

II-507 - IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS FILAMENTOSAS PREDOMINANTES EM ETES DE GRANDE PORTE COM TRATAMENTO BIOLÓGICO NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Tiago Chagas de Oliveira Tourinho

Biólogo pelo Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. Especialista em Gestão Ambiental pela Escola Politécnica da UFRJ / Instituto Brasil PNUMA. Mestre em Engenharia Ambiental pela UFRJ. Analista da Qualidade da Gerência de Tratamentos de Esgotos da CEDAE – RJ.

Tiago Abreu Viana

Biólogo pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ. Mestre em Ecologia e Evolução pela UERJ. Analista da Qualidade da Gerência de Tratamentos de Esgotos da CEDAE – RJ.

Mauro Vinicius Fernandes de Oliveira Soares

Graduando em Ciências Biológicas pela Universidade Castelo Branco – UCB. Estagiário da Gerência de Tratamentos de Esgotos da CEDAE – RJ.

Sarah Barreto Oliveira de Christo

Química pelo Instituto Federal do Rio de Janeiro – IFRJ. Estagiária da Gerência de Tratamentos de Esgotos da CEDAE – RJ.

Endereço⁽¹⁾: Rua Bulhões Marcial 975 – Vigário Geral – Rio de Janeiro – RJ – CEP: 21241-366 – Brasil – Tel: +55(21) 3451-7953 / +55(21) 3451-7938 – e-mail: tiago-tourinho@cedae.com.br

RESUMO

O fenômeno de *bulking* filamentoso ocorre quando há crescimento excessivo das bactérias filamentosas, o que causa a união de vários flocos de lodo ativado, criando uma macroestrutura com área superficial aumentada, dificultando a compactação, e, conseqüentemente, a sedimentação do floco bacteriano. Este fenômeno tem como conseqüências a má sedimentabilidade dos sólidos e a perda de eficiência de remoção de matéria orgânica. Outro fenômeno que ocorre com certa frequência em Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs) com tratamento biológico é a formação de espuma, ou *foaming*, no tratamento secundário, podendo gerar problemas como grandes quantidades de sólidos suspensos (SS) flotados na superfície das unidades de tratamento e possibilidade de elevados níveis de SS no efluente secundário. Tanto o *bulking*, quanto o *foaming* microbiológico, são causados por organismos filamentosos, sendo seu crescimento estimulado por diferentes parâmetros em determinadas condições. A identificação e monitoramento dos organismos filamentosos é tarefa importante no controle do processo de lodos ativados e na prevenção da ocorrência destes problemas, permitindo determinar o organismo causador do fenômeno e seu provável motivo.

O objetivo deste trabalho foi identificar as bactérias filamentosas predominantes em cinco ETEs de grande porte no estado do Rio de Janeiro, como forma de prevenção de ocorrência de *bulking* filamentoso e *foaming*. Foram identificadas oito espécies predominantes: *Haliscomenobacter hydrossis*, *Nocardia* sp., *Sphaerotilus natans*, Tipo 0041 / 0675, Tipo 0092, Tipo 0803, Tipo 0961 e Tipo 1851. *H. hydrossis* foi a espécie predominante mais frequente, tendo sido encontrada em quatro das cinco ETEs estudadas. Todas as espécies encontradas são potenciais causadoras de *bulking*, evidenciando a importância deste tipo de trabalho na prevenção de problemas operacionais em ETEs com tratamento biológico.

PALAVRAS-CHAVE: Lodos ativados, *Bulking* filamentoso, *Foaming* microbiológico, *Nocardia* sp., Monitoramento.

INTRODUÇÃO

A literatura menciona que 60% das Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs) nos Estados Unidos são afetadas pelo fenômeno de *bulking* filamentoso, também chamado de intumescimento de lodo. O percentual de ocorrência de *bulking* chega a 63% no Reino Unido, a 45% na Alemanha e a 32% na África do Sul, sendo que no Brasil não existem dados sistemáticos publicados sobre estas anomalias operacionais (JORDÃO e PESSÔA, 2011).

Esse fenômeno ocorre quando há um crescimento em abundância das bactérias filamentosas, pois estas acabam emaranhando/unindo vários flocos, criando uma macroestrutura com área superficial aumentada,

difícultando a sedimentação e compactação do floco bacteriano. Dentre as bactérias filamentosas, *Nocardia* sp. é a mais comum em lodos ativados com intumescimento (JORDÃO E PESSÔA, 2011). É importante identificar os tipos de organismos formadores do intumescimento para determinar a provável origem da sua ocorrência.

O *bulking* filamentosos traz as seguintes consequências: alto índice volumétrico de lodo (IVL); baixa concentração de sólidos no retorno de lodo e no descarte de lodo; má sedimentabilidade dos sólidos, o que acarreta a elevação da manta de lodo e a perda de sólidos pelos vertedores no decantador secundário; perda de eficiência de remoção de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e Demanda Química de Oxigênio (DQO), o que contribui para a redução da qualidade do efluente tratado e, muitas vezes, traz prejuízos para o corpo receptor.

De acordo com Von Sperling (2005), algumas situações que podem auxiliar na ocorrência do intumescimento de lodo são: baixa concentração de oxigênio dissolvido (OD) no tanque de aeração; valores de pH inferiores a 6,5; deficiência de nutrientes; e, septicidade do esgoto. Além disso, a relação alimento/microorganismo (A/M) e a alta concentração de ácidos orgânicos de baixo peso molecular também podem ser incluídas na relação de fatores influentes.

Outro fenômeno que ocorre com certa frequência em ETEs é denominado *foaming*. De acordo com Jenkins *et alii* (2004), a formação de espuma, ou *foaming*, nas superfícies do tanque de aeração e do decantador secundário pode apresentar causas operacionais ou microbiológicas. Dentre as causas operacionais incluem-se: o *start-up* da ETE (geralmente após 3 ou 4 dias); detergentes de cadeia ramificada pouco biodegradáveis compostos de sulfonato de alquilbenzeno; deficiência de nutrientes, causando a liberação de materiais poliméricos biossurfactantes pelos microrganismos do lodo ativado; recirculação excessiva de sólidos finos oriundos de processos de manipulação de lodos digeridos anaerobiamente; e, desnitrificação, produzindo espuma em decantadores secundários ou zonas anóxicas de ETEs com nitrificação. Como causa microbiológica temos a ocorrência de grandes quantidades de bactérias actinomicetales nocardioformes (principalmente *Nocardia* sp.) contendo ácidos micólicos (ácidos graxos) em suas paredes celulares (organismos nocardioformes).

Alguns efeitos dos problemas associados a espumas são: grandes quantidades de sólidos suspensos (SS) flutuando para a superfície das unidades de tratamento (representadas por espumas de origem microbiológica persistentes e difíceis de quebrar mecanicamente); acúmulo e putrefação; possibilidade de elevados níveis de SS no efluente secundário; e, transbordo nas unidades de tratamento.

Tanto o *bulking*, quanto o *foaming* microbiológico, são causados por organismos filamentosos, sendo seu crescimento estimulado por diferentes parâmetros em determinadas condições. Uma baixa concentração de OD, por exemplo, auxilia na proliferação dos seguintes organismos filamentosos: Tipo 1701, *Sphaerotilus natans* e *Haliscomenobacter hydrossis*. A baixa relação A/M estimula o crescimento das bactérias Tipo 0041, Tipo 0675, Tipo 1851 e Tipo 0803. A alta concentração de ácidos orgânicos de baixo peso molecular pode auxiliar no crescimento de *Thiothrix* I e II, *Nostocoida limicola* I, II e III, e bactérias Tipo 021N, Tipo 0914, Tipo 0411, Tipo 0961, Tipo 0581 e Tipo 0092. Esgotos sépticos (com H₂S) estimulam o crescimento de *Thiothrix* I e II, *Beggiatoa* sp. e bactérias do Tipo 021N e Tipo 0914. Deficiência de nutrientes (N e P) induzem o crescimento de *Thiothrix* I e II, Tipo 021N, *N. limicola* III, *H. hydrossis* e *S. natans*; já o baixo pH favorece o crescimento de fungos (JENKINS *et alii*, 2004).

Cerca de 30 espécies diferentes de bactérias filamentosas já foram observadas em lodos ativados, mas apenas 10 são frequentemente encontradas. Durante os fenômenos de *bulking* ou *foaming*, ocorre a predominância de apenas uma ou duas espécies (Eikelboom, 2000). Como forma de prevenção dos fenômenos apresentados, a identificação do organismo filamentoso predominante é importante para um controle eficaz de sua densidade populacional.

O objetivo deste trabalho foi identificar as bactérias filamentosas predominantes em cinco ETEs de grande porte no estado do Rio de Janeiro, como forma de prevenção de ocorrência de *bulking* filamentosos e *foaming*. O desenvolvimento desse trabalho contou com o apoio da Companhia Estadual de Águas e Esgotos (CEDAE), em especial da Gerência de Tratamento de Esgotos e da UniverCEDAE com a disponibilidade de seus laboratórios.

MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de lodo ativado foram coletadas dos tanques de aeração das ETEs e submetidas às seguintes técnicas: coloração de Gram (método Hucker, modificado) (CETESB, 2013); coloração de Neisser (EIKELBOOM e VAN BUIJSEN, 1981, *apud* CETESB, 2013); Coloração de Poli Hidroxi Butirato (PHB) (CETESB, 2012); e, coloração de cristal violeta para bainha (CETESB, 2012). Também foi utilizado um teste bioquímico baseado na oxidação do enxofre contido nas células por uma solução de tiosulfato de sódio (CETESB, 2012).

A identificação foi feita com o auxílio de microscópio óptico com contraste de fase, modelo Axiolab, marca Zeiss. Para os aumentos de 1000x foi utilizado óleo de imersão. Utilizaram-se lâminas e lamínulas para a visualização no microscópio. Além das técnicas de coloração aplicadas, foram analisadas as seguintes características morfológicas das células bacterianas: ramificação; forma e tamanho da célula; comprimento, diâmetro e forma do filamento; localização do filamento em relação ao floco de lodo ativado; presença de septos celulares evidentes; presença de bainha celular; presença de grânulos de polifosfato, enxofre ou poli-β-hidroxibutirato; mobilidade; e, presença de crescimento bacteriano epifítico (JENKINS *et al.*, 2004). A determinação da espécie ou tipo de bactéria filamentosa foi feita relacionando os resultados obtidos nas análises das colorações, do teste bioquímico e nas análises de características morfológicas, utilizando a chave dicotômica para a identificação de organismos filamentosos em lodo ativado de Jenkins *et alii* (2004).

Algumas características de processo das ETEs analisadas podem ser vistas na Tabela 1.

Tabela 1: Características de processo das ETEs analisadas.

Características	Unidade	ETE 1	ETE 2	ETE 3	ETE 4	ETE 5
DBO ₅ afluente	mg DBO/L	100	80	187	200	400
Vazão média	L/s	200	400	350	605	2000

RESULTADOS

As amostras analisadas de cada ETE revelaram uma coleção de várias espécies de bactérias filamentosas, o que é esperado para uma ETE típica. Para a identificação, diversas estruturas foram observadas. A Figura 1 apresenta uma delas, indicando um espécime com crescimento bacteriano epifítico na superfície da bainha celular.

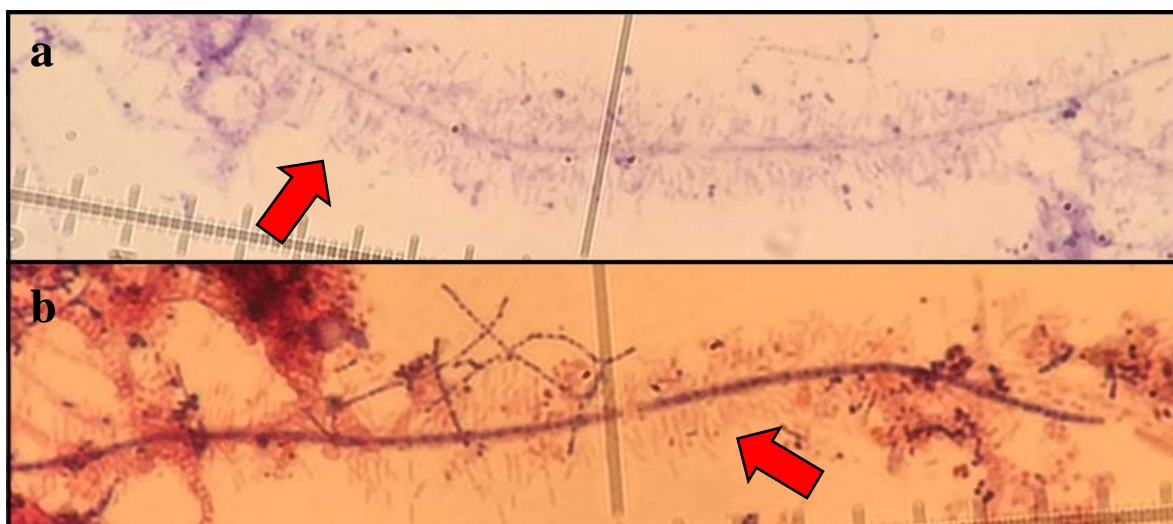


Figura 1: Crescimento epifítico: a) visto em coloração de Neisser; b) visto em coloração de Gram. As setas indicam o crescimento epifítico. As fotomicrografias estão em um aumento de 1000x.

A Figura 2 apresenta alguns dos resultados encontrados para as colorações.

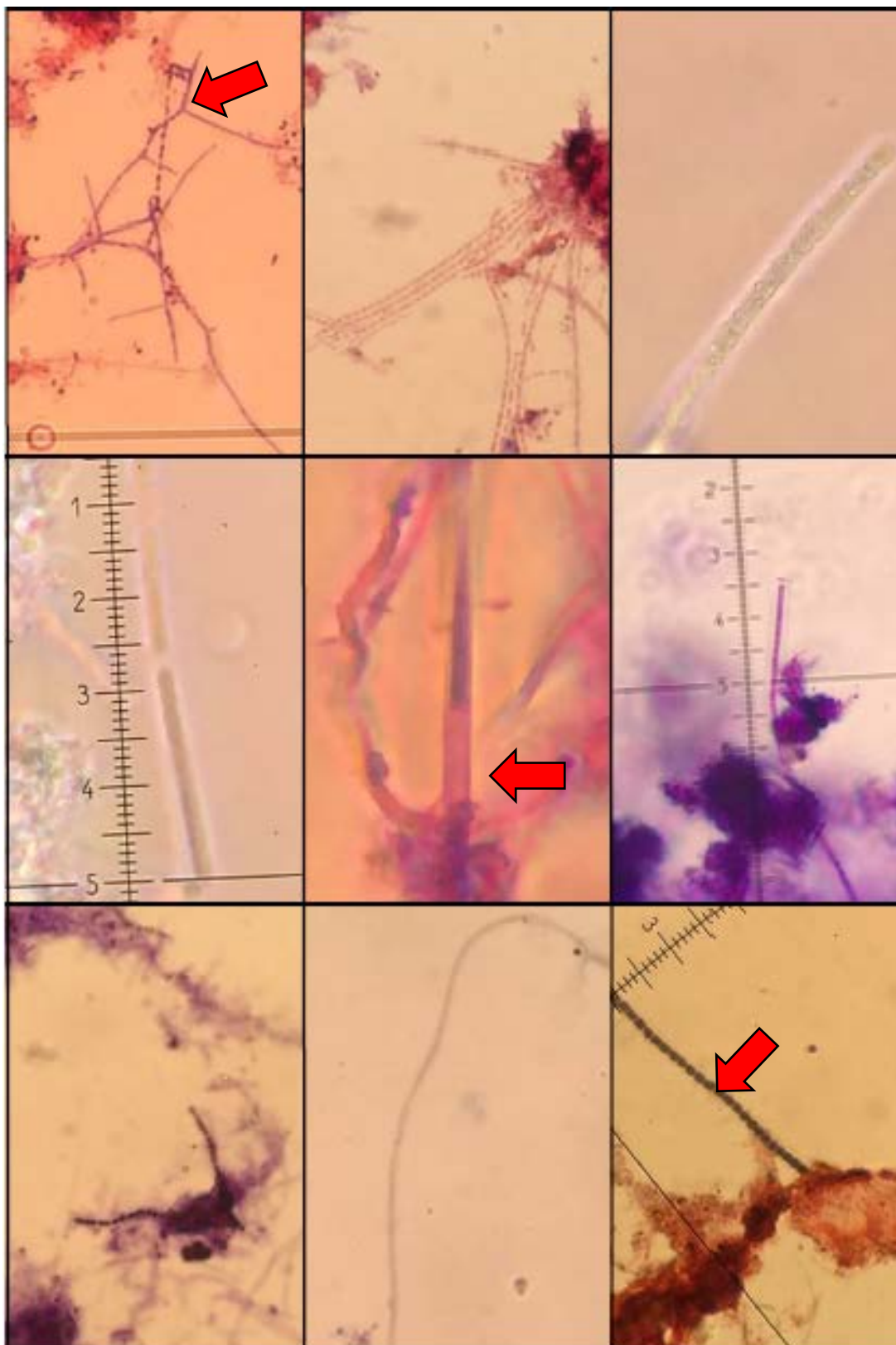


Figura 2: Resultados de colorações: a) Gram positivo (a seta indica ramificação verdadeira); b) Gram negativo; c) Teste de enxofre positivo; d) Teste de enxofre negativo; e) cristal violeta positivo (a seta indica a presença de bainha); f) cristal violeta negativo; g) Neisser positivo; h) Neisser negativo; i) PHB positivo (a seta indica a presença de grânulos de PHB). Todas as fotomicrografias estão em aumento de 1000x.

Apesar do grande número de espécies visualizadas nas ETEs, as espécies predominantes foram oito, a saber: *Haliscomenobacter hydrossis*, *Nocardia* sp., *Sphaerotilus natans*, Tipo 0041 / 0675, Tipo 0092, Tipo 0803, Tipo 0961 e Tipo 1851. Os Tipos 0041 e 0675 são aqui considerados como um tipo único, conforme sugerido por Eikelboom (2000), por se tratarem de organismos filamentosos com morfologias muito parecidas.

A tabela 2 apresenta as bactérias filamentosas predominantes em cada ETE.

Tabela 2: Bactérias filamentosas predominantes em cada ETE.

Estação de Tratamento de Esgoto	Bactérias Filamentosas Predominantes
ETE 1	<i>Haliscomenobacter hydrossis</i>
ETE 2	<i>H. hydrossis</i> Tipo 1851
ETE 3	<i>Nocardia</i> sp. Tipo 0041 / 0675
ETE 4	<i>H. hydrossis</i> <i>Sphaerotilus natans</i> Tipo 0803 Tipo 0961
ETE 5	<i>H. hydrossis</i> Tipo 0041 / 0675 Tipo 0092

H. hydrossis foi a espécie predominante mais frequente, tendo sido encontrada em quatro das cinco ETEs estudadas: ETEs 1, 2, 4 e 5; *S. natans* e Tipo 0041 / 0675 foram encontradas em duas das cinco ETEs amostradas (Tabela 2).

A alta frequência de *H. hydrossis* pode ser explicada pelo fato do lodo da ETE 4 servir, eventualmente, como semente para as ETEs 1, 2 e 5 no caso de problemas operacionais e necessidade de importação de lodos ativados. Estas eventuais importações de lodo são, provavelmente, responsáveis pela introdução de *H. hydrossis* nas outras três estações. De acordo com Eikelboom (2000), *H. hydrossis* é comum em plantas de lodos ativados, e é a 9ª filamentososa mais encontrada nas ETEs estadunidenses que apresentaram intumescimento de lodo ou espuma (JENKINS *et alii*, 2004). Esta espécie apresenta um amplo espectro de ocorrência.

Em todas as ETEs, foram encontradas condições de equilíbrio entre a densidade de bactérias filamentosas e a qualidade dos lodos ativados, exceto na ETE 3. Nesta, *Nocardia* sp. foi encontrada em quantidades elevadas, causando o fenômeno de *foaming* no tanque de aeração. *Nocardia* sp. apresenta características peculiares, como filamentos curtos, ramificações verdadeiras e células Gram-positivas (Figura 2a). Jenkins *et alii* (2004), observaram que organismos nocardiformes, como *Nocardia* sp., estão em 1º lugar dentre os organismos filamentosos predominantes nas ETEs com ocorrência de *bulking* e *foaming*. Dentre os outros organismos filamentosos predominantes encontrados, *S. natans* ocupa a 6ª posição, Tipo 0041 ocupa a 4ª posição, Tipo 0675 ocupa a 10ª, Tipo 0092 ocupa a 8ª, Tipo 0803 ocupa a 11ª, Tipo 0961 ocupa a 14ª e Tipo 1851 a 13ª posição.

Na ETE 1, além da espécie predominante, foram observadas as seguintes espécies secundárias (não dominantes): *Sphaerotilus natans*, Tipo 0092 e Tipo 0581. Além da espécie predominante e das secundárias, foi encontrada uma espécie em baixíssima densidade, *Beggiatoa* sp., sendo considerada rara nesta ETE. *Beggiatoa* sp. é móvel e apresenta grânulos de depósito de enxofre *in vivo* (Figura 2c).

CONCLUSÕES

Foram identificadas oito espécies predominantes de bactérias filamentosas nas amostras de lodos ativados de cinco grandes ETEs no estado do Rio de Janeiro: *Haliscomenobacter hydrossis*, *Nocardia* sp., *Sphaerotilus natans*, Tipo 0041 / 0675, Tipo 0092, Tipo 0803, Tipo 0961 e Tipo 1851. As espécies encontradas são potenciais causadoras de *bulking* filamentoso ou *foaming* (no caso de *Nocardia* sp.), evidenciando a

importância do trabalho de identificação e do acompanhamento de suas densidades na prevenção de problemas operacionais em ETEs com tratamento biológico.

Através de microscopia, técnicas de coloração, teste bioquímico e com o auxílio de chave de identificação, é possível identificar as espécies dominantes em um tanque de aeração com finalidade de se prevenir a ocorrência dos dois fenômenos supracitados. Caso se encontre um quadro onde os mesmos já estejam instaurados, reconhecer as espécies dominantes auxilia na tomada de decisão quanto às escolhas mais eficientes de controle, com vistas a eliminar o intumescimento e/ou geração de espuma.

É mister que maiores investimentos sejam feitos na capacitação (treinamento e especialização) de profissionais de saneamento e infraestrutura de laboratório para a correta identificação dos organismos de lodos ativados, na busca de um melhor controle do processo em ETEs com tratamento biológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CETESB. Microbiologia de Lodos Ativados. Caderno da Gestão do Conhecimento – Atualização Profissional. São Paulo: ETGC, 2012.
2. _____. Microbiologia de Lodos Ativados com Foco em Bactérias Filamentosas. Caderno da Gestão do Conhecimento – Atualização Profissional. São Paulo: ETGC, 2013.
3. EIKELBOOM, D. H. Process Control of Activated Sludge Plants by Microscopic Investigation. 1st Ed. London – UK: IWA Publishing, 2000.
4. JENKINS, D.; RICHARD, M. G.; DAIGGER, G. T. Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming, and other solids separation problems. 3rd Ed. Florida – USA: Lewis Publishers, 2004.
5. JORDÃO, E. P. e PESSÔA, C. A. Tratamento de Esgotos Domésticos. 6ª edição. Rio de Janeiro: ABES, 2011.
6. VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. Vol. IV, 3ª Ed. Belo Horizonte: DESA, UFMG; 2005.