \text{ NmLCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}_{removida}$. Nessas condições, *Macellibacteroides*, *Longilinea*, *Petrimonas* e *Proteiniphilum* para o Domínio Bacteria, bem como *Methanosaeta* e *Methanoregula* para o Domínio Archaea foram identificadas com maior abundância relativa.

Palavras-chave: surfactantes não-iônicos. contaminantes emergentes. reator EGSB escala aumentada. cossustrato metabólico. efluente de águas residuárias reais.

ABSTRACT

VENTURA, J. E. **Removal and degradation of nonylphenol ethoxylated in co-digestion with domestic sewage and commercial laundry wastewater in an anaerobic expanded granular sludge bed reactor:** taxonomic characterization and biogas production. 2021. Tese (Doutorado) – São Carlos School of Engineering, University of São Paulo, 2022.

Nonylphenol Ethoxylate (NPEO) is a non-ionic surfactant used in the formulation of cleaning products, classified as an Emerging Contaminant (CE) and its removal is difficult in waste water treatment facilities. NPEO and its metabolites are frequently observed in aquatic eco-systems. In this study, removal and degradation of NPEO in co-digestion with domestic sewage (DS) and commercial laundry wastewater (CLW) was investigated in an anaerobic, increased-scale (62L) *Expanded Granular Sludge Bed* (EGSB) reactor. The reactor was operated during 637 days at HRT of 41 ± 5 h, V_{up} of 7 m h^{-1} and 23 ± 4 °C. In phase I the reactor was fed with synthetic substrate (SS) – without NPEO. In Phases II and III, SS was added along with $3,5 \pm 1 \text{ mgNPEO L}^{-1}$ and $8 \pm 2 \text{ mgNPEO L}^{-1}$, respectively. In Phase IV, with SS plus CLW as a source of NPEO ($4 \pm 1 \text{ mg L}^{-1}$). In Phase V, with DS plus CLW containing $4 \pm 1 \text{ mgNPEO L}^{-1}$. Minimum organic matter removal of $90 \pm 5\%$ (for $574 \pm 130 \text{ mgCOD L}^{-1}$) was observed throughout EGSB operation. The removal of NPEO in SS was $82 \pm 9\%$ ($4 \pm 1 \text{ mgNPEO L}^{-1}$), however, the increase in NPEO concentration ($8 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$) significantly decreased the efficiency ($60 \pm 2\%$). In Phase IV, with CLW and SS, there was also a significant decrease in NPEO removal efficiency ($48 \pm 2\%$ for $4 \pm 1 \text{ mgNPEO L}^{-1}$). There was no significant difference in NPEO removal between Phases IV and V ($49 \pm 2\%$ for $4 \pm 1 \text{ mgNPEO L}^{-1}$). NPEO addition led to an alteration of the microbial community favoring the relative abundance of bacteria belonging to the Spirochaetacea family, from 0,63% (Phase I) to 65% (Phase III), 92%, (Phase IV) and 76% (Phase V). Besides this, NPEO addition negatively affected methane production evening with organic matter removal. Among methanogenic Archaea, *Methanosaeta* was the most abundant in all Phases (I, III, IV e V), nonetheless, after NPEO addition its abundance decreased from 9% (Phase I) to 0,1% (Phase V). However, after 549 days of operation, $0,30 \pm 0,14 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{COD}_{\text{removed}}$ was observed. Batch assays were carried out to assess the effects of yeast extract (YE) and sodium fumarate (SF), in the removal of NPEO from domestic sewage via central composite rotatable design (CCRD). Under such conditions, it was possible to infer that YE and SF addition may significantly influence NPEO removal and CH_4 yield. The optimum values of YE (400 mg L^{-1}) and SF (200 mg L^{-1}) resulted in removal 97% (5 mgNPEO L^{-1}), being biodegradation (86%) the main removal mechanism. Organic matter removal was 92% (677 mgCOD L^{-1}) and CH_4 yield was $134 \pm 4 \text{ NmLCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{COD}_{\text{removed}}$. Under these conditions, *Macellibacteroides*, *Longilinea*, *Petrimonas* and *Proteiniphilum* from Bacteria Domain as well as *Methanosaeta* and *Methanoregula* from Archaea Domain were identified with the highest relative abundance.

Keywords: anaerobic co-digestion. emerging contaminants. increased-scale EGSB reactor. metabolic cosubstrate. real wastewater effluents.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1 – Representação simplificada da molécula de surfactante	35
Figura 2.2 – Classificação dos surfactantes quanto ao grupo hidrofílico	36
Figura 2.3 – Representação esquemática de surfactante dimérico	36
Figura 2.4 – Estrutura genérica de NF n EO	38
Figura 2.5 – Biotransformação de NFEO sob condições aeróbias e anaeróbias	39
Figura 4.1 – Delineamento experimental das etapas abordadas nesta pesquisa	58
Figura 4.2 – Diagrama esquemático do reator EGSB	63
Figura 4.3 – Curva analítica de quantificação de Nonilfenol Comercial (NFEO)	68
Figura 4.4 – Curva analítica de quantificação de Nonilfenol Padrão (4-NF)	69
Figura 5.1 – Curva de contorno para a remoção de NFEO em função da concentração fixa de nonilfenol etoxilado (NFEO)	77
Figura 5.2 – Curva de contorno para a remoção de NFEO em função de concentração fixa de extrato de levedura (ELV)	78
Figura 5.3 – Curva de contorno para a remoção de NFEO em função de concentração fixa de fumarato de sódio (FS)	79
Figura 5.4 – Balanço de massa final de NFEO para cada experimento	83
Figura 5.5 – Rendimento de CH ₄ para os ensaios do DCCR.	85
Figura 5.6 – Rendimento de metano para ensaios de validação	90
Figura 5.7 – Curva de rarefação para as amostras S4 (ELV= 400 mg L ⁻¹ ; NFEO= 5 mg L ⁻¹ ; FS= 200 mg L ⁻¹) e S5 (ELV= 200 mg L ⁻¹ ; NFEO+ 2,5 mg L ⁻¹ ; FS= 500 mg L ⁻¹)	91
Figura 5.8 – Diagrama de circo resumindo os gêneros do Domínio Bacteria e Archaea identificados com maior abundância relativa ($\geq 1,0\%$) em S4 e S5	93
Figura 5.9 – Possíveis vias metabólicas envolvidas nas condições otimizadas de remoção de NFEO, com foco na produção de CH ₄	98
Figura 5.10 – Variação temporal da matéria orgânica afluente, efluente e eficiência de remoção na fase I (sem NFEO), e fases II, III, IV e V (com NFEO)	104
Figura 5.11 – Carga orgânica volumétrica para as fases operacionais do EGSB	104
Figura 5.12 – Variação temporal de NFEO, afluente, efluente e eficiência de remoção	106
Figura 5.13 – Carga específica de NFEO ao longo das fases operacionais do EGSB	106
Figura 5.14 – Produção volumétrica de metano nas diferentes fases de operação do EGSB	109

Figura 5.15 – Distribuição granulométrica para as diferentes fases operacionais do EGSB112	
Figura 5.16 – Granulometria do lodo de inóculo e da manta de lodo durante as diferentes fases de operação do reator EGSB	112
Figura 5.17 – Curva de rarefação para todas as amostras coletadas durante as diferentes fases de operação do reator EGSB	115
Figura 5.18 – Gêneros com maior abundância relativa (>1,7%) nas diferentes fases de operação do reator EGSB	116
Figura 5.19 –Estrutura da população microbiana do Domínio Archaea ao nível de gênero. Táxons com abundância relativa < 0,01% foram agrupados na categoria outros. A abundância relativa foi calculada considerando apenas o Domínio Archaea.....	120
Figura 5.20 – Vias metabólicas mais prováveis no reator EGSB.....	124

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Classes de surfactantes	37
Tabela 2.2 – Valores LC_{50} (95% IC) em $\mu\text{g L}^{-1}$ de NFEO notificadas para organismos aquáticos	41
Tabela 2.3 – Concentrações de NFEO e NF em diferentes matrizes ambientais	43
Tabela 2.4 – Principais métodos empregados para a determinação de NFEO e NF	45
Tabela 2.5 – Principais processos biológicos de remoção de alquilfenóis etoxilados e seus metabólitos.....	48
Tabela 4.1 – Variáveis independentes adoptadas no delineamento composto central rotacional	60
Tabela 4.2 – Matrix experimental do DCCR para a degradação de NFEO em condição fermentativa-metanogênica (x_1 , x_2 e x_3 em mg L^{-1})	61
Tabela 4.3 – Fases experimentais da operação do reator EGSB	64
Tabela 4.4 – Composição do substrato sintético	65
Tabela 4.5 – Composição da solução de sais adicionada ao substrato sintético	65
Tabela 4.6 – Análises físico-químicas e cromatográficas de monitoramento dos reatores em batelada (RB) e EGSB	66
Tabela 4.7 – Condições cromatográficas para determinação de nonilfenol etoxilado	67
Tabela 5.1 – Variáveis independentes e remoção de NFEO dos ensaios DCCR	75
Tabela 5.2 – Remoção de matéria orgânica, pH e alcalinidade para todas os ensaios do DCCR	81
Tabela 5.3 – Coeficientes de regressão para a reposta Y (%)	82
Tabela 5.4 – ANOVA para o modelo de remoção de NFEO	82
Tabela 5.5 – Parâmetros de Gompertz para metano nos ensaios do DCCR.....	85
Tabela 5.6 – Validação do modelo de remoção de NFEO e rendimento de metano dos reatores em batelada	89
Tabela 5.7 – Parâmetros de operação dos reatores em batelada dos ensaios de validação	89
Tabela 5.8 – Índices ecológicos dos Domínios Bactéria e Archaea dos ensaios de validação em reatores em bateladas	91
Tabela 5.9 – Caracterização físico-química da água residuária de lavanderia comercial e esgoto doméstico	100
Tabela 5.10 – Parâmetros de operação do reator EGSB.....	103

Tabela 5.11 – Frequência das faixas granulométricas observadas no inóculo e na manta de lodo do reator EGSB durante as diferentes fases operacionais	111
Tabela 5.12 – Diversidade e riqueza da comunidade microbiana no lodo do EGSB para as diferentes fases de operação	115

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4-NF: 4-nonilfenol

Ace: acetona

ach1p: acetil-CoA hidrolase

ach1p: acetil-CoA hidrolase

ack: acetato quinase;

acs: acetil-CoA sintetase

acsch: CO-acetil-CoA sintase de metilação

acss2: acetato-CoA ligase

adh: álcool desidrogenase

AF: alquilfenol

AFEO: Alquilfenóis etoxilados

AI/AP: relação alcalinidade intermediária/alcalinidade parcial

aldh2: aldeído desidrogenase

AMPTFE: Armadilha multi-capilar de politetrafluoroetileno

ANOVA: análise de variância

AOV: ácidos orgânicos voláteis

AR: água residuária

ARLC: água residuária de lavanderia comercial

AS: água superficial

BAF: *biological aerated filters*

BFA: bisfenol A

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

C-biogás: composição biogás

CCL: *Contaminant Candidate List*

CE: carga específica;

CG/EM: cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa

CG/IE: cromatografia gasosa com ionização de elétrons

CG/IES: cromatografia gasosa com ionização por electrospray

CG/IQ: cromatografia gasosa com ionização química

CG: cromatografia gasosa

CLAE/UV: cromatografia líquida de alta eficiência com detector ultravioleta

CLAE-DF: cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência
CLAE-DF: cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência
CoA: Coenzima A
CoB: Coenzima B
co-dh: monóxido de carbono desidrogenase anaeróbico
COE: carga orgânica específica
CoM: Coenzima M
COV: carga orgânica volumétrica
CR: Coeficiente de regressão
CV: coeficiente de variação
DCC: design composto central
DCCR: design composto central rotacional
dmpfg: acetaldeído desidrogenase
DNA: ácido desoxirribonucleico
DQO: demanda química de oxigênio
DQOrem: demanda química de oxigênio removida
DSS: dioctil sulfosuccinato de sódio
e.g.: *exempli gratia*
E2: estradiol
EC₅₀: concentração efetiva ao 50%
ED: esgoto doméstico
EDCs: *Endocrine-disrupting chemicals*
EESC: Escola de Engenharia de São Carlos
EFL: extração em fase líquida
EFS: extração em fase sólida
EGSB: *expanded granular sludge bed*
ELV: extrato de levedura
EO: grupo etoxilado
EP: taxa de emissão de fótons específica
ERR γ : receptor gama relacionado ao estrogênio
ER- α : receptor de estrogênio
ETAR: estação de tratamento de águas residuárias
ETE: estações de tratamento de esgoto
EtOH: etanol

FAPESP: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FFH: fluido de fraturamento hidráulico

FRD: fumarato redutase

FS: fumarato de sódio

FV: fontes de variação

GL: graus de liberdade

H': índice de Shannon-Wiener

h4mpt: tetrahidrometanopterin S-metiltransferase

HAc: ácido acético;

hdra1b1c1: ferredoxina: heterodissulfeto redutase CoB-CoM

HFF: *Hydraulic Fracturing Fluid*

HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

i.e.: id est

IC: intervalo de confiança

KEGG: Enciclopédia de Genes e Genomas de Kyoto

LAE: *linear alcohol ethoxylate*

LAS: *linear alkylbenzene sulfonate*

LD: limite de detecção

LDH: L-lactato desidrogenase

LE: lodo de esgoto

LPB: Laboratório de Processos Biológicos

LQ: limite de quantificação

mcr: coenzima-B sulfoetiltransferase

MeOH: metanol

MSR: superfície de resposta (MSR)

n5: metaniltetrahidrometanopterin ciclo-hidrolase

na: não adicionado

NAD⁺: nicotinamide adenine dinucleotide

NADH: nicotinamide adenine dinucleotide reduced

nd: não detectado

NF: nonilfenol

NF1EC: ácido nonilfenoxiacético

NF1EO: nonilfenol mono- etoxilado

NF2EC: ácido nonilfenoxietoxiacético

NF2EO: nonilfenol di-etoxilado

NFEO: nonilfenol etoxilado

NFEO-DH: nonilfenol desidrogenase

OF: octilfenol

OFEO: octilfenol etoxilado

OSPAR: *Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic*

OTUs: unidades taxonômicas operacionais

p.h.: peso húmido

PBS: *phosphate buffered saline*

PCR: *polymerase chain reaction*

pdh: piruvato desidrogenase

peg-dh: polietilenoglicol desidrogenase

pf02663: formilmetanofurano desidrogenase

PPG-SHS: Programa de Pós-Graduação e Engenharia Hidráulica e Saneamento

PSP: partículas em suspensão

PS: persulfato

pta-1: fosfato acetiltransferase

PVC: policloreto de vinila

pyc: piruvato carboxilase

RA: receptor de andrógeno

RALE: reator anaeróbio de leito estruturado

RALF: reator anaeróbio de leito fluidizado

Ref.: referência

RLC: água residuária de lavanderia comercial.

RMN: Ressonância magnética nuclear;

RNA: ácido ribonucleico

RNr: RNA ribossômico

RT: receptor do hormônio tireoidiano

S: solo

S4: amostra de lodo extraída de ensaio 4

S5 amostra de lodo extraída do ensaio 5

SAO: *syntrophic acetate oxidation*

SP: São Paulo

SQ: soma de quadrados
SQA: sais quaternários de amônio
SR: sedimento de rio
SS: substrato sintético.
SSV: sólidos suspensos voláteis
ST: sólidos totais
STV: sólidos totais voláteis
T: temperatura operacional do reator
TCAC: taxa de crescimento anual composta
TDH: tempo de detenção hidráulica
UASB: *upflow anaerobic sludge blanket*
USP: Universidade de São Paulo
V: volume de lodo no reator EGSB
 V_{asc} : velocidade ascensional
V–biogás: volume biogás
VTG: vitelogenina
XOC: compostos orgânicos xenobióticos

LISTA DE SÍMBOLOS

% por cento

%R: percentagem de remoção

(-): não reportado

[C]: concentração

~: próximo que

<: menor que

=: igual que

>: maior que

±: mais ou menos

≈: aproximadamente igual

≥: maior o igual que

®: marca registrada

μ: média amostral

μg: microgramas

μL: microlitros

μmol: micromol

11-KT: testosterona

A/O: anaeróbio/aeróbio

a: coeficiente angular da curva analítica

atm: atmosferas

C9: olefina ramificada

CaCl₂.2H₂O: cloreto de cálcio diidratado

CaCO₃: carbonato de cálcio

CAS: *chemical abstracts service*

CH₄: metano

CO₂: gás carbônico

d: dia

DQOCH₄: carga de DQO removida no reator e convertida em metano

e: número de Euler (2,71828182)

f(T): fator de correção para a temperatura operacional do reator

F_{cal}: F calculado

g: gramas

h: horas

H⁺: Hídron

H₂: gás hidrogênio

H₂O: água

H₂S: gás sulfídrico

k: graus kelvin

KCl: cloreto de potássio

KDQO: DQO correspondente a um mol de CH₄

KH₂PO₄: fosfato de potássio monobásico anidro

L: Litro

LC50: contração letal ao 50%

logKow: coeficiente de partição octanol/água expressos na forma logarítmica

η_(af/ef): massa de NFEO acumulado no afluente/efluente do reator EGSB

m: metro

m²: metro quadrado

m³: metro cubico

η_{ads}: massa de NFEO adsorvida no lodo;

η_{ads}: massa de NFEO adsorvido no lodo

η_{af}: massa de NFEO afluente

η_{bdeg}: massa de NFEO removido por processos biológicos

η_{ef}: massa de NFEO efluente

mg: miligramas

MgCl₂.6H₂O: cloreto de magnésio hexahidrato

min: minuto

mL: mililitros

mm: milímetros

η_{rem}: massa de NFEO removido por processos biológicos e físicos

n: moles de óxido de etileno

N₂: gas nitrogênio

Na₂HPO₄: fosfato de sódio dibásico anidro

NaCl: cloreto de sódio

ng: nanogramas

nm: nanômetros

NmL: mililitro normalizada

Nº: número

O₂: gás oxigênio

°C: graus célsius

OH: grupo hidroxila

P: rendimento máximo de CH₄

P: pressão atmosférica

pH: potencial hidrogeniônico

Q: vazão afluyente/efluente aplicada no reator EGSB

QCH₄: produção volumétrica de metano

QM: quadrado médio

R: constante dos gases (0,08206 atm L mol⁻¹ k⁻¹)

R²: coeficiente de determinação

Rm: velocidade máxima de rendimento de CH₄

rpm: rotação por minuto

s: coeficiente linear da equação

t: tempo de operação do reator EGSB

™: trade mark

U: unidades

US\$: United States dollar

v/v: volume-volume

*x*₁: extrato de levedura

*x*₂: nonilfenol etoxilado

*x*₃: fumarato de sódio

Y(*t*): razão logarítmica entre a concentração de CH₄ (mL) no tempo *t* e sua concentração inicial

Y: variável resposta

B: sólidos totais do lodo do reator

λ: tempo para o início da produção de CH₄

μm: micrometros

σ: erro padrão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	31
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	35
2.1	Surfactantes.....	35
2.2	Nonilfenol etoxilado	38
2.3	Biotransformação de nonilfenol etoxilado.....	38
2.4	Impactos potenciais na saúde pública e na vida aquática	39
2.4.1	Poluentes emergentes.....	39
2.4.2	Disruptores endócrinos	40
2.4.3	Potencial de bioacumulação e biomagnificação trófica.....	40
2.4.4	Toxicidade	41
2.5	Nonilfenol etoxilado no ambiente.....	42
2.6	Legislação sobre nonilfenol etoxilado e seus produtos de degradação	44
2.7	Métodos de determinação de nonilfenol etoxilado	44
2.8	Processos de remoção de nonilfenol etoxilado e seus metabólitos.....	46
2.9	Reator anaeróbio de leito granular expandido	51
2.10	Mecanismos de biotransformação anaeróbia de NFEO.....	52
2.11	Planejamento de experimentos e análise de superfície resposta na remoção de NFEO em esgoto doméstico	53
3	HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	56
4	MATERIAL E MÉTODOS	58
4.1	Inóculo	59
4.2	Água residuária de lavanderia comercial.....	59
4.3	Esgoto doméstico.....	59
4.4	Nonilfenol etoxilado	59
4.5	Reatores em batelada	60
4.6	Reator EGSB.....	62

4.6.1	Inoculação.....	64
4.6.2	Composição do substrato sintético	65
4.7	Análises físico-químicas e cromatográficas	66
4.8	Balanço de massa.....	70
4.9	Granulometria	72
4.10	Análise de biologia molecular	72
4.10.1	Extração de DNA.....	72
4.10.2	Sequenciamento de alto rendimento	72
4.11	Análise estatística	73
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
5.1	Ensaio em reatores em batelada	74
5.1.1	Remoção de NFEO em função da adição de extrato de levedura e fumarato de sódio 74	
5.1.2	Balanço de massas	83
5.1.3	Rendimento de metano	84
5.1.4	Diversidade de microrganismos	90
5.2	Operação do reator de leito granular expandido	99
5.2.1	Caracterização da água residuária de lavanderia e esgoto doméstico	99
5.2.2	Remoção de matéria orgânica.....	101
5.2.3	Remoção de Nonilfenol etoxilado	105
5.2.4	Produção de metano e composição do biogás	108
5.2.5	Distribuição do tamanho do grânulo.....	111
5.2.6	Balanço de massa.....	113
5.2.7	Composição da comunidade microbiana nas diferentes fases operacionais do EGSB 114	
6	RESPOSTAS ÀS HIPÓTESES	126
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	130
8	CONCLUSÕES	133

9 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	136
10 REFERÊNCIAS.....	137

1 INTRODUÇÃO

Compostos químicos identificados como ameaças potenciais para o meio ambiente e diversidade biológica tornou-se uma questão mundial de crescente preocupação ambiental. Isto principalmente porque são contaminantes que carecem de regulamentação nas leis nacionais e internacionais. Apenas para dar um exemplo de particular importância, surfactantes formam parte da crescente lista de poluentes emergentes, conforme descrito em CALVO-FLORES et al. (2018).

Surfactantes (aniônicos, não-iônicos, catiônicos e anfotéricos) são substâncias químicas produzidas em grande escala e utilizados diariamente em múltiplas atividades industriais e domésticas, tais como indústria de detergentes, cosméticos, metalurgia, papel e indústria do couro. Após a sua utilização, a maioria desses compostos e seus subprodutos de degradação são lançados diretamente nos corpos de água, solo, sedimento e em estações de tratamento de esgoto (ETE) (IVANKOVIĆ e HRENOVIĆ, 2010). Uma vez presentes nestas diferentes matrizes, os surfactantes podem sofrer ação por processos físico-químicos (principalmente biodegradação e sorção) ou migrar livremente no ambiente. Além disso, estes compostos podem se acumular em organismos vivos (bioacumulação), e causar efeitos indesejáveis sobre os elementos bióticos dos ecossistemas (por exemplo, toxicidade, perturbação do equilíbrio endócrino), assim como podem causar o aumento da solubilidade de poluentes orgânicos em fase aquosa, sua migração e acúmulo em diferentes compartimentos ambientais (OLKOWSKA et al., 2014).

Surfactantes não-iônicos, tem a maior participação no mercado de produtos de limpeza para aplicações domésticas. Dentre estes, nonilfenol etoxilado (NFEO) é o mais utilizado, representando aproximadamente 90% da produção total de Alquilfenóis etoxilados (AFEOS) (INDUSTRYARC, 2020). De acordo com a RESEARCH (2020), o mercado global de surfactantes foi avaliado em US\$ 41,3 bilhões em 2019 e está projetado para atingir US\$ 58,5 bilhões em 2027, isto é uma taxa de crescimento anual composta de 5,3% de 2020 a 2027. Os surfactantes não-iônicos estão entre aqueles mais usados em termos de mercado global. Em termos de volume estima-se que anualmente são produzidas 700.000 toneladas de NFEO em todo o mundo (LI et al., 2018), resultando no acúmulo desse surfactante no esgoto doméstico em até 2,7 mgNFEO L⁻¹ (VARGAS-BERRONES et al., 2020). Em águas residuárias da indústria têxtil e lavanderias comerciais, NFEO foi encontrado em

concentrações na faixa de 0,9 - 5,7 mg L⁻¹ e 1,6 - 108,9 mg L⁻¹, respectivamente (NUNES et al., 2020).

Os produtos da degradação de NFEO (nonilfenol com até tres unidades etoxiladas–NF1,3EO e NF) são persistentes no ambiente aquático, bioacumulativos e altamente tóxicos para organismos aquáticos (EPA, 2010). Por exemplo, para os organismos *Ceriodaphnia dubia* e *Pimephales promelas* foi observado concentração letal média (LC50) na faixa de 218-328 µgNFEO L⁻¹ (TENEYCK e MARKEE, 2007). Além disso, podem perturbar os sistemas endócrinos de muitos organismos; ou seja, interferem com a síntese, secreção, transporte, união e metabolismo dos hormônios naturais; eventualmente desregulando os mecanismos homeostáticos, reprodução e desenvolvimento dos organismos (ANNAMALAI e NAMASIVAYAM, 2015). Os seres humanos são expostos aos NFEO e seus produtos de degradação, principalmente, através da água potável e da ingestão de alimentos contaminados. Outras vias de exposição humana incluem o contato com detergentes e produtos de uso pessoal que contem NFEO na formulação (*e.g.* cosméticos, perfumes).

Desde 2007, no Laboratório de Processos Biológicos – LPB (USP-São Carlos) iniciou-se série de estudos visando à remoção de surfactantes aniônicos como *linear alkylbenzene sulfonate* (LAS) e não-iônicos como álcool linear etoxilado (LAE) e 4-nonilfenol (4-NF) em reatores anaeróbios. Ao longo desses anos de pesquisa, muito se avançou a respeito da remoção de LAS em água residuária de lavanderia em condição fermentativa-metanogênica e facultativa.

OLIVEIRA et al. (2010); BRAGA et al. (2015a); DELFORNO et al. (2015); MACEDO et al. (2015); MACEDO et al. (2017) verificaram adequada (>70%) remoção de LAS em reatores biológicos, bem como redução da carga poluidora dos efluentes de lavanderias comerciais. Dentre os reatores estudados, observou-se maior eficiência de remoção de LAS Padrão (>95%) em reator de leito fluidificado com areia como material suporte (OLIVEIRA et al., 2010). Todavia, o custo de bombeamento para fluidificação de um leito de areia torna essa configuração reacional menos atraente para aplicação em escala real. Desse modo, outra possibilidade é o reator de leito anaeróbio de leito granular expandido (EGSB – *expanded granular sludge bed*), no qual se utiliza lodo granulado, cuja expansão exige menor vazão de bombeamento quando comparado com o leito de areia.

As características do EGSB são similares às do reator de leito fluidificado; ou seja, regime de mistura completa, alta relação comprimento-diâmetro e recirculação efluente, adequada para diluir águas residuárias (SEGHEZZO et al., 1998). A partir dessas considerações, iniciaram-se estudos em reator EGSB visando à remoção de LAS em

codigestão com água residuária de lavanderia comercial e esgoto doméstico, obtendo-se resultados satisfatórios. FARIA et al. (2017) operou reator EGSB em escala de bancada e obtiveram remoção de até 74% para 10 mgLAS L⁻¹ afluente. Recentemente, MOURA et al. (2019) reportaram remoção acima de 71% para 5 mgLAS L⁻¹ em EGSB em escala aumentada com água residuária de lavanderia comercial.

Outra estratégia que tem sido explorada para a obtenção de maior eficiência de remoção de surfactantes nos sistemas biológicos é a adição de cossustratos metabólicos e suplementação de vitaminas de forma a favorecer a atividade das populações microbianas envolvidas no processo. Na digestão anaeróbia, os consórcios microbianos realizam atividades metabólicas complexas de degradação da maioria dos compostos aromáticos. Nessas condições, pode ocorrer a metabolização pela via do benzoilCoA (PHILIPP e SCHINK, 2012). Além disso, fumarato de sódio (FS) pode ser usado como cossustrato metabólico e favorecer energeticamente esse processo (GRANATTO et al., 2020). O extrato de levedura (ELV) também pode ser usado como fonte de nitrogênio e vitaminas, estimulando o crescimento e também a atividade metabólica de muitas populações microbianas. Esses substratos (ELV e FS) favorecem a degradação de surfactantes como, LAS e LAE (OKADA et al., 2013; MOTTERAN et al., 2014a; MACEDO et al., 2015; BRAGA et al., 2015a).

Entretanto, ERIKSSON et al. (2002) verificaram que os principais constituintes das águas residuárias cinzas são os surfactantes incorporados em detergentes para lavagem de roupas, lava-louça, e em produtos de higiene pessoal. BRAGA e VARESCHE (2014) por sua vez, confirmaram a presença de surfactantes não-iônicos em águas residuárias de lavanderia, tais como NFEO.

Os estudos no Brasil sobre a ocorrência de NFEO nas diferentes matrizes ambientais ainda é limitado, porém, 4-NF foi detectado em vários corpos de água superficial no estado de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo, em até 2,32 µg L⁻¹ (ARAUJO et al., 2018; STARLING et al., 2018). Entretanto, FIEDLER et al. (2007) observaram alquilfenol (AF) em até 10,4 µg kg⁻¹ em sedimento na mata atlântica (região de Caucaia, sudoeste de São Paulo). Acrescenta-se ainda a esta problemática, o fato de que as atuais ETE não estão preparadas para remover substâncias, tais como NFEO (LUO et al., 2014; PETRIE et al., 2015).

Nesta pesquisa, avaliou-se a remoção e degradação de NFEO em codigestão com água residuária de lavanderia comercial e esgoto doméstico em reator EGSB, considerando urgente a necessidade de estudos que visem à degradação deste surfactante, bem como

possibilitem a redução da toxicidade de amostras ambientais contaminadas. Para tanto, foi necessário desenvolver um método analítico para sua determinação em matrizes reais (esgoto doméstico e água residuária de lavanderia), para posteriormente monitorar sua remoção em EGSB escala aumentada.

A operação do reator foi dividida em cinco fases procurando-se primeiramente a adaptação dos microrganismos ao substrato sintético (nutrientes, pH, temperatura) e as condições hidráulicas impostas no reator (*e.g.* vazão, velocidade ascensional – V_{asc} , tempo de detenção hidráulica – TDH) e posteriormente a adaptação ao surfactante. Preliminarmente utilizou-se NFEO comercial nas fases II e III, seguidamente, foi aplicada água residuária de lavanderia comercial diluída no substrato de alimentação – fase IV e na fase final, aplicou-se água de lavanderia comercial em codigestão com esgoto doméstico. Além disso, avaliou-se também a influência do extrato de levedura como fonte de vitamina B, peptonas, aminoácidos hidrolisados e fumarato de sódio como cossustrato metabólico na degradação de NFEO em esgoto doméstico, sob condições fermentativa-metanogênica, por meio das metodologias de Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) e superfície de resposta (MSR) em reatores em batelada.

A partir da caracterização taxonômica dos microrganismos presentes nas diferentes fases operacionais do reator EGSB escala aumentada e dos reatores em bateladas, pretendeu-se ampliar os conhecimentos sobre as populações microbianas que metabolizam NFEO, principalmente em matrizes complexas, tais como esgoto doméstico e água residuária de lavanderia.

Desta forma contribui-se – de forma inédita – com as possibilidades de remoção e degradação anaeróbia de NFEO em codigestão com água residuária de lavanderia comercial (ARLC) e esgoto doméstico em EGSB, incluindo o efeito da suplementação com fonte externa de vitaminas e cossustrato metabólico na degradação e no potencial metanogênico deste surfactante em reatores em batelada. Além disso, por meio das técnicas de biologia molecular, foram identificados microorganismos potencialmente associados à degradação de NFEO e as possíveis rotas metabólicas de degradação nessas condições nutricionais específicas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

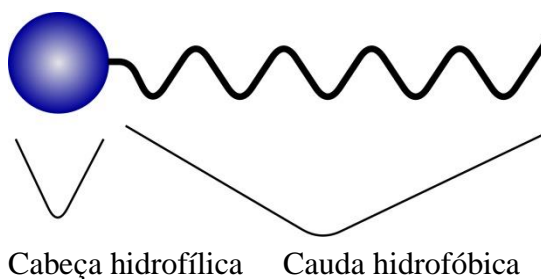
2.1 Surfactantes

A presença cada vez maior de compostos xenobióticos nas diversas matrizes ambientais tem suscitado grande preocupação nos organismos dedicados à proteção da saúde humana e ao meio ambiente, bem como, na população de modo geral. Dentre eles pode-se citar os surfactantes que são produzidos em grande escala devido a seu uso generalizado.

A principal aplicação dos surfactantes é na produção industrial de detergentes para uso doméstico. Ademais, são amplamente utilizados na produção de cosméticos e produtos para cuidados pessoais, na indústria têxtil, processamento do couro, produção de tintas, lacas e pinturas, fabricação de papel, mineração, metalurgia, produção de agroquímicos, indústria alimentícia, indústria química, produção de petróleo e indústria farmacêutica. Além disso, os surfactantes são utilizados em pesquisas médicas e bioquímicas, na fabricação de microcircuitos eletrônicos, e novas tecnologias de impressão, bem como na indústria de fabricação de mídia magnética e ótica (MYERS, 2005).

Os surfactantes também chamados de tensoativos são compostos orgânicos anfipáticos, ou seja, é uma substância que contém um grupo apolar e um grupo polar na mesma molécula. Quando encontrados em solução aquosa usam-se os termos hidrofóbico e hidrofílico (Figura 2.1).

Figura 2.1– Representação simplificada da molécula de surfactante

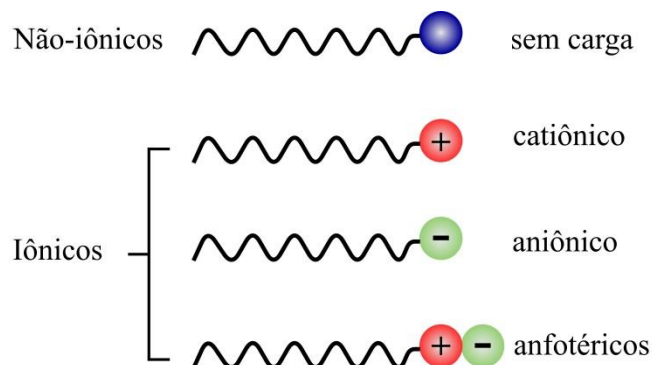


Fonte: SEKHON (2014)

Devido a essas forças opostas dentro da mesma molécula surgem os fenômenos de adsorção e agregação que modificam as propriedades da solução, tanto dentro da solução quanto nas interfaces (FARN, 2008). Dependendo da natureza do grupo hidrofílico garantindo a afinidade da molécula com a água, os surfactantes podem ser: aniônicos (carga

negativa), não-iônicos (sem carga), catiônicos (carga positiva) e anfotéricos (carga positiva e negativa), conforme apresentado na Figura 2.2.

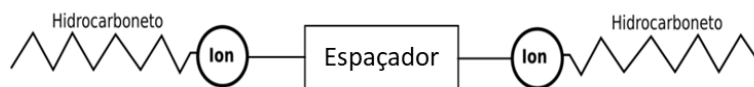
Figura 2.2 – Classificação dos surfactantes quanto ao grupo hidrofílico



Fonte: DAVE e JOSHI (2017)

O grupo hidrofílico dos surfactantes sintéticos é geralmente um grupo sulfato, sulfonato ou carboxilato (para surfactantes aniônicos), polioxietileno, carboidratos ou polipeptídeo (para surfactantes não-iônicos). Entretanto, as partes hidrofóbicas mais comuns são parafinas, olefinas, alquilbenzenos, alquilfenóis e álcoois (PARIA, 2008). Na Tabela 2.1 são apresentados alguns exemplos de surfactantes. Os surfactantes aniônicos são os mais utilizados devido à sua relação custo-benefício. Têm sido aplicados não apenas na produção de detergentes, mas também em muitas áreas de tecnologia e pesquisa (OLKOWSKA et al., 2011). Os surfactantes catiônicos são compostos de amônio quaternário e aplicam-se principalmente como dispersantes para pigmentos inorgânicos, agentes antiestáticos para plásticos, em condicionadores de cabelo e como agentes antiaderentes para fertilizantes. Os surfactantes também podem conter dímeros (Figura 2.3), isto é, podem possuir dois grupos hidrofílicos (principalmente iônicos) e duas caudas correspondentes (não necessariamente idênticas), ligadas por um grupo espaçador (MURZIN, 2018).

Figura 2.3 – Representação esquemática de surfactante dimérico



Fonte: QIAO et al. (2017)

Tabela 2.1 – Classes de surfactantes

Classe	Exemplos
Aniônicos	Sabonetes Sulfonatos de alquilbenzeno (principalmente LAS) Sulfatos de alquila Sulfatos de éter alquílico Alcanos sulfonatos secundários
Não-iônicos	Alquilfenol etoxilados Álcool etoxilados Alcanol amidas de ácidos graxos Óxidos de alquilamina N-Metilglucamidas Alquil poliglicosídeos
Catiônicos	Compostos quaternários mono- ou di-alquílicos Compostos quaternários mono- ou di-alquílicos esterificados Derivados de imidazolina
Anfotéricos	Alquil betaína Alquil amido propil betaína Betainas derivadas de imidazolinas Alquil amido acetatos

LAS: *linear alkylbenzene sulfonate*

Fonte: MERRETTIG-BRUNS e JELEN (2009)

Os surfactantes não-iônicos não ionizam em solução aquosa, devido ao seu grupo hidrofílico não dissociável, tais como álcool, fenol, éter, éster ou amida (DAVE e JOSHI, 2017). Por não possuírem carga, os surfactantes não-iônicos são excelentes removedores de gorduras, motivo pelo qual, utilizam-se na fabricação de detergentes para ampla variedade de usos (principalmente domésticos).

Alquilfenóis etoxilados é o principal grupo dentre os surfactantes não-iônicos, os quais são considerados disruptores endócrinos (EDCs – *Endocrine-disrupting chemicals*), uma vez que interferem ou interrompem a função normal do sistema endócrino de um organismo. Segundo MONNERET (2017) a exposição à EDCs pode ter efeitos adversos ao longo da vida e acarretar consequências para as próximas gerações.

AFEOS não são produzidos naturalmente, sua presença no ambiente é apenas consequência da atividade antropogênica, atingem as diferentes matrizes ambientais (solo, água, ar) principalmente através da descarga de efluentes industriais e municipais, além do lodo, e à descarga direta no solo através da aplicação de pesticidas (YING et al., 2002).

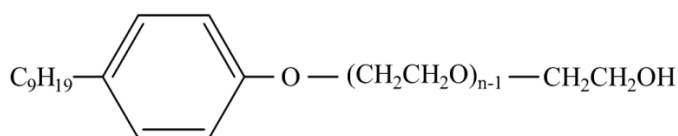
Dentre os AFEO, são de particular importância o NFEO e octilfenol etoxilados (OFEO), sendo que representam aproximadamente 90% e 10% da produção total, respectivamente (WHITACRE, 2010; JAMBOR et al., 2016; CHOKWE et al., 2017; INDUSTRYARC, 2020). Desse modo, considera-se de vital importância propor tecnologias para a remoção de surfactantes não-iônicos de águas residuárias, com a finalidade de reduzir os teores destes contaminantes no meio ambiente.

2.2 Nonilfenol etoxilado

NFEO é fabricado pela condensação de óxido de etileno com NF, usando catalizador básico. NF por sua vez, é produzido via processo de alquilação do fenol com noneno usando catalise ácida e constituída do isômero *para*-posicional. Noneno é uma olefina C₉ ramificada feita por trimerização de propileno e composta por mais de 22 isômeros (NAYLOR, 1995; BENNIE et al., 1997; SOARES et al., 2008).

Na Figura 2.4 ilustra-se a estrutura genérica de NFEO. Comumente o número médio de moles de óxido de etileno (n) por mole de NF varia de 1 a 50, o qual determina muitas das propriedades dos surfactantes (DOW, 2020). NFEO com até cinco unidades de EO são utilizados como limpadores solúveis em óleo, entretanto NFEO com até nove unidades de EO servem como base para detergentes de alta eficiência (BERGÉ et al., 2012).

Figura 2.4 – Estrutura genérica de NF n EO



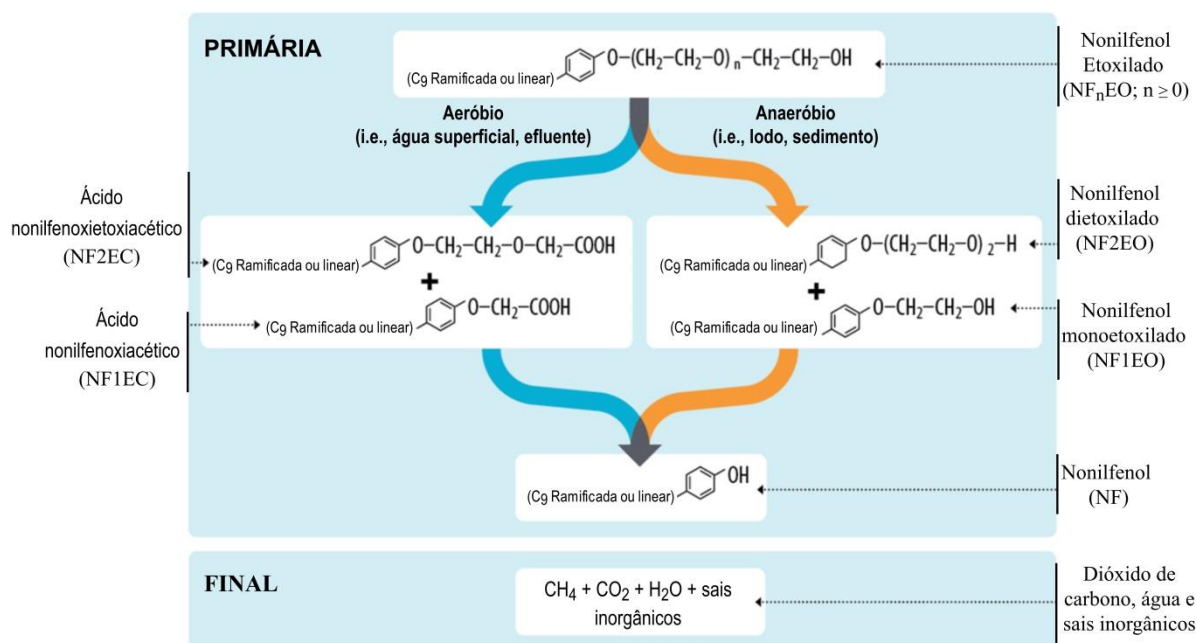
Fonte: ZHANG, J. et al. (2008)

2.3 Biotransformação de nonilfenol etoxilado

A degradação do NFEO ocorre por meio da remoção dos grupos etoxilados, resultando em compostos que são mais tóxicos, como por exemplo, estrogênios e mais persistentes no ambiente, em relação aos compostos originais, a saber: NF, nonilfenol mono- e di-etoxilado (NF1EO, NF2EO), ácido nonilfenoxiacético (NF1EC) e ácido nonilfenoxietoxiacético (NF2EC) (CHUANG, 2015).

Conforme o número de unidades etoxiladas diminui, a biodegradação de NFEO difere sob condições aeróbias e anaeróbias (Figura 2.5).

Figura 2.5 – Biotransformação de NFEO sob condições aeróbias e anaeróbias



Fonte: Adaptado de DTSC (2018)

Sob condição aeróbia, a cadeia etoxilada é encurtada até formar NF₂EO, NF₁EO que logo são convertidos a nonilfenol etoxicarboxilados (NF₁EC, NF₂EC) e finalmente NF. Entretanto, sob condição anaeróbia, NF₂EO, NF₁EO são diretamente transformados em NF, enquanto, os grupos etoxicarboxilados não são observados (YING, 2006; SARMAH e HALLING-SØRENSEN, 2007; ÖMEROĞLU e SANIN, 2014). Em condição fermentativa-metanogênica, a completa mineralização resulta na formação de CH₄, CO₂, H₂O e sais inorgânicos.

2.4 Impactos potenciais na saúde pública e na vida aquática

2.4.1 Poluentes emergentes

Sendo os principais constituintes da formulação de detergentes e produtos de limpeza de modo geral, não é surpresa que NFEO atinjam as diversas matrizes ambientais.

Recentemente têm sido observados em concentrações na ordem de mg L^{-1} , o que causa preocupação desde o ponto de vista ambiental. Isto porque, podem ter efeito nocivo imediato ou de longo prazo sobre o meio ambiente e sua diversidade biológica. Atualmente, desconhece-se a magnitude do risco que surfactantes não-iônicos, tais como NFEO representam ao meio ambiente, portanto, não têm status regulatório no âmbito nacional e internacional. Todavia na Europa, Canada e Estados Unidos, a produção, comercialização e utilização de NFEO e NF estão sujeitos a algumas restrições, no entanto o problema continua sendo preocupante.

2.4.2 Disruptores endócrinos

NFEO e seus produtos de degradação podem mimetizar estrogênios naturais e perturbar os sistemas endócrinos de muitos organismos, inclusive em seres humanos. EDCs interferem no desenvolvimento do corpo de modo geral, inclusive no crescimento, reprodução, metabolismo e imunidade com efeitos na saúde que podem permanecer por muito tempo após a exposição ter cessado (MONNERET, 2017).

Ji, X. et al. (2019) observaram atividade antagonista significativa do NFEO nos receptores de estrogênio ($\text{ER-}\alpha$), de andrógeno (RA), do hormônio tireoidiano (RT) e no receptor gama relacionado ao estrogênio ($\text{ERR}\gamma$) na faixa de $0,78 - 25 \text{ mg L}^{-1}$. A presença de NF também influenciou no processo reprodutivo e de desenvolvimento em roedores (EPA, 2010). Em outro estudo realizado com peixes marinhos, *Pagrus major* e *Sebastes schlegelii* após exposição ao NF observou-se aumento de vitelogenina (VTG) e redução de estradiol (E_2) e testosterona (11-KT), em ambas as espécies (SARAVANAN et al., 2019).

2.4.3 Potencial de bioacumulação e biomagnificação trófica

NFEO são compostos fortemente hidrofóbicos, com coeficiente de partição octanol/água ($\log K_{ow}$) maior que 4 (BRIX et al., 2001; GAO et al., 2014), portanto tem alto potencial de bioacumulação e biomagnificação na cadeia alimentar. A detecção destes compostos em organismos de água doce, bem como em aves foi reportada em inúmeras pesquisas (AHEL et al., 1993; LOZANO et al., 2012; KORSMAN et al., 2015). Apenas para exemplificar, em estudo realizado por YANG et al. (2014), observaram 4-NF na faixa de $53 - 282 \text{ ng g}^{-1}$ em algas de água doce. LOZANO et al. (2012), por sua vez, observaram NFEO nos tecidos do peixe *Micropterus salmoides* (também conhecido como achigã ou

black-bass) em maiores concentrações, na faixa de 0,53 - 8,28 $\mu\text{g g}^{-1}$. Assim mesmo, CHEN et al. (2014) observaram resíduos de NFEO (até 0,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ p.h.) e NF (até 12 $\mu\text{g g}^{-1}$ p.h.) nos tecidos da tilápia selvagem *Oreochromis niloticu*.

2.4.4 Toxicidade

Dependendo da concentração, NFEO pode ser tóxico para ampla variedade de organismos. Há um grande e crescente banco de dados sobre a toxicidade aguda e crônica de NF e NFEO para organismos aquáticos, tais como algas, plantas, invertebrados bentônicos e peixes como mostrado na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 – Valores LC_{50} (95% IC) em $\mu\text{g L}^{-1}$ de NFEO notificadas para organismos aquáticos

Composto	Organismo	Duração teste (h)	* LC_{50}	Referência
NF	<i>Tapes philippinarumos</i>	96	1120	HALL et al. (1989)
NF2EO	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	48	1040	ANKLEY et al. (1990)
NF8EO	<i>Litoria adelaidensis</i>	140	9200	MANN e BIDWELL (2000)
NF8EO	<i>Crinia insignifera</i>	134	6400	MANN e BIDWELL (2000)
NF8EO	<i>Xenopus laevis</i>	96	3900	MANN e BIDWELL (2000)
NF	<i>Oryzias latipes</i>	72	850	KASHIWADA et al. (2002)
NF	<i>Chironoms riparius</i>	24	700	LEE e CHOI (2006)
NF	<i>Lumbriculus variegatus</i>	48	6	MÄENPÄÄ e KUKKONEN (2006)
NF	<i>Chironoms riparius</i> (larva)	48	4	MÄENPÄÄ e KUKKONEN (2006)
NFEO	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	48	328	TENEYCK e MARKEE (2007)
NFEO	<i>Pimephales promelas</i>	96	218	TENEYCK e MARKEE (2007)
4-NF	<i>Physella virgata</i>	96	774	SPEHAR et al. (2010)
4-NF	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	96	221	SPEHAR et al. (2010)
4-NF	<i>Lepomis macrochirus</i>	96	209	SPEHAR et al. (2010)
4-NF	<i>Pimephales promelas</i>	96	128	SPEHAR et al. (2010)
4-NF	<i>Hyalella azteca</i>	96	21	SPEHAR et al. (2010)
NF	<i>Rhinella arenarum</i> (larva)	96	370	MARIEL et al. (2014)
NF	<i>Rhinella arenarum</i> (adulto)	96	1060	MARIEL et al. (2014)
4-NF	<i>Heteropneustes fossilis</i>	96	1600	GAUTAM et al. (2015)

* LC_{50} : contração letal em 50%; IC: intervalo de confiança; NF: nonilfenol; NFEO: nonilfenol etoxilado.

Fonte: Autoria própria.

Dentre os efeitos observados no crescimento de peixes, algas e plantas aquáticas após exposição ao NFEO e NF incluem-se, reduções no comprimento e no peso, alterações no

peso dos órgãos, alterações na biomassa de algas ou contagem de células e alterações na produção de frondes. A partir dos estudos realizados, observa-se que a toxicidade de NFEO tende a diminuir com o aumento do grau de etoxilação na molécula do surfactante, desse modo, o NF é o metabólito de maior toxicidade (CAI et al., 2012; ZHANG et al., 2016).

Por exemplo, os efeitos de NF18EO e NF9EO no crescimento de alguns organismos aquáticos foram observados apenas em concentrações maiores a 1 mg L^{-1} (STAPLES et al., 2004). Em estudo realizado pela EPA (2010), a toxicidade aguda para *Fundulus cingulatus* (killifish) resultou em $1,4 \text{ mg L}^{-1}$, 3 mg L^{-1} , $5,4 \text{ mg L}^{-1}$, 12 mg L^{-1} e 110 mg L^{-1} para NF, NF1EO, NF6-4EO, NF9EO e NF16-6EO, respectivamente. Além disso, a toxicidade de NF4-10EO e NF foi constatada no crescimento de plântulas de *Triticum aestivum L.*, o trigo de maior consumo no mundo, sendo observada concentração efetiva ao 50% (EC_{50}) de $1,7 \text{ mgNF L}^{-1}$ (ZHANG et al., 2016).

Por fim, os seres humanos são expostos aos NFEO e seus produtos de degradação, principalmente, através da água potável e da ingestão de alimentos contaminados. Outras vias de exposição humana incluem o contato com produtos e detergentes de higiene pessoal, bem como o uso de espermicidas em contraceptivos (TALMAGE, 1994; BERRYMAN et al., 2004). Na China, concentrações elevadas de NF foram observadas em vários rios, na água da torneira e em organismos aquáticos (XU et al., 2006). Em Cape Cod, Massachusetts (EUA), bisfenol A (BFA), NF3EO, NFEC e OF3EO foram observados em poços de água potável em concentrações variadas ($< 32,9 \mu\text{g L}^{-1}$), sugerindo que os tanques sépticos podem ser fonte significativa de contaminação com NFEO para as águas subterrâneas (CONN et al., 2006; SWARTZ et al., 2006).

Ademais o uso de NFEO na formulação de pesticidas pode contaminar plantas de cultivo por absorção e conseqüentemente afetar a segurança alimentar. De fato, NF e NFEO foram observados em amostras de solo e vegetais coletadas em 27 hortícolas localizadas na região do delta do Rio das Pérolas, no sul da China (CAI et al., 2012). OF, OFEO e NF também foram observados em leite materno em $0,12 \text{ ng mL}^{-1}$, $0,16 \text{ ng mL}^{-1}$ e 32 ng mL^{-1} , respectivamente (ADEMOLLO et al., 2008). Além disso, OF e NF foram observados em urina humana em $4,09 \text{ ng mL}^{-1}$ e $3,84 \text{ ng mL}^{-1}$, respectivamente (ZHOU et al., 2013).

2.5 Nonilfenol etoxilado no ambiente

A presença de NFEO no ambiente é apenas produto da atividade humana e pode ocorrer durante as diferentes fases do ciclo de vida do produto, desde a produção primária de

NFEO até a fabricação de produtos contendo NFEO na formulação, utilização desses produtos e sua eliminação em água residuária, fossas sépticas, aterros sanitários ou simplesmente no ambiente (YING et al., 2002).

Dessa forma, concentrações significativas de NFEO e NF têm sido observadas em diferentes matrizes ambientais, tais como solo, água e ar (Tabela 2.3). Somado a isso, devido à sua hidrofobicidade, tais compostos têm grande tendência em adsorver em partículas sólidas. NF e NFEO de cadeia curta na faixa de 50 a 200 mg g⁻¹ têm sido observados em sedimento de rios, lodo de esgoto e organismos aquáticos (THIELE et al., 1997; PLANAS et al., 2002). GONZÁLEZ et al. (2010) analisaram amostras de lodo provenientes de diferentes ETAR e encontraram NFEO na faixa de 44 - 962 mg kg⁻¹ de massa seca (ms), 8 - 669 mg kg⁻¹ ms, 27 - 319 mg kg⁻¹ ms e 61 - 282 mg kg⁻¹ ms em lodo de compostagem, lodo anaeróbio ou aerobiamente digerido e lodo de lagoas anaeróbias, respectivamente.

Tabela 2.3 – Concentrações de NFEO e NF em diferentes matrizes ambientais

Composto	Matriz	C*	Localização	Referência
NF1,10EO	AR	430	Suíça	AHEL et al. (2000)
NF1,10EO	AR	1850	Barcelona, Espanha	PETROVIĆ et al. (2001)
NF1EO	SR	7,3	Nova Iorque, US	FERGUSON et al. (2001)
NF6,15EO	AR	21,5	Dinamarca	COHEN et al. (2001)
NF2EO	S	2,2	Dinamarca	VIKELSØE et al. (2002)
NF1EO	SR	0,7	Catalunha, Espanha	GONZÁLEZ et al. (2004)
NF2EO	SR	0,4	Catalunha, Espanha	GONZÁLEZ et al. (2004)
NF	S	4,4	Reino Unido	GIBSON et al. (2005)
NF1EO	PSP	11,1	Grécia	GATIDOU et al. (2007)
NF2EO	PSP	11,1	Grécia	GATIDOU et al. (2007)
NF2EO	AS	0,224	França	CAILLEAUD et al. (2007)
NF1EO	AS	0,149	França	CAILLEAUD et al. (2007)
NF	AS	179,6	China	XUE et al. (2008)
NF	LE	829,3	Andaluzia, Espanha	GONZÁLEZ et al. (2010)
NF1EO	LE	524,8	Andaluzia, Espanha	GONZÁLEZ et al. (2010)
NF2EO	LE	343,7	Andaluzia, Espanha	GONZÁLEZ et al. (2010)
NF	AS	3,94	Taiwan	LEE et al. (2013)
NF	SR	47,8	Taiwan	LEE et al. (2013)
NF	LE	4,1	China	GAO et al. (2014)
NF1EO	LE	4,1	China	GAO et al. (2014)
NF2EO	LE	4,1	China	GAO et al. (2014)
NF	AS	16,29	Varanasi, Índia	GAUTAM et al. (2015)

*Concentração; águas superficiais (AS) e águas residuárias (AR) em µg L⁻¹; lodo de esgoto (LE), solo (S), sedimento de rio (SR) e partículas em suspensão (PSP) em µg g⁻¹; NF: nonilfenol; NFEO: nonilfenol ethoxilado.

Fonte: Autoria própria.

No Brasil os estudos sobre a ocorrência de NFEO no ambiente ainda é muito limitado, porém em alguns deles realizados em corpos de água superficiais foram observados 4-NF. MOREIRA et al. (2009) e MOREIRA et al. (2011) monitoraram três fontes de água superficial (Vargem das Flores, Morro Redondo e Rio das Velhas) da região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais, e $\sim 2 \mu\text{g L}^{-1}$ de 4-NF foi observado em todas as amostras. Entretanto, ARAUJO et al. (2018) reportaram a presença de 4-NF ($1.73 - 2.32 \mu\text{g L}^{-1}$) no Rio Guandu e Ribeirão das Lajes, no estado de Rio de Janeiro. Que é principal bacia hidrográfica do estado do Rio de Janeiro, a partir da qual a água é coletada e distribuída para a maioria das cidades nessa região.

2.6 Legislação sobre nonilfenol etoxilado e seus produtos de degradação

Em relação à Legislação Internacional, o Canadá possui a legislação mais conservadora, cujas concentrações máximas permitidas de NFEO e NF são de $0,7 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1 \mu\text{g L}^{-1}$ em água salgada e água doce, respectivamente (CANADA, 2002). Nos EUA, as concentrações máximas de NF permitidas são de $1,7 \mu\text{g L}^{-1}$ e $6,6 \mu\text{g L}^{-1}$ em água salgada e água doce, respectivamente (EPA, 2005). Além disso, a Agência de Proteção Ambiental incluiu NF na Lista de Candidatos a Contaminantes (CCL) de água potável (CCL4) (EPA, 2016).

Na Europa, a produção, comercialização e utilização de NFEO e NF foram restringidas (limites máximos de concentração permitidos em águas superficiais de até $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$) pela Comunidade Europeia (DIRECTIVE 2008/105/EC, 2008) e pela Convenção OSPAR, que é a comissão formada para a proteção da zona nordeste do Oceano Atlântico (PARCOM, 2000).

A atual Legislação Brasileira sobre a qualidade de água para consumo humano não contempla o NFEO nem mesmo AFEO (BRASIL, 2011). Na Resolução número 430, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (BRASIL, 2017), apenas é exigida a determinação de fenóis totais para a avaliação da qualidade de águas superficiais.

2.7 Métodos de determinação de nonilfenol etoxilado

A cromatografia em suas diferentes formas (gasosa, líquida, e com fluido supercrítico) representa o mais relevante conjunto de técnicas analíticas disponíveis atualmente para análise de substâncias químicas nos mais diferentes ambientes (LANÇAS,

2004). Assim, diversos métodos cromatográficos têm sido desenvolvidos para monitorar AFEO e seus produtos de degradação em diferentes matrizes ambientais. Tais métodos incluem cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM) com ionização de elétrons (IE), ionização química (IQ) ou Ionização por Electrospray (IES), bem como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e detector de fluorescência (DF). Assim, na Tabela 2.4 são apresentados os principais métodos empregados para a determinação de NFEO e seus metabolitos.

A cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência é a mais recomendável para identificação e quantificação de surfactantes não-iônicos, como o AFEO e seus produtos de degradação em matrizes ambientais, tais como águas superficiais, urbanas e esgoto doméstico. No entanto, para obter resultados aceitáveis é necessário definir as melhores condições (temperatura da coluna, tipo de detecção, técnicas de extração dos analitos etc.).

Tabela 2.4 – Principais métodos empregados para a determinação de NFEO e NF

Composto	Tipo de amostra	Técnica de extração	*R (%)	Técnica de detecção e quantificação	Limite de detecção	Ref.
NF NF3-5EO	AS	EFS	95 38-96	Fase Reversa CL- EM-EM	0,2 ng L ⁻¹ 0,008-0,2 ng L ⁻¹	1
NF NF3-5EO	SR	EFS	95 78-110	Fase Reversa CL- EM-EM	0,9 ng g ⁻¹ 0,03-0,8 ng g ⁻¹	1
NF	LE	Soxhlet	75	CG-EM	1,0 µg kg L ⁻¹	2
NF NFEO	SS	EFS	85-90	Fase reversa CLAE-CG-EM (com RMN)	0,1 mg L ⁻¹ 4,0 mg L ⁻¹	3
NF NF1-2EO	AR	Extração líquido/ líquido (AMPTFE)	84 75-83	CLAE-DF	0,1 µg L ⁻¹	4
NF	AR	Micro-EFL	90	CLAE-DF	0,52 ng mL ⁻¹	5
4-NF 4-OF	AR	EFS (com nanopartículas magnéticas)	96-99	CLAE-UV	0,34 µg L ⁻¹ 0,33 µg L ⁻¹	6

1 LOYO-ROSALES et al. (2003); **2** GIBSON et al. (2005) ; **3** LUPPI et al. (2007); **4** ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK et al. (2009); **5** VILLAR-NAVARRO et al. (2013); **6** ZHOU et al. (2017)

*Recuperação; NF: nonilfenol; NFEO: nonilfenol etoxilado; OF: octilfenol; EFS: extração em fase sólida; EFL: extração em fase líquida; CL: cromatografia líquida; EM: espectrometria de massa; CG: cromatografia gasosa; CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência; DF: detector de fluorescência; UV: detector ultravioleta; RMN: Ressonância magnética nuclear; AMPTFE: Armadilha multi-capilar de politetrafluoroetileno); AS: água superficial; SR: sedimento de rio; LE: lodo de esgoto; AR: água residuária; SS: substrato sintético; Ref. referência.

Fonte: Autoria própria.

2.8 Processos de remoção de nonilfenol etoxilado e seus metabólitos

Os sistemas de tratamento de efluentes contaminados com AFEO e seus derivados incluem processos biológicos (biofilmes, enzimas imobilizadas, etc.), físicos (filtração por membrana), adsorção (carvão ativado, argilas, etc.), e processos avançados de oxidação (fotocatálise, fotólise e sonoquímica) (PRIAC et al., 2017). Dentre estes, remoção biológica pode ser uma alternativa interessante para alguns compostos tóxicos. Técnicas como a extração com solventes, adsorção em carvão ativado, troca de íons, tratamentos eletroquímicos, incineração ou oxidação convencional podem ser economicamente inviáveis e gerar resíduos sólidos indesejados, além de exigir grandes quantidades de produtos químicos ou energia (DE LA FUENTE et al., 2010).

Os principais processos biológicos empregados na remoção de AFEO e seus produtos de degradação utilizam a via aeróbia (Tabela 2.5).

TANGHE et al. (1998) avaliaram a remoção de NF em esgoto doméstico no sistema de lodos ativados. Três reatores em escala de bancada foram operados em fluxo semi-contínuo, a diferentes temperaturas, TDH de 4 dias e 8,33 mg L⁻¹ de NF afluente. Os autores observaram que a eficiência de remoção ocorreu em função da temperatura, obtendo-se maior remoção (acima de 92%) em condição mesofílica (28±2 °C; 1,0 g L⁻¹ d⁻¹ de carga orgânica volumétrica – COV). Entretanto, em condição psicofílica (10-15 °C; COV de 2,0 g L⁻¹ d⁻¹), a remoção foi na faixa de 23 a 85%.

WINTGENS et al. (2002) avaliaram a remoção aeróbia de NF e BFA, em estação de tratamento de lixiviados de lixão, escala real. A estação recebe em torno de 6,0 m³ h⁻¹ de lixiviado e é composta por um biorreator de membrana, uma unidade de ultrafiltração e um filtro com carvão granular ativado. Os autores observaram remoção de 90% para concentração afluente de 1,0 a 10,0 µg L⁻¹ e 0,5 a 8,0 µ L⁻¹ de NF e BFA, respectivamente. Segundo os autores a maior remoção ocorreu no biorreator de membrana.

CHANG et al. (2004) estudaram a degradação de NFEO e NF usando como inóculo sedimento de rio em condição fermentativa-metanogênica, em reatores em batelada – 2,0 µg g⁻¹ de NF ou NFEO em cada ensaio. Para NFEO obteve-se remoção de 62%, enquanto NF foi removido totalmente. A taxa de degradação foi de 0,033 L d⁻¹ e 0,043 L d⁻¹ para NFEO e NF, respectivamente. Segundo os autores a degradação de ambos os compostos foi integralmente devido à ação microbiana. Em estudo semelhante conduzido por CHANG et

al. (2005) foi avaliada a degradação anaeróbia de NF ($5,0 \text{ mg L}^{-1}$) em lodo proveniente de ETAR de tratamento de efluente de indústria alimentícia e indústria petroleira. Em ambos os ensaios, verificou-se remoção superior a 80% via biodegradação, a qual foi favorecida com o aumento da temperatura de 20 para 50 °C e a adição de EL ($5,0 \text{ mg L}^{-1}$).

Tabela 2.5 – Principais processos biológicos de remoção de alquilfenóis etoxilados e seus metabólitos

Tecnologia	Composto	Concentração (mg L ⁻¹)	% Remoção	% Biodegradação	Referência
Lodos ativados ^a	NF	8,33	>92	>92	TANGHE et al. (1998)
Biorreator de membrana ^c	NFEO	<0,30	<91	nm	LI et al. (2000)
Lodos ativados ^b	NFEO	<0,30	<80	nm	LI et al. (2000)
Biorreator de membrana ^c	AF, NF	~0,50	>85	nm	WINTGENS et al. (2002)
Digestão anaeróbia de Lodo ^d	NFEO	2,0*	62	62	CHANG et al. (2004)
Digestão anaeróbia de Lodo ^d	NF	2,0*	100	100	CHANG et al. (2004)
Lodos ativados ^b	AF	0,50	74	nm	TERZIC et al. (2005)
Biorreator de membrana ^c	AF	0,50	87	nm	TERZIC et al. (2005)
Biorreator de membrana ^b	BFA	1,07	>97	nm	LYKO et al. (2005)
Digestão anaeróbia de Lodo ^d	NF	5,0	100	100	CHANG et al. (2005)
Degradação aeróbia (RALE ^a)	AF, NF	4,9	>84	>84	SOARES et al. (2006)
Degradação aeróbia (RALE ^a)	NFEO	3,0-8,0	>75	~65	BERTIN et al. (2007)
Tratamento enzimático ^a	NF, BFA	5,0	>95		CABANA et al. (2007)
Degradação aeróbia (RALE ^a)	AF, 4-NF	~60,0	94,23	93,42	DI GIOIA et al. (2009)
Degradação aeróbia (RALE ^a)	NF5EO	~60,0	80,8	70,81	DI GIOIA et al. (2009)
Adsorção e biodegradação em microalgas	AF, NF	1,0	88,6	51,6	GAO et al. (2011a)
Adsorção e biodegradação em microalgas	AF, NF	1,0	>98	54,0-73,0	GAO et al. (2011b)
Processo combinado Anaeróbio/Óxico ^b	NFEO	<0,1	89	nm	GAO et al. (2014)
Filtro biológico aeróbio ^b	NFEO	<0,1	79	nm	GAO et al. (2014)

^aescala bancada; ^bescala real; ^cescala piloto; ^dbateladas; nm.: não menciona; * µg/g; NF: nonilfenol; NFEO: nonilfenol etoxilado; AF: alquilfenol; BFA: bisfenol A; RALE: reator anaeróbio de leito fixo empacotado.

Fonte: Autoria própria.

SOARES et al. (2006) avaliaram a remoção de NF em reator aeróbio de leito estruturado (RALE) usando pérolas de vidro como meio suporte. O reator foi inoculado como amostra de solo contaminada, alimentado com meio mineral e operado em pH 7, TDH na faixa de 7 a 15 d, e em várias condições de temperaturas (10, 5,5 e 15 °C). A concentração afluyente de NF aplicada foi na faixa de 2,41 a 31,71 mg L⁻¹. Para todas as condições testadas obteve-se eficiência de remoção acima de 84% pela via de biodegradação.

BERTIN et al. (2007) por sua vez, avaliaram a remoção de NFEO (Igepal CO-520 e Igepal CO-210) em água residuária sintética em reatores RALE operados em bateladas sequenciais. Para tanto, utilizou cepas de *Pseudomonas* sp. BCb 12/3 isolada a partir de amostra de lodo proveniente de estação de lodos ativados. Foram operados três reatores com diferentes meios suporte (esferas de vidro, esferas de sílica, e carvão granular ativado). Os autores observaram para 5 a 8 mg L⁻¹ de NFEO eficiência de remoção acima de 75%, sendo 65% biodegradado e apenas 10% adsorvido nos diferentes meios suportes.

CABANA et al. (2007) avaliaram a degradação de NF por meio de tratamento enzimático a base de fungo *Corioloropsis polyzona* contendo, NF (5 mg L⁻¹), 5 U L⁻¹ de catalase de *Aspergillus niger*, ácido cítrico/tampão de hidrogenofosfato dissódico e metanol a 1% v/v. Em alguns casos, também adicionou-se a lacase ao tratamento. Além disso, testes foram realizados em diferentes temperaturas (20, 40 e 50 °C) e pH (3, 4 e 5). Sob tais condições o NF foi completamente removido. Todavia, a maior remoção foi a 50 °C e em pH 5.

LU et al. (2008) estudaram a degradação anaeróbia de NFEO (Igepal CO-630) em substrato sintético em ensaios em batelada (1,0 gSSV L⁻¹, 35 C, 120 rpm e lodo anaeróbio proveniente de ETE como inoculo). Os autores avaliaram o efeito de vários fatores (temperatura, carga orgânica etc.) no processo de degradação. Remoção de 70% foi obtida para 100 mg L⁻¹ de NFEO. Além disso, os autores observaram que o aumento da carga orgânica, bem como o aumento da temperatura influenciaram negativamente na eficiência de remoção.

ZHANG, J. et al. (2008) avaliaram a biodegradação de NFEO sob condições aeróbias (sistema de lodos ativados) e condições anaeróbias (UASB – *Upflow anaerobic sludge blanket*). Ambos os reatores foram alimentados com esgoto doméstico contendo 232±15 mg L⁻¹ de DQO, 15 mgNFEO L⁻¹, pH 7,4 e diferentes TDH (5, 8 e 15 h). Em ambos os sistemas observou-se eficiência de remoção de NFEO acima de 92%, porém, observou-se formação

de NF1-3EO e NF pela via anaeróbia, assim como a formação de NFEC e NF1-3EO pela via aeróbia.

DI GIOIA et al. (2009) avaliaram a biodegradação de 4-NF e NFEO (Igepal CO-520) em RALE escala bancada. Para tanto, utilizaram consórcio microbiano isolado a partir de ETE de indústria têxtil e cultivado em meio mineral contendo 100 mg L^{-1} de 4-NF. Dois reatores foram operados em bateladas e fluxo contínuo, com esferas de sílica (R-SB) e com carvão granular ativado (R-GAC) como meio suporte. Ambos os reatores foram alimentados com substrato sintético contendo 4-NF ou NFEO como única fonte de carbono. Nos ensaios em reatores operados em modo contínuo, a eficiência de remoção obtida foi de 48 a 69% e de 48 a 74% para $12,22 \text{ mg L}^{-1}$ de NFEO afluente ao R-SB e R-GAC, respectivamente. Sob tais condições, 4-NF foi completamente removido do sistema. Nos ensaios em bateladas em ambos os reatores, a remoção foi superior a 94% para $19,80 \text{ mg L}^{-1}$ de 4-NF. Entretanto, a remoção de NFEO foi de 80% em ambos os reatores para concentração afluente idêntica à usada no ensaio com 4-NF.

GAO et al. (2011b) avaliaram a remoção de NF por *Chlorella vulgaris* sob condições fotoautotróficas (de forma imobilizada e em cultura suspensa). Para a imobilização celular utilizou-se alginato de sódio a 2% e cloreto de cálcio a 2,5% como solução de gelificação. Em ambos os ensaios (cultura imobilizada e suspensa) foram inoculadas 160 esferas de microalgas, com biomassa celular inicial equivalente a $0,625 \text{ } \mu\text{g}$ de Clorofila A por esfera, na presença de $1,0 \text{ mgNFEO L}^{-1}$. Os reatores foram agitados a 160 rpm, iluminados com luz fluorescente fria ($50 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) sob ciclos de 16 h de luz e 8 h no escuro. A remoção de NFEO obtida foi satisfatória (94%) em ambos os ensaios. As quantidades de NF adsorvida/absorvida por unidade de biomassa foram de $1231 \pm 42 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ e $1217 \pm 75 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ do peso seco nas células suspensas e células imobilizadas, respectivamente. Entretanto, a adsorção de NF na matriz de alginato foi de $62 \pm 14 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$.

Outra tecnologia utilizada nas estações de tratamento de esgoto doméstico é o processo A/O (anaeróbio-aeróbio). O A/O é um processo sequencial onde a água a ser tratada passa através de um tanque anaeróbio, seguido de tanque aeróbio. Este processo é comumente usado para remoção de fósforo devido à alta eficiência e baixo consumo de energia. Alternativamente, os filtros biológicos aerados (BAF – *biological aerated filters*) são um processo anexo, que está associado à melhoria na economia da tecnologia. A eficiência deste processo na remoção de NFEO em ETE escala real foi avaliada por GAO et al. (2014). A ETE do estudo estava configurada de forma que após o pré-tratamento ocorre o processo secundário A/O (com capacidade de $1,6 \times 10^5 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$) e o processo BAF (com

capacidade de $4,0 \times 10^4 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$) em paralelo. Os autores observaram para concentração afluente de $1,8 \text{ ng L}^{-1}$, $2,0 \text{ ng L}^{-1}$ e 103 ng L^{-1} de NF, NF1EO e NF2EO eficiência de remoção de 78%, 84% e 89%, no processo A/O, respectivamente. Entretanto, no processo BAF, a remoção observada foi inferior; ou seja de 55%, 76%, 79% para NF, NF1EO e NF2EO, respectivamente.

Os estudos anteriormente citados reportaram a degradação e remoção de NFEIO por meio de processos biológicos. Todavia na literatura, os estudos realizados sobre a degradação anaeróbia destes compostos, particularmente em reator EGSB ainda são limitados. Porém, esta tecnologia (EGSB) tem sido empregada amplamente no tratamento de esgoto doméstico e águas residuárias de diversas industriais, obtendo-se satisfatória eficiência na remoção de compostos orgânicos, além de boa produção de biogás sem a adição de fontes de carbono e nutrientes externos (SHELDON e ERDOGAN, 2016). Portanto, é imperativo explorar o potencial deste sistema como uma alternativa de remoção de NFEIO e seus produtos de degradação. Sendo que a presença e persistência destes contaminantes nas diferentes matrizes ambientais (águas superficiais, sedimentos, águas subterrâneas, solo e ar) tem sido reportada em inúmeras pesquisas, podendo ser prejudicial à saúde pública e aos ecossistemas aquáticos.

2.9 Reator anaeróbio de leito granular expandido

O EGSB foi desenvolvido na tentativa de solucionar problemas observados nos reatores UASB, tais como a ocorrência de zonas mortas, caminhos de fluxo preferencial entre outros (CORREIA et al., 2014). O princípio básico de operação do reator EGSB é o mesmo do UASB; no entanto, no EGSB, pode-se aplicar elevadas velocidades de fluxo ascendente ($2,0 - 10,0 \text{ m h}^{-1}$) em razão de sua elevada proporção altura-diâmetro e alta taxa de recirculação (FRANKIN et al., 1992; ZOUTBERG e FRANKIN, 1996; VAN LIER et al., 2015). A maior velocidade ascensional (V_{asc}) intensifica a mistura hidráulica dentro do reator e os grânulos são expandidos, oferecendo maior contato substrato-biomassa (LIM e KIM, 2014) melhorando a eficiência do tratamento. Além disso, no reator EGSB tem-se a possibilidade de aplicar taxas de COV superiores a $30 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (ZHENG et al., 2012).

Muitas vezes a tecnologia EGSB resulta favorável em comparação com outros sistemas convencionais de tratamento, particularmente no tratamento de efluentes com lipídios e gorduras, sendo necessário manter excelente contato efluente-biomassa (LETTINGA e HULSHOFF POL, 1991). Estes sistemas têm sido empregados no tratamento

de efluentes provenientes de indústrias dedicadas à extração do óleo de palma, os quais tem alto teor de matéria orgânica (16,0-100,0 gDQO L⁻¹) e lipídio (10,0-17,0 g L⁻¹). Apenas para dar um exemplo, FANG et al. (2011) obtiveram eficiência remoção de 91% e 53% para 5,8 gSV L⁻¹ d⁻¹ e 10,4 gSV L⁻¹ d⁻¹ de COV afluyente em reator EGSB operado com TDH de 5 dias, V_{asc} 18 mL h⁻¹ em condições termofílicas (55°C). ZHANG, Y. et al. (2008) por sua vez, reportaram alta eficiência de remoção (91%) para 17,5 g L⁻¹ d⁻¹ de COV na mesma configuração reacional operado com TDH de 2 dias, V_{asc} de 3,5 m h⁻¹ em condições mesofílicas (35 °C).

No tratamento de água residuária de lavanderia comercial tem sido alcançada eficiência de remoção de matéria orgânica (813±75 mg DQO L⁻¹) superior a 90% por médio de reator EGSB. Assim mesmo, a remoção de surfactante aniônico LAS tem sido satisfatória, isto é, até 78% para 11,5 mgLAS L⁻¹ afluyente (DELFORNO et al., 2014).

Como pode ser constatado na literatura, o reator EGSB tem sido empregado no tratamento anaeróbio de diversos tipos de efluentes domésticos e industriais (águas residuais de alimentos, cervejarias, fermentos, produtos farmacêuticos, papel, indústria química). Devido ao bom desempenho obtido neste tipo de configuração reacional, dezenas de unidades EGSB têm sido construídas em várias partes do mundo (NICOLELLA et al., 2000; CORREIA et al., 2014). Assim, é de suma importância avaliar o potencial destes sistemas na remoção de compostos recalcitrantes, tais como NFEO, a fim de diminuir os riscos que representam para o meio ambiente e sua diversidade biológica.

2.10 Mecanismos de biotransformação anaeróbia de NFEO

No processo de digestão anaeróbia, diversos consórcios microbianos realizam atividades metabólicas complexas para a degradação do substrato. Nessas condições, a maioria dos compostos aromáticos são metabolizados pela via benzoilCoA (PHILIPP e SCHINK, 2012), e fumarato como cossustrato pode favorecer energeticamente o processo (GRANATTO et al., 2020). Na degradação de hidrocarbonetos aromáticos, fumarato foi identificado como um mecanismo para as etapas iniciais de degradação (PORTER e YOUNG, 2014; ABU LABAN et al., 2015). Por meio da adição de fumarato, esses compostos podem ser ativados por culturas mistas contendo, por exemplo *Smithella* e *Desulfatibacillum* (JI, J.-H. et al., 2019).

Além disso, o ELV como fonte de nitrogênio e vitaminas estimula o crescimento e também a atividade metabólica de muitas populações microbianas. Foi relatado que, tanto

ELV, quanto FS podem favorecer o processo de degradação de surfactantes como, LAS e álcool etoxilado linear (LAE – *linear alcohol ethoxylate*) (OKADA et al., 2013; MOTTERAN et al., 2014a; MACEDO et al., 2015; BRAGA et al., 2015a). ELV também é considerado um substrato potencial no cultivo de bactérias degradadoras de NFEO, como *Sphingomonas* sp. Y2 (BAI et al., 2016). Por outro lado, FS favoreceu a remoção de matéria orgânica e a metanogênese na presença de 4-NF (289 - 436 $\mu\text{g L}^{-1}$), conforme relatado por DORNELLES et al. (2020a). De acordo com WEI et al. (2015), sob condições anaeróbias, os microrganismos utilizam três mecanismos para degradação de compostos fenólicos, carboxilação, adição de fumarato ao grupo metil ou hidroxilação do grupo metil.

No caso do NFEO, o ELV pode atuar de forma oxidativa na cadeia etoxilada (HAYASHI et al., 2005). A maioria das bactérias identificadas como degradadoras de NFEO pertencem ao filo Proteobacteria e Firmicutes (*Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Sphingobium*, *Cupriavidus*, *Ralstonia*, *Achromobacter* e *Staphylococcus*) (GU et al., 2010; BAI et al., 2016). Dentre estas, uma cepa de *Sphingomonas* utilizou a via não oxidativa para a degradação aeróbia de NFEO. Entretanto, uma cepa de *Ralstonia* degradou o NFEO por oxidação da cadeia etoxilada.

Apesar dos avanços obtidos, é necessário melhorar o entendimento sobre populações microbianas que metabolizam o NFEO principalmente em matrizes complexas como o esgoto doméstico. Técnicas de biologia molecular, como metagenoma permitem *insights* sobre a estrutura da comunidade por meio da identificação dos microrganismos e relação com possíveis enzimas envolvidas na degradação desse surfactante sob condições nutricionais específicas.

2.11 Planejamento de experimentos e análise de superfície resposta na remoção de NFEO em esgoto doméstico

No processo de degradação de compostos fenólicos intervem múltiplos fatores (por exemplo, concentração do composto, temperatura, condições nutricionais, tipo de inóculo) que precisam ser otimizados para atingir taxas de remoção satisfatórias. As ferramentas de planejamento experimental, associadas à análise da superfície de resposta, são uma estratégia que conta com o auxílio da Estatística para avaliar os efeitos de determinados fatores (variáveis independentes) sobre um processo, visando otimizar esse processo. Essas ferramentas têm sido aplicadas com sucesso na remoção de surfactantes. Por exemplo, ANDRADE et al. (2017b) avaliaram o efeito de etanol (50 – 185 mg L^{-1}) e nitrato (26 – 185

mg L⁻¹) na degradação anaeróbia de LAS via delineamento composto central (DCC). Os autores obtiveram remoção quase completa de LAS (9 – 41 mg L⁻¹) nas condições otimizadas (etanol= 97,5 mg L⁻¹ e nitrato= 88 mg L⁻¹). O delineamento experimental também tem sido amplamente usado para otimização da produção de bioenergia (principalmente H₂) a partir de diferentes substratos (MAZARELI et al., 2019; MONTOYA et al., 2019; CAMARGO et al., 2021).

HANCI et al. (2011) utilizaram o DCC e MSR avaliar e otimizar o efeito de diferentes fatores na remoção dos surfactante aniônico (dioctil sulfosuccinato de sódio – DSS), catiônico (sais quaternários de amônio – SQA) e não-iônico (NF10EO) em processos fotoquímicos de oxidação avançada. Nas condições estudadas, os autores observaram que o processo foi significativamente influenciado por todas as variáveis selecionadas seguindo a ordem decrescente; tempo de tratamento fotoquímico (efeito positivo) > carga organica surfactante (efeito negativo) > concentração de H₂O₂ adicionada. Remoção superior a 90% foi obtida para todos os surfactantes nas condições otimizadas (DSS= 400 mg L⁻¹; SQA= 309 mg L⁻¹; NFEO= 294 mg L⁻¹; H₂O₂DSS= 34,9 mM; H₂O₂SQA= 34,3 mM; H₂O₂NFEO= 45 mM; pH= 10,5). Em estudo similar, NUNES et al. (2020) investigaram o efeito simultâneo da concentração de persulfato (PS) e da taxa de emissão de fótons específica (EP) na degradação de NFEO por radiação ultravioleta combinada com o ânion persulfato (S₂O₈²⁻) (UV/PS) por meio de delinamento experimental Doehlert. Remoção de 96% para ~5 mg L⁻¹ de NFEO foi obtida nas condições ótimas (PS= 10 mmol L⁻¹; EP= 0,324 μmol fótons L⁻¹ s⁻¹).

A partir da mesma linha de tratamento, IQBAL e BHATTI (2015) analisaram os efeitos da dose da radiação gamma/H₂O₂ na degradação de NF6EO, NF9EO e NF30EO por meio do DCCR e MSR. Os autores obtiveram eficiência de degradação superior a 90% para 50 mg L⁻¹, 100 mg L⁻¹, e 150 mg L⁻¹ de NFEO nas condições otimizadas (radiação gamma de 15 kGy na presença de 4,58% H₂O₂).

Da mesma forma, a estratégia do delineamento experimental pode ser aplicada no tratamento biológico de NFEO para avaliar a influencia das inúmeras variáveis envolvidas no processo de degradação deste surfactante sob condições anaeróbias (por exemplo, concentração de NFEO, adição de cossustratos metabólicos, temperatura, pH, *headspace* e suplementação de vitaminas).

A escolha do planejamento adequado é função direta do número de variáveis independentes inerentes ao processo, bem como da viabilidade do estudo em termos de custo (RODRIGUES e IEMMA, 2014). Assim, dentre as diversas estratégias incluídos no

planejamento fatorial, o delineamento composto central rotacional (DCCR) e a metodologia de superfície de resposta (RSM) foram adotadas neste estudo, para avaliar a influência do extrato de levedura como fonte de vitamina B, peptonas, aminoácidos hidrolisados e fumarato de sódio como cossubstrato metabólico na degradação de NFEO em esgoto doméstico sob condições fermentativa - metanogênica.

3 HIPÓTESES E OBJETIVOS

NFEO é um composto de difícil degradação nos sistemas convencionais de tratamento de anaeróbio de água residuária. No entanto, existem microrganismos capazes de degradar tais compostos sob condição nutricional específica. Logo, levantou-se a hipótese que a adaptação da biomassa ao NFEO, a suplementação de macro e micro nutrientes, bem como a adição de um cossustrato metabólico, contribui para alcançar maior eficiência de remoção de NFEO em codigestão com esgoto doméstico e água residuária de lavanderia comercial.

Dessa forma, neste estudo foram abordadas as hipóteses e objetivos seguintes:

Hipótese 1: A adição de nutrientes e cossustrato metabólico favorece a remoção anaeróbia do NFEO comercial em codigestão com esgoto doméstico.

Hipótese 2: A suplementação com nutrientes e bicarbonato de sódio na alimentação de um reator anaeróbio é suficiente para manter a estabilidade do sistema e remoção matéria orgânica e NFEO de água residuária de lavanderia comercial.

Hipótese 3: A adaptação da biomassa ao NFEO, resulta em maior estabilidade e maior eficiência de remoção de matéria orgânica e NFEO, no tratamento anaeróbio de água residuária de lavanderia comercial em codigestão com esgoto doméstico comparado com um sistema com biomassa não adaptada.

Hipótese 4: A codigestão do esgoto doméstico com água residuária de lavanderia comercial, resulta em maior estabilidade e maior eficiência na conversão bioquímica de matéria orgânica em metano em comparação com a mono-digestão.

Hipótese 5: As condições nutricionais podem influenciar na dinâmica da população microbiana presente em reatores em batelada e em reator EGSB.

Objetivo geral:

Avaliar a remoção de NFEO no tratamento de água residuária de lavanderia comercial em codigestão com esgoto doméstico sob condições anaeróbias em reator EGSB escala aumentada.

Objetivos específicos:

Objetivo 1: Avaliar a influência do extrato de levedura e fumarato de sódio no potencial metanogênico e degradação anaeróbia de NFEO comercial em codigestão com esgoto doméstico por meio de delineamento experimental em reatores em batelada.

Objetivo 2: Avaliar a influência da suplementação com meio sintético na remoção de NFEO em água residuária de lavanderia comercial em reator EGSB escala aumentada.

Objetivo 3: Avaliar o efeito da adaptação da biomassa na remoção do nonilfenol etoxilado em água residuária de lavanderia comercial em codigestão com esgoto doméstico em reator EGSB escala aumentada.

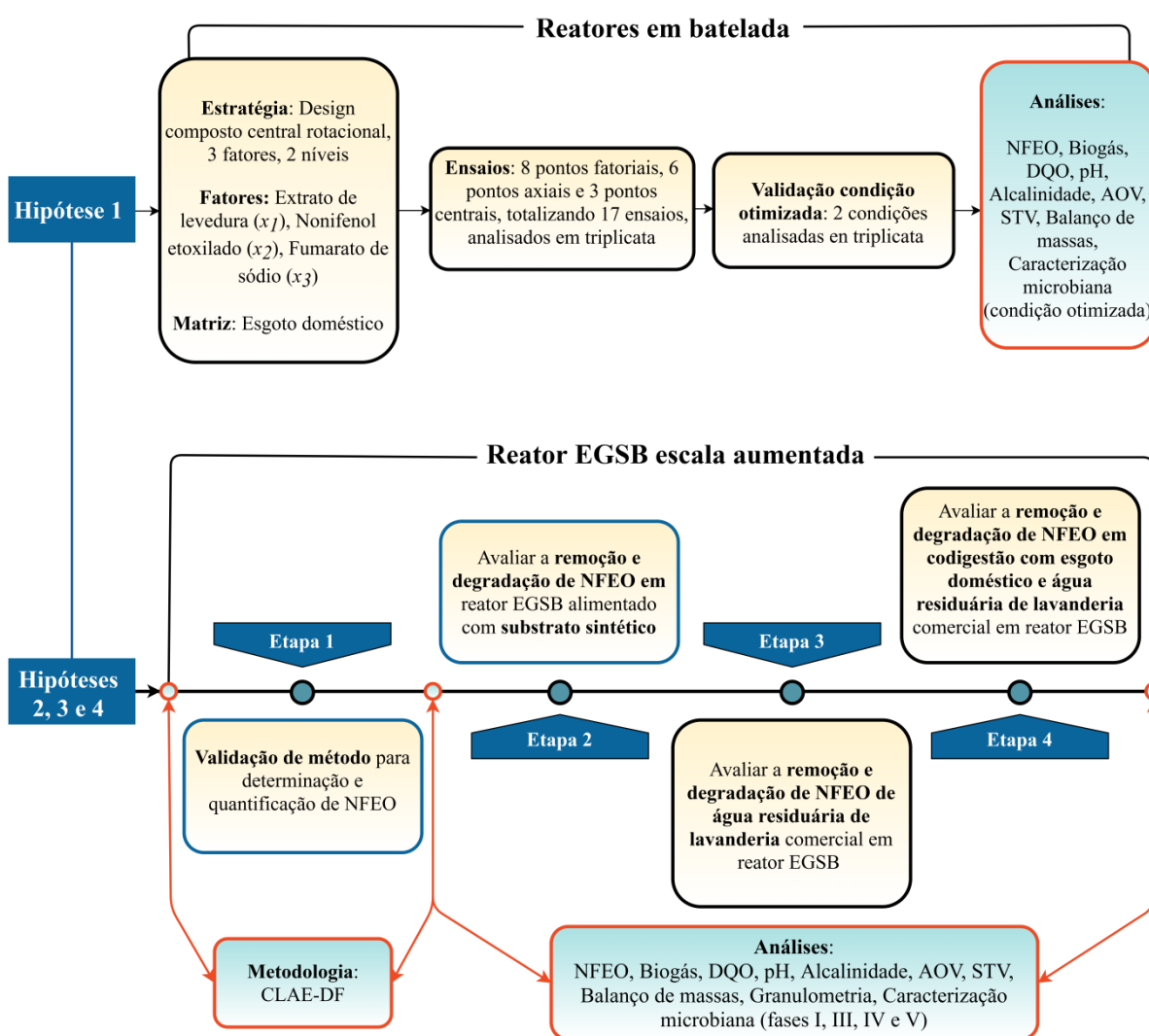
Objetivo 4: Avaliar a produção de metano a partir de reator EGSB alimentado com água residuária de lavanderia comercial em codigestão com esgoto doméstico.

Objetivo 5: Caracterizar a dinâmica populacional dos microrganismos para as condições ótimas de degradação de NFEO dos reatores em batelada e para as fases I, III, IV e V do reator EGSB escala aumentada.

4 MATERIAL E MÉTODOS

De acordo com as hipóteses e objetivos estabelecidos a priori, o delineamento experimental adotado para esta pesquisa é apresentado na Figura 4.1. Os ensaios em batelada foram executados com a finalidade de comprovar (ou descartar) a hipótese 1 e 5. A operação do reator EGSB com a finalidade de comprovar (ou descartar) as hipóteses 2, 3, 4 e 5.

Figura 4.1 – Delineamento experimental das etapas abordadas nesta pesquisa



Fonte: Autoria própria.

NFEO= nonilfenol etoxilado; DQO= demanda química de oxigênio; AOV= ácidos orgânicos voláteis; STV= sólidos totais voláteis; EGSB= *expanded granular sludge bed*; CLAE-DF= cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência.

4.1 Inóculo

O inóculo utilizado tanto no reator EGSB, quanto nos ensaios em batelada foi lodo granular anaeróbio proveniente de reator UASB empregado no tratamento de água residuária de abatedouro de aves, instalado na Avícola Ideal, na cidade de Pereira – SP (Brasil). O lodo foi coletado em galões de polietileno de alta densidade com capacidade volumétrica de 20 L e logo após a coleta foi armazenado em câmara fria a 4 °C.

4.2 Água residuária de lavanderia comercial

A água residuária de lavanderia empregada na alimentação do reator EGSB foi coletada quinzenalmente durante todo o período de operação do reator em lavanderia comercial localizada na cidade de São Carlos – SP (Brasil), em galões de polietileno de alta densidade com volume de 10 litros e mantida sob refrigeração a 4 °C.

4.3 Esgoto doméstico

O esgoto doméstico foi captado da rede coletora municipal do bairro Santa Angelina em São Carlos – SP (Brasil), a qual tem ligação direta com local de pesquisa onde foi instalado o artefato experimental e está localizado no campus II – USP São Carlos.

4.4 Nonilfenol etoxilado

Para o desenvolvimento desta pesquisa, foi utilizado o surfactante não-iônico, Nonilfenol Etoxilado comercial com 95% de pureza, grau técnico, CAS Nº 27177-08-8, fórmula molecular $C_9H_{19}C_6H_4(OCH_2CH_2)_nOH$, com um valor de $n \approx 10$, obtido na Destilaria Bauru, na cidade de Catanduva – SP (Brasil). A solução estoque foi preparada a partir de NFEO 95% dissolvido em água ultrapurificada e armazenada a 4 °C em frasco âmbar, protegido da luz e refeita quinzenalmente.

4.5 Reatores em batelada

Todos os ensaios foram realizados em frascos transparentes Erlenmeyer com volume útil de 1.000 mL, com 335 mL de mistura reacional, contendo esgoto doméstico, ELV, NFEO e FS em concentrações variadas de acordo com a delimitação experimental (Tabela 4.2) e 665 mL de *headspace* saturado com N₂ (100%). Os reatores foram fechados com tampa de butila e rosca plástica, incubados em temperatura controlada (30 ± 1 °C) e mantidos sob agitação constante (150 rpm) por período aproximado de 25 dias até a produção de metano estabilizar. A concentração inicial do inóculo para todos os reatores foi de 2,0 gSTV L⁻¹.

Nesta etapa experimental foi utilizada a metodologia do DCCR e MSR para avaliar e otimizar a influência das covariáveis (variáveis independentes) extrato de levedura (x_1) e fumarato de sódio (x_3) na degradação de NFEO (x_2) para condição fermentativa – metanogênica (Tabela 4.1). O ELV e FS têm sido testados em estudos anteriores na degradação de compostos recalcitrantes, obtendo-se resultados satisfatórios (HAKOBYAN et al., 2012; MOTTERAN et al., 2014a; MACEDO et al., 2015; GRANATTO et al., 2020). Por esse motivo, foram adotadas como variáveis independentes no processo de remoção e degradação de NFEO em esgoto doméstico no presente estudo. Para construir a matriz experimental e análise estatística dos resultados obtidos no DCCR, foi utilizado o software Protimiza Experimental Design (RODRIGUES e COSTA, 2019).

Tabela 4.1 – Variáveis independentes adotadas no delineamento composto central rotacional

Variável (mg L ⁻¹)	Código	Níveis		
		-1	0	+1
ELV	x_1	200	300	400
NFEO	x_2	2,5	3,75	5,0
FS	x_3	200	350	500

ELV: extrato de levedura; FS: fumarato de sódio;
NFEO: nonilfenol ethoxilado.

Fonte: Autoria própria

Para determinar a significância estatística dos coeficientes linear, quadrático e de interação do modelo, foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA), e *p-values* < 0,05 foram considerados significativos com intervalo de confiança de 95%. Foi realizado delineamento composto central rotacional de dois níveis e três fatores, composto por 8

pontos fatoriais, 6 pontos axiais e 3 pontos centrais, totalizando 17 ensaios, analisados em triplicata. O delineamento experimental completo com os valores reais e codificados é apresentado na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Matrix experimental do DCCR para a degradação de NFEO em condição fermentativa-metanogênica (x_1 , x_2 e x_3 em mg L^{-1})

ENSAIO	Valores codificados			Valores reais		
	ELV	NFEO	FS	ELV	NFEO	FS
	x_1	x_2	x_3	x_1	x_2	x_3
<i>Pontos fatoriais</i>						
1	-1	-1	-1	200	2,50	200
2	+1	-1	-1	400	2,50	200
3	-1	+1	-1	200	5,00	200
4	+1	+1	-1	400	5,00	200
5	-1	-1	+1	200	2,50	500
6	+1	-1	+1	400	2,50	500
7	-1	+1	+1	200	5,00	500
8	+1	+1	+1	400	5,00	500
<i>Pontos axiais</i>						
9	-1,68	0	0	132	3,75	350
10	+1,68	0	0	468	3,75	350
11	0	-1,68	0	300	1,65	350
12	0	+1,68	0	300	5,85	350
13	0	0	-1,68	300	3,75	98
14	0	0	+1,68	300	3,75	602
<i>Pontos centrais</i>						
15	0	0	0	300	3,75	350
16	0	0	0	300	3,75	350
17	0	0	0	300	3,75	350

ELV: extrato de levedura; NFEO: nonilfenol etoxilado; FS: fumarato de sódio.

Fonte: Autoria própria.

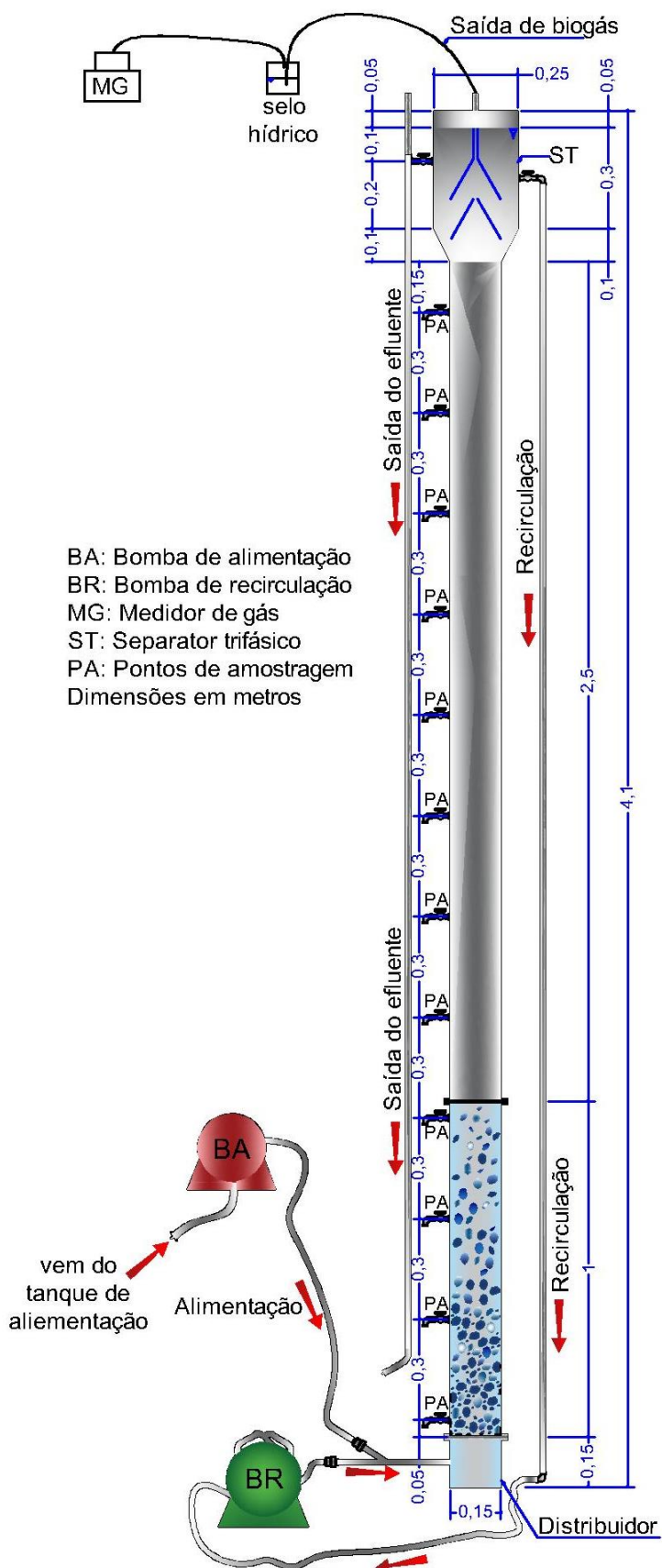
Uma vez que a melhor condição foi obtida a partir da variável resposta – degradação de NFEO (Y), alíquotas de NFEO foram retiradas no início e no final de cada ensaio. Uma vez obtida a resposta (Y) foi gerado o modelo preditivo em função das variáveis independentes (x_1 , x_2 e x_3). ANOVA foi realizada para avaliar a magnitude do efeito de cada variável independente na variável resposta. Para avaliar a qualidade do modelo, os resíduos entre os valores previstos e os valores observados foram calculados usando o modelo ajustado. A melhor faixa de degradação do NFEO nas condições estudadas foi identificada

com base na superfície de resposta gerada. Por fim, a partir destes resultados foram realizados os ensaios para validação do modelo.

4.6 Reator EGSB

O reator EGSB escala aumentada foi confeccionado em policloreto de vinila (PVC) com volume útil de 62 L, e a região de expansão foi confeccionada em acrílico para visualização do leito de lodo. Neste reator foi instalado um distribuidor de vazão na sua base e no topo um dispositivo de separação entre as fases (sólida, líquida e gasosa). Além disso, tem um medidor de biogás no topo e doze pontos de amostragem igualmente espaçados ao longo do reator conforme Figura 4.2. O reator foi instalado no Laboratório de Processos Biológicos localizado na área II – USP São Carlos.

Figura 4.2 – Diagrama esquemático do reator EGSB



Fonte: Autoria própria.

O reator foi operado durante 637 dias em fluxo contínuo e em condição fermentativa-metanogênica. Ao longo deste período, a operação foi dividida em cinco fases experimentais conforme descrito na Tabela 4.3. Na primeira fase o reator foi alimentado apenas com substrato sintético. Após o período de adaptação da biomassa ao substrato sintético (fase I), adicionou-se NFEO comercial gradativamente com o intuito de propiciar a adaptação dos microrganismos ao composto. NFEO foi adicionado na concentração inicial de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ e em seguida foi-se acrescentando semanalmente ou quinzenalmente (conforme a resposta do sistema) de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ aproximadamente até alcançar concentração de $\sim 5 \text{ mg L}^{-1}$ e $\sim 10 \text{ mg L}^{-1}$, que foram as concentrações nominais para teste na fase II e III, respectivamente. Tais concentrações foram definidas com base nos valores máximos observados em águas residuárias, isto é, concentrações da ordem de 10 a 15 mg L^{-1} (DI GIOIA et al., 2009).

Uma vez que o desempenho do sistema se viu comprometido, particularmente no que diz respeito da remoção do NFEO e a ocorrência da metanogênese foi definida concentração inferior para as próximas fases de operação, $\sim 5 \text{ mg NFEO L}^{-1}$. Desse modo, na fase IV da operação, o reator foi alimentado com água residuária de lavanderia comercial diluída em substrato sintético, de forma a obter concentração aproximada de 5 mg NFEO L^{-1} . Na fase V, a alimentação consistiu de esgoto doméstico e água residuária de lavanderia comercial, mantendo-se a concentração de NFEO afluente definida da fase anterior ($\sim 5 \text{ mg L}^{-1}$).

Tabela 4.3 – Fases experimentais da operação do reator EGSB

Fase	Tempo (dias)	Composição da alimentação	TDH (horas)	V_{asc} (m h^{-1})	NFEO Afluente (mg L^{-1})
I	157	Substrato Sintético	41 ± 5	7,0	na
II	88	Substrato Sintético	40 ± 1	7,0	$3,5 \pm 1,0$
III	148	Substrato Sintético	40 ± 4	7,0	$7,6 \pm 2,1$
IV	156	Substrato Sintético + ARLC	40 ± 3	7,0	$4,0 \pm 1,1$
V	88	ED + ARLC	41 ± 4	7,0	$3,7 \pm 1,3$

TDH: tempo de detenção hidráulica; V_{asc} : velocidade ascensional; NFEO: nonilfenol etoxilado; ARLC: água residuária de lavanderia comercial; ED: esgoto doméstico; na: não adicionado.

Fonte: Autoria própria.

4.6.1 Inoculação

Inicialmente, o reator foi preenchido com substrato sintético e, em seguida foi adicionado lodo granular anaeróbico oriundo de reator UASB de tratamento de água

residuária de abatedouro de aves. A carga orgânica aplicada ao reator foi de 0,065 gDQO gSTV⁻¹d⁻¹ conforme recomendado por CHERNICHARO (2016) para a partida de reatores anaeróbios (0,05 a 0,15 gDQO gSTV⁻¹ d⁻¹). O sistema foi deixado em repouso por período de 24 horas para a adaptação gradual da biomassa à temperatura ambiente. Após o tempo de repouso, o reator foi aberto e alimentado apenas com substrato sintético (fase I), dando início a operação em fluxo contínuo em condição fermentativa-metanogênica. O reator foi operado em temperatura ambiente (23 ± 4,2 °C), TDH de 41 ± 5 horas, vazão de alimentação de 1,53 ± 0,19 L h⁻¹. A vazão de recirculação aplicada foi de 126 L h⁻¹, resultando na velocidade ascensional de 7 m h⁻¹.

4.6.2 Composição do substrato sintético

O substrato sintético utilizado para alimentação do reator, tanto na fase de adaptação, quanto na fase II e III foi preparado com água da rede pública de abastecimento contendo extrato de levedura como fonte de nitrogênio e vitaminas, etanol como fonte de carbono, e sais inorgânicos como fonte de macro e micro nutrientes (Tabela 4.4 e Tabela 4.5). Além disso, adicionou-se bicarbonato de sódio como agente tamponante em concentração inicial de 400,0 mg L⁻¹, a qual foi reduzida gradativamente até 250,0 mg L⁻¹ no final da operação. As quantidades de cada componente foram escolhidas de forma a obter carga orgânica aproximada de 400,0 mgDQO L⁻¹.

Tabela 4.4 – Composição do substrato sintético

Componente	Quantidade adicionada
Extrato de Levedura	300,0 mg L ⁻¹
Bicarbonato de Sódio	400,0 mg L ⁻¹
Etanol	100,0 mg L ⁻¹
Solução de Sais	5,0 ml L ⁻¹

Fonte: Adaptado de TORRES (1992)

Tabela 4.5 – Composição da solução de sais adicionada ao substrato sintético

Sais Inorgânicos	Concentração (mg L ⁻¹)
NaCl	50
MgCl ₂ .6H ₂ O	1,4
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,9

Fonte: TORRES (1992)

A preparação do substrato sintético foi realizada da maneira seguinte: a solução de sais foi preparada previamente em água destilada e mantida sob-refrigeração em temperatura aproximada de 4°C; os reagentes sólidos foram pesados semanalmente e mantidos em frascos tampados livres da umidade; o extrato de levedura e bicarbonato de sódio foram solubilizados em água da rede pública de abastecimento mediante agitação, e em seguida adicionava-se a solução de sais e o etanol.

4.7 Análises físico-químicas e cromatográficas

As análises físico-químicas e cromatográficas dos reatores em bateada e do afluente e efluente do reator EGSB escala aumentada foram realizadas seguindo a frequência e metodologia apresentada na Tabela 4.6.

Tabela 4.6 – Análises físico-químicas e cromatográficas de monitoramento dos reatores em batelada (RB) e EGSB

Parâmetro	Frequência RB	Frequência EGSB	Método	Ref.
DQO total e solúvel	Inicial e Final	3 vezes por semana	Espectrofotométrico	1
pH	Inicial e Final	3 vezes por semana	Potenciométrico	1
STV	Inicial e Final	1 vez por semana	Gravimétrico	1
Alcalinidade	Inicial e Final	3 vezes por semana	Titulométrico	2
AOV	Inicial e Final	1 vez por semana	CLAE	3
NFEO	Inicial e Final	3 vezes por semana	CLAE-DF	4
LAS	não aplica	2 vezes por semana	CLAE-DF	5
C–biogás	Periodicamente	3 vezes por semana	CG	6
V–biogás	não aplica	3 vezes por semana	Volumétrico	

1: APHA (2017); **2:** RIPLEY et al. (1986); **3:** PENTEADO et al. (2013); **4:** DORNELLES et al. (2020b); **5:** DUARTE et al. (2006); **6:** PERNA et al. (2013)

DQO: demanda química de oxigênio; STV: sólidos totais voláteis; AOV: ácidos orgânicos voláteis; NFEO: nonilfenol etoxilado; LAS: *linear alkylbenzene sulfonate*; C–biogás: composição biogás; V–biogás: volume biogás; CLAE-DF: cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência; CG: cromatografia gasosa; Ref.: referência.

A concentração de NFEO foi determinada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência conforme metodologia desenvolvida por DORNELLES et al. (2020b) e as condições cromatográficas apresentadas na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 – Condições cromatográficas para determinação de nonilfenol etoxilado

Parâmetro	Condição cromatográfica
Equipamento	Shimadzu® Co., Kyoto Japan
Coluna	Agilent Eclipse XDB-C8, 5µm, 4,6 x150mm
Fase móvel	Acetonitrila: Água ultrapurificada (90:10, v:v)
Fluxo	0,8 mL min ⁻¹
Volume de injeção	100µL
Detector	Fluorescência com λ excitação 225nm e λ emissão 305 nm
Temperatura da coluna	40°C

Fonte: Autoria própria.

Para validação do método foram construídas curvas analíticas de calibração (Figura 4.3 e Figura 4.4) com concentração conhecida de NF padrão e NFEO comercial, na faixa de 0,25 a 5,0 mg L⁻¹ (n= 12 pontos) com água ultrapurificada e substrato sintético como solventes. A linearidade foi calculada pela regressão linear da concentração de cada pico e a corresponde área cromatográfica. Para verificar a precisão e exatidão do método, quatro replicatas de cada amostra foram analisadas sob as mesmas condições e foi estimado o desvio padrão relativo ou coeficiente de variação (CV) a partir da Equação (1) para o tempo de retenção de cada pico.

$$CV(\%) = \frac{\sigma}{\mu} \cdot 100 \quad (1)$$

Sendo:

CV: coeficiente de variação

σ: erro padrão

μ: média amostral

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram determinados com base nos parâmetros da curva de calibração, de acordo com a Equação (2) desenvolvida por RIBANI et al. (2004) para o LD e adotando os mesmos critérios para a estimativa do LQ expresso na Equação (3).

$$LD = 3,3 \cdot \frac{z}{a} \quad (2)$$

Sendo:

LD: Limite de detecção

z: coeficiente linear da equação;

a: coeficiente angular da curva analítica

$$LQ = 10 \cdot \frac{z}{a} \quad (3)$$

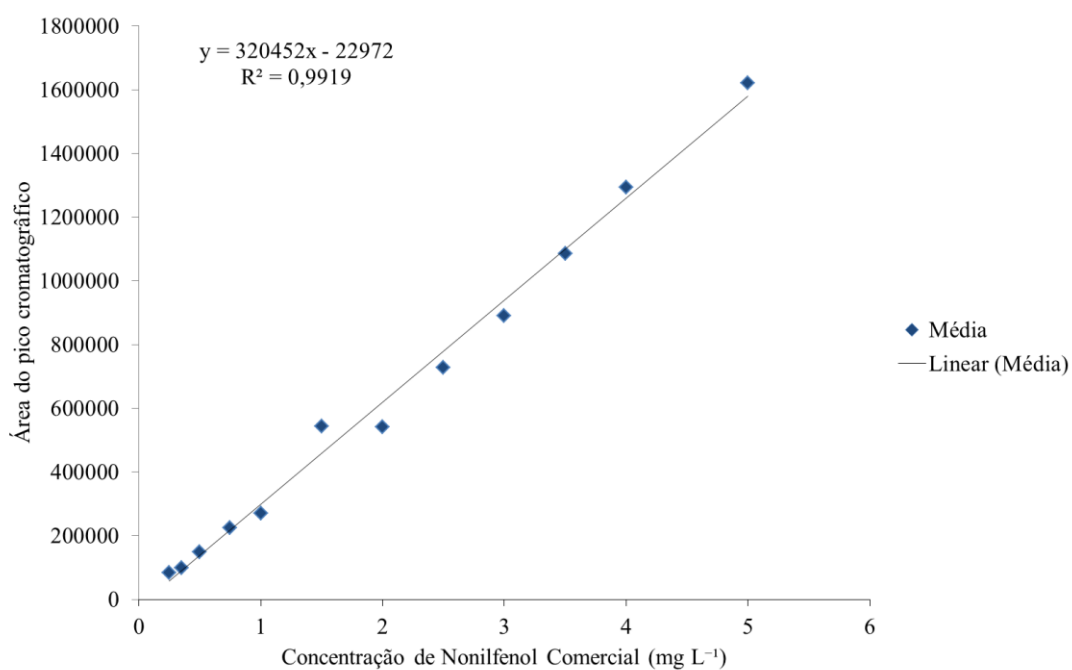
Sendo:

LQ: Limite de quantificação

z: coeficiente linear da equação;

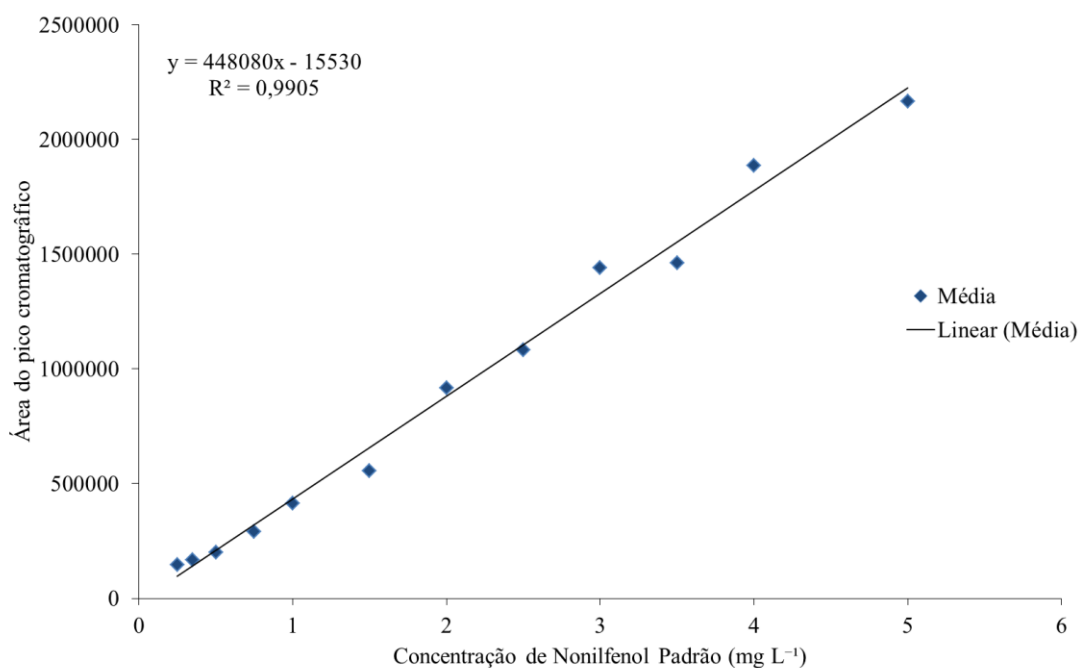
a: coeficiente angular da curva analítica

Figura 4.3 – Curva analítica de quantificação de Nonilfenol Comercial (NFEO)



Fonte: Autoria própria.

Figura 4.4 – Curva analítica de quantificação de Nonilfenol Padrão (4-NF)



Fonte: Autoria própria.

Para os ensaios em batelada e reator EGSB, a composição do biogás foi determinada por cromatografia gasosa de acordo com a metodologia desenvolvida por PERNA et al. (2013). O equipamento utilizado foi Shimadzu® Co., Kyoto Japan, modelo GC-2010 com detector de condutividade térmica, e coluna Supelco Carboxen® 1010 PLOT (30mx0,53mm) e argônio como gás de arraste (5,66 mL min⁻¹). As temperaturas do injetor, detector e da coluna foram 220°C, 230°C e 130°C, respectivamente.

Para os ensaios em batelada, os dados da produção de CH₄ foram ajustados pela equação Gompertz modificada por ZWIETERING et al. (1990) (Equação 4) e o software Origin (versão 9.6.0.172).

$$Y(t) = P \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{Rm \cdot e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (4)$$

Sendo,

$Y(t)$ = razão logarítmica entre a concentração de CH₄ (mL) no tempo t e sua concentração inicial,

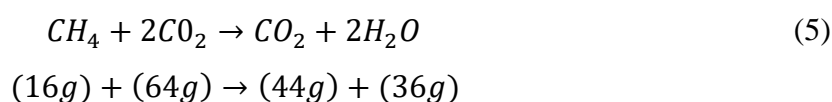
Rm = velocidade máxima de rendimento de CH_4 ($NmLCH_4 g^{-1}DQO_{removida}$),

e = número de Euler (2,71828182),

λ = tempo para o início da produção de CH_4 (h),

P = rendimento máximo de CH_4 ($NmLCH_4 g^{-1}DQO_{removida}$).

Para o reator EGSB, a produção teórica de CH_4 a partir da matéria orgânica degradada no reator EGSB foi calculada seguindo o procedimento descrito em CHERNICHARO (2016) de acordo com as Equações a seguir (5, 6 e 7):



Nas condições normais de temperatura e pressão a produção teórica de metano se determina pela expressão:

$$Q_{CH_4} = DQO_{CH_4} \cdot [f(T)]^{-1} \quad (6)$$

Sendo:

Q_{CH_4} : produção volumétrica de metano ($m^3 d^{-1}$);

DQO_{CH_4} : carga de DQO removida no reator e convertida em metano ($gDQO$);

$f(T)$: fator de correção para a temperatura operacional do reator ($kgDQO m^3$).

$$f(T) = P \cdot K_{DQO} \cdot [R \cdot (273 + T)]^{-1} \quad (7)$$

Sendo:

P : pressão atmosférica (atm);

K_{DQO} : DQO correspondente a um mol de CH_4 ($64 gDQO mol^{-1}$);

R : constante dos gases ($0,08206 atm L mol^{-1} k^{-1}$);

T : temperatura operacional do reator ($^{\circ}C$).

4.8 Balanço de massa

Para o balanço de massa dos reatores em batelada realizou-se a extração do NFEO adsorvido no lodo de inóculo no final de cada experimento. Para o balanço de massas global

no reator EGSB a amostra do leito de lodo foi coletada no final da operação. A extração do NFEO adsorvido no lodo foi realizada seguindo a metodologia desenvolvida por DUARTE et al. (2008).

O balanço de massas foi realizado de acordo com as Equações 8 e 9:

$$\eta_{rem} = \eta_{af} - \eta_{ef} \quad (8)$$

$$\eta_{bdeg} = \eta_{rem} - \eta_{ads} \quad (9)$$

Sendo:

η_{rem} : massa de NFEO removido por processos biológicos e físicos (mg);

η_{af} : massa de NFEO afluyente (mg);

η_{ef} : massa de NFEO efluente (mg);

η_{bdeg} : massa de NFEO removido por processos biológicos (mg);

η_{ads} : massa de NFEO adsorvido no lodo (mg).

Para o cálculo da massa de NFEO que entrou no reator EGSB e que foi recuperada no efluente, utilizou-se a Equação 10:

$$\eta_{(af/ef)} = [C] \cdot Q \cdot t \quad (10)$$

Sendo:

$\eta_{(af/ef)}$: massa de NFEO acumulado no afluyente/efluente do reator EGSB (mg);

[C]: concentração de NFEO (mg L^{-1});

Q: vazão afluyente/efluente (L d^{-1}) aplicada no reator EGSB;

t: tempo de operação do reator EGSB (d).

Para o cálculo da massa de NFEO adsorvida no lodo do reator EGSB foi utilizada a Equação 11:

$$\eta_{ads} = [C] \cdot \beta \cdot V \quad (11)$$

Sendo:

m_{ads} : massa de NFEO adsorvida no lodo;

[C]: concentração de NFEO (mg gST^{-1}) extraída do lodo;

B: sólidos totais do lodo do reator (g L^{-1});

V: volume de lodo no reator EGSB (L).

4.9 Granulometria

A análise granulométrica, tanto do inóculo, quanto da manta de lodo no final de cada fase de operação foi realizada por meio de Software Image-Pro Plus 4.5 para o tratamento das imagens, contagem e medição do diâmetro médio dos grânulos, entretanto, para as análises estatísticas dos dados utilizou-se o software Microsoft Office Excel de acordo com metodologia desenvolvida por ALVES et al. (2018).

4.10 Análise de biologia molecular

4.10.1 Extração de DNA

Nos ensaios em batelada, as amostras de lodo foram coletadas dos ensaios de validação (condição otimizada) ao finalizar cada experimento. Entretanto, no reator EGSB, as amostras foram coletadas ao final das fases de operação (I, III, IV e V). Após coleta, todas as amostras foram lavadas com solução salina tamponada com fosfato (PBS) (NaCl 8%, KCl 0,2%, Na_2HPO_4 1,4%, KH_2PO_4 0,24%) (GREEN e SAMBROOK, 2012) e armazenadas a -80°C até o uso. O DNA do genoma total das amostras foi extraído usando o kit FastDNA™ SPIN for Soil DNA Extraction (MP Biomedicals). A quantificação do DNA ($\text{ng}/\mu\text{L}$) e a pureza foram realizadas usando espectrofotômetros Nanodrop 2000 (ThermoFisher Scientific) e a integridade foi analisada usando agarose 0,8%.

4.10.2 Sequenciamento de alto rendimento

Após extração do DNA foi realizado o sequenciamento de alto rendimento pela empresa GenOne Biotechnologies na cidade de Rio de Janeiro – RJ (www.genone.com.br). As regiões V3–V4 dos genes RNAr 16S foram amplificadas a partir do DNA genômico microbiano usando o iniciadores específicos (341F/806R). As reações de PCR foram realizadas com Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs). Para o

sequenciamento foi utilizada a plataforma PE250 *Illumina* que gerou 250 bp *paired-end reads*.

As etapas de tratamento para a remoção de iniciadores de sequência e códigos de barras, filtragem de sequências de baixa qualidade e quimeras, fusão de leituras emparelhadas e agrupamento em unidades taxonômicas operacionais (OTUs) com $\geq 97\%$ de similaridade foram conduzidas usando o pipeline DADA2 versão 1.16 (CALLAHAN et al., 2016) no software R, bem como os índices de diversidade α (Chao1, táxons observados, Shannon-Wiener e Simpson). SILVA SSU 138.1 rRNA Database Project (versão de 10 de março de 2021) (FRANCIOLI et al., 2021) foi usado para atribuição taxonômica. Os dados das sequências estão disponíveis no GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) com os números de acesso PRJNA736670 e PRJNA680770 referentes as amostras dos ensaios em batelada (condição otimizada) e do reator EGSB, respectivamente.

Os genes potenciais que codificam enzimas envolvidas no processo, com foco na produção de CH₄, foram inferidos usando o pacote *Tax4Fun2* versão 1.1.6 (WEMHEUER et al., 2020) em linguagem de programação R, baseada na Enciclopédia de Genes e Genomas de Kyoto (KEGG), com 97% de similaridade.

4.11 Análise estatística

No reator EGSB, para verificar as diferenças significativas entre os parâmetros foi utilizado o software PAST 4.02. Shapiro-Wilks foi usado para verificar a normalidade e, em seguida, ANOVA *One-way* foi aplicada para comparar as amostras entre as fases. Os *p-values* menores que 0,05 foram considerados significativos com intervalo de confiança de 95%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ensaios em reatores em batelada

5.1.1 Remoção de NFEO em função da adição de extrato de levedura e fumarato de sódio

Baseando-se na hipótese de que a adição de nutrientes e cossustrato metabólico favorece a remoção do NFEO em codigestão com esgoto doméstico, foi investigada a influencia do extrato de levedura e fumarato de sódio na remoção de NFEO em esgoto doméstico sob condição fermentativa – metanogênica. Por meio do DCCR foi possível determinar os efeitos únicos e combinados das variáveis adotadas na variável resposta.

Remoção de NFEO (Y) entre 37% e 97% foi obtida para faixa de NFEO de 1,62 – 5,82 mg L⁻¹; ELV= 131,82 – 468,18 mg L⁻¹ e FS= 97,73 – 602,27 mg L⁻¹ (Tabela 5.1). A maior remoção foi observada para a condição com a maior concentração de NFEO (5,82 mg L⁻¹) com 300 mg L⁻¹ de extrato de levedura e 350 mg L⁻¹ de fumarato de sódio (ensaio 12), seguido das condições do ensaio 7 (96% para ~5 mgNFEO L⁻¹), ensaio 4 para ~ 5 mgNFEO L⁻¹(no qual também observou-se a maior remoção de matéria orgânica, 96% para 584 mg L⁻¹ de DQO) e ensaio 2 com eficiência de remoção de 95% para 2,5 mgNFEO L⁻¹. Além disso, foi observada pequena variabilidade entre as respostas para os pontos centrais, indicando boa repetitividade do processo.

Pode-se observar que para NFEO na faixa de 2,5 a 5,0 mg L⁻¹ e FS na faixa de 200 - 500 mg L⁻¹, o aumento da concentração de ELV resultou em incremento na remoção de NFEO, exceto no ensaio 8 (contendo a maior concentração de matéria orgânica – 934 DQO mg L⁻¹). Em geral, neste estudo, a remoção de NFEO em esgoto doméstico foi maior em comparação com os resultados prévios obtidos via digestão anaeróbia. Acredita-se que a aplicação de cossustrato acelera as reações de bio-oxidação e estimula as enzimas funcionais que resultam no aumento da degradação dos compostos tóxicos recalcitrantes (NDAYISENGA et al., 2021). Por exemplo, PATERAKIS et al. (2012) estudaram a degradação anaeróbia de NFEO (7 - 10 mg d⁻¹) em temperatura mesofílica (35 °C) e termofílica (55 °C) em digestores de lodo em UASB (1,5 L). Os autores observaram remoção de 58% e 90%, no digestor mesofílico e termofílico, respectivamente. MURDOCH et al. (2018) obtiveram remoção de 90% para 3 mg L⁻¹ de NF2EO também em UASB em

escala de bancada. Em ambos os estudos citados, não foram utilizados cossustratos metabólicos nem mesmo suplementação de nutrientes. LUPPI et al. (2007) avaliaram a influência de nitrato como acceptor de elétrons na degradação anaeróbia de NFEO em meio mineral em reatores em batelada. Sob tais condições foi observada completa remoção para 300 mg L⁻¹ de NFEO. Por outro lado, também foi observada degradação quase completa para 0,5 mgNFEO L⁻¹ em reatores em batelada usando sulfato de sódio (1,5 mmol L⁻¹) com acceptor elétrons (LIAN e LIU, 2013). Com relação aos ensaios do DCCR no presente trabalho, constatou-se que a condição nutricional pode influenciar significativamente na eficiência do tratamento. Nesse sentido, a adição de ELV e FS nas concentrações supracitadas favoreceu maior remoção e degradação de NFEO.

Tabela 5.1 – Variáveis independentes e remoção de NFEO dos ensaios DCCR

Ensaio	ELV (mg L ⁻¹)	NFEO (mg L ⁻¹)	FS (mg L ⁻¹)	Remoção NFEO (%)
	<i>x₁</i>	<i>x₂</i>	<i>x₃</i>	<i>Y</i>
1	200,00	2,65	200,00	37
2	400,00	2,48	200,00	95
3	200,00	4,95	200,00	90
4	400,00	5,03	200,00	95
5	200,00	2,54	500,00	90
6	400,00	2,48	500,00	92
7	200,00	4,96	500,00	96
8	400,00	4,96	500,00	64
9	131,82	3,74	350,00	82
10	468,18	3,72	350,00	88
11	300,00	1,62	350,00	90
12	300,00	5,82	350,00	97
13	300,00	3,72	97,73	91
14	300,00	3,69	602,27	81
15	300,00	3,73	350,00	65
16	300,00	3,71	350,00	64
17	300,00	3,78	350,00	63

ELV: extrato de levedura; NFEO: nonilfenol etoxilado; FS: fumarato de sódio.

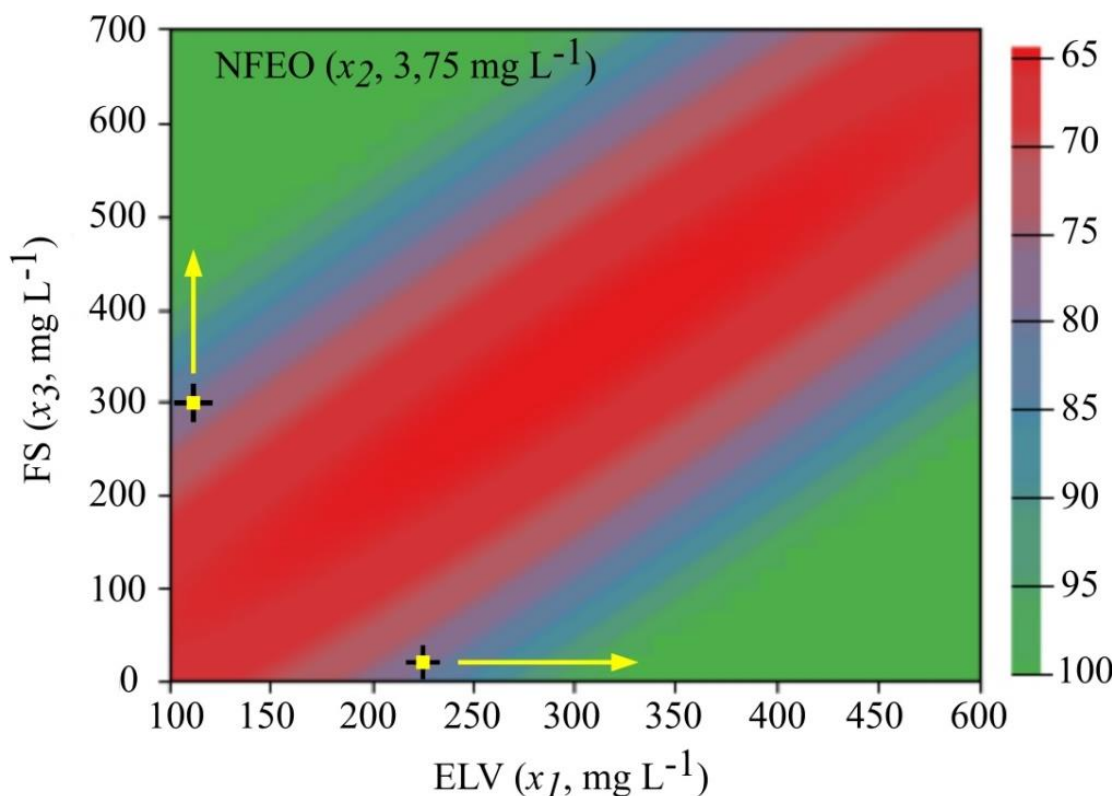
Fonte: Autoria própria.

Além disso, por meio da análise de superfície de resposta pode-se verificar eficiência de remoção superior a 80% a partir de 300 mg L⁻¹ de FS, com 3,75 mg NFEO L⁻¹ e

concentração mínima de ELV de 100 mg L^{-1} (Figura 5.1). O FS é cossubstrato potencial que auxilia na degradação de surfactantes favorecendo a atividade metabólica de muitas populações microbianas. DORNELLES et al. (2020b) observaram remoção de $74 \pm 17\%$ para 4-NF ($\sim 0,5 \text{ mg L}^{-1}$) usando reatores anaeróbios em batelada alimentados com substrato sintético contendo fumarato ($1161 \pm 38 \text{ mg L}^{-1}$). Todavia a concentração de fumarato de sódio aplicada neste estudo foi menor (até 602 mg L^{-1}) em comparação com DORNELLES et al. (2020b), resultando em maior eficiência de remoção. MOTTERAN et al. (2020), por sua vez, obtiveram eficiência de remoção semelhante (98%) para 26 mg L^{-1} LAS em reatores anaeróbios em batelada, com fumarato ($\sim 230 \text{ mg L}^{-1}$) como cossubstrato metabólico. De acordo com os autores, o fumarato atua como doador de elétrons fornecendo energia para microrganismos.

Neste estudo, é evidente que o uso de ELV e FS favoreceu maior remoção de NFEO, todavia para otimizar o processo é importante determinar a concentração ideal de ambos os substratos para cada condição específica. Na Figura 5.1 observa-se também que eficiência semelhante ($> 80\%$) pode ser obtida a partir de concentração aproximada de 225 mgELV L^{-1} sem a necessidade de adicionar FS. Além disso, pode-se notar que um incremento na concentração de ELV resulta em um incremento na remoção de NFEO. Desse modo, com 272 mg L^{-1} e 300 mg L^{-1} de ELV atuando como único substrato poderia ser obtida remoção de NFEO aproximada de $90,6 \pm 13,8\%$ e $97,3 \pm 13,1\%$, respectivamente. Ao contrário, o uso de FS como cossubstrato requer a adição de concentração mínima de ELV (100 mg L^{-1}) para alcançar remoções similares de NFEO.

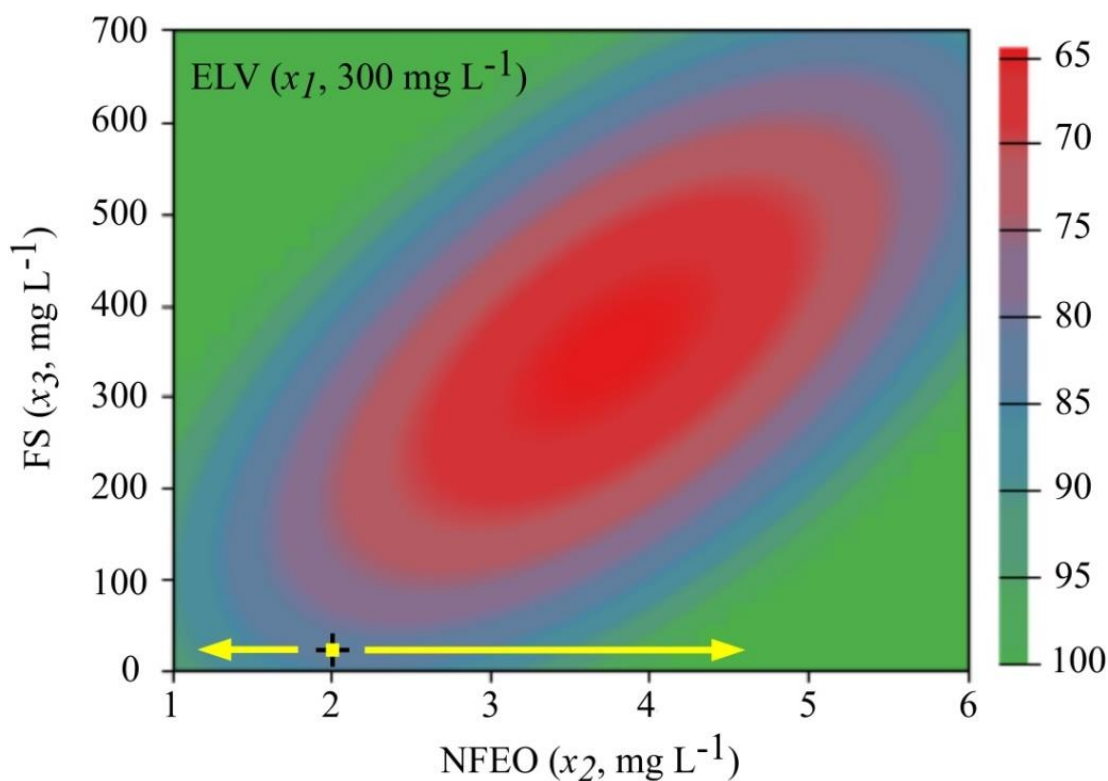
Figura 5.1 – Curva de contorno para a remoção de NFEO em função da concentração fixa de nonifenol etoxilado (NFEO)



Fonte: Autoria própria.

Na Figura 5.2 pode-se observar que para uma concentração fixa de ELV em 300 mg L^{-1} , a remoção de NFEO oscila entre $84,5 \pm 17,1$ e 100% com a menor remoção observada para $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de NFEO. Ademais, pode-se notar que para concentrações de NFEO superiores a $4,0 \text{ mg L}^{-1}$, um incremento na concentração de FS causa diminuição na remoção de NFEO ($<80\%$). Ressalta-se também a concentração de ELV e FS que leva à maior remoção de NFEO é de 300 mg L^{-1} e 350 mg L^{-1} , respectivamente. Esses valores estão dentro da faixa usualmente empregada para melhorar a degradação de compostos fenólicos.

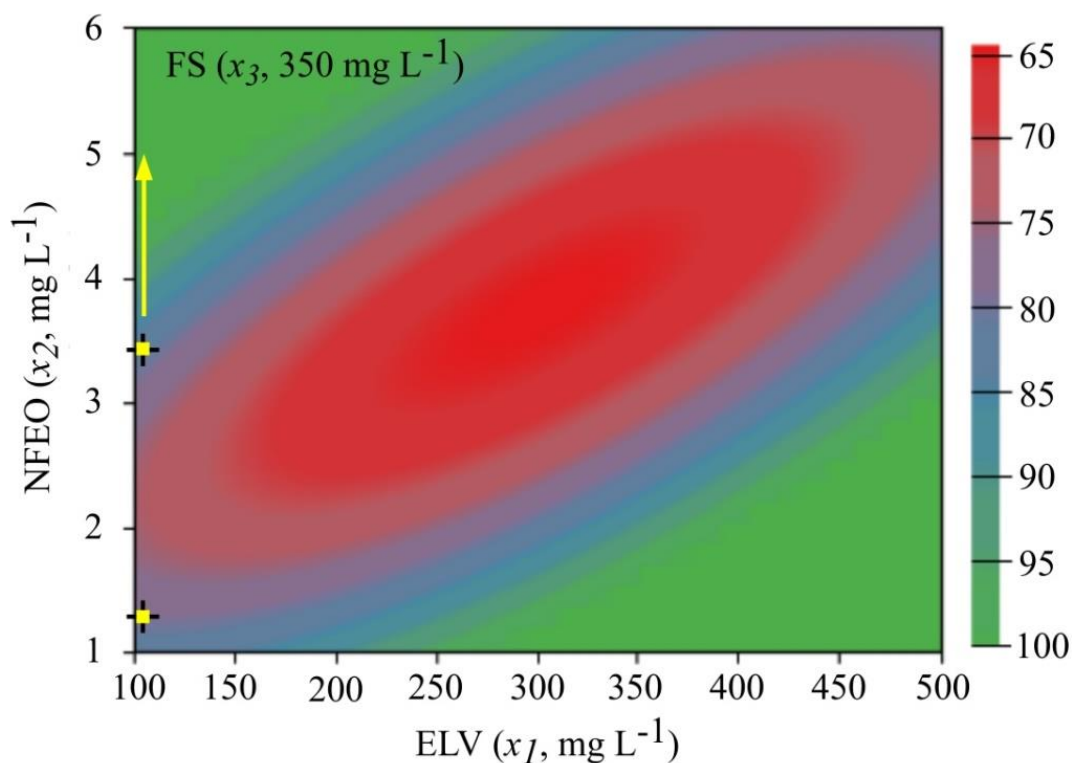
Figura 5.2 – Curva de contorno para a remoção de NFEO em função de concentração fixa de extrato de levedura (ELV)



Fonte: Autoria própria.

Na Figura 5.3 pode-se visualizar que dadas as concentrações de FS= 350 mg L^{-1} e ELV= 100 mg L^{-1} , remoção de NFEO entre $74,3 \pm 13,5\%$ e 100% pode ser obtida, com o menor valor observado para $2,1 \text{ mg de NFEO L}^{-1}$. Além disso, para concentrações inferiores ($<2,1 \text{ mg L}^{-1}$) de NFEO, um aumento na concentração de ELV resulta em maior eficiência de remoção de NFEO. Entretanto, para concentrações de NFEO superiores a 4 mg L^{-1} , a adição de ELV resultaria em menor eficiência de remoção de NFEO. O mesmo comportamento é observado quando a concentração de FS é aumentada ($>350 \text{ mg L}^{-1}$), em presença de 300 mg L^{-1} de ELV. Provavelmente, 4 mg NFEO L^{-1} seja o limite de tolerância dos microrganismos frente à toxicidade do NFEO, cuja preferência metabólica tenha sido para os compostos facilmente biodegradáveis, como FS e ELV.

Figura 5.3 – Curva de contorno para a remoção de NFEO em função de concentração fixa de fumarato de sódio (FS)



Fonte: Autoria própria.

Em geral, observa-se que ELV, bem como FS, podem favorecer maior remoção de NFEO em esgoto doméstico, se aplicados na concentração apropriada, isto é, quantidades inadequadas, muitas vezes podem causar prejuízo no processo ao invés de favorecê-lo. A partir da análise da superfície de resposta, foi possível inferir que a maior remoção de NFEO pode ser obtida utilizando apenas 300 mg L⁻¹ de extrato de levedura. ZHOU et al. (2011), por sua vez, observaram que o ELV (410 mg L⁻¹) influenciou significativamente na degradação de fenol via delineamento composto central (DCC) e MSR. BAI et al. (2017) observaram que a adição de 500 mg L⁻¹ de ELV favoreceu a biodegradação de NF (100 - 1000 mg L⁻¹). De acordo com ARULAZHAGAN et al. (2010), nos ensaios com ELV (200 mg L⁻¹) foi favorecida a biodegradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) como naftaleno, fluoreno, antraceno e fenantreno. Neste estudo, por meio do MSR foram observadas eficiências de remoção superiores a 80% de NFEO (3,75 mg L⁻¹) a partir de 225 mgELV L⁻¹, o que está dentro da faixa de valores apresentados na literatura como favoráveis na degradação de compostos recalcitrantes.

Além disso, nas condições testadas, a adição de surfactante não afetou a remoção de matéria orgânica e foi observada eficiência superior a 80% para todos os reatores (Tabela

5.2). A menor remoção foi observada no reator 9 (ELV= 131,82 mg L⁻¹; NFEO= 3,75 mg L⁻¹; FS= 350 mg L⁻¹) para 362,7 mg DQO L⁻¹. Outros autores também verificaram remoção de matéria orgânica na presença de composto recalcitrante. Por exemplo, DORNELLES et al. (2020a) obtiveram remoção de 90% (para >878 mgDQO L⁻¹) em reator anaeróbio de leito fluidizado (RALF) alimentado com substrato sintético contendo 4-NF (até 376 ± 36 µg L⁻¹). ANDRADE et al. (2017a) observaram eficiência semelhante (86% para 617 mgDQO L⁻¹) com LAS (~19 mg L⁻¹) na mesma configuração reacional.

Os valores de alcalinidade foram suficientes (alcalinidade total de 418 - 590 mgCaCO₃ L⁻¹ e 675 - 963 mgCaCO₃ L⁻¹ no início e no final de cada experimento, respectivamente) para fornecer boa capacidade tampão e também manter os valores de pH próximos da neutralidade (7,4 - 7,8), promovendo equilíbrio no processo e consequentemente condição ótima para os microrganismos degradarem o NFEO (Tabela 5.2).

Equação polinomial de segunda ordem (Equação 12) para a remoção de NFEO foi obtida via modelo em função das variáveis codificadas, contendo apenas os termos estatisticamente significativos.

$$Y = 5,81x_1^2 + 8,82x_2^2 + 6,17x_3^2 - 10,87x_1x_2 - 11,62x_1x_3 - 9,37x_2x_3 + 64,47 \quad (12)$$

Sendo, Y= a remoção NFEO predito; x_1 , x_2 e x_3 = valores codificados de ELV, NFEO e FS, respectivamente.

Tabela 5.2 – Remoção de matéria orgânica, pH e alcalinidade para todas os ensaios do DCCR

Ensaio	DQO			pH		*Alcalinidade					
	Inicial (mg L ⁻¹)	Final (mg L ⁻¹)	Remoção (%)	Inicial	Final	Inicial			Final		
						Parcial	Intermediária	Total	Parcial	Intermediária	Total
1	568,0	78,8	86	7,4	7,6	320,1	151,3	471,4	537,3	197,2	734,5
2	650,0	48,4	93	7,7	7,7	292,4	145,7	438,2	602,4	159,6	762,0
3	494,0	81,3	84	7,7	7,5	280,4	136,5	417,0	519,3	161,4	680,8
4	584,0	23,2	96	7,7	7,6	268,4	142,1	410,5	559,0	162,4	721,4
5	654,7	71,3	89	7,8	7,7	301,6	181,7	483,4	695,5	165,1	860,7
6	567,3	71,3	87	7,8	7,7	297,0	198,3	495,4	709,4	221,4	930,8
7	570,7	40,3	93	7,7	7,6	277,7	167,9	445,5	616,2	176,2	792,4
8	934,0	73,8	92	7,3	7,6	345,9	244,5	590,4	784,1	163,7	947,8
9	362,7	71,7	80	7,8	7,7	288,7	165,1	453,9	593,1	152,2	745,3
10	812,7	80,7	90	7,6	7,5	290,6	166,0	456,6	687,2	203,9	891,1
11	412,0	55,3	87	7,8	7,6	293,3	168,8	462,2	658,6	155,0	813,6
12	598,0	45,3	92	7,7	7,6	264,7	153,1	417,9	595,9	172,5	768,4
13	542,0	75,3	86	7,7	7,6	279,5	139,3	418,8	528,6	146,7	675,2
14	605,3	38,5	94	7,8	7,7	290,6	203,9	494,4	761,0	202,0	963,0
15	786,0	89,9	89	7,3	7,5	332,1	204,8	536,9	653,1	176,2	829,3
16	776,0	89,9	88	7,3	7,5	328,4	202,9	531,3	653,1	176,2	829,3
17	800,0	89,9	89	7,5	7,5	339,5	207,6	547,0	653,1	176,2	829,3

*Alcalinidade (mgCaCO₃ L⁻¹); DQO: demanda química de oxigênio.

Fonte: Autoria própria.

Observou-se valores estatisticamente significativos para os termos quadráticos e termos de interação linear para o nível de significância estabelecido *a priori* (5%). Além disso, para todas as variáveis analisadas, a interação entre ELV (x_1) e FS (x_3) foram os termos observados com maior valor de significância, conforme apresentado na Tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Coeficientes de regressão para a resposta Y (%)

Fatores	CR	Σ	t(7)	p-valor
Média	64,47	4,17	15,45	0,0000
x_1	3,16	1,96	1,61	0,1514
x_1^2	5,81	2,16	2,70	0,0308
x_2	3,13	1,96	1,60	0,1540
x_2^2	8,82	2,16	4,09	0,0046
x_3	0,60	1,96	0,31	0,7687
x_3^2	6,17	2,16	2,86	0,0244
$x_1 \cdot x_2$	-10,88	2,56	-4,25	0,0038
$x_1 \cdot x_3$	-11,63	2,56	-4,54	0,0027
$x_2 \cdot x_3$	-9,38	2,56	-3,66	0,0081

CR: Coeficiente de regressão; σ : erro padrão.

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a ANOVA, a porcentagem de variação explicada (R^2) pelo modelo foi de 86%. Esse valor é satisfatório para processos que envolvem microrganismos em matrizes altamente complexas. Além disso, o valor $F_{\text{calculado}}$ (10,0) do modelo foi maior do que o valor F_{tabelado} padrão (3,22). Portanto, o modelo usado é adequado para avaliar o comportamento da variável resposta (remoção de NFEO – Y) em função da variação das variáveis independentes (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 – ANOVA para o modelo de remoção de NFEO

FV	SQ	GL	QM	F_{cal}
Regressão	3838,6	6	639,8	10,0
Resíduos	641,9	10	64,2	
Falta de ajuste	639,9	8	80,0	80,0
Erro puro	2,0	2	1,0	
Total	4480,5	16		

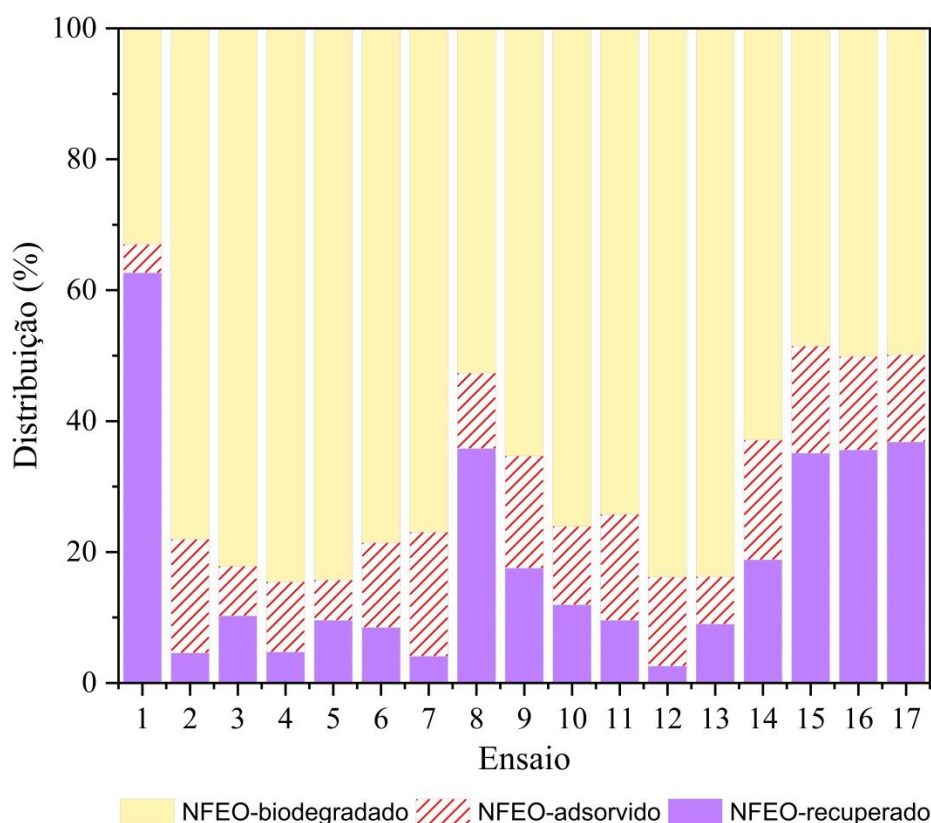
FV: fontes de variação; SQ: soma de quadrados; GL: graus de liberdade; QM: quadrados médios; F_{cal} : F calculado.

Fonte: Autoria própria.

5.1.2 Balanço de massas

A análise do balanço de massa foi realizada no final de cada experimento dos reatores em batelada do DCCR. Os valores da fração adsorvida, recuperada na fase líquida e biodegradada em relação à massa total de NFEO removida em cada experimento, são apresentados na Figura 5.4.

Figura 5.4 – Balanço de massa final de NFEO para cada experimento



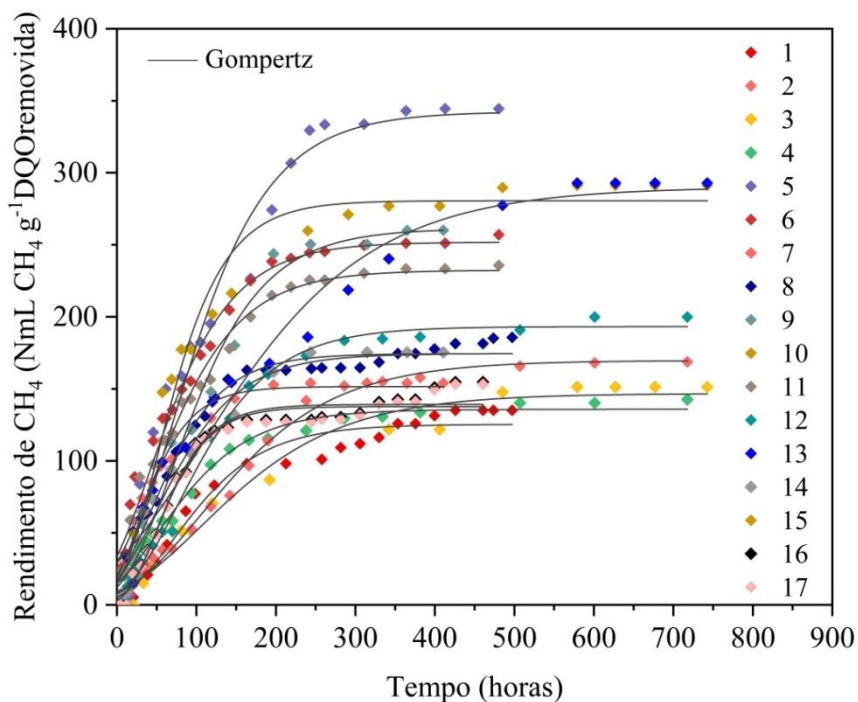
Fonte: Autoria própria.

Em relação à porcentagem de NFEO adsorvido no lodo verificou-se entre 4,4% e 19% para $\sim 0,80 \text{ mgNFEO g}^{-1}\text{ST}$. O valor máximo e mínimo foi observado no ensaio 7 e 1, respectivamente (Figura 5.4). A porcentagem recuperada da fase líquida foi na faixa de 4,10% (ensaio 12 com $\sim 1,2 \text{ mg mgNFEO g}^{-1}\text{ST}$) a 62,60% (ensaio 1 com $\sim 0,8 \text{ mgNFEO g}^{-1}\text{ST}$). Assim, observou-se 33,0% a 84,5% de degradação de NFEO cujo valor máximo foi observado no ensaio 4 ($\text{ELV} = 400 \text{ mg L}^{-1}$, $\text{NFEO} = 5 \text{ mg L}^{-1}$, $\text{FS} = 200 \text{ mg L}^{-1}$). Deve-se considerar que o NFEO é um composto altamente hidrofóbico, com um coeficiente de partição octanol-água ($\log K_{ow}$) superior a 4, sendo um dos principais fatores que influencia

o processo de adsorção em um composto. Nesta pesquisa observou-se adsorção de 19 % em relação à massa de NFEO adicionada em cada reator. Por exemplo, no caso de NF, rápida e completa adsorção tem sido observada (90% para 4,5 mg L⁻¹ de NF em apenas uma hora) (BOUKI et al., 2010). Em lodo proveniente de ETE, NFEO foi observado em 5,5 mg g⁻¹ e 19,5 mg g⁻¹ (ÖMEROĞLU et al., 2015), o que provavelmente está relacionado com a área superficial e a porosidade das partículas sólidas. Por exemplo, foram observados na areia, valores de adsorção de 3,9 - 4,5 µg g⁻¹ em reator anaeróbio de leito fluidificado (DORNELLES et al., 2020a). Neste estudo a maior concentração adsorvida foi de 0,17 mg NFEO g⁻¹ST, provavelmente devido ao reduzido conteúdo de sólidos suspensos no esgoto e ao tipo de inóculo utilizado nos ensaios (grânulos finos com diâmetro médio menor que 1,0 mm e área superficial relativamente pequena).

5.1.3 Rendimento de metano

Em relação à produção de metano nos ensaios sob diferentes condições do DDCR foi observado rendimento entre 125,4 ± 3 a 342,4 ± 1 NmLCH₄ g⁻¹DQO_{removida} (Figura 5.5 e Tabela 5.5). O valor máximo de produção metano ($P= 342,4 \pm 1$ NmLCH₄ g⁻¹DQO_{removida}) foi observado no ensaio 5 (ELV= 200 mg L⁻¹; NFEO= 2,51 mg L⁻¹; FS= 500 mg L⁻¹), equivalente a 98% do valor teórico, dado que, teoricamente, cada grama de matéria orgânica (analisada via DQO) removida rende 350 mL de CH₄. O menor rendimento foi observado no ensaio 1 com similar concentração de ELV= 200 mg L⁻¹ e NFEO= 2,65 mg L⁻¹ e menor concentração de FS= 200 mg L⁻¹ em comparação com o ensaio 5. Provavelmente, o incremento na concentração de FS favoreceu maior produção de metano. Por outro lado, observou-se decréscimo no rendimento de metano com o incremento na concentração de NFEO (-1 para +1), sugerindo inibição devido à toxicidade de NFEO.

Figura 5.5 – Rendimento de CH₄ para os ensaios do DCCR.

Fonte: Autoria própria.

Tabela 5.5 – Parâmetros de Gompertz para metano nos ensaios do DCCR

Ensaio	P (NmL g ⁻¹ DQOrem)	Rm (NmL g ⁻¹ DQOrem h ⁻¹)	λ (h)	R^2
1	125,4 ± 3	0,7 ± 0,09	9,2 ± 8	0,97
2	151,6 ± 4	1,6 ± 0,17	0,1 ± 5	0,97
3	146,7 ± 5	0,5 ± 0,07	3,4 ± 1	0,97
4	135,8 ± 3	0,8 ± 0,06	0,1 ± 5	0,98
5	342,4 ± 1	1,9 ± 0,19	1,8 ± 8	0,97
6	251,9 ± 5	1,6 ± 0,11	0,1 ± 4	0,98
7	169,7 ± 3	0,7 ± 0,03	11,3 ± 4	0,99
8	174,4 ± 2	1,3 ± 0,09	0,2 ± 4	0,98
9	261,3 ± 9	1,5 ± 0,14	7,6 ± 6	0,98
10	280,6 ± 6	2,2 ± 0,21	3,6 ± 6	0,98
11	232,4 ± 5	1,4 ± 0,10	0,1 ± 7	0,98
12	193,2 ± 3	1,1 ± 0,05	11,6 ± 3	0,99
13	290,2 ± 1	0,9 ± 0,10	0,1 ± 8	0,96
14	174,3 ± 6	1,1 ± 0,13	0,2 ± 5	0,97
15	139,2 ± 2	1,4 ± 0,11	12,3 ± 4	0,98
16	139,2 ± 2	1,4 ± 0,11	12,3 ± 4	0,98
17	137,7 ± 2	1,4 ± 0,11	12,3 ± 4	0,98

P : rendimento máximo de CH₄; Rm : velocidade máxima de rendimento de CH₄; λ : tempo para o início da produção de biogás; DQOrem: demanda química de oxigênio removida.

Fonte: Autoria própria.

De modo geral, sob tais condições experimentais foi obtido maior rendimento de metano, em comparação com pesquisas anteriores sobre degradação de surfactante. PUTEH et al. (2015) avaliaram a biodegradação anaeróbia de NFEO (20 mg L⁻¹ de IGEPAL CO-630) atuando como única fonte de carbono, com rendimento de metano de 37% a partir do valor teórico (12 mLCH₄ de produção máxima acumulada). MARONE et al. (2016) obtiveram 109 ± 21 NmLCH₄ g⁻¹DQO_{removida} em sistema bioeletroquímico em escala de bancada, aplicado para o tratamento de águas residuárias contendo altos níveis de compostos fenólicos (por exemplo, hidroxitirosol, tirosol). Todavia, neste estudo foram aplicadas concentrações de NFEO de até 5,82 mg L⁻¹, portanto é possível que tal concentração esteja dentro da faixa de tolerância dos microrganismos. Soma-se a isso a suplementação de ELV e FS contribuíram para o desenvolvimento dos microrganismos.

O maior R_m ($2,2 \pm 0,21$ NmL g⁻¹DQO_{removida} h⁻¹) foi observado para o ensaio 10, contendo NFEO= 3,75 mg L⁻¹, FS= 350 mg L⁻¹ e a maior concentração de ELV= 468,18 mg L⁻¹. Entretanto, o menor valor de R_m ($0,5 \pm 0,07$ NmL g⁻¹DQO_{removida} h⁻¹) foi observado no ensaio 3, com NFEO= 4,95 mg L⁻¹; FS= 200 mg L⁻¹ e ELV= 200 mg L⁻¹. Provavelmente, o aumento da concentração de NFEO não foi favorável ao desenvolvimento das atividades enzimáticas dos microrganismos.

O maior λ ($12,3 \pm 4$ h) foi observado nos pontos centrais, ensaios 15-17 (ELV= 300 mg L⁻¹; NFEO= 3,7 mg L⁻¹, FS= 350 mg L⁻¹). Entretanto, o menor valor de λ ($0,1 \pm 4$ h) foi observado no ensaio 6 contendo maior concentração de substrato facilmente degradável (ELV= 400 mg L⁻¹ e FS= 500 mg L⁻¹) e menor concentração de NFEO (2,48 mg L⁻¹). Provavelmente, o aumento da concentração de ELV e FS pode ter contribuído para mitigar o efeito inibitório do NFEO (que ademais se encontrava em menor concentração em comparação com os ensaios 15-17) na atividade microbiana, resultado em menor tempo para o início da produção de metano.

MOTTERAN et al. (2014b) observaram λ de ~9 horas para concentrações maiores de álcool etoxilado (> 7 mg L⁻¹) e LAS (> 16 mg L⁻¹) em água residuária de lavanderia comercial. Quanto mais hidrofóbica é uma molécula, maior é sua permeabilidade de membrana e maior é sua toxicidade (KAYEMBE et al., 2013). NFEO tem maior hidrofobicidade (Log Kow > 4) em comparação com AE e LAS, cujos valores são menores que 3 (HODGES et al., 2019).

Apesar de ter observado na superfície de resposta que a maior remoção (até 100%) de NFEO pode ser obtida usando apenas ELV (300 mg L⁻¹), optou-se por validar o modelo

considerando as condições do ensaio 4; ou seja, ELV= 400 mg L⁻¹; NFEO= 5,03 mg L⁻¹ e FS= 200 mg L⁻¹, considerando que FS pode auxiliar muito na degradação de compostos fenolicos, tais com NFEO (WEI et al., 2015).

Além disso, segunda validação foi realizada com base no ensaio 5 (ELV=200 mg L⁻¹; NFEO= 2,54 mg L⁻¹ e FS= 500 mg L⁻¹) em que a maior concentração de metano foi observada juntamente com eficiência de remoção de NFEO e matéria orgânica de 90% e 89%, respectivamente. Na Tabela 5.6 são apresentados os valores preditos e experimentais para a remoção de NFEO, obtidos nos ensaios de validação do modelo (4V e 5V).

Os valores experimentais (97% e 93% para os ensaios 4V e 5V, respectivamente) são similares aos preditos pelo modelo, com erro de precisão mínimo (<2%). Na ausência de ELV e FS, a remoção de NFEO foi inferior a 45%, como pode ser observado na Tabela 5.6 para os ensaios controle (C4 e C5). Além disso, a remoção de matéria orgânica nos ensaios de validação também foi semelhante aos obtidos na primeira fase experimental (92% e 95% para o ensaio 4V e 5V, respectivamente). Nos ensaios controle, a remoção de matéria orgânica obtida foi de apenas 24% para ~207 mgDQO L⁻¹ inicial (Tabela 5.7), provavelmente, devido à complexidade dos compostos orgânicos presentes no esgoto doméstico, tais como ácidos orgânicos, cetona, álcoois e XOCs (MOURA et al., 2019). Neste estudo, pelo método utilizado, acetona (~3 mg L⁻¹), metanol (1 - 5 mg L⁻¹) e etanol (2 - 7 mg L⁻¹) foram observados no início e no final cada experimento.

Conforme era esperado, constatou-se nos ensaios de validação (4V e 5V) que o principal mecanismo de remoção de NFEO foi a biodegradação (~87%), similar aos resultados obtidos nos ensaio 4 e 5 do DCCR, a partir dos quais foram realizados os ensaios de validação do modelo e apresentados anteriormente. Ademais, a partir dos resultados obtidos nos ensaios controle pode-se corroborar que a adição de ELV e FS favoreceu maior remoção e degradação de NFEO, sendo que foi observada diferença significativa na eficiência de remoção (<45%) na ausência de ambos os substratos (Tabela 5.6). Corroborando também, a hipótese da influencia positiva da suplementação de nutrientes e cossustratos metabólicos, na remoção de NFEO em codigestão com esgoto doméstico. Além disso, em ambos os ensaios (4V e 5V) os valores de pH observados (inicial e final) foram próximos da neutralidade (6 - 8) juntamente com alcalinidade inicial relativamente alta (>350 mgCaCO₃ L⁻¹ de alcalinidade total, a qual aumento em ~200% ao final dos experimentos), mantendo boa capacidade tampão em ambos os reatores e contribuindo a sucesso do processo.

O rendimento de metano obtido em ambos os ensaios também foi como esperado (Tabela 5.6 e Figura 5.6). O maior valor de P ($336 \pm 9 \text{ NmL g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}} - 96\%$ do valor teórico) foi observado no ensaio V5, que também teve o maior tempo para o início da produção de metano ($\lambda = 27 \pm 8 \text{ h}$) e maior velocidade máxima de rendimento de metano ($Rm = 2 \pm 0,2 \text{ NmL g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}} \text{ h}^{-1}$) em comparação com o ensaio 4V ($P = 134 \pm 4 \text{ NmL g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}} - 38\%$ do valor teórico; $\lambda = 24 \pm 8 \text{ h}$ e $Rm = 0,5 \pm 0,04 \text{ NmL g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}} \text{ h}^{-1}$). Ao contrário, nos ensaios controle, P foi apenas 2% e 16% do valor teórico no ensaio C5 e C4, respectivamente. Com valores de λ da ordem de até cinco vezes maior do que nos ensaios 4V e 5V (90 a 106 h) que resultaram em baixos Rm ($< 0,14 \text{ NmL g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}} \text{ h}^{-1}$).

A partir desses resultados é possível inferir que o potencial metanogênico foi influenciado pela presença ou ausência de ELV e FS similar ao observado em outros estudos. Por exemplo, SOUTO et al. (2010) avaliaram a influência de vários fatores (relação alimento/microrganismo, ausência/presença de extrato de levedura, entre outros) na atividade metanogênica específica (AME) de lodo anaeróbico de reator UASB alimentado com esgoto doméstico em reatores em batelada. Os autores observaram maiores valores de AME na presença de extrato de levedura.

O extrato de levedura é uma fonte rica em nutrientes que estimulam o crescimento de muitos microrganismos (por exemplo, *Methanospirillum stamsii* sp.) (PARSHINA et al., 2014). Além disso, tem sido relatado que várias espécies de Halobacteriaceae podem usar fumarato como aceptor de elétrons (por exemplo, *Haloferax volcanii* e *Haloferax denitrificans*) (TORREGROSA-CRESPO et al., 2016). Dessa forma, neste estudo a adição de ELV e FS possivelmente favoreceu o crescimento, sobrevivência e atividade metabólica dos microrganismos nas condições estudadas.

Tabela 5.6 – Validação do modelo de remoção de NFEO e rendimento de metano dos reatores em batelada

Ensaio	NFEO (mg L ⁻¹)	Remoção de NFEO (%)		Distribuição (%)			Rendimento de metano			
		Valor predito	Valor experimental	Degradado	Recuperado	Adsorvido	<i>P</i>	<i>Rm</i>	λ	<i>R</i> ²
4V	5,0	95	96,9	86	3,1	10,9	134,45(3,60)	0,49(0,04)	23,67(8,04)	0,98
5V	2,5	95	93,1	86,8	6,9	6,3	336,04(8,94)	1,56(0,16)	26,76(7,94)	0,98
*C4	5,0		44,9	32,9	55,1	12,0	55,09(2,54)	0,14(0,01)	90,46(11,98)	0,98
*C5	2,5		34,1	27,7	65,9	6,3	8,54(0,33)	0,03(0,003)	106,43(11,58)	0,98

P: rendimento máximo de CH₄ (NmL g⁻¹DQO_{rem}); λ : tempo para o início da produção de biogás (h); *Rm*: velocidade máxima de rendimento de CH₄ (NmL g⁻¹DQO_{rem} h⁻¹); erro padrão em parênteses; NFEO: nonilfenol etoxilado; *controle – sem ELV/FS; DQO_{rem}: demanda química de oxigênio removida.

Fonte: Autoria própria.

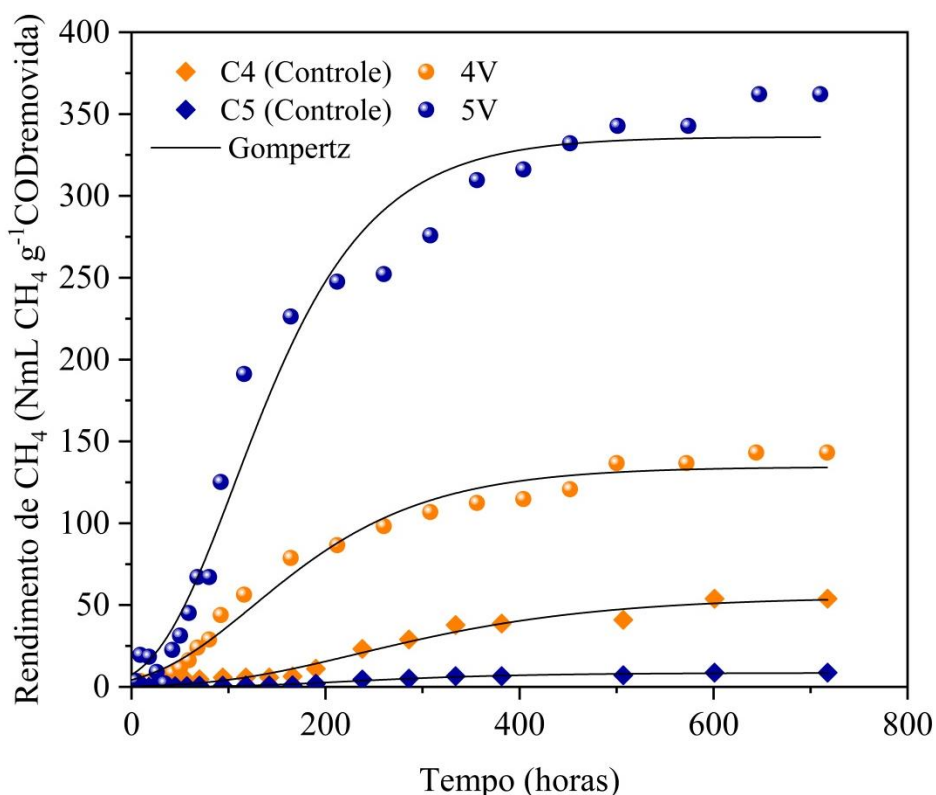
Tabela 5.7 – Parâmetros de operação dos reatores em batelada dos ensaios de validação

Ensaio	DQO			pH		Alcalinidade						AOV					
	Inicial	Final	%R	Inicial	Final	Inicial			Final			Ace	MeOH	EtOH	Ace	MeOH	EtOH
						Parcial	Interm	Total	Parcial	Interm	Total						
4V	677,3	53,5	92	7,8	6,9	259,6	141,1	400,8	612,4	185,3	797,8	3,1	nd	5,8	3,0	1,1	nd
5V	668,7	30,4	95	7,8	7,0	250,2	176,9	427,7	656,7	231,4	888,1	3,1	4,0	7,0	3,0	2,6	nd
*C4	194,0	150,1	23	7,9	6,6	283,2	77,1	360,3	393,2	141,1	534,4	nd	nd	6,4	3,0	3,5	2,3
*C5	206,7	157,3	24	7,9	6,7	257,8	99,7	357,5	390,4	148,6	539,1	3,1	4,9	6,4	3,1	nd	5,3

Alcalinidade (mgCaCO₃ L⁻¹); DQO: demanda química de oxigênio (mg L⁻¹); %R: remoção (%); *controle – sem ELV/FS; Interm: intermediária; AOV: ácidos orgânicos voláteis (mg L⁻¹); nd: no detectado; MeOH: metanol; EtOH: etanol; Ace: acetona.

Fonte: Autoria própria.

Figura 5.6 – Rendimento de metano para ensaios de validação

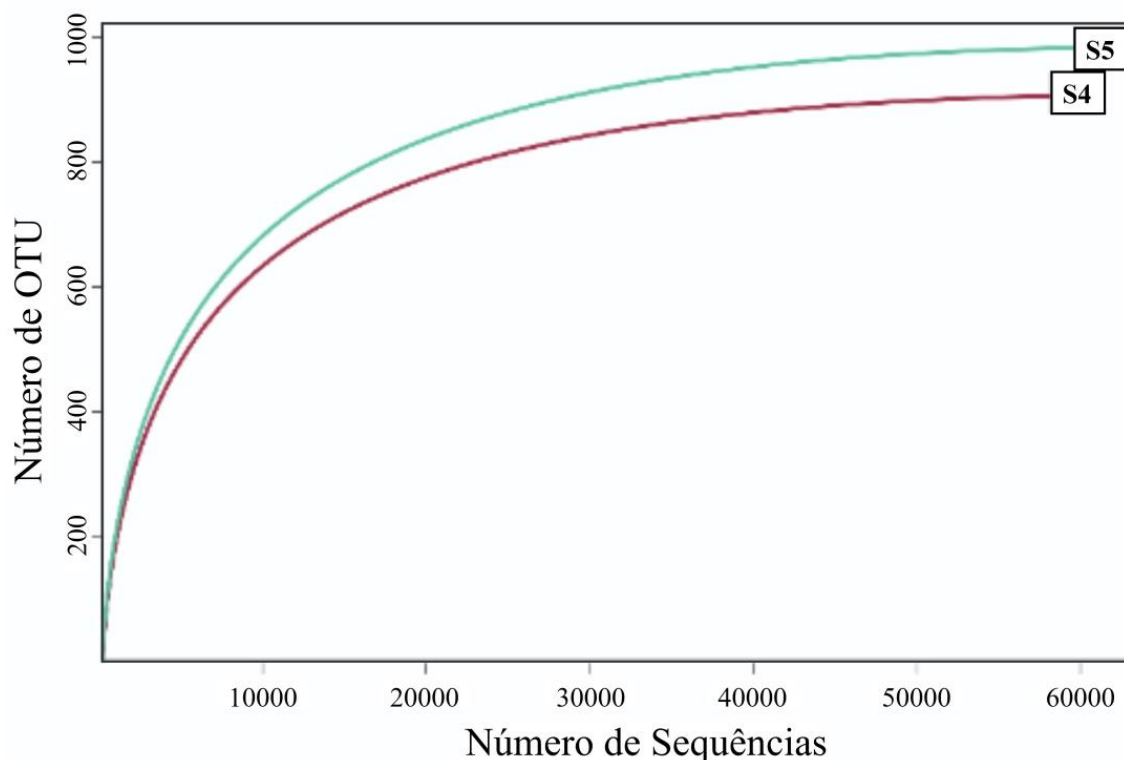


Fonte: Autoria própria.

5.1.4 Diversidade de microrganismos

O gene RNAr 16S do Domínio Bacteria e Archaea da biomassa dos reatores de validação (S4 e S5) foram sequenciados. Em relação aos valores de cobertura de Good obteve-se aproximadamente 100% em todas as amostras e por meio das curvas de rarefação pode-se constatar representação satisfatória das populações microbianas (Figura 5.7). A diversidade e a riqueza das comunidades microbianas foram maiores em S5 ($H' = 4,63$), bem como Chao-1 (986,37) e Táxons observados (984) conforme descrito na Tabela 5.8. Isso pode estar relacionado à concentração de NFEO (S5= 2,5 mg L⁻¹ menor que em S4= 5,0 mg L⁻¹), o que pode ter favorecido essa maior diversidade na amostra S5. Além disso, a dominância, estimada por meio do índice de Simpson, foi semelhante nas duas amostras (0,96), o que pode ser explicado pelo fato de que em ambos os ensaios a biomassa foi submetida ao potencial inibidor do NFEO, independente da sua concentração. Da mesma forma, os perfis taxonômicos das amostras foram muito semelhantes entre si, quando foi considerado o nível de filo.

Figura 5.7 – Curva de rarefação para as amostras S4 (ELV= 400 mg L⁻¹; NFEO= 5 mg L⁻¹; FS= 200 mg L⁻¹) e S5 (ELV= 200 mg L⁻¹; NFEO+ 2,5 mg L⁻¹; FS= 500 mg L⁻¹)



Fonte: Autoria própria.

Tabela 5.8 – Índices ecológicos dos Domínios Bactéria e Archaea dos ensaios de validação em reatores em bateladas

Amostra	Táxons observados	Shannon-Wiener (H')	Simpson	Chao1
S4	907	4,47	0,96	910,48
S5	984	4,63	0,96	986,37

Fonte: Autoria própria.

Em relação ao Domínio Bactéria na biomassa do reator S4 e S5 observou-se que o filo mais abundante foi Bacteroidota (S4= 32,7%; S5= 30,0%), seguido por Firmicutes (S4= 13,24%; S5= 10,90%), Proteobacteria (S4= 3,17%; S5= 3,61%), Cloroflexi (S4= 1,52%; S5= 1,28%) e Synergistota (S4= 0,88%; S5= 0,90%). Em relação ao Domínio Archaea foram identificadas metanogênicas pertencentes ao filo Halobacterota (S4= 28,7%; S5= 28,04%). Além disso, com menor abundância relativa (<1,0%) foram identificadas bactérias pertencentes aos filios, Cloacimonetes, Thermotogae e Spirochaetota.

As estruturas taxonômicas em ambas as amostras dos reatores S4 e S5 foram bastante diferentes em relação ao inóculo proveniente do reator UASB (aplicado no tratamento de

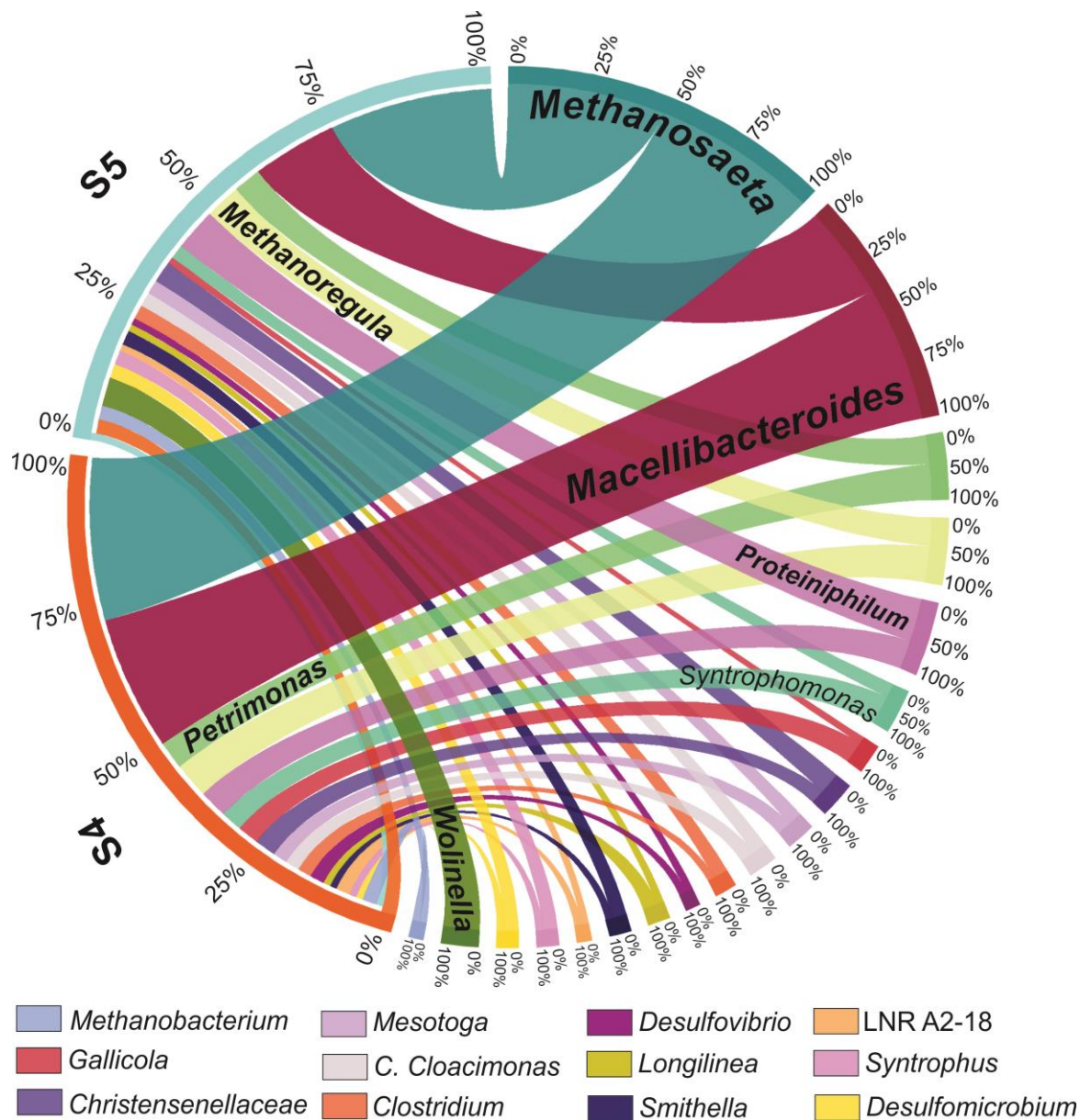
água residuária de abatedouro de aves) e caracterizado por GRANATTO et al. (2019). No inóculo os filos mais abundantes foram Bacteroidota (~45%), Proteobacteria (~20%), Synergistota (~19%), Firmicutes (~9%) e Chloroflexi (~5%). Actinobacteriota, Spirochaetota e Acidobacteriota também foram identificados em menor abundância relativa (<3%). Ademais, as famílias mais abundantes foram Bacteroidaceae, Synergistaceae, Syntrophaceae e Clostridiaceae, todas diferentes daquelas identificadas em S4 e S5. Dessa forma, pode-se inferir que o NFEO provocou mudança nas populações microbianas.

As bactérias pertencentes aos filos Bacteroidota, Firmicutes, Proteobacteria e Chloroflexi são todas fermentativas (DUAN et al., 2018). Bacteroidota é um filo metabolicamente heterogêneo que inclui espécies com ampla gama de habilidades, como hidrólise de polissacarídeos e proteínas, fermentação de açúcares e produção de AOV (HAHNKE et al., 2016). Os filos Bacteroidota, Firmicutes e Proteobacteria têm sido identificados como os principais grupos microbianos degradadores de NF em sedimentos de rios, bem como em lodo de reatores anaeróbios usados para a remoção de surfactantes como 4-NF e LAS (ANDRADE et al., 2017a; CENTURION et al., 2018; DORNELLES et al., 2020a).

Entre os grupos observados com baixa abundância relativa, os Cloacimonetes degradam proteínas, celulose e lipídios, sendo também capazes de realizar oxidação de ácido propiônico (BI et al., 2020). De acordo com POLLO et al. (2015), Thermotogae são anaeróbios e organotróficos, capazes de crescer em ampla faixa de temperatura e substratos complexos, têm sido observados em ecossistemas com altas e baixas temperaturas (por exemplo, fontes hidrotermais, reservatórios de petróleo e sedimentos de rios). Representantes pertencentes à Spirochaetota fermentam proteínas e carboidratos, principalmente em ácido acético e realizam a oxidação sintrófica desse ácido orgânico (SAO – *syntrophic acetate oxidation*) (RAJENDRAN et al., 2020).

Os gêneros identificados em maior abundância relativa foram *Macellibacteroides* (S4= 18,92%; S5= 12,69%), *Petrimonas* (S4= 4,48%; S5= 4,10%), *Proteiniphilum* (S4= 4,28%; S5= 6,14%), *Sulfurovum* (S4= 3,54%; S5= 2,00%), *Syntrophomonas* (S4= 3,16%; S5= 2,36%), *Gallicola* (S4= 2,97%; S5= 1,19%), *Clostridium* (S4= 1,81%; S5= 1,62%) e *Desulfovibrio* (S4= 1,69%; S5= 0,72%) conforme ilustrado na Figura 5.8.

Figura 5.8 – Diagrama de circo resumindo os gêneros do Domínio Bacteria e Archaea identificados com maior abundância relativa ($\geq 1,0\%$) em S4 e S5



Fonte: Autoria própria.

O gênero mais abundante em ambas as amostras (S4 e S5) foi *Macellibacteroides* (filo Bacteroidota, família Tannerellaceae), é um grupo de bactérias hidrolíticas, com capacidade de metabolizar proteínas em polipeptídeos e aminoácidos (XU et al., 2019). Assim, sua maior abundância relativa foi observada em S4 (18,92%), quando comparada à S5 (12,69%). Tal possibilidade foi relacionada à maior concentração de ELV em S4 (400 mg L⁻¹) comparado ao S5 (200 mg L⁻¹), uma vez que o ELV é fonte bem conhecida de polipeptídeos e aminoácidos (LIU et al., 2015).

A família Anaerolineaceae, representada nas amostras analisadas, principalmente pelo gênero *Longilinea* (S4= 1,51%; S5= 1,27%), é uma bactéria fermentativa que foi identificada em consórcios microbianos de degradação de LAS em proporções semelhantes às observadas neste estudo (DELFORNO et al., 2014). Além disso, essas bactérias estão potencialmente associadas à degradação de altas concentrações de fenol e hidrocarbonetos aromáticos (WU et al., 2020). De acordo com ABU LABAN et al. (2015), tais bactérias realizam a fermentação de metabólitos intermediários de iso-alcanos, como microrganismos acetogênicos e microrganismos sintróficos oxidantes de ácido acético.

Dois principais gêneros identificados em maior proporção tanto em S4 quanto em S5 foram *Petrimonas* (4,48 - 4,10%) e *Proteiniphilum* (4,28 - 6,14%), que juntamente com *Dysgonomonas* (0,06 - 0,03%) pertencem à família Dysgonomonadaceae. Essas bactérias assimilam substratos proteicos complexos (por exemplo, extrato de levedura e peptona) e fermentam ampla gama de mono- e dissacarídeos (MAUS et al., 2020). *Petrimonas* é um microrganismo estritamente anaeróbico, que fermenta carboidratos em ácido acético, H₂ e CO₂ (PASTER, 2010). Este gênero foi identificado em maior abundância relativa (14%) em EGSB usado para remoção de LAS, alimentado com substrato sintético (DELFORNO et al., 2016). Em menor abundância (2,5%), *Petrimonas* também foi identificado em lodo de RALF em escala ampliada alimentado com águas residuária de lavanderia visando à remoção de LAS (MOTTERAN et al., 2018). Além disso, de acordo com PASTER (2010), o ELV e o fumarato estimulam seu crescimento. Isso pode explicar sua abundância neste estudo, sendo que ambos os substratos (ELV e FS) foram utilizados neste estudo, o que pode ter favorecido sua abundância relativa.

Em relação à família Helicobacteraceae (2 - 3%), o único gênero identificado foi *Wolinella* (S4= 0,74%; S5= 4,69%). Há apenas uma espécie neste gênero, a *Wolinella succinogenes* não fermentativa, metabolicamente versátil, sendo capaz de crescer por respiração de sulfito (produzindo sulfeto) em condições microaeróbias ou anaeróbias (KERN et al., 2011). Além disso, *Wolinella succinogenes* pode crescer usando fumarato, nitrato e nitrito como aceptores de elétrons. Fumarato e esgoto doméstico (que contém nitrato e nitrito) foram utilizados como substratos neste estudo, provavelmente, favorecendo tais bactérias, principalmente no ensaio com S5, no qual foram adicionados 500 mg L⁻¹ de fumarato, contra apenas 200 mg L⁻¹ no S4.

Apesar de menor abundância relativa (≤0,4%) em S4 e S5, vários gêneros foram identificados pertencentes à família Synergistaceae, como *Aminivibrio*, *Lactivibrio*, *Aminimonas*, *Fretibacterium*, *Thermovirga* e *Pyramidobacter*. Esses microrganismos são

capazes de realizar a via SAO através do sistema de clivagem da glicina e via tetrahidrofolato (ZHU et al., 2019). Bactérias pertencentes a Synergistaceae foram identificadas em consórcios anaeróbios de degradação de LAS (DELFORNO et al., 2012; DELFORNO et al., 2014). Membros desta família também são conhecidos como degradadores anaeróbios de aminoácidos e têm sido identificados em alta abundância (~20%) em consórcio microbiano de UASB usado no tratamento de águas residuárias salinas contaminadas com fenóis (100 - 1000 mg L⁻¹) (WANG et al., 2017).

Em relação ao domínio Archaea foi representada principalmente pela metanogênica acetoclástica, *Methanosaeta* (Methanosaetaceae) (S4= 22,62%; S5= 22,61%), enquanto o segundo gênero mais abundante foi *Methanoregula* (Methanoregulaceae) (S4= 4,33%; S5= 4,38%). *Methanoregula*, assim como *Methanosaeta*, tem sido identificadas como as metanogênicas predominantes em consórcios microbianos de EGSB alimentados com águas residuais de lavanderia em codigestão com esgoto doméstico para remoção de LAS (CENTURION et al., 2018). Esses gêneros também tem sido predominantes em sistemas contendo diferentes substratos iso-alcanos sob condições anaeróbias (ABU LABAN et al., 2015). Além disso, o gênero *Methanoregula* é bem conhecido como metanogênica hidrogenotrófica, e pode reduzir CO₂ a CH₄ com H₂ como o principal doador de elétrons, bem como formiato (GUO et al., 2015), além de mineralizar fenol como única fonte de carbono para CO₂ e CH₄ (CHEN et al., 2008).

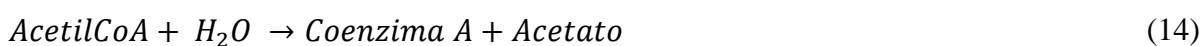
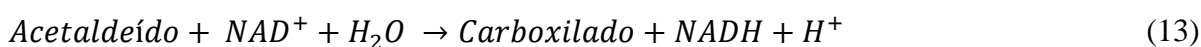
Outros gêneros de Archaea foram identificados em menor abundância relativa (<1,5%), como *Methanolinea* (Methanoregulaceae), *Methanobacterium* (Methanobacteriaceae), *Candidatus Methanofastidiosum* (Methanofastidiosaceae), *Methanomassiliicoccus* (Methanomassiliicoccaceae) e *Methanospirillum* (Methanospiraceae) entre outros (<0,3%). Vale ressaltar que tanto os gêneros do Domínio Bacteria, quanto Archaea identificados em menor abundância relativa pode estar relacionada à eficiência dos reatores e também dos subprodutos obtidos, não só pelo estabelecimento de relações sintróficas, mas pelas interações célula-célula e a troca de metabólitos que ocorre em culturas microbianas mistas com capacidades metabólicas mais amplas do que as culturas individuais (BENOMAR et al., 2015). *Methanomassiliicoccus*, por exemplo, pode reduzir compostos metilados e produzir metano (MEI et al., 2020).

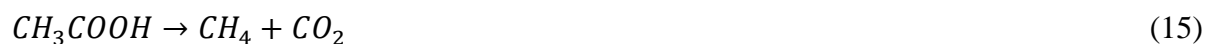
Vale ressaltar que a enzima re-cs (Recitrato Sintase – *Re-Citrate Synthase*) é inativada na presença de O₂, sendo encontrada em vários microrganismos anaeróbios, como *Clostridium* e *Desulfovibrio* (LI et al., 2007). No entanto, neste estudo, no ensaio com maior concentração de FS (S5- 500 mg L⁻¹) foi observada menor abundância relativa para ambos

os gêneros mencionados anteriormente (1,62 e 0,72%, respectivamente), em relação ao ensaio S4 (com 200 mgFS L⁻¹), em que *Clostridium* e *Desulfovibrio* foram identificados em maior abundância (1,81% e 1,69%, respectivamente), o que poderia indicar inibição do cossustrato para estes gêneros em maior concentração de fumarato.

Em relação à adição de NFEO, seus grupos –OH podem ser removidos pela ação da enzima álcool desidrogenase (adh), além da alcan-1-ol desidrogenase (peg-dh), uma oxidorreductase que atua principalmente sobre o C3-C16 cadeia-linear de álcoois saturados primários, e também em C4-C7 de aldeídos e em surfactantes não-iônicos. É importante ressaltar que a última enzima listada anteriormente já foi descrita como relacionada à degradação do nonilfenol, como nonilfenol desidrogenase da cadeia etoxi –EO (NFEO-DH) (LIU et al., 2013). Os aldeídos gerados nesta etapa podem ser utilizados como substrato para a enzima acetaldeído desidrogenase (acetilante) (dmpfg), sendo então convertidos em etanol ou utilizados com a Coenzima A (CoA), reduzindo o NAD⁺ a NADH, H⁺ e Acetil-CoA, que é um composto chave na acidogênese. Por outro lado, sabe-se que a recalcitrância do nonilfenol pode aumentar com a diminuição do número de grupos etoxilados (BERGÉ et al., 2012; NOORIMOTLAGH et al., 2018), resultando em metabólitos mais tóxicos, persistentes e bioacumulativos, como o 4-NF e nonilfenol monoetoxilado (NF1EO), o que pode explicar a menor diversidade microbiana no ensaio S4 (NFEO= 5,0 mg L⁻¹) em comparação ao ensaio S5 (NFEO= 2,50 mg L⁻¹) (Chao1= 910,48 e 986,37, respectivamente), além de menor produção de CH₄ (134,45 e 336,04 NmLCH₄ g⁻¹DQO_{removida}, respectivamente).

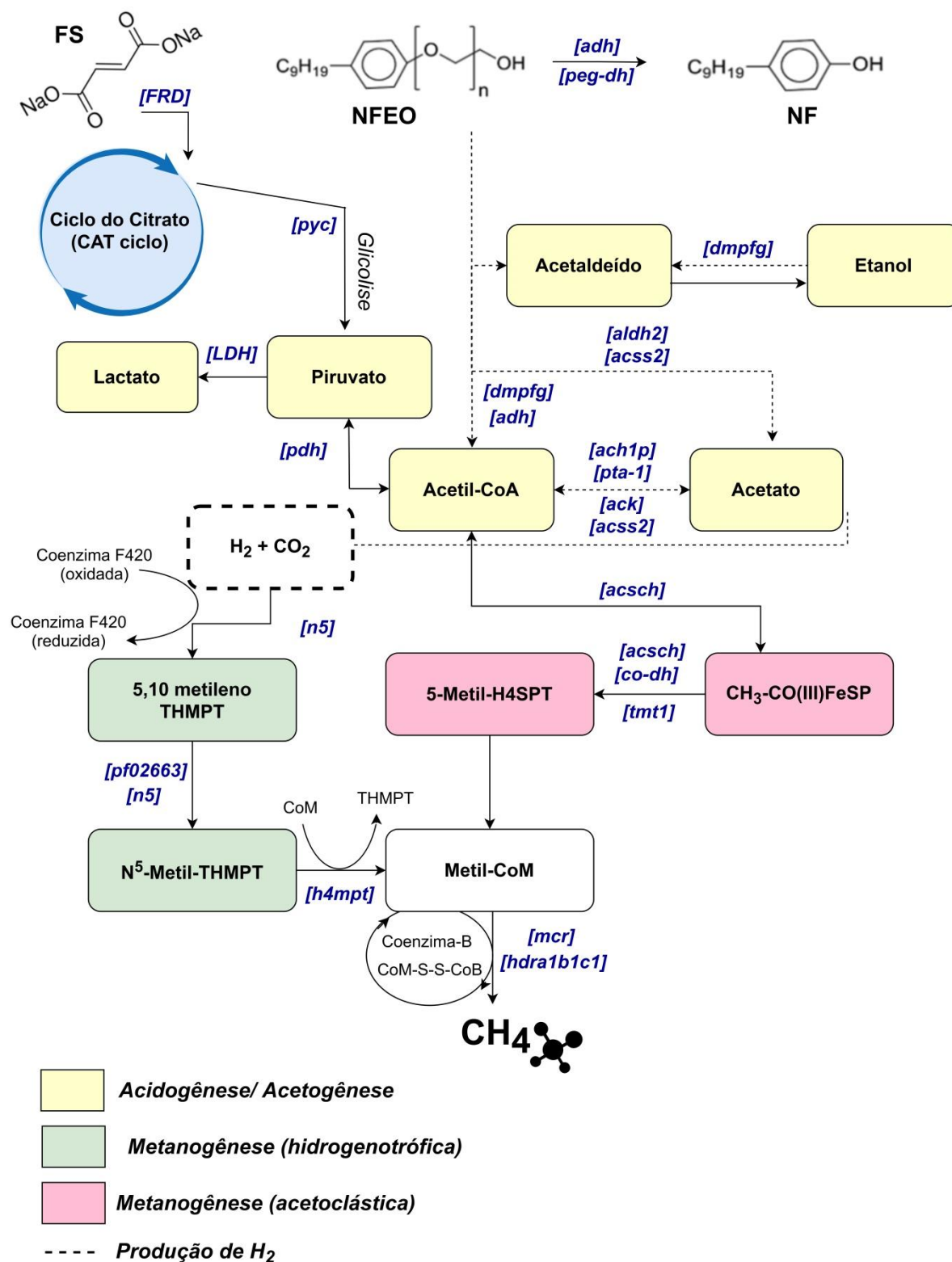
Durante as vias da glicólise e do piruvato, tanto o acetaldeído (Equação 13) quanto a Acetil-CoA (Equação 14) podem ser convertidos em acetato, por meio de enzimas como acetato-CoA ligase (acss2) e aldeído desidrogenase no último caso. O acetato pode ser usado como substrato para a produção de CH₄ na via acetoclástica (Equação 15), enquanto H₂ e CO₂, da mesma forma, podem ser usados como substrato na metanogênese hidrogenotrófica (Equação 16) (NESHAT et al., 2017).





Vários genes relacionados à metanogênese acetoclástica e hidrogenotrófica foram inferidos, como a acetil-CoA sintetase (acs), acetato-CoA ligase (acss2), acetil-CoA hidrolase (ach1p), entre outros relacionados à metanogênese acetoclástica, além da metaniltetrahidrometanopterina ciclo-hidrolase (n5), formilmetanofurano desidrogenase (pf02663) e tetrahidrometanopterina S-metiltransferase (h4mpt) relacionada à metanogênese hidrogenotrófica (ZINDER e BRÄUER, 2015) (Figura 5.9). *Methanosaeta*, e *Metanorregula* foram as arqueias acetoclástica e hidrogenotrófica, identificadas em maior abundância relativa em S4 e S5 respectivamente.

Figura 5.9 – Possíveis vias metabólicas envolvidas nas condições otimizadas de remoção de NFEO, com foco na produção de CH₄



Fonte: Autoria própria.

Nota: **adh**= álcool desidrogenase; **peg-dh**= polietilenoglicol desidrogenase; **dmpfg**= acetaldeído desidrogenase; **aldh2**= aldeído desidrogenase; **acss2**= acetato-CoA ligase; **ach1p**= acetil-CoA hidrolase; **pta-1**= fosfato acetiltransferase; **ack**= acetato quinase; **acsch**= CO-acetil-CoA sintase de metilação; **pdh**= piruvato desidrogenase; **h4mpt**= tetraidrometanopterin S-metiltransferase; **mcr**= coenzima-B sulfoetiltiotransferase; **hdra1b1c1**= ferredoxina: heterodissulfeto redutase CoB-CoM; **n5**= metaniltetraidrometanopterin ciclo-hidrolase; **co-dh**= monóxido de carbono desidrogenase anaeróbico; **pf02663**= formilmetanofurano desidrogenase; **LDH**= L-lactato desidrogenase; **FRD**= fumarato redutase; **pyc**= piruvato carboxilase.

5.2 Operação do reator de leito granular expandido

5.2.1 Caracterização da água residuária de lavanderia e esgoto doméstico

Análise comparativa da caracterização convencional da ARLC e esgoto doméstico do presente estudo em relação a outros valores obtidos na literatura é fornecida na Tabela 5.9, Em relação a matéria orgânica da ARLC foram observados para a DQO solúvel e DQO total 584,0 mg L⁻¹ e 655 ± 347 mg L⁻¹, respectivamente. Em estudos anteriores foram reportados valores maiores para DQO solúvel, entre 665 ± 276 – 1.471 ± 917 mg L⁻¹; assim como para DQO total, entre 713 ± 252 – 1.710 ± 968 mg L⁻¹ (Tabela 5.9).

Destaca-se que para algumas águas residuárias de lavanderia é observado menor teor de matéria orgânica, entre 423 e 450 mgDQO L⁻¹ (AL-GHEETHI et al., 2017) e são mais alcalinas (280 mgDQO L⁻¹, pH 9,6), conforme observado por ŠOSTAR-TURK et al. (2005). Além disso, neste estudo foram observados valores médios de pH próximos à neutralidade (6,89 ± 0,41) e baixa alcalinidade (28,61 ± 7,25 mgCaCO₃ L⁻¹ de alcalinidade total) (Tabela 5.9). BRAGA e VARESCHE (2014) mencionaram que a ARLC foi ligeiramente ácida. Entretanto, em outros estudos (Tabela 5.9) foram observados valores maiores para pH (> 8), bem como para a alcalinidade (entre 200 e 500 mgCaCO₃ L⁻¹ de alcalinidade total) (MOTTERAN et al., 2019; MOURA et al., 2019; MACEDO et al., 2020). Neste estudo, constatou-se que os valores dos parâmetros analisados estão na faixa tipicamente observada da composição de efluentes de lavanderia.

Em relação ao LAS foram observados para ARLC valores maiores (202,84 ± 130,77 mg L⁻¹) em relação aos estudos anteriores, cujos valores foram de 66 ± 56 a 164 ± 248 mg L⁻¹ (Tabela 5.9). Além disso, foi observado também 27,39 ± 42,62 mg L⁻¹ de NFEO na ARL.

Tabela 5.9 – Caracterização físico-química da água residuária de lavanderia comercial e esgoto doméstico

Parâmetro	Água residuária de lavanderia comercial					Esgoto doméstico		E-san
	1	2	3	4	Este estudo	5	Este estudo	6
pH	5,6 (0,9)	8,9(1,3)	8,3(1,4)	8,6(1,6)	6,9(0,4)	6,8(0,1)	6,9(0,2)	7,2(0,1)
Alcalinidade Total*	25,9(20,2)	227(47)	212(170)	431(174)	28,6(7,3)	190(33)	189(18)	216(22)
Alcalinidade Parcial*	-	190(38)	156(133)	353(157)	14,3(3,5)	119(25)	103(20)	133(19)
Alcalinidade Intermediária*	-	-	56(41)	-	14(4,8)	-	86(8,5)	
DQO solúvel (mg L ⁻¹)	1471(917)	745(152)	692(456)	665(276)	584(328)	317(132)	213(53)	
DQO Total (mg L ⁻¹)	1710(968)	-	713(252)	821(337)	655(347)	-	570(139)	653(169)
NFEO (mg L ⁻¹)	-	-	-	-	27(43)	-	-	
LAS (mg L ⁻¹)	164(248)	95(53)	66(56)	134(52)	203(131)	5(3)	-	6,2(3,2)

* Alcalinidade (mgCaCO₃ L⁻¹); E-san: esgoto sanitário; DQO: demanda química de oxigênio; NFEO nonilfenol etoxilado; LAS *linear alkylbenzene sulfonate*; (-) não reportado; desvio padrão em parênteses.

1: BRAGA e VARESCHE (2014); 2: MOURA et al. (2019); 3: MOTTERAN et al. (2019); 4: MACEDO et al. (2020); 5: MOURA et al. (2019); 6: GRANATTO et al. (2019).

Fonte: Autoria própria.

Por outro lado, para o esgoto doméstico usado neste estudo, foram observados valores menores no conteúdo de matéria orgânica ($212,89 \pm 53,43 \text{ mg L}^{-1}$ e $570,07 \pm 139,34 \text{ mg L}^{-1}$ para DQO solúvel e DQO total, respectivamente) e valores de pH ($6,93 \pm 0,21$) e alcalinidade (total= $189,46 \pm 18,01 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$; parcial= $103,16 \pm 19,88 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ e intermediária= $86,30 \pm 8,48 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) similares aos reportados por MOURA et al. (2019). Em outro estudo conduzido por BENVENUTI et al. (2018), o esgoto doméstico apresentou pH entre 6,7 - 8,8 e conteúdo de matéria orgânica de $487 \pm 138 \text{ mg L}^{-1}$ (DQO total). Assim, a composição química do esgoto doméstico usado neste estudo é consistente com os valores tipicamente observados nesse tipo de águas residuárias. De acordo com GRANATTO et al. (2019), o esgoto sanitário apresenta valores semelhantes de pH ($7,2 \pm 0,1$) e alcalinidade (total= $216 \pm 22 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$; parcial= $133 \pm 19 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) porém maior teor de matéria orgânica ($653 \pm 169 \text{ mg L}^{-1}$ de DQO total). DAI et al. (2011) também verificaram valores de pH (7,6) pertos da neutralidade juntamente com menor alcalinidade ($236,1 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) e menor carga orgânica (231 mg L^{-1} de DQO solúvel) em esgoto sanitário.

Comparando-se os resultados dos estudos supracitados, pode-se concluir que os parâmetros físico-químicos de efluentes de lavanderia variam continuamente em função das principais atividades econômicas, estações sazonais e costumes da localidade (*e.g.* tipos de indústrias, clima e tipos de roupas). No entanto, os compostos detergentes são os constituintes principais. Já o esgoto doméstico apresenta menor flutuação em sua composição.

5.2.2 Remoção de matéria orgânica

Remoção de matéria orgânica foi obtida ao longo do período de operação (Tabela 5.10), sendo que o valor mínimo observado foi de $90 \pm 5\%$, para $573,8 \pm 130 \text{ mgDQO L}^{-1}$ ($61,6 \pm 17,8 \text{ mg DQO gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$) na fase V (Figura 5.10 e Figura 5.11). Mesmo na fase III, sob a condição de maior estresse imposta ao sistema, a eficiência observada foi satisfatória ($93 \pm 4\%$) para DQO afluente de $475,8 \pm 57,4 \text{ mg L}^{-1}$ ($51,8 \pm 6,4 \text{ mg DQO gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$), nesta fase foi aplicada a maior carga orgânica específica de NFE0 ($10 \pm 3 \text{ mg gVS}^{-1} \text{ d}^{-1}$) em substrato sintético.

Ao longo da operação, foram observados valores de carga orgânica específica afluente na faixa de 34,2 a $62,7 \text{ mgDQO gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ($51,8 \pm 6,4 \text{ mgDQO gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$) e remoção de $97 \pm 2\%$ e $90 \pm 5\%$, respectivamente. CENTURION et al. (2018) observaram

menor eficiência de remoção ($61 \pm 24,6\%$) para 37 ± 21 mgDQO gSTV⁻¹ d⁻¹ para a mesma configuração reacional, referente a remoção de LAS de água residuária de lavanderia comercial em codigestão com esgoto doméstico. Da mesma forma, GRANATTO et al. (2019) observaram remoção de $77 \pm 28\%$ para 50 ± 15 mgDQO gSTV⁻¹ d⁻¹, em reator EGSB alimentado com esgoto sanitário. Em ambas as investigações citadas anteriormente, a carga de LAS aplicada ($<3,0$ mg gSV⁻¹ d⁻¹) foi menor à obtida neste estudo.

Após a adição de NFEO (fase II) não houve diminuição significativa da eficiência de remoção da carga orgânica específica ($97 \pm 2\%$ para $48,5 \pm 6,6$ mg gSV⁻¹ d⁻¹) em comparação com a fase I (sem NFEO). Esses resultados são coerentes com os observados em estudos anteriores. Por exemplo, DELFORNO et al. (2012) observaram eficiência de remoção na faixa de $96,3 \pm 3,4\%$ a $97,6 \pm 2,9\%$ na presença de surfactante LAS ($1,38 \pm 0,54$ mg gSTV⁻¹ d⁻¹ – $2,61 \pm 0,54$ mg gSV⁻¹ d⁻¹) em reator EGSB alimentado com meio mineral. Os autores constataram que a adição de surfactante não afetou a remoção de matéria orgânica, o que também foi observado por vários outros pesquisadores (MACEDO et al., 2015; MACEDO et al., 2017; ANDRADE et al., 2017a; DORNELLES et al., 2020a) que avaliaram a remoção de surfactante aniônico e não iônico em diferentes condições operacionais em reator anaeróbio de leito fluidizado (RALF).

Além disso, a adição da água residuária de lavanderia ao substrato de alimentação (fase IV) não causou impacto significativo na remoção da matéria orgânica ($94 \pm 5\%$ para 433 ± 95 mgDQO L⁻¹). Entretanto, observou-se diminuição significativa da eficiência de remoção ($90 \pm 5\%$ para 574 ± 130 mgDQO L⁻¹ – a maior carga orgânica aplicada no sistema) após a adição do esgoto doméstico na alimentação do EGSB.

Ao longo das fases de operação, foram observados valores de alcalinidade total, parcial e intermediária efluente superiores ao afluente (Tabela 5.10), evidenciando boa capacidade tampão no meio reacional, o que contribuiu para manter a estabilidade do processo. Bicarbonato de sódio foi adicionado como parte do substrato sintético de alimentação, entretanto, a quantidade adicionada foi gradualmente reduzida de 400 mg L⁻¹ na fase de adaptação para 200 mg L⁻¹ na fase V. Em função dos valores de alcalinidade intermediária afluente ($121,9 \pm 20,92$ mg CaCO₃ L⁻¹) e efluente ($98,4 \pm 14,35$) na fase V pode-se inferir que tal quantidade poderia ser reduzida ainda mais sem comprometer a estabilidade do processo. Além disso, foram observados valores médios de pH entre $7,1 \pm 0,21$ e $7,8 \pm 0,10$ que estão na faixa ótima para o processo de digestão anaeróbia, uma vez que a maioria dos microrganismos se desenvolvem melhor em pH neutro ou ligeiramente alcalino.

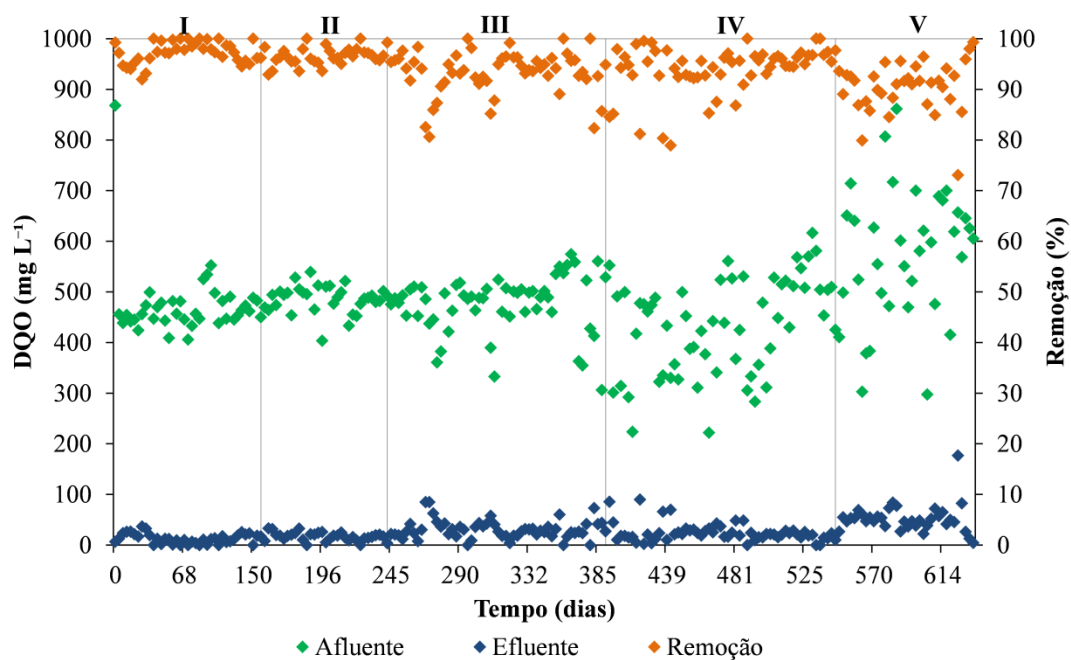
Tabela 5.10 – Parâmetros de operação do reator EGSB

Fase	I (adaptação)	II	III	IV	V
Tempo (d)	157	88	148	156	88
TDH (h)	41 ± 5	40 ± 11	40 ± 4	40 ± 3	41 ± 4
V _{asc} (m h ⁻¹)	7	7	7	7	7
COV (kg m ⁻³ d ⁻¹)	0,27 ± 0,03	0,27 ± 0,04	0,29 ± 0,04	0,26 ± 0,05	0,34 ± 0,10
pH Afluente	7,6 ± 0,15	7,7 ± 0,05	7,6 ± 0,14	7,6 ± 0,13	7,1 ± 0,21
pH Efluente	7,7 ± 0,28	7,8 ± 0,05	7,7 ± 0,13	7,6 ± 0,21	7,8 ± 0,07
AI/AP	0,3 ± 0,03	0,3 ± 0,03	0,3 ± 0,03	0,3 ± 0,03	0,3 ± 0,04
Alcalinidade Afluente (mgCaCO ₃ L ⁻¹)					
Total	203,0 ± 16,4	197,2 ± 3,4	177,1 ± 25,0	179,9 ± 14,2	331,7 ± 34,53
Parcial	151,2 ± 12,4	150,0 ± 5,1	129,7 ± 19,1	130,2 ± 11,5	209,8 ± 28,94
Intermediária	51,7 ± 6,9	47,2 ± 5,3	47,4 ± 8,9	49,7 ± 4,4	121,9 ± 20,92
Alcalinidade Efluente (mgCaCO ₃ L ⁻¹)					
Total	270,7 ± 23,5	241,4 ± 17,0	243,1 ± 33,1	262,2 ± 14,5	460,6 ± 36,70
Parcial	241,2 ± 18,1	191,4 ± 13,8	189,0 ± 26,8	201,4 ± 11,2	362,2 ± 30,74
Intermediária	56,4 ± 7,8	50,0 ± 5,4	54,1 ± 7,7	60,8 ± 5,9	98,4 ± 14,35
DQO Afluente (mg L ⁻¹)					
DQO Afluente (mg L ⁻¹)	463,9 ± 31,0	486,2 ± 27,3	475,8 ± 57,4	433,1 ± 95,2	573,8 ± 130
DQO Efluente (mg L ⁻¹)	12,8 ± 9,9	16,7 ± 8,4	30,7 ± 18,2	24,2 ± 18,1	52,3 ± 28
COE (mg gVS ⁻¹ d ⁻¹)	34,1 ± 3,9	48,5 ± 6,6	51,8 ± 6,4	47,2 ± 11,6	61,6 ± 17,8
Remoção (%)	97 ± 2	97 ± 2	93 ± 4	94 ± 5	90 ± 5
HAc Afluente (mg L ⁻¹)					
HAc Afluente (mg L ⁻¹)	nd	Nd	nd	12,7 ± 38	31,6 ± 34,6
Acetona Afluente (mg L ⁻¹)	nd	1,76 ± 1,62	1,38 ± 1,56	0,40 ± 1,05	1,12 ± 1,52
Metanol Afluente (mg L ⁻¹)	nd	0,79 ± 1,28	nd	0,33 ± 1,27	2,02 ± 3,59
Acetona Efluente (mg L ⁻¹)	nd	nd	1,02 ± 1,45	1,31 ± 1,49	1,67 ± 1,56
Metanol Efluente (mg L ⁻¹)	nd	nd	nd	nd	1,67 ± 2,09
NFEO Afluente (mg L ⁻¹)					
NFEO Afluente (mg L ⁻¹)	na	3,5 ± 1,0	7,6 ± 2,1	4,0 ± 1,1	3,7 ± 1,28
NFEO Efluente (mg L ⁻¹)	na	0,6 ± 0,3	2,9 ± 1,0	1,9 ± 0,6	1,7 ± 0,48
COE–NFEO (mg gVS ⁻¹ d ⁻¹)		4,2 ± 1,4	9,8 ± 2,9	4,8 ± 1,8	4,7 ± 1,9
Remoção (%)		82 ± 9	60 ± 18	48 ± 19	49 ± 18
COE–LAS (mg gVS ⁻¹ d ⁻¹)					
COE–LAS (mg gVS ⁻¹ d ⁻¹)	na	na	na	6,5 ± 2,4	14,0 ± 4,42
Remoção (%)				26 ± 16	50 ± 16
*Rendimento teórico de CH ₄	0,34 ± 0,002	0,34 ± 0,003	0,34 ± 0,004	0,34 ± 0,004	0,34 ± 0,001
*Rendimento real de CH ₄	0,35 ± 0,04	0,18 ± 0,13	0,03 ± 0,02	13 ± 0,07	0,30 ± 0,14

TDH: tempo de detenção hidráulica; V_{asc}: velocidade ascensional; COV: carga orgânica volumétrica; AI/AP: relação alcalinidade intermediária/alcalinidade parcial; DQO: demanda química de oxigênio; COE: carga orgânica específica; HAc: ácido acético; NFEO: nonilfenol etoxilado; LAS: *linear alkylbenzene sulfonate*; nd: não detectado; na: não adicionado; *LCH₄ g⁻¹DQO_{removida}.

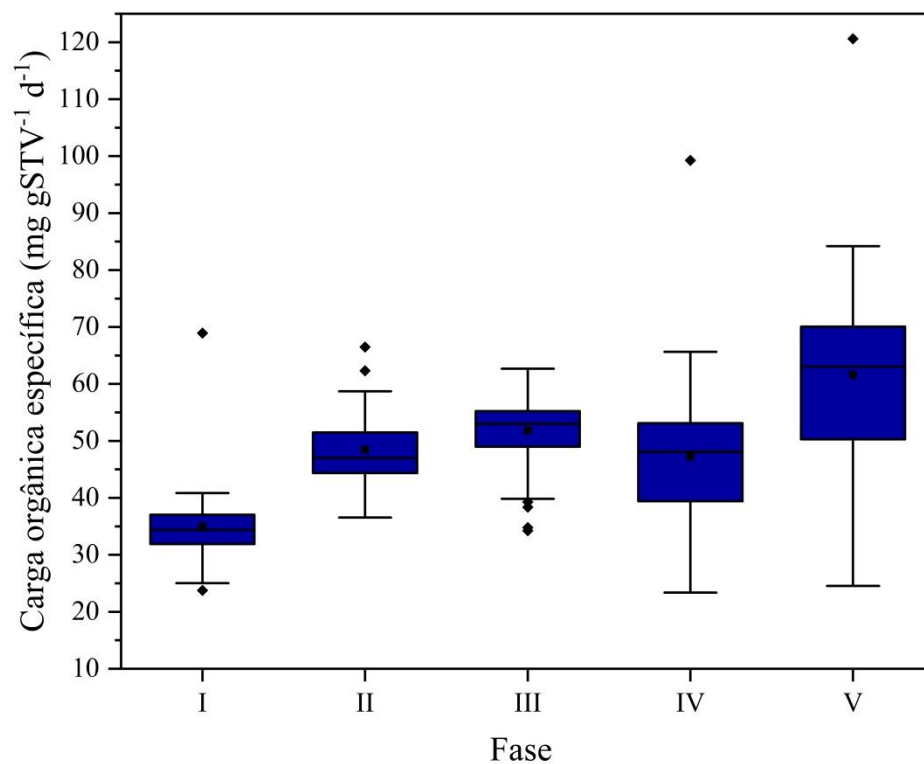
Fonte: Autoria própria.

Figura 5.10 – Variação temporal da matéria orgânica afluente, efluente e eficiência de remoção na fase I (sem NFE0), e fases II, III, IV e V (com NFE0)



Fonte: Autoria própria.

Figura 5.11 – Carga orgânica volumétrica para as fases operacionais do EGSB



Fonte: Autoria própria.

A concentração de AOV não foi significativa, apenas ácido acético foi observado no afluente em concentração inferior ao limite de detecção (1 mg L^{-1}) nas três primeiras fases de operação até $108,10 \text{ mg L}^{-1}$ na fase IV e $141,5 \text{ mg L}^{-1}$ na fase V. Além disso, acetona foi observada em concentração inferior a 4 mg L^{-1} em todas as fases após a adição de NFEO. Valor próximo também foi observado para metanol nas fases II, IV e V ($<6 \text{ mg L}^{-1}$). No efluente, acetona e metanol foram observados em concentrações ainda menores. As concentrações de acetona nas fases III, IV e V foram menores que $3,20 \text{ mg L}^{-1}$ e metanol ($1,70 \text{ mg L}^{-1}$) foi observado apenas na última fase da operação.

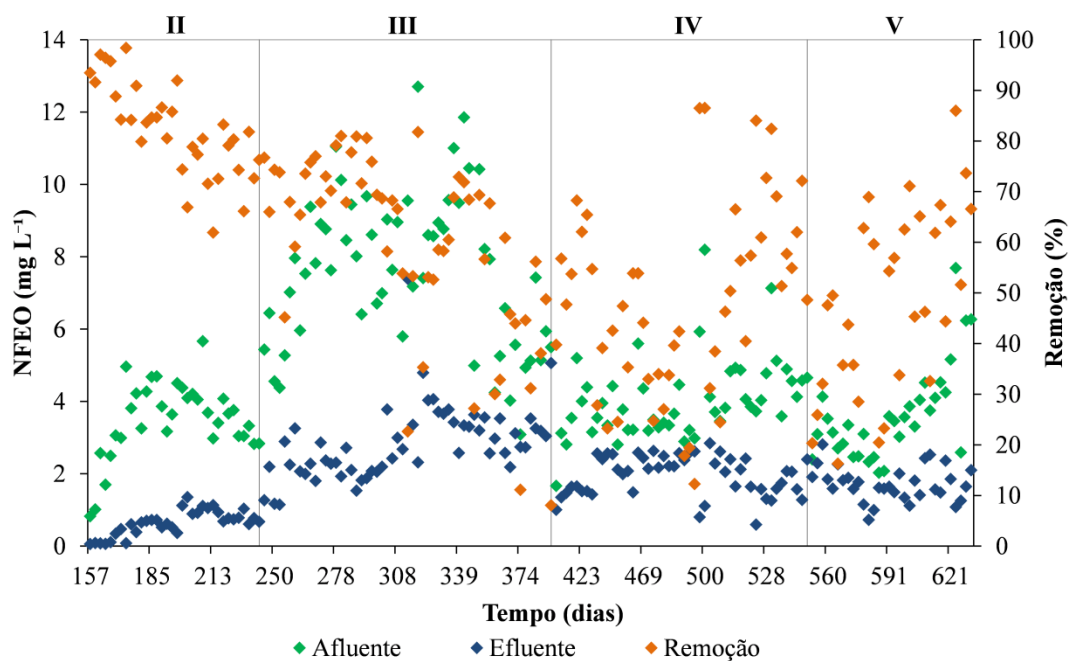
Ácido acético, bem como álcoois e cetonas são frequentemente observados em altas concentrações na ARLC e esgoto doméstico, portanto, sua presença no meio é esperada. É importante mencionar que valores como os observados neste estudo não causam distúrbios no processo e nem inibição da atividade microbiana conforme verificado por outros autores (DELFORNO et al., 2012; ZUPANČIČ et al., 2012). Ainda existem casos em que mesmo para maiores concentrações de AOV não ocorre desequilíbrio devido à boa capacidade tampão do sistema. Por exemplo, FRANKE-WHITTLE et al. (2014) reportaram boa estabilidade em uma planta de digestão anaeróbia escala real, tendo concentrações muito maiores de AOV (até 8.741 mg L^{-1} de ácido propiônico). No presente estudo foram mantidos pH estável e capacidade tampão suficiente, evitando, assim, o acúmulo de AOV no sistema.

5.2.3 Remoção de Nonilfenol etoxilado

A remoção de NFEO por meio de processos biológicos tem sido avaliada anteriormente, no entanto, até aonde sabe-se, este é o primeiro estudo envolvendo EGSB. A maior eficiência de remoção de NFEO foi observada durante a fase II, sendo de $82 \pm 9\%$ para $3,5 \pm 1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de NFEO afluente (Tabela 5.10), equivalente a carga específica de NFEO de $4,2 \pm 1,4 \text{ mg gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Figura 5.12 e Figura 5.13). Esta porcentagem de remoção de NFEO é alta em comparação com as obtidas em pesquisas anteriores. Por exemplo, LU et al. (2008) obtiveram eficiência de remoção de 70% para 100 mg L^{-1} de NFEO (Igepal CO-630) via digestão anaeróbia em experimentos em batelada. DORNELLES et al. (2020a) obtiveram remoção de até 78% para 4-NF em 20L-RALF alimentado com substrato sintético similar ao deste estudo, porém com menor concentração deste surfactante ($0,38 \text{ mg L}^{-1}$). GOEL et al. (2003) observaram remoção inferior (30 - 50%) para concentração similar de NF10EO (5 mg L^{-1}) em reator anaeróbio em escala de bancada alimentado com substrato sintético. Por outro lado, MURDOCH et al. (2018) obtiveram

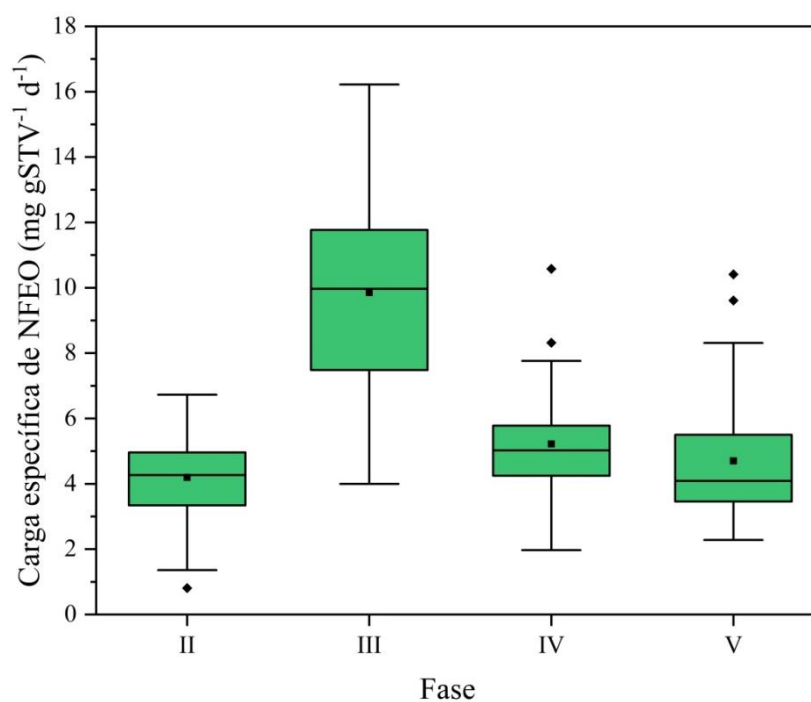
remoção de aproximadamente 90% para 3 mgNF₂EO L⁻¹ em digestores anaeróbios escala bancada, o que está em concordância com o resultado obtido neste estudo para reator EGSB.

Figura 5.12 – Variação temporal de NFE0, afluente, efluente e eficiência de remoção



Fonte: Autoria própria.

Figura 5.13 – Carga específica de NFE0 ao longo das fases operacionais do EGSB



Fonte: Autoria própria.

Na fase III, observou-se diminuição significativa da eficiência de remoção ($60 \pm 18\%$) quando a carga específica de NFEO foi aumentada para $9,8 \pm 2,9 \text{ mg gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Conseqüentemente, a estratégia foi reduzir a carga em 50% para as fases seguintes, dessa forma, as cargas de NFEO aplicadas foram de $4,8 \pm 1,8 \text{ mg gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $4,7 \pm 1,9 \text{ mg gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ nas fases IV e V, respectivamente. Não houve diferença significativa na eficiência de remoção de NFEO entre as fases IV ($48 \pm 19\%$) e V ($49 \pm 18\%$). A adição de esgoto doméstico na última etapa não afetou a eficiência de remoção do NFEO, provavelmente devido à adaptação da biomassa ao composto. Este resultado está em concordância aos valores de remoção ($<53\%$ para menor concentração de NFEO – $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$) obtidos por GAO et al. (2014), que avaliaram a degradação anaeróbica de NFEO em ETE escala real. PATERAKIS et al. (2012) também observaram resultados similares (66%) na remoção de NFEO de lodo contaminado ($1,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ peso seco) em reatores anaeróbios em escala de bancada. Neste estudo, a composição do substrato sintético provavelmente favoreceu a manutenção e a atividade metabólica da comunidade microbiana, contribuindo para a obtenção de eficiência de remoção de NFEO de até $82 \pm 9\%$.

Particularmente, o extrato de levedura é frequentemente utilizado no tratamento biológico de águas residuárias contendo compostos tóxicos, por ser uma fonte rica em vitaminas, nutrientes e aminoácidos, o que favorece algumas populações microbianas. Outros autores (MACEDO et al., 2015; BRAGA et al., 2015a) também observaram bons resultados usando extrato de levedura como cossustrato em reatores anaeróbios alimentados com água residuária com LAS. Esse fato também foi observado por MOTTERAN et al. (2014a), que estudaram a degradação de LAE em RALF em escala de bancada. Além do extrato de levedura, no presente estudo, também utilizaram etanol como fonte de carbono no substrato sintético que, de acordo com várias pesquisas (MACEDO et al., 2015; MOTTERAN et al., 2018; DORNELLES et al., 2020a), pode melhorar a degradação de alguns surfactantes (por exemplo, LAS e 4-NF).

Além disso, a degradação do LAS foi monitorada nas fases IV e V (que incluem ARLC como fonte de surfactante). A remoção máxima e mínima de LAS foram observadas na fase V ($50 \pm 16\%$ para $14 \pm 4,42 \text{ mgLAS gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$) e na fase IV ($26 \pm 16\%$ para $6,5 \pm 2,4 \text{ mgLAS gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$), respectivamente. Em estudo similar, MOURA et al. (2019) obtiveram eficiência de remoção inferior ($32 \pm 17\%$) para $12,9 \pm 4,5 \text{ mgLAS STV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ em reator EGSB escala aumentada, sob condições operacionais semelhantes (alimentado com ARLC em codigestão com esgoto doméstico; TDH 41 ± 2 ; V_{asc} 4 m h^{-1} ; temperatura ambiente).

Em outros estudos sobre o tratamento biológico de surfactantes envolvendo a tecnologia EGSB foram observados valores similares. DELFORNO et al. (2014) obtiveram eficiência de remoção de $63,5 \pm 10,3\%$ para carga específica de LAS inferior ($1,2 \pm 0,2 \text{ mg gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$) em reator EGSB em escala de bancada, alimentado com meio mineral e operado em TDH 38 h, V_{asc} 4 m h^{-1} e condições mesófilas. FARIA et al. (2017) obtiveram eficiência de remoção de $55,3 \pm 18,4\%$ para $3,5 \pm 0,7 \text{ mg STV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ de LAS em EGSB escala de bancada (operado em TDH 38 h; V_{asc} 4 m h^{-1} ; condição mesofílica) alimentado com ARLC em codigestão com esgoto doméstico. Neste estudo, reduzida remoção de LAS foi observada na fase IV, provavelmente devido à complexidade da ARLC, contendo diversos compostos orgânicos xenobióticos (XOC), em TDH $40 \pm 3 \text{ h}$, V_{asc} de 7 m h^{-1} em condição mesofílica. Deve-se destacar que BRAGA e VARESCHE (2014) identificaram trinta e três XOC diferentes incluindo solventes, fragrâncias, constituintes de produtos de limpeza, conservantes, repelentes de insetos, antioxidantes entre outros. MOTTERAN et al. (2019) também constataram diversos compostos orgânicos contendo de 6 a 36 cadeias de carbono, alguns deles em alta abundância (por exemplo, hexadecanol, dodecanol e nonadecanol). Da mesma forma, em caracterização conduzida por MOURA et al. (2019) observou-se alta abundância de XOC (por exemplo, ácido hexadecanóico, ácido palmitoléico, ácido tetradecanóico, butil benzenossulfonamida, esqualeno, etil hexil ftalato, etc.). Além destes contaminantes, na alimentação do EGSB do presente estudo foi incluído o NFEO, em concentrações crescentes contribuindo para a complexidade da remoção e degradação nas condições impostas de operação.

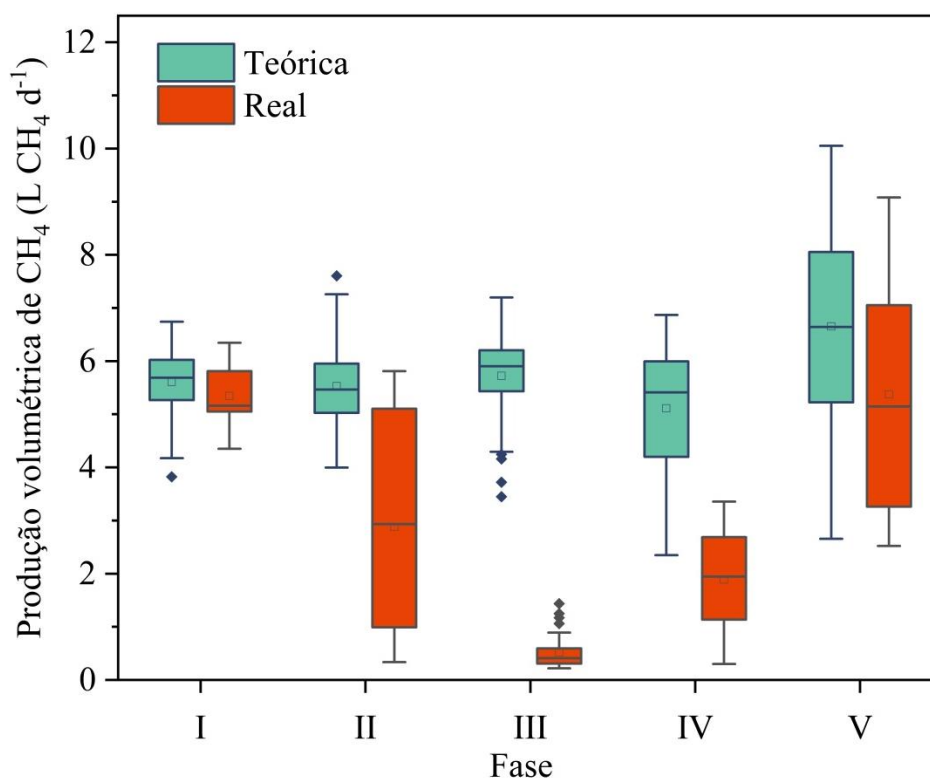
5.2.4 Produção de metano e composição do biogás

A produção e composição (CO_2 e CH_4) do biogás foram monitoradas ao longo da duração desta investigação. Em relação à produção volumétrica de metano, foi observado entre $0,5 \pm 0,3$ e $5,3 \pm 0,7 \text{ L CH}_4 \text{ d}^{-1}$ (Figura 5.14 e Tabela 5.10), enquanto o conteúdo de metano permaneceu acima de 90%.

O rendimento teórico de metano para todo o período de operação foi de $0,34 \pm 0,004 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}}$. Entretanto, o rendimento médio real de metano observado foi entre $0,03 \pm 0,02 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}}$ (fase III) e $0,35 \pm 0,03 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}}$ (fase I) conforme apresentado na Tabela 5.10. Diminuição significativa do rendimento de metano foi observada entre a fase I em relação às fases II, III e IV. O valor real obtido durante a fase I foi coerente com o valor teórico (Tabela 5.10). Portanto, pode-se inferir que existiram

condições favoráveis para o crescimento e metabolismo do consórcio microbiano e, conseqüentemente, um processo de digestão anaeróbia equilibrado. Nas fases seguintes, observou-se diminuição abrupta até atingir redução de 91% (fase III), evidenciando toxicidade de NFEO para a comunidade metanogênica, principalmente quando a carga específica de NFEO foi maior que $5 \text{ mg gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Nesse período, observou-se remoção de matéria orgânica estável ($> 80\%$). VILELA et al. (2021) relataram comportamento similar da atividade metanogênica em reator anaeróbio de leito estruturado (RALE) aplicado a produção de biocombustível (H_2 e CH_4) a partir de melaço de cana de açúcar (diminuição acentuada do rendimento de metano para valores de COV superiores a $2,3 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, todavia, foi observada maior remoção de matéria orgânica). Segundo os autores, o aumento na COV promoveu condições desfavoráveis para as arqueias metanogênicas. Em estudo semelhante, OLIVEIRA et al. (2020) observaram remoção de matéria orgânica em RALF alimentado com LAS de até $76 \pm 2\%$ com produção nula de CH_4 . De acordo com CHERNICHARO (2016), mecanismos não biológicos de remoção de matéria orgânica podem ocorrer em sistemas biológicos (como por exemplo, precipitação e adsorção), nestes casos não haverá produção de CH_4 .

Figura 5.14 – Produção volumétrica de metano nas diferentes fases de operação do EGSB



Fonte: Autoria própria.

Apesar da adição de NFEO ter impactado negativamente a produção de metano, as arqueias metanogênicas conseguiram restabelecer sua atividade na fase V, cujo rendimento de metano observado foi de $0,30 \pm 14 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}}$ (88% do valor teórico) na presença de $4,7 \pm 1,9 \text{ mg gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Têm-se duas hipóteses possíveis para este resultado, a saber: acredita-se que os microrganismos adaptaram-se aos compostos tóxicos presentes no meio, e por outro lado, é possível inferir que a codigestão da ARLC e esgoto doméstico tenha contribuído para maior produção de biogás, promovendo o equilíbrio de nutrientes, além de possível contribuição com população microbiana autóctone mais diversa provenientes desses resíduos líquidos. De fato, a capacidade de codigestão anaeróbia para melhorar a produção de biogás foi relatada anteriormente (KARKI et al., 2021).

A concentração média de CH_4 e CO_2 no biogás observada foi de $91,28 \pm 0,96\%$ a $96,57 \pm 0,96\%$ e de $3,43 \pm 0,96\%$ a $8,72 \pm 0,96\%$, respectivamente. Pelo método utilizado não foram observados outros gases (por exemplo, H_2 , H_2S). O maior teor de metano foi observado na fase I (sem NFEO), o qual diminuiu continuamente ao longo da operação a partir da adição de NFEO no substrato. MURDOCH et al. (2018) obtiveram rendimento de metano ligeiramente superior ($0,38 \pm 0,001 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}_{\text{removida}}$) junto com baixo teor de CH_4 ($57 \pm 0,8\%$) em reator anaeróbio em escala de bancada com biomassa proveniente de lodos ativados e menor concentração de NFEO (3 mg L^{-1}).

Os valores observados após os microrganismos se adaptarem ao NFEO (fase V), foram relativamente altos em comparação com as pesquisas anteriores sobre o tratamento anaeróbio de águas residuárias contendo compostos tóxicos. Por exemplo, ELREEDY et al. (2016) obtiveram produção de CH_4 de $1,70 \pm 0,14 \text{ L d}^{-1}$ (neste estudo – $5,4 \pm 2,0 \text{ L d}^{-1}$) e teor de CH_4 de $46,41 \pm 3,74\%$ no tratamento de águas residuárias contendo etilenoglicol com COV de $0,67 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ em reator anaeróbio de leito empacotado de 15L. MAHMOUD et al. (2017) observaram teor máximo de CH_4 de 62% e produção de $3,5 \text{ LCH}_4 \text{ d}^{-1}$ em reator anaeróbio em escala aumentada de tratamento de águas residuárias de resina de poliéster contaminadas com 1, 4-dioxano, com similar COV ($0,31 \pm 0,04 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$).

Neste estudo, a suplementação com extrato de levedura (300 mg L^{-1}) juntamente com valores médios de pH próximos à neutralidade (Tabela 3), tanto para o afluente, quanto para o efluente ao longo da operação podem ter contribuído para a ocorrência da metanogênese. Da mesma forma, os valores observados para a relação Alcalinidade Intermediária/Alcalinidade Parcial (AI/AP) foram de 0,3 sem variação significativa durante todo o período operacional, indicando estabilidade do sistema. Além disso, é provável que outros fatores operacionais, como o TDH ($41 \pm 5 \text{ h}$) e a V_{asc} aplicada (7 m h^{-1} ; maior do que

em outros estudos) para manter a mistura adequada e maior contato biomassa-substrato pode ter favorecido o processo.

5.2.5 Distribuição do tamanho do grânulo

A análise granulométrica da manta de lodo foi realizada ao final de cada fase e o resultado é fornecido na Tabela 5.11 e Figura 5.15. Na Figura 5.16, são apresentadas algumas imagens a partir das quais foi realizada a contagem e determinação do tamanho dos grânulos. Observou-se para o inóculo $0,98 \pm 0,88$ mm de diâmetro médio, assim como para os grânulos da manta de lodo, após período de adaptação (157 dias), foi observado diâmetro médio de $0,90 \pm 0,42$ mm e maior frequência de grânulos com diâmetro entre 0,5 e 1,0 mm. No final da fase III, após a adição de NFEO ($9,8 \pm 2,9$ mg gVTS⁻¹d⁻¹) observou-se aumento significativo da frequência de grânulos com diâmetros menores (<0,5 mm), o que pode estar diretamente relacionado à toxicidade de NFEO e a V_{asc} (7 m h⁻¹) aplicada no reator, sendo que é um dos principais fatores que influenciam o processo de granulação.

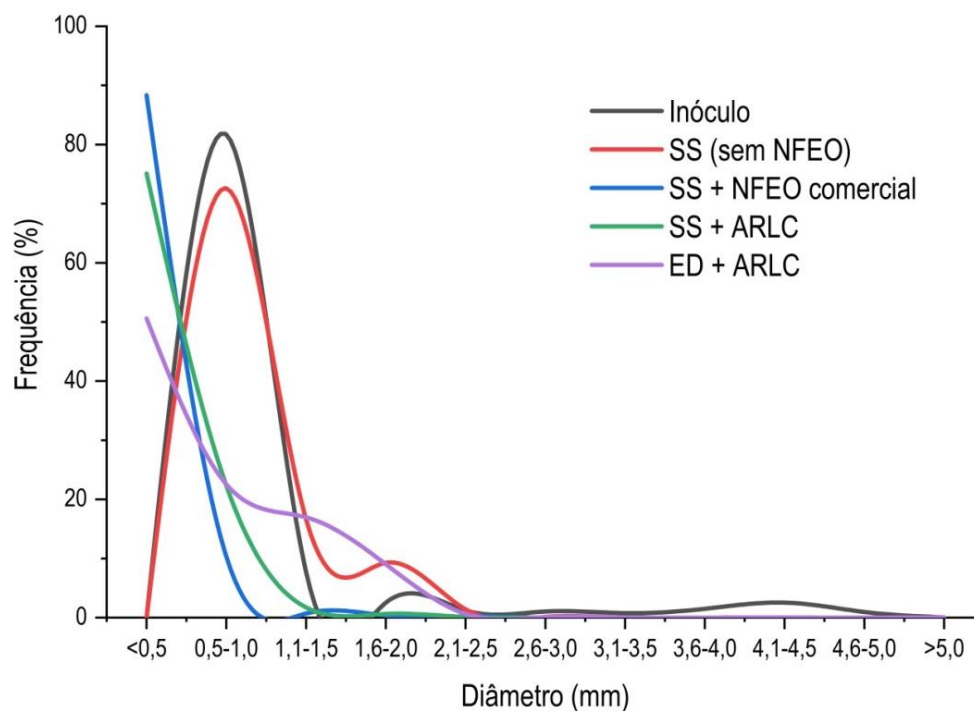
Tabela 5.11 – Frequência das faixas granulométricas observadas no inóculo e na manta de lodo do reator EGSB durante as diferentes fases operacionais

Diâmetro (mm)	Inóculo	Adaptação	SS + NFEO	SS + ARLC + NFEO	ARLC + ED + NFEO
<0,5	0	0	88,34	75,10	50,59
0,5-1,0	81,70	72,57	10,36	22,35	22,56
1,1-1,5	7,67	16,57	0,71	1,72	16,98
1,6-2,0	2,54	9,29	0,38	0,62	9,03
2,1-2,5	1,21	1,43	0,20	0,12	0,64
2,6-3,0	1,04	0,14	0,01	0,04	0,12
3,1-3,5	0,78	0,00	0,00	0,04	0,01
3,6-4,0	1,50	0,00	0,01	0,01	0,00
4,1-4,5	2,54	0,00	0,00	0,00	0,03
4,6-5,0	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00
>5,0	0,05	0,00	0,00	0,01	0,04
Média	$0,98 \pm 0,88$	$0,90 \pm 0,42$	$0,25 \pm 0,23$	$0,35 \pm 0,30$	$0,68 \pm 0,65$

SS: substrato sintético; ARLC: água residuária de lavanderia comercial; NFEO: nonilfenol etoxilado.

Fonte: Autoria própria.

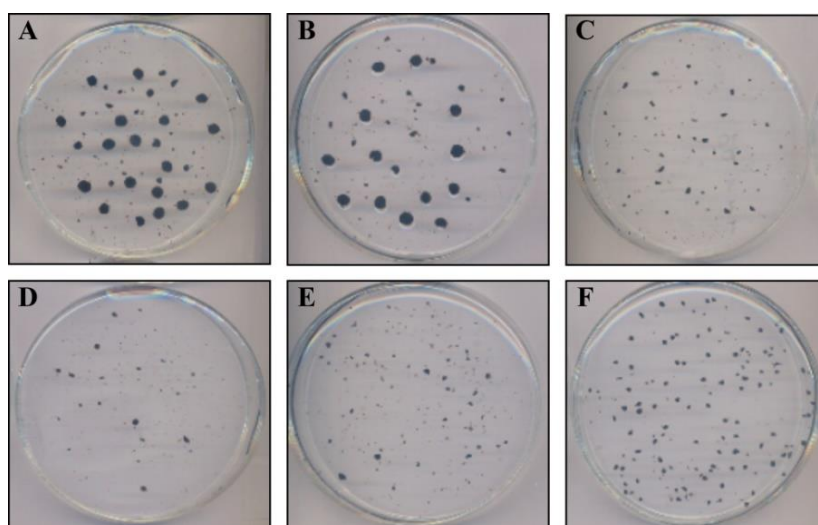
Figura 5.15 – Distribuição granulométrica para as diferentes fases operacionais do EGSB



SS= substrato sintético; NFEO= nonilfenol etoxilado; ARLC= água residuária de lavanderia comercial; ED= esgoto doméstico.

Fonte: Autoria própria.

Figura 5.16 – Granulometria do lodo de inóculo e da manta de lodo durante as diferentes fases de operação do reator EGSB



Fonte: Autoria própria.

A e B= lodo de inóculo; C= alimentação com substrato sintético (SS); D= alimentação com SS + nonilfenol comercial; E= alimentação com água residuária de lavanderia comercial (ARLC) diluída em SS; F= alimentação com esgoto doméstico + ARLC.

Acredita-se que o desempenho dos reatores anaeróbios como o EGSB é altamente dependente da formação de grânulos (0,5 - 3,0 mm) com propriedades de sedimentação favoráveis evitando a lavagem de partículas GAGLIANO et al. (2017). Além disso, há evidências de maior atividade metanogênica em grânulos com aproximadamente 1,0 a 2,0 mm de diâmetro (ALPHENAAR et al., 1994). Neste estudo, houve maior frequência de grânulos com diâmetros menores que 1,0 mm, porém, o desempenho do reator manteve-se satisfatório durante toda a operação quando considerados todos os parâmetros. Na fase III, foi observada diminuição severa no rendimento de metano ($0,03 \pm 0,021 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{DQO}_{\text{removida}}$), coincidentemente, nesta fase observou-se também diminuição do diâmetro médio dos grânulos no leito de lodo para $0,25 \pm 0,23 \text{ mm}$. Nas fases IV e V deste estudo, observou-se aumento na proporção de grânulos de maior tamanho ($> 1,0 \text{ mm}$) junto com maior rendimento de metano ($0,13 \pm 0,07 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{DQO}_{\text{removida}}$). Mesmo na fase IV, o rendimento de metano ainda era muito baixo ($0,35 \pm 0,3 \text{ mm}$ de diâmetro médio), e foi apenas na fase V que o rendimento de metano voltou aos valores esperados (88% do valor teórico); até então, o diâmetro médio dos grânulos na manta de lodo tinha aumentado para $0,68 \pm 0,7 \text{ mm}$, o que pode estar relacionado à adição de esgoto doméstico.

A mudança nos grânulos (desintegração e reconstrução) durante a operação de reatores anaeróbios tem sido documentada em muitos estudos. Por exemplo, MOURA et al. (2019) observaram redução no tamanho dos grânulos de $1,9 \pm 0,7 \text{ mm}$ (inóculo) para $1,3 \pm 0,9 \text{ mm}$ (após 480 dias de operação) em reator EGSB empregado na remoção de LAS de água residuária de lavanderia. ALVES (2013) observou diminuição considerada na frequência (de 46,4% para 6,8%) de grânulos maiores (1,6 - 2,0 mm) junto com aumento na frequência de grânulos menores (0,4 - 1,0 mm) devido ao aumento da COV (até $10 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) e na V_{asc} (até $0,17 \text{ m h}^{-1}$) durante a operação de um UASB (60L) usado no tratamento de vinhaça. Neste estudo, pode-se inferir que a diminuição significativa no tamanho dos grânulos ocorreu principalmente por causa da adição de NFEO, enquanto a adição de esgoto doméstico favoreceu a reconstrução granular. No entanto, mesmo com grânulos finos e maior concentração de NFEO ($4,8 \pm 1,8 \text{ mg gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$) foi observada remoção deste surfactante e bom desempenho reacional.

5.2.6 Balanço de massa

O balanço de massa foi realizado ao final da operação, com o objetivo de reduzir erros conceituais na remoção do NFEO. Durante 637 dias de operação, o reator recebeu 84,9

g de NFEO afluente dos quais 36,8 g saíram no efluente. Dessa forma, 48,2 g (57%) foram removidos no processo. Da fração removida, 5,2 g foram adsorvidos na biomassa (35,1 mg g⁻¹ peso seco), portanto, 11% do NFEO foram removidos por adsorção e 89% foram degradados.

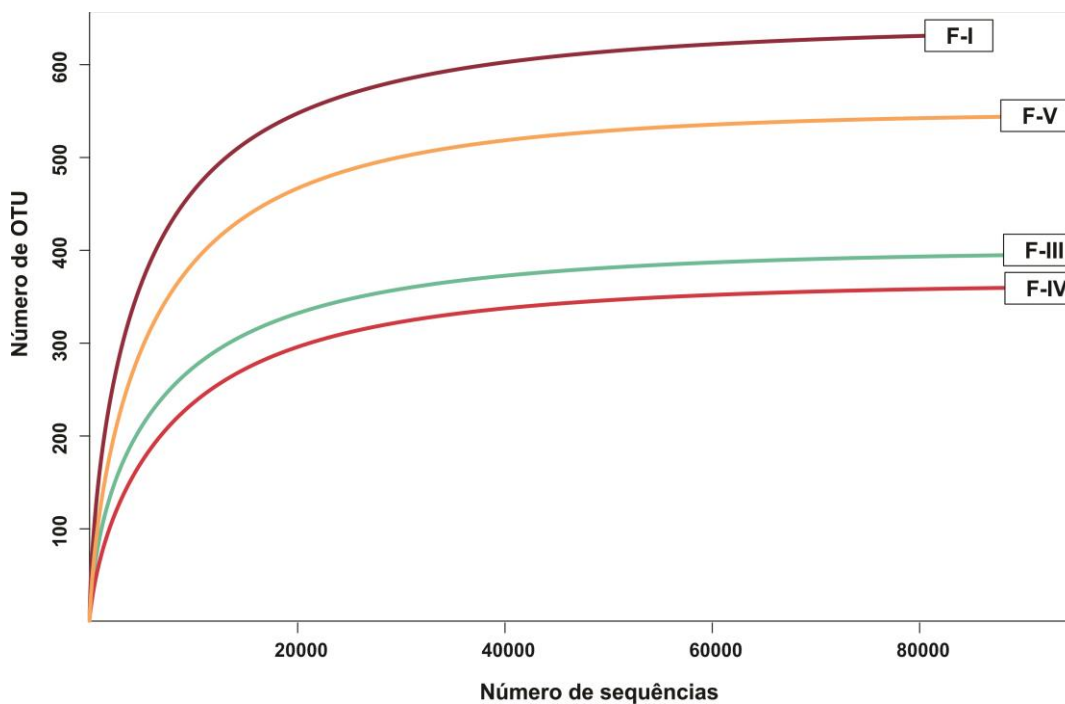
A adsorção de uma fração do NFEO era esperada, pois se sabe que o NFEO de cadeia curta possui um *log K_{ow}* maior que 4, o que significa que é fortemente hidrofóbico. Assim, tais compostos podem associar à biomassa ou à fração particulada do substrato de alimentação do reator. Para o composto parental, octilfenol etoxilado (Triton X-100), observou-se taxa de adsorção maior (60,7 mg g⁻¹) em lodo anaeróbio (JIMÉNEZ-GONZÁLEZ et al., 2019). Portanto, a porcentagem de adsorção (11%) no estudo pode ser considerada baixa e pode estar relacionada às características dos grânulos (por exemplo, estrutura, tamanho e área superficial) na manta de lodo e à composição do substrato de alimentação, tendo reduzido conteúdo de material particulado.

5.2.7 Composição da comunidade microbiana nas diferentes fases operacionais do EGSB

As amostras coletadas no final das fases I, III, IV e V foram analisadas e 1.387 OTUs foram identificados a partir de 116.875 leituras de sequenciamento do gene RNAr 16S, em que 89.557 foram mantidos após a filtragem, fusão e remoção da quimera. 1.372 OTUs, representando 98,92% das leituras de sequenciamento foram classificados para o Domínio Bacteria e os 15 OTUs restantes foram classificados para o Domínio Archaea (1,08%).

Os valores de cobertura de Good foram cerca de 100% em todas as amostras e por meio das curvas de rarefação observou-se platô com representação satisfatória das comunidades microbianas (Figura 5.17). A complexidade das comunidades microbianas foi avaliada por meio da diversidade alfa, incluindo taxas observadas, Shannon, Simpson-Wiener e Chao1 (Tabela 5.11).

Figura 5.17 – Curva de rarefação para todas as amostras coletadas durante as diferentes fases de operação do reator EGSB



Fonte: Autoria própria.

F-I= fase I (SS, sem NFEO); **F-III**= fase III (SS + $7,6 \pm 2,1$ mgNFEO L⁻¹); **F-IV**= fase IV (SS + ARLC + $4,0 \pm 1,1$ mgNFEO L⁻¹); **F-V**= fase V (ED + ARLC + $3,7 \pm 1,3$ mgNFEO L⁻¹); SS= substrato sintético; ARLC= água residuária de lavanderia comercial; ED= esgoto doméstico.

Tabela 5.12 – Diversidade e riqueza da comunidade microbiana no lodo do EGSB para as diferentes fases de operação

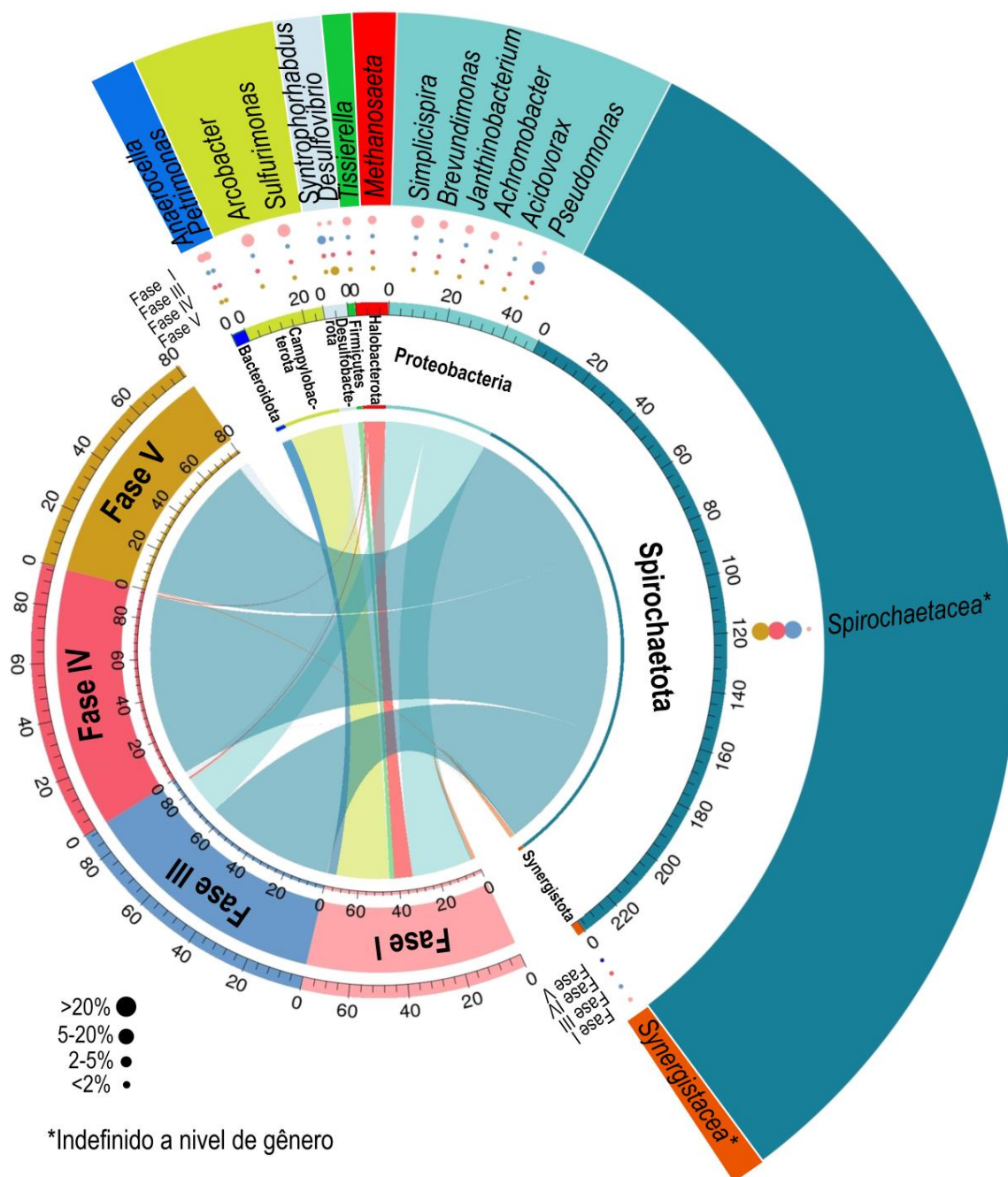
Fase	Taxa observada	Shannon-Wiener (H')	Simpson	Chao1
Fase I	632	3,90	0,94	638,2
Fase III	395	2,62	0,83	398,3
Fase IV	360	1,65	0,57	362,1
Fase V	544	2,11	0,55	546,7

Fonte: Autoria própria.

Na fase I (sem NFEO), Proteobacteria (30,39%) foi o filo mais abundante na população bacteriana, seguido de Campylobacterota (26,53%), Bacteroidota (4,42%), Firmicutes (2,54%) e Synergistota (1,99%). No Domínio Archaea, membros do filo

Halobacterota foram identificados como os microrganismos com maior abundância relativa de 9,02% (Figura 5.18).

Figura 5.18 – Gêneros com maior abundância relativa (>1,7%) nas diferentes fases de operação do reator EGSB



Fonte: Autoria própria.

Após a adição do NFEO, houve aumento acentuado na abundância relativa de microrganismos pertencentes ao filo Spirochaetota (família Spirochaetaceae) de 0,63% (fase

I), 65,27% (fase III), 91,70%, (fase IV) e 75,54% (fase V), representando assim o filo mais abundante. O contrário ocorreu com o filo Proteobacteria cuja abundância relativa observada diminuiu de 30,39% (fase I) para 20,06 (fase III), 0,29% (fase IV) e 0,38% (fase V), sendo o segundo filo mais abundante. Da mesma maneira, a abundância relativa dos filios Campylobacterota, Bacteroidota, Firmicutes, diminuiu (> 1%) para todas as seguintes fases de operação.

Embora, representantes do filo Spirochaetota tenham sido identificados anteriormente em sistemas de digestão anaeróbia de tratamento de esgoto doméstico e sanitário (TOMAZETTO e OLIVEIRA, 2013; SHU et al., 2015), e água residuárias de lavanderia (BRAGA et al., 2015b; ANDRADE et al., 2017a), raramente foi observado como o filo mais abundante. No ambiente, bactérias pertencentes ao filo Spirochaetota tem sido observadas em culturas de enriquecimento e relacionadas à degradação de hidrocarbonetos ou compostos clorados sob condições anóxicas, incluindo tolueno, naftaleno, alcanos, tereftalato e tricloroeteno (DONG et al., 2018). Em baixas proporções, foram também identificados em consórcios microbianos envolvidos na degradação de alguns surfactantes (por exemplo, LAS e LAE) (MACEDO et al., 2015; BRAGA et al., 2015b; MOTTERAN et al., 2017; ANDRADE et al., 2017a; CENTURION et al., 2018; GRANATTO et al., 2019).

Neste estudo, a maior abundância de Spirochaetota foi observada na presença de maior carga de poluentes orgânicos (até $9,8 \pm 2,9$ mg gSTV⁻¹ d⁻¹ e $14 \pm 4,42$ mg gSTV⁻¹ d⁻¹ de NFEO e LAS, respectivamente), sugerindo maior grau de especialização de nicho. Por meio desses resultados, pode-se inferir que tais microrganismos desempenham papel importante na degradação desses compostos. Até o momento, todas as bactérias isoladas do filo Spirochaetota, fermentam proteínas e carboidratos principalmente em acetato, H₂ e CO₂, junto com quantidades variáveis de etanol (DONG et al., 2018). No entanto, RAJENDRAN et al. (2020) sugerem que bactérias deste filo são capazes de realizar a SAO. Além disso, de acordo com uma pesquisa sobre o genoma de comunidades microbianas envolvidas no processo da digestão anaeróbia, Spirochaetota, assim como Proteobacteria (principalmente Deltaproteobacteria), Firmicutes e Bacteroidota são microrganismos bastante versáteis com potencial metabólico para desempenhar diferentes papéis no processo da digestão anaeróbia. Isto é, desde a hidrólise da celulose ou celobiose até a acetogênese, destacando-se membros do filo Proteobacteria com maior capacidade de realizar oxidação sintrófica de AOV (VANWONTERGHEM et al., 2016). Neste estudo, a proporção de Spirochaetota (família Spirochaetaceae) foi elevada em relação aos outros filios identificados, portanto, é possível

que membros desse filo estavam envolvidos em múltiplas fases do processo, o que estaria em concordância com o estudo previamente citado.

Ainda, em relação ao Domínio Bacteria foi verificado maior diversidade microbiana para representantes do filo Proteobacteria. Bactérias incluídas nesse filo possuem ampla diversidade metabólica e seus membros realizam variedade de funções em ecossistemas microbianos diversos (aquáticos, solo, vegetal e animal) (MOON et al., 2018). Bactérias pertencentes aos filios Proteobacteria, Firmicutes e Bacteroidota têm sido associadas à degradação de compostos fenólicos em ambientes naturais, por exemplo, CAI et al. (2016) identificaram bactérias do filo Proteobacteria (39,6%) e Firmicutes (18,1%) como grupos dominantes em rios urbanos poluídos com BFA (0,8 a 77,5 ng L⁻¹) e NF (10,2 a 162,9 ng L⁻¹). WANG et al. (2015) também sugeriram que a biodegradação de NF em sedimentos de rios é realizada principalmente por bactérias dos filios Proteobacteria, Firmicutes e Bacteroidota. Além disso, esses filios são frequentemente observados como bactérias dominantes em estudos sobre a remoção de surfactantes de ARLC, esgoto sanitário e esgoto doméstico. BRAGA et al. (2015b) observaram maior abundância de Proteobacteria e Bacteroidota em RALF de tratamento de águas residuárias de lavanderia com LAS. Da mesma forma, ANDRADE et al. (2017a) observaram maior remoção (até 99 ± 3%) de LAS (18,6 ± 4,1 a 22 ± 4,5 mg L⁻¹), ao mesmo tempo que Proteobacteria (33 - 42%) e Bacteroidota (28 - 29%) foram identificados com maior abundância relativa. CENTURION et al. (2018) identificaram bactérias dos filios Proteobacteria, Bacteroidota, Synergistetes e Firmicutes como os mais abundantes durante a codigestão anaeróbia de águas residuárias de lavanderia e esgoto doméstico visando a remoção de LAS. Algumas populações dos filios Acidobacteria, Proteobacteria, Bacteroidota e Firmicutes também foram associadas à biodegradação do 4-NF (DORNELLES et al., 2020a).

Ao nível de gênero em relação ao filo Desulfobacterota (antes classificados como Deltaproteobacteria) observou-se abundância relativa considerável de *Desulfovibrio* (0,04 - 2,81%) e *Syntrophorhabdus* (0,18 - 2,37%) durante todo o período operacional. Esses microrganismos são capazes de metabolizar anaerobiamente ampla variedade de alcanos normais, iso- e cíclicos, bem como hidrocarbonetos aromáticos mono- e policíclicos (DAVIDOVA et al., 2019). *Syntrophorhabdus* são anaeróbios estritos e crescem apenas na presença de microrganismo hidrogenotrófico (KUEVER, 2014b). Estes microrganismos têm sido identificados em consórcios microbianos de reatores anaeróbios em escala real empregados no tratamento de águas residuárias contendo fenol (CHEN et al., 2009). *Desulfovibrio* também são anaeróbios estritos com metabolismo respiratório ou

fermentativo. Além disso, oxidam substratos orgânicos incompletamente em acetato (KUEVER, 2014a). Essas bactérias são conhecidas como redutoras de sulfato e, aparentemente, alguns membros deste gênero podem estar envolvidos na degradação de aditivos orgânicos (como surfactantes não-iônicos) presentes no fluido de fraturamento hidráulico (HFF – *Hydraulic Fracturing Fluid*) (LOZANO et al., 2019). Por meio desses resultados pode-se inferir sobre a existência de uma relação sintrófica entre *Syntrophorhabdus* e *Desulfovibrio*, considerando este último como um parceiro sintrófico responsável pelo consumo de H₂.

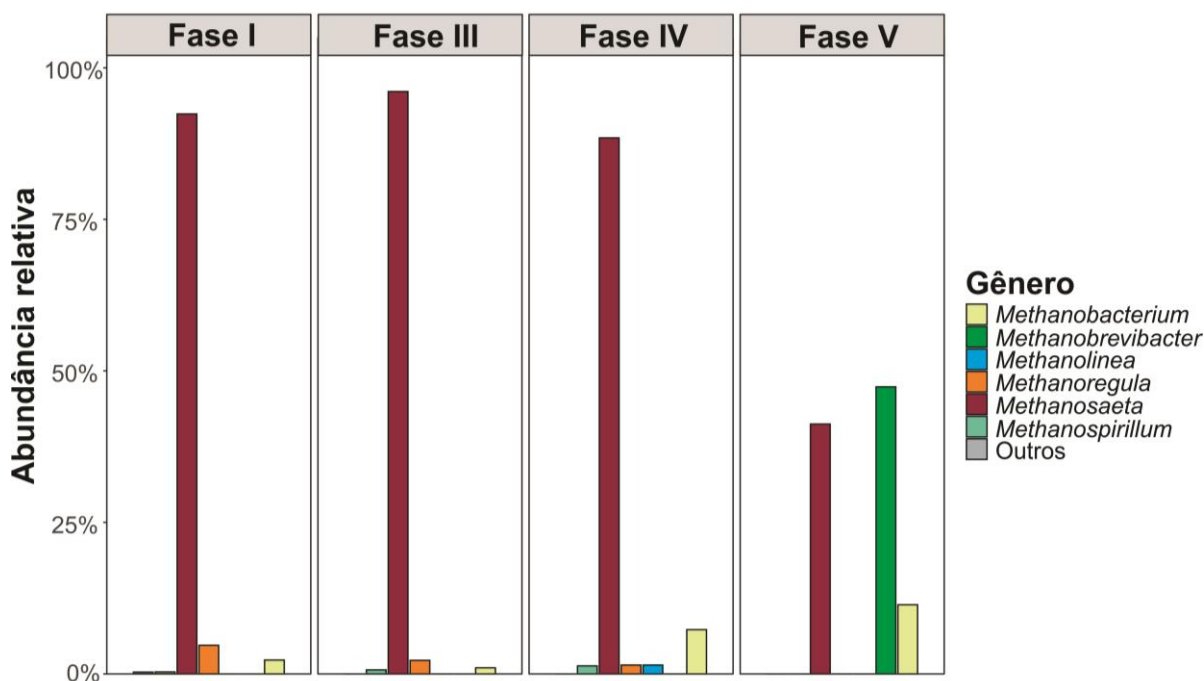
Outro grupo envolvido na degradação do NFEO é *Pseudomonas*, cuja abundância relativa foi de 1,75% na fase I (sem NFEO) para 19,76% na fase III (na maior carga específica de NFEO aplicada ao sistema). Curiosamente, verificou-se diminuição drástica da abundância relativa nas fases seguintes (abundância relativa ~0,16%). Muitas espécies do gênero *Pseudomonas* têm potencial para realizar a SAO, bem como degradar lipídios e ácidos orgânicos e glicerol (YIN et al., 2018). Bactérias pertencentes a família Pseudomonadaceae tem sido associada à degradação de BFA e NF em rios urbanos poluídos (CAI et al., 2016). Este grupo também foi observado em consórcios microbianos de degradação de LAS (MACEDO et al., 2015; GRANATTO et al., 2019). *Pseudomonas* foi identificado como capaz de degradar álcool etoxilado (JI, J. et al., 2019). Neste estudo, *Pseudomonas* foi identificada em abundância relativa maior após a adição de NFEO comercial ($4,2 \pm 1,4\%$ a $9,8 \pm 2,9\%$ mg gSV⁻¹ d⁻¹) ao substrato sintético. Uma vez que a ARLC foi adicionada e mesmo na codigestão com esgoto doméstico verificou-se diminuição drástica da abundância (<1%). Isso sugere maior afinidade com o substrato sintético utilizado na alimentação nas fases I, II e III (antes da adição da ARLC), indicando bom potencial para degradar NFEO nessas condições nutricionais específicas.

Synergistaceae (gênero não identificado) são bactérias que oxidam acetato sintroficamente, trabalham coletivamente com arqueias metanogênicas hidrogenotróficas (LV et al., 2019). Neste estudo, Synergistaceae foi a única família representante do filo Synergistota identificada durante a operação do reator. Em relação a sua abundância relativa verificou-se diminuição de 1,99% (fase I) para 0,07% (fase IV), o que indica que a toxicidade do NFEO impactou negativamente tais bactérias nas fases iniciais de operação, mas após algum tempo (cerca de 550 dias) adquiriu tolerância ao composto. Isto porque na fase V, emergiu progressivamente até atingir abundância relativa de 0,48%. É possível que a adição de esgoto doméstico tenha favorecido sua abundância relativa. Apesar de apresentar suscetibilidade à adição de NFEO (até $7,6 \pm 2,1$ mg L⁻¹), Synergistaceae tem mostrado boa

resistência em situações adversas sob diferentes concentrações de fenol (de 0,50 g L⁻¹ até 5,0 g L⁻¹) (POIRIER et al., 2016). Bactérias pertencentes a esta família são identificadas em reatores anaeróbios empregados na degradação de LAS (DELFORNO et al., 2012; DELFORNO et al., 2014) e, provavelmente, sua atividade metabólica foi favorável para manter a estabilidade no sistema. Neste estudo, porém, o papel ecológico deste grupo na degradação de compostos fenólicos ainda não está claro.

Em relação ao Domínio Archaea verificou-se que o gênero mais abundante durante todo o período de operação do reator foi a acetoclástica estrita, *Methanosaeta* (filo Halobacterota) tendo a maior abundância relativa na fase I (sem NFEO) (9,21%). Os outros metanogênicos identificados na fase I foram *Methanoregula* (0,47%) e *Methanobacterium* (0,23%). A composição da população metanogênica está ilustrada em nível de gênero na Figura 5.19. Táxons com abundância relativa inferior a 0,01% foram agrupados na categoria outros.

Figura 5.19 –Estrutura da população microbiana do Domínio Archaea ao nível de gênero. Táxons com abundância relativa < 0,01% foram agrupados na categoria outros. A abundância relativa foi calculada considerando apenas o Domínio Archaea



Fonte: Autoria própria.

Após a adição de NFEO verificou-se redução contínua e drástica na abundância relativa de todos os metanogênicos presentes na comunidade microbiana. Por exemplo,

verificou-se diminuição da abundância de *Methanosaeta* de 9,21% (fase I) para 0,05% (fase V). A abundância de *Methanoregula* era de 0,47% no início da operação (fase I) e <0,001% no final da operação (fase V), fase na qual quase desapareceu. No mesmo período, verificou-se diminuição da abundância de *Methanobacterium* de 0,23% para 0,015%. Além disso, na última fase operacional, *Methanoregula* foi sucedida por *Methanobrevibacter*, que foi identificado apenas na fase IV (0,001%), sendo verificado aumento da abundância relativa (0,06%) na fase V. Membros do gênero *Methanoregula*, *Methanobrevibacter* e *Methanobacterium* são considerados metanogênicos hidrogenotróficos (YU et al., 2020) os quais produzem CH₄ a partir de H₂ e CO₂.

A menor abundância e diversidade de arqueias metanogênicas ao longo do período de operação pode ser um indicador da baixa tolerância que possuem em relação à toxicidade de alguns compostos químicos, como por exemplo, NFEO, assim como aos diversos parâmetros operacionais (por exemplo, temperatura, pH, COV, V_{asc}). Além disso, em uma comunidade metanogênica estabelecida, normalmente o número de cópias do RNAr 16S do Domínio Bacteria é cerca de 10 vezes maior em relação ao Domínio Archaea (YU et al., 2014). De acordo com CARDINALI-REZENDE et al. (2012), as cópias do gene RNAr 16S de Bacteria podem ser cerca de 360 vezes maiores do que as cópias de Archaea por grama de lodo.

GRANATTO et al. (2019) identificaram menor abundância de Archaea (3,7%), principalmente *Methanosaeta*, em lodo anaeróbico de EGSB (62L) aplicado na remoção de surfactante ($1,4 \pm 0,7$ mgLAS gSV⁻¹ d⁻¹) em esgoto sanitário. Os autores também identificaram microrganismos do gênero *Methanobacterium* e *Methanolinea*, com similar abundância relativa (>0,5%). As principais arqueias metanogênicas (*Methanosaeta*, *Methanobacterium*, *Methanoregula* e *Methanobrevibacter*) identificadas nesta pesquisa também foram observados por (DORNELLES et al., 2020a) que operou RALF (20L) visando à remoção de 4-NF ($0,27 \pm 0,02$ mg L⁻¹). Segundo os autores, foi verificado após a adição do surfactante, aumento da abundância relativa de *Methanosaeta* no leito de areia de 1,56 para 2,58%. Além disso, este gênero foi identificado com maior abundância na manta de lodo (15,65%). Em estudo similar, CENTURION et al. (2018) identificaram *Methanosaeta*, *Methanolinea* e *Methanoregula* como os principais gêneros na manta de lodo do reator EGSB (o mesmo usado neste estudo) empregado na codigestão de esgoto doméstico e ARLC para remoção de LAS. Neste caso, verificaram que a abundância de Archaea aumentou de aproximadamente 7% para 30%, ao mesmo tempo em que a concentração de LAS foi aumentada de 4,0 mgLAS L⁻¹ para 16,0 mgLAS L⁻¹.

A partir da análise comparativa dos estudos mencionados anteriormente, pode-se inferir que NFEO é mais tóxico para a comunidade metanogênica do que LAS e que, em certas concentrações, 4-NF não causa inibição por toxicidade em algumas arqueias metanogênicas. Neste estudo, para maior concentração de NFEO aplicada (fase III), a metanogênese foi quase completamente inibida ($0,03 \pm 0,02 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{DQO}_{\text{removida}}$). Vale ressaltar que após algum período de tempo, certas metanogênicas conseguiram-se adaptar gradativamente à situação de estresse imposta ao sistema (principalmente devido a V_{acs} e a carga de NFEO aplicada ao reator).

Membros do gênero *Methanosaeta*, por exemplo, têm mostrado boa resistência em condições ambientais adversas para seu crescimento, mesmo na presença de um competidor potencial como a *Methanosarcina* (CHEN e HE, 2015). Neste estudo, sendo a única metanogênica acetoclástica identificada no consórcio microbiano, *Methanosaeta* provavelmente foi crucial para a produção de metano. Por outro lado, *Methanobrevibacter* também foi identificada na presença de $4,7 \pm 1,9 \text{ mgNFEO gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $14,0 \pm 4,4 \text{ mgLAS gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

Apesar da menor abundância relativa de arqueias metanogênicas, rendimento de metano de $0,30 \pm 0,14 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{DQO}_{\text{removida}}$ foi observado após 549 dias de operação – fase V. Este resultado é de grande relevância porque a maioria das pesquisas que envolvem digestão anaeróbia para tratamento de águas residuárias contaminadas com compostos potencialmente tóxicos focam apenas na remoção dos compostos e não exploram o potencial do sistema para a produção de biogás como uma fonte sustentável de bioenergia. Sendo assim, há muito a ser explorado nessa área. Ressalta-se ainda, que neste estudo, a abundância relativa do Domínio Archaea foi notavelmente menor (0,001 - 0,06%), o que evidencia o enorme potencial desses microrganismos (*Methanosaeta*, *Methanobrevibacter*) em sobreviver em condições adversas e, além disso, permanecer metabolicamente ativos, em função da determinação do biogás.

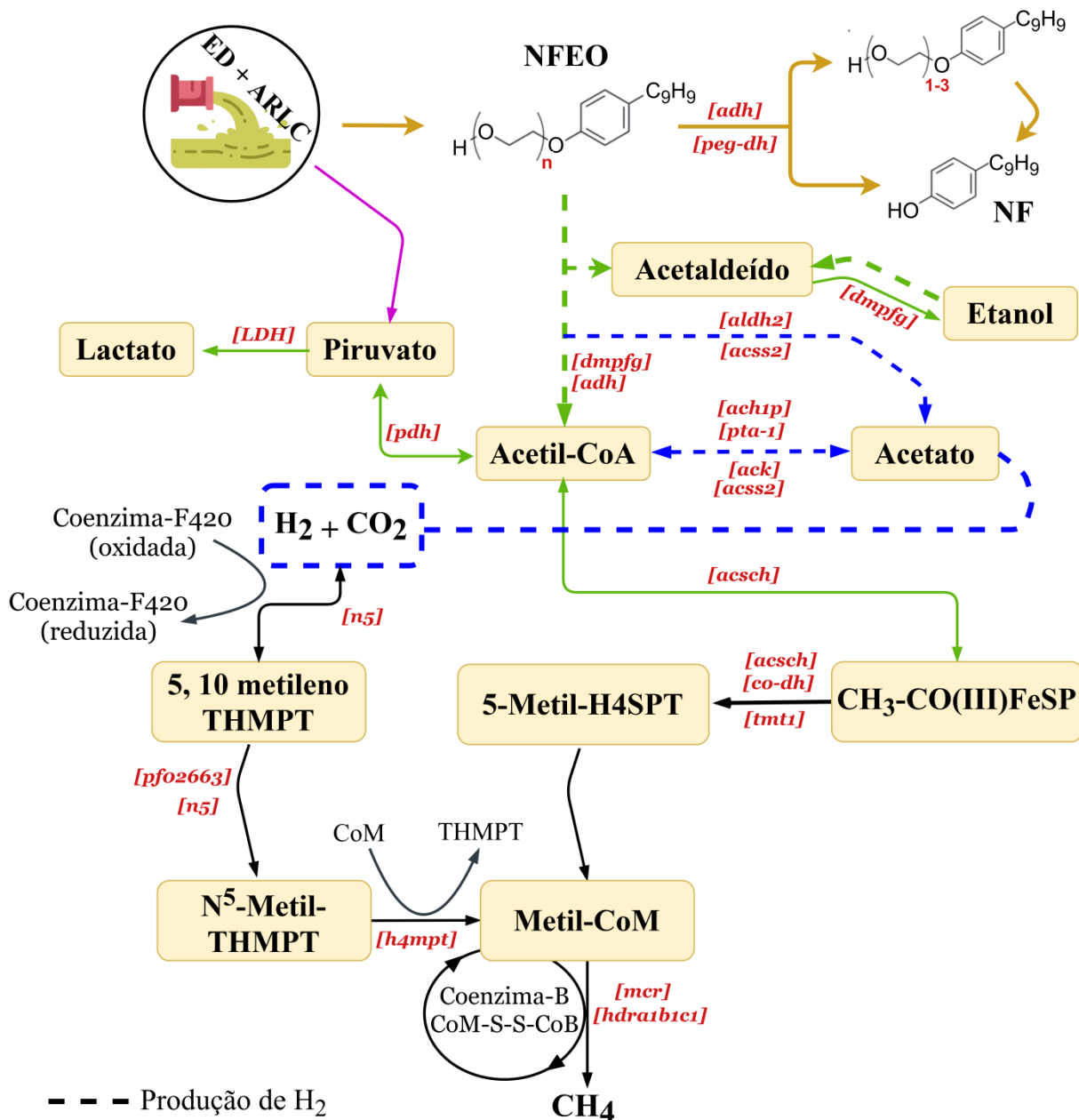
Em geral, neste estudo, por meio da análise taxonômica foi possível inferir sobre a dominância marcante de bactérias da família Spirochaetacea ao longo da operação, a partir da adição de NFEO ao substrato de alimentação (Figura 5.18). A família Spirochaetacea é dividida em quatro gêneros: *Spirochaeta*, *Borrelia*, *Cristispira* e *Treponema* (PASTER, 2010). Dentre estes, apenas *Spirochaeta* e *Treponema* têm sido identificados em sistemas de digestão anaeróbia, em abundâncias relativas muito baixas (<0,01%). O gênero *Spirochaeta* inclui espécies anaeróbias estritas e facultativas que têm um metabolismo quimiorganotrófico e usam ampla variedade de carboidratos como fontes de carbono e energia (LESCHINE et

al., 2006). De acordo com LUDWIG et al. (2010), as espécies conhecidas de *Spirochaeta* (*S. stenostrepta*, *S. coastis*, *S. aurantia* e *S. halophila*), sob condições anaeróbias, usam a via Embden-Meyerhof para fermentar carboidratos em piruvato, que é posteriormente convertido em acetil-CoA, CO₂ e H₂ pela via Clostridial tipo 2, tendo o acetato e etanol como produtos finais.

Por outro lado, espécies conhecidas de *Treponema* são estritamente anaeróbias, fermentadoras de glicose e requerem carboidratos ou aminoácidos como fonte de energia, além de ácidos orgânicos de cadeia longa ou curta para seu crescimento. Neste estudo, pode-se inferir fortemente que os membros da família Spirochaetacea, particularmente *Spirochaeta* e *Treponema*, foram os principais participantes no processo de digestão anaeróbia, desde a hidrólise da matéria orgânica complexa até a conversão de AOV em H₂, CO₂ e ácido acético na etapa da acetogênese (Figura 5.20). Além disso, pode-se inferir que a metanogênese ocorreu principalmente por meio da degradação do acetato, sendo que *Methanosaeta* foi o gênero mais abundante durante todo o período operacional. *Desulfovibrio* e *Lactivibrio* foram provavelmente responsáveis pela oxidação do etanol.

Após a inferência metabólica, foi possível observar que os principais genes codificadores de enzimas (preditos como número KO) relacionados à metanogênese acetoclástica foram acetil-CoA sintetase (acs), acetato-CoA ligase (acss2), acetil-CoA hidrolase (ach1p) entre outros. Além disso, também foram inferidas enzimas codificadoras de genes relacionados à metanogênese hidrogenotrófica, tais como metaniltetrahidrometanopterina ciclo-hidrolase (n5), formilmetanofurano desidrogenase (pf02663) e tetrahidrometanopterina S-metiltransferase (h4mpt). Em relação à degradação do NFEO, as principais enzimas possivelmente relacionadas foram álcool desidrogenase (adh) e polietilenoglicol desidrogenase (peg-dh) (LIU et al., 2013). Assim, na Figura 5.20 são apresentados os microrganismos potencialmente associados à degradação do NFEO sob as condições estudadas, bem como as vias metabólicas mais prováveis no sistema.

Figura 5.20 – Vias metabólicas mais prováveis no reator EGSB

**Hidrólise**

Spirochaetacea
Pseudomonas
Syntrophorhabdus
Petrimonas
Achromobacter
Janthinobacterium

Acidogênese

Spirochaetacea
Acidovorax
Syntrophorhabdus
Desulfovibrio
Tissierella
Petrimonas

Acetogênese

Spirochaetacea
Arcobacter
Syntrophorhabdus
Pseudomonas
Desulfovibrio
Petrimonas

Metanogênese

Methanosaeta
Methanobrevibacter
Methanobacterium

Fonte: Autoria própria.

Nota: Os genes potenciais envolvidos que codificam enzimas mostrados entre colchetes foram inferidos pelo pacote *Tax4Fun2* versão 1.1.6 R. **adh**= álcool desidrogenase; **peg-dh**= polietilenoglicol desidrogenase; **dmpfg**= acetaldeído desidrogenase; **aldh2**= aldeído desidrogenase; **acss2**= acetato-CoA ligase; **ach1p**= acetil-CoA hidrolase; **pta-1**= fosfato acetiltransferase; **ack**= acetato quinase; **acsch**= CO-acetil-CoA sintase de metilação; **pdh**= piruvato desidrogenase; **h4mpt**= tetraidrometanopterin S-metiltransferase; **mcr**= coenzima-B sulfoetiltransferase; **hdra1b1c1**= ferredoxina: heterodissulfeto redutase CoB-CoM; **n5**= metaniltetraidrometanopterin ciclo-hidrolase; **co-dh**= monóxido de carbono desidrogenase anaeróbico; **pf02663**= formilmetanofurano desidrogenase; **LDH**= L-lactato desidrogenase; **NF**= nonilfenol; **NFEO**= nonilfenol etoxilado; **ED**= esgoto doméstico; **ARLC**= água residuária de lavanderia comercial.

6 RESPOSTAS ÀS HIPÓTESES

Hipótese 1: A adição de nutrientes e cossustrato metabólico, pode favorecer a remoção anaeróbia do NFEO comercial em codigestão com esgoto doméstico.

A partir dos ensaios realizados em reatores em batelada e com auxílio da estratégia do delineamento composto central rotacional foi possível comprovar que o extrato de levedura e fumarato podem favorecer a remoção e degradação de NFEO em esgoto doméstico, sendo observada eficiência de remoção de 97% e 93% para 5,0 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹, respectivamente. Por meio do balanço de massas constatou-se que o principal mecanismo de remoção foi a biodegradação (>86%). Ao contrário, na ausência de extrato de levedura e fumarato de sódio, a remoção alcançada foi apenas de 44% e 34% para 5,0 mg L⁻¹ e 2,5 mg L⁻¹, respectivamente. Além disso, foi possível constatar que a adição de extrato de levedura e fumarato de sódio favoreceram a produção de metano ($134,45 \pm 3,60 - 336,04 \pm 8,94 \text{ NmLCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{DQO}_{\text{removido}}$). Na ausência de ambos os substratos, o rendimento de metano alcançado foi na faixa de $8,54 \pm 0,33 - 55,09 \pm 2,54 \text{ NmLCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{DQO}_{\text{removida}}$. Dessa forma, a hipótese 1 e objetivo 1 (*Avaliar a influência do extrato de levedura e fumarato de sódio na degradação anaeróbia de NFEO comercial em codigestão com esgoto doméstico por meio de delineamento experimental em reatores em batelada*) foram atendidos.

Hipótese 2: A suplementação de nutrientes e bicarbonato de sódio na alimentação de um reator anaeróbio é suficiente para manter a estabilidade do sistema e remoções satisfatórias de DQO e NFEO de água residuária de lavanderia comercial.

Durante a alimentação com substrato sintético observou-se na Fase II de operação do reator EGSB maior remoção de matéria orgânica, $97 \pm 2\%$ para $486 \pm 27 \text{ mgDQO L}^{-1}$ afluyente. Concomitantemente, foi observada também eficiência de remoção de NFEO de $82 \pm 9\%$ para $3,5 \pm 1 \text{ mg L}^{-1}$ afluyente. Porém, com o incremento da concentração de NFEO ($7,6 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$ – fase III) na alimentação, ocorreu influência significativa na eficiência de remoção de NFEO ($60 \pm 2\%$) e de matéria orgânica ($93 \pm 4\%$ para $476 \pm 57 \text{ mgDQO L}^{-1}$ afluyente). A partir desses resultados optou-se por

manter concentração de NFEO afluyente de até 5 mg L^{-1} par as seguintes fases operacionais. A adição de água residuária de lavanderia ao substrato sintético de alimentação (fase IV) resultou em diminuição significativa da remoção de NFEO ($48 \pm 2\%$ para $4 \pm 1 \text{ mg L}^{-1}$ afluyente), entretanto a estabilidade do sistema não foi comprometida. Inclusive, observou-se ligeiro incremento na remoção de matéria orgânica ($94 \pm 5\%$ para $433 \pm 95 \text{ mg DQO L}^{-1}$ afluyente). Dessa forma, foi possível confirmar a hipótese 2 e atender o objetivo 2 (*Avaliar a influência da suplementação com meio sintético na remoção de NFEO em água residuária de lavanderia comercial em reator EGSB escala aumentada*).

Hipótese 3: A adaptação da biomassa ao nonilfenol etoxilado (NFEO), resulta em maior estabilidade e maior eficiência de remoção de matéria orgânica e NFEO, no tratamento anaeróbio de água residuária de lavanderia comercial em codigestão com esgoto doméstico comparação com um sistema com biomassa não adaptada.

Menor remoção de NFEO e matéria orgânica foi observada na fase V em comparação com as fases I, II e III com substrato sintético e NFEO comercial. Ademais, não houve diferencia significativa na remoção de NFEO entre as fases IV (48 ± 19 para $4 \pm 1 \text{ mg L}^{-1}$ afluyente) e V (49 ± 18 para $3,7 \pm 1 \text{ mg L}^{-1}$ afluyente) durante a codigestão de esgoto doméstico e água residuária de lavanderia comercial. Todavia, em relação à remoção de matéria orgânica observou-se diminuição significativa, de $94 \pm 5\%$ ($433 \pm 95 \text{ mgDQO L}^{-1}$ – fase IV) para $90 \pm 5\%$ ($574 \pm 130 \text{ mgDQO L}^{-1}$ – fase V). Portanto, pode-se notar que a adaptação da biomassa não contribuiu significativamente para melhor desempenho do reator em termos de remoção de NFEO e matéria orgânica, porém pode ter ajudado para manter a estabilidade do sistema e a remoção de NFEO na fase V. Dessa forma foi atendido o objetivo 3 (*Avaliar o efeito da adaptação da biomassa ao nonilfenol etoxilado na remoção de NFEO em água residuária de lavanderia comercial em codigestão com esgoto doméstico em reator EGSB escala aumentada*) e confirmou-se parcialmente a hipótese 3 desta investigação.

Hipótese 4: A codigestão do esgoto doméstico com água residuária de lavanderia comercial, resulta em maior estabilidade e maior eficiência na conversão bioquímica de matéria orgânica em metano no tratamento de água residuária de lavanderia comercial em comparação com a mono-digestão.

A adição de NFEO impactou negativamente a produção de metano, sendo verificado diminuição do rendimento continuamente da fase I ($0,35 \pm 0,002 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{DQO}_{\text{removida}}$) para a fase III ($0,03 \pm 0,02 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{DQO}_{\text{removida}}$), uma vez que NFEO foi adicionado no sistema. Após reduzir a concentração de NFEO ao substrato de alimentação para $\sim 4 \text{ mg L}^{-1}$ (fase IV) observou-se aumento significativo no rendimento de metano ($0,13 \pm 0,07 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{DQO}_{\text{removida}}$). Da mesma maneira, durante a codigestão do esgoto doméstico e água residuária de lavanderia comercial observou-se aumento significativo no rendimento de CH_4 ($0,30 \pm 0,02 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{DQO}_{\text{removida}} - 88\%$ do valor teórico). Assim, é possível que os microrganismos tenham conseguido se adaptar aos compostos tóxicos presentes no meio, por outro lado, é possível que a codigestão do esgoto doméstico e água residuária de lavanderia comercial tenham contribuído para maior produção de biogás, promovendo o equilíbrio de nutrientes e população microbiana diversa (fase IV, $H' = 1,65$ e fase V, $H' = 2,1$) e conseqüentemente favorecendo a estabilidade do sistema. Desta forma, foi atendido o objetivo 4 (*Avaliar a produção de metano a partir do tratamento de água residuária de lavanderia comercial em codigestão com esgoto doméstico*) e se confirmou parcialmente a hipótese 4.

Hipótese 5: As condições nutricionais podem influenciar na dinâmica da população microbiana presente em reatores em batelada e em reator EGSB.

Por meio do sequenciamento alto rendimento do RNAr 16S foi realizada a caracterização taxonômica da comunidade microbiana presente nos reatores em batelada (condição otimizada) e reator EGSB (fases I, III, IV e V). A partir da comparação do perfil taxonômico entre o inóculo e a amostra de lodo extraída dos reatores no final dos experimentos, constatou-se que houve alteração nas populações microbianas presentes nos reatores em batelada. Provavelmente, a alteração foi principalmente devido à presença do nonilfenol etoxilado no meio, podendo favorecer ou inibir determinados microrganismos. Além disso, na ausência de extrato de levedura e fumarato de sódio no meio, verificou-se desfavorecimento no sistema reacional de forma geral, corroborado pela menor eficiência de remoção de matéria orgânica, NFEO e produção de metano nos ensaios controle do reator em batelada. Em relação ao reator EGSB, foi observada marcada diferença entre as amostras da

fase I (sem NFEO) e as fases III, IV e V contendo NFEO ($4 \pm 1 - 10 \pm 3 \text{ mg gVS}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Em relação à abundância relativa da família Spirochaetacea observou-se incremento de 0,63% (fase I) para 65,3% (fase III), 91,7%, (fase IV) e 75,5% (fase V) tornando-se assim o filo mais abundante ao longo da operação. Exceto para Desulfobacterota, a abundância relativa dos outros filios abundantes (em relação à fase I), diminuiu (>1%) para todas as seguintes fases de operação. Sendo que a única variável incorporada ao processo (da fase I para a fase III) foi a adição do NFEO. Desse modo, acredita-se que a mudança na população microbiana foi principalmente devido ao NFEO. Dessa forma, foi atingido o objetivo 5 (*Caracterizar a dinâmica populacional dos microrganismos para as condições ótimas de degradação de NFEO dos reatores em batelada e para as fases I, III, IV e V do reator EGSB escala aumentada*) e comprovada a hipótese 5.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O planejamento fatorial é uma ferramenta potencialmente útil para medir os efeitos de uma o mais variáveis na resposta de um processo. Diversas estratégias podem ser implementadas em função do número de variáveis independentes envolvidas no estudo. Assim, por meio da estratégia do delineamento composto central rotacional e a metodologia de superfície de resposta, verificou-se que a adição de extrato de levedura (substrato rico em vitamina B, peptonas e aminoácidos) e fumarato de sódio como cossustrato metabólico, podem influenciar na remoção de NFEO em matrizes complexas, tais como o esgoto doméstico.

Para a faixa de estudo das variáveis independentes (NFEO= 1,6 – 5,8 mg L⁻¹; ELV= 131,8 – 468,2 mg L⁻¹ e FS= 7,7 – 602,3 mg L⁻¹), observou-se eficiência de remoção de NFEO até 97%. Além disso, a remoção de matéria orgânica foi superior a 80% para todos os ensaios, concomitante com rendimento de metano entre 125,4 ± 3 e 342,4 ± 1 NmL g⁻¹DQO_{removida}. Ademais, foi possível constatar que a adição de extrato de levedura e fumarato de sódio impactaram significativamente a produção de metano. Nos ensaios controle (sem adição de extrato de levedura/fumarato de sódio) o rendimento máximo de metano alcançado foi de 55 ± 3 NmL g⁻¹DQO_{removida}.

Por meio dos ensaios de validação foi confirmada a acurácia do modelo, obtendo-se eficiência de remoção de 97% (5,0 mg NFEO L⁻¹) e 93% (2,5 mg NFEO L⁻¹), valores similares aos preditos pelo modelo (95% para ambas as condições), isto é, um erro de precisão mínimo (<2%) que pode ser perfeitamente entendido em processos que envolvem microrganismos. A partir da caracterização taxonômica do inóculo, foi possível inferir que a adição de NFEO favoreceu alteração da comunidade microbiana. Os gêneros de bactérias identificados com maior abundância relativa foram *Macellibacteroides*, *Longilinea*, *Petrimonas* e *Proteiniphilum*. *Methanosaeta* e *Methanoregula* foram as arqueias identificadas com maior abundância nas condições otimizadas (ELV= 400 mg L⁻¹) e SF (FS= 200 mg L⁻¹), pelo que foi possível inferir que o metano foi produzido principalmente pela rota acetoclástica.

Por meio da aplicação do EGSB observou-se remoção de matéria orgânica de até $97 \pm 2\%$ ($486 \pm 27 \text{ mgDQO L}^{-1}$). Não houve diferença significativa na remoção de matéria orgânica entre a fase I (sem NFEO) e fase II (contendo $3,5 \pm 1 \text{ mgNFEO L}^{-1}$). Inicialmente, a eficiência de remoção de NFEO foi de $82 \pm 9\%$ ($3,5 \pm 1 \text{ mg L}^{-1}$) durante a alimentação com substrato sintético, porém, o incremento da concentração de NFEO ($7,6 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$) no afluente, diminuiu significativamente a eficiência na remoção de NFEO ($60 \pm 2\%$) e matéria orgânica ($93 \pm 4\%$ para $476 \pm 57 \text{ mgDQO L}^{-1}$).

A adição de água residuária de lavanderia ao substrato sintético de alimentação (fase IV) resultou em diminuição significativa da remoção de NFEO ($48 \pm 2\%$ para $4 \pm 1 \text{ mg L}^{-1}$), provavelmente devido a diversidade de compostos orgânicos xenobióticos presentes na água residuária de lavanderia, além dos surfactantes. Porém, não causou impacto significativo na remoção da matéria orgânica ($94 \pm 5\%$ para $433 \pm 95 \text{ mgDQO L}^{-1}$).

Não houve diferença significativa na remoção de NFEO entre a fase IV, contendo água residuária de lavanderia diluída ao substrato sintético de alimentação ($48 \pm 2\%$ para $4 \pm 1 \text{ mgNFEO L}^{-1}$) e a fase V, durante a codigestão de esgoto doméstico com água residuária de lavanderia ($49 \pm 2\%$ para $3,7 \pm 1 \text{ mgNFEO L}^{-1}$). Entretanto, foi observado diminuição significativa na remoção de matéria orgânica ($90 \pm 5\%$ para $574 \pm 130 \text{ mgDQO L}^{-1}$) em relação a fase IV.

A conversão bioquímica de matéria orgânica em metano foi atingida ($0,30 \pm 0,14 \text{ LCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{DQO}_{\text{removida}}$ – equivalente a 88% do valor teórico), indicando a coexistência de bactérias e arqueias, tais como da família Spirochaetacea e gênero *Methanosaeta*, sendo os microrganismos identificados com maior abundância relativa ao longo da operação, provavelmente desempenhando as tarefas centrais do processo. Outros gêneros identificados em menor abundância relativa foram os seguintes: *Pseudomonas*, *Desulfovibrio*, *Syntrophorhabdus* *Methanoregula* e *Methanobacterium*.

Por meio de balanço de massas global, verificou-se que o principal mecanismo de remoção no EGSB foi à biodegradação. Dentre os 84,90 g de NFEO que entraram no reator, 48,20 g foram removidos no processo, sendo 5,20 g (11%) removidos por adsorção e 43,0 g (89%) removidos pela ação microbiana, similar ao observado nos reatores em batelada (do

total removido, ~87% foi biodegradado e apenas 13% ficaram adsorvidos no lodo de inóculo).

Ao longo das diferentes fases de operação do reator EGSB foi observada mudança nos grânulos. Os grânulos do inóculo apresentaram diâmetro médio de $0,98 \pm 0,88$ mm e maior frequência de grânulos entre 0,5 e 1,0 mm, similar à distribuição dos grânulos da manta de lodo no final da fase de adaptação, porém com menor diâmetro médio ($0,90 \pm 0,42$). A adição de NFEO provocou aumento significativo da frequência de grânulos com diâmetros menores a 0,5 mm conforme observado no final da fase III. Após a redução da concentração de NFEO afluyente na fase IV, houve aumento na proporção de grânulos de maior tamanho ($>1,0$ mm). Na fase V a frequência de grânulos com diâmetro maior a 1,0 mm incrementou significativamente (de 1% para 17%), provavelmente a adição do esgoto doméstico favoreceu a reconstrução granular.

8 CONCLUSÕES

Variabilidade da água residuária de lavanderia comercial e esgoto doméstico foi observada em função das principais atividades econômicas, estações sazonais e costumes da localidade (por exemplo, tipos de indústrias, clima e tipos de roupas). Os compostos da formulação de detergentes são os constituintes principais em água residuária de lavanderia. Em relação ao esgoto doméstico foi observada menor flutuação em sua composição, especialmente quando é oriundo da mesma localidade contendo também ampla variedade de compostos orgânicos complexos.

A adição de extrato de levedura e fumarato de sódio favoreceu maior remoção de NFEO em esgoto doméstico em reatores em batelada. Ademais, foi possível constatar que a adição de extrato de levedura e fumarato de sódio impactou significativamente a produção de metano, sendo que nos ensaios controle (sem adição de extrato de levedura/fumarato de sódio) o rendimento máximo de metano alcançado foi de 16% do valor teórico.

Nos reatores em batelada observou-se eficiência de remoção de NFEO de até 97%. Além disso, a remoção de matéria orgânica foi superior a 80% para todos os ensaios, concomitante com rendimento de metano entre 36% e 98% do valor teórico.

A adição de NFEO favoreceu alteração da comunidade microbiana nos reatores em batelada, nas condições otimizadas. Os gêneros de bactérias identificados com maior abundância relativa foram *Macellibacteroides*, *Longilinea*, *Petrimonas* e *Proteiniphilum*. Entretanto, *Methanosaeta* e *Methanoregula* foram as arqueias identificadas com maior abundância relativa, pelo que foi possível inferir que o metano foi produzido principalmente pela rota acetoclástica.

Ao longo das diferentes fases operacionais do reator EGSB observou-se maior remoção de matéria orgânica durante a alimentação com substrato sintético (~98%). Não houve diferença significativa na remoção de matéria orgânica entre a fase I (sem NFEO) e fase II (após adição de ~4 mgNFEO L⁻¹), porém, o incremento da concentração de NFEO (~8 mg L⁻¹) na fase III, causou redução significativa na eficiência de remoção de NFEO e

matéria orgânica evidenciando a sensibilidade da população microbiana a toxicidade do NFEO.

A adição de água residuária de lavanderia comercial ao substrato sintético de alimentação na fase IV de operação do reator EGSB, resultou em redução significativa da remoção de NFEO, provavelmente devido à diversidade de compostos orgânicos xenobióticos da água residuária de lavanderia, além dos surfactantes. Entretanto, não foi observada diferença significativa na remoção da matéria orgânica.

A adição do esgoto doméstico na fase V de operação do reator EGSB, não impactou significativamente o desempenho do reator em termos de remoção de NFEO. Ao contrário, observou-se redução significativa na remoção de matéria orgânica em relação à fase IV, provavelmente devido à complexidade da matéria do esgoto.

A adição de NFEO impactou negativamente a produção de metano no reator EGSB, reduzindo o rendimento de CH₄ em até 91% (fase III), mesmo com remoção de matéria orgânica. Já na fase IV observou-se ligeiro incremento no rendimento de CH₄, possivelmente devido à redução da concentração de NFEO afluente. Já na fase V de operação, a produção de metano foi reestabelecida por completo, atingindo rendimento de metano de 86% em relação ao valor teórico.

Representantes da família Spirochaetacea, em relação ao Domínio Bacteria, assim como o gênero *Methanosaeta* do Domínio Archaea, foram os microrganismos identificados com maior abundância relativa ao longo da operação do EGSB, provavelmente desempenhando as tarefas centrais do processo. Outros gêneros identificados em menor abundância relativa foram *Pseudomonas*, *Desulfovibrio*, *Syntrophorhabdus*, *Methanoregula* e *Methanobacterium*.

Por meio de balanço de massas global realizado ao final dos 637 dias de operação do reator EGSB, verificou-se que a ação microbiana foi principal mecanismo de remoção de NFEO, similar ao observado nos reatores em batelada do DCCR.

Ao longo das diferentes fases de operação do reator EGSB, foi observada desintegração e reconstrução granular, o que pode estar principalmente relacionado à

toxicidade de NFEO e à velocidade ascensional aplicada no reator. A adição de NFEO provocou mudança significativa na distribuição dos grânulos, porém após a redução da concentração de NFEO afluente houve aumento na proporção de grânulos de maior tamanho ($>1,0$ mm). Ademais a adição do esgoto doméstico na fase V favoreceu a reconstrução granular sendo observado incremento na frequência de grânulos com diâmetro entre 1,0 e 1,5 mm. Em geral, neste estudo, observou-se maior frequência de grânulos com diâmetros menores a 1,0 mm.

Ao longo de 637 dias de operação observou-se estabilidade reacional, sendo a tecnologia EGSB uma alternativa viável e atraente para o tratamento de águas residuárias contendo compostos tóxicos recalcitrantes similares ao NFEO, com o benefício adicional da produção de bioenergia.

9 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Levando em conta que a digestão anaeróbia é um processo complexo no qual intervém múltiplos fatores, sugere-se avaliar outras variáveis (por exemplo, tipo de inóculo, pH, temperatura, diferentes cossustratos metabólicos).

No reator EGSB escala aumentada foi avaliada com sucesso a remoção de NFEO, porém no processo de degradação formam-se outros compostos que podem ser mais tóxicos, recalcitrantes e bioacumulativos (por exemplo, NF1-3EO e NF). Portanto, sugere-se avaliar esses sub-produtos.

Sugere-se considerar a implementação de outras técnicas tais como a *PCR em Tempo Real*, por meio do qual é possível identificar genes ativos ou a *Metagenômica* para identificar a presença/ausência de genes dos microrganismos presentes no consórcio microbiano associado a degradação de NFEO e estabelecer as possíveis rotas metabólicas de degradação.

Sugere-se avaliar a remoção de NFEO em esgoto sanitário.

Levando em conta que NFEO e seus produtos de degradação são considerados disruptores endócrinos, sugere-se realizar ensaios ecotoxicológicos para avaliar a toxicidade aguda e crônica destes compostos em organismos aquáticos tais *Chironomus xanthus*.

Acentuado incremento na abundancia relativa de microrganismos pertencentes a família Spirochaetacea foi observado a partir da adição de NFEO ao substrato de alimentação. Portanto, sugere-se realizar investigação mais detalhada para determinar suas rotas metabólicas e comportamento na degradação de compostos estruturalmente semelhantes ao NPEO, tais como álcool etoxilado, octilfenol etoxilado e bisfenol A, entre outros.

10 REFERÊNCIAS

ABU LABAN, N. et al. Biodegradation of C 7 and C 8 iso-alkanes under methanogenic conditions. **Environmental microbiology**, v. 17, n. 12, p. 4898-4915, 2015. ISSN 1462-2912.

ADEMOLLO, N. et al. Nonylphenol and octylphenol in human breast milk. **Environment international**, v. 34, n. 7, p. 984-987, 2008. ISSN 0160-4120.

AHEL, M. et al. Determination of nonylphenol polyethoxylates and their lipophilic metabolites in sewage effluents by normal-phase high-performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Croatica Chemica Acta**, v. 73, n. 1, p. 209-227, 2000. ISSN 0011-1643.

AHEL, M.; MCEVOY, J.; GIGER, W. Bioaccumulation of the lipophilic metabolites of nonionic surfactants in freshwater organisms. **Environmental pollution**, v. 79, n. 3, p. 243-248, 1993. ISSN 0269-7491.

AL-GHEETHI, A. et al. Efficiency of moringa oleifera seeds for treatment of laundry wastewater. **MATEC Web of Conferences**, 2017, EDP Sciences. p.06001.

ALPHENAAR, P.; GROENEVELD, N.; VAN AELST, A. Scanning electron microscopical method for internal structure analysis of anaerobic granular sludge. **Micron**, v. 25, n. 2, p. 129-133, 1994. ISSN 0968-4328.

ALVES, I. **Caracterização de grânulos de reator UASB empregado no processamento de vinhaça**. 2013. Universidade de São Paulo

ALVES, I. et al. DETERMINING THE DISTRIBUTION OF GRANULE DIAMETER FROM BIOLOGICAL SLUDGE. **MethodsX**, 2018. ISSN 2215-0161.

ANDRADE, M. V. F. et al. Effects of hydraulic retention time, co-substrate and nitrogen source on laundry wastewater anionic surfactant degradation in fluidized bed reactors. **Bioresource technology**, v. 224, p. 246-254, 2017a. ISSN 0960-8524.

ANDRADE, M. V. F. et al. Bioremoval of surfactant from laundry wastewater in optimized condition by anoxic reactors. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 228, n. 4, p. 165, 2017b. ISSN 0049-6979.

ANKLEY, G. T. et al. Characteristics of surfactants in toxicity identification evaluations. **Chemosphere**, v. 21, n. 1-2, p. 3-12, 1990. ISSN 0045-6535.

ANNAMALAI, J.; NAMASIVAYAM, V. Endocrine disrupting chemicals in the atmosphere: their effects on humans and wildlife. **Environment international**, v. 76, p. 78-97, 2015. ISSN 0160-4120.

APHA, A., WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 23rd Revised Edn. **American Public Health Association, Washington, DC**, 2017.

ARAÚJO, F. G. D.; BAUERFELDT, G. F.; CID, Y. P. Determination of 4-Nonylphenol in Surface Waters of the Guandu River Basin by High Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 10, p. 2046-2053, 2018. ISSN 0103-5053.

ARULAZHAGAN, P.; VASUDEVAN, N.; YEOM, I. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon by a halotolerant bacterial consortium isolated from marine environment. **International Journal of Environmental Science & Technology**, v. 7, n. 4, p. 639-652, 2010. ISSN 1735-1472.

BAI, N. et al. Nonylphenol biodegradation characterizations and bacterial composition analysis of an effective consortium NP-M2. **Environmental Pollution**, v. 220, p. 95-104, 2017. ISSN 0269-7491.

BAI, N. et al. Isolation and characterization of *Sphingomonas* sp. Y2 capable of high-efficiency degradation of nonylphenol polyethoxylates in wastewater. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 12, p. 12019-12029, 2016. ISSN 1614-7499.

BENNIE, D. et al. Occurrence of alkylphenols and alkylphenol mono- and diethoxylates in natural waters of the Laurentian Great Lakes basin and the upper St. Lawrence River. **Science of the Total Environment**, v. 193, n. 3, p. 263-275, 1997. ISSN 0048-9697.

BENOMAR, S. et al. Nutritional stress induces exchange of cell material and energetic coupling between bacterial species. **Nature communications**, v. 6, n. 1, p. 1-10, 2015. ISSN 2041-1723.

BENVENUTI, T. et al. Constructed floating wetland for the treatment of domestic sewage: a real-scale study. **Journal of environmental chemical engineering**, v. 6, n. 5, p. 5706-5711, 2018. ISSN 2213-3437.

BERGÉ, A. et al. Meta-analysis of environmental contamination by alkylphenols. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 9, p. 3798-3819, 2012. ISSN 0944-1344.

BERRYMAN, D. et al. Nonylphenolic compounds in drinking and surface waters downstream of treated textile and pulp and paper effluents: a survey and preliminary assessment of their potential effects on public health and aquatic life. **Chemosphere**, v. 56, n. 3, p. 247-255, 2004. ISSN 0045-6535.

BERTIN, L. et al. Biodegradation of polyethoxylated nonylphenols in packed-bed biofilm reactors. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 46, n. 21, p. 6681-6687, 2007. ISSN 0888-5885.

BI, S. et al. Metabolic performance of anaerobic digestion of chicken manure under wet, high solid, and dry conditions. **Bioresource technology**, v. 296, p. 122342, 2020. ISSN 0960-8524.

BOUKI, C.; DVORAKOVA, M.; DIAMADOPOULOS, E. Adsorption of nonylphenol on activated sludge biomass under aseptic conditions. **CLEAN-Soil, Air, Water**, v. 38, n. 5-6, p. 516-520, 2010. ISSN 1863-0650.

BRAGA, J.; VARESCHE, M. Commercial laundry water characterisation. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 2014, 2014. ISSN 2156-8278.

BRAGA, J. K. et al. Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate in commercial laundry wastewater by an anaerobic fluidized bed reactor. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 50, n. 9, p. 946-957, 2015a. ISSN 1093-4529.

BRAGA, J. K. et al. Evaluation of bacterial community from anaerobic fluidized bed reactor for the removal of linear alkylbenzene sulfonate from laundry wastewater by 454-pyrosequence. **Ecological Engineering**, v. 82, p. 231-240, 2015b. ISSN 0925-8574.

BRASIL. **Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.** Diário Oficial [da] União. SAÚDE, M. D. 2011.

BRASIL, R. C. **430, DE 13 DE MAIO DE 2011." Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA."**-Data da legislação: **13/05/2011-Publicação DOU nº 92.** de 16/05/2011, pág. 89 Acesso em: 10 nov. 2017

BRIX, R.; HVIDT, S.; CARLSEN, L. Solubility of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates. On the possible role of micelles. **Chemosphere**, v. 44, n. 4, p. 759-763, 2001. ISSN 0045-6535.

CABANA, H. et al. Elimination of endocrine disrupting chemicals nonylphenol and bisphenol A and personal care product ingredient triclosan using enzyme preparation from the white rot fungus *Coriolopsis polyzona*. **Chemosphere**, v. 67, n. 4, p. 770-778, 2007. ISSN 0045-6535.

CAI, Q. Y. et al. Occurrence of nonylphenol and nonylphenol monoethoxylate in soil and vegetables from vegetable farms in the Pearl River Delta, South China. **Arch Environ Contam Toxicol**, v. 63, n. 1, p. 22-8, Jul 2012. ISSN 1432-0703 (Electronic) 0090-4341 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22203462> >.

CAI, W. et al. Effect of the pollution level on the functional bacterial groups aiming at degrading bisphenol A and nonylphenol in natural biofilms of an urban river. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 15, p. 15727-15738, 2016. ISSN 0944-1344.

CAILLEAUD, K. et al. Seasonal variation of hydrophobic organic contaminant concentrations in the water-column of the Seine Estuary and their transfer to a planktonic species *Eurytemora affinis* (Calanoid, copepod). Part 2: Alkylphenol-polyethoxylates. **Chemosphere**, v. 70, n. 2, p. 281-287, 2007. ISSN 0045-6535.

CALLAHAN, B. J. et al. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature methods**, v. 13, n. 7, p. 581-583, 2016. ISSN 1548-7105.

CALVO-FLORES, F. G.; ISAC-GARCÍA, J.; DOBADO, J. A. **Emerging pollutants: Origin, structure, and properties.** John Wiley & Sons, 2018. ISBN 3527338764.

CAMARGO, F. P. et al. Bioaugmentation with *Enterococcus casseliflavus*: a hydrogen-producing strain isolated from Citrus peel waste. **Waste and Biomass Valorization**, v. 12, n. 2, p. 895-911, 2021. ISSN 1877-265X.

CANADA. **Canadian Environmental Quality Guidelines for Nonylphenol and Its Ethoxylates (water, Sediment and Soil)**. National Guidelines and Standards Office, Environmental Quality Branch, Environment Canada, 2002. Disponível em: < <http://ceqg-rcqe.ccme.ca/download/en/198> >.

CARDINALI-REZENDE, J. et al. Bacterial and archaeal phylogenetic diversity associated with swine sludge from an anaerobic treatment lagoon. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 11, p. 3187-3195, 2012. ISSN 1573-0972.

CENTURION, V. et al. Anaerobic co-digestion of commercial laundry wastewater and domestic sewage in a pilot-scale EGSB reactor: The influence of surfactant concentration on microbial diversity. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 127, p. 77-86, 2018. ISSN 0964-8305.

CHANG, B.; CHIANG, F.; YUAN, S. Anaerobic degradation of nonylphenol in sludge. **Chemosphere**, v. 59, n. 10, p. 1415-1420, 2005. ISSN 0045-6535.

CHANG, B.; YU, C.; YUAN, S. Degradation of nonylphenol by anaerobic microorganisms from river sediment. **Chemosphere**, v. 55, n. 4, p. 493-500, 2004. ISSN 0045-6535.

CHEN, C.-L.; WU, J.-H.; LIU, W.-T. Identification of important microbial populations in the mesophilic and thermophilic phenol-degrading methanogenic consortia. **Water research**, v. 42, n. 8-9, p. 1963-1976, 2008. ISSN 0043-1354.

CHEN, C.-L. et al. Characterization of active microbes in a full-scale anaerobic fluidized bed reactor treating phenolic wastewater. **Microbes and environments**, p. 0904220077-0904220077, 2009. ISSN 1342-6311.

CHEN, S.; HE, Q. Persistence of *Methanosaeta* populations in anaerobic digestion during process instability. **Journal of industrial microbiology & biotechnology**, v. 42, n. 8, p. 1129-1137, 2015. ISSN 1367-5435.

CHEN, W.-L. et al. Distribution of feminizing compounds in the aquatic environment and bioaccumulation in wild tilapia tissues. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 19, p. 11349-11360, 2014. ISSN 0944-1344.

CHERNICHARO, C. A. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Reatores anaeróbios. 2ª edição ampliada e atualizada.** 2016.

CHOKWE, T.; OKONKWO, J.; SIBALI, L. Distribution, exposure pathways, sources and toxicity of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in the environment. **Water SA**, v. 43, n. 4, p. 529-542, 2017. ISSN 0378-4738.

CHUANG, L. A study of biological significance and toxicity of short-chain nonylphenol ethoxylates. 2015.

COHEN, A. et al. Routine analysis of alcohol and nonylphenol polyethoxylates in wastewater and sludge using liquid chromatography–electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 927, n. 1-2, p. 103-110, 2001. ISSN 0021-9673.

CONN, K. E. et al. Occurrence and fate of organic contaminants during onsite wastewater treatment. **Environmental science & technology**, v. 40, n. 23, p. 7358-7366, 2006. ISSN 0013-936X.

CORREIA, G. T. et al. Mathematical Modeling of the Hydrodynamics of an EGSB Reactor. **Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 8, n. 6, 2014. ISSN 1934-7375.

DAI, R. et al. Investigation of a sewage-integrated technology combining an expanded granular sludge bed (EGSB) and an electrochemical reactor in a pilot-scale plant. **Journal of hazardous materials**, v. 192, n. 3, p. 1161-1170, 2011. ISSN 0304-3894.

DAVE, N.; JOSHI, T. A Concise Review on Surfactants and Its Significance. **International Journal of Applied Chemistry**, v. 13, n. 3, p. 663-672, 2017. ISSN 0973-1792.

DAVIDOVA, I. A.; MARKS, C. R.; SUFLITA, J. M. Anaerobic Hydrocarbon-Degrading Deltaproteobacteria. In: MCGENITY, T. J. (Ed.). **Taxonomy, Genomics and Ecophysiology of Hydrocarbon-Degrading Microbes**. Cham: Springer International Publishing, 2019. p.207-243. ISBN 978-3-030-14796-9.

DE LA FUENTE, L. et al. Degradation of nonylphenol ethoxylate-9 (NPE-9) by photochemical advanced oxidation technologies. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 49, n. 15, p. 6909-6915, 2010. ISSN 0888-5885.

DELFORNO, T. et al. Microbial diversity and the implications of sulfide levels in an anaerobic reactor used to remove an anionic surfactant from laundry wastewater. **Bioresource technology**, v. 192, p. 37-45, 2015. ISSN 0960-8524.

DELFORNO, T. et al. Effect of biomass adaptation to the degradation of anionic surfactants in laundry wastewater using EGSB reactors. **Bioresource technology**, v. 154, p. 114-121, 2014. ISSN 0960-8524.

DELFORNO, T. et al. Evaluation of anionic surfactant removal in anaerobic reactor with Fe (III) supplementation. **Journal of environmental management**, v. 183, p. 687-693, 2016. ISSN 0301-4797.

DELFORNO, T. P. et al. Microbial characterization and removal of anionic surfactant in an expanded granular sludge bed reactor. **Bioresource technology**, v. 107, p. 103-109, 2012. ISSN 0960-8524.

DI GIOIA, D. et al. Nonylphenol polyethoxylate degradation in aqueous waste by the use of batch and continuous biofilm bioreactors. **Water research**, v. 43, n. 12, p. 2977-2988, 2009. ISSN 0043-1354.

DIRECTIVE 2008/105/EC, E. C. **Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the**

field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council. Official Journal of the European Communities: 84 p. 2008.

DONG, X. et al. Fermentative Spirochaetes mediate necromass recycling in anoxic hydrocarbon-contaminated habitats. **The ISME journal**, v. 12, n. 8, p. 2039-2050, 2018. ISSN 1751-7370.

DORNELLES, H. et al. HPLC METHOD IMPROVEMENT FOR 4-NONYLPHENOL DETERMINATION IN ANAEROBIC REACTORS: DECREASING SOLVENT CONSUMPTION AND WASTE GENERATION. **Química Nova**, v. 43, n. 8, p. 1048-1057, 2020b. ISSN 0100-4042.

DORNELLES, H. et al. 4-Nonylphenol degradation changes microbial community of scale-up Anaerobic Fluidized Bed Reactor. **Journal of environmental management**, v. 267, p. 110575, 2020a. ISSN 0301-4797.

DOW. TERGITOL NP Series Nonylphenol Ethoxylates (NPEs). <https://www.dow.com/en-us.html>, 2020. Disponível em: < https://www.dow.com/en-us/search.html?tab=products&x11=category&q11=products&q=*&x1=legacyProductIds&q1=tergitolnpseriesnonylphenolethoxylatesnpes >. Acesso em: 30/09/20.

DTSC, T. D. O. T. S. C. **Product-Chemical Profile for Nonylphenol Ethoxylates in Laundry Detergents**. CalEPA. 2018

DUAN, X. et al. Acidogenic bacteria assisted biodegradation of nonylphenol in waste activated sludge during anaerobic fermentation for short-chain fatty acids production. **Bioresource technology**, v. 268, p. 692-699, 2018. ISSN 0960-8524.

DUARTE, I. et al. Evaluation of the microbial diversity in a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor treating linear alkylbenzene sulfonate. **Biodegradation**, v. 19, n. 3, p. 375-385, 2008. ISSN 0923-9820.

DUARTE, I. et al. Development of a method by HPLC to determine LAS and its application in anaerobic reactors. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 7, p. 1360-1367, 2006. ISSN 0103-5053.

ELREEDY, A. et al. Pathways of 3-biofules (hydrogen, ethanol and methane) production from petrochemical industry wastewater via anaerobic packed bed baffled reactor inoculated with mixed culture bacteria. **Energy conversion and management**, v. 122, p. 119-130, 2016. ISSN 0196-8904.

EPA. Nonylphenol (NP) and Nonylphenol Ethoxylates (NPEs) Action Plan. 2010. Disponível em: < https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/rin2070-za09_np-npes_action_plan_final_2010-08-09.pdf >. Acesso em: 30/11.

EPA, U. Contaminant Candidate List (CCL) and Regulatory Determination-Final CCL 4 Chemical Contaminants. 2016.

ERIKSSON, E. et al. Characteristics of grey wastewater. **Urban water**, v. 4, n. 1, p. 85-104, 2002. ISSN 1462-0758.

FANG, C. et al. Comparison of UASB and EGSB reactors performance, for treatment of raw and deoiled palm oil mill effluent (POME). **Journal of Hazardous Materials**, v. 189, n. 1-2, p. 229-234, 2011. ISSN 0304-3894.

FARIA, C. V. D. et al. Evaluation of anionic surfactant removal by anaerobic degradation of commercial laundry wastewater and domestic sewage. **Environmental technology**, p. 1-9, 2017. ISSN 0959-3330.

FARN, R. J. **Chemistry and technology of surfactants**. John Wiley & Sons, 2008. ISBN 1405171790.

FERGUSON, P. L.; IDEN, C. R.; BROWNAWELL, B. J. Analysis of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in environmental samples by mixed-mode high-performance liquid chromatography–electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 938, n. 1-2, p. 79-91, 2001. ISSN 0021-9673.

FIEDLER, S. et al. Alkylphenols in sediments of the Atlantic Rainforest south-west of São Paulo, Brazil. **Chemosphere**, v. 66, n. 2, p. 212-218, 2007. ISSN 0045-6535.

FRANCIOLI, D. et al. DNA Metabarcoding for the Characterization of Terrestrial Microbiota—Pitfalls and Solutions. **Microorganisms**, v. 9, n. 2, p. 361, 2021.

FRANKE-WHITTLE, I. H. et al. Investigation into the effect of high concentrations of volatile fatty acids in anaerobic digestion on methanogenic communities. **Waste management**, v. 34, n. 11, p. 2080-2089, 2014. ISSN 0956-053X.

FRANKIN, R. et al. Application of the Biobed® Upflow Fluidized Bed Process for Anaerobic Waste Water Treatment. **Water Science and Technology**, v. 25, n. 7, p. 373-382, 1992. ISSN 0273-1223.

GAGLIANO, M. et al. Biofilm formation and granule properties in anaerobic digestion at high salinity. **Water research**, v. 121, p. 61-71, 2017. ISSN 0043-1354.

GAO, D. et al. Removal of surfactants nonylphenol ethoxylates from municipal sewage-comparison of an A/O process and biological aerated filters. **Chemosphere**, v. 97, p. 130-134, 2014. ISSN 0045-6535.

GAO, Q.; WONG, Y. S.; TAM, N. Removal and biodegradation of nonylphenol by different *Chlorella* species. **Marine pollution bulletin**, v. 63, n. 5-12, p. 445-451, 2011a. ISSN 0025-326X.

GAO, Q.; WONG, Y. S.; TAM, N. Removal and biodegradation of nonylphenol by immobilized *Chlorella vulgaris*. **Bioresource technology**, v. 102, n. 22, p. 10230-10238, 2011b. ISSN 0960-8524.

GATIDOU, G. et al. Simultaneous determination of the endocrine disrupting compounds nonylphenol, nonylphenol ethoxylates, triclosan and bisphenol A in wastewater and sewage

sludge by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1138, n. 1-2, p. 32-41, 2007. ISSN 0021-9673.

GAUTAM, G. J.; CHAUBE, R.; JOY, K. Toxicity and tissue accumulation of 4-nonylphenol in the catfish *Heteropneustes fossilis* with a note on prevalence of 4-NP in water samples. **Endocrine Disruptors**, v. 3, n. 1, p. e981442, 2015. ISSN 2327-3747.

GIBSON, R. et al. Analysis of 4-nonylphenols, phthalates, and polychlorinated biphenyls in soils and biosolids. **Chemosphere**, v. 61, n. 9, p. 1336-1344, 2005. ISSN 0045-6535.

GOEL, A. et al. Biodegradation of nonylphenol ethoxylate surfactants in biofilm reactors. **Acta hydrochimica et hydrobiologica**, v. 31, n. 2, p. 108-119, 2003. ISSN 0323-4320.

GONZÁLEZ, M. et al. Occurrence and risk assessment of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in sewage sludge from different conventional treatment processes. **Science of the total environment**, v. 408, n. 3, p. 563-570, 2010. ISSN 0048-9697.

GONZÁLEZ, S.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Simultaneous extraction and fate of linear alkylbenzene sulfonates, coconut diethanol amides, nonylphenol ethoxylates and their degradation products in wastewater treatment plants, receiving coastal waters and sediments in the Catalanian area (NE Spain). **Journal of Chromatography A**, v. 1052, n. 1-2, p. 111-120, 2004. ISSN 0021-9673.

GRANATTO, C. et al. Scale-up evaluation of anaerobic degradation of linear alkylbenzene sulfonate from sanitary sewage in expanded granular sludge bed reactor. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 138, p. 23-32, 2019. ISSN 0964-8305.

GRANATTO, C. F. et al. Methanogenic potential of diclofenac and ibuprofen in sanitary sewage using metabolic cosubstrates. **Science of The Total Environment**, p. 140530, 2020. ISSN 0048-9697.

GREEN, M.; SAMBROOK, J. Molecular cloning: a laboratory manual 4 edition Cold Spring Harbor Laboratory Press. **New York**, 2012.

GU, X. et al. Isolation of phylogenetically diverse nonylphenol ethoxylate-degrading bacteria and characterization of their corresponding biotransformation pathways. **Chemosphere**, v. 80, n. 3, p. 216-222, 2010. ISSN 0045-6535.

GUO, J. et al. Dissecting microbial community structure and methane-producing pathways of a full-scale anaerobic reactor digesting activated sludge from wastewater treatment by metagenomic sequencing. **Microbial cell factories**, v. 14, n. 1, p. 33, 2015. ISSN 1475-2859.

HAHNKE, S. et al. Description of *Proteiniphilum saccharofermentans* sp. nov., *Petrimonas mucosa* sp. nov. and *Fermentimonas caenicola* gen. nov., sp. nov., isolated from mesophilic laboratory-scale biogas reactors, and emended description of the genus *Proteiniphilum*. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 66, n. 3, p. 1466-1475, 2016. ISSN 1466-5026.

HAKOBYAN, L.; GABRIELIAN, L.; TRCHOUNIAN, A. Yeast extract as an effective nitrogen source stimulating cell growth and enhancing hydrogen photoproduction by *Rhodobacter sphaeroides* strains from mineral springs. **international journal of hydrogen energy**, v. 37, n. 8, p. 6519-6526, 2012. ISSN 0360-3199.

HALL, W. S. et al. Acute toxicity of industrial surfactants to *Mysidopsis bahia*. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 18, n. 5, p. 765-772, 1989. ISSN 0090-4341.

HANCI, T.; ALATON, I.; BASAR, G. Multivariate analysis of anionic, cationic and nonionic textile surfactant degradation with the H₂O₂/UV-C process by using the capabilities of response surface methodology. **Journal of Hazardous Materials**, v. 185, n. 1, p. 193-203, 2011.

HAYASHI, S. et al. Aerobic biodegradation behavior of nonylphenol polyethoxylates and their metabolites in the presence of organic matter. **Environmental science & technology**, v. 39, n. 15, p. 5626-5633, 2005. ISSN 0013-936X.

HODGES, G. et al. A comparison of log K_{ow} (n-octanol–water partition coefficient) values for non-ionic, anionic, cationic and amphoteric surfactants determined using predictions and experimental methods. **Environmental Sciences Europe**, v. 31, n. 1, p. 1-18, 2019. ISSN 2190-4715.

INDUSTRYARC. Alkylphenol Ethoxylate Market: By Types (Nonylphenol Ethoxylates, Octylphenol Ethoxylates, Others); By Application (Agricultural Chemicals, Emulsion Polymerization, Fragrance Emulsification, Industrial & Institutional Cleaners, Metal Processing, Paints & Coatings, Paper, Textiles) & Geographic Analysis - Forecast (2018-2023). <https://www.industryarc.com/>, 2020. Disponível em: < <https://www.industryarc.com/Report/17714/alkylphenol-ethoxylate-market.html#> >. Acesso em: 19/09/20.

IQBAL, M.; BHATTI, I. A. Gamma radiation/H₂O₂ treatment of a nonylphenol ethoxylates: degradation, cytotoxicity, and mutagenicity evaluation. **Journal of hazardous materials**, v. 299, p. 351-360, 2015. ISSN 0304-3894.

IVANKOVIĆ, T.; HRENOVIĆ, J. Surfactants in the environment. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, v. 61, n. 1, p. 95-110, 2010. ISSN 0004-1254.

JAMBOR, T. et al. IN VITRO EFFECT OF 4-NONYLPHENOL ON cAMP STIMULATED ANDROSTENEDIONE PRODUCTION AND VIABILITY OF MICE LEYDIG CELLS. **The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 5, p. 14, 2016. ISSN 1338-5178.

Jl, J.-H. et al. Methanogenic degradation of long n-alkanes requires fumarate-dependent activation. **Applied and environmental microbiology**, v. 85, n. 16, 2019. ISSN 0099-2240.

Jl, J. et al. Alcohol ethoxylate degradation of activated sludge is enhanced by bioaugmentation with *Pseudomonas* sp. LZ-B. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 169, p. 335-343, 2019. ISSN 0147-6513.

Ji, X. et al. A comparison of endocrine disruption potential of nonylphenol ethoxylate, vanillin ethoxylate, 4-n-nonylphenol and vanillin in vitro. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 175, p. 208-214, 2019. ISSN 0147-6513.

JIMÉNEZ-GONZÁLEZ, A. et al. Sorption and inhibitory effect of octylphenol ethoxylate Triton X-100 on methanogenic and denitrifying granular sludges. **Journal of environmental management**, v. 236, p. 309-316, 2019. ISSN 0301-4797.

KARKI, R. et al. Anaerobic co-digestion: Current status and perspectives. **Bioresource Technology**, p. 125001, 2021. ISSN 0960-8524.

KASHIWADA, S. et al. Fish test for endocrine-disruption and estimation of water quality of Japanese rivers. **Water research**, v. 36, n. 8, p. 2161-2166, 2002. ISSN 0043-1354.

KAYEMBE, K. et al. Inhibitory effects of phenolic monomers on methanogenesis in anaerobic digestion. **Microbiology Research Journal International**, p. 32-41, 2013. ISSN 2456-7043.

KERN, M.; KLOTZ, M. G.; SIMON, J. The Wolinella succinogenes mcc gene cluster encodes an unconventional respiratory sulphite reduction system. **Molecular microbiology**, v. 82, n. 6, p. 1515-1530, 2011. ISSN 0950-382X.

KORSMAN, J. C. et al. Modeling bioaccumulation and biomagnification of nonylphenol and its ethoxylates in estuarine–marine food chains. **Chemosphere**, v. 138, p. 33-39, 2015. ISSN 0045-6535.

KUEVER, J. The Family Desulfovibrionaceae. In: ROSENBERG, E.; DELONG, E. F., *et al* (Ed.). **The Prokaryotes: Deltaproteobacteria and Epsilonproteobacteria**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014a. p.107-133. ISBN 978-3-642-39044-9.

KUEVER, J. The Family Syntrophorhabdaceae. In: ROSENBERG, E.; DELONG, E. F., *et al* (Ed.). **The Prokaryotes: Deltaproteobacteria and Epsilonproteobacteria**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014b. p.301-303. ISBN 978-3-642-39044-9.

LANÇAS, F. M. Extração em fase sólida (SPE). In: (Ed.). **Extração em fase sólida (SPE)**, 2004.

LEE, C.-C. et al. The potential role of water quality parameters on occurrence of nonylphenol and bisphenol A and identification of their discharge sources in the river ecosystems. **Chemosphere**, v. 91, n. 7, p. 904-911, 2013. ISSN 0045-6535.

LEE, S. B.; CHOI, J. Multilevel evaluation of nonylphenol toxicity in fourth-instar larvae of Chironomus riparius (Diptera, Chironomidae). **Environmental toxicology and chemistry**, v. 25, n. 11, p. 3006-3014, 2006. ISSN 1552-8618.

LESCHINE, S.; PASTER, B. J.; CANALE-PAROLA, E. Free-Living Saccharolytic Spirochetes: The Genus Spirochaeta. In: DWORKIN, M.; FALKOW, S., *et al* (Ed.). **The Prokaryotes: Volume 7: Proteobacteria: Delta, Epsilon Subclass**. New York, NY: Springer New York, 2006. p.195-210. ISBN 978-0-387-30747-3.

LETTINGA, G.; HULSHOFF POL, L. UASB-process design for various types of wastewaters. **Water science and technology**, v. 24, n. 8, p. 87-107, 1991. ISSN 0273-1223.

LI, C.; JIN, F.; SNYDER, S. A. Recent advancements and future trends in analysis of nonylphenol ethoxylates and their degradation product nonylphenol in food and environment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 107, p. 78-90, 2018. ISSN 0165-9936.

LI, F. et al. Re-citrate synthase from *Clostridium kluyveri* is phylogenetically related to homocitrate synthase and isopropylmalate synthase rather than to Si-citrate synthase. **Journal of bacteriology**, v. 189, n. 11, p. 4299-4304, 2007. ISSN 0021-9193.

LI, H.-Q.; JIKU, F.; SCHRÖDER, H. F. Assessment of the pollutant elimination efficiency by gas chromatography/mass spectrometry, liquid chromatography–mass spectrometry and–tandem mass spectrometry: Comparison of conventional and membrane-assisted biological wastewater treatment processes. **Journal of Chromatography A**, v. 889, n. 1-2, p. 155-176, 2000. ISSN 0021-9673.

LIAN, J.; LIU, J. Fate and degradation of nonylphenolic compounds during wastewater treatment process. **Journal of Environmental Sciences**, v. 25, n. 8, p. 1511-1518, 2013. ISSN 1001-0742.

LIM, S. J.; KIM, T.-H. Applicability and trends of anaerobic granular sludge treatment processes. **Biomass and bioenergy**, v. 60, p. 189-202, 2014. ISSN 0961-9534.

LIU, J. et al. Discovery of kokumi peptide from yeast extract by LC-Q-TOF-MS/MS and sensomics approach. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 15, p. 3183-3194, 2015. ISSN 0022-5142.

LIU, X. et al. Catalytic mechanism of short ethoxy chain nonylphenol dehydrogenase belonging to a polyethylene glycol dehydrogenase group in the GMC oxidoreductase family. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 1, p. 1218-1231, 2013.

LOYO-ROSALES, J. E. et al. Analysis of octyl-and nonylphenol and their ethoxylates in water and sediments by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 18, p. 4811-4817, 2003. ISSN 0003-2700.

LOZANO, N. et al. Concentration of organic contaminants in fish and their biological effects in a wastewater-dominated urban stream. **Science of the total environment**, v. 420, p. 191-201, 2012. ISSN 0048-9697.

LOZANO, T. M.; MCCUTCHAN, A. L.; KRZMARZICK, M. J. Hydraulic fracturing fluid compositions induce differential enrichment of soil bacterial communities. **Environmental Engineering Science**, v. 36, n. 4, p. 385-395, 2019. ISSN 1557-9018.

LU, J. et al. Anaerobic degradation behavior of nonylphenol polyethoxylates in sludge. **Chemosphere**, v. 71, n. 2, p. 345-351, 2008. ISSN 0045-6535.

LUDWIG, W.; EUZÉBY, J.; WHITMAN, W. B. Road map of the phyla Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes. In: (Ed.). **Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology**: Springer, 2010. p.1-19.

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, p. 619-641, 2014. ISSN 0048-9697.

LUPPI, L. I. et al. Anaerobic nonylphenol ethoxylate degradation coupled to nitrate reduction in a modified biodegradability batch test. **Chemosphere**, v. 68, n. 11, p. 2136-2143, 2007. ISSN 0045-6535.

LV, Z. et al. Effects of various feedstocks on isotope fractionation of biogas and microbial community structure during anaerobic digestion. **Waste Management**, v. 84, p. 211-219, 2019. ISSN 0956-053X.

LYKO, S.; WINTGENS, T.; MELIN, T. Estrogenic trace contaminants in wastewater—possibilities of membrane bioreactor technology. **Desalination**, v. 178, n. 1-3, p. 95-105, 2005. ISSN 0011-9164.

MACEDO, T. et al. Robustness and Microbial Diversity of a Fluidized Bed Reactor Employed for the Removal and Degradation of an Anionic Surfactant from Laundry Wastewater. **Journal of Environmental Engineering**, v. 143, n. 9, p. 04017062, 2017. ISSN 0733-9372.

MACEDO, T. et al. The comparative advantages of ethanol and sucrose as co-substrates in the degradation of an anionic surfactant: microbial community selection. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 38, n. 10, p. 1835-1844, 2015. ISSN 1615-7591.

MACEDO, T. Z. et al. The influence of upflow velocity and hydraulic retention time changes on taxonomic and functional characterization in Fluidized Bed Reactor treating commercial laundry wastewater in co-digestion with domestic sewage. **Biodegradation**, p. 1-17, 2020. ISSN 0923-9820.

MÄENPÄÄ, K.; KUKKONEN, J. Bioaccumulation and toxicity of 4-nonylphenol (4-NP) and 4-(2-dodecyl)-benzene sulfonate (LAS) in *Lumbriculus variegatus* (Oligochaeta) and *Chironomus riparius* (Insecta). **Aquatic toxicology**, v. 77, n. 3, p. 329-338, 2006. ISSN 0166-445X.

MAHMOUD, M. et al. Hythane (H₂ and CH₄) production from unsaturated polyester resin wastewater contaminated by 1, 4-dioxane and heavy metals via up-flow anaerobic self-separation gases reactor. **Energy Conversion and Management**, v. 152, p. 342-353, 2017. ISSN 0196-8904.

MANN, R. M.; BIDWELL, J. R. Application of the FETAX protocol to assess the developmental toxicity of nonylphenol ethoxylate to *Xenopus laevis* and two Australian frogs. **Aquatic Toxicology**, v. 51, n. 1, p. 19-29, 2000. ISSN 0166-445X.

MARIEL, A. C.; ALEJANDRA, B. P.; SILVIA, P. C. C. Developmental toxicity and risk assessment of nonylphenol to the South American toad, *Rhinella arenarum*. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 38, n. 2, p. 634-642, 2014. ISSN 1382-6689.

MARONE, A. et al. Bioelectrochemical treatment of table olive brine processing wastewater for biogas production and phenolic compounds removal. **Water research**, v. 100, p. 316-325, 2016. ISSN 0043-1354.

MAUS, I. et al. The Role of *Petrimonas mucosa* ING2-E5AT in Mesophilic Biogas Reactor Systems as Deduced from Multiomics Analyses. **Microorganisms**, v. 8, n. 12, p. 2024, 2020.

MAZARELI, R. C. et al. *Bacillus* sp. isolated from banana waste and analysis of metabolic pathways in acidogenic systems in hydrogen production. **Journal of environmental management**, v. 247, p. 178-186, 2019. ISSN 0301-4797.

MEI, R. et al. Metagenomic and Metatranscriptomic Analyses Revealed Uncultured Bacteroidales Populations as the Dominant Proteolytic Amino Acid Degradors in Anaerobic Digesters. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 2763, 2020. ISSN 1664-302X.

MERRETTIG-BRUNS, U.; JELEN, E. Anaerobic biodegradation of detergent surfactants. **Materials**, v. 2, n. 1, p. 181-206, 2009.

MONNERET, C. What is an endocrine disruptor? **Comptes rendus biologies**, v. 340, n. 9-10, p. 403-405, 2017. ISSN 1631-0691.

MONTOYA, A. C. V. et al. Hydrogen, alcohols and volatile fatty acids from the co-digestion of coffee waste (coffee pulp, husk, and processing wastewater) by applying autochthonous microorganisms. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, n. 39, p. 21434-21450, 2019. ISSN 0360-3199.

MOON, C. D. et al. Metagenomic insights into the roles of Proteobacteria in the gastrointestinal microbiomes of healthy dogs and cats. **Microbiologyopen**, v. 7, n. 5, p. e00677, 2018. ISSN 2045-8827.

MOREIRA, D. S. et al. Occurrence of endocrine disrupting compounds in water sources of Belo Horizonte Metropolitan Area, Brazil. **Environmental Technology**, v. 30, n. 10, p. 1041-1049, 2009. ISSN 0959-3330.

MOREIRA, M. et al. Determination of endocrine-disrupting compounds in waters from Rio das Velhas, Brazil, by liquid chromatography/high resolution mass spectrometry (ESI-LC-IT-TOF/MS). **Environmental technology**, v. 32, n. 12, p. 1409-1417, 2011. ISSN 0959-3330.

MOTTERAN, F. et al. Degradation of high concentrations of nonionic surfactant (linear alcohol ethoxylate) in an anaerobic fluidized bed reactor. **Science of the Total Environment**, v. 481, p. 121-128, 2014a. ISSN 0048-9697.

MOTTERAN, F. et al. Methanogenic potential of an anaerobic sludge in the presence of anionic and nonionic surfactants. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 96, p. 198-204, 2014b. ISSN 0964-8305.

MOTTERAN, F. et al. Influence of sucrose on the diversity of bacteria involved in nonionic surfactant degradation in fluidized bed reactor. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 228, n. 1, p. 21, 2017. ISSN 0049-6979.

MOTTERAN, F. et al. Metabolic routes involved in the removal of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) employing linear alcohol ethoxylated and ethanol as co-substrates in enlarged scale fluidized bed reactor. **Science of the Total Environment**, v. 640, p. 1411-1423, 2018. ISSN 0048-9697.

MOTTERAN, F. et al. Identification of Anionic and Nonionic Surfactant and Recalcitrants Compounds in Commercial Laundry Wastewater by GC-MS Analysis After Anaerobic Fluidized Bed Reactor Treatment. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 230, n. 12, p. 301, 2019. ISSN 0049-6979.

MOTTERAN, F. et al. Influence of cosubstrates for linear anionic sulfonated alkylbenzene degradation and methane production in anaerobic batch reactors. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 139, p. 60-68, 2020. ISSN 0957-5820.

MOURA, A. G. L. D. et al. Laundry wastewater and domestic sewage pilot-scale anaerobic treatment: Microbial community resilience regarding sulfide production. **Journal of environmental management**, v. 251, p. 109495, 2019. ISSN 0301-4797.

MURDOCH, F. K. et al. Change of microbial community composition in anaerobic digesters during the degradation of nonylphenol diethoxylate. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 135, p. 1-8, 2018. ISSN 0964-8305.

MURZIN, D. Y. **Chemical Product Technology**. Walter de Gruyter GmbH & Co KG, 2018. ISBN 3110475529.

MYERS, D. **Surfactant science and technology**. John Wiley & Sons, 2005. ISBN 0471746061.

NAYLOR, C. G. Environmental fate and safety of nonylphenol ethoxylates. **Textile Chemist & Colorist**, v. 27, n. 4, 1995. ISSN 0040-490X.

NDAYISENGA, F. et al. Using easy-to-biodegrade co-substrate to eliminate microcystin toxic on electrochemically active bacteria and enhance bioelectricity generation from cyanobacteria biomass. **Science of the Total Environment**, v. 751, p. 142292, 2021. ISSN 0048-9697.

NESHAT, S. A. et al. Anaerobic co-digestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, p. 308-322, 2017. ISSN 1364-0321.

NICOLELLA, C.; VAN LOOSDRECHT, M.; HEIJNEN, J. Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. **Journal of biotechnology**, v. 80, n. 1, p. 1-33, 2000. ISSN 0168-1656.

NOORIMOTLAGH, Z. et al. The visible-light photodegradation of nonylphenol in the presence of carbon-doped TiO₂ with rutile/anatase ratio coated on GAC: Effect of parameters and degradation mechanism. **Journal of hazardous materials**, v. 350, p. 108-120, 2018. ISSN 0304-3894.

NUNES, R. et al. UVA/persulfate-driven nonylphenol polyethoxylate degradation: effect of process conditions. **Environmental technology**, p. 1-15, 2020. ISSN 0959-3330.

OKADA, D. et al. Influence of co-substrates in the anaerobic degradation of an anionic surfactant. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 3, p. 499-506, 2013. ISSN 0104-6632.

OLIVEIRA, C. A. et al. Thermophilic biomethanation of sugarcane molasses comparing single and two-stage systems: Process performance and energetic potential. **Bioresource Technology Reports**, v. 12, p. 100590, 2020. ISSN 2589-014X.

OLIVEIRA, L. L. et al. Anaerobic degradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in fluidized bed reactor by microbial consortia in different support materials. **Bioresource technology**, v. 101, n. 14, p. 5112-5122, 2010. ISSN 0960-8524.

OLKOWSKA, E.; POLKOWSKA, Z.; NAMIESNIK, J. Analytics of surfactants in the environment: problems and challenges. **Chemical reviews**, v. 111, n. 9, p. 5667-5700, 2011. ISSN 0009-2665.

OLKOWSKA, E.; RUMAN, M.; POLKOWSKA, Z. Occurrence of surface active agents in the environment. **Journal of analytical methods in chemistry**, v. 2014, 2014. ISSN 2090-8865.

ÖMEROĞLU, S.; MURDOCH, F. K.; SANIN, F. D. Investigation of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in sewage sludge samples from a metropolitan wastewater treatment plant in Turkey. **Talanta**, v. 131, p. 650-655, 2015. ISSN 0039-9140.

ÖMEROĞLU, S.; SANIN, F. D. Fate and degradation kinetics of nonylphenol compounds in aerobic batch digesters. **Water research**, v. 64, p. 1-12, 2014. ISSN 0043-1354.

PARCOM. **92/8 on nonylphenol-ethoxylates. Recommendation.** : Available via Internet as download at <http://www.ospar.org/asp/ospar/dra.asp> 2000.

PARIA, S. Surfactant-enhanced remediation of organic contaminated soil and water. **Advances in colloid and interface science**, v. 138, n. 1, p. 24-58, 2008. ISSN 0001-8686.

PARSHINA, S. N. et al. Methanospirillum stamsii sp. nov., a psychrotolerant, hydrogenotrophic, methanogenic archaeon isolated from an anaerobic expanded granular sludge bed bioreactor operated at low temperature. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 64, n. Pt_1, p. 180-186, 2014. ISSN 1466-5026.

PASTER, B. J. Phylum XV. Spirochaetes Garrity and Holt 2001. In: (Ed.). **Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology**: Springer, 2010. p.471-566.

PATERAKIS, N. et al. The effectiveness of anaerobic digestion in removing estrogens and nonylphenol ethoxylates. **Journal of hazardous materials**, v. 199, p. 88-95, 2012. ISSN 0304-3894.

PENTEADO, E. D. et al. Influence of seed sludge and pretreatment method on hydrogen production in packed-bed anaerobic reactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 14, p. 6137-6145, 2013. ISSN 0360-3199.

PERNA, V. 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. ISSN 0360-3199.

PETRIE, B.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. **Water research**, v. 72, p. 3-27, 2015. ISSN 0043-1354.

PETROVIĆ, M. et al. Analysis and environmental levels of endocrine-disrupting compounds in freshwater sediments. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, n. 11, p. 637-648, 2001. ISSN 0165-9936.

PHILIPP, B.; SCHINK, B. Different strategies in anaerobic biodegradation of aromatic compounds: nitrate reducers versus strict anaerobes. **Environmental microbiology reports**, v. 4, n. 5, p. 469-478, 2012. ISSN 1758-2229.

PLANAS, C. et al. Degradation of polyethoxylated nonylphenols in a sewage treatment plant. Quantitative analysis by isotopic dilution-HRGC/MS. **Water Research**, v. 36, n. 4, p. 982-988, 2002. ISSN 0043-1354.

POIRIER, S. et al. Community shifts within anaerobic digestion microbiota facing phenol inhibition: towards early warning microbial indicators? **Water research**, v. 100, p. 296-305, 2016. ISSN 0043-1354.

POLLO, S. M.; ZHAXYBAYEVA, O.; NESBØ, C. L. Insights into thermoadaptation and the evolution of mesophily from the bacterial phylum Thermotogae. **Canadian journal of microbiology**, v. 61, n. 9, p. 655-670, 2015. ISSN 0008-4166.

PORTER, A. W.; YOUNG, L. Y. Benzoyl-CoA, a universal biomarker for anaerobic degradation of aromatic compounds. **Advances in applied microbiology**, v. 88, p. 167-203, 2014. ISSN 0065-2164.

PRIAC, A. et al. Alkylphenol and alkylphenol polyethoxylates in water and wastewater: A review of options for their elimination. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S3749-S3773, 2017. ISSN 1878-5352.

PUTEH, M. H.; STUCKEY, D. C.; OTHMAN, M. H. D. Direct Measurement of Anaerobic Biodegradability of Nonylphenol Ethoxylates (NPEOs). **International Journal of Environmental Science and Development**, v. 6, n. 9, p. 660, 2015. ISSN 2010-0264.

QIAO, M. et al. Gemini surfactants as novel air entraining agents for concrete. **Cement and Concrete Research**, v. 100, p. 40-46, 2017. ISSN 0008-8846.

RAJENDRAN, K. et al. Advancing anaerobic digestion through two-stage processes: Current developments and future trends. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 123, p. 109746, 2020. ISSN 1364-0321.

RESEARCH, A. M. Surfactants Market by Type (Anionic, Non-ionic, Cationic, Amphoteric, and Others) and Application (Household Detergents, Personal Care, Industrial & Institutional Cleaners, Food Processing, Oilfield Chemicals, Agricultural Chemicals, Textiles, Emulsion Polymerization (Plastics), Paints & Coatings, Construction, and Others): Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2020–2027., <https://www.alliedmarketresearch.com>, 2020. Disponível em: < <https://www.alliedmarketresearch.com/surfactant-market> >. Acesso em: 08/09/20.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004. ISSN 0100-4042.

RIPLEY, L.; BOYLE, W.; CONVERSE, J. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, p. 406-411, 1986. ISSN 0043-1303.

RODRIGUES, M.; COSTA, P. Protimiza experimental design. **Available in: <http://experimental-design.protimiza.com.br/>. Accessed**, v. 10, 2019.

RODRIGUES, M.; IEMMA, A. Planejamento de experimentos e otimização de processos-3ª. **Campinas/SP**, 2014.

SARAVANAN, M. et al. Long-term exposure to waterborne nonylphenol alters reproductive physiological parameters in economically important marine fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 216, p. 10-18, 2019. ISSN 1532-0456.

SARMAH, A. K.; HALLING-SØRENSEN, B. BIODEGRADATION OF SELECTED EMERGING ORGANIC CONTAMINANTS IN THE ENVIRONMENT—AN OVERVIEW. In: (Ed.). **Leading-edge Environmental Biodegradation**: Nova Science Publishers, Incorporated, 2007. p.53-93. ISBN 1600219039.

SEGHEZZO, L. et al. A review: the anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. **Bioresource technology**, v. 65, n. 3, p. 175-190, 1998. ISSN 0960-8524.

SEKHON, B. S. Surfactants: pharmaceutical and medicinal aspects. 2014.

SHELDON, M. S.; ERDOGAN, I. G. Multi-stage EGSB/MBR treatment of soft drink industry wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 285, p. 368-377, 2016. ISSN 1385-8947.

SHU, D. et al. Microbial structures and community functions of anaerobic sludge in six full-scale wastewater treatment plants as revealed by 454 high-throughput pyrosequencing. **Bioresource technology**, v. 186, p. 163-172, 2015. ISSN 0960-8524.

SOARES, A. et al. Nonylphenol in the environment: a critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. **Environment international**, v. 34, n. 7, p. 1033-1049, 2008. ISSN 0160-4120.

SOARES, A. et al. Biodegradation of nonylphenol in a continuous bioreactor at low temperatures and effects on the microbial population. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 69, n. 5, p. 597-606, 2006. ISSN 0175-7598.

ŠOSTAR-TURK, S.; PETRINIĆ, I.; SIMONIČ, M. Laundry wastewater treatment using coagulation and membrane filtration. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 44, n. 2, p. 185-196, 2005. ISSN 0921-3449.

SOUTO, T. F. et al. Influence of incubation conditions on the specific methanogenic activity test. **Biodegradation**, v. 21, n. 3, p. 411-424, 2010. ISSN 1572-9729.

SPEHAR, R. L. et al. Comparative toxicity and bioconcentration of nonylphenol in freshwater organisms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 9, p. 2104-2111, 2010. ISSN 0730-7268.

STAPLES, C. et al. A weight of evidence analysis of the chronic ecotoxicity of nonylphenol ethoxylates, nonylphenol ether carboxylates, and nonylphenol. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 10, n. 6, p. 999-1017, 2004. ISSN 1080-7039.

STARLING, M. C. V.; AMORIM, C. C.; LEÃO, M. M. D. Occurrence, control and fate of contaminants of emerging concern in environmental compartments in Brazil. **Journal of hazardous materials**, 2018. ISSN 0304-3894.

SWARTZ, C. H. et al. Steroid estrogens, nonylphenol ethoxylate metabolites, and other wastewater contaminants in groundwater affected by a residential septic system on Cape Cod, MA. **Environmental science & technology**, v. 40, n. 16, p. 4894-4902, 2006. ISSN 0013-936X.

TALMAGE, S. S. **Environmental and human safety of major surfactants: alcohol ethoxylates and alkylphenol ethoxylates**. CRC Press, 1994. ISBN 1566700175.

TANGHE, T.; DEVRIESE, G.; VERSTRAETE, W. Nonylphenol degradation in lab scale activated sludge units is temperature dependent. **Water Research**, v. 32, n. 10, p. 2889-2896, 1998. ISSN 0043-1354.

TENEYCK, M. C.; MARKEE, T. P. Toxicity of nonylphenol, nonylphenol monoethoxylate, and nonylphenol diethoxylate and mixtures of these compounds to Pimephales promelas (fathead minnow) and Ceriodaphnia dubia. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 53, n. 4, p. 599-606, 2007. ISSN 0090-4341.

TERZIC, S. et al. Elimination of aromatic surfactants from municipal wastewaters: comparison of conventional activated sludge treatment and membrane biological reactor. **Water Science and Technology**, v. 51, n. 6-7, p. 447-453, 2005. ISSN 0273-1223.

THIELE, B.; GÜNTHER, K.; SCHWUGER, M. J. Alkylphenol ethoxylates: trace analysis and environmental behavior. **Chemical reviews**, v. 97, n. 8, p. 3247-3272, 1997. ISSN 0009-2665.

TOMAZETTO, G.; OLIVEIRA, V. M. Investigation of the FeFe-hydrogenase gene diversity combined with phylogenetic microbial community analysis of an anaerobic domestic sewage sludge. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 11, p. 2003-2014, 2013. ISSN 0959-3993.

TORREGROSA-CRESPO, J. et al. Anaerobic metabolism in Haloferax genus: denitrification as case of study. **Advances in microbial physiology**, v. 68, p. 41-85, 2016. ISSN 0065-2911.

TORRES, P. **Desenvolvimento de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) de bancada no tratamento de substrato sintético simulando esgoto sanitário**. 1992. Dissertação de Mestrado–Escola de Engenharia de São Carlos–Universidade de São Paulo. São Carlos SP 128p

VAN LIER, J. et al. Celebrating 40 years anaerobic sludge bed reactors for industrial wastewater treatment. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 14, n. 4, p. 681-702, 2015. ISSN 1569-1705.

VANWONTERGHEM, I. et al. Genome-centric resolution of microbial diversity, metabolism and interactions in anaerobic digestion. **Environmental microbiology**, v. 18, n. 9, p. 3144-3158, 2016. ISSN 1462-2912.

VARGAS-BERRONES, K. et al. Emerging pollutants (EPs) in Latin América: A critical review of under-studied EPs, case of study-Nonylphenol. **Science of the Total Environment**, p. 138493, 2020. ISSN 0048-9697.

VIKELSØE, J.; THOMSEN, M.; CARLSEN, L. Phthalates and nonylphenols in profiles of differently dressed soils. **Science of the Total Environment**, v. 296, n. 1-3, p. 105-116, 2002. ISSN 0048-9697.

VILELA, R. et al. Biofuel production from sugarcane molasses in thermophilic anaerobic structured-bed reactors. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 144, p. 110974, 2021. ISSN 1364-0321.

VILLAR-NAVARRO, M. et al. A novel application of three phase hollow fiber based liquid phase microextraction (HF-LPME) for the HPLC determination of two endocrine disrupting compounds (EDCs), n-octylphenol and n-nonylphenol, in environmental waters. **Science of the Total Environment**, v. 443, p. 1-6, 2013. ISSN 0048-9697.

WANG, W. et al. Performance robustness of the UASB reactors treating saline phenolic wastewater and analysis of microbial community structure. **Journal of hazardous materials**, v. 331, p. 21-27, 2017. ISSN 0304-3894.

WANG, Z. et al. Change of microbial community structure and functional gene abundance in nonylphenol-degrading sediment. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 7, p. 3259-3268, 2015. ISSN 0175-7598.

WEI, X. et al. Characterization of phenols biodegradation by compound specific stable isotope analysis. EGU General Assembly Conference Abstracts, 2015. p.15694.

WEMHEUER, F. et al. Tax4Fun2: prediction of habitat-specific functional profiles and functional redundancy based on 16S rRNA gene sequences. **Environmental Microbiome**, v. 15, p. 1-12, 2020.

WHITACRE, D. M. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**. Springer New York, 2010. ISBN 9781441964069. Disponível em: < <https://books.google.com.br/books?id=SfjyDKmA8mEC> >.

WINTGENS, T.; GALLENKEMPER, M.; MELIN, T. Endocrine disrupter removal from wastewater using membrane bioreactor and nanofiltration technology. **Desalination**, v. 146, n. 1-3, p. 387-391, 2002. ISSN 0011-9164.

WU, B. et al. Anaerobic biotransformation and potential impact of quinoline in an anaerobic methanogenic reactor treating synthetic coal gasification wastewater and response of microbial community. **Journal of hazardous materials**, v. 384, p. 121404, 2020. ISSN 0304-3894.

XU, J. et al. Characterization of zinc oxide nanoparticles-epoxy resin composite and its antibacterial effects on spoilage bacteria derived from silvery pomfret (*Pampus argenteus*). **Food Packaging and Shelf Life**, v. 22, p. 100418, 2019. ISSN 2214-2894.

XU, J. et al. Seasonal and spatial distribution of nonylphenol in Lanzhou Reach of Yellow River in China. **Chemosphere**, v. 65, n. 9, p. 1445-1451, 2006. ISSN 0045-6535.

XUE, X. et al. Occurrence of endocrine disrupting compounds in rivers and lakes of Wuhan City, China. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 17, n. 2, p. 203, 2008. ISSN 1018-4619.

YANG, J. et al. Distribution and bioconcentration of endocrine disrupting chemicals in surface water and fish bile of the Pearl River Delta, South China. **Chemosphere**, v. 107, p. 439-446, 2014. ISSN 0045-6535.

YIN, D.-M. et al. An explanation of the methanogenic pathway for methane production in anaerobic digestion of nitrogen-rich materials under mesophilic and thermophilic conditions. **Bioresource technology**, v. 264, p. 42-50, 2018. ISSN 0960-8524.

YING, G.-G. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. **Environment international**, v. 32, n. 3, p. 417-431, 2006. ISSN 0160-4120.

YING, G.-G.; WILLIAMS, B.; KOOKANA, R. Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates—a review. **Environment international**, v. 28, n. 3, p. 215-226, 2002. ISSN 0160-4120.

YU, D. et al. Biogas production and methanogenic archaeal community in mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion processes. **Journal of Environmental Management**, v. 143, p. 54-60, 2014. ISSN 0301-4797.

YU, X. et al. Anaerobic digestion of swine manure using aqueous pyrolysis liquid as an additive. **Renewable Energy**, v. 147, p. 2484-2493, 2020. ISSN 0960-1481.

ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK, A. et al. Determination of nonylphenol and short-chained nonylphenol ethoxylates in drain water from an agricultural area. **Chemosphere**, v. 75, n. 4, p. 513-518, 2009. ISSN 0045-6535.

ZHANG, J. et al. Biotransformation of nonylphenol ethoxylates during sewage treatment under anaerobic and aerobic conditions. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 2, p. 135-141, 2008. ISSN 1001-0742.

ZHANG, Q. et al. Comparative toxicity of nonylphenol, nonylphenol-4-ethoxylate and nonylphenol-10-ethoxylate to wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 131, p. 7-13, 2016. ISSN 0147-6513.

ZHANG, Y. et al. Startup and operation of anaerobic EGSB reactor treating palm oil mill effluent. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 6, p. 658-663, 2008. ISSN 1001-0742.

ZHENG, M. et al. Flow pattern analysis of a full-scale expanded granular sludge bed-type reactor under different organic loading rates. **Bioresource technology**, v. 107, p. 33-40, 2012. ISSN 0960-8524.

ZHOU, F. et al. Measurement of phenolic environmental estrogens in human urine samples by HPLC-MS/MS and primary discussion the possible linkage with uterine leiomyoma. **Journal of Chromatography B**, v. 938, p. 80-85, 2013. ISSN 1570-0232.

ZHOU, J. et al. Optimization of phenol degradation by *Candida tropicalis* Z-04 using Plackett-Burman design and response surface methodology. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 1, p. 22-30, 2011. ISSN 1001-0742.

ZHOU, Q. et al. Sensitive determination of bisphenol A, 4-nonylphenol and 4-octylphenol by magnetic solid phase extraction with Fe@ MgAl-LDH magnetic nanoparticles from environmental water samples. **Separation and Purification Technology**, v. 182, p. 78-86, 2017. ISSN 1383-5866.

ZHU, X. et al. Novel ecological insights and functional roles during anaerobic digestion of saccharides unveiled by genome-centric metagenomics. **Water research**, v. 151, p. 271-279, 2019. ISSN 0043-1354.

ZINDER, S.; BRÄUER, S. Methanoregula. **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1-8, 2015.

ZOUTBERG, G. R.; FRANKIN, R. Anaerobic treatment of chemical and brewery waste water with a new type of anaerobic reactor; the biobed® EGSB reactor. **Water Science and Technology**, v. 34, n. 5-6, p. 375-381, 1996. ISSN 0273-1223.

ZUPANČIČ, G. D.; ŠKRJANEC, I.; LOGAR, R. M. Anaerobic co-digestion of excess brewery yeast in a granular biomass reactor to enhance the production of bi methane. **Bioresource technology**, v. 124, p. 328-337, 2012. ISSN 0960-8524.

ZWIETERING, M. et al. Modeling of the bacterial growth curve. **Applied and environmental microbiology**, v. 56, n. 6, p. 1875-1881, 1990. ISSN 0099-2240.