

**CENTRO UNIVERSITÁRIO TABOSA DE ALMEIDA - ASCES/UNITA
BACHARELADO EM ENGENHARIA AMBIENTAL**

EMANUELE DIÓGENES GUERRA

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO FERRO E DO SULFATO NA
DEGRADAÇÃO DE PARACETAMOL EM REATORES BIOLÓGICOS
ANAERÓBIOS**

CARUARU

2017

EMANUELE DIÓGENES GUERRA

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO FERRO E DO SULFATO NA
DEGRADAÇÃO DE PARACETAMOL EM REATORES BIOLÓGICOS
ANAERÓBIOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao NTCC do Centro Universitário Tabosa de Almeida – ASCES/UNITA, como requisito para obtenção do grau de bacharel em Engenharia Ambiental, sob orientação da Professora DSc. Luiza Feitosa Cordeiro.

CARUARU

2017

EMANUELE DIÓGENES GUERRA

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO FERRO E DO SULFATO NA DEGRADAÇÃO
DE PARACETAMOL EM REATORES BIOLÓGICOS ANAERÓBIOS**

Aprovada em: __/__/2017.

Nota: ____

Prof. DSc. Deivid Sousa de Figueiroa
(Examinador 1)

Prof. MSc. Maria Monize Moraes
(Examinador 2)

Prof. DSc. Luiza Feitosa Cordeiro – ASCES/UNITA
(Orientador)

CARUARU

2017

AGRADECIMENTOS

A princípio e em todos os momentos gostaria de agradecer a Deus, por me dar forças e saúde para permanecer nessa caminhada e conseguir finalizá-la, por me proteger e colocar pessoas iluminadas ao meu redor que me guiam e me dão discernimento.

A meus pais, Anamélia Diógenes Guerra e Eriedson Arruda Guerra, por me amarem, me educarem e por sempre fazerem o possível e o impossível para que eu realizasse meus sonhos.

Às minhas irmãs, Érica Diógenes e Priscila Diógenes, que compartilharam e compartilham todos os momentos da minha vida.

À mais nova flor do nosso jardim, Melody Master Fox, que transforma meus finais de semana numa amorosa diversão canina.

À minha família que se fizeram presentes no decorrer da minha caminhada, questionando e apoiando minhas conquistas, como minha tia Marlete Diógenes e meus primos.

À Professora DSc. Luiza Feitosa Cordeiro de Souza, pela orientação, ensinamentos e confiança depositada em mim, sou grata por ter me acolhido como uma filha, não apenas como aluna.

Aos professores Ângela Andrade, Cláudio Oliveira, Deivid Figueiroa, Deivson César, Luiz Gonzaga, Maria Monize e Helder Parente (*in memoriam*), que são exemplos de educação acadêmica e me emprestaram um tanto dos seus conhecimentos.

Aos demais professores aqui não citados, mas que contribuíram para a minha formação desde o maternal até a graduação.

À minha “co-orientanda” Janielle Matos, que me ajudou durante a execução do projeto e com quem tive a honra de trabalhar anteriormente. Foi e é um anjo na minha vida com quem espero trabalhar durante muito tempo.

À engenheira ambiental Nyanne Marina Araújo, que permitiu que eu desse continuidade ao seu projeto e me ajudou a executar esta tarefa, se mostrando uma grande profissional.

Ao projeto Pronex que financiou e me proporcionou realizar este trabalho. Ao LEA (Laboratório de Engenharia Ambiental) da UFPE (Universidade Federal de Pernambuco) campus agreste e campus Recife, que auxiliou em todos os momentos que precisei antes e durante a execução do projeto.

À Danubia Freitas, que ajudou em todas as análises necessárias.

Aos funcionários da instituição ASCES/UNITA, que me ajudaram, sempre com um sorriso no rosto, me apoiando e acompanhando toda a minha trajetória durante a minha vida acadêmica e na execução deste projeto.

Aos meus queridos amigos, Alysson Cláudio, Gustavo Tabosa, Gutemberg Cavalcanti e Joais Viscente, que me acolheram e fizeram o meu dia-a-dia mais feliz, obrigada por serem uma verdadeira equipe de amigos. Agradeço pela amizade e apoio de Amanda Caroline e Davi Araujo, pessoas verdadeiras e de caráter, que pude conhecer e conviver durante os últimos cinco anos. Espero que essas amizades perpetuem por anos.

À Carolynne Lopes, amiga leal que sempre me acompanhou em todos os momentos, compartilhando e torcendo por mim, mesmo seguindo caminhos distintos. Temos sonhos diferentes, mas com o mesmo objetivo, tornar o mundo melhor, e estamos no caminho certo.

À Amanda Silvestre, Danielle França e Letícia de Melo, pelo companheirismo, pois mesmo tão diferentes conseguimos converter nossas diferenças em harmonia no pequeno apartamento 01.

DEDICATÓRIA

Dedico a minha mãe Anamélia Diógenes Guerra, que é o meu maior exemplo, mulher guerreira que sonhou comigo em todos os momentos.

“É preciso abandonar os medos e abrir as asas com muita força e determinação se realmente quisermos ter voos altos. É preciso ter fé em Deus e muita confiança nele se quisermos conquistar, vencer e florescer. É preciso acreditarmos em nós e por nada nessa vida deixarmos com que a negatividade dos outros nos faça desacreditar em dias bonitos, em milagres esperados ou em bênçãos pedidas em oração. Ter fé não significa estar livre em momentos difíceis, mas ter a força para enfrenta-los sabendo que não estamos sozinhos”.

(Cecilia Sfalsin)

RESUMO

O tratamento de doenças como Zika, Chicungunya e Dengue é feito com medicamentos à base de paracetamol (acetaminofeno). Ao ser consumido, parte desse medicamento é excretado pelo corpo humano, sendo direcionado para o esgoto doméstico, podendo ser descartado também pelas indústrias farmacêuticas que não fazem o tratamento prévio do seu efluente. Cerca de 50% do esgoto sanitário gerado no Brasil não passa por um tratamento prévio antes de ser lançado nos cursos d'água. O descarte incorreto de medicamentos pode afetar a fauna a flora e os recursos naturais, modificando as propriedades físicas, químicas e biológicas do meio. A degradação de substâncias provenientes de medicamentos já é possível em sistemas biológicos anaeróbios, que é o mais utilizado no Brasil devido as suas condições climáticas favoráveis. O presente estudo mostra que é possível a degradação do paracetamol em sistemas biológicos anaeróbios, e esclarece quais as rotas utilizadas pelos microrganismos para a degradação desse composto. Foram montados reatores anaeróbios em batelada, com condições distintas de concentração de ferro e sulfato para observar o comportamento dos microrganismos em cada rota anaeróbia, pois as bactérias redutoras de ferro e as bactérias redutoras de sulfato tem a característica de inibir a ação das *arqueas* metanogênicas. Analisou-se parâmetros, como a degradação da DQO, a degradação do paracetamol, a produção de metano e o fatorial de como as concentrações de ferro e sulfato influenciaram nos reatores. O Reator 5 (controle), se destacou nas análises fatoriais, mesmo operando em menos tempo que os demais, teve uma eficiência de degradação da DQO de 88% e uma produção de 68% de metano. O Reator 4, mesmo em condições de máxima concentração de ferro e de sulfato, apresentou resultados satisfatórios, obteve uma degradação de 99% da DQO, 98% de degradação do paracetamol e sua produção de metano foi acima do esperado. A introdução de Ferro e Sulfato tem a capacidade de influenciar na degradação do paracetamol sem inibir a produção de metano, sendo assim, o paracetamol é degradado pelas três rotas, as redutoras de ferro, as redutoras de sulfato e pelas *arqueas* metanogênicas.

Palavras-chave: paracetamol, sulfato, ferro.

ABSTRACT

Acetaminophen is used in treatment of diseases such as Zika, Chikungunya and Dengue. When the human body excretes part of this consumed medicine, being directed to the wastewater, can also be discarded by the pharmaceutical industries that do not make the pretreatment of its effluent. About 50% of wastewater generated in Brazil does not go through a previous treatment before being launched into the water courses. Improve discharge of medicines can affect fauna, flora and natural resources by modifying the physical, chemical and biological properties of the environment. The degradation of substances from medicines is already possible in anaerobic biological systems, which is the most used in Brazil due to its favorable climatic conditions. It is possible the degradation of acetaminophen in anaerobic biological systems, and it clarifies the routes used by the microorganisms for the degradation of this compound. Anaerobic reactors were assembled in batch, with different conditions of iron and sulfate concentration, to observe the behavior of the microorganisms in each anaerobic route, because the iron reducing bacteria and the sulfate reducing bacteria have the characteristic of inhibiting the action of the methanogenic archaea. COD, remove acetaminophen, methane production, and the factorial of how the concentrations of iron and sulfate influenced the reactors. Reactor 5 (control), stood out in the factorial analyzes, even when operating in less time than the others, had a COD degradation efficiency of 88% and a production of 68% of methane. Reactor 4, even under conditions of maximum concentration of iron and sulfate, presented satisfactory results, obtained a degradation of 99% of COD, 98% of acetaminophen degradation and its methane production was higher than expected. The introduction of iron and sulfate has the ability to influence the degradation of acetaminophen without inhibiting the production of methane, so the three routes, the iron reducing, the sulfate reducing and the methanogenic archaea degrade acetaminophen.

Key words: acetaminophen, sulfate, iron.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1. OBJETIVO	15
2.1. GERAL	15
2.2. ESPECÍFICOS	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
3.1 IMPACTO AMBIENTAL	16
3.2 DESCARTE INCORRETO DE MEDICAMENTOS NO MEIO AMBIENTE.....	16
3.3 PARACETAMOL	17
3.4 TRATAMENTO BIOLÓGICO	18
3.4 PROCESSO ANAERÓBIO.....	19
Substrato	21
3.4 METANOGÊNICAS (PRODUÇÃO DE METANO).....	22
3.5 BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO	22
3.6 BACTÉRIAS REDUTORAS DE FERRO III	22
3.7 PLANEJAMENTO FATORIAL	23
3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
5.1 DQO	29
5.2 PARACETAMOL	33
5.3METANO	35
5.6 TESTE FATORIAL	38
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
REFERÊNCIAS	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Rotas de contaminação e exposição humana aos fármacos e desreguladores endócrinos....	17
Figura 2. Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia (com redução de sulfato e ferro).....	20
Figura 3. Reator e suas constituições	24
Figura 4. Sistema de reatores anaeróbios em batelada.....	25
Figura 5. Composição de cada reator.....	27

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Tempo de degradação da DQO presente nos reatores.....	29
Gráfico 2. Taxas de remoção de DQO	30
Gráfico 3. Influência do ferro e do sulfato na taxa de degradação da DQO (A)	31
Gráfico 4. Influência do Ferro e do Sulfato na degradação do paracetamol	34
Gráfico 5. Metano teórico e Metano real produzido	35
Gráfico 6. Eficiência e produção de metano	36
Gráfico 7. Influência do ferro e do sulfato na AME.....	37
Gráfico 8. Influências das concentrações de ferro e sulfato na degradação do paracetamol.....	39
Gráfico 9. Teste de Pearson para a influência do Ferro e do Sulfato na degradação do Paracetamol..	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Matriz de planejamento fatorial.....	26
Tabela 2. Composição e concentração dos componentes na preparação da água residuária sintética (ARS) para uma solução com 3200 mg/L, de DQO.....	26
Tabela 3. Concentração dos reagentes para preparação das soluções nutrientes	27
Tabela 4. Concentrações e quantidades de cada componente	27
Tabela 5. Massas iniciais e finais do paracetamol, e suas respectivas eficiências de remoção.....	33
Tabela 6. Atividade Metanogênica Específica	37
Tabela 7. Valores determinantes na influência do ferro e sulfato na produção de metano	38
Tabela 8. Efeito do ferro e do sulfato na AME	38
Tabela 9. Valores determinantes na influência de degradação do paracetamol	39
Tabela 10. Método de teste ANOVA	41

LISTA DE QUADRO

Quadro 1. Identificação dos impactos ambientais causados pelo descarte doméstico de medicamentos	16
---	----

LISTA DE EQUAÇÃO

Equação 1. Equação da significância -----	41
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AGV	Ácidos graxos voláteis
AME	Atividade metanogênica específica
ANOVA	Análise de Variância
DQO	Demanda química de oxigênio
DMS	Diferença Mínima Significativa
ETE	Estação de Tratamento de Efluente
FMEA	Failure Mode and Effect Analysis
NBR-ISO	Norma Brasileira Regulamentadora - Organização Internacional de Normalização
pH	Potencial hidrogeniônico
PAC	Programa de Aceleração do Crescimento
PVDF	Fluoreto de polivinilideno
RDC	Regime Diferenciado de Contratações Públicas
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RSS	Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde
R1	Reator 1
R2	Reator 2
R3	Reator 3
R4	Reator 4
R5	Reator 5

1. INTRODUÇÃO

O Ministério da Saúde (MS) notificou entre janeiro e setembro de 2016, no Nordeste, 317.483 casos de dengue, 208.391 casos de Chikungunya e 74.190 casos de Zika (BRASIL, 2016). Com o aumento dessas epidemias, as indústrias passaram a produzir mais medicamentos à base de paracetamol, por ser o fármaco mais indicado para o tratamento dessas doenças, aumentando assim, o consumo pela população e, conseqüentemente, elevando o descarte de sobras deste medicamento e a sua concentração nos esgotos. Até os medicamentos que não são descartados e são consumidos (como parte do processo de recuperação da saúde) acabam sendo eliminados no meio ambiente. Fármacos de diversas classes terapêuticas, como antibióticos, hormônios, anti-inflamatórios entre inúmeras outras têm sido detectados em esgoto doméstico, águas superficiais e subterrâneas (SILVESTRI, 2006).

O aumento dessas doenças entre os anos de 2015 e 2016 é decorrente da má gestão de resíduos e da crise no setor de saneamento do país. Segundo o Instituto Trata Brasil, apenas 48,6% da população brasileira tem acesso à coleta de esgoto, ou seja, menos da metade da população tem seu esgoto tratado, dados do mesmo instituto mostram também que 47% das obras de esgoto monitoradas pelo Programa de Aceleração do Crescimento (PAC) estão em situação inadequada (BRASIL, 2016). De acordo com a Resolução Regime Diferenciado de Contratações Públicas (RDC) N° 306/04 legislação brasileira, as instituições de saúde são as responsáveis pelo correto gerenciamento de todos os resíduos gerados por eles, denominados Resíduos de Serviços da Saúde (RSS). Esta norma orienta as práticas corretas para as atividades realizadas por eles desde a geração até a sua destinação final; considera que a segregação dos RSS, no momento e local de sua geração, permite reduzir o volume de resíduos perigosos e a incidência de acidentes ocupacionais dentre outros benefícios à saúde pública e ao meio ambiente (EICKHOFF *et al.*, 2009). Porém essa legislação não é cumprida pela maioria das empresas, sendo muitos desses resíduos lançados *in natura* ou em outros locais, que são descarregados no esgoto residual.

O sistema biológico, aeróbios e anaeróbios, é o mais utilizado em estações de tratamento de esgoto, devido a sua alta eficiência de remoção de matéria orgânica, geração de resíduos naturais, pequena área de ocupação e a produção de biogás. Para Chernicharo (1997), existem

diversas vantagens na tecnologia anaeróbia, como baixa produção de sólidos, baixo consumo de energia, baixos custos de implantação e operação, tolerância a elevadas cargas orgânicas, e possibilidade de operação com elevados tempos de retenção de sólidos e baixos tempos de detenção hidráulica. Alves (2000) avaliou a recuperação e o uso energético do biogás gerado pela digestão anaeróbia de resíduos, efluentes domésticos e comerciais e efluentes industriais, no Brasil. Ele observou geração de 43 GgCH₄/ano e 84 GgCH₄/ano em estações de tratamento dos respectivos efluentes. Com esse trabalho ele pode concluir que a tecnologia anaeróbia é uma alternativa que pode melhorar o tratamento de efluentes e a relação custo-benefício dos investimentos em saneamento.

Devido aos benefícios de operação e manutenção dos sistemas anaeróbios em tratamento de efluente, o conhecimento e domínio da degradação e do efeito inibidor de diversos compostos submetidos a estes sistemas pode aumentar sua aplicação em diferentes tipos de efluentes. A remoção e degradação do composto paracetamol, por exemplo, pode ser realizada por sistemas anaeróbios, mas algumas lacunas sobre sua completa mineralização ainda não foram elucidadas. Sendo assim, este trabalho tem o intuito de avaliar a influência do ferro e do sulfato na digestão anaeróbia na degradação e remoção do fármaco paracetamol em águas residuais, pois em ambientes anaeróbios as bactérias redutoras de ferro III, bactérias redutoras de sulfato e as *arqueas* metanogênicas competem pelo mesmo substrato para a produção de gás carbônico, gás sulfídrico e metano, respectivamente (CHENG, 2007).

1. OBJETIVO

2.1. GERAL

Identificar a rota de degradação do paracetamol por microrganismos anaeróbios presentes em biomassa de estação de tratamento de efluentes.

2.2. ESPECÍFICOS

- Avaliar a influência da concentração de ferro na degradação do paracetamol por bactérias redutoras ferro III.
- Avaliar a influência da concentração de sulfato na degradação do paracetamol por bactérias redutoras sulfato.
- Avaliar o efeito de interação da concentração de ferro e sulfato na degradação do paracetamol por bactérias metanogênicas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 IMPACTO AMBIENTAL

Ao longo dos anos alterações hormonais em peixes, na composição do solo, das águas e do ar estão sendo identificadas e registradas por estudiosos, algumas substâncias que causam essas alterações são encontradas nos fármacos. O impacto ambiental é definido pela NBR ISO 14.001:2004, como uma consequência de atividades, produtos ou serviços de uma organização que causam modificações ambientais, ou impactos (SÁNCHEZ, 2008).

Barcelos *et al.* (2011), identificou os possíveis impactos ambientais causados pelo descarte incorreto de fármacos, através do método FMEA (do inglês – Failure Mode and Effect Analysis), como mostra o Quadro 1.

Quadro 1. Identificação dos impactos ambientais causados pelo descarte doméstico de medicamentos

Quais seriam os efeitos ao meio ambiente?	
ATIVIDADE	IMPACTOS AMBIENTAIS
Lançamento de resíduos de fármacos no ambiente através de esgotos domésticos, tratados ou não	Contaminação das águas
Efluentes rurais – Presença de fármacos no esterco animal utilizado para adubação de solos	Contaminação do solo
Inibição da atividade das bactérias, impedindo-as de agir na biodegradação do lixo doméstico	Contaminações de trabalhadores que lidam com o lixo doméstico diariamente
Utilização de medicamentos excretados sem alterações	Persistência no meio ambiente
Contaminação de alimentos	Contaminação residual dos animais

Fonte: Adaptado, Barcelos *et al.* (2011).

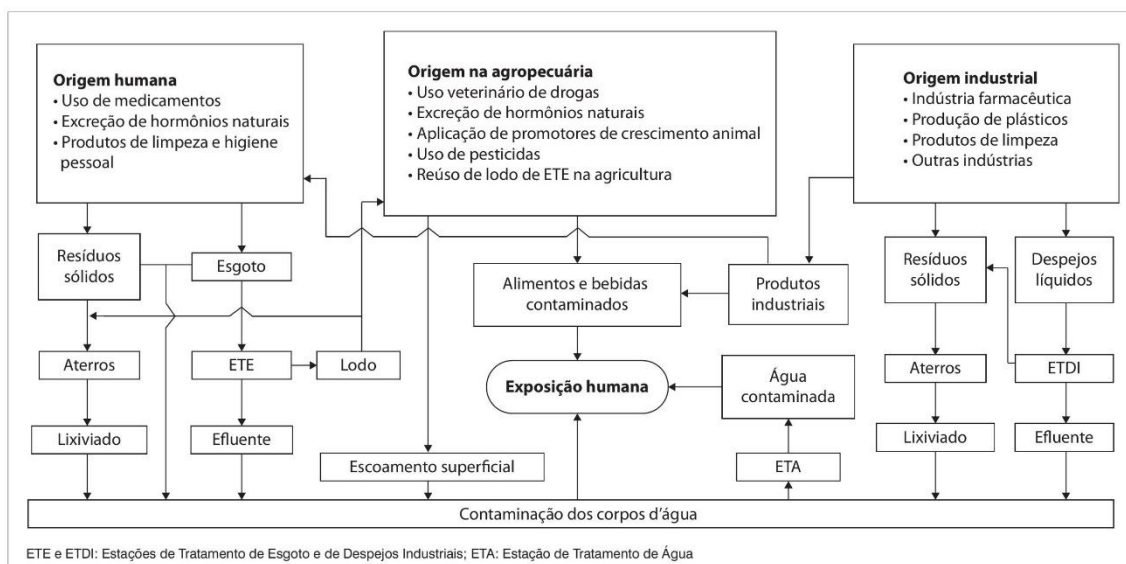
3.2 DESCARTE INCORRETO DE MEDICAMENTOS NO MEIO AMBIENTE

O alto consumo de medicamentos pela população decorre da facilidade de obtenção dos fármacos, já que são vendidos em sua maioria sem prescrição médica e recebem incentivo de farmácias e mídias. Além do problema de saúde que esse consumo pode causar, ele também pode gerar distúrbios no meio ambiente, devido a sua forma de descarte. Segundo Gasparini *et al.* (2011), o descarte inadequado acontece por falta de informação e divulgação sobre os problemas que os medicamentos podem causar, e da falta de postos de coleta. A disposição final mais adequada segundo a Lei nº 12.305/10 são aterros controlados, porém só alguns municípios do país dispõem de tal e em alguns

casos são operados de forma inadequada, nos demais a disposição final é em lixões, onde os resíduos são lançados diretamente no solo, causando impactos no mesmo, no ar e em cursos d'água (GUERRA *et al.*, 2016).

De acordo com Bila e Dezotti (2003) muitas dessas substâncias são frequentemente encontradas em efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) e águas naturais, em concentrações traço (em unidades de $\mu\text{g/L}$ e ng/L). Os fármacos são resistentes a tratamentos de água convencionais e muitas ETEs não fazem o tratamento específico das substâncias neles presentes. A Figura 1 mostra as possíveis rotas de contaminação que podem ser causadas por fármacos.

Figura 1. Rotas de contaminação e exposição humana aos fármacos e desreguladores endócrinos



Fonte: Aquino *et al.*, 2013.

Segundo o Ministério da Saúde (2016) no ano de 2016 houve um crescimento de 85% de casos da doença chikungunya, com relação ao ano de 2015. Foram notificados 251.051 de chikungunya, de dengue foram 1.458.355 casos prováveis e 208.867 notificações da doença Zika. Para o tratamento dessas enfermidades o fármaco mais utilizado e recomendado é o paracetamol.

3.3 PARACETAMOL

O paracetamol ou acetaminofeno é o metabólito ativo da fenacetina e um analgésico derivado do alcatrão, é um fármaco com propriedades analgésicas que está presente em diversos medicamentos. Pode ser utilizado por adultos e crianças. Este medicamento está

incluído na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), que é a lista dos medicamentos mais usados no Brasil, atualizada a cada dois anos. Segundo a lista de 2015, o paracetamol é um componente básico e estratégico, muito utilizado atualmente para surtos de dengue e febre de chikungunya (BRASIL, 2015; GOODMAN E GILMAN, 2003).

Ele é descrito frequentemente como um dos fármacos mais consumidos no planeta e quando administrado em doses terapêuticas esse fármaco pode ser excretado pela urina de 90 a 100% sem alteração no primeiro dia de ingestão, ou seja, as substâncias que formam o paracetamol serão lançadas no meio ambiente sem sofrer nenhum tipo de alteração (GOODMAN E GILMAN, 2003). O crescimento no consumo de paracetamol está provocando um aumento na concentração desse fármaco em estações de tratamento de esgoto. Ghiselli (2006) detectou concentração de paracetamol de 0,018 mg/L e 0,006 mg/L em esgotos domésticos brutos e tratados, respectivamente na ETE Samambaia na cidade de Campinas, São Paulo, e concentrações inferiores a 0,025 mg/L em águas superficiais. Em 2009, Américo *et al.* (2012) encontraram concentrações de 1,5 mg/L no córrego da onça (MS).

O paracetamol se apresenta como o segundo fármaco entre os analgésicos com maior incidência em esgotos sanitários, com maior ocorrência em efluentes de ETE e também é encontrado em águas superficiais. O tratamento biológico é utilizado na maioria das ETES, por ser um tratamento eficiente e econômico, no Brasil é o mais viável devido a seu clima favorável. Não existem muitos estudos a respeito da degradação de paracetamol a partir desse tratamento, mas a degradação de fármacos em geral já é possível.

3.4 TRATAMENTO BIOLÓGICO

Segundo Freire *et al.* (2000), o processo biológico é muito usado, pois permite o tratamento de grandes volumes de efluente transformando compostos orgânicos em CO₂ e H₂O (ou CH₄ e CO₂), com custos relativamente baixos. Esse processo consiste em utilizar compostos que seriam descartados como substrato, fonte de carbono e energia, para o crescimento e manutenção de microrganismos. Os processos bioquímicos de digestão que ocorreriam nos corpos hídricos e/ou no solo de forma lenta, são acelerados

e favorecidos em reatores de digestão e contenção de elevada concentração de microrganismos. Os processos biológicos podem ser divididos em aeróbios (presença de oxigênio molecular) ou anaeróbios (ausência de oxigênio molecular).

3.4 PROCESSO ANAERÓBIO

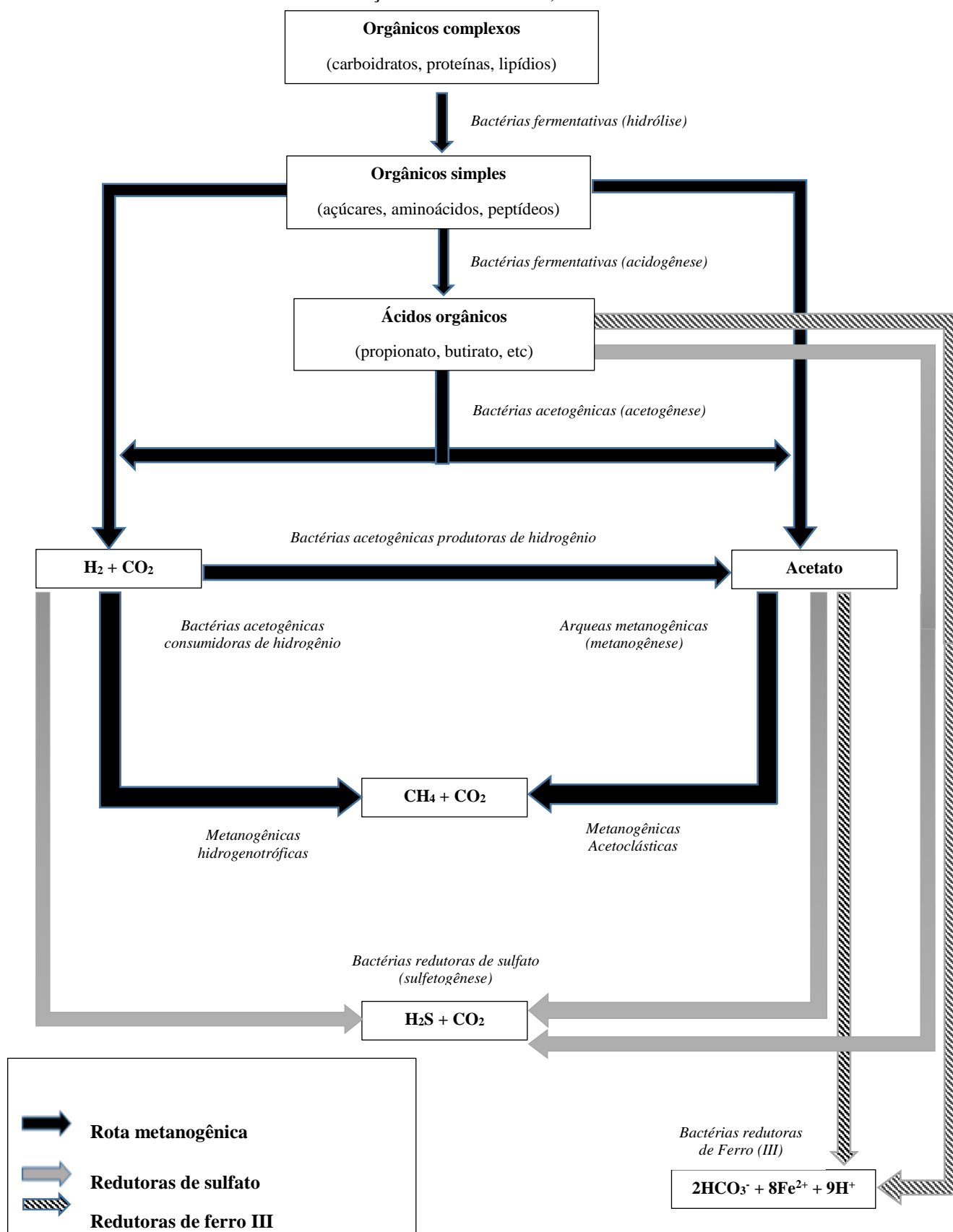
Na digestão anaeróbia compostos orgânicos grandes são convertidos em pequenas moléculas, tendo o biogás e lodo como os produtos finais. Esse processo é realizado por microrganismos sintróficos. Isto é, uma espécie degrada parcialmente um composto, gerando um composto menor que é consumido por outro grupo de microrganismos, até a formação de um composto estável. A digestão anaeróbia é dividida em quatro etapas, basicamente (OLIVEIRA, 2015):

- Hidrólise – nesta etapa acontece a quebra de moléculas de elevado peso molecular, ou seja, os macronutrientes (carboidratos, lipídios, proteínas) em moléculas menores (ácidos graxos, aminoácidos, mono e dissacarídeos).
- Acidogênese – os produtos da hidrólise serão metabolizados por bactérias fermentativas formando produtos mais simples, como ácidos graxos, álcoois e ácidos.
- Acetogênese – nesta etapa os microrganismos acetogênicos transformam os produtos gerados na etapa anterior em hidrogênio, dióxido de carbono e acetato.
- Metanogênese – em alguns processos é a etapa final, os produtos formados na acetogênese são convertidos em metano e dióxido de carbono.

Quando há presença de sulfato na água residuária, em alguns casos, acontece a sulfetogênese. De acordo com Chernicharo (2007), nesse processo, o sulfato e outros compostos sulfurados são reduzidos a sulfeto por bactérias redutoras de sulfato. Outra rota que possivelmente pode acontecer é a redução de ferro. Silva (2007) descreve alguns grupos microbianos que são capazes de reduzir o Fe (III), utilizando-o como acceptor de elétrons. Essas rotas competem com a rota metanogênica.

A Figura 2 mostra as possíveis rotas metabólicas que podem acontecer na digestão anaeróbia.

Figura 2. Rotas metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia (com redução de sulfato e ferro)



Fonte: Adaptado de Chernicharo, 2007 Apud Lettinga et al, 1996.

A biodigestão anaeróbia representa uma alternativa para o tratamento de resíduos, pois além de permitir a redução do potencial poluidor e dos riscos sanitários dos dejetos ao mínimo, promove a geração do biogás, utilizado como de energia alternativa e permite a reciclagem do efluente, podendo ser utilizado como biofertilizante. Essa tecnologia é promissora no Brasil devido as suas condições climáticas, além de ser uma tecnologia viável, sustentável econômica e ecológica, dessa forma se destacando no país (AMARAL, 2004; AQUINO, 2005).

Substrato

Alguns fatores ambientais influenciam no desenvolvimento dos microrganismos, são eles o pH, a temperatura, solução de nutrientes, concentração e tipos de substrato, a demanda química de oxigênio (DQO), ácidos graxos voláteis (AGVs), macro e micronutrientes também interferem no desenvolvimento e no meio de cultivo dos microrganismos.

Os AGVs são os principais intermediários da digestão anaeróbia de compostos orgânicos presentes em resíduos e efluentes, eles contribuem com a DQO, aumentando a eficiência desta digestão. Em condições anaeróbias os microrganismos não dispõem de um acceptor final de elétrons, o substrato orgânico é ao mesmo tempo utilizado como acceptor e doador de elétrons, ou seja, uma parte do composto orgânico poluente é oxidada enquanto outra parte é reduzida, no processo conhecido como fermentação. Assim a DQO serve para medir indiretamente o valor dos elementos reduzidos presentes na amostra.

As necessidades nutricionais das populações microbianas dependem da composição química das células. A maioria das células vivas são formadas por compostos similares e com composição química similar, sendo assim para a nutrição adequada dos microrganismos é necessário que eles se alimentem de macro e micronutrientes. Os macronutrientes são elementos que servem de alimento para os microrganismos, são eles os carboidratos, proteínas e lipídios; os micronutrientes são os elementos que ajudam na manutenção da vida dos mesmos, porém em pequenas quantidades. Esses nutrientes são comumente encontrados em águas residuárias, por serem consumidos pela maioria dos organismos são também excretados por eles (MESQUITA *et al.*, 2013; FREIRE, 2008; CHERNICHARO, 2007; AQUINO, 2006; MENDONÇA, 2002).

3.4 METANOGÊNICAS (PRODUÇÃO DE METANO)

Para alguns autores, a metanogênese é a etapa final do processo de digestão anaeróbia, é feita por microrganismos metanogênicos, que se classificam no domínio *Archaea*. A maioria das *arqueas* tem capacidade de reduzir o CO₂ com H₂. Esses organismos são muito sensíveis ao oxigênio, por serem anaeróbias estritos, podendo ser inibidos e não se desenvolver na presença desse gás (SARTI, 2007).

3.5 BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO

Em sistemas de tratamento de esgoto, a remoção de hidrogênio da fase líquida é feita principalmente por microrganismos metanogênicos hidrogenotróficos, mas também por bactérias redutoras de sulfato. As bactérias sulforedutoras tem grande importância na digestão anaeróbia, devido ao seu produto final, o sulfeto de hidrogênio (SZARBLEWSKI *et al.*, 2012;).

Quando é identificado sulfato em águas residuárias, muitos compostos intermediários acabam sendo usados pelas bactérias sulforedutoras, elas passam a competir com as bactérias fermentativas, acetogênicas e metanogênicas, pelos substratos disponíveis no reator. Sendo assim, a remoção de DQO pelas sulfetogênese é mais favorável termoquimicamente que na metanogênese (CHERNICHARO, 2007).

3.6 BACTÉRIAS REDUTORAS DE FERRO III

A carência de aceptores de elétrons em condição anaeróbia é o principal fator limitante do crescimento de microrganismos. O ferro é um aceptor que em abundância se sobrepõe aos demais aceptores. Muita energia é consumida nas reações de fluxo reverso de elétrons, para que seja obtido o poder redutor necessário à fixação de CO₂ (MADIGAN *et al.*, 2010; SILVA, 2012).

O ferro ferroso pode ser oxidado por bactérias fototróficas, nesse caso o ferro ferroso é utilizado como doador de elétrons que supre as necessidades energéticas e o poder de redução dos microrganismos na redução de CO₂ (MADIGAN *et al.*, 2010).

3.7 PLANEJAMENTO FATORIAL

O planejamento fatorial é um sistema de estudo cujas respostas dependem de fatores. Esses fatores em sua maioria são variáveis que precisam de condições para controlar. O planejamento pode ser feito em dois níveis, para investigações preliminares que são os quantitativos e para investigações sofisticadas, os qualitativos, que permite a relação entre resposta e fator.

Planejamento fatorial 2^k , permite que se descubra se há efeitos significativos ou não, sendo ideal em estágios iniciais de experimentos. Esse planejamento fornece o menor número de tentativas para as quais os k fatores podem ser estudados em um planejamento fatorial completo (MONTGOMERY e RUNGER, 2009; BARROS, 2010).

3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

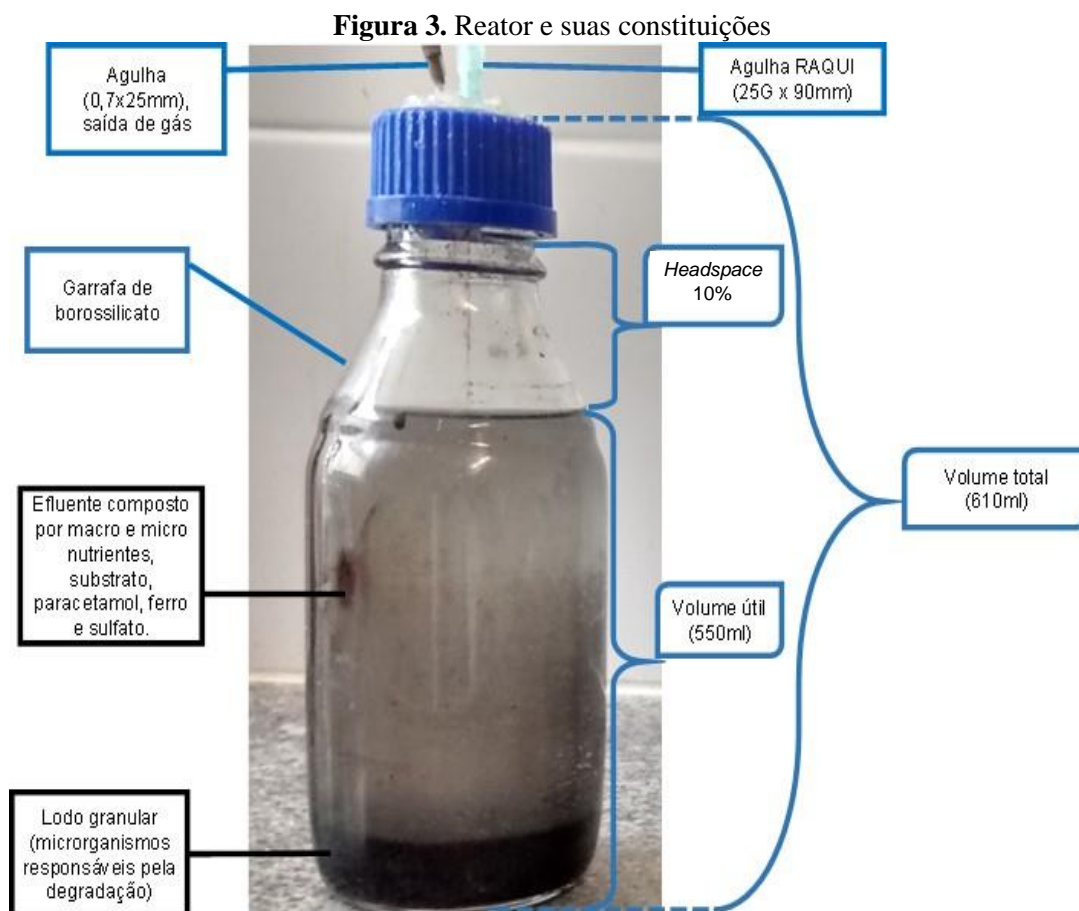
As análises estatísticas, são técnicas de confirmação de estudos. A Análise de Variância (ANOVA), é uma técnica que confirma a relação de resultados de experimentos utilizando dois ou mais fatores e pode introduzir regras práticas para componentes da variância. A ANOVA gera o teste de F, que é baseado na distribuição de Fisher, considerando o modelo aleatório. O teste F consiste no quociente entre duas variâncias, no caso a variância do tratamento pela variância do resíduo. Esse teste faz uma comparação e identifica quais os fatores significativos do estudo (VICINI, 2005; SILVA e SILVA, 2002).

Os testes de Tukey, são utilizados em comparações de médias para distinguir quais os contrastes que são significativos ou não, ou seja, é o método mais indicado para comparações entre as médias. Outro teste muito utilizado é o teste do valor de Pearson, esse valor corresponde ao nível de 5%, assim, fatores com valores acima desse nível são significativos, abaixo desse valor os fatores não possuem significância (SILVA e SILVA, 2002).

3. METODOLOGIA

Realizou-se a identificação de qual rota anaeróbia o composto paracetamol é degradado, metanogênica, redução do sulfato ou redução do ferro. Foram inoculados e operados reatores anaeróbios com as condições ajustadas para a ocorrência da rota metanogênica. Mas, por serem mais favoráveis as outras duas rotas inibem a metanogênese. Portanto, nos reatores ajustados para a rota metanogênica, foram adicionados sais de ferro ferroso e sulfato, e o comprometimento da degradação do paracetamol foi avaliado pela produção de metano.

As garrafas-reator foram operadas em regime de batelada, em três etapas, primeiro os três reatores de controle, após mais três reatores com concentrações distintas de ferro e sulfato e finalizando com o quarto reator de concentração diferente dos demais. Os reatores não foram operados ao mesmo tempo devido à falta de vidrarias, cada reator foi inoculado com volume total e útil de 610 e 550 ml, respectivamente, correspondendo a um *headspace* de 10% (FIGURA 3).



Fonte: Próprio autor

O sistema de coleta do biogás foi constituído de mangueiras tipo cristal, conexões em “T”, seringas de 3 mL e agulhas de 0,7x25 mm. O biogás produzido dentro da garrafa reator, saia através da agulha, era direcionado pela mangueira até outra garrafa chamada de lavador de gás. Nesta garrafa continha uma solução de NaOH 3% com indicador de azul de bromotimol, que permitia a passagem apenas de metano. Os demais gases (gás sulfídrico e gás carbônico) e água liberados no biogás ficavam solúveis na solução. A medida do deslocamento do metano foi feita através da pesagem em uma balança semi-analítica da marca QUIMIS, modelo BK 3000, onde 1 grama de hidróxido de sódio pesado corresponde a 1mL de metano deslocado.

Foi inserida uma agulha RAQUI (25G x 90 mm) nos reatores para poder coletar amostras para as análises (FIGURA 4).

Figura 4. Sistema de reatores anaeróbios em batelada



Fonte: Próprio autor.

Para identificar quantos testes eram necessários, utilizou-se um planejamento fatorial 2^k com um ponto central em triplicata, onde o número “2” representa o número de valores testados de cada fator e k é o número de fatores avaliados, sendo neste caso, a variação da concentração de ferro e a de sulfato. A escolha dos valores de cada fator testado foi baseada na literatura que fornecia a quantidade mínima para sobrevivência dos microrganismos e a quantidade necessária para favorecer cada rota. O ponto central

corresponde ao valor médio entre estes dois valores, que determina o tipo de comportamento entre as concentrações de ferro e sulfato e a degradação de paracetamol em linear ou quadrático. Assim, foram inoculados 4 reatores (2^2) + 3 reatores com o valor médio (triplícata do ponto central) resultando em um total de 7 reatores. Na Tabela 1 segue a matriz de planejamento utilizada para inocular as garrafas-reator e realizar os testes estatísticos posteriores.

Tabela 1. Matriz de planejamento fatorial

Fator	[Fe]	[SO ₄]
	Garrafa-reator	
1	-1 (25 mg/L)	-1 (210 mg/L)
2	+1 (260 mg/L)	-1 (210 mg/L)
3	-1 (25 mg/L)	+1 (993 mg/L)
4	+1 (260 mg/L)	+1 (993 mg/L)
5.1	0	0
5.2	0	0
5.3	0	0

Os reatores foram inoculados com lodo granular, substrato, solução de nutrientes e solução complementar de ferro e de sulfato. O lodo usado foi proveniente de uma ETE industrial de cervejaria, com concentração de 100 gSSV/L. O substrato foi formado por uma composição simulando a água residuária sintética, composta por uma solução de amido, sacarose, caldo de carne, celulose e óleo de soja comercial (TABELA 2), com a composição e concentração dos componentes na preparação de água residuária sintética seguindo Torres (1992).

Tabela 2. Composição e concentração dos componentes na preparação da água residuária sintética (ARS) para uma solução com 3200 mg/L, de DQO

Composto	Concentração (mg/L)	Porcentagem	
Carboidrato	Sacarose	112	5,69
	Amido	364	18,49
	Celulose	54,4	2,76
Proteínas	Extrato de carne	332,8	16,91
Lípido	Óleo de soja	81,6 (mL/L)	4,14
Sais	NaCl	500	25,40
	MgCl ₂ .6H ₂ O	14	0,71
	CaCl ₂ .2H ₂ O	9	0,45
Tampão	NaHCO ₃	500	25,40
		1968	100

Fonte: Torres, 1992

A solução de nutrientes adicionada era composta por macro e micronutrientes, como mostrado na Tabela 3, e sua função foi disponibilizar nutrientes em concentrações traço para auxiliar no desempenho ótimo dos microrganismos e corrigir a salinidade e tamponamento do meio (AQUINO *et al.*, 2005; CHERNICHARO, 2007).

Tabela 3. Concentração dos reagentes para preparação das soluções nutrientes

Solução	Reagente	Concentração (g/L)
Macronutrientes	NH ₄ Cl	0,280
	K ₂ HPO ₄	0,252
	MgSO ₄ .7 H ₂ O	0,100
	CaCl ₂	0,007
	NaHCO ₃	3,316
	Extrato de levedura	0,100
Micronutrientes	FeCl ₂ .4H ₂ O	2,000
	ZnCl ₂	0,050
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,500
	NiCl ₂ .6H ₂ O	0,142
	NaSeO ₃ .5H ₂ O	0,164
	H ₃ BO ₃	0,050
	CuCl ₂ .2H ₂ O	0,038
	CoCl ₂ .6H ₂ O	2,000
	AlCl ₃ .6H ₂ O	0,090
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,050
	EDTA	1,000
	Resazurina	0,200
HCl	1,000 (mL/L)	

Fonte: Florencio (1994)

Para corrigir as concentrações de ferro e sulfato propostas na matriz de planejamento, foram preparadas soluções extras destes minerais e volumes correspondentes foram adicionados. Na Tabela 4, pode-se observar um resumo das concentrações e quantidades de cada componente calculado para obter as concentrações desejadas em cada garrafa-reator. A concentração de paracetamol foi determinada segundo Araújo (2016). A Figura 5 ilustra a quantidade de cada solução adicionada aos reatores.

Tabela 4. Concentrações e quantidades de cada componente

GARRAFAS	LODO	SUBSTRATO	SOLUÇÃO DE NUTRIENTES	SULFATO	FERRO	PARACETAMOL	ÁGUA
	Concentração (gSSV/L)	Concentração (mgDQO/L)	Concentração (%)	Concentração (mg/L)	Concentração (mg/L)	Concentração (mg/L)	Volume (ml)
1	2	500	20	210	25	30	303
2	2	500	20	210	260	30	194
3	2	500	20	993	25	30	148
4	2	500	20	993	260	30	39
5.1	2	500	20	601	142	30	347
5.2	2	500	20	601	142	30	347
5.3	2	500	20	601	142	30	347

Figura 5. Composição de cada reator

Fonte: Próprio autor.

A cada 48 horas uma amostra do sobrenadante foi coletada para ser determinada a DQO, e a cada 24 horas foi medido o metano produzido através do deslocamento de líquido. O tempo de incubação foi estimado de acordo com a velocidade de produção de metano. O período foi finalizado ao atingir a fase estacionária. No início e final do período de incubação foi analisada a concentração de paracetamol. As análises foram feitas seguindo o Manual de Procedimentos do Laboratório de Saneamento Ambiental (KATO *et al.*, 2014).

A DQO foi analisada pelo método colorimétrico. Em cubetas com tampas rosqueadas transferiu-se 2,5 mL da amostra, o mesmo procedimento foi feito com água deionizada, representando o branco. Adicionou-se 1,5 mL de dicromato de potássio 0,25 N e 3,5 mL de ácido sulfúrico concentrado P.A. Os tubos foram agitados em vortex (marca QUIMIS, modelo Q220M), logo após foram colocados em um bloco digestor, da marca HANNA instruments, modelo HI 839800, a 150 °C por 2 horas. Após esfriar os tubos, foram limpos com papel higiênico macio embebido em álcool etílico comercial, a leitura foi realizada em espectrofotômetro da marca *biospectro*, no modelo SP-22, em cubetas de quartzo, no comprimento de onda de 620 nm (APHA, 2012).

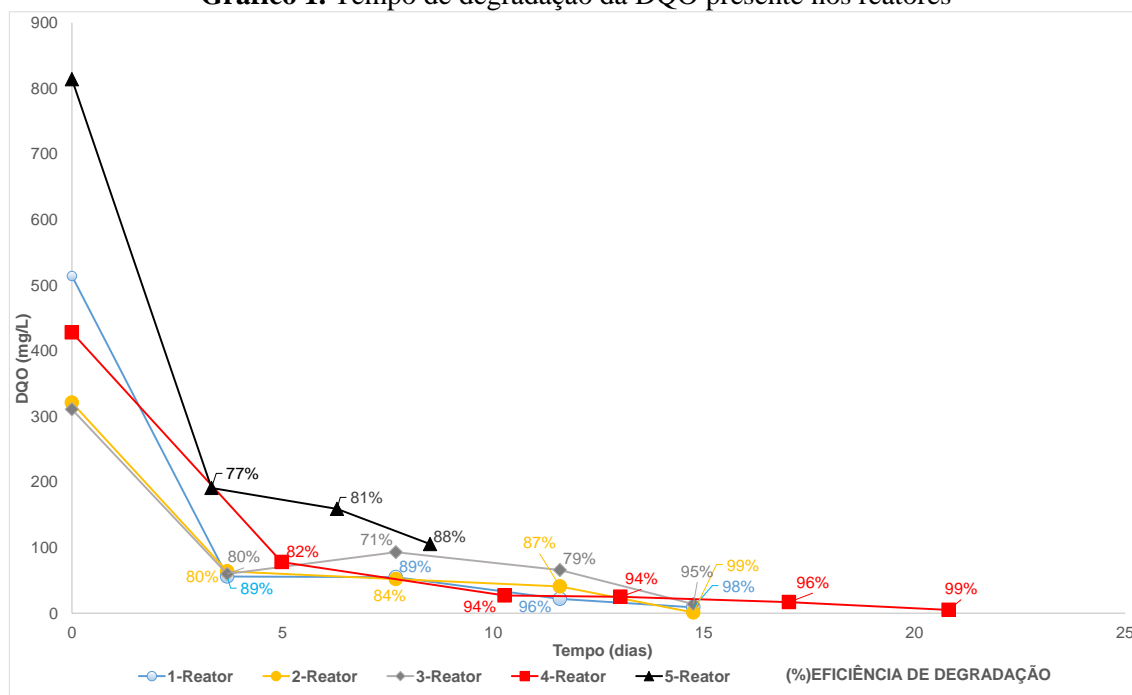
No estudo foram utilizados comprimidos a base de paracetamol, a análise do paracetamol foi feita inicialmente e no final do experimento, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As amostras foram previamente filtradas em filtro de PVDF 0,22 µm e transferidas para um vial de 2 mL, do próprio cromatografo, da marca Shimadzu, modelo LC-20AT. A coluna utilizada foi uma C18 (Shim-pack CLC - ODS – M - 150mm x4.6mm), detector de Arranjo de Diódos PDA (Photodiode Array detector). Injetou-se 100 µL, com fluxo de 1 mL/min a uma temperatura de 40 °C de forno e a leitura foi feita no comprimento de onda de 248 nm. As soluções eluentes utilizadas foram: acetonitrila grau HPLC (solução A) e solução tampão fosfato pH 2,5 (H₃PO₄ e Na₂HPO₄ 5 mM) (solução B). A corrida durou 6 minutos com uma mistura de 10/90 das soluções A e B.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 DQO

A DQO é a quantidade de oxigênio (O₂) necessária para oxidar a matéria orgânica através de um agente químico. Esse parâmetro foi analisado para saber a quantidade inicial e a final de matéria orgânica presente no reator e a taxa degradada pelos microrganismos. A velocidade e o percentual de degradação da DQO em cada reator pode ser observada no Gráfico 1.

Gráfico 1. Tempo de degradação da DQO presente nos reatores

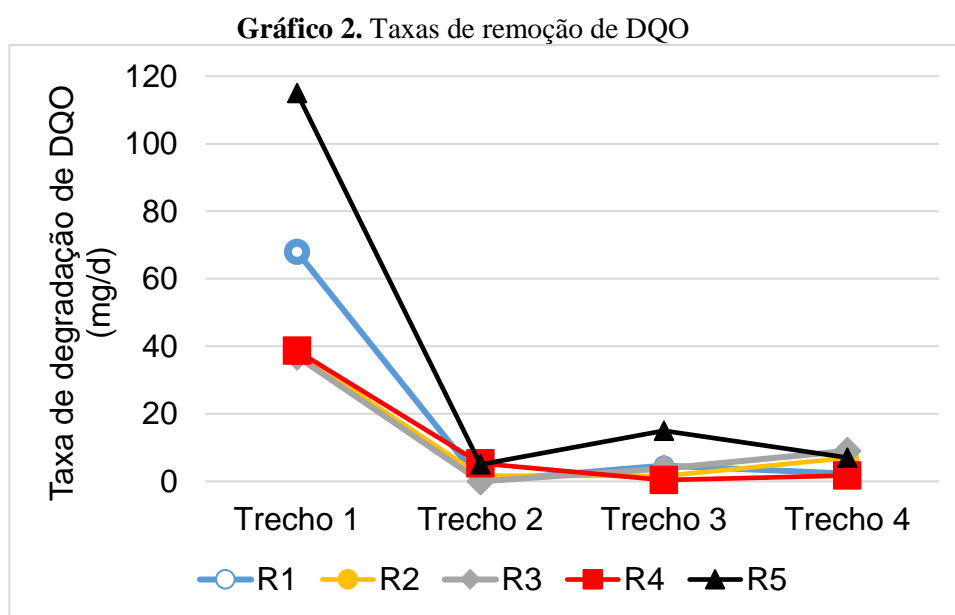


Os cinco reatores receberam a mesma quantidade da solução de substrato (200 mg DQO/L) e solução de 30mg/L de paracetamol. No entanto, as concentrações de DQO inicial foram diferentes entre os reatores devido aos ajustes de pH para $7,0 \pm 0,2$ com a adição de ácido acético PA, esse ácido é orgânico, podendo aumentar os valores da DQO. Em cada reator foram inseridas distintas soluções de ferro e sulfato, alterando o pH de forma diferente, necessitando de desiguais quantidades de ácido.

A DQO inicial foi de 514, 321, 311, 428 e 814 mg O₂/L, nos Reatores 1, 2, 3, 4 e 5, respectivamente. No entanto, nos primeiros 2 a 3 dias de incubação ocorreu a redução

de 50% da DQO em todos os reatores, ou seja, a degradação da metade da quantidade de matéria orgânica adicionada no tempo zero, independente da concentração de ferro e sulfato. Após o término do tempo de incubação, a remoção total de DQO atingiu percentagens variando entre 88 e 99%. Com a análise deste parâmetro, pode-se inferir que os reatores apresentaram satisfatória remoção da DQO. Independente da concentração do sulfato e do ferro, os microrganismos presentes no reator degradaram (consumiram) a matéria orgânica.

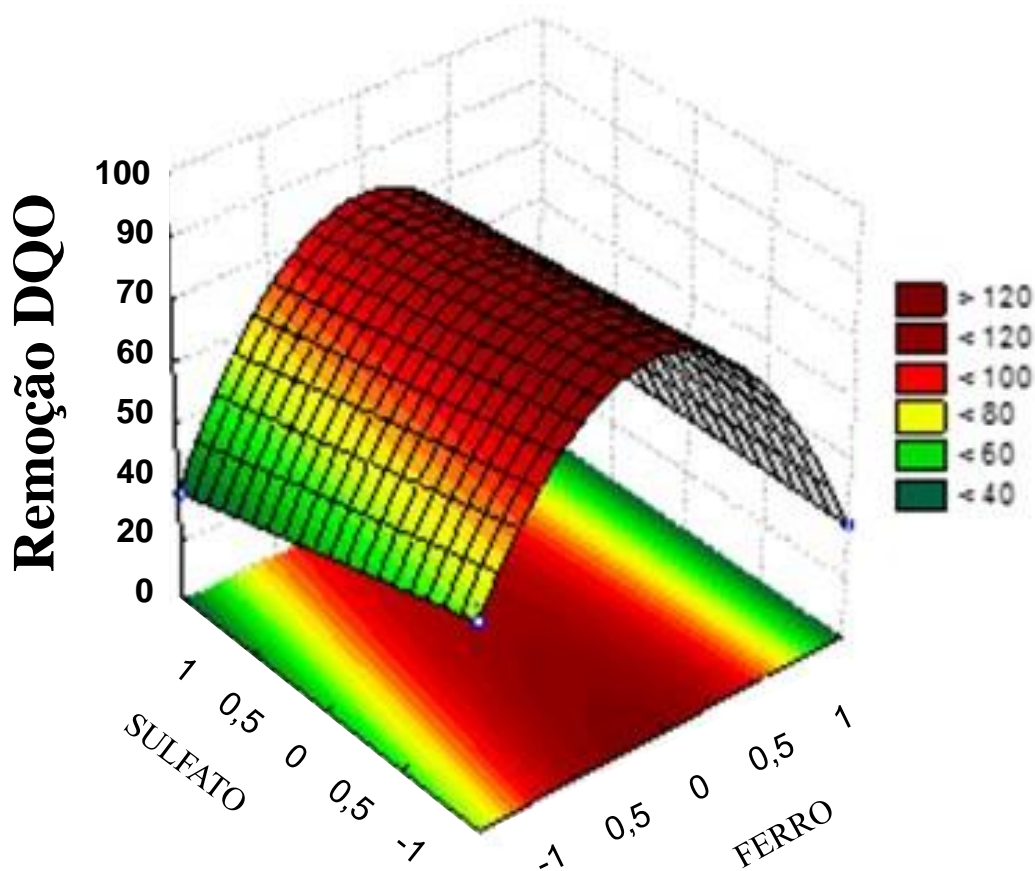
Apesar dos 5 reatores terem percentuais de degradação de DQO semelhantes, a taxa de degradação nos primeiros 5 dias foi diferente das taxas após estes dias, em todos os reatores. Mostrando que a velocidade de degradação é maior no início da incubação. Este comportamento pode ser observado em reatores em batelada porque não há adição de matéria orgânica ao longo do tempo de incubação. No Gráfico 2, podem ser observados as taxas de remoção de DQO por trecho. Cada trecho determinou a velocidade de degradação da DQO em um período de tempo.



Comparando a taxa de degradação entre os diferentes reatores, pode-se observar que houve diferença significativa entre eles apenas no primeiro trecho. A partir do segundo trecho a velocidade de degradação passou a ser contínua, apenas o R5 apresentou um aumento no trecho 3, mas não foi estatisticamente diferente dos demais.

Segundo o teste de Tukey (Diferença mínima significativa – DMS = 49mg/d; $q=3,15$; $\alpha=0,05$) a taxa no trecho 1 é diferente dos outros trechos e os demais trechos são iguais entre si. A taxa é a velocidade de degradação da DQO num determinado período de tempo. No trecho 1, a taxa no R5 (reator controle) foi mais elevada que nos demais, exceto no R1. Em ambos reatores (1 e 5), as concentrações de ferro e de sulfato foram inferiores as necessárias para favorecer a rota de redução do sulfato e do ferro. A taxa no reator R1 não foi diferente estatisticamente de nenhum dos demais tratamentos. Isto mostra que a redução da concentração da DQO é mais rápida no reator controle (R5), sem influência da concentração do ferro ou do sulfato. Os demais reatores com alteração nas concentrações de ferro e sulfato apresentaram taxas de degradação sem diferença significativas. No Gráfico 3, pode-se observar as eficiências da remoção da DQO e produção de metano em diferentes relações de sulfato e ferro.

Gráfico 3. Influência do ferro e do sulfato na taxa de degradação da DQO (A)



A escala do gráfico faz parte do teste estatístico fatorial, então o número -1 corresponde a concentração mínima do parâmetro analisado, o número 0 corresponde a concentração média do ferro e do sulfato, e o número 1 corresponde a concentração máxima.

O Gráfico 3 mostra um comportamento quadrático na influência do ferro na eficiência da degradação da matéria orgânica. As rotas de ferro e sulfato competem com a rota metanogênica. Logo, nos reatores com elevadas concentrações de ferro e sulfato, ao mesmo tempo, ocorreu uma redução na velocidade da degradação da DQO. Este mesmo comportamento foi observado nos reatores com baixas concentrações de ferro e sulfato. O aumento da concentração do sulfato não alterou a taxa de degradação da DQO. Todavia, o aumento da concentração do ferro até 142 mg, provocou um aumento na taxa, mas ao aumentar para 260 mg de ferro, a taxa diminuiu. Isto porque em concentrações de 142 mg, a rota de ferro ocorre, mas não compete ou inibe a metanogênese. Desta forma a velocidade é mais rápida pois ocorre com a soma das eficiências das duas rotas.

A eficiência de degradação está relacionada com a produção de metano obtida pelos reatores. A DQO presente nos reatores era composta por nutrientes, substratos e solução de paracetamol. Em estudos anteriores, foi constatada a degradação de paracetamol em reatores anaeróbios sem causar danos aos microrganismos (ARAÚJO, 2016; NEPOMUCENO, 2016). A partir de 15 dias de incubação, os pH dos reatores permaneceram estáveis, com valores entre $7,50 \pm 0,05$; essa neutralidade é importante, pois valores de pH fora da faixa de neutralidade podem provocar toxicidade. Um exemplo é quando o pH fica ácido e a amônia produzida pela digestão anaeróbia fica mais solúvel do que volátil. A amônia é um nutriente essencial para o crescimento de microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia, no entanto, pode atuar como inibidor em altas concentrações (KOSTER, 1984; NEPOMUCENO, 2016). Portanto, sabendo que foi adicionado 30 mg de paracetamol em cada reator, e que a eficiência de remoção da DQO foi de cerca de 90%, pode-se inferir que o paracetamol, neste trabalho, não causou inibição.

5.2 PARACETAMOL

O paracetamol foi o único composto orgânico analisado nos reatores individualmente, a sua remoção indicou que o mesmo foi capaz de ser degradado em reatores biológicos anaeróbios. A Tabela 5 mostra a massa de paracetamol colocada nos reatores inicialmente, a massa restante em cada efluente e as eficiências de remoção ao final do experimento.

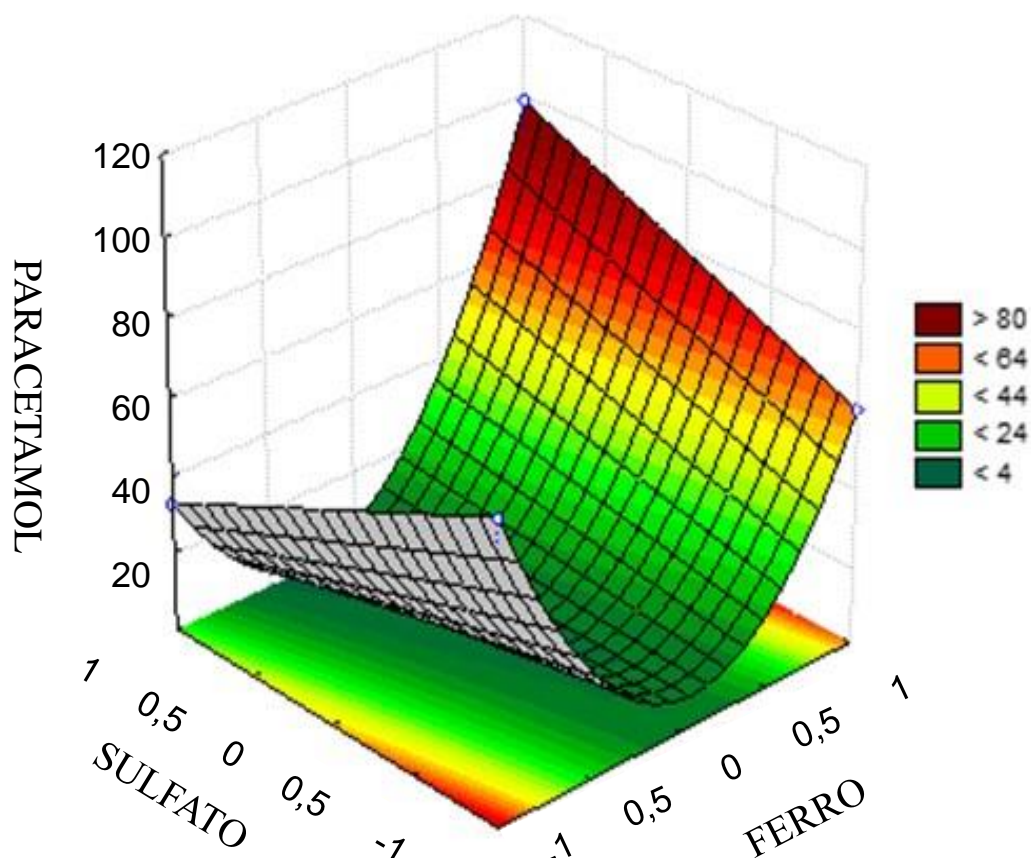
Tabela 5. Massas iniciais e finais do paracetamol, e suas respectivas eficiências de remoção

Reatores	Tempo de incubação (dias)	Massa inicial (mg)	Massa final (mg)	Eficiência de remoção (%)
R1	15	39	10	74
R2	15	35	14	60
R3	15	23	15	35
R4	21	10	0,15	98
R5	11	12	11	8

O Reator 5, corresponde ao ponto central, ou seja, a triplicata do estudo, os valores finais deste é a média dos três reatores. Ao analisar a Tabela 5, percebe-se que houve uma redução da concentração do composto paracetamol em todos os reatores, isso mostra que parte da DQO reduzida analisada no Gráfico 1 correspondeu ao paracetamol.

O R4 se destacou pela sua eficiência de remoção, 98% do paracetamol presente no reator foi consumido. Esse reator apresentou as concentrações máximas de ferro e sulfato. Essas substâncias ajudaram na degradação do paracetamol, ou seja, houve a ação de bactérias redutoras de ferro e bactérias redutoras de sulfato. O Gráfico 4, mostra eficiência de degradação do paracetamol nas diferentes concentrações de ferro e sulfato, a escala gráfica não corresponde aos valores de teste e sim aos níveis estatísticos utilizados.

Gráfico 4. Influência do Ferro e do Sulfato na degradação do paracetamol



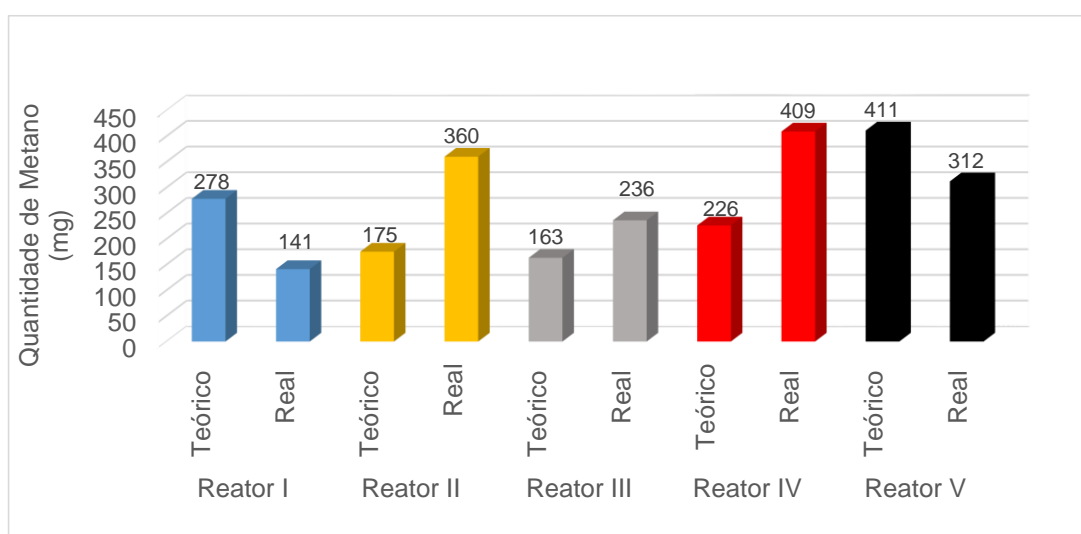
Nos reatores com as menores concentrações de ferro e sulfato (R1) ocorreu uma eficiência de degradação do paracetamol de 74%. Neste reator, a degradação do paracetamol foi realizada apenas pelas *arqueas* metanogênicas. Nos reatores com as maiores concentrações de ambos os sais, a degradação do paracetamol foi ainda mais elevada (98%), pois as três vias foram capazes de degradar o paracetamol. Em condições anaeróbias foi possível a degradação de paracetamol. Esta pode ser influenciada pela adição de concentrações de ferro e sulfato ao sistema.

O Gráfico 4, apresenta uma leve curva mostrando que em suas extremidades (altas ou baixas concentrações de ferro) há maior influência na degradação do paracetamol. A degradação pode acontecer satisfatoriamente em três situações, quando a concentração do ferro é máxima e do sulfato é mínima, quando ferro e sulfato apresentam suas concentrações máximas e quando há presença mínima de ferro e de sulfato. Sendo assim, pode-se afirmar que ocorreu a degradação nas três rotas, porém a rota das redutoras de ferro e a rota metanogênica tiveram significativa atuação na degradação do paracetamol.

5.3 METANO

O metano faz parte do biogás resultante da completa estabilização da matéria orgânica por microrganismos anaeróbios metanogênicos. O Gráfico 5, mostra a quantidade teórica de metano que deveria ser produzida caso toda a matéria orgânica degradada fosse estabilizada. A quantidade teórica foi calculada pela diferença das concentrações DQO inicial e final em cada reator.

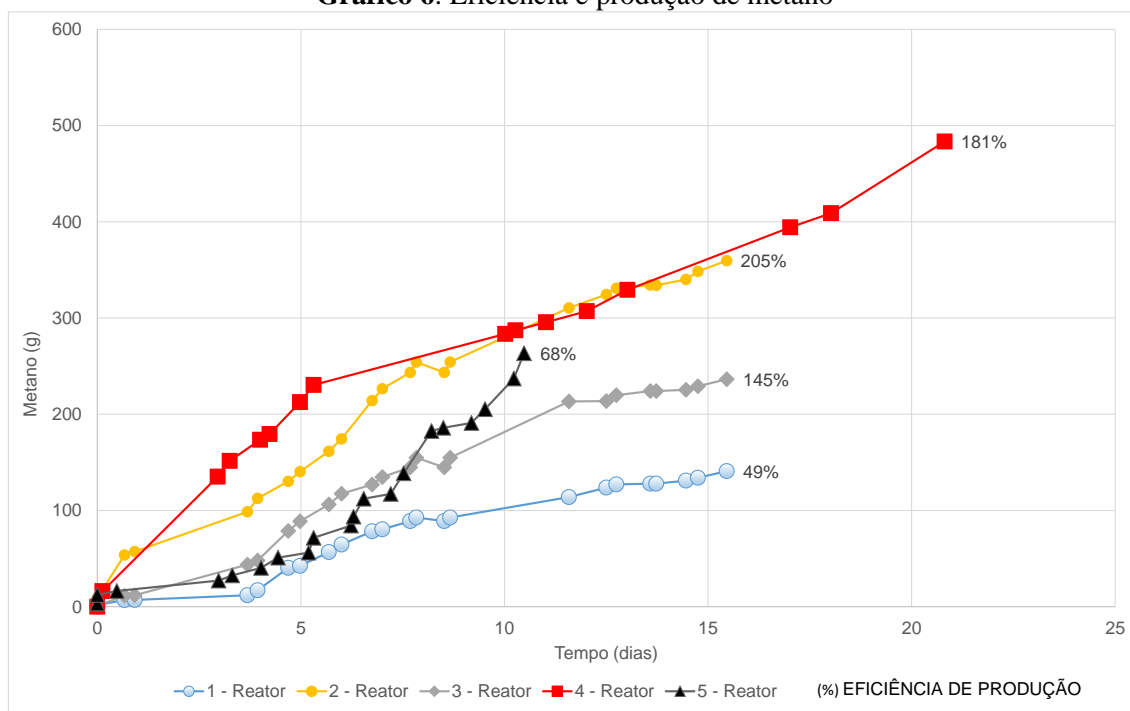
Gráfico 5. Metano teórico e Metano real produzido



A partir do Gráfico 5 pode-se observar que nos reatores II, III e IV a produção de metano real supera a produção de metano teórico, isso mostra a ocorrência de endogenia nos reatores. Endogenia, é quando os microrganismos se alimentam da sua própria reserva energética, isso pode acontecer pela matéria orgânica presente no meio não ser disponível para o consumo destes, ou pela ausência dela.

É possível avaliar a eficiência e a velocidade com que os microrganismos produziram metano pelo Gráfico 6.

Gráfico 6. Eficiência e produção de metano



A partir do Gráfico 6 percebe-se que os cinco reatores tiveram uma produção crescente de metano entre 15 e 25 dias. Devido a rota de ferro e sulfato competirem com a rota de metano, esperava-se que nos reatores com menores concentrações dessas substâncias houvesse maior produção de metano. Entretanto, aconteceu o contrário, nos reatores com máximas concentrações de ferro e sulfato a eficiência de produção de metano foi mais significativa.

No Reator 1, houve alta degradação da DQO e do paracetamol, porém a eficiência de produção do metano não foi significativa. Na rota metanogênica existem quatro etapas sequenciais e dependentes, a hidrólise, acidogênese, acetogênese e a metanogênese. A produção de metano acontece na última etapa. Supõe-se que como não houve a produção de metano e houve a degradação da DQO, ao ser degradado pelas primeiras etapas, o paracetamol se transforma em compostos que podem ser tóxicos a ação das *arqueas* metanogênicas (microrganismos responsáveis pela produção de metano).

O Reator 4, apresentava máxima concentração de ferro e sulfato. Nele a degradação do paracetamol foi satisfatória e a produção de metano foi significativa, isso implica dizer que, as redutoras de ferro e de sulfato atuaram na degradação do paracetamol, consumindo

os compostos tóxicos que inibiram a ação da metanogênese, como aconteceu no Reator 1. Assim, as *arqueas* metanogênicas puderam atuar na produção de metano.

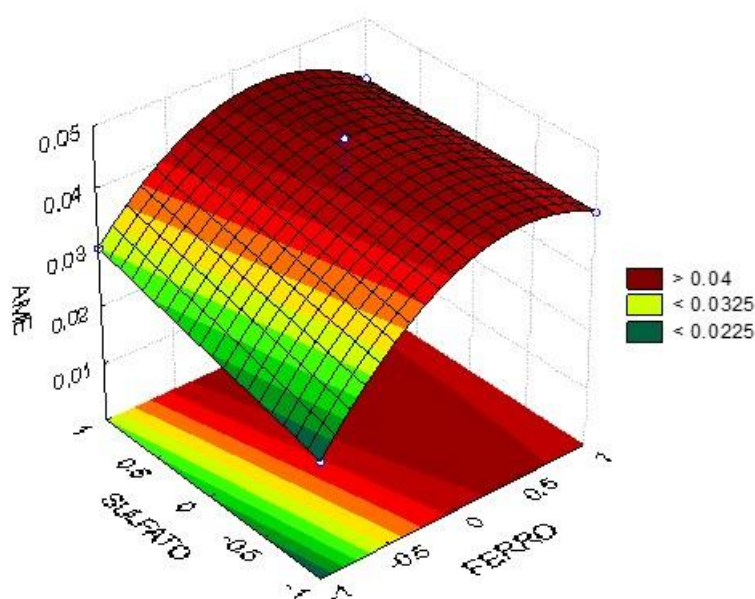
A atividade metanogênica específica (AME) é a máxima velocidade de produção de metano por um conjunto de microrganismos anaeróbios (AQUINO *et al.*, 2007). A identificação da AME é a quantidade de matéria orgânica convertida em metano por grama de biomassa em um dia, (TABELA 6)

Tabela 6. Atividade Metanogênica Específica

Reator	AME (g DQO-CH ₄ /gSSV.d)
1	0,02±0,01
2	0,04±0,01
3	0,03±0,01
4	0,04±0,01
5	0,10±0,01

A AME também determina a quantidade mínima de lodo anaeróbio a ser mantida no reator para a remoção de determinada carga orgânica, sendo assim, a quantidade média de lodo necessária para degradar a DQO inserida nos reatores em estudo é de 0,03 gDQO-CH₄/gSSV.d (referência). O Gráfico 7 mostra a influência do ferro e do sulfato na atividade metanogênica específica (AME).

Gráfico 7. Influência do ferro e do sulfato na AME



A atividade metanogênica específica aumentou a medida que a concentração do ferro também aumentou. O sulfato quando atuou sozinho não teve significativa influência na AME. Pois as bactérias redutoras de ferro e as bactérias redutoras de sulfato, interferiram nas etapas da rota metanogênica consumindo os compostos tóxicos. Não interferindo na atividade metanogênica específica.

5.6 TESTE FATORIAL

No teste Fatorial é possível determinar o percentual de inibição ou de estímulo de uma resposta. Com ele pôde-se avaliar numericamente a influência do ferro e do sulfato na degradação do paracetamol, na AME e na produção de metano.

A avaliação fatorial para a produção de metano (TABELA 7) e da AME (TABELA 8) não mostrou efeito significativo da variação das concentrações de ferro e sulfato nestas respostas. Para o paracetamol alguns efeitos foram significativos (TABELA 9).

Tabela 7. Valores determinantes na influência do ferro e sulfato na produção de metano

FATOR	EFEITO	ERRO	t de student	p
Intercessão	255,103	32,07209	7,95404	0,015441
Ferro	47,36	84,85478	0,55813	0,632897
Sulfato	-76,64	84,85478	-0,90319	0,461753
1 para 2	-171,64	84,85478	-2,02275	0,180442

* *Em negrito são os valores estatisticamente significativos*

Tabela 8. Efeito do ferro e do sulfato na AME

FATOR	EFEITO	ERRO	t de student	p
Intercessão	0,037143	0,002182	17,021	0,003434
Ferro	0,015	0,005774	2,59808	0,12169
Sulfato	0,005	0,005774	0,86603	0,477767
1 para 2	-0,005	0,005774	-0,86603	0,477767

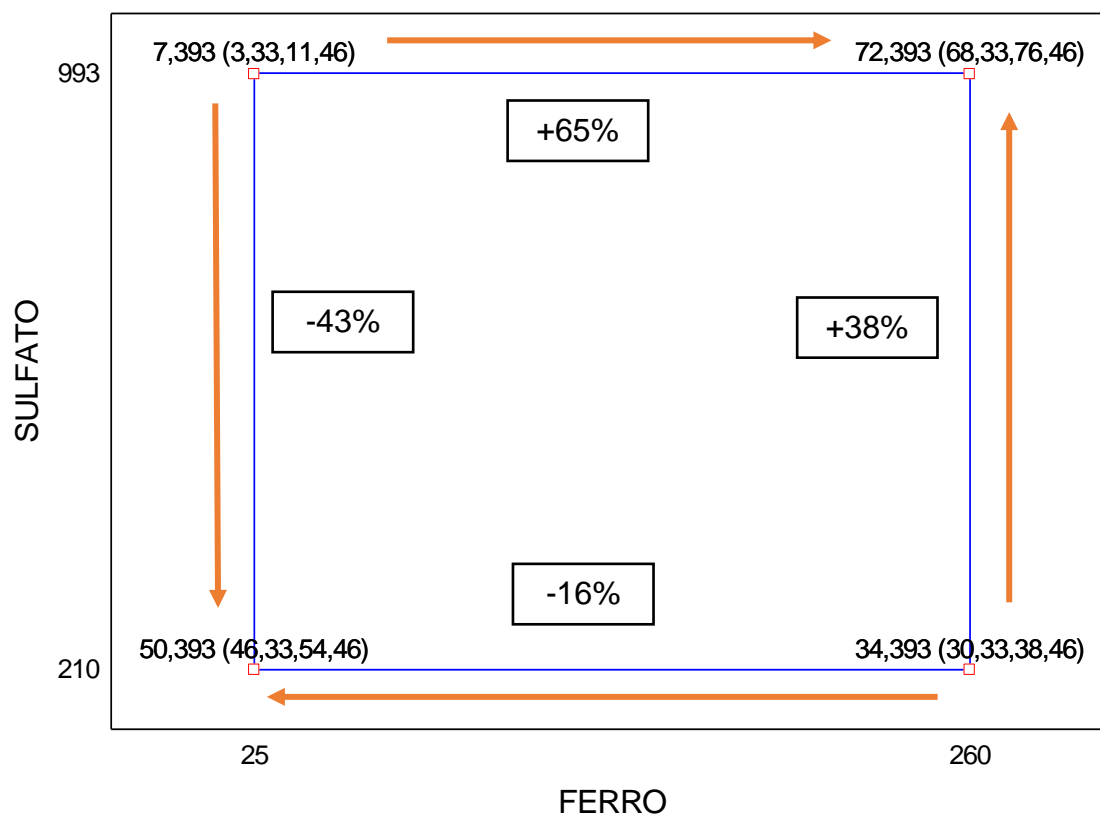
* *Em negrito são os valores estatisticamente significativos*

Tabela 9. Valores determinantes na influência de degradação do paracetamol

FATOR	EFEITO	ERRO	t de student	p
Intercessão	7	0,57735	12,12436	0,006734
Ferro (efeito linear)	24,5	1	24,5	0,001662
Ferro (efeito quadrático)	119,5	1,527525	78,23111	0,000163
Sulfato linear	-2,5	1	-2,5	0,129612
1 (l) para 2 (l)	40,5	1	40,5	0,000609

* Em negrito são os valores estatisticamente significativos

Os efeitos linear e quadrático da variação da concentração do ferro foram significativos. A degradação do paracetamol foi influenciada pela presença de ferro e pela ação conjunta de ferro e sulfato. Quando a concentração de ferro é máxima a degradação do paracetamol é melhor. Quando as concentrações de ferro e sulfato são elevadas, a degradação do composto também é maior, ou seja, eles trabalham juntos na degradação do mesmo (GRÁFICO 8).

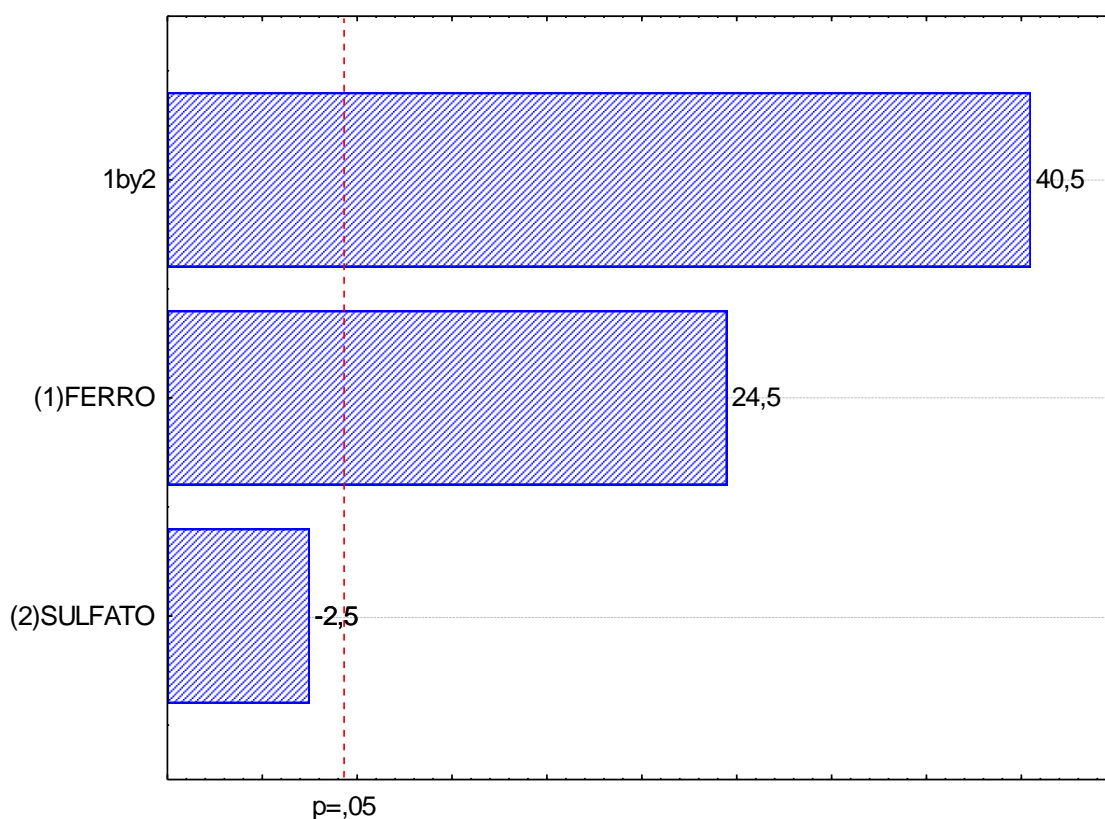
Gráfico 8. Influências das concentrações de ferro e sulfato na degradação do paracetamol

O Ferro tem influência na degradação do paracetamol, porém quando adiciona-se elevadas concentrações dessa substância e a concentração do sulfato é mínima (210 mg), a degradação do paracetamol pode diminuir 16%. Entretanto, quando se aumenta a concentração de ferro e a concentração de sulfato é máxima (993 mg), aumenta-se a

capacidade de degradação do paracetamol em 65%. Quando se adiciona elevadas concentrações de sulfato e o ferro encontra-se em uma concentração mínima (25 mg), a degradação do paracetamol diminui 43%. Entretanto, no valor máximo de concentração de ferro (260 mg), se elevar a concentração do sulfato a degradação aumenta cerca de 38%.

O teste de Pearson mostra de forma específica a influência das substâncias na degradação do paracetamol. Valores acima de 0,05 significa que tem influência sobre a degradação, valores inferiores não interferem na degradação do composto (GRÁFICO 9).

Gráfico 9. Teste de Pearson para a influência do Ferro e do Sulfato na degradação do Paracetamol



O ferro tem muita influência na degradação do paracetamol, enquanto o sulfato não tem nenhuma, comprovando o que foi discutido no Gráfico 8. O ferro contribuiu na degradação da DQO existente nos reatores, competindo com as *arqueas* metanogênicas (microrganismos responsáveis pela produção de metano). No Gráfico 8, podemos observar também que quando ferro e sulfato interagem, a influência na degradação do paracetamol é mais significativa que o ferro individualmente.

A Análise de Variância (ANOVA), foi realizada para verificar se os resultados podem ser usados como modelo empírico de predição, ou seja, uma equação que preveja a eficiência de degradação de paracetamol, através das concentrações de ferro e sulfato, Tabela 10.

Tabela 10. Método de teste ANOVA

FATOR	SS	df	MS	F	p
Ferro	600,25	1	600,25	600,25	0,001662
Sulfato	6,25	1	6,25	6,25	0,129612
1 para 2	1640,25	1	1640,25	1640,25	0,000609
Falta de ajuste	6120,107	1	6120,107	6120,107	0,000163
Erro	2	2	1		
Total SS	8368,857	6			

* Em negrito são os valores estatisticamente significativos

Equação 1. Equação da significância

$$F(x) = 7 + 12,25X_{\text{fe}} + 60X_{\text{fe}}^2 + 20,25X_{\text{fe}}X_{\text{SO4}}$$

A Tabela 10 mostra os resultados do teste ANOVA, o valor da falta de ajuste foi significativo, determinando que a Equação (1) não está apta para uso, pois precisa de mais parâmetros significativos. A equação quando ajustada poderá ser utilizada para determinar a eficiência de degradação do paracetamol em condições contendo diversas concentrações de ferro e sulfato.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho comprovou que a matéria orgânica em estudo, paracetamol, pode ser degradada em sistemas de digestão anaeróbia. Foram analisados vários parâmetros dessa degradação para se ter certeza de quais microrganismos consumiram o composto, se foram as *arqueas* metanogênicas, as bactérias redutoras de ferro ou as bactérias redutoras de sulfato.

Em todos os reatores houve a degradação do composto e a produção de metano. A perfeita degradação do paracetamol foi realizada no Reator 4, cerca de 98%, esse reator apresentou condições de elevadas concentrações de ferro e sulfato (concentrações máximas que permitiam a sobrevivência dos microrganismos), mesmo nessas condições não houve inibição da produção de metano, já que sua eficiência foi a maior entre os cinco reatores e sua velocidade estava aumentando, o que implica dizer que mais metano seria produzido.

O Reator 5, apresentava concentrações médias de ferro e de sulfato, teve um ótimo desempenho, segundo os testes estatísticos realizados, degradou a matéria orgânica mais rápido que os demais. O Reator 1 teve uma velocidade de degradação coincidente com a do Reator 5, sua condição de concentrações de ferro e sulfato eram mínimas, não se destacando na produção de metano, nem de remoção do paracetamol.

Através das análises de produção de metano pode-se concluir que mesmo sendo introduzido ferro e sulfato ocorre a degradação da DQO e do composto paracetamol e parte desse consumo é convertido em metano, ou seja, as três rotas participam da degradação do paracetamol, pois quando ferro e sulfato trabalham em conjunto e quando não há presença deles, a eficiência de degradação dos reatores é de 88 a 99%. As bactérias redutoras de ferro e as bactérias redutoras de sulfato, ajudaram na produção de metano, pois degradaram os compostos que são tóxicos para a metanogênese.

O teste ANOVA mostrou que é necessário descobrir mais parâmetros significativos, como determinar a eficiência de redução do ferro e do sulfato, para obter a equação de predição da degradação do paracetamol.

REFERÊNCIAS

- ALVES, J. W. S. *Diagnóstico técnico institucional da recuperação e uso energético do biogás gerado pela digestão anaeróbia de resíduos*. 2000. 164 folhas. Dissertação (Pós-Graduação em Energia) – Escola Politécnica, Instituto de física, Faculdade de economia e administração e Instituto de Eletrotécnica e Energia, São Paulo, 2000.
- AMARAL, C. M. C. *et al. Biodigestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros submetidos a diferentes tempos de retenção hidráulica*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, p. 1897-1902, 2004.
- AMÉRICO, J. H. P.; MINILLO, A.; CARVALHO, S. L. *Detecção do analgésico paracetamol no córrego da Onça, Três Lagoas – MS*. **Forum Ambiental da Alta Paulista**, v. 8, n. 12, p. 38-47, 2012.
- APHA. American Public Health Association. *Standard Methods For The Examination of Water and Wastewater*. 22 ed. Washington: APHA, 2012.
- AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L. *Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVS) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle*. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.10, n. 2, p. 152-161, 2005.
- AQUINO, S. F.; SILVA, S. Q.; CHERNICHARO, C. A. L. *Considerações práticas sobre o teste de demanda química de oxigênio (DQO) aplicado a análise de efluentes anaeróbios*. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.11, n. 4, p. 295-304, 2006.
- AQUINO, S. F. *Metodologias para determinação da Atividade Metanogênica Específica (AME) em Lodos Anaeróbios*. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.12, n. 2, p. 192-201, 2007.
- AQUINO, S. F.; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. *Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: Revisão de literatura*. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 187-204, 2013.
- ARAÚJO, N. M. C. *Influência do fármaco paracetamol no processo de digestão anaeróbia de efluentes*. 2016. 45 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) – Faculdade ASCES-UNITA, Caruaru, 2016.
- BARCELOS, M. N. *et al. Aplicação do método FMEA na identificação de impactos ambientais causados pelo descarte doméstico de medicamentos*. **Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal**, v. 8, n. 4, p. 062-068, 2011.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 4º ed. Porto Alegre: Bookman, 2010.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. *Fármacos no meio ambiente*. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.
- BRASIL. Decreto n.º 3.029, de 16 de abril de 1999. *Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde*. Ministério da Saúde

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 306, de 7 de dezembro de 2004.

_____. *Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME)*. 9º ed. Brasília-DF, 2015.

_____. Ministério da saúde. *Casos de dengue no brasil apresentam queda antecipada*. Publicado em: 30 de Junho de 2016. Disponível em: <http://combateaedes.saude.gov.br>. Acesso em: 19/08/2016.

_____. Instituto Trata Brasil. *Situação Saneamento no Brasil*. Disponível em: <http://www.tratabrasil.org.br/saneamento-no-brasil>>. Acesso em: 25/08/2016.

_____. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 37, 2016. Boletim Epidemiológico, v. 47, n. 34, 2016.

CHENG, J. J.; KURT, C.S. Inhibition of anaerobic digestion process. Department of Biological and Agricultural Engineering, North Carolina State University, Raleigh, NC 27695-7625, USA Review Bioresource Technology. USA, 2007.

CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuária: Reatores anaeróbios**. 1º ed, p. 379. Belo Horizonte: BRASIL,1997.

_____. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Reatores anaeróbios**. 2º ed. Belo Horizonte: BRASIL, 2007.

EICKHOFF, P.; HEINECK, I.; SEIXAS, L. J. *Gerenciamento e destinação final de medicamentos: uma discussão sobre o problema*. **Revista Brasileira de Farmacologia**, n. 1, p. 64-68, 2009.

FLORENCIO, L., JENICEK, P., FIELD, J., LETTINGA, G. *Effect of cobalt on the anaerobic degradation of methanol*. Journal of Bioscience and Bioengineering 75 (5), 368-374, 1994.

FREIRE, R. S. *et al. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas*. **Química nova**, v. 4, p. 23, 2000.

FREIRE, F. B.; PIRES, E. C.; FREIRE, J. T. *Tratamento anaeróbio de pentaclorofenol em reator de leito fluidificado alimentado com água residuária sintética contendo glicose como fonte única de carbono*. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. v.13, n. 3, p. 339-346, 2008.

GASPARINI, J. C.; GASPARINI, A. R.; FRIGIERI, M. C. *Estudo do descarte de medicamentos e consciência ambiental no município de Catanduva-SP*. **Ciência & Tecnologia: FATEC-JB, Jaboticabal**, v. 2, n. 1, p. 38-51, 2011.

GOODMAN E GILMAN. *As bases farmacológicas da terapêutica*. Rio de Janeiro; McGraw Hill, ed. 10, p. 1433, 2003.

GUERRA, E. D. *et al.* (2017). The effects of environmental education at the medicine discharge in the Caruaru City-PE, Brazil. *In: Candal, R.; Curutchet, G.; Dominguez-Montero, L.; Macarie, H.; Poggi-Varaldo, H.; Vazquez, S.; Sastre, I.* (Editors):

Environmental Biotechnology and Engineering: ISEBE Abstract 2016, page 247. Ed. Cinvestav, Mexico D. F., Mexico.

GHISELLI, G. *Avaliação da Qualidade das Águas Destinadas ao Abastecimento Público na Região de Campinas: Ocorrência e Determinação dos Interferentes Endócrinos (IE) e Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoas (PFHP)*. 2006. 190 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

KATO, M. *et al. Manual de procedimentos do laboratório de saneamento ambiental*. Documento de Qualidade 016, Revisão n. 06, agosto, Recife, 2014.

KOSTER, I. W., LETTINGA, G. The influence of ammonium–nitrogen on the specific activity on pelletized methanogenic sludge. *Agric. Waste* 9, p. 205–16, 1984.

MADIGAN, M. T. *et al. Microbiologia de Brock*. 12^o ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1128 p.

MENDONÇA, L. C. *Microbiologia e cinética de sistemas de lodos ativados como pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio de leito expandido*. 2002. 240 p. Tese (Doutora em Engenharia Civil) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

MESQUITA, P. L. *et al. Validação de método de cromatografia líquida para a determinação de sete ácidos graxos voláteis intermediários da digestão anaeróbia*. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.18, n.4, p. 295-302, 2013.

MONTGOMERY, D. C.; RUNGER, G. C. *Estatística aplicada e probabilidade para engenheiros*. 4^a ed. Rio de Janeiro: LTC, 2009.

NEPOMUCENO, C.; BARROS, K. K.; DE SOUZA, L. (2017). Biodegradability of paracetamol in anaerobic conditions. *In*: Candal, R.; Curutchet, G.; Dominguez-Montero, L.; Macarie, H.; Poggi-Varaldo, H.; Vazquez, S.; Sastre, I. (Editors): *Environmental Biotechnology and Engineering: ISEBE Abstract 2016*, page 190. Ed. Cinvestav, Mexico D. F., Mexico.

OLIVEIRA, C. A. *Estudo e avaliação da remoção do antibiótico sulfametazina em reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF)*. 55 p. São Carlos, 2015.

SARTI, E. L. *Influência do oxigênio no crescimento das Arquéias metanogênicas e bactérias redutoras de sulfato em reatores anaeróbios em batelada*. 2007. 116 folhas. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SÁNCHEZ, L. E. *Avaliação de Impacto Ambiental: conceitos e métodos*. São Paulo: Oficina de textos, p.495, 2008.

SILVA, I. P.; SILVA, J. A. A. *Métodos estatísticos aplicados à pesquisa científica: uma abordagem para profissionais da pesquisa agropecuária*. Recife: UFRPE, p. 305, 2002.

SILVA, C. L. V. *et al. Detecção de bactérias redutoras de Fe (III), em mangue da bacia Petrolífera potiguar com potencial biodegradador de Petróleo*. 4^o ed. Campinas-SP, p. 21-24, 2007.

SILVA, M. R. L. *Caracterização da comunidade microbiana de biofilme anaeróbio em presença de Bifenilas Policloradas*. São Carlos, 2012.

SILVESTRI, Cezar. *Destinação Final dos Medicamentos Vencidos*. Disponível em: <<http://www.al.rs.gov.br/download/ComEspMedicamentosVencidos/Relat%C3%B3rioFinal.pdf>>. Acesso em: 21/08/2016.

SZARBLEWSKI, M. S.; SCHNEIDER, R. C. S.; MACHADO, E. L. *Métodos para a remoção de sulfeto de hidrogênio de efluentes gasosos aplicáveis a reatores anaeróbios*. **Revista Jovens Pesquisadores**, Santa Cruz do Sul, n. 1, p. 62-74, 2012.

VICINI, L. *Análise multivariada da teoria à prática*. Santa Maria : UFSM, CCNE, P. 215, 2005.

TORRES, P. *Desempenho de um Reator Anaeróbio de Manta de Lodo (UASB) de Bancada no Tratamento de Substrato Sintético Simulando Esgoto Sanitário*. Dissertação (Mestrado), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 1992.

