

II-188 - MICROFAUNA DE REATORES UASB EM ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO DO INTERIOR DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Tiago Abreu Viana ⁽¹⁾

Biólogo pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ. Mestre em Ecologia e Evolução pela UERJ. Doutorando em Zoologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro / Museu Nacional – UFRJ/MN. Analista da Qualidade da Gerência de Controle de Qualidade e Obras da Diretoria do Interior - CEDAE – RJ.

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. Doutorando em Engenharia Química pelo Programa de Engenharia Química (PEQ) da COPPE/UFRJ.

Mauro Vinicius Fernandes de Oliveira Soares

Graduando em Ciências Biológicas pela Universidade Castelo Branco – UCB. Estagiário do Laboratório de Protistologia da UFRJ.

Inácio Domingos da Silva-Neto

Graduado em Ciências Biológicas pela Faculdade de Humanidades Pedro II. Mestre em Ciências Biológicas (Zoologia-Protistologia) pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Doutor em Ciências Biológicas pelo Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo e pelo Institute de Protistologie et Zoologie dans l'Université Blaise Pascal de Clermont Ferrand. Professor da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Laboratório de Protistologia da UFRJ.

Endereço⁽¹⁾: Avenida Presidente Vargas, 2655 – Cidade Nova – Rio de Janeiro –RJ – CEP: 20210-030 – Brasil – Tel: +55(21) 2332-5724 / +55(21) 2332-3945 – e-mail: tiago-viana@cedae.com.br

RESUMO

O processo de degradação anaeróbia é um sistema dinâmico e complexo. Apesar de ser considerado como sendo de origem bacteriana apenas, os protozoários possuem um impacto significativo no processo de digestão, fazendo parte da microfauna em reatores anaeróbios, como o UASB (acrônimo de *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*). A microfauna destes reatores, entretanto, é pouco conhecida. Este trabalho teve como objetivo, caracterizar a microbiota do lodo de reatores UASB de duas Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs) de pequeno porte situadas no interior no Estado do Rio de Janeiro que tratam esgotos sanitários. Cada uma das ETEs é composta por dois reatores UASB (manta de lodo e fluxo ascendente), seguidos de dois biofiltros aerados submersos nitrificantes de fluxo ascendente, acompanhados de um decantador secundário. Foram realizadas análises qualitativas da microbiota de amostras frescas e de cultivos preparados em laboratório. As análises foram feitas em lupa Olympus modelo SZ 40 e microscópio ótico Zeiss modelo AxioImager.A2 com contraste interferencial diferencial. O cultivo foi feito em Placa de Petri, com o objetivo de aumentar a densidade populacional dos protozoários ativos e permitir o excistamento dos protozoários encistados. Verifica-se que a microbiota dos reatores das ETEs estudadas é representada por ciliados bacterívoros, como *Metopus* sp., ciliados carnívoros, como Litostomatea, amebas com teca, como *Arcella* sp. e *Euglypha* sp., amebas nuas e flagelados. A diversidade de organismos e a abundância de cada morfoespécie mostrou-se menor que aquela geralmente encontrada em lodos ativados. Os ciliados *Metopus* sp. e Litostomatea podem, potencialmente, abrigar bactérias endossimbiontes em seu citoplasma. *Metopus* e *Cyclidium* possuem hidrogenossomos, organelas parecidas com mitocôndrias, mas responsáveis pelo metabolismo anaeróbio, que produzem ATP e hidrogênio livre.

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento anaeróbio, protozoários, ciliados, metano, endossimbiose.

INTRODUÇÃO

O reator UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), ou RAFA (reator anaeróbio de fluxo ascendente), é um reator anaeróbio de manta de lodo, caracterizado por conter câmara de digestão, separador trifásico, zona de sedimentação e zona de acumulação de gás (JORDÃO & PESSÔA, 2011; VON SPERLING, 2005). O processo de tratamento por este tipo de reator é reconhecido como um dos métodos que causam menos danos ao ambiente ao se tratar águas residuárias urbanas em países tropicais (NAIR & AHAMMED, 2013), além de serem os reatores anaeróbios de alta taxa mais robustos para tratamento de esgotos (TIWARI *et al.*, 2006 *apud* CHONG *et al.*, 2012). A utilização de reatores de manta de lodo para o tratamento de esgotos domésticos já ocorre no Brasil e em outros países tropicais, sendo as experiências bem-sucedidas nesses países um indicativo do potencial destes reatores para o tratamento deste tipo de efluente (CHERNICHARO, 2007; KHAN *et al.*, 2011).

O processo de degradação anaeróbia é um sistema dinâmico e complexo, onde aspectos microbiológicos, bioquímicos e físico-químicos estão intimamente ligados. Ele era considerado, até recentemente, como sendo de natureza bacteriana apenas, contudo verificou-se que a camada trófica adicional que abrange os protozoários possui um impacto significativo no processo de digestão, fazendo parte da microfauna do reator (PRIYA *et al.*, 2007). A microfauna de Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs) é composta por protozoários e micrometazoários, organismos que desempenham papéis específicos na degradação dos esgotos. A microfauna de reatores anaeróbios, entretanto, é pouco conhecida. Na verdade, o fato de que reatores anaeróbios podem conter protozoários em adição aos vários grupos de bactérias e arqueobactérias é raramente reconhecido na literatura e alguns dos poucos exemplos são os trabalhos de Priya *et al.* (2007), Agrawal *et al.* (1997) e Roncon *et al.* (2007). Sabe-se que a diversidade de espécies de protozoários e a densidade de suas populações são menores em ambientes anaeróbios em comparação com ambientes aeróbios (LYNN, 2008). Assim, é esperado que a diversidade da microfauna de reatores UASB seja inferior à de reatores aeróbios, como o tanque de aeração de lodos ativados, por exemplo.

O papel dos protozoários na degradação anaeróbia também era completamente ignorado até pouco tempo (PRIYA, *et al.*, 2007). Atualmente, sabe-se que a conversão anaeróbia da matéria orgânica é realizada pela atividade coordenada de um número de diferentes grupos de microrganismos incluindo arqueas, bactérias e protozoários; que reatores com lodos ricos em protozoários podem aumentar sua taxa de mineralização de compostos orgânicos; e, que a quantidade de ciliados está correlacionada com a remoção de Demanda Química de Oxigênio (DQO) e com a produção de metano (PRIYA, *et al.*, 2007). Estes ciliados, que são os representantes mais conspícuos da microfauna, são capazes de abrigar, em suas células, bactérias metanogênicas. As bactérias vivem dentro do citoplasma dos ciliados num modelo de relação ecológica conhecido como endossimbiose, onde o ciliado e a bactéria se beneficiam. Os ciliados também podem estimular o crescimento bacteriano dentro dos reatores pela excreção de ácidos orgânicos, como acetato e propionato (BIAGINI *et al.* 1998 *apud* LYNN, 2008).

Este trabalho é um importante registro no estado do Rio de Janeiro da microfauna de reatores UASB alimentados com esgotos domésticos. Seu objetivo foi caracterizar a microbiota de reatores UASB de duas ETEs de pequeno porte situadas no interior no Estado do Rio de Janeiro. O desenvolvimento desse trabalho contou com o apoio da Companhia Estadual de Águas e Esgotos - CEDAE, em especial da Gerência de Controle de Qualidade e Obras do Interior e da Gerência Serrana, da Diretoria de Distribuição e Comercialização do Interior.

MATERIAIS E MÉTODOS

Cada uma das ETEs estudadas é composta por dois reatores UASB, seguidos de dois biofiltros aerados submersos nitrificantes de fluxo ascendente, acompanhados de um decantador secundário. As amostras de lodo anaeróbio dos reatores UASB foram coletadas nos dias 21 de dezembro de 2015 e 06 de janeiro de 2016 e uma amostra do efluente dos reatores da ETE 1 foi coletada no dia 29 de março de 2016. Não foi coletada amostra do efluente do reator UASB da ETE 2.

Foram realizadas análises qualitativas da microbiota de amostras frescas e de cultivos preparados em laboratório. As análises foram feitas em lupa Olympus modelo SZ 40 e microscópio ótico Zeiss modelo AxioImager.A2 com contraste interferencial diferencial. O cultivo foi feito em Placa de Petri, na qual adicionou-se um grão de arroz como fonte de substrato para o crescimento de bactérias (Figura 1). O cultivo foi feito com o objetivo de aumentar a densidade populacional dos protozoários ativos e permitir o excistamento dos protozoários encistados. Os cultivos foram analisados após o quinto dia.

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

Tabela 1: Características de processo das ETEs analisadas.

Local	Vazão (L/s)	Carga DQO (kg DQO/dia)	Carga DBO* (kg DBO/dia)
ETE 1	7	665,3	302,4
ETE 2	3	220,3	103,7

*DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

RESULTADOS

O lodo das ETEs estudadas apresentou uma coloração escura e um odor forte de putrefação, o que é peculiar de lodos anaeróbios. No lodo e no efluente do reator UASB da ETE 1, foi observada a ocorrência de *Zoogleae*, uma bactéria que apresenta crescimento dendrítico característico. No efluente do reator UASB da ETE 1, também foram observadas bactérias filamentosas do gênero *Thiothrix*. Estas bactérias apresentam crescimento em forma de rosetas e acumulam grânulos intracelulares de enxofre com aparência brilhante ao microscópio óptico. Estas bactérias ocorrem em esgotos em condições de septicidade ou anaerobiose e utilizam sulfeto de hidrogênio (H₂S) e outros compostos de enxofre reduzido para seu crescimento. Os sulfetos são oxidados e o enxofre elementar é temporariamente armazenado formando os grânulos (EIKELBOOM, 1996).

Os protozoários encontrados nas amostras frescas são apresentados na Tabela 2. A ETE 1 apresentou uma maior diversidade de espécies que a ETE 2. Isto pode estar relacionado com a maior carga orgânica recebida pela primeira (rever Tabela 1). Os ciliados e as tecamebas foram os grupos mais representados, com cinco e três espécies, respectivamente. As tecamebas são amebas que possuem uma carapaça ou teca e as gimnamebas são amebas nuas, sem carapaça. Nematódeos e rotíferos encontrados nas amostras estavam inativos ou letárgicos, mostrando que os mesmos não atuam na microfauna destes reatores.

Tabela 2: Protozoários e micrometazoários encontrados em amostras frescas de reatores UASB em duas ETEs no estado do Rio de Janeiro.

Local	Amostra	Organismo	Grupo
ETE 1	Lodo	<i>Metopus</i> sp.	Ciliado bacterívoro
	Lodo e Efluente	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	
	Lodo	Litostomatea	Ciliado carnívoro
		<i>Thecacinetia</i> sp.	
		Gimnameba	Ameba nua
		<i>Euglypha</i> sp.	Tecameba
		<i>Arcella</i> sp.	
		<i>Centropyxis</i> sp.	
	Efluente	Flagelado espécie 1	Flagelado
ETE 2	Lodo	Nematódeo	Micrometazoário
		Rotífero	
		<i>Tetrahymena pyriformis</i>	Ciliado bacterívoro
		<i>Cyclidium</i> sp.	
		<i>Arcella</i>	Tecameba
		<i>Euglypha</i>	

A maioria dos ciliados encontrados foram bacterívoros filtradores, como é o caso de *Metopus* sp. e *Cyclidium* sp. A ingestão de bactérias por *Cyclidium* sp. pode exceder 500 bactérias por ciliado por hora (SIMEK *et al.*, 1996). A presença dos ciliados se alimentando das bactérias estimula a produção bacteriana e pode aumentar a produção de metano (LYNN, 2008).

Metopus sp. são muito comuns em ambientes anaeróbios e *Cyclidium* sp. tem sido encontrado em ambientes anóxicos em lagos (GUHL, FINLAY & SCHINK, 1996). Ambas possuem hidrogenossomos, organelas parecidas com mitocôndrias, mas responsáveis pelo metabolismo anaeróbio (CLARKE *et ali*, 1993; FENCHEL & FINLAY, 1991). *Metopus* sp., especificamente, é restrito a habitats anaeróbios e é tipicamente dependente de simbiontes metanogênicos. (LYNN, 2008).

Apenas Litostomatea e *Thecacinet*a são carnívoros e se alimentam de flagelados e outros ciliados. Litostomatea também pode ter bactérias endossimbiontes.

A Tabela 3 mostra os protozoários encontrados após cultivo em laboratório. Alguns desses organismos não foram encontrados em amostras frescas. Isto ocorreu, provavelmente, porque estes organismos se encontravam encistados ou inativos no reator UASB, e encontraram condições favoráveis para excitar no cultivo. Foram encontradas sete espécies de ciliados após cultivo, sendo seis na ETE 1 e duas na ETE 2. As Figuras 1 e 2 apresentam alguns protozoários e micrometazoários encontrados nos reatores UASB.

Metopus sp., *Tetrahymena pyriformis* e *Cyclidium* sp. foram encontradas tanto em amostras frescas quanto nos cultivos, indicando que estas espécies suportam tanto condições anaeróbicas quanto condições microaerofílicas, como aquelas do cultivo. *Colpoda inflata*, *Colpoda* sp., Spirotrichea e *Spathidium* foram observados apenas nos cultivos, indicando que estas espécies não suportam as condições de anaerobiose encontradas no reator e resistem à passagem pelo UASB em inatividade ou na forma de cistos.

Tabela 3: Microfauna encontrada após cultivo em laboratório.

Local	Amostra	Organismo	Grupo
ETE 1	Lodo	<i>Metopus</i> sp.	Ciliado bacterívoro
	Lodo e Efluente	<i>Colpoda inflata</i>	
		<i>Colpoda</i> sp.	
	Lodo	Spirotrichea	
	Efluente	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	
		<i>Cyclidium</i> sp.	
	Efluente	Gimnameba	Ameba nua
	Lodo UASB	Nematódeo	Micrometazoário
	Lodo UASB	Rotífero	
	Lodo UASB	Gastrotricha	
ETE 2	Lodo e Efluente	<i>Peranema</i> sp.	Flagelado
		Flagelado espécie 1	
		Flagelado esp. 2	
		Flagelado esp. 3	
	Lodo	Spirotrichea	Ciliado bacterívoro
		<i>Spathidium</i>	Ciliado carnívoro
		Flagelado espécie 1	Flagelado
		<i>Centropyxis</i> sp.	Tecameba
		Nematódeo	Micrometazoário
		Rotífero	
		<i>Aelosoma</i> sp.	

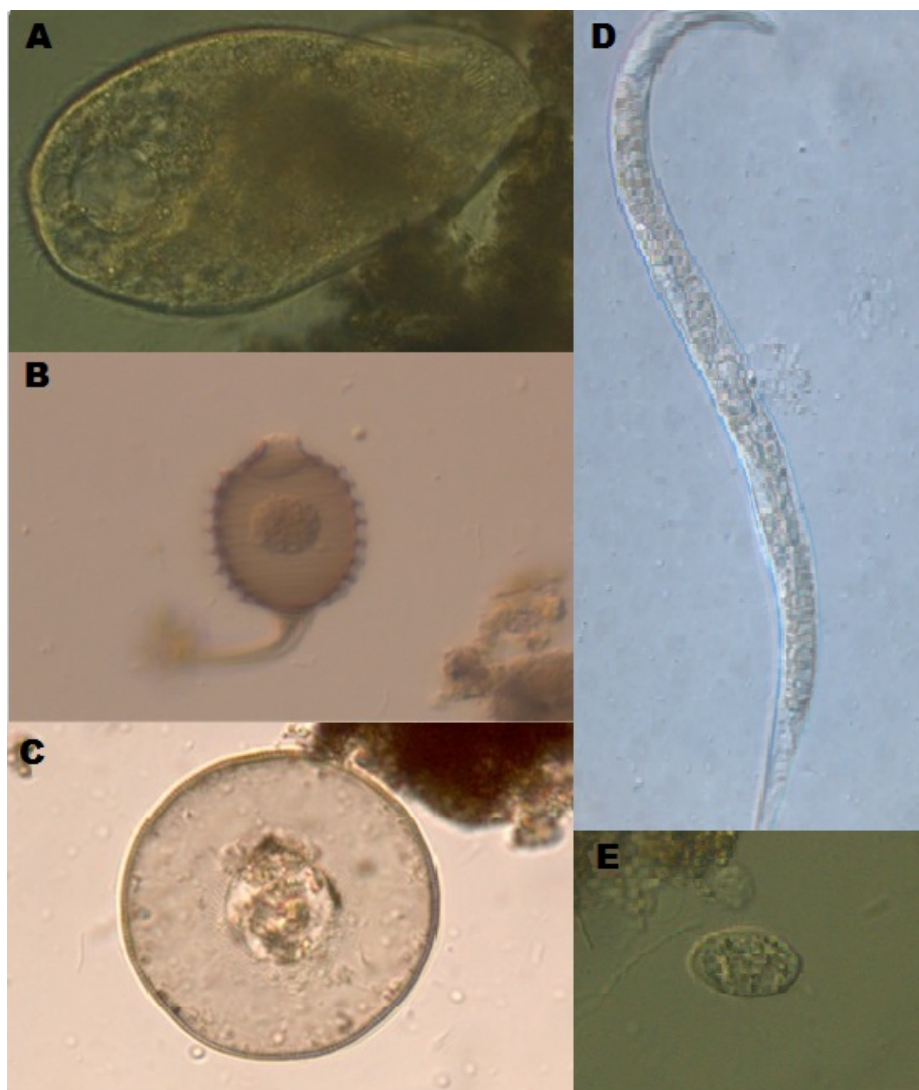


Figura 1: Microfauna encontrada em amostras frescas. A. *Metopus* sp. procurando alimento entre a matéria orgânica. B. Ciliado do gênero *Thecacina*. C. Tecameba do gênero *Arcella*. D. Nematódeo. E. *Tetrahymena pyriformis*.

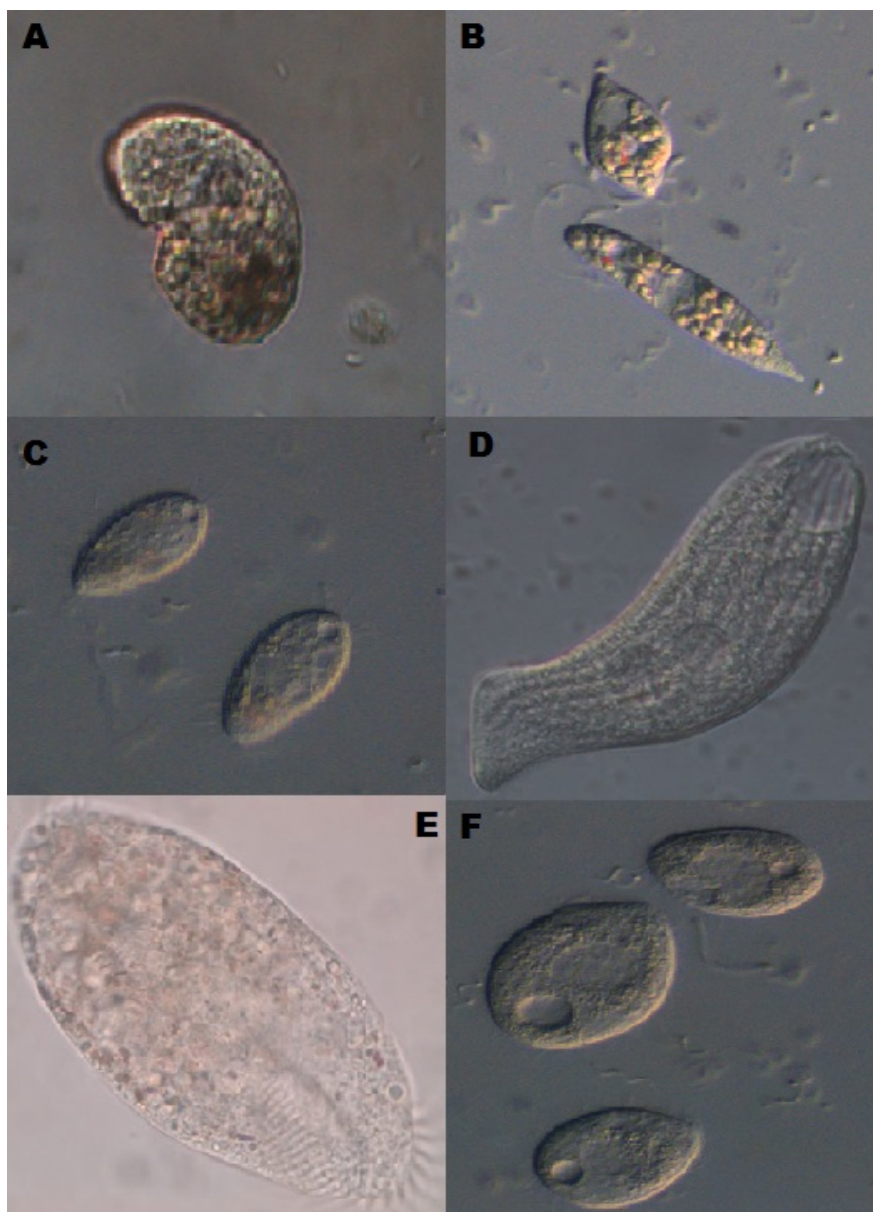


Figura 2. Microfauna encontrada após cultivo das amostras em laboratório. A. *Colpoda* sp. B. Flagelados. C. *Cyclidium* sp. D. *Spathidium* sp. E. Spirotrichea. F. *Tetrahymena pyriformis*.

CONCLUSÕES

A microfauna dos reatores UASB das ETEs estudadas é representada por ciliados bacterívoros, ciliados carnívoros, amebas com teca, amebas nuas e flagelados. Os micrometazoários encontrados, como rotíferos, gastrotrícos, nematódeos e *Aelosoma* sp. (anelídeo) não estavam ativos nas amostras frescas e tornaram-se ativos e abundantes apenas nas culturas. Isto demonstra que estes organismos não fazem parte da microfauna atuante no reator, permanecendo em estado de inatividade dentro dele. A diversidade de organismos mostrou-se menor que aquela geralmente encontrada em lodos ativados.

Este trabalho contribui para aumentar o conhecimento sobre a microfauna de reatores anaeróbios e indica seu potencial uso como bioindicador do desempenho de reatores UASB.

Novas coletas serão realizadas e a ocorrência e identificação das bactérias endossimbiontes metanogênicas nos ciliados serão investigadas em trabalhos futuros. Este trabalho e os futuros oferecerão subsídios para a criação de um índice de qualidade de lodo de reatores UASB por meio da análise da microfauna.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BIAGINI, G. A., FINLAY, B. J., & LLOYD, D. Protozoan stimulation of anaerobic microbial activity: Enhancement of the rate of terminal decomposition of organic matter. *FEMS Microbiology Ecology*, 27, 1–8, 1998 apud LYNN, D. H. *The Ciliated Protozoa – Characterization, Classification and Guide to the Literature*. 3rd edition. Springer. 2008.
2. CHERNICHARO, C. A. L. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: reatores anaeróbios. v. 5, 2.ed. Belo Horizonte: DESA-UFMG, 2007. 379p.
3. CLARKE, K.J., FINLAY, B.J., ESTEBAN, GUHL, B.E. & EMBLEY, T.M. *Cyclidium porcatum* n. sp.: A free-living anaerobic scuticociliate containing a stable complex of hydrogenosomes, Eubacteria and Archaeobacteria. *European Journal of Protistology*, 29, 262–270, 1993.
4. EIKELBOOM, D.H. *Process Control of Activated Sludge Plants by Microscopic Investigation*. IWA Publishing. 2000.
5. FENCHEL, T. & FINLAY, B.J. The biology of free-living anaerobic ciliates. *European Journal of Protistology*, 26, 210–215, 1991.
6. GUHL, B. E., FINLAY, B.J. & SCHINK, B. Comparison of ciliate communities in the anoxic hypolimnia of three lakes: General features and the influence of lake characteristics. *Journal of Plankton Research*, 18, 335–353. 1996.
7. JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. Tratamento de Esgotos Domésticos. 6ª ed. Rio de Janeiro: ABES, 2011.
8. KHAN, A. A.; GAUR, R. Z.; TYAGI, V. K.; KHURSHEED, A.; LEW, B.; MEHROTRA, I.; KAZMI, A. Sustainable options of post treatment of UASB effluent treating sewage: A review. *Resources, Conservation and Recycling*, v. 55, p. 1232–1251, 2011.
9. LYNN, D. H. *The Ciliated Protozoa – Characterization, Classification and Guide to the Literature*. 3rd edition. Springer. 2008.
10. NAIR, A.T., AHAMMED, M.M., The reuse of water treatment sludge as a coagulant for post-treatment of UASB reactor treating urban wastewater, *Journal of Cleaner Production*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.12.037>, 2013.
11. PRIYA, M.; HARIDAS, A.; MANILAL, V. B. Involvement of protozoa in anaerobic wastewater treatment process. *Water Research* 41 (2007) 4639 – 4645.
12. SIMEK, K, MACEK, M, PERNTHALER, J., STRASKRABOVA, V. & PSENNER, R. Can freshwater planktonic ciliates survive on a diet of picoplankton? *Journal of Plankton Research*, 18, 597–613. 1996.
13. TIWARI, M., GUHA, S., HARENDRANATH, C., TRIPATHI, S. Influence of extrinsic factors on granulation in UASB reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 71 (2), p. 145 – 154, 2006 apud CHONG, S.; KANTI SEM, T.; KAYAALP, A.; MING ANG, H. The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment – A State-of-the-art review. *Water research*, v. 46, p. 3434–3470, 2012.
14. VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. v. 1, 3ª ed. Belo Horizonte: DESA-UFMG, 2005.