

VICTOR SOUZA MEDEIROS

**ABORDAGEM ECOTOXICOLÓGICA PARA AVALIAÇÃO DE REATORES
ANAERÓBIOS COM MEIO SUPORTE E COM MICRORGANISMOS EFICIENTES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

M438a
2019
Medeiros, Victor Souza, 1994-
Abordagem ecotoxicológica para avaliação de reatores
anaeróbios com meio suporte e com microrganismos eficientes /
Victor Souza Medeiros. – Viçosa, MG, 2019.
xi, 46 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Ann Honor Munteer.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 28-35.

1. Reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo.
2. Estrógenos. 3. Esgotos. 4. Testes de toxicidade. 5. Amônia.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Engenharia
Civil. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil.
II. Título.


CDD 22. ed. 628.35

VICTOR SOUZA MEDEIROS

**ABORDAGEM ECOTOXICOLÓGICA PARA AVALIAÇÃO DE REATORES
ANAERÓBIOS COM MEIO SUPORTE E COM MICRORGANISMOS EFICIENTES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 25 de fevereiro de 2019.



Renata de Oliveira Pereira



André Pereira Rosa



Ann Honor Munteer
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Engenharia Civil e ao Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental, que permitiram a realização desta pesquisa.

Às agências CNPq, CAPES e Fapemig, pelo apoio financeiro na concessão da bolsa e pelos aparatos para execução desta pesquisa.

Aos servidores do LESA, Agostinho e Geraldo Magela pelo auxílio nas coletas, montagem do experimento e companheirismo. Ao Marcelo, pelo auxílio com as análises ecotoxicológicas. Carlos e Emerson Guerra, secretários do laboratório por todo o serviço administrativo prestado. À Priscila Romana por todo o apoio nas análises em laboratório. Meus amigos que levarei comigo para sempre.

À professora Ann H. Mounteer pela orientação, apoio e amizade.

À minha família, pelo apoio, entendimento e motivação.

À Rebeca Nogueira, pelo companheirismo, carinho e auxílio nas rotinas de laboratório que se estenderam por muitos fins de semana.

À Bruna Tomazinho França, qual tive o prazer de dividir o experimento.

Aos estagiários Gabrielle Rosa, Fabrício e Pietro Belli pelo auxílio valiosíssimo prestado em laboratório e, sobretudo, pela amizade.

Ao Agnaldo, secretário de meio ambiente de Araponga – MG que gentilmente cedeu o lodo anaeróbio para partida dos reatores.

Ao Luis Eduardo, pela ajuda na construção dos reatores.

Em especial, à minha querida amiga Taiza Azevedo pela sincera amizade, parceria, ajuda nas análises e risadas que demos neste período.

A todos os amigos que conquistei durante o mestrado.

Aos companheiros de república Gabriel Koyro, Fábio Maia, João Pedro Cordido, Angelo Salton por dividir este período valioso comigo.

Aos membros da banca examinadora de dissertação pelas considerações.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	v
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. INTRODUÇÃO.....	4
3. METODOLOGIA.....	7
3.1. Esgoto Sanitário	7
3.2. Reatores Anaeróbios	7
3.3. Inoculação, Partida e Operação dos Reatores	8
3.4. Caracterização Físico-Química do Esgoto Tratado dos Reatores.....	9
3.5. Caracterização Ecotoxicológica dos Esgotos Tratados.....	10
3.5.1. Toxicidades aguda e crônica – <i>Ceriodaphnia dubia</i>	11
3.5.2. Toxicidade crônica – <i>Raphidocelis subcapitata</i>	11
3.6. Atividade estrogênica – Teste YES	12
3.7. Análise Estatística.....	12
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
4.1. Caracterização do Lodo de Partida	13
4.2. Desempenho Geral dos Reatores UASB, UASB (ME) e AnHR	13
4.3. Toxicidade Aguda em <i>C. dubia</i>	15
4.4. Toxicidade Crônica em <i>C. dubia</i>	17
4.5. Toxicidade Crônica em <i>R. subcapitata</i>	19
4.6. Comparação da Sensibilidade entre <i>C. dubia</i> e <i>R. subcapitata</i>	20
4.7. Atividade Estrogênica (YES).....	21
4.8. Visão Geral Sobre os Reatores Anaeróbios	24
5. CONCLUSÃO.....	26

6. REFERÊNCIAS	28
APÊNDICE A – CÁLCULO DA SENSIBILIDADE.....	36
APÊNDICE B – DADOS SUPLEMENTARES	37
APÊNDICE C – DADOS BRUTOS	41

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Fluxograma do plano experimental utilizado na pesquisa.	7
Figura 2. Esquema dos reatores anaeróbios UASB, UASB (ME) e AnHR utilizados na pesquisa.	8
Figura 3. Linha do tempo da operação dos reatores durante a pesquisa	9
Figura 4. Remoção de DQO_f nos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR nos TDHs de 12, 9 e 6h. ■ – média, x – outliers.	14
Figura 5. Unidades tóxicas aguda (UTa) em <i>C. dubia</i> do esgoto bruto e tratado nos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR durante operação com TDH = 12 h. Barras de erro representam o intervalo de confiança de 95% em torno da UTa.	16
Figura 6. Unidades tóxicas crônicas (UTc) para a reprodução de <i>C. dubia</i> , 8 dias ($CI_{25}(8d)$) nas amostras de esgoto bruto e tratado nos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR. Barras de erro representam o intervalo de confiança de 95% em torno da UTc.	18
Figura 7. Médias das unidades tóxicas crônicas (UTc) para o crescimento de <i>R. subcapitata</i> , 72 horas ($CI_{25}(72h)$) nas amostras de esgoto bruto e tratado nos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR com TDHs de 12, 9 e 6h. Letras iguais indicam nenhuma diferença entre UTc para os diferentes TDH de operação ($\alpha=0,05$).	19
Figura 8. Média da atividade estrogênica em equivalentes de 17β -estradiol (EQ-E2, $ng L^{-1}$) das amostras de esgoto bruto e tratado dos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR nos diferentes TDHs. Letras iguais indicam nenhuma diferença entre atividade estrogênica para os diferentes TDH de operação ($\alpha=0,05$).	22
Figura 9. Dendograma de similaridade do desempenho geral dos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR nos diferentes TDHs para a remoção DQO_f , toxicidade em <i>R. subcapitata</i> e atividade estrogênica.	25
Figura 10. Remoção de DQO nos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR nos TDHs de 12, 9 e 6h. ■ – média, x – outliers.	37
Figura 11. Resultados de DQO para o esgoto bruto, reatores UASB, UASB (ME) e AnHR com TDHs de 12, 9 e 6h.	37
Figura 12. Resultados de DQO_f para o esgoto bruto, reatores UASB, UASB (ME) e AnHR com TDHs de 12, 9 e 6h.	38
Figura 13. Resultados de DBO para o esgoto bruto, reatores UASB, UASB (ME) e AnHR com TDHs de 12, 9 e 6h.	38

Figura 14. Desempenho dos reatores em relação ao parâmetro de DQO com TDHs de 12, 9 e 6h. adp – adaptação.	39
Figura 15. Desempenho dos reatores em relação ao parâmetro de DQO_f com TDHs de 12, 9 e 6h.	39
Figura 16. Desempenho dos reatores em relação ao parâmetro de DBO com TDHs de 12, 9 e 6h. adp – adaptação.	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características dos lotes de esgoto bruto utilizado para alimentar os reatores anaeróbios.....	13
Tabela 2. Correlações entre a remoção de DQO e remoção de toxicidade aguda e crônica com <i>C. dubia</i> , toxicidade crônica com <i>R. subcapitata</i> e atividade estrogênica com <i>S. cerevisiae</i> para os diferentes reatores e TDHs.....	17
Tabela 3. Comparação dos valores de CI_{25} para <i>C. dubia</i> e <i>R. subcapitata</i> obtidos a partir da análise do esgoto bruto e esgoto tratado dos reatores operados com TDH de 12 h.	21
Tabela 4. Porcentagem de inibição do crescimento da levedura <i>S. cerevisiae</i> durante o teste YES nas amostras de esgoto tratado.....	23
Tabela 5. Resultados de DQO.	41
Tabela 6. Resultados de DQO_f	43
Tabela 7. Resultados de DBO.....	44
Tabela 8. Resultados de $N-NH_3$	44
Tabela 9. Resultados de toxicidade crônica e aguda em <i>C. dubia</i>	43
Tabela 10. Resultados de toxicidade crônica em <i>R. subcapitata</i>	43
Tabela 11. Resultados do teste YES.	45

RESUMO

MEDEIROS, Victor Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Abordagem ecotoxicológica para avaliação de reatores anaeróbios com meio suporte e com microrganismos eficientes.** Orientadora: Ann Honor Mounteer.

Nesta pesquisa foi avaliado o tratamento anaeróbio de efluentes sanitários em reatores UASB por meio de bioanálises ecotoxicológicas. O efluente bruto foi coletado periodicamente na rede coletora do município de Viçosa, Minas Gerais e utilizado para abastecer três diferentes reatores anaeróbios em escala de bancada e fluxo contínuo: um reator UASB convencional, um reator UASB inoculado com microrganismos eficientes e um reator anaeróbio híbrido. O tratamento foi avaliado por meio da remoção de matéria orgânica (DQO e DQO_f), toxicidade em *Ceriodaphnia dubia*, *Raphidocelis subcapitata* e atividade estrogênica pelo teste YES (*Yeast Estrogen Screen*). Os resultados demonstraram que o efluente sanitário apresentou característica de pouca biodegradabilidade, relações DBO/DQO de $0,3 \pm 0,1$ e elevadas concentrações de N-NH₃ de $57,9 \pm 24,8$ mg L⁻¹. Os reatores apresentaram forte dependência do tempo de detenção hidráulica (TDH) e o tratamento neles melhorou com a progressiva diminuição do TDH até 6h, que resultou em eficiências de remoção de DQO e DQO_f maiores que 70 e 90%, respectivamente, no reator UASB convencional, devido ao acréscimo da carga orgânica volumétrica. Todas as amostras apresentaram toxicidades remanescentes para *C. dubia* e *R. subcapitata*. Para o organismo *C. dubia*, os reatores foram ineficientes na remoção de toxicidade aguda, que foi produzida em muitas amostras. Os efeitos sobre letalidade em *C. dubia* foram relacionados com as elevadas concentrações de N-NH₃ no efluente e na ineficiência dos processos anaeróbios em remover nitrogênio. Para o efeito crônico sobre a reprodução da *C. dubia*, remoções maiores que 90% foram encontradas para todos os três reatores. Em *R. subcapitata*, foi observada variações entre remoção e produção de toxicidade e os dados sugerem que o desempenho do processo anaeróbio e as condições hidráulicas são a chave para a remoção da toxicidade neste organismo. A *R. subcapitata* foi o organismo mais sensível dentre os testados nessa pesquisa e, portanto, o mais indicado para os testes de toxicidade nesta matriz. Valores de 39,3 a 85,7 ng equivalentes de estradiol (EQ-E2) L⁻¹ foram encontrados para o efluente tratado dos reatores, com estrogenicidade produzida em todos os TDHs provavelmente devido à desconjugação dos compostos estrogênicos durante o tratamento. Nenhuma diferença estatística nas remoções de matéria orgânica, toxicidade ou estrogenicidade foi encontrada entre os reatores, sugerindo que nas condições amostradas a modificação dos

reatores pela inoculação dos microrganismos eficientes ou inserção do meio suporte não causou efeito significativo sobre o desempenho dos reatores. Para a melhor remoção de toxicidade em *R. subcapitata* indica-se a operação do reator UASB em TDH de 9 h e carga orgânica volumétrica acima de $2,5 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$.

ABSTRACT

MEDEIROS, Victor Souza, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019. **Ecotoxicological approach for the evaluation of anaerobic reactors with support medium and effective microorganisms.** Advisor: Ann Honor Mounter.

This research evaluated anaerobic sewage treatment using UASB reactors through ecotoxicological bionalyses. Raw sewage was collected periodically at the end of the sanitary sewage system in Viçosa, Minas Gerais and used to feed three different bench-scale, continuous flow anaerobic reactors: a conventional UASB reactor, a UASB reactor inoculated with effective microorganisms and a hybrid anaerobic reactor. Treatment efficiency was evaluated by means of organic matter removal (COD and CODs), toxicity to *Ceriodaphnia dubia* and *Raphidocelis subcapitata* and estrogenic activity by the YES test (*Yeast Estrogen Screen*). The results showed that raw sewage presented low biodegradability with a BOD/COD relationship of $0,3 \pm 0,1$ and high N-NH_3 concentrations of $57,9 \pm 24,8 \text{ mg L}^{-1}$. The reactors showed strong hydraulic retention time (HRT) dependence and their efficiency improved with the progressive decrease of HRT from 12 to 6 hours, achieving average COD and CODs removal efficiencies of higher than 70 and 90%, respectively, in the conventional UASB reactor due to increasing organic loading rates. All treated samples showed remaining toxicities to *C. dubia* and *R. subcapitata*. The reactors were inefficient in removing acute toxicity to *C. dubia*, with toxicity produced in many samples. The effects of lethality in *C. dubia* were related to the high concentrations of NH_3 in sewage and the inefficiency of the anaerobic processes in removing nitrogen. Greater than 90% removals of the chronic reproductive effect in *C. dubia* were found for the three reactors. In *R. subcapitata*, variations between toxicity removal and production were observed and the results suggest that anaerobic process performance might be the key to toxicity removal in this organism. *R. subcapitata* was more sensitive organism than *C. dubia* in this study and, therefore, the most suitable for the toxicity tests in this matrix. Values from 39,3 to 85,7 ng estradiol equivalents (EQ-E2) were obtained in the anaerobically treated sewage, with estrogenicity produced at all HRTs probably due to deconjugation of estrogenic compound during treatment. No statistical difference in organic matter removal, toxicity or estrogenicity was observed among the reactors, which suggests that under the conditions tested, reactor modification through effective microorganisms inoculation or insertion of a support medium does not cause significant effect on anaerobic reactor performance. For the better removal of

toxicity in *R. subcapitata* the operation of UASB reactor in HRT of 9 h and volumetric organic load above $2.5 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ is indicated.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O tratamento de esgoto vem recebendo atenção no Brasil há muitos anos por várias universidades que se esforçam em buscar avanço científico para os desafios relacionados com o desenvolvimento e implementação de novas tecnologias. Contudo, a implementação de sistemas concretos por parte do poder público ainda se faz em passos lentos. Segundo os últimos dados disponíveis referentes ao ano de 2017, apenas 43% da população é atendida por sistemas coletivos (rede coletora e estação de tratamento de esgoto – ETE) e quando se considera as soluções individuais de tratamento (fossa séptica), 55% da população brasileira possui atendimento adequado (ANA, 2017).

O tratamento difundido no Brasil baseia-se no uso de tecnologias anaeróbias, dadas as condições climáticas favoráveis à sua disseminação no território, o baixo consumo energético e demanda de área para instalação, aproveitamento da geração de biogás e características do sistema como a tolerância de elevadas cargas orgânicas, baixo consumo de nutrientes e possibilidade de preservação da biomassa sem alimentação do reator. A principal aplicação dos processos anaeróbios para o tratamento de esgoto sanitário em grandes centros urbanos se dá pelo uso de reatores anaeróbios de fluxo ascendente (RAFA) ou, como são mais conhecidos na literatura, *upflow anaerobic sludge blanket* (UASB), que no Brasil possuem raízes no Programa de Pesquisa em Saneamento Básico (PROSAB).

O reator UASB é uma tecnologia onde a biomassa cresce dispersa no meio, com formação de pequenos grânulos pela aglutinação de diversas espécies de microrganismos. O líquido flui pelo reator de modo ascendente e promove o contato entre a matéria orgânica e a biomassa (von SPERLING, 2014). A funcionalidade dos reatores anaeróbios está diretamente ligada aos processos de digestão anaeróbia que é realizada por microrganismos versáteis delicadamente balanceados e que, em suma, realizam os processos de hidrólise, fermentação, acidogênese, acetogênese e metanogênese que compõem a via anaeróbica de degradação da matéria orgânica (GRADY JR *et al.*, 2011).

Apesar dos reatores UASB conseguirem alcançar a remoção de matéria orgânica e a redução da carga poluidora dos esgotos, a futura exigência ambiental circunda a remoção de compostos emergentes e toxicidade. Estes compostos classificam-se como emergentes, por causa de novas fontes, rotas de exposição aos humanos, novos métodos de detecção ou tecnologias de tratamento desenvolvidas (USEPA, 2014). Entre estes poluentes são listados diversos contaminantes como fármacos de várias classes (ex. analgésicos, antibióticos, reguladores lipídicos, anti-inflamatórios, hormônios sintéticos), substâncias utilizadas na composição de produtos de limpeza e higiene pessoal (shampoos, sabonetes, perfumes),

compostos aplicados na produção de resinas e plásticos, bem como, hormônios naturais e sintéticos (AQUINO *et al.*, 2013).

A toxicidade refere-se ao efeito tóxico dos esgotos ou poluentes específicos sobre as espécies aquáticas que serão afetadas pelo despejo em corpos hídricos receptores, objeto de estudo da ecotoxicologia, uma abordagem que utiliza da base conceitual da toxicologia clássica, tal qual não admite efeitos tóxicos dos poluentes ao indivíduo, o homem (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006), o qual só pode ser protegido quando toda o meio ambiente também está protegido (NEWMAN, 2010).

Em relação aos poluentes emergentes, diversos autores reportaram a ocorrência desses contaminantes no ambiente, inclusive no Brasil, bem como a remoção em estações de tratamento de esgoto e o risco ambiental envolvido na presença destes contaminantes (MARTÍN *et al.*, 2012; BRANDT *et al.*, 2013; PESSOA *et al.*, 2014; GRILL *et al.*, 2018). Especial atenção deve ser dada aos desreguladores endócrinos (DE), um grupo de substâncias químicas, naturais ou sintéticas, com potencial de causar efeitos adversos à saúde de um organismo ou sua descendência, como um resultado de distúrbios na função hormonal (LANDRIGAN *et al.*, 2003). Os DE podem apresentar potencial estrogênico de várias ordens de magnitude e interações sinérgicas e, ou antagônicas entre DE e os componentes da matriz, podem resultar em uma rede de efeitos agonistas em diferentes níveis baseados em modelo de concentração-adição (RAJAPAKSE *et al.*, 2002). Não há um único mecanismo que explique a ação dos DE, pois pertencem a diversas classes. A manifestação clínica depende da substância, dose, duração, via de exposição e período do desenvolvimento do organismo ao qual foi exposta (ALVES *et al.*, 2007). Os efeitos estão associados a reprodução, feminização, imunologia, desenvolvimento de câncer e doenças por disfunções hormonais muito bem descritas por Bila e Dezotti (2007) em revisão bibliográfica.

Devido às dificuldades em se quantificar DE nas amostras ambientais, alguns autores sugerem o estudo da resposta estrogênica em organismos sensíveis (*in vivo*), como o teste YES (*Yeast Estrogen Screen*) um dos mais utilizados, no qual se compara o efeito da interação de uma levedura modificada geneticamente com uma curva padrão concentração-resposta de 17 β -estradiol (ROUTLEDGE e SUMPTER, 1996; SPINA *et al.*, 2015; CZERNYCH *et al.*, 2017; PLAHUTA *et al.*, 2017). Esta ferramenta, por ser mais rápida e fácil que a quantificação com técnicas de química analítica, permite uma abordagem mais dinâmica para estudos de longa duração e de matrizes que contenham inúmeros desreguladores endócrinos, como o esgoto.

Nos reatores anaeróbios, a remoção dos compostos que causam atividade estrogênica está relacionada à conversão das moléculas e à sorção na matriz sólida, os grânulos formados nos reatores (HAMID e ESKICIOGLU, 2013; MONSALVO *et al.*, 2014).

Os estudos ecotoxicológicos em estações de tratamento de esgoto visam a complementação rotineira das análises de caracterização de esgotos, a partir da verificação das condições de lançamento segundo portarias e resoluções locais, risco ambiental de contaminantes e requerimentos de níveis de tratamento mais restritos. Todas as possibilidades de se trabalhar com processo *in vivo* através da ecotoxicologia somente são possíveis devido aos vários testes existentes e as respostas que podem ser medidas (*endpoints*) (XIAO *et al.*, 2015).

A avaliação ecotoxicológica de esgoto, apesar de não ser difundida, está prevista na resolução CONAMA 430/2011, que cita que o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeito tóxico ao corpo receptor em pelo menos dois níveis tróficos, além de apresentar outras diretrizes de diluição no corpo receptor na ausência de critérios ecotoxicológico. Para lançamentos em corpos de água classe 1 e 2 a concentração no corpo receptor (CECR) deve ser menor ou igual ao valor da concentração letal mediana (CL50) dividida por 10 ou menor que a concentração de efeito não observado (CENO), e em corpos de água classe 3, águas salinas e salobras classe 2 a CECR deve ser menor ou igual a CL50 dividida por 3 (BRASIL, 2011). Assim, a eficiência do tratamento requerida será atingida quando o efluente não for mais tóxico; via de regra, esta exigência é mais rigorosa que os padrões de DQO e DBO, o que resulta em um tratamento muito mais eficiente e desejável.

A presente dissertação constitui-se de um artigo científico que será traduzido e posteriormente submetido a periódico internacional (*Journal of Environmental Management, Bioresource Technology ou Chemosphere*). Este trabalho apresentou como proposta a avaliação da toxicidade de esgotos tratados em reatores anaeróbios tipo UASB com modificação estrutural e microbiológica, além da verificação entre a relação do tempo de detenção hidráulica (TDH) com a eficiência de remoção de toxicidade e atividade estrogênica.

2. INTRODUÇÃO

Em regiões tropicais, nos países em desenvolvimento e em pequenas e médias comunidades as tecnologias de tratamento anaeróbio de esgoto sanitário, especificamente os reatores UASB, se destacam nos aspectos econômicos e operacionais. No Brasil os reatores anaeróbios são umas das tecnologias mais utilizadas, presentes em 39,4% (1047 de 2657 unidades) das estações de tratamento de esgoto municipais (ETEs), que utilizam estas tecnologias como primeiro estágio do tratamento ou principal forma do tratamento, predominante nas regiões Nordeste, Sul e Centro-Oeste do país (ANA, 2017).

Por muito tempo as ETEs foram projetadas para a remoção da carga orgânica e, em alguns casos, para a remoção de nutrientes e patógenos, embora haja o aparecimento de novos compostos de preocupação ambiental, sendo as ETEs a grande fonte de introdução destes compostos no meio ambiente (BRANDT *et al.*, 2013; ALVARINO *et al.*, 2016; ČELIĆ, *et al.*, 2019). Neste sentido, a remoção em condições anaeróbias de diversas substâncias denominadas como contaminantes emergentes como fármacos, agentes de limpeza, substâncias derivadas dos plásticos, retardantes de chamas, produtos de higiene pessoal, nanopartículas e hormônios naturais ou sintéticos têm sido reportada, apesar de não ser um processo trivial o monitoramento desses compostos nas ETEs (MULLER *et al.*, 2010; STASINAKIS, 2012; NOGUERA-OVIEDO e AGA, 2016).

Dessa forma, o uso de análises ecotoxicológicas para o monitoramento do tratamento se torna uma forma holística de avaliar os esgotos, por permitir avaliar a toxicidade combinada de múltiplos poluentes e, ou os efeitos tóxicos de compostos químicos desconhecidos ou de difícil quantificação (ZHANG *et al.*, 2015). Esta abordagem também é válida para se medir atividade estrogênica do esgoto, provocada por substâncias como hormônios naturais e sintéticos através do teste YES (*Yeast Estrogen Screen*). A remoção de compostos como a estrona (E1), 17 β -estradiol (E2), 17 α -etinilestradio (EE2) em reator UASB pode chegar até 60% (ALVARINO *et al.*, 2014), embora se saiba que parte desta remoção está relacionada com a conversão dos hormônios para outras formas. Então, o teste YES permite avaliar também o efeito dos subprodutos da degradação, os quais podem apresentar atividade estrogênica muito maior que o composto primário.

Os reatores anaeróbios apresentam uma ampla faixa de eficiência de remoção da demanda bioquímica (DBO) e química (DQO) de oxigênio, na ordem de 61 a 86,6% e 32 a 85%, respectivamente, dependente de fatores como tempo de detenção hidráulica (TDH), tempo de retenção de sólidos (TRS), carga orgânica aplicada, temperatura e a características do esgoto sanitário (MAHMOUD, 2008; KHAN *et al.*, 2015; OKUBO *et al.*, 2015; RIZVI *et al.*,

2015). A eficiência e resposta de reatores UASB quanto à remoção de toxicidade ainda não é bem descrita, embora se saiba que esses são ineficientes na remoção de toxicidade aguda e crônica e que a digestão anaeróbia pode elevar a toxicidade em aproximadamente 5 uT em *Ceriodaphnia dubia*, 2,5 uT em *Allivibrio fischeri* e 1,3 uT em *Danio rerio*, o que depende do organismo teste utilizado (DÜPONT e LOBO, 2012; DENG *et al.*, 2017;).

Uma forma de melhorar os reatores anaeróbios diz respeito à inserção de meio suporte interno ao reator, uma união entre o UASB e filtros anaeróbios, que forma os reatores anaeróbios híbridos (AnHR). Esta tecnologia foi introduzida por Guiot e van de Berg (1985) e apresenta como características por sua configuração híbrida a maior acumulação de sólidos, menor perda de biomassa, resistência a choques hidráulicos, menor período de partida e o desenvolvimento do biofilme que aumenta a remoção da matéria orgânica e pode corresponder por até 7,5% da eficiência de remoção de DQO (GRANDHI *et al.*, 2011; RAMAKRISHNAN e SURAMPALLI, 2012; CHATTERJEE *et al.*, 2016; ZINATIZADEH *et al.*, 2017).

Outra abordagem de melhoria nos UASB poderia resultar da aplicação de microrganismos eficientes, tecnologia desenvolvida por Higa e Chinen (1998), na Universidade de Ryukyus, Okinawa, Japão. Os microrganismos eficientes são microrganismos fermentadores que podem melhorar a acidogênese do reator e o desenvolvimento de grânulos, devido à produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) (SHEN *et al.*, 1993). A aplicação dessa tecnologia no tratamento de esgoto já foi previamente descrita em meio anaeróbio por Priya *et al.* (2015) que observaram o menor período necessário para partida do reator inoculado com microrganismos eficientes (120 dias) quando comparado ao reator testemunha (150 dias) e acréscimo de 12 % na remoção de DQO.

Frente aos novos desafios de eliminação de compostos emergentes e da necessidade de se obter um efluente com qualidade suficiente para fornecer o menor risco ambiental possível, o uso de reatores anaeróbios para o tratamento de esgoto sanitário necessita ser investigado de forma a se obter conhecimento de sua capacidade de eliminação de toxicidade e atividade estrogênica, principalmente por seu uso difundido mundialmente. Diante do exposto e da não existência de trabalho semelhante na literatura que investiga a remoção de toxicidade em reatores UASB com variação de condições hidráulicas, este estudo visa uma abordagem ecotoxicológica em relação à eficiência de tratamento anaeróbio de esgotos sanitários. O objetivo deste trabalho foi a verificação da remoção de atividade estrogênica e toxicidade e a relação da remoção destes com a eficiência de remoção da matéria orgânica em três reatores anaeróbios (um reator UASB convencional, um reator UASB inoculado com microrganismos

eficientes e um AnHR com meio suporte de espuma de poliuretano) em escala de bancada e diferentes TDH, no tratamento do esgoto sanitário.

3. METODOLOGIA

3.1. Esgoto Sanitário

O esgoto utilizado durante a execução deste experimento foi o esgoto sanitário gerado no município de Viçosa, MG, cidade de médio porte com 78 000 habitantes, coletado periodicamente no poço de visita do interceptor final da rede de esgoto municipal no bairro Vale do Sol. Ao longo do projeto, foram realizadas seis campanhas de coletas no ano de 2018 (04/01; 29/01; 13/04; 14/06; 28/06 e 12/07), sempre às 8 horas da manhã, em que o esgoto foi coletado com auxílio de uma bomba e transferido para galões de 50 L e então transportado para o Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Viçosa (LESA/UFV), peneirado para remoção de sólidos grosseiros e mantido sob refrigeração (4 °C) até o seu uso. Um resumo do plano experimental utilizado nesta pesquisa pode ser observado na Figura 1.

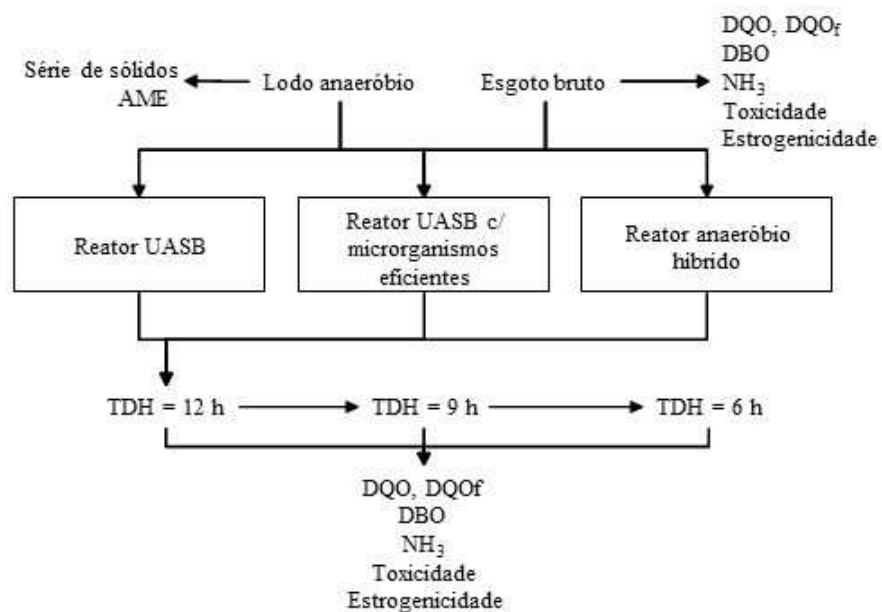


Figura 1. Fluxograma do plano experimental utilizado na pesquisa.

DQO – Demanda química de oxigênio; DQO_f – Demanda química de oxigênio filtrada; DBO – Demanda bioquímica de oxigênio; NH₃ – Amônia; AME – Atividade metanogênica específica.

3.2. Reatores Anaeróbios

Três reatores anaeróbios de fluxo ascendente em escala de bancada foram utilizados nesta pesquisa: um reator anaeróbio de fluxo ascendente (UASB), um reator anaeróbio UASB inoculado com microrganismos eficientes UASB (ME), e um reator anaeróbio híbrido (AnHR), todos confeccionados em PVC, diâmetro de 100 mm, altura útil de 39 cm e volume de 3 L

(Figura 2). O separador trifásico foi construído com politereftalato de etileno (PET) em forma de cone invertido, para reter a biomassa granular e permitir a passagem do esgoto tratado pela válvula de saída. A alimentação dos reatores em fluxo contínuo foi efetuada com o auxílio de uma bomba peristáltica (PolyCanal Provitec) que conectava os reatores ao tanque de alimentação, um galão de 50L com revolvimento mecânico, aquecimento ajustado para 34°C e abastecido diariamente com esgoto.

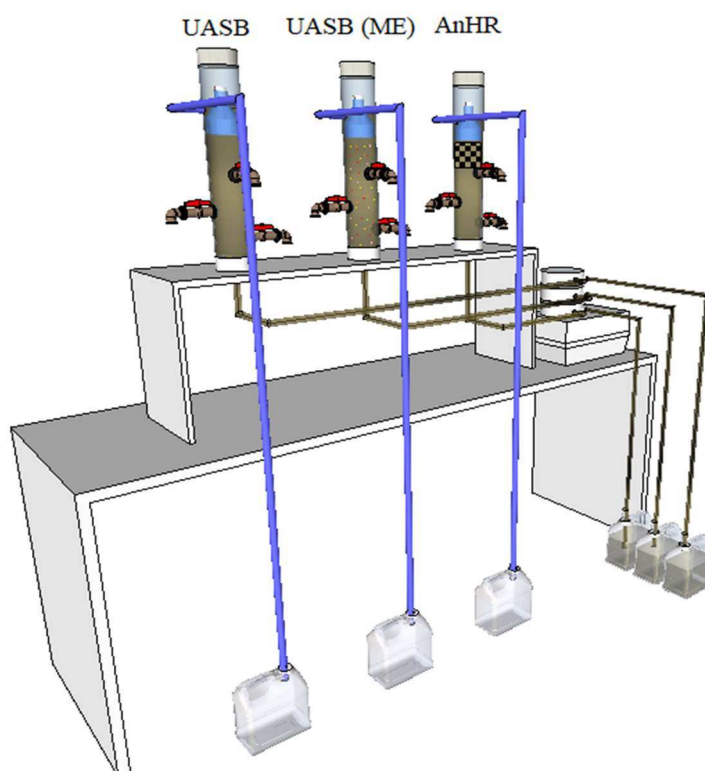


Figura 2. Esquema dos reatores anaeróbios UASB, UASB (ME) e AnHR utilizados na pesquisa.

No reator AnHR empregou-se uma camada de meio suporte de 8 cm, abaixo do sistema de separação trifásico (20% do volume total do reator) e utilizaram-se cubos de espuma de poliuretano de 2 cm de aresta, dispostos de modo aleatório sobre um suporte de tela metálica instalado para evitar o arraste da espuma através do reator.

3.3. Inoculação, Partida e Operação dos Reatores

A inoculação dos reatores foi realizada com 0,5 L de lodo anaeróbio proveniente de reator UASB em escala plena do sistema de tratamento de esgoto sanitário do município de Araponga, MG. O inóculo foi caracterizado pela quantificação dos sólidos totais (ST), voláteis (SV) e fixos (SF) e atividade metanogênica específica (AME) a 30°C, sob agitação a 100 rpm.

Registrou-se a geração de CH₄ diariamente por medição direta do volume de metano conforme Aquino *et al.* (2007), com adaptações na solução de substrato, na qual foi utilizada solução de 4,15 g L⁻¹ de glicose. O reator com microrganismos eficientes foi inoculado com a adição de 0,4 L de inóculo líquido (1:7,5 v/v) preparado pelo método apresentado por Bonfim *et al.* (2011). Para o UASB e UASB (ME), o lodo foi adicionado pela parte superior do reator, enquanto que o AnHR foi inoculado com auxílio da bomba peristáltica.

O período de partida foi efetuado ao longo de 88 dias em regime de batelada, onde 1/3 do volume de cada reator era renovado diariamente. Após a estabilização da variação de DQO do esgoto tratado nos reatores, estes foram operados por 117 dias, com alteração do TDH a cada 30 dias. Entre as mudanças dos TDHs foi respeitado um período de adaptação de 3 a 5 dias antes de se iniciar a coleta de amostras para caracterização do esgoto tratado. Adotou-se nesta pesquisa a progressão entre os TDHs de 12h, 9h e 6h, controlados pela vazão de entrada dos reatores. Um esquema em linha temporal da pesquisa pode ser observado na Figura 3.



Figura 3. Linha do tempo da operação dos reatores durante a pesquisa

3.4. Caracterização Físico-Química do Esgoto Tratado dos Reatores

Os métodos utilizados para o monitoramento dos reatores estão descritos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012). Três vezes por semana realizou-se a análise de demanda química de oxigênio (DQO) e demanda química de oxigênio filtrada (DQO_f) do esgoto tratado e esgoto bruto afluente aos reatores por colorimetria (5220 D). Para análise de DQO_f, as amostras foram filtradas em membrana de 0,45 µm de porosidade. Uma vez por semana realizou-se a análise de DBO pelo método Winkler (5210 B). Semanalmente foi efetuado a análise de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) por destilação Kjeldahl e titolometria (4500-NH₃ B e C). A descrição do desempenho quanto à DQO, DBO e N-NH₃

dos reatores UASB e UASB (ME) e análise de pH do esgoto bruto foram descritas em um trabalho prévio (FRANÇA, 2018).

3.5. Caracterização Ecotoxicológica dos Esgotos Tratados

Os ensaios de toxicidade foram realizados semanalmente. Obtiveram-se quatro amostras de esgoto tratado para cada TDH (12h, 9h e 6h), utilizadas para o ensaio de toxicidade com a alga clorofícea *Raphidocelis subcapitata* e o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*. Após verificar a maior sensibilidade da *R. subcapitata*, o microcrustáceo não foi utilizado na avaliação das amostras coletadas nos TDHs de 9 e 6 h. A cada lote de coleta, uma amostra composta de esgoto bruto foi separada para caracterização e os valores dos parâmetros utilizados para comparação com as amostras compostas de esgotos tratados. Amostras foram coletadas em recipientes plásticos de 5 L e preservadas sob condições de congelamento (-20 °C), assim como as amostras de esgoto bruto.

Os resultados para toxicidade crônica foram medidos na forma da concentração de inibição a 25% da reprodução em 8 dias de exposição ($CI_{25}(8d)$) para *C. dubia* e da concentração de inibição do crescimento algáceo a 25% em 72 h de exposição ($CI_{25}(72h)$) para *R. subcapitata*. O efeito agudo em *C. dubia* também foi mensurado e expresso na forma da concentração de efeito a 50% da população após 48 h de exposição ($CE_{50}(48h)$). Para facilitar a compreensão dos resultados, estes foram transformados e expressos na forma de unidades tóxicas agudas ou crônicas (UTa ou UTc) (equações 1 e 2) que também foram utilizadas para estimar a eficiência de remoção de toxicidade pelos reatores. Os resultados em UT foram classificados em cinco classes conforme Persoone *et al.* (2003): classe I ($UT < 0,4$) – sem toxicidade aguda/crônica; classe II ($0,4 < UT < 1$) – toxicidade levemente aguda/crônica; classe III ($1 < UT < 10$) – toxicidade aguda/crônica; classe IV ($10 < UT < 100$) – toxicidade aguda/crônica alta e classe V ($UT > 100$) – toxicidade aguda/crônica extremamente alta. Os resultados foram calculados com o auxílio do *software Comprehensive Environmental Toxicity Information SystemTM* (CETIS) (TIDEPOOL, 2018).

$$UTa = \frac{100}{CE_{50}(48h)} \quad (1)$$

$$UTc = \frac{100}{CI_{25}(8d)} \text{ ou } \frac{100}{CI_{25}(72h)} \quad (2)$$

Para comparação de sensibilidade entre a *C. dubia* e *R. subcapitata* foi utilizada a metodologia apresentada por USEPA (1985) que utiliza os intervalos de confiança obtidos para os *endpoints* calculados dos testes (Apêndice A). A metodologia foi modificada para o uso da $CI_{25}(I)$ dos organismos.

3.5.1. Toxicidades aguda e crônica – *Ceriodaphnia dubia*

O teste de toxicidade com *C. dubia* foi realizado conforme a norma NBR 13373 (ABNT, 2017; 2010). Brevemente, essa análise foi realizada pela exposição dos organismos jovens com 6 a 24 horas de idade a diluições seriadas (6,25; 12,5; 25; 50 e 100%) do esgoto por um período de 8 dias, com 10 réplicas contendo um organismo e 15 mL de solução, em regime semiestático, temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, renovação do meio a cada 72 horas e alimentação diária. A cada renovação das soluções-testes foram quantificados o número de indivíduos fêmeas adultas sobreviventes e neonatos produzidos e, logo, fez-se a transferência dos organismos adultos para novos frascos. O efeito agudo foi mensurado pela quantificação dos organismos sobreviventes após um período de exposição de 48h. Cada teste foi comparado com um controle, composto de organismos mantidos em água de cultivo sob as mesmas condições dos testes.

3.5.2. Toxicidade crônica – *Raphidocelis subcapitata*

Os ensaios de toxicidade crônica foram realizados com *R. subcapitata* de acordo com as recomendações e procedimentos descritos na NBR 12648 (ABNT, 2018), para as amostras de esgoto bruto e tratado. Utilizou-se meio líquido L.C. Oligo e comparou-se a inibição do crescimento algáceo das amostras com o controle.

Os testes foram realizados em triplicata em erlenmeyers de 250 mL com 100 mL da solução-teste, constituída do meio L.C. Oligo, inóculo (10^4 células mL^{-1} de algas) e amostra (diluições seriadas de 6,25; 12,5; 25; 50 e 100%). Os erlenmeyers foram vedados com uma rolha de algodão e revestidos com papel alumínio. Os testes foram montados em condições assépticas (bico de Bunsen e cabine de fluxo laminar).

O ensaio foi executado em mesa agitadora, temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, intensidade luminosa de 4500 lux e agitação de 102 ± 2 rpm, durante 72 h. Após este período de exposição, a densidade celular foi estimada por contagem em câmara de Neubauer espelhada com auxílio de um microscópio óptico (Olympus IX51). Foram tomados todos os cuidados necessários para realização dos testes e admitiu-se um coeficiente de variação de 30% no controle.

3.6. Atividade estrogênica – Teste YES

A linhagem de levedura de *Saccharomyces cerevisiae* modificada geneticamente, que contém o gene de receptor de estrogênio humano foi usada para se quantificar a atividade estrogênica. Empregou-se a metodologia do teste YES conforme Routledge e Sumpter (1996) com adaptações de Bila *et al.* (2007). A extração e concentração das amostras de esgoto foi feita em cartuchos C₁₈ de 500 mg com capacidade de 6 mL (Agela Technologies e Applied Separations), em manifold acoplado com bomba de vácuo e vazão ajustada para 10 mL/min. Foram extraídos 100 mL para as amostras de esgoto bruto e 200 mL para as amostras de esgoto tratado. As análises do ensaio YES foram realizadas em placas de 96 poços, preparadas em condições assépticas dentro de uma cabine de fluxo laminar. O teste foi construído por fileiras para cada amostra, brancos, curvas de 17 β -estradiol e sucessivas diluições (1:2) para o preparo das curvas. As diluições finais forneceram concentrações de 17 β -estradiol na curva padrão na faixa de 26,61 ng L⁻¹ a 54,48 μ g L⁻¹. O equivalente em estradiol (EQ-E2) foi determinado pela comparação da resposta obtida da degradação do *Chlorophenol red- β -D-galactopyranoside* (CPRG) na fileira contendo as diluições da amostra com a resposta da curva padrão. O limite de detecção do teste foi estimado em 1,0 \pm 0,2 ng L⁻¹ e a CE₅₀ em 0,22 μ g L⁻¹.

3.7. Análise Estatística

Para verificar as diferenças estatísticas entre os reatores em relação à remoção de DQO_f, toxicidade, atividade estrogênica e inibição do crescimento da *S. cerevisiae* foi empregada a análise de variância (ANOVA) e teste *post hoc* de Tukey ($\alpha=0,05$). Os dados de eficiência de remoção de DQO e DQO_f ao longo da operação nos três TDHs foram organizados em boxplot pelo método de outliers (coeficiente = 1,5). A relação entre as remoções de DQO e remoções de toxicidade e estrogenicidade foi realizada pela análise de correlação linear de Pearson após teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Correlações lineares de Pearson também foram utilizadas entre os dados de toxicidade aguda e NH₃. Para comparar a sensibilidade de *C. dubia* e *R. subcapitata* foi aplicada o teste de Kruskal-Wallis após o teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($\alpha=0,05$). Além disso, foi efetuado uma análise multivariada de agrupamento pelo método de ligação médio e distância euclidiana, com a média de remoção de DQO_f, toxicidade em *R. subcapitata* e atividade estrogênica, a fim de se compreender o comportamento dos reatores como um todo. As análises estatísticas foram executadas por meio da plataforma e linguagem R (R CORE TEAM, 2017) e Minitab 17 (MINITAB INC., 2016). Todos os gráficos foram produzidos com o software Origin PRO 8.5 (ORIGINLAB, 2010).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização do Lodo de Partida

O lodo para partida dos reatores apresentou teores de sólidos totais de $115 \pm 6 \text{ g L}^{-1}$, fixos (SF) de $60,6 \pm 4,1 \text{ g L}^{-1}$ e voláteis (SV) de $54,5 \pm 3,3 \text{ g L}^{-1}$, com 47,35% de conteúdo volátil. A AME foi de $24,61 \text{ mL CH}_4 \text{ gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ e $0,065 \text{ g DQO gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Estes valores foram ligeiramente mais baixos, mas similares a resultados apresentados na literatura para processos anaeróbios que variam de 30 a $320 \text{ mL CH}_4 \text{ gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (INCE *et al.*, 1995; KHAN *et al.*, 2015). O lodo utilizado para a partida dos reatores pode ser definido como um lodo típico e viável para promover a degradação dos esgotos sanitários utilizados durante o estudo.

4.2. Desempenho Geral dos Reatores UASB, UASB (ME) e AnHR

Os lotes de esgoto sanitário coletados para alimentar os reatores anaeróbios apresentavam características variáveis, mas sempre com baixa fração orgânica biodegradável e elevadas concentrações de N-NH₃ (Tabela 1). Estas características não típicas quando comparadas aos valores da literatura nacional (von SPERLING, 2014) devem-se, possivelmente, a contribuições provenientes de fontes não residências ligadas à rede coletora e afastadora dos esgotos do município.

Tabela 1. Características dos lotes de esgoto bruto utilizado para alimentar os reatores anaeróbios

Parâmetro	Média \pm dp (n)	Máximo	Mínimo	Valores da literatura**	
				Faixa	Típico
DQO (mg L ⁻¹)	625 \pm 197 (59)	1184	267	450 – 800	600
DBO (mg L ⁻¹)	214 \pm 70,2 (17)	353	104	250 - 400	300
DBO/DQO	0,3 \pm 0,1 (17)	0,5	0,2	0,42 – 0,58	0,5
pH*	7,0 \pm 0,2 (39)	7,2	6,7	6,7 – 8,0	7,0
N-NH ₃ (mg L ⁻¹)	57,9 \pm 24,8 (16)	102,1	17,4	20 - 35	25

n = número de análises; * França (2018); ** von Sperling (2014).

Foram obtidas remoções médias maiores que 90% para DQO_f e 70% para DQO (Figuras 4 e 10, Apêndice A). Durante todo o estudo foi observada uma dinâmica do aumento da eficiência de remoção de DQO_f para UASB e UASB (ME) e a diminuição da variabilidade dos resultados de eficiência (amplitude dos boxplots) com a progressiva redução do TDH, que evidenciou uma possível adaptação ao longo do tempo. Para os TDH de 12h, 9h e 6h as eficiências médias de DQO_f para UASB foram 79,6%, 82,7% e 92,4%, respectivamente, do reator UASB (ME) foram na ordem de 81%, 83,8% e 91,8% e as remoções pelo AnHR foram

de 84,9%, 85,9% e 88,8% (dados suplementares sobre a concentração das variáveis mensuradas no esgoto tratado em cada reator e bruto ao longo do período operacional, bem como suas respectivas remoções podem ser consultadas nos Apêndices B e C).

Os resultados alcançados durante a operação dos reatores são semelhantes a remoções de DQO apresentadas na literatura para tratamento anaeróbio de esgoto doméstico. Okubo *et al.* (2015) reportaram remoção de $56 \pm 14\%$ para DQO no tratamento de esgoto municipal com TDH de 13h. Dias *et al.* (2017) apresentaram remoções de 62,8% para DQO em reator UASB com TDH de 7h. Ribeiro e Silva (2018) encontraram eficiência média de remoção de 71% para DQO no tratamento de esgoto sanitário em UASB em escala real operado com TDH de 9,22h.

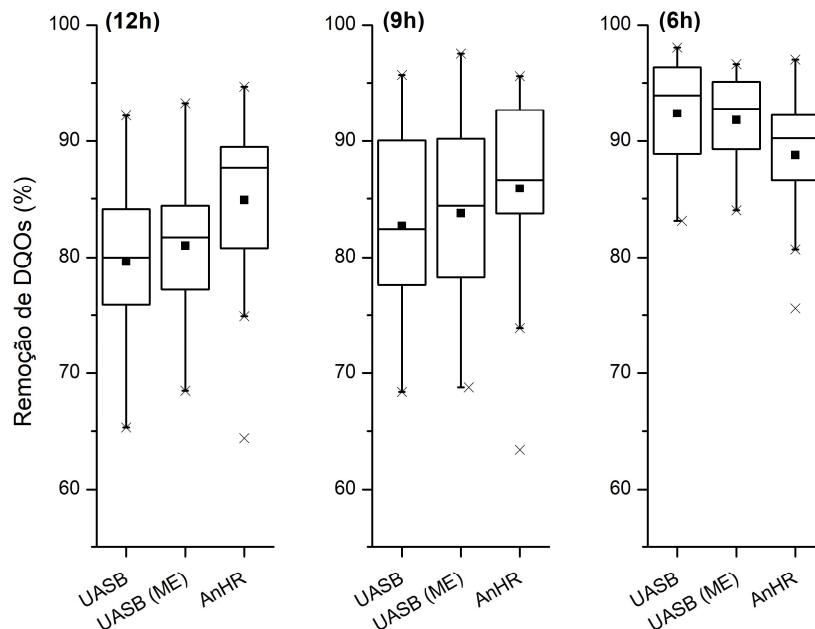


Figura 4. Remoção de DQO_f nos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR nos TDHs de 12, 9 e 6h. ■ – média, x – outliers.

O AnHR apresentou os melhores resultados durante a operação nos TDHs de 12h e 9h. Estes resultados podem estar relacionados com a conformação estrutural do reator que promove partida mais rápida devido à acumulação de sólidos e a remoção adicional de DQO ligadas ao biofilme (ZINATIZADEH *et al.*, 2017). De acordo com Teixeira *et al.* (2009), a hibridização do sistema não beneficia sobremaneira a remoção de DQO_{total} do reator, apenas diminui a perda de SST no esgoto tratado. Durante o TDH de 6 h foi observado contínuas perdas de sólidos que podem estar associadas à desagregação hidrodinâmica dos grânulos aprisionados no filtro e acúmulo de gordura no reator que culminaram na depreciação do esgoto tratado, demonstrado pela comparação das análises de DQO_f e DQO (Figuras 4 e 10, Apêndice A).

O TDH foi o fator significativo para o desempenho dos reatores quanto à remoção de DQO_f ($p < 0,01$), e destacou-se o TDH de 6 h como a melhor condição, devido ao aumento da velocidade ascensional e a carga orgânica volumétrica (COV) aplicada aos reatores durante este período.

O acréscimo da velocidade ascensional aumenta a transferência de massa entre a manta de lodo e o esgoto, importante fator para esgotos com baixa biodegradabilidade e, além disso, contribui para a liberação de bolhas de gás (DEL NERY *et al.*, 2018; REINO e CARRERA, 2017). A COV aplicada influencia os reatores anaeróbios por fornecer substrato suficiente para a grande quantidade de biomassa interna aos reatores e, para o melhor funcionamento dos reatores UASB, são indicadas COVs de 2,5 a 3,5 kgDQO $m^{-3}d^{-1}$ (CHERNICHARO, 2007). Em média, as COVs aplicadas durante o experimento foram 1,36, 1,43 e 2,62 kg DQO $m^{-3}d^{-1}$ para os TDHs de 12h, 9h e 6h, respectivamente. Resultados similares para melhoramento do tratamento anaeróbio com o decréscimo do TDH e consequente elevação da COV foram apresentados por Kundu *et al.* (2013).

Apesar dos resultados alcançados, uma das características dos sistemas anaeróbios é a necessidade de uma etapa adicional de tratamento para atendimento das legislações pertinentes, seja esta para o cumprimento da remoção de matéria orgânica, patógenos ou nutrientes, uma preocupação do esgoto utilizado que apresentou concentrações de N-NH₃ de $57,9 \pm 24,8$ mg L⁻¹. No todo, as modificações nos reatores pela inoculação de microrganismos eficientes e a inserção do meio suporte não afetaram significativamente a eficiência do tratamento. Deste modo, as contribuições destas alterações não levaram ao melhor desempenho dos reatores e outros parâmetros devem ser investigados durante maior período de operação para confirmar ou não a ineficácia dessas modificações.

4.3. Toxicidade Aguda em *C. dubia*

Da segunda à quarta semana de operação dos reatores com TDH de 12 h, a toxicidade aguda dos esgotos tratados variou entre 1,41 e 2,45 UTa (Figura 5), que os classifica na classe III, esgoto com efeito agudo (PERSOONE, 2003). Uma redução de 0,2 UTa foi obtida no esgoto tratado pelo reator UASB na segunda semana, mas o aumento da toxicidade em até 0,8 UTa foi observado nos esgotos tratados pelos reatores nas demais semanas de operação. Estes resultados desmonstraram a incapacidade destes sistemas em remover toxicidade aguda, uma vez que o esgoto tratado não pode ser agudamente tóxico, para garantir que após a introdução deste material no corpo receptor, este não venha a apresentar efeito tóxico aos organismos aquáticos (BRASIL, 2011).

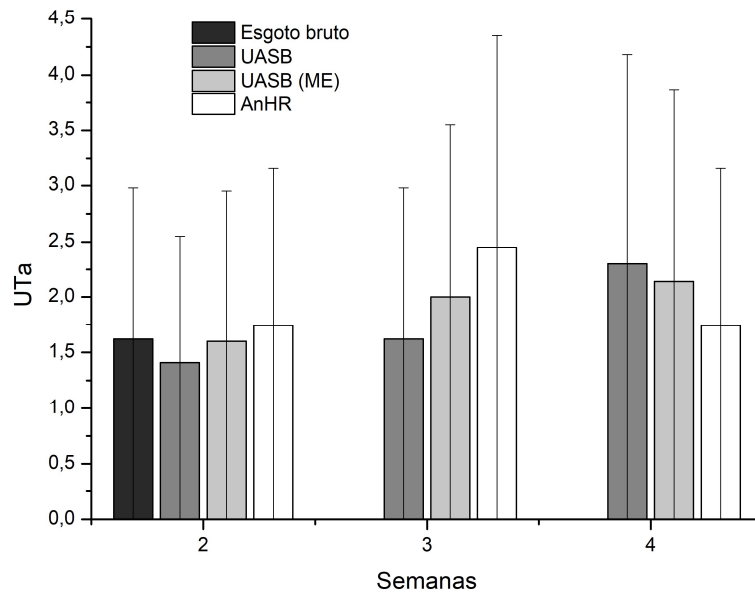


Figura 5. Unidades tóxicas aguda (UTA) em *C. dubia* do esgoto bruto e tratado nos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR durante operação com TDH = 12 h. Barras de erro representam o intervalo de confiança de 95% em torno da UTA.

A toxicidade aguda nos esgotos tratados pode estar vinculada com a concentração de amônia (NH_3) presente no esgoto. Os sistemas anaeróbios são ineficientes quanto à remoção desse elemento e a relação da toxicidade com a concentração de nitrogênio já foi reportada (ADAMSSON *et al.*, 1998; HORN *et al.*, 2014). Mangas-Ramírez e Nandini (2002) apresentaram que o acréscimo de 10 a 40 mg de $\text{NH}_3 \text{ L}^{-1}$ levou ao declínio da densidade de indivíduos de *C. dubia* e Andersen e Buckley (1998) apresentaram que a $\text{CE}_{50}(48\text{h})$ de NH_3 para *C. dubia* foi 1,18 mg $\text{NH}_3 \text{ L}^{-1}$. As concentrações de amônia nos esgotos tratados pelos reatores foram de 35,9 a 72,8 mg $\text{NH}_3 \text{ L}^{-1}$ (Apêndice C, Tabela 8), sempre superiores a $\text{CE}_{50}(48\text{h})$ e capazes de causar toxicidade aguda nestas amostras conforme correlações lineares obtidas entre a toxicidade aguda e concentração de NH_3 no esgoto tratado pelo reator UASB, UASB (ME) e AnHR de 0,711, 0,978 e 0,536, respectivamente.

A toxicidade aguda também pode ser relacionada com a DQO (EREMEKTAR *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2013, DENG *et al.*, 2017) e o remanescente desta pode causar toxicidade no esgoto tratado devido à presença de substâncias tóxicas residuais. As correlações negativas encontradas entre a remoção de toxicidade e a remoção de DQO (Tabela 2) sugerem que para estas amostras a eliminação da matéria orgânica não esteve vinculada à remoção de toxicidade.

Este efeito pode estar relacionado com a liberação da amônia durante a degradação da matéria orgânica que provocou o aumento na toxicidade do esgoto tratado.

Tabela 2. Correlações entre a remoção de DQO e remoção de toxicidade aguda e crônica com *C. dubia*, toxicidade crônica com *R. subcapitata* e atividade estrogênica com *S. cerevisiae* para os diferentes reatores e TDHs.

Organismo	Endpoint	TDH (h)	Coeficiente de correlação linear de Pearson (p-valor)		
			UASB	UASB (ME)	AnHR
<i>C. dubia</i>	UTa (CE ₅₀ (48h))	12	-0,816 (0,393)	-0,996 (0,058)	-0,467 (0,691)
	UTc (CI ₂₅ (8d))	12	-0,779 (0,221)	-0,753 (0,247)	-0,740 (0,260)
<i>R. subcapitata</i>		12	-0,966 (0,034)	-0,724 (0,276)	-0,648 (0,352)
	UTc (CI ₂₅ (h))	9	-0,715 (0,285)	-0,178 (0,822)	0,157 (0,843)
		6	0,717 (0,283)	0,841 (0,159)	-0,596 (0,404)
<i>S. cerevisiae</i>	Atividade	12	0,55 (0,45)	0,172 (0,828)	0,069 (0,931)
	estrogênica	9	0,967 (0,033)	0,556 (0,444)	0,08 (0,92)
	ng EQ-E2 L ⁻¹	6	0,189 (0,811)	0,599 (0,401)	-0,647 (0,353)

4.4. Toxicidade Crônica em *C. dubia*

Remoções superiores a 90% do efeito crônico sobre a reprodução de *C. dubia* foram obtidas por todos os reatores após a segunda semana de operação em TDH de 12h (Figura 6). Porém, todas as amostras de esgoto tratado apresentaram efeito crônico remanescente ($1 < UT < 10$), que mostrou a incapacidade destes reatores em produzir um esgoto tratado não tóxico. A toxicidade crônica sobre a reprodução encontrada nesta pesquisa foi menor do que a encontrada por Düpont e Lobo (2012) que alcançaram reduções insignificantes de toxicidade do esgoto tratado em reatores anaeróbios.

Em geral, os esgotos tratados dos reatores apresentaram efeito tóxico crônico maior para a reprodução do que para sobrevivência, por ser um efeito mais sensível. A alteração das características em multigerções foi demonstrado por Bal *et al.* (2017) para a exposição contínua de gerações de *C. dubia* à agentes tóxicos que resultou no aumento do tempo para primeira reprodução, diminuição do número de neonatos, inibição da reprodução e mortalidade que pode resultar na extinção da espécie. Os efeitos crônicos observados nos esgotos tratados dos reatores anaeróbios podem ocasionar sérios danos ao ambiente, não só pelos efeitos diretos das substâncias, mas pelos múltiplos efeitos tóxicos em diferentes níveis tróficos (HRUBIK *et al.*, 2016).

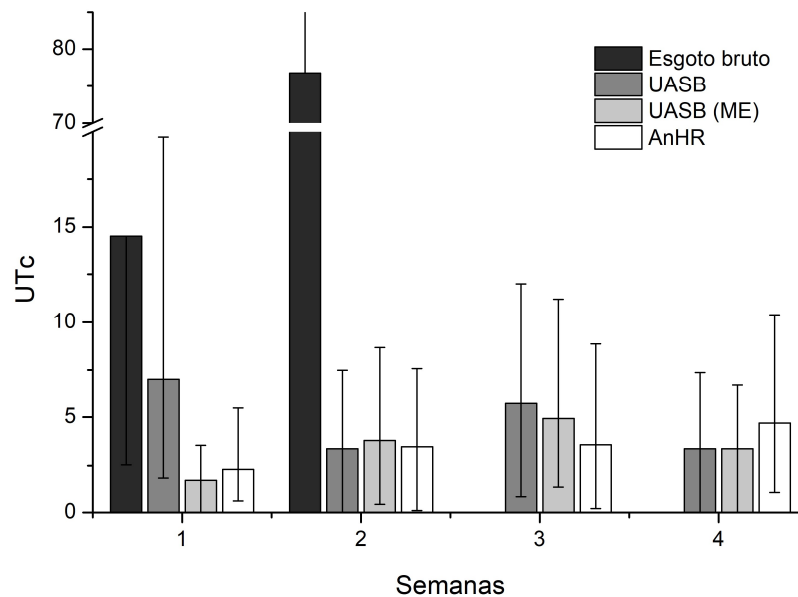


Figura 6. Unidades tóxicas crônicas (UTC) para a reprodução de *C. dubia*, 8 dias ($CI_{25}(8d)$) nas amostras de esgoto bruto e tratado nos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR. Barras de erro representam o intervalo de confiança de 95% em torno da UTC.

Estatisticamente, os reatores não se diferiram quanto à toxicidade aguda ou crônica do esgoto ou sua remoção ($p > 0,05$) e nas condições testadas, o principal fator responsável pela remoção de toxicidade em *C. dubia* não foi diretamente relacionada com a eficiência do sistema (Tabela 2). Resultados de correlações similares entre DQO e toxicidade foram reportados por Guerra (2001) para o teste Microtox e os organismos *Daphnia magna*, *Brachionus plicatilis* e *Artemia salina*. Apesar de terem sido realizadas duas coletas de esgoto durante a condição de TDH igual a 12h, os reatores demonstraram constância na toxicidade do esgoto tratado, mesmo para lotes do esgoto bruto com toxicidades diferentes (Figura 6).

Nesses reatores, a remoção de toxicidade pode ser relacionada com três fatores base que são a biodegradação, biotransformação e sorção na fase sólida. Apesar das correlações sugerirem que a remoção de toxicidade em *C. dubia* não estava diretamente ligado com a remoção de DQO, a biodegradação do esgoto possui papel sobre a toxicidade remanescente, visto que quando esta ocorre parcialmente ou incompletamente, a mudança na conformação estrutural de muitos compostos (biotransformação) pode levar a alterações na toxicidade. Contudo, nos processos anaeróbios a presença e abundância de microrganismos aptos a degradação de micropoluentes ou agentes tóxicos é um fator decisivo para a remoção destes compostos (STASINAKIS, 2012).

A via de sorção refere-se à transferência entre fases, na qual uma substância em fase fluida (líquida ou gasosa) associa-se a uma fase sólida ou líquida, que promove a remoção de toxicidade do esgoto e a transferência desta para o lodo. Resultados de toxicidade em lodo anaeróbio foram previamente reportados na literatura sugerindo que há redução da toxicidade com a estabilização do lodo e que lodos sem digestão ou digeridos anaerobiamente são mais tóxicos, devido à liberação de amônia, compostos orgânicos não polares sorvidos na matriz, metais e a degradação parcial de poluentes orgânicos (FUENTES *et al.*, 2006; RAMÍREZ *et al.*, 2008; ROIG *et al.*, 2012).

4.5. Toxicidade Crônica em *R. subcapitata*

As configurações dos reatores não afetaram a remoção de toxicidade em *R. subcapitata* (Figura 7), mas a operação dos reatores em TDH de 9 h levou à maior remoção de toxicidade, próxima a 4 UTc para todas as amostras, enquanto o TDH de 6 h levou às maiores produções de toxicidade, de 7,5 UTc e 10 UTc no UASB e AnHR, respectivamente. A toxicidade remanescente nos esgotos tratados foi classificada entre toxicidade crônica ($1 < UTc < 10$) e alta toxicidade crônica ($10 < UTc < 100$) (PERSOONE *et al.*, 2003). Pelos resultados obtidos, a remoção da toxicidade foi relacionada às condições hidráulicas e à melhora do desempenho dos reatores nestas condições, segundo as correlações lineares obtidas entre a remoção de toxicidade em *R. subcapitata* e remoção de DQO (Tabela 2).

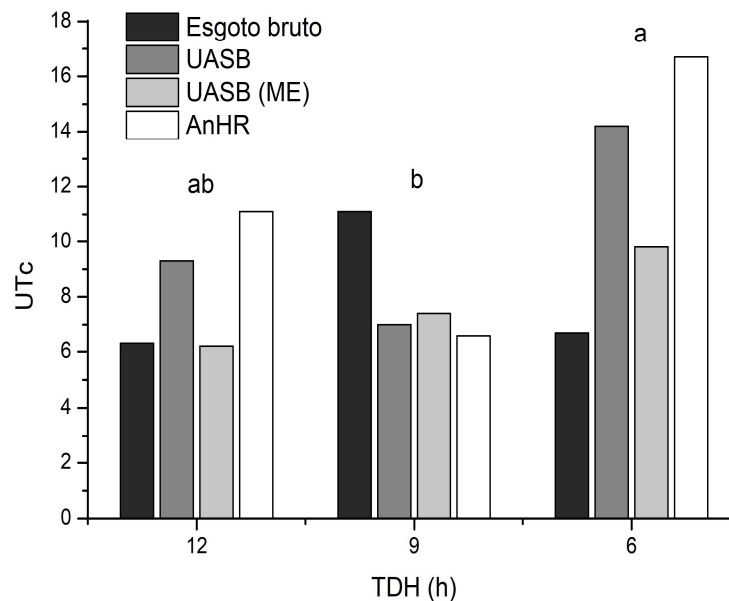


Figura 7. Médias das unidades tóxicas crônicas (UTc) para o crescimento de *R. subcapitata*, 72 horas ($CI_{25}(72h)$) nas amostras de esgoto bruto e tratado nos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR com TDHs de 12, 9 e 6h. Letras iguais indicam nenhuma diferença entre UTc para os diferentes TDH de operação ($\alpha=0,05$).

Apesar das reduções de toxicidade alcançadas, falsas remoções podem ser obtidas por estimulação do crescimento das algas (ABRAHAM *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2015; MENDONÇA *et al.*, 2013). Este efeito está associado à presença de nutrientes, principalmente nitrogênio, utilizado em sua forma preferencial pelas algas como NH_4^+ (PEREZ-GARCIAL *et al.* 2011) e fósforo, os quais não são removidos no tratamento anaeróbio convencional. A completa estimulação não foi observada neste estudo, somente nas menores diluições dos testes e pode estar relacionada à hormese (estimulação tóxica) ou devido à adição de fatores estimulantes de crescimento com o material de teste e o meio utilizado (OECD, 2006).

Assim como a remoção de toxicidade pode estar relacionada com a remoção de matéria orgânica, a produção de toxicidade também pode estar vinculada a essa. A matéria orgânica pode atuar como um fator de crescimento para algas (MAGDALENO *et al.*, 2014) e sua remoção pelo tratamento diminui o crescimento das algas no esgoto tratado. Adicionalmente, a remoção da matéria orgânica pode agir sobre os efeitos combinados em amostras mistas, exibindo efeitos antagônicos com diversos micropoluentes aos quais as algas são sensíveis, como os agentes antimicrobianos presentes em produtos de limpeza, produtos de higiene pessoal e agentes de desinfecção. Por exemplo, para o triclosan (TCS) a $\text{EC}_{50}(72\text{h})$ em *R. subcapitata* foi 5,1 (3,8-8,4) $\mu\text{g L}^{-1}$ e para o triclocarban (TCC) foi 29 (25-35) $\mu\text{g L}^{-1}$ (TAMURA *et al.*, 2013). Esses contaminantes emergentes, frequentemente encontrados em esgotos, podem atuar sobre a comunidade algal de diversas formas, mas também acumular nos lipídeos que compõem de 5 a 70% do peso seco, que resulta na transferência trófica para os níveis superiores (COOGAN *et al.*, 2007).

4.6. Comparação da Sensibilidade entre *C. dubia* e *R. subcapitata*

Na maioria das amostras analisadas, não se observou diferença na sensibilidade dos organismos *C. dubia* e *R. subcapitata* aos esgotos tratados nos três reatores com TDH de 12h (Tabela 3), pelo método da USEPA (1985). Estes resultados foram similares ao apresentado por Mansano *et al.* (2018) que determinaram que *C. dubia* e alga *R. subcapitata* apresentaram sensibilidades ao óxido de cobre (CuO) próximas a 398,1 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 3. Comparação dos valores de CI_{25} para *C. dubia* e *R. subcapitata* obtidos a partir da análise do esgoto bruto e esgoto tratado dos reatores operados com TDH de 12 h.

Sensibilidade	Ocorrência dos resultados (n = 11)
<i>R. subcapitata</i> > <i>C. dubia</i>	3
<i>C. dubia</i> > <i>R. subcapitata</i>	1
<i>C. dubia</i> = <i>R. subcapitata</i>	7

Pelo teste de Kruskal-Wallis (USEPA, 2002), as algas foram mais sensíveis (p -valor = 0,024), com a mediana dos valores de $CI_{25}(72h)$ em *R. subcapitata* de 14,6% e para *C. dubia* a $CI_{25}(8d)$ foi 27,2%. Há muita controvérsia a respeito de qual organismo é mais indicado e recomenda-se a realização dos testes em pelo menos dois níveis tróficos (BRASIL, 2011). Para as algas, existem muitas dúvidas sobre o efeito de inibição e de promoção do crescimento pelos muitos compostos presentes no esgoto. Contudo, a alga *R. subcapitata* foi mais sensível do que a *C. dubia* para os esgotos de Viçosa.

Uma revisão citada por Lewis (1995) realizada no banco de dados de toxicidade da TSCA (*Toxic Substances Control Act*) demonstra que as algas foram mais sensíveis que espécies de invertebrados e peixes em 50% das observações e menos sensíveis em 30%. Spina *et al.* (2015) relataram que a alga *R. subcapitata* foi o organismo mais adequado para fornecer informação sobre o risco ecotoxicológico associado às amostras de esgotos do que plantas (*Lepidium sativum*) e bactérias (*Allivibrio fischeri*).

4.7. Atividade Estrogênica (YES)

Todos os reatores produziram estrogenicidade, independentemente do TDH utilizado, com exceção do reator AnHR que apresentou remoção de 3% em TDH de 9h (Figura 8).

Não houve diferença nos níveis de remoção ou atividade estrogênica entre os três reatores avaliados. O TDH influenciou a atividade estrogênica e obtiveram-se em TDH de 12 h os maiores aumentos de atividade estrogênica no esgoto tratado; 43,5 ng EQ-E2 L⁻¹, 12 ng EQ-E2 L⁻¹ e 29,9 ng EQ-E2 L⁻¹ para o UASB, UASB (ME) e AnHR, respectivamente. A redução da produção de atividade estrogênica nos demais TDHs pode ser atribuída à melhora do desempenho dos reatores nestas condições hidráulicas, mas não completamente, conforme as correlações lineares obtidas entre a remoção de atividade estrogênica e remoção de DQO (Tabela 2).

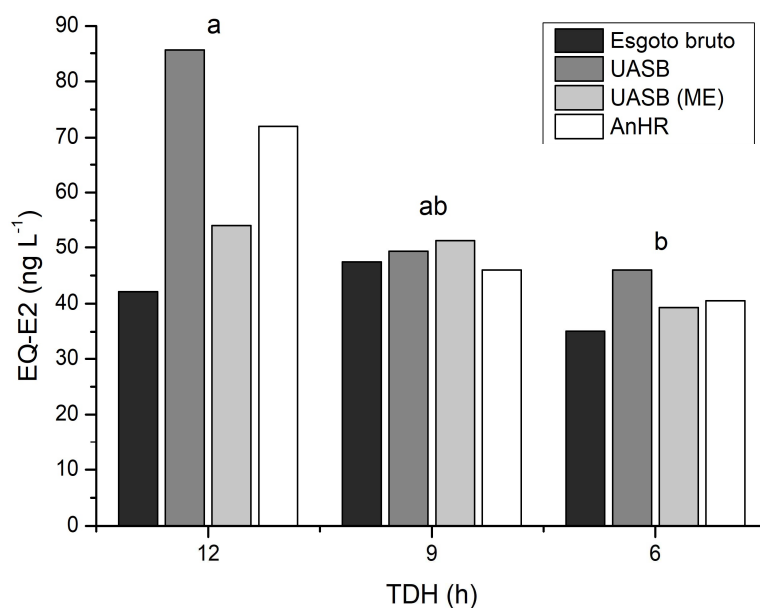


Figura 8. Média da atividade estrogênica em equivalentes de 17β -estradiol (EQ-E2, ng L^{-1}) das amostras de esgoto bruto e tratado dos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR nos diferentes TDHs. Letras iguais indicam nenhuma diferença entre atividade estrogênica para os diferentes TDH de operação ($\alpha=0,05$).

O aumento de estrogenicidade após o tratamento nos reatores era um comportamento esperado e pode estar vinculado à desconjugação ou degradação parcial dos hormônios conjugados, que resultou em maiores atividades estrogênicas e remoções negativas (aumentos), como já apresentado por Brandt *et al.* (2013) para fármacos e outros desreguladores endócrinos. Noguera-Oviedo e Aga (2016) sugerem que em tratamento anaeróbico, a redução de estrona (E1), E2 e 17α -etinilestradiol (EE2) pode ser atribuída a duas possíveis rotas de transformação, a conversão biológica para forma livre e a hidroxilação para outras. Em contrapartida, outros estudos reportam que não há diferença entre as concentrações de entrada e saída destes compostos estrogênicos em condições anaeróbicas (DES MES *et al.*, 2008; ANDERSEN *et al.*, 2003), apenas transformações (MULLER *et al.*, 2010; CZAJKA e LONDRY, 2006).

Em ambiente anaeróbico a ausência de remoção em experimentos de bancada e estações em escala real ou entre os relatos da literatura podem ser interpretadas em termos de uma competição inibitiva da degradação de estrogênios pelo substrato afluente (JOSS, 2004) devido à baixa concentração em que estes compostos estão presentes na matriz, e que possuem, prevalentemente, cinéticas de degradação de pseudo-primeira ordem (JOSS *et al.* 2006). Além disto, a degradação completa destes compostos só ocorrem quando há a clivagem dos anéis descrita para o meio aeróbico via ação enzimática por *meta*-clivagem e *dioxigenase* (YU *et al.*, 2013).

A média da atividade estrogênica do esgoto bruto foi $41,5 \pm 16,4$ ng EQ-E2 L⁻¹ que quando comparados as concentrações de E2 encontra-se dentro da faixa de 1,33 a 776 ng E2 L⁻¹ existente na literatura para esgotos do Brasil (TERNES *et al.*, 1999; FROEHNER *et al.*, 2011; PESSOA *et al.*, 2014) e semelhante aos resultados de atividade estrogênica para esgoto bruto da Austrália e Nova Zelândia de <4 a 185 ± 31 ng EQ-E2 L⁻¹ (LEUSCH *et al.*, 2006). Os esgotos tratados apresentaram média de $53,8 \pm 15,3$ ng EQ-E2 L⁻¹ similar as atividade estrogênica de $6,0 \pm 4,1$ a 143 ± 15 ng EQ-E2 L⁻¹ para esgotos tratados (LEUSCH *et al.*, 2006) e próximo as concentrações médias de 48 ng E2 L⁻¹ para esgotos tratados em estações de tratamento no Brasil (PESSOA *et al.*, 2014).

Os resultados para os esgotos tratados apresentados na Figura 8 variaram de 39,3 a 85,7 ng EQ-E2 L⁻¹, o que representa um perigo ao meio ambiente. Acima de 54 ng L⁻¹ o E2 poderia causar diversos efeitos no meio ambiente como uma indução de vitelogenina, alteração da razão entre machos e fêmeas (tendendo para as fêmeas) em peixe zebra (*Danio rerio*) (HOLBECH *et al.*, 2006) e concentrações superiores à 25 ng L⁻¹ causaria hermafroditismo em jovens de *rare minnow* (*Gobiocypris rarus*) (LIAO *et al.*, 2009).

Efeitos inibitórios do crescimento da levedura *S. cerevisiae* foram observados durante a execução do teste YES para muitas amostras ocorrendo em uma faixa de 2,4% a 94,9% (Tabela 4). A inibição do crescimento aconteceu nas menores diluições das placas, os três primeiros poços, e pode estar relacionada com agentes tóxicos agudos à *S. cerevisiae*.

Tabela 4. Porcentagem de inibição do crescimento da levedura *S. cerevisiae* durante o teste YES nas amostras de esgoto tratado.

TDH (h)	Semana	Reator		
		UASB	UASB (ME)	AnHR
12	1	2,4	--	90,8
	2	93	--	72,5
	3	94	93,8	94,5
	4	32,9	--	2,3
9	1	93,3	--	85,3
	2	--	86,6	83,1
	3	10,8	--	--
	4	94,8	--	95
6	1	93,9	92,4	94,8
	2	94,9	94,7	91,5
	3	--	--	--
	4	--	--	--

-- ausência do efeito inibitório (0%).

Para as amostras apresentadas na Tabela 4 foi possível observar que o esgoto tratado pelo reator UASB (ME) apresentou a menor predominância do efeito inibitório durante o crescimento da levedura. Contudo, os reatores e TDH foram estatisticamente não significativos para redução da inibição do crescimento da *S. cerevisiae* ($p > 0,05$).

Este fenômeno foi previamente nomeado de “Mascaramento Tóxico” e pode fornecer resultados falsos-negativos do potencial estrogênico da amostra. Como uma consequência do mascaramento tóxico, os extratos de matrizes ambientais podem demonstrar atividade estrogênica menor que a observada para os principais compostos estrogênicos da amostra (FRISCHE, 2009). Novos métodos de extração e concentração de amostras devem ser explorados futuramente para alcançar a eliminação do material não estrogênico que pode causar esse efeito.

4.8. Visão Geral Sobre os Reatores Anaeróbios

A análise de agrupamento resultou em quatro grupos finais para os reatores quando analisados pelos TDHs utilizados (Figura 9). O grupo 1 foi constituído pelo UASB e AnHR operados em TDH de 6h por causa dos maiores aumentos provocados na toxicidade em *R. subcapitata* nos esgotos tratados. O grupo 2 foi formado pelo AnHR e UASB com TDH de 12h pelas grandes produções de atividade estrogênica e toxicidade em *R. subcapitata*. O terceiro grupo foi formado, isoladamente, pelo reator UASB (ME) em TDH de 6h por ter produzido esgoto tratado com toxicidade em *R. subcapitata* e estrogenicidade maior que o esgoto bruto, porém, o esgoto tratado deste reator apresentou resultados menores quando comparados aos grupos 1 e 2. O grupo 4 inclui os reatores UASB (ME) em 9 e 12 h, o UASB e o AnHR com TDH de 9 h, por terem sido capazes de produzir um esgoto tratado com toxicidade em *R. subcapitata* inferior ao esgoto bruto e as menores produções de estrogenicidade.

A análise de agrupamento conjuntamente com a ANOVA demonstrou as diferenças entre os reatores. Não é possível escolher um melhor reator baseada na diferença das respostas que se obtiveram nos testes de toxicidade. Apenas para a remoção de matéria orgânica, os dados obtidos sugerem que o UASB operado em TDH de 6h pode ser considerado o melhor reator. Para a remoção de toxicidade em *R. subcapitata* qualquer reator operado em TDH de 9h seria indicado e, para a remoção de atividade estrogênica, nenhum reator conseguiu remover estrogenicidade de uma forma relevante.

A ausência ou baixas remoções de toxicidade e estrogenicidade em meio anaeróbio representa um perigo ao meio ambiente pela introdução de substâncias tóxicas ou de

preocupação emergente que podem desencadear uma série de efeitos adversos sobre os organismos aquáticos, ainda mais se consideramos a disseminação mundial destas tecnologias pelas vantagens relacionadas com sua implantação. Os resultados apresentados nesta pesquisa não depreciam as características positivas dos sistemas anaeróbios, mas ressaltam a importância do consórcio entre tecnologias para obtenção de um esgoto tratado com o menor risco ambiental possível.

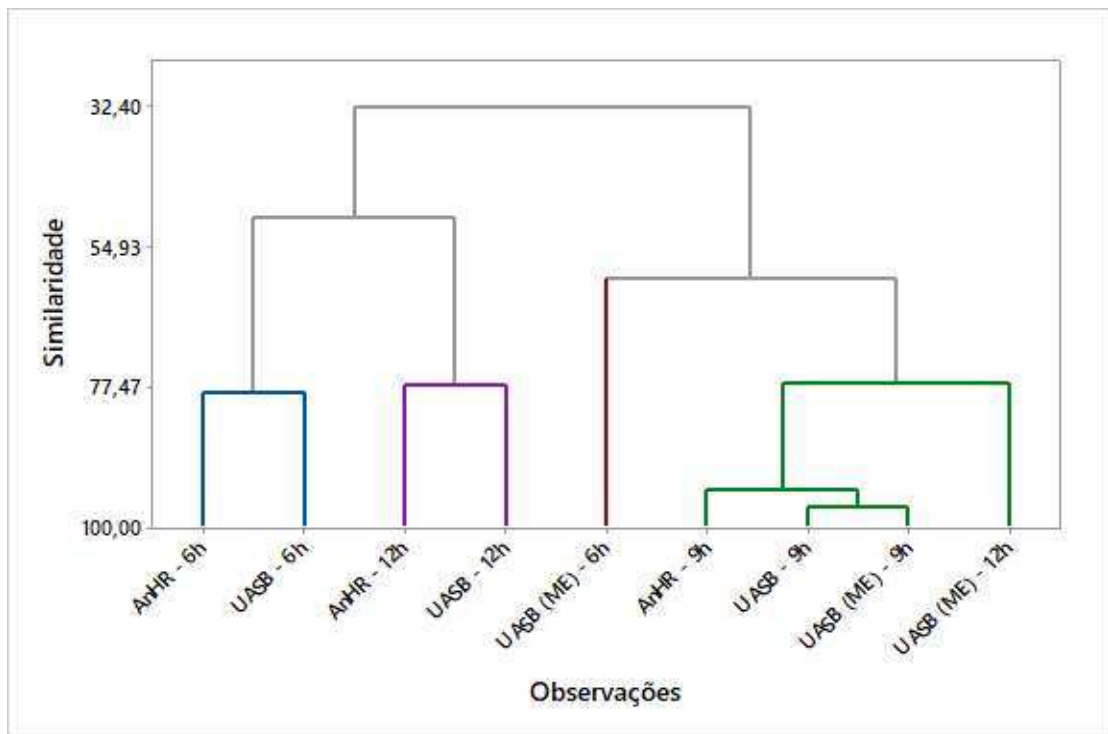


Figura 9. Dendrograma de similaridade do desempenho geral dos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR nos diferentes TDHs para a remoção DQO_r, toxicidade em *R. subcapitata* e atividade estrogênica.

5. CONCLUSÃO

Nenhum efeito significativo sobre o desempenho dos reatores quanto a remoção de matéria orgânica, toxicidade ou atividade estrogênica foi encontrado para as modificações com microrganismos eficientes ou meio suporte nas condições testadas. Os reatores apresentaram maior eficiência de remoção de DQO com a redução do TDH até 6h, e consequente aumento da COV acima de $2,5 \text{ kg m}^{-3}\text{d}^{-1}$.

Todos os reatores apresentaram toxicidade remanescente para *C. dubia* e *R. subcapitata*, que demonstrou a incapacidade destes sistemas em remover toxicidade e o perigo ao meio ambiente. Para o organismo *C. dubia*, fortes correlações lineares negativas foram estabelecidas entre a remoção de toxicidade aguda ou crônica e remoção de DQO em TDH de 12h. Para a alga *R. subcapitata*, foi verificado a produção de toxicidade em TDH de 12h e 6h. Efeitos do TDH e correlações lineares positivas entre as remoções de DQO e toxicidade em *R. subcapitata* para o UASB e UASB (ME) em TDH de 6h foram observadas. Adicionalmente, a alga *R. subcapitata* foi estabelecida como o organismo mais sensível para as análises com o esgoto sanitário utilizado.

Aumentos de atividade estrogênica foram verificadas nos esgotos tratados em todos os reatores, possivelmente devido à desconjugação e transformação dos compostos estrogênicos durante o tratamento.

6. RECOMENDAÇÕES

Para pesquisas futuras recomenda-se a operação dos reatores por tempo mais longo, para evitar efeitos da adaptação do sistema frente à modificação das condições operacionais.

Realizar estudos para diminuição da toxicidade no ensaio YES por meio de novos materiais e métodos de extração e eluição das amostras.

Investigar a toxicidade no esgoto bruto, tratado e no lodo anaeróbio com um mesmo organismo teste para verificar o papel da via de biodegradação e sorção na eliminação da toxicidade dos esgotos.

Analisar os sólidos brutos do esgoto sanitário afim de se verificar se a produção de estrogenicidade está ligada com a liberação das substâncias com atividade estrogênica sorvidas nesta matriz através da hidrólise dos sólidos no reator.

Realizar a avaliação e identificação da toxicidade (AIT) para pressupor qual a classe de compostos tóxicos responsáveis pela toxicidade à *C. dubia* e *R. subcapitata* nas amostras de esgoto bruto e tratado pelos reatores.

7. REFERÊNCIAS

- ABNT. **EMENDA 1 NBR 13373**: Ecotoxicologia aquática: toxicidade crônica – método de ensaio com *Ceriodaphnia spp* (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2017. 4p.
- ABNT. **NBR 12648**: Ecotoxicologia aquática: toxicidade crônica – método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro, 2011. 28p.
- ABNT. **NBR 13373**: Ecotoxicologia aquática: toxicidade crônica – método de ensaio com *Ceriodaphnia spp* (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2010. 18 p.
- ABRAHAM, J. *et al.* Algae toxicological assessment and valorization of energetic-laden wastewater streams using *Scenedesmus obliquus*. **Journal of Cleaner Production**, v. 202, p.838-845, 2018.
- ADAMSSON, M.; DAVE, G.; FORSBERG, L. GUTERSTAM, B. Toxicity identification evaluation of ammonia, nitrite and heavy metals at the Stensund wastewater aquaculture plant, Sweden. **Water Science and Technology**, v. 38, n.3, p. 151-157, 1998.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUA (ANA). **Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas**. Brasília, Agência Nacional de águas, Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental, p. 88, 2017.
- ALVARINO, T.; SUÁREZ, S.; GARRIDO, M.; LEMA, J. M.; OMIL, F. A UASB reactor coupled to a hybrid aerobic MBR as innovative plant configuration to enhance the removal of organic micropollutants. **Chemosphere**, v. 144, p. 452-458, 2016.
- ALVARINO, T.; SUAREZ, S.; LEMA, J. M.; OMIL, F. Understanding the removal mechanisms of PPCPs and the influence of main technological parameters in anaerobic UASB and aerobic CAS reactors. **Journal of Hazardous Materials**, v. 278, p.506-513, 2014.
- ALVES, C. *et al.* Exposição ambiental a interferentes endócrinos com atividade estrogênica e sua associação com distúrbios puberais em crianças. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 5, p. 1005–1014, 2007.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENT FEDERATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. **Standard Methods**, p. 541, 2012.
- ANDERSEN, H. B.; BUCKLEY, J. A. Acute toxicity of ammonia to *Ceriodaphnia dubia* and a procedure to improve control survival. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 61, p. 116-122, 1998.
- ANDERSEN, H. *et al.* Fate of estrogens in a municipal sewage treatment plant. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 18, p. 4021–4026, 2003.
- AQUINO, S. F. *et al.* Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 12, n. 2, p. 192–201, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-41522007000200010&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.
- AQUINO, S. F.; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 187-204, 2013.

BAL, N.; KUMAR, A.; DU, J.; NUGEGODA, D. Multigenerational effects of two glucocorticoids (prednisolone and dexamethasone) on life-history parameters of crustacean *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera). **Environmental Pollution**. V. 225, p. 569-578, 2017.

BILA, D. et al. Estrogenic activity removal of 17 β -estradiol by ozonation and identification of by-products. **Chemosphere**, v. 69, n. 5, p. 736-746, out. 2007.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: Efeitos e conseqüências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651–666, 2007.

BONFIM *et al.* Caderno dos microrganismos eficientes (EM): Instruções práticas sobre uso ecológico e social do EM. 2. ed. Universidade Federal de Viçosa (UFV): Departamento de Fitotecnia, 2011.

BRANDT, E. M. F.; QUEIROZ, F. B.; AFONSO, R. J. C. F.; AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Behaviour of pharmaceuticals and endocrine disrupting chemicals in simplified sewage treatment systems. **Journal of Environmental Management**, v. 128, p. 718-726, 2013.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as 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. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, Capítulo 1, 13 de maio de 2011, p.89.

ČELIĆ, M. et al. Pharmaceuticals as chemical markers of wastewater contamination in the vulnerable area of the Ebro Delta (Spain). **Science of The Total Environment**, v. 652, p. 952–963, 2019.

CHERNICHARO, C. A. L. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. **Reatores Anaeróbicos**. 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais. 2007. 380p.

CHERNICHARO, C. A. L.; RIBEIRO, T. B. GARCIA, G. B.; LERMONTOW, A.; PLATZER, C. J.; POSSETI, G. R. C.; ROSSETO, M. A. L. L. R. Panorama do tratamento de esgoto sanitário nas regiões Sul, Sudeste e Centro-oeste do Brasil: tecnologias mais empregadas. **Revista DAE**, n. 213, v.66, 2018.

Comprehensive Environmental Toxicity Information System (CETIS). Version 1.9.5. McKinleyville, CA: TIDEPOOL - Scientific Software, 2018. Disponível em: <<https://tidepool-scientific.com/Cetis/Cetis.html>>. Acesso em: 01 nov. 2018.

COOGAN, M. A. *et al.* Algal bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyl-triclosan in a North Texas wastewater treatment plant receiving stream. **Chemosphere**, v. 67, p.1911-1918, 2007.

CZAJKA, C. P.; LONDRY, K. L. Anaerobic biotransformation of estrogens. **Science of the Total Environment**, v. 367, n. 2–3, p. 932–941, 2006

CZERNYCH, R. et al. Characterization of estrogenic and androgenic activity of phthalates by the XenoScreen YES/YAS in vitro assay. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 53, n. March, p. 95–104, 2017.

DEL NERY, V. et al. Hydraulic and organic rates applied to pilot scale UASB reactor for sugar cane vinasse degradation and biogas generation. **Biomass and Bioenergy**, v. 119, p.411-417, 2018.

DENG, M. *et al.* Acute toxicity reduction and toxicity identification in pigment-contaminated wastewater during anaerobic-anoxic-oxic (A/A/O) treatment process. **Chemosphere**, v. 168, p. 1285–1292, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.144>>.

DES MES, T. Z. D. et al. Anaerobic biodegradation of estrogens - Hard to digest. **Water Science and Technology**, v. 57, n. 8, p. 1177–1182, 2008.

DIAS, D. F. C.; PASSOS, R. G.; RODRIGUES, V. A. J.; MATOS, M. P.; SANTOS C. R. S.; von SPERLING, M. Performance evaluation of a natural treatment system for small communities, composed of a UASB reactor, maturation ponds (baffles and unbaffled) and a granular rock filter in series. **Environmental Technology**, v. 39, n.4, p.490-502, 2017.

DÜPONT, A., LOBO, E. A. Evaluation of the efficiency of the sewage treatment plant from the University of Santa Cruz do Sul (UNISC), RS, Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 24, n. 2, p. 119-126, 2012.

EREMEKTAR, G.; SELCUK, H.; MERIC, S. Investigation of the relation between COD fractions and the toxicity in a textile finishing industry wastewater: Effect of preozonation. **Desalination**, v.211, p.314-320, 2007.

FRANÇA, B. T. **Tratamento de esgoto urbano em reatores UASB com uso de microrganismos eficientes**. 2018. 78f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil – Saneamento e Meio Ambiente) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2018.

FRISCHE, T., FAUST, M., MEYER, W., e BACKHAUS, T. Toxic masking and synergistic modulation of the estrogenic activity of chemical mixtures in a yeast estrogen screen (YES). **Environmental Science and Pollution Research**, v.16, n.5, p. 593–603, 2009.

FROEHNER, S.; PICCIONI, W.; MACHADO, K.S.; AISSE, M.M. Removal capacity of caffeine, hormones, and bisphenol by aerobic and anaerobic sewage treatment. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 216, n. 1-4, p. 463-471, 2011.

FUENTES, A. et al. Ecotoxicity, phytotoxicity and extractability of heavy metals from different stabilised sewage sludges. **Environmental Pollution**, v.143, p.355-360, 2006.

GRADY JR, C. P. L.; DAIGGER, T. G.; LOVE, N. G.; FILIPE, C. D. **Biological wastewater treatment**. 3. ed. IWA Publishing, CRC Press. 2011. 994p.

GRANDHI, S. C.; PANDEY, L. M. S.; GUPTA, S. K.; SINGH, G. Comparative evaluation of high rate anaerobic processes for treatment of distillery spent wash. **Journal of Industrial Research Technology**, v. 1, p. 17-23, 2011.

GRILL, G. et al. Estimating the eco-toxicological risk of estrogens in China's rivers using a high-resolution contaminant fate model. **Water Research**, v. 145, p. 707–720, 2018.

GUERRA, R. Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. **Chemosphere**, v. 44, p.1737-1747, 2001.

GUIOT, S. R.; van den BERG, L. Performance of an Upflow Anaerobic Reactor Combining a Sludge Blanket and a Filter Treating Sugar Waste. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 27, 1985.

HAMID, H.; ESKICIOGLU, C. Effect of microwave hydrolysis on transformation of steroidal hormones during anaerobic digestion of municipal sludge cake. **Water Research**, v. 47, n. 14, p. 4966–4977, 2013.

HIGA, T.; CHINEN, M. EM Treatments of Odor, Waste Water, and Environment Problems. **College of Agriculture. Okinawa, Japan, University of Ryukus**, p. 1–3, 1998.

HOLBECH, H. et al. Detection of endocrine disrupters: Evaluation of a Fish Sexual Development Test (FSDT). **Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology**, v. 144, n. 1, p. 57–66, 2006.

HORN, T. B.; ZERWES, F. V.; KIST, L. T.; MACHADO, Ê, L. Constructed wetland and photocatalytic ozonation for university sewage treatment. **Ecological Engineering**, v. 63, p.134-141, 2014.

HRUBIK, J. et al. Toxicological and chemical investigation of untreated municipal wastewater: Fraction- and species-specific toxicity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.127, p.153-162, 2016.

INCE, O.; ANDERSON, G. K.; KASAPGIL, B. Control of organic loading rate using the specific methanogenic activity test during start-up of an anaerobic digestion system. **Water Research**, 1995.

JOSS, A.; ANDERSEN, H.; TERNES, T.; RICHLER, P.R.; SIEGRIST, H. Removal of estrogens in municipal wastewater treatment under aerobic and anaerobic conditions: consequences for plant optimization. **Environmental Science & Technology**, v. 38, n. 11, p. 3047-3055, 2004.

JOSS, A.; ZABCZYNSKI, S.; GÖBEL, A.; HOFFMANN, B.; LÖFFLER, D.; McARDELL, C.S.; TERNES, T.A.; THOMSEN, A.; SIEGRIST, H. Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: Proposing a classification scheme. **Water Research**, v. 40, p. 1686-1696, 2006.

KHAN, A. A.; MEHROTRA, I.; KAZMI, A. A. Sludge profiling at varied organic loadings and performance evaluation of UASB reactor treating sewage. **Biosystems Engineering**, v. 131, p. 32–40, 2015.

KUNDU, K.; SHARMA, S.; SREEKRISHNAN, T. R. Changes in microbial communities in a hybrid anaerobic reactor with organic loading rate and temperature. **Bioresource Technology**, v. 129, p.538-547, 2013.

LANDRIGAN, P.; GARG, A.; DROLLER, D. B. J. Assessing the effects of endocrine disruptors in the National Children's Study. **Environmental Health Perspectives**, v. 111, n. 13, p. 1678–1682, 2003.

LEUSCH, F. D. L.; CHAPMAN, H. F.; van den HEUVEL, M. R; TAN, B. L. L.; GOONERATNE, S. R.; TREMBLAY, L. A. Bioassay-derived androgenic and estrogenic activity in municipal sewage in Australia and New Zealand, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 65, p.403-411, 2006.

- LEWIS, M. A. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. **Environmental Pollution**, v. 87, p.319-336, 1995.
- LIAO, T. et al. Comparative responses in rare minnow exposed to 17 β -estradiol during different life stages. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 35, n. 3, p. 341–349, 2009.
- LIM, S. J.; KIM, T. H. Applicability and trends of anaerobic granular sludge treatment processes. **Biomass and Bioenergy**, v. 60, p.189-202, 2014.
- MAGDALENO, A. *et al.* Ecotoxicological and genotoxic evaluation of Buenos Aires City (Argentina) hospital wastewater. **Journal of Toxicology**, 10p., 2010.
- MAHMOUD, N. High strength sewage treatment in a UASB reactor and an integrated UASB-digester system. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 16, p. 7531–7538, 2008.
- MANGAS-RAMÍREZ, E.; SARMA, S. S. S.; NANDINI, S. Combined effects of alga (*Chlorella vulgaris*) density and ammonia concentration on the population dynamics of *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa* (Cladocera). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.51, p. 216-222, 2002.
- MANSANO, A. S.; SOUZA, J. P. BERNARDI-CARCINO, J.; VENTURINI, F. P.; MARANGONI, V. S.; ZUCOLOTTI, V. Toxicity of copper oxide nanoparticles to neotropical species *Ceriodaphnia silvestrii* and *Hyphessobrycon eques*. **Environmental Pollution**, v. 243, p.723-733, 2018.
- MARTÍN, J. et al. Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants: Removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal. v. 240, p. 40–47, 2012.
- MENDONÇA, E. *et al.* Ecotoxicological evaluation of wastewater in a municipal WWTP in Lisbon area (Portugal). **Desalination and Water Treatment**, v. 51, p.4162-4170, 2013.
- MINITAB INC. **Minitab 17**, versão 17.1.0: Minitab ®, 2016.
- MONSALVO, V. M. et al. ScienceDirect Removal of trace organics by anaerobic membrane bioreactors. **Water Research**, v. 49, p. 103–112, 2014.
- MULLER, M. *et al.* Occurrence of estrogens in sewage sludge and their fate during plant-scale anaerobic digestion. **Chemosphere**, v. 81, n. 1, p. 65–71, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.062>>.
- NEWMAN, M. C. **Fundamentals of ecotoxicology**. 3. ed. CRC Press, 2010. 554p.
- NOGUERA-OVIEDO, K.; AGA, D. S. Chemical and biological assessment of endocrine disrupting chemicals in a full scale dairy manure anaerobic digester with thermal pretreatment. **Science of the Total Environment**, v. 550, p. 827–834, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.084>>.
- OKUBO, T. et al. On-site evaluation of the performance of a full-scale down-flow hanging sponge reactor as a post-treatment process of an up-flow anaerobic sludge blanket reactor for treating sewage in India. **Bioresource Technology**, v. 194, p. 156–164, 2015.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). OECD Guidelines for the testing of chemicals: Freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test. Guideline 201. Paris, France, 2006.

ORIGINLAB. **Origin PRO**, versão 8.5 SR1: OriginLab Corporation, 2010.

PEREZ-GARCIA, O., FROYLAN, M.E., ESCALANTE, F.M.E., DE-BASHAN, L.E., BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. **Water Resource**, v.45, p.11-36, 2011.

PERSOONE, G. et al. A practical and user-friendly toxicity classification system with microbiotests for natural waters and wastewaters. **Environmental Toxicology**, 2003.

PESSOA, G. P., DE SOUZA, N. C., VIDAL, C. B., ALVES, J. A., FIRMINO, P. I. M., NASCIMENTO, R. F., & DOS SANTOS, A. B. Occurrence and removal of estrogens in Brazilian wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, 490, 288-295, 2014.

PESSOA, G. P.; SOUZA, N. C.; VIDAL, C. B.; ALVES, J. A. C.; FIRMINO, P. I. M.; NASCIMENTO, R. F.; SANTOS, A. B. Occurrence and removal of estrogens in Brazilian wastewater treatment plants. **Science of the Total Environment**, v. 490, p. 288-295, 2014.

PLAHUTA, M.; TISLER, T.; TOMAN, M. J.; PINTAR, A. Toxic and endocrine disrupting effects of wastewater treatment plant influents and effluents on a freshwater isopod *Asellus aquaticus* (Isopoda, Crustacea). **Chemosphere**, v.174, p.342-353, 2017.

PRIYA, M. et al. Comparative Study of Treatment of Sago Wastewater using HUASB Reactor in the Presence and Absence of Effective Microorganisms. **Procedia Earth and Planetary Science**, v. 11, p. 483–490, 2015.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2017. Disponível em: <https://www.R-project.org/>

RAJAPAKSE, N.; SILVA, E.; KORTENKAMP, A. Combining xenoestrogens at levels below individual no-observed-effect concentrations dramatically enhances steroid hormone action. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, n. 9, p. 917–921, 2002.

RAMAKRISHNAN, A.; SURAMPALLI, R. Y. Comparative performance of UASB and anaerobic hybrid reactors for the treatment of complex phenolic wastewater. **Bioresource Technology**, v. 123, p. 352–359, 2012.

RAMÍREZ, W. A.; DOMENE, X.; ORTIZ, O.; ALCANIZ, J. M. Toxic effects of digested, composted and thermally-dried sewage sludge on three plants. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 7168-7175, 2008.

REINO, C., CARRERA, J. Low-strength wastewater treatment in an anammox UASB reactor: Effect of the liquid upflow velocity. **Chemical Engineering Journal**, v. 313, p. 217-225, 2017.

RIZVI, H. et al. Start-up of UASB reactors treating municipal wastewater and effect of temperature/sludge age and hydraulic retention time (HRT) on its performance. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 780–786, 2015.

ROIG, N. et al. Relationship between pollutant content and ecotoxicity of sewage sludges from Spanish wastewater treatment plants. **Science of the Total Environment**, v.425, p.99-109 2012.

ROUTLEDGE, E. J.; SUMPTER, J. P. Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 241–248, 1996. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/etc.5620150303>>.

SHEN, C. F.; KOSARIC, N.; BLASZCZYK, R. The effect of selected heavy metals (Ni, Co and Fe) on anaerobic granules and their Extracellular Polymeric Substance (EPS). **Water Research**, v. 27, n. 1, p. 25–33, 1993.

SPINA, F.; CORDERO, C.; SCHILIRÒ, T.; SGORBINI, B.; PIGNATA, C.; GILLI, G.; BICCHI, C.; VARESE, G. C. Removal of micropollutants by fungal laccases in model solution and municipal wastewater: evaluation of estrogenic activity and ecotoxicity. **Journal of Cleaner Production**, v. 100, p. 185-194, 2015.

STASINAKIS, A. S. Review on the fate of emerging contaminants during sludge anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 121, p. 432–440, 2012.

TAMURA, I. *et al.* Ecotoxicity and screening level ecotoxicological risk assessment of five antimicrobial agents: triclosan, triclocarban, resorcinol, phenoxyethanol and *pithymol*. **Applied Toxicology**, v. 33, p.1222 – 1229, 2013.

TEIXEIRA, A. R.; CHERNICHARO, C. A. L.; SOUTO, T. F. S.; PAULA, F. S. Influência da alteração da distribuição do tamanho de partículas no desempenho de reator UASB tratando esgoto doméstico. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 2, p.159-166, 2009.

TERNES, T.A.; STUMPF, M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R.-D.; SERVOS, M. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *The Science of the Total Environment*, 225, 81-90, 1999.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms**. 3^o ed, Cincinnati, Ohio, EPA/600/4-85-013, 1985.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to freshwater organisms. 4^o ed. Washington, DC, 2002. 350p.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Emerging contaminants-perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA). 2014, 10p.

VON SPERLING, M. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 4. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais. 2014. 472p.

XIAO, Y. *et al.* Toxicity measurement in biological wastewater treatment processes: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 286, p. 15–29, 2015.

YU, C. P.; DEEB, R. A.; CHU, K. H. Microbial degradation of steroidal estrogens. **Chemosphere**, v. 91, n. 9, p. 1225–1235, 2013.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações*. 1. ed. São Carlos: RiMa, 2006. 478p.

ZHANG, J.; ZHANG, Y.; LIU, W. QUAN, X.; CHEN, S.; ZHAO, H.; JIN, Y.; ZHANG, W. Evaluation of removal efficiency for acute toxicity and genotoxicity on zebrafish in anoxic-oxic process from selected municipal wastewater treatment plants. **Chemosphere**, v. 90, p.2662-2666, 2013.

ZHANG, Y. *et al.* Reduction in toxicity of wastewater from three wastewater treatment plants to alga (*Scenedesmus obliquus*) in northeast China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 119, p.132-139, 2015.

ZINATIZADEH, A. A. *et al.* An anaerobic hybrid bioreactor of granular and immobilized biomass for anaerobic digestion (AD) and dark fermentation (DF) of palm oil mill effluent: Mass transfer evaluation in granular sludge and role of internal packing. **Biomass and Bioenergy**, v. 103, p. 1–10, 2017.

APÊNDICE A – CÁLCULO DA SENSIBILIDADE

Para comparação de sensibilidade entre a *C. dubia* e *R. subcapitata*, foram utilizadas as equações 3 a 5 modificadas para se utilizar os intervalos de confiança obtidos para $CI_{25}(I)$ dos organismos (USEPA, 1985; ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006).

Primeiramente, calcula-se o índice estatístico G:

$$G = \sqrt{\left(\log\left(\frac{UL_{(1)}}{CI25_{(1)}}\right)\right)^2 + \left(\log\left(\frac{UL_{(2)}}{CI25_{(2)}}\right)\right)^2} \quad (3)$$

onde:

$UL_{(1)}$ = intervalo de confiança superior para o teste 1;

$UL_{(2)}$ = intervalo de confiança superior para o teste 2;

$CI25_{(1)}$ = concentração efetiva para o teste 1;

$CI25_{(2)}$ = concentração efetiva para o teste 2;

Em seguida, calcula-se o índice H e Z (equação 4 e 5):

$$H = 10^G \quad (4)$$

$$Z = \frac{CE50 \text{ maior}}{CE50 \text{ menor}} \quad (5)$$

Se $Z > H$: há diferença significativa entre os valores do *endpoint* para os organismos testados.

APÊNDICE B – DADOS SUPLEMENTARES

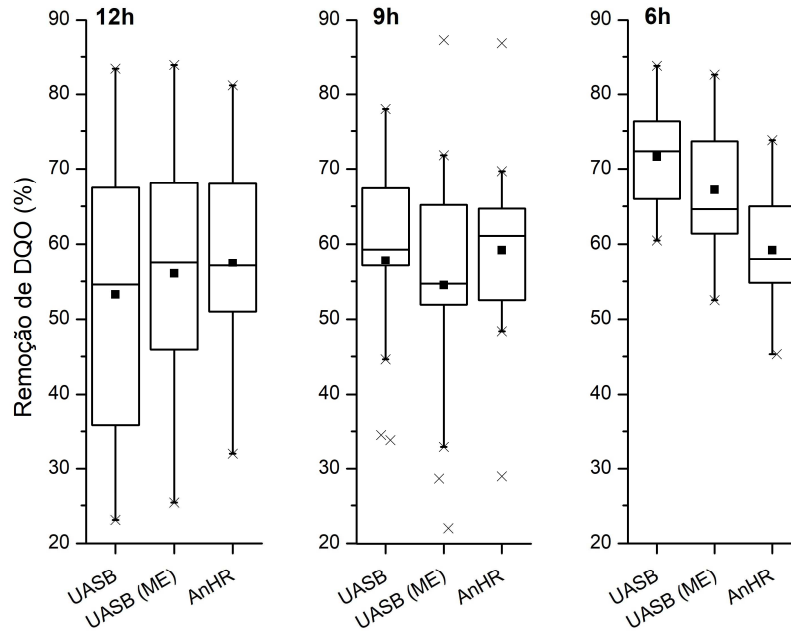


Figura 10. Remoção de DQO nos reatores UASB, UASB (ME) e AnHR nos TDHs de 12, 9 e 6h. ■ – média, x – outliers.

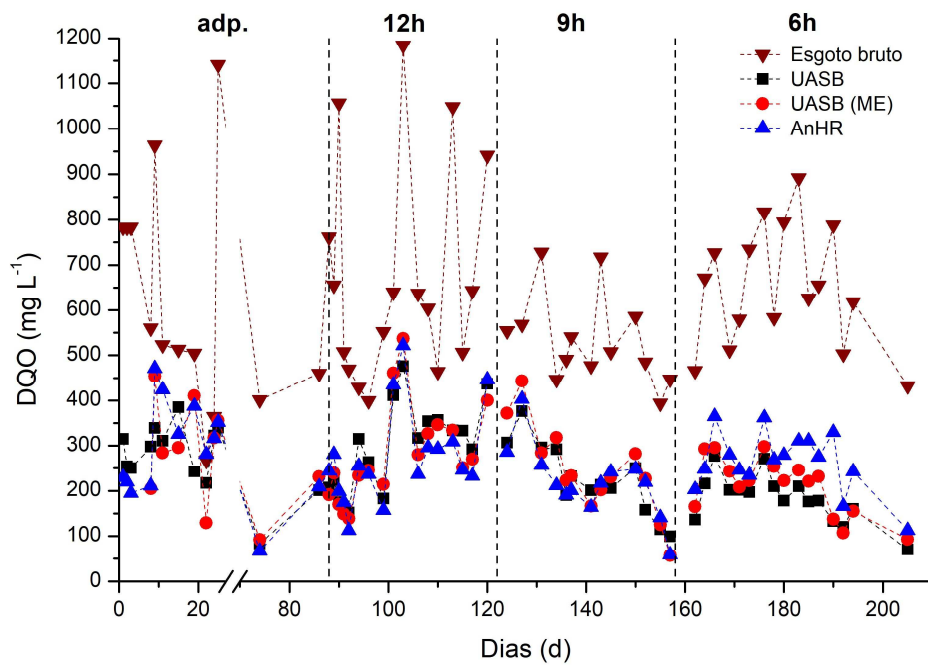


Figura 11. Resultados de DQO para o esgoto bruto, reatores UASB, UASB (ME) e AnHR com TDHs de 12, 9 e 6h.

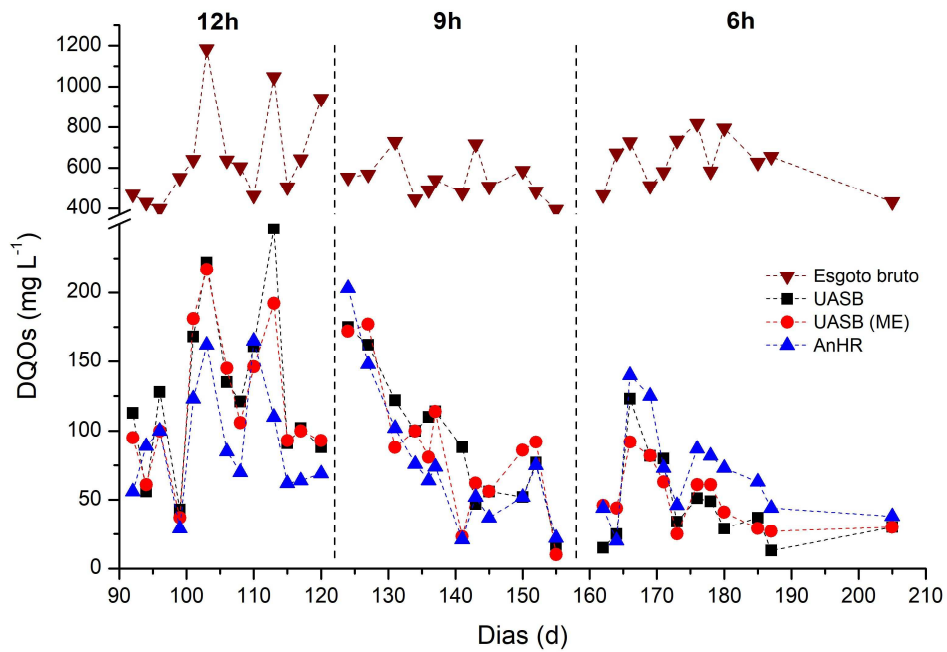


Figura 12. Resultados de DQO_x para o esgoto bruto, reatores UASB, UASB (ME) e AnHR com TDHs de 12, 9 e 6h.

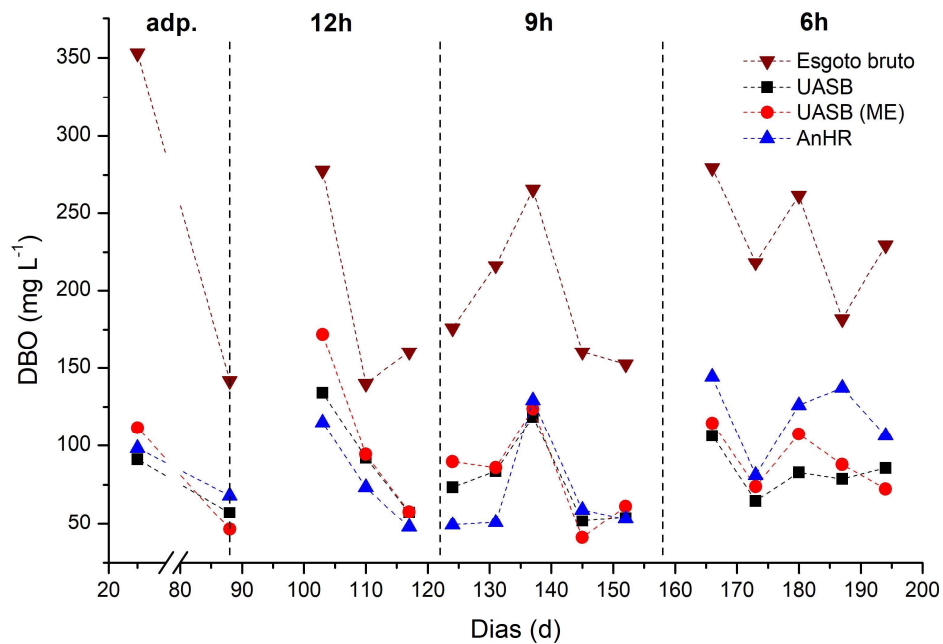


Figura 13. Resultados de DBO para o esgoto bruto, reatores UASB, UASB (ME) e AnHR com TDHs de 12, 9 e 6h.

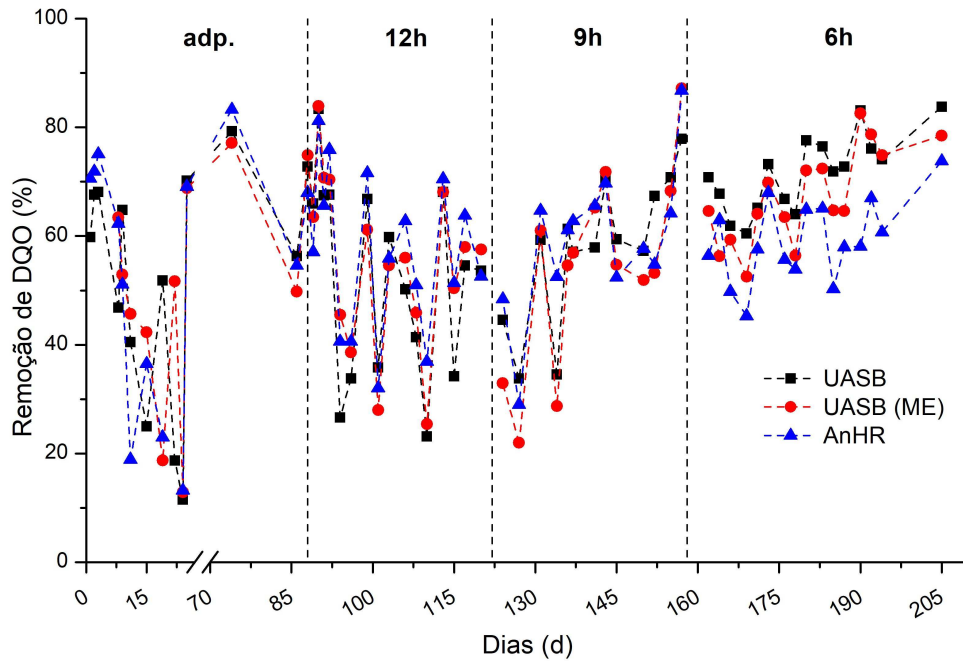


Figura 14. Desempenho dos reatores em relação ao parâmetro de DQO com TDHs de 12, 9 e 6h. adp – adaptação.

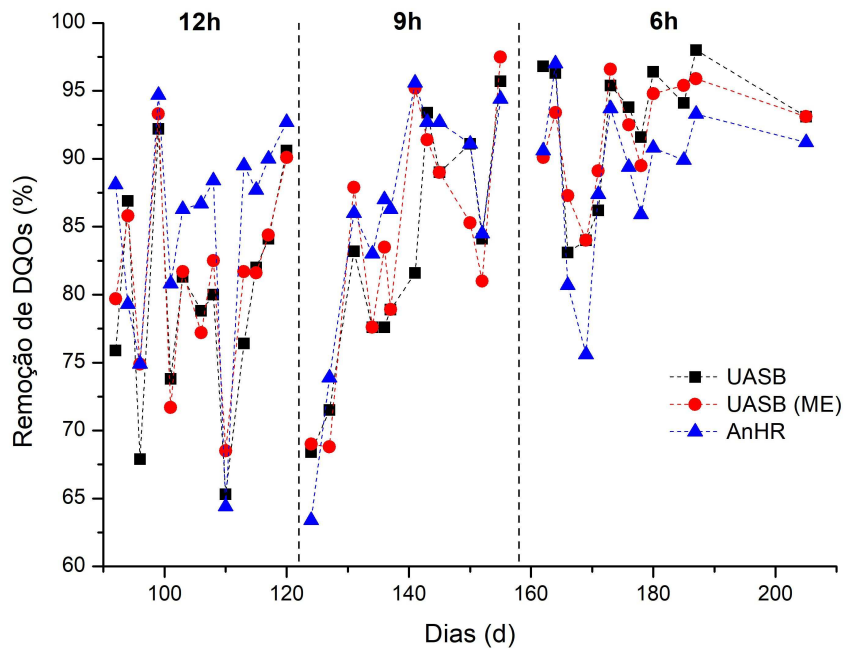


Figura 15. Desempenho dos reatores em relação ao parâmetro de DQO_f com TDHs de 12, 9 e 6h.

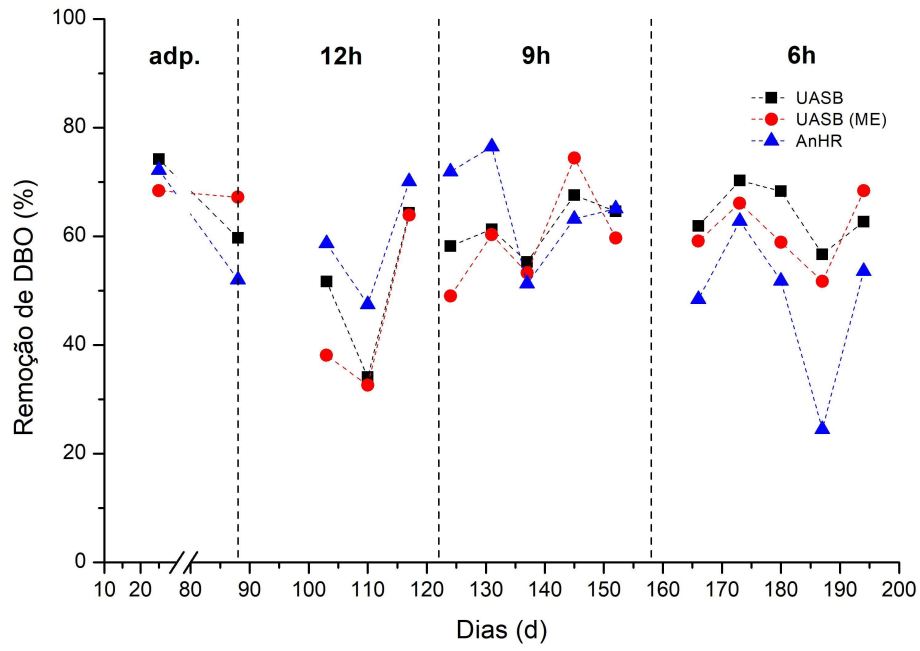


Figura 16. Desempenho dos reatores em relação ao parâmetro de DBO com TDHs de 12, 9 e 6h. adp – adaptação.

APÊNDICE C – DADOS BRUTOS

Tabela 5. Resultados de DQO.

Dias	TDH (h)	Bruto (mg/L)	UASB (mg/L)	UASB (ME) (mg/L)	AnHR (mg/L)
1	12	783	315	8724	230
2	12	783	254	9295	220
3	12	783	250	11668	195
8	12	560	298	205	211
9	12	963	339	454	471
11	12	523	311	284	424
15	12	513	385	296	326
19	12	504	243	410	388
22	12	267	217	129	281
24	12	364	322	317	316
25	12	1141	340	356	352
74	24	401	83	92	67
86	12	460	201	231	209
88	12	762	207	191	244
89	12	655	223	239	281
90	12	1056	175	170	199
91	12	508	165	149	175
92	12	469	152	139	113
94	12	429	315	234	255
96	12	399	264	245	237
99	12	552	183	214	157
101	12	640	411	461	435
103	12	1184	476	537	522
106	12	637	317	280	237
108	12	604	354	327	296
110	12	464	357	346	293
113	12	1048	334	334	309
115	12	506	333	251	246
117	12	643	292	270	233
120	12	941	437	400	446
124	9	554	307	372	286
127	9	568	376	443	403
131	9	728	296	284	257
134	9	446	292	318	212
136	9	491	190	223	191
137	9	541	232	233	201

Tabela 5. Resultados de DQO (Continuação).

Dias	TDH (h)	Bruto (mg/L)	UASB (mg/L)	UASB (ME) (mg/L)	AnHR (mg/L)
141	9	477	201	166	164
143	9	717	213	202	217
145	9	508	206	230	242
150	9	586	250	282	248
152	9	485	158	227	219
155	9	394	115	125	141
157	9	447	99	57	59
162	6	466	136	165	203
164	6	671	216	293	248
166	6	727	277	296	365
169	6	512	202	243	280
171	6	580	202	208	246
173	6	735	197	222	235
176	6	817	271	298	362
178	6	583	210	254	269
180	6	795	178	222	279
183	6	892	210	246	311
185	6	626	176	221	311
187	6	655	178	232	275
190	6	788	133	137	330
192	6	503	120	107	166
194	6	618	160	155	243
205	6	432	70	93	113

Tabela 6. Resultados de DQO_F.

Dias	TDH (h)	Bruto (mg/L)	UASB (mg/L)	UASB (ME) (mg/L)	AnHR (mg/L)
92	12	469	113	95	56
94	12	429	56	61	89
96	12	399	128	100	100
99	12	552	43	37	29
101	12	640	168	181	123
103	12	1184	222	217	162
106	12	637	135	145	85
108	12	604	121	106	70
110	12	464	161	146	165
134	9	446	100	100	76
113	12	1048	247	192	110
115	12	506	91	93	62
117	12	643	102	100	64
120	12	941	88	93	69
124	9	554	175	172	203
127	9	568	162	177	148
131	9	728	122	88	102
136	9	491	110	81	64
137	9	541	114	114	74
141	9	477	88	23	21
143	9	717	47	62	52
145	9	508	56	56	37
150	9	586	52	86	52
152	9	485	77	92	75
155	9	394	17	10	22
162	6	466	15	46	44
164	6	671	25	44	20
166	6	727	123	92	140
169	6	512	82	82	125
171	6	580	80	63	73
173	6	735	34	25	46
176	6	817	51	61	87
178	6	583	49	61	82
180	6	795	29	41	73
185	6	626	37	29	63
187	6	655	13	27	44
205	6	432	30	30	38

Tabela 7. Resultados de DBO.

Dias	TDH (h)	Bruto (mg/L)	UASB (mg/L)	UASB (ME) (mg/L)	AnHR (mg/L)
25	12	353	91	112	98
88	12	142	57	47	68
96	12	104	99	110	101
103	12	278	134	172	115
110	12	140	92	94	73
117	12	160	57	58	48
124	9	176	74	90	49
131	9	216	84	86	51
137	9	265	119	124	129
145	9	160	52	41	59
152	9	152	54	61	53
166	6	280	106	114	144
173	6	218	65	74	81
180	6	261	83	107	126
187	6	182	79	88	137
194	6	230	86	73	106

Tabela 8. Resultados de N-NH₃.

Dias	TDH (h)	Bruto (mg/L)	UASB (mg/L)	UASB (ME) (mg/L)	AnHR (mg/L)
93	12	33,7	32,1	30,4	31,0
100	12	60,8	35,9	36,4	36,4
107	12	65,7	71,2	70,6	71,2
116	12	67,9	72,8	72,2	69,5
121	12	73,3	74,2	79,3	74,5
141	9	77,2	81,5	83,8	77,4
155	9	90,2	82,4	86,9	82,8
162	6	43,5	44,5	44,5	43,5
169	6	50,0	48,9	52,2	47,8
176	6	92,3	88,0	89,1	91,3
183	6	102,1	101,0	107,6	102,1
190	6	84,7	89,1	88,0	90,2

Tabela 9. Resultados de toxicidade crônica e aguda em *C. dubia*

Reator	Semana de operação	TDH	UTc	Limite inferior	Limite superior	UTa	Limite inferior	Limite superior
Esgoto bruto	1º	12	14,5	12,0	53,0	--	--	--
Reator 1	1º	12	7,0	5,2	12,7	--	--	--
Reator 2	1º	12	1,7	1,7	1,9	--	--	--
Reator 3	1º	12	2,3	1,7	3,2	--	--	--
Esgoto bruto	2º, 3º e 4º	12	76,8	14,6	113,1	1,6	1,9	1,4
Reator 1	2º	12	3,4	3,4	4,1	1,4	1,8	1,1
Reator 2	2º	12	3,8	3,4	4,9	1,6	1,9	1,4
Reator 3	2º	12	3,5	3,4	4,1	1,7	2,1	1,4
Reator 1	3º	12	5,7	4,9	6,3	1,6	1,9	1,4
Reator 2	3º	12	4,9	3,6	6,3	2,0	2,6	1,6
Reator 3	3º	12	3,6	3,4	5,3	2,5	3,2	1,9
Reator 1	4º	12	3,4	3,4	4,0	2,3	2,9	1,9
Reator 2	4º	12	3,4	3,4	3,4	2,1	2,7	1,7
Reator 3	4º	12	4,7	3,6	5,7	1,7	2,1	1,4

-- Não mensurado.

Tabela 10. Resultados de toxicidade crônica em *R. subcapitata*.

Reator	Amostra	Semana de operação	TDH	UTc	Limite inferior	Limite superior
Esgoto bruto	1	1º	12	2,5	1,4	30,2
Esgoto bruto	2	2º a 4º	12	10,2	5,2	26,9
Esgoto bruto	3	1º e 2º	9	11,9	4,8	N/A
Esgoto bruto	4	3º e 4º	9	10,3	4,7	12,6
Esgoto bruto	5	1º a 3º	6	5,7	5,3	8,8
Esgoto bruto	6	4º	6	7,7	4,6	19,7
UASB	1	1º	12	10,5	4,2	30,2
UASB	2	2º	12	5,5	2,7	N/A
UASB	3	3º	12	14,6	10,0	N/A
UASB	4	4º	12	6,7	5,4	9,2
UASB	5	1º	9	6,9	2,2	N/A
UASB	6	2º	9	6,8	4,9	14,0
UASB	7	3º	9	5,8	4,1	24,1
UASB	8	4º	9	8,5	4,1	N/A
UASB	9	1º	6	25,0	3,4	N/A
UASB	10	2º	6	13,8	10,4	N/A
UASB	11	3º	6	11,3	5,5	19,2

N/A - Not available (Não disponível).

Tabela 11. Resultados de toxicidade crônica em *R. subcapitata* (continuação).

Reator	Amostra	Semana de operação	TDH	UTc	Limite inferior	Limite superior
UASB	12	4º	6	6,8	5,5	21,5
UASB (ME)	1	1º	12	5,1	3,8	67,6
UASB (ME)	2	2º	12	8,5	2,5	N/A
UASB (ME)	3	3º	12	5,7	2,9	7,4
UASB (ME)	4	4º	12	5,3	2,7	7,6
UASB (ME)	5	1º	9	9,3	2,1	23,3
UASB (ME)	6	2º	9	6,3	4,9	N/A
UASB (ME)	7	3º	9	5,8	4,4	6,8
UASB (ME)	8	4º	9	8,4	4,6	22,9
UASB (ME)	9	1º	6	10,1	6,3	13,9
UASB (ME)	10	2º	6	10,5	5,4	14,3
UASB (ME)	11	3º	6	12,3	10,1	15,0
UASB (ME)	12	4º	6	6,5	4,5	23,8
AnHR	1	1º	12	4,4	1,8	8,0
AnHR	2	2º	12	12,4	6,6	N/A
AnHR	3	3º	12	20,6	2,1	N/A
AnHR	4	4º	12	7,0	4,8	15,6
AnHR	5	1º	9	5,9	4,8	240,7
AnHR	6	2º	9	6,4	4,9	N/A
AnHR	7	3º	9	6,7	2,3	33,7
AnHR	8	4º	9	7,4	5,0	N/A
AnHR	9	1º	6	33,7	6,7	N/A
AnHR	10	2º	6	13,3	11,1	28,5
AnHR	11	3º	6	11,6	7,1	13,8
AnHR	12	4º	6	8,3	4,4	19,8

N/A - *Not available* (Não disponível).

Tabela 12. Resultados do teste YES.

Amostra	Semana	TDH	EQ-E2 (ng/L)
Esgoto bruto	1°	12	43,2
Esgoto bruto	2° a 4°	12	41
Esgoto bruto	1° e 2°	9	24,1
Esgoto bruto	3° e 4°	9	70,7
Esgoto bruto	1° a 3°	6	42,2
Esgoto bruto	4°	6	27,9
UASB	1°	12	49,6
UASB	2°	12	162,8
UASB	3°	12	77,4
UASB	4°	12	52,5
UASB	1°	9	45,4
UASB	2°	9	44,7
UASB	3°	9	66,6
UASB	4°	9	40,3
UASB	1°	6	56,7
UASB	2°	6	53,2
UASB	3°	6	24
UASB	4°	6	49,9
UASB (ME)	1°	12	67,2
UASB (ME)	2°	12	78,3
UASB (ME)	3°	12	41,7
UASB (ME)	4°	12	29,2
UASB (ME)	1°	9	56,9
UASB (ME)	2°	9	31,7
UASB (ME)	3°	9	72,1
UASB (ME)	4°	9	44,8
UASB (ME)	1°	6	72,6
UASB (ME)	2°	6	46,2
UASB (ME)	3°	6	19
UASB (ME)	4°	6	19,3
AnHR	1°	12	87,8
AnHR	2°	12	78,3
AnHR	3°	12	46,7
AnHR	4°	12	75,3
AnHR	1°	9	63,7
AnHR	2°	9	25,9
AnHR	3°	9	63,4
AnHR	4°	9	30,8

Tabela 13. Resultados do teste YES (continuação).

AnHR	1°	6	58,4
AnHR	2°	6	49,1
AnHR	3°	6	24,5
AnHR	4°	6	30