

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**CARACTERIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS PRESENTES EM LODOS
DOS REATORES ANAERÓBIOS DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE
ACLIAMAÇÃO DO DMAE/UBERLÂNDIA-MG**

Francielle Lopes de Oliveira Soares

Monografia apresentada à Coordenação
do Curso de Ciências Biológicas, da
Universidade Federal de Uberlândia, para
a obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG
Setembro – 2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**CARACTERIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS PRESENTES EM LODOS
DOS REATORES ANAERÓBIOS DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE
ACLIMAÇÃO DO DMAE/UBERLÂNDIA-MG**

Francielle Lopes de Oliveira Soares

Orientadora: Miriam Maria de Resende

Monografia apresentada à Coordenação
do Curso de Ciências Biológicas, da
Universidade Federal de Uberlândia, para
a obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG
Setembro – 2006
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**CARACTERIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS PRESENTES EM LODOS
DOS REATORES ANAERÓBIOS DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE
ACLIMAÇÃO DO DMAE/UBERLÂNDIA-MG**

Francielle Lopes de Oliveira Soares

Orientadora: Miriam Maria de Resende
Unidade Acadêmica: Faculdade de Engenharia Química

Monografia apresentada à Coordenação
do Curso de Ciências Biológicas, da
Universidade Federal de Uberlândia, para
a obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Homologado pela coordenação do Curso
de Ciências Biológicas em / /

Coordenadora do Curso: Cecília Lomônaco de Paula

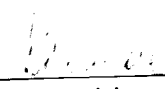
Uberlândia – MG
Setembro - 2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

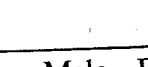
**CARACTERIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS PRESENTES EM LODOS DOS
REATORES ANAERÓBIOS DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO DE
ACLIMAÇÃO DO DMAE/UBERLÂNDIA-MG**

Francielle Lopes de Oliveira Soares


Aprovado pela Banca Examinadora em: 22 / 09 / 2006 **Nota:** 1,0



Prof. Miriam Maria de Resende
Orientadora – FEQUI/UFU



Prof. Claudia Maria Tomas Melo - EAFUDI



Prof. José Fernando Pinese - IB/UFU

Uberlândia, 22 de setembro de 2006.

**Dedico este trabalho ao meu querido esposo Alan,
aos meus pais, Marlúcia e Nelson e
ao meu irmão Bruno.**

Agradecimentos

- ◆ A Deus, senhor do universo.
- ◆ Ao imenso carinho, paciência e compreensão do meu esposo, meus pais e meu irmão. Dedico mais este passo ao exemplo que vocês me dão. Sem o apoio incondicional de vocês essa conquista jamais seria possível.
- ◆ À minha orientadora Profª Miriam Maria de Resende, pela orientação, dedicação e paciência.
- ◆ Ao Instituto de Biologia da UFU, pela oportunidade concedida.
- ◆ Especialmente a você Alan, por contribuir para a realização deste trabalho.
- ◆ Aos meus familiares que sempre torceram pela minha vitória.
- ◆ Aos meus amigos pela compreensão.
- ◆ A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

As comunidades urbanas, as indústrias e atividades agrícolas produzem grandes quantidades de esgoto e resíduos químicos, o lançamento de esgotos não tratados ou insuficientemente tratados tem causado danos ao meio ambiente, além de ser um fator de risco à saúde da população. Existem métodos de tratamento de efluentes que utilizam microrganismos aeróbios e anaeróbios. A ETE Aclimação do DMAE Uberlândia utiliza microrganismos anaeróbios em seus reatores para a degradação da matéria orgânica do esgoto, dentre os quais se destacam os grupos de bactérias hidrolíticas, acidogênicas, metanogênicas e sulforredutoras. O presente trabalho propôs-se a identificar e caracterizar a microfauna presente no esgoto que é tratado na ETE Aclimação. Para tal intento utilizou-se reagentes de Gram, meios de cultura e microscopia. Foi encontrada uma grande diversidade de espécies de bactérias gram-positivas e gram-negativas, helmintos, além de alguns protozoários e fungos. Dentre estes, as bactérias são os microrganismos mais importantes e atuantes no processo de digestão anaeróbia.

Palavras-chave: esgoto, microrganismos anaeróbios, reatores.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	04
2.1. Características gerais dos esgotos domésticos	04
2.1.1. Características físico-químicas	04
2.1.1.1. Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)	05
2.1.1.2. Demanda Química de Oxigênio (DQO)	06
2.1.2. Características biológicas	06
2.2. Tratamento de efluentes	07
2.2.1. Tratamento preliminar	07
2.2.2. Tratamento primário	07
2.2.3. Tratamento secundário	07
2.2.3.1. Tratamento anaeróbio	10
2.2.3.2. Métodos de tratamento secundário	13
2.2.3.3. Microbiologia da digestão anaeróbia	14
2.2.4. O sistema de tratamento de esgotos do DMAE	16
3. OBJETIVO	17
4. MATERIAIS	18
4.1. Coleta das amostras	18
4.2. Pesquisa de bactérias	18
4.2.1. Pesquisa de bactérias anaeróbias	18
4.3. Pesquisa de coliformes	18
4.4. Pesquisa de fungos	18
4.5. Pesquisa de protozoários	18
5. METODOLOGIA	19
5.1. Coleta das amostras	19
5.2. Pesquisa de bactérias	19
5.2.1. Pesquisa de bactérias anaeróbias	19
5.3. Pesquisa de coliformes	19
5.4. Pesquisa de fungos	20
5.5. Pesquisa de protozoários	21
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
6.1. Análises físico-químicas	22
6.2. Pesquisa de bactérias	24

6.3. Pesquisa de coliformes	41
6.4. Pesquisa de fungos	42
6.5. Pesquisa de protozoários	46
7. CONCLUSÃO	49
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

1- INTRODUÇÃO

A água constitui um elemento essencial à vida animal e vegetal. Seu papel no desenvolvimento da civilização é reconhecido desde a mais alta antiguidade; Hipócrates (460-354 a.C.) já afirmava: “A influência da água sobre a saúde é muito grande”. O homem tem necessidade de água com qualidade adequada e em quantidade suficiente, não só para a proteção de sua saúde, como também para seu desenvolvimento (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB, 1978).

Conhecida como solvente universal, a água sempre retém algum resíduo dos materiais com os quais entra em contato. Mesmo a água doce da natureza, presente nos rios, lagos e lençóis subterrâneos, contém resíduos das substâncias presentes no meio ambiente, como sais dissolvidos, partículas em suspensão e microorganismos. A água potável da maioria das comunidades e municípios é proveniente de fontes superficiais-rios, ribeirões e lagos. Esses suprimentos de água natural, particularmente ribeirões e rios, são poluídos com dejetos domésticos, agrícolas e industriais. Muitos habitantes de cidades não estão cientes de que a água que vem para suas torneiras foi utilizada anteriormente, talvez várias vezes (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996; SISTEMA DE ABASTECIMENTO DE ÁGUA DO ESTADO DE SÃO PAULO - SABESP, 2005).

A água de esgoto ou água residual é definida como a água usada de uma comunidade e consiste em despejos domésticos veiculados pela água, detritos industriais como ácidos, óleos, graxas e materiais animais e vegetais descarregados pelas fábricas e águas de lençol freático da superfície e da atmosfera que entram no sistema de esgoto. Essas águas compõem-se de esgotos sanitários e industriais sendo que estes, em caso de geração de efluentes muito tóxicos, devem ser tratados em unidades das próprias indústrias. Os esgotos domésticos contêm aproximadamente 99,9% de água. A fração restante inclui sólidos orgânicos e inorgânicos, suspensos e dissolvidos, bem como microorganismos. Portanto, é devido a essa fração de 0,1% que há necessidade de se tratar os esgotos (BORSOI et al., 2006; PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996; SPERLING, 1996a).

Em todo o planeta 2,4 bilhões de pessoas despejam seus esgotos a céu aberto, no solo ou em corpos d'água que passem perto de suas casas, porque não têm acesso a um sistema de coleta. No Brasil, 49% do esgoto produzido é coletado através de rede e somente 10% do esgoto total é tratado. O resultado é que as Regiões Metropolitanas e grandes cidades concentram grandes volumes de esgoto coletado que é despejado sem tratamento nos rios e mares que servem de corpos receptores. Em consequência a poluição das águas que cercam

nossas maiores áreas urbanas é bastante elevada, dificultando e encarecendo, cada vez mais, a própria captação de água para o abastecimento (BORSOI et al., 2006; CÉSAR, 2005).

As comunidades urbanas, as indústrias e atividades agrícolas produzem grandes quantidades de esgoto e resíduos químicos. Esses resíduos, quando lançados sem tratamento nos ambientes aquáticos, provocam a poluição (HAGLER, 2005).

Em muitas áreas do país, o lançamento de esgotos não tratados ou insuficientemente tratados tem causado danos ao meio ambiente, além de ser um fator de risco à saúde da população. A água de esgoto despejada sem tratamento poderá levar a consequências sérias e desagradáveis. O despejo de esgoto tratado inadequadamente pode provocar maior possibilidade de disseminação de microrganismos patogênicos, maior perigo na utilização das extensões naturais de água potável, além de contaminar animais aquáticos (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996; UBBI, 2005).

Para resolver a situação, altos investimentos do setor público e privado em saneamento básico são necessários, porém demandam longo prazo. Embora a maioria dos países desenvolvidos já tenha adequado seus sistemas para gerenciar os resíduos produzidos durante o tratamento, nos países em desenvolvimento, um grande número de estações de tratamento de água ainda lança esses materiais diretamente nos cursos d'água. Essa atividade acarreta impactos ambientais significativos que têm levado os órgãos ambientais a exigirem das operadoras a implantação de alternativas de disposição desse resíduo (ANDREOLI, 2001; UBBI, 2005).

No mundo desenvolvido, é crescente o uso de biorremediadores no tratamento de esgotos domésticos e industriais com o propósito de preservar o meio ambiente e a saúde da população. Estes produtos são microrganismos benéficos de ocorrência natural, que têm o poder de digerir a matéria orgânica, anulando o impacto ambiental negativo provocado pelo despejo de esgoto sanitário sem tratamento ou insuficientemente tratado. Os biodegradadores de esgoto sanitário, além de proteger a saúde da população e o meio ambiente, reduzem custos de manutenção ao tornar fossas, caixas de gordura e estações de tratamento mais eficientes e isentos de problemas de mau cheiro, microrganismos patogênicos, moscas e entupimentos (UBBI, 2005).

O tratamento biológico é a forma mais eficiente de remoção da matéria orgânica dos esgotos. O próprio esgoto contém grande variedade de bactérias e protozoários para compor as culturas microbiais mistas que processam os poluentes orgânicos (BORSOI et al., 2006).

Os microrganismos purificam a água através de processos naturais de reciclagem da matéria orgânica, conseguindo degradar os compostos naturais. Entretanto, a biodegradação

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1- Características gerais dos esgotos domésticos

2.1.1- Características físico-químicas

As características dos esgotos variam quantitativa e qualitativamente com a sua utilização. As características físico-químicas de um esgoto correspondem às seguintes determinações: matéria sólida, temperatura, pH, odor, cor, turbidez, matéria orgânica e inorgânica (JORDÃO; PESSOA, 1995; SPERLING, 1996a).

Os sólidos reduzem a penetração da luz no líquido, dificultando a fotossíntese, podem ser formados por compostos tóxicos e servem de abrigo a organismos patogênicos, além de produzir uma aparência estética desagradável. Eles são classificados segundo características de sedimentação, de tamanho e composição química. De acordo com o tamanho das partículas, os sólidos podem ser incluídos em duas categorias: sólidos dissolvidos (fração dos sólidos orgânicos e inorgânicos que são filtráveis) e sólidos em suspensão (fração dos sólidos orgânicos e inorgânicos que não são filtráveis). De acordo com as características químicas, os sólidos totais são divididos em sólidos voláteis (representam uma estimativa da matéria orgânica nos sólidos) e sólidos fixos (representam a matéria inorgânica ou mineral). Quanto a decantabilidade, os sólidos são classificados em sólidos sedimentáveis (sedimentam no período de uma hora) e sólidos não sedimentáveis (LIMA, 2005; SPERLING, 1996a).

A temperatura de um esgoto apresenta-se ligeiramente superior à da água de abastecimento. Pode, no entanto, apresentar valores reais elevados, pela contribuição de despejos industriais. Normalmente, a temperatura nos esgotos está acima da temperatura do ar, à exceção dos meses mais quentes do verão, sendo típica a faixa de 20 a 25 °C. Influencia a atividade microbiana, além da solubilidade dos gases e da viscosidade dos líquidos (SPERLING, 1996a; JORDÃO; PESSOA, 1995).

O pH é o indicador das características ácidas ou básicas do esgoto. Uma solução é neutra em pH 7. Os processos de oxidação biológica normalmente tendem a reduzir o pH. A coloração varia um pouco: o esgoto fresco é ligeiramente cinza, enquanto que o séptico é cinza escuro ou preto. Além disso, o esgoto fresco possui um odor oleoso, relativamente desagradável e o séptico possui um odor fétido (desagradável), devido ao gás sulfídrico e a outros produtos da decomposição. A turbidez é causada por uma grande variedade de sólidos em suspensão. Os esgotos mais frescos ou mais concentrados geralmente apresentam maior turbidez (SPERLING, 1996a).

A origem dos esgotos permite classificar as características químicas em dois grupos: de matéria orgânica, constituída principalmente por compostos de proteínas, carboidratos,

gordura e óleos e uréia, surfatans, fenóis, pesticidas, dentre outros e de matéria inorgânica, formada principalmente por areia e substâncias minerais dissolvidas (JORDÃO; PESSOA, 1975).

A matéria orgânica presente nos esgotos é uma característica de primordial importância na caracterização dos efluentes líquidos, sendo a causadora do principal problema de poluição das águas, tal como o consumo de oxigênio dissolvido pelos microrganismos nos seus processos metabólicos de utilização e estabilização da matéria orgânica (JORDÃO; PESSOA, 1975).

A caracterização da matéria orgânica dos efluentes é obtida indiretamente através de dois testes: Demanda Química de Oxigênio e Demanda Bioquímica de Oxigênio. Em ambos os testes, o material orgânico é oxidado e sua concentração é calculada através do decréscimo da concentração do oxidante durante o teste (SPERLING, 1996a; HAANDEL; LETTINGA, 1994).

2.1.1.1 - Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)

Uma das principais razões pelas quais as águas residuais devem ser tratadas antes de seu retorno à fonte de abastecimento (córrego ou lago) é para evitar a perda do oxigênio dissolvido na coleção hídrica receptora (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996).

A Demanda Bioquímica de Oxigênio é um teste importantíssimo para se conhecer a força dos esgotos, particularmente seu conteúdo de matéria orgânica decomponível. É definida como a quantidade de oxigênio, expressa em mg/L, necessária para estabilizar (oxidar) a matéria orgânica com a ajuda de microrganismos, principalmente bactérias (SILVA, 1977).

A grandeza da DBO é uma indicação da quantidade de material orgânico no esgoto; quanto mais material orgânico estiver presente, maior será a demanda bioquímica de oxigênio. Altos valores significam que um alto nível de material orgânico está presente, enquanto que baixos valores indicam que pouco material oxidável está presente (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996).

A quantidade de matéria orgânica presente é importante para se conhecer o grau de poluição de uma água residuária, para dimensionar as estações de tratamento de esgotos e medir sua eficiência (JORDÃO, PESSOA, 1975).

2.1.1.2 - Demanda Química de Oxigênio (DQO)

Além do oxigênio, outros agentes oxidantes podem degradar os compostos orgânicos dos efluentes líquidos. A Demanda Química de Oxigênio (DQO) é um teste padronizado que utiliza uma mistura de dicromato e ácido sulfúrico, que são os dois mais fortes agentes oxidantes conhecidos. O resultado é determinado num período de duas horas, tempo suficiente para que toda matéria orgânica presente do efluente esteja oxidada. Uma das vantagens da DQO sobre a DBO é que permite respostas em um tempo muito menor. Enquanto no teste de DQO, a oxidação do material orgânico é completada em algumas horas, no biológico a oxidação do material orgânico demora algumas semanas. Da mesma forma que a DBO, o resultado da DQO é proporcional à quantidade de matéria orgânica no efluente. A DQO oxida até mesmo a matéria orgânica não biodegradável do efluente líquido. Parte do substrato no teste de DBO última transforma-se em material celular, e não é estabilizado pela oxidação. Por isso os valores de DQO são superiores aos de DBO última; e esta diferença cresce na medida que mais matéria orgânica resistente aos microrganismos estiver presente. (JORDÃO; PESSOA, 1975; HAANDEL; LETTINGA, 1994).

2.1.2- Características biológicas

Outra característica importante dos efluentes líquidos domésticos é a presença de microrganismos. No esgoto são encontrados vírus, fungos, bactérias e parasitas (protozoários e helmintos), e, embora a grande maioria desses organismos seja inofensiva, alguns grupos de patógenos são considerados perigosos pelo risco que representam para a saúde humana e animal. As concentrações desses organismos nos esgotos está indicada na **Tabela 1** (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996; ANDREOLI, 2001).

Tabela 1 – Presença de microrganismos nos esgotos domésticos brutos.

Microrganismo	Concentração (org/100 ml)
Bactérias Totais	$10^9 - 10^{10}$
Coliformes Totais	$10^6 - 10^9$
Coliformes Fecais	$10^5 - 10^8$
Estreptococos Fecais	$10^5 - 10^6$
Cistos de Protozoários	$< 10^3$
Ovos de helmintos	$< 10^3$
Vírus	$10^2 - 10^4$

Fonte: Sperling (1996).

Dentre os microrganismos citados as bactérias são, sem dúvida, os mais importantes na estabilização da matéria orgânica. As bactérias heterotróficas são os principais agentes da remoção da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) durante o tratamento do efluente (SPERLING, 1996b).

2.2- Tratamento de efluentes

2.2.1- Tratamento preliminar

O tratamento preliminar destina-se principalmente à remoção de sólidos grosseiros e areia. Os mecanismos básicos de remoção são de ordem física, como peneiramento e sedimentação. O pré-tratamento é feito por meio de métodos físicos, químicos ou biológicos, ou por uma combinação destes. Muitas vezes apenas o pré-tratamento pode ser suficiente para atender à legislação local. O primeiro passo é o uso de peneiras para eliminar substâncias sólidas, como rótulos, rolas, fragmentos de vidro, plástico e outros materiais e partículas granuladas. Após a peneira, o efluente passa por uma câmara retangular para a sedimentação de sólidos, equipada com um raspador contínuo. A remoção de sólidos grosseiros é realizada com as finalidades de proteger os dispositivos de transporte dos esgotos, proteger as unidades de tratamento subseqüentes, além de proteger os corpos receptores (SPERLING, 1996a; REINOLD, 2003).

2.2.2- Tratamento primário

Os esgotos, após passarem pelas unidades de tratamento preliminar, contêm ainda os sólidos em suspensão não grosseiros, os quais podem ser parcialmente removidos em unidades de sedimentação. Uma parte significativa destes sólidos em suspensão é compreendida pela matéria orgânica em suspensão. Estas câmaras sedimentação podem também ser utilizadas como câmaras de mistura para sistemas de controle de pH e como unidade de pré-aeração para prevenir condições anaeróbias no clarificador primário (SPERLING, 1996a; REINOLD, 2003).

2.2.3- Tratamento secundário

O principal objetivo do tratamento secundário é a remoção da matéria orgânica. A essência desse tratamento nos esgotos domésticos é a inclusão de uma etapa biológica. Enquanto nos tratamentos preliminar e primário predominam mecanismos de ordem física, no tratamento secundário a remoção da matéria orgânica é efetuada por reações bioquímicas, realizadas por microrganismos (SPERLING, 1996a).

Ao consumirem os compostos orgânicos, os microrganismos crescem e se aglomeram, formando flocos e grânulos que são removidos do líquido por sedimentação. Além disso, produzem gases a partir da matéria orgânica. Estes gases formam bolhas que se desprendem do líquido. Entre os gases gerados, destacam-se o gás carbônico e metano. A qualidade dos gases gerados depende do tipo de respiração microbiana. A respiração pode ser aeróbia ou anaeróbia e é uma etapa do metabolismo dos microrganismos (LIMA, 2005).

Para crescerem, locomoverem, reproduzirem e realizarem todas as outras funções vitais, os microrganismos necessitam basicamente de energia, carbono e nutrientes (nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, cálcio, magnésio e micronutrientes). A matéria orgânica é removida dos efluentes pelos microrganismos pelo processo de catabolismo. Quando se refere ao tipo de fonte de carbono utilizada têm-se dois grupos de microrganismos: os autótrofos que são capazes de processar e utilizar o carbono do gás carbônico e os heterótrofos que utilizam o carbono encontrado na matéria orgânica (LIMA, 2005).

Outra diferença entre os microrganismos é relativa à fonte de energia. Os organismos capazes de utilizar a energia luminosa são chamados de fototróficos e os que utilizam a energia das reações químicas são quimiotróficos. Devido a turbidez dos efluentes líquidos é quase nula a penetração de luz neles. Portanto, a presença de organismos fototróficos é praticamente inviável em sistemas de tratamento de esgotos, com exceção de alguns tipos de sistemas por lagoas. Desta forma, os organismos mais importantes no processo de tratamento de efluentes líquidos são os quimiotróficos (LIMA, 2005).

O tratamento secundário engloba a atuação dos microrganismos na remoção dos compostos orgânicos do meio, através dos metabolismos aeróbio nos processos por lodos ativados, e anaeróbio, nos processos de biodigestão anaeróbia. Os agentes biológicos mais importantes na degradação da matéria orgânica poluente são as bactérias, que se desenvolvem no sistema mediante condições controladas de operação dos reatores, bem como do tipo de água residuária a ser tratada (BASE DE DADOS TROPICAL - BDT).

O uso do processo biológico requer o controle da vazão, a recirculação dos microrganismos decantados, o fornecimento de oxigênio e outros fatores. Os fatores que mais afetam o crescimento das culturas são a temperatura, a disponibilidade de nutrientes, o fornecimento de oxigênio, o pH, a presença de elementos tóxicos e a insolação (no caso de plantas verdes) (BORSOI et al., 2006).

Num esgoto doméstico típico, a maior parte da matéria orgânica solúvel é facilmente degradável. Os diminutos compostos solúveis podem ser degradados pelas endoenzimas presentes no interior da célula bacteriana. Já os compostos orgânicos de maior dimensão e de

fórmulas mais complexas (matéria orgânica particulada ou em suspensão), devem sofrer uma atuação fora da célula, de forma que sejam transformados em uma forma assimilável pela bactéria. Isso se dá através das exoenzimas numa reação de hidrólise (SPERLING, 1996b).

Para o tratamento biológico dos efluentes temos à disposição dois métodos diferentes: de um lado o tratamento de efluentes aeróbio, e por outro lado o tratamento de efluentes anaeróbio (REINOLD, 2003).

O tratamento aeróbio é feito por microrganismos aeróbios que promovem a oxidação da matéria orgânica através da respiração. Esse processo necessita de grande suprimento de oxigênio para que os microrganismos possam degradar a matéria orgânica em gás carbônico, água e compostos minerais. A massa microbiana envolvida nesse tipo de tratamento é constituída basicamente por bactérias e protozoários. De acordo com a nutrição esses microrganismos são os autótrofos quimiossintetizantes, para os quais o gás carbônico é a principal fonte de carbono, e a energia é obtida através da oxidação de um substrato inorgânico, como a amônia, a formas mineralizadas (HAGLER, 2005).

Nos processos anaeróbios de tratamento, as condições são favoráveis, ou mesmo exclusivas, ao desenvolvimento de microrganismos adaptados funcionalmente à ausência de oxigênio, participando assim desse processo bactérias anaeróbias e facultativas. A digestão anaeróbia da matéria orgânica gera vários produtos metabólicos incluindo o acetato e gases (hidrogênio, gás carbônico e metano) (SPERLING, 1996b; HAGLER, 2005).

A decomposição aeróbia diferencia-se da anaeróbia pelo seu tempo de processamento e pelos produtos resultantes. Em condições naturais, a decomposição aeróbia necessita três vezes menos tempo que a anaeróbia e dela resultam gás carbônico, água, nitratos e sulfatos, substâncias inofensivas e úteis à vida vegetal. O resultado da decomposição anaeróbia é a geração de gases como o sulfídrico, metano, nitrogênio, amoníaco e outros muitos dos quais são malcheirosos. Na conversão aeróbia há a estabilização da matéria orgânica, a utilização de oxigênio, a produção de gás carbônico e a liberação de energia. Na conversão anaeróbia, a matéria orgânica é apenas convertida a uma forma mais oxidada (gás carbônico) e outra mais reduzida (gás metano). No entanto, a maior parte do metano é desprendida para a fase gasosa, resultando em uma efetiva remoção da matéria orgânica. Outro processo de oxidação no tratamento de esgotos é o referente às formas nitrogenadas. A amônia é transformada em nitritos e estes em nitratos, em um fenômeno denominado nitrificação (BORSOI, 2006; SPERLING, 1996).

Apesar de o processo aeróbio ocorrer em um tempo muito menor que o anaeróbio, este apresenta algumas vantagens em relação aquele. Nos sistemas aeróbios, ocorre somente cerca

de 40 a 50% de degradação biológica, com a conseqüente conversão em gás carbônico. Verifica-se uma enorme incorporação de matéria orgânica como biomassa microbiana (cerca de 50 a 60%), que vem a se constituir o lodo excedente do sistema. O material orgânico convertido em gás carbônico ou em biomassa deixa o reator como material não degradado (5 a 10%). Nos sistemas anaeróbios, verifica-se que a maior parte do material biodegradável presente no despejo é convertida em biogás (cerca de 70 a 90%), que é removido da fase líquida e deixa o reator na forma gasosa. Apenas uma pequena parcela do material orgânico é convertida em biomassa microbiana (cerca de 5 a 15%). Além da pequena quantidade produzida, o lodo excedente apresenta-se via de regra mais concentrado e com melhores características de desidratação (CHERNICHARO, 1997).

A **Tabela 2** apresenta um resumo das principais características dos microrganismos presentes nos esgotos.

Tabela 2- Principais microrganismos presentes nos esgotos, de importância no tratamento biológico.

Microrganismo	Descrição
<i>Bactérias</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Organismos unicelulares. - Apresentam-se em várias formas e tamanhos. - São os principais responsáveis pela estabilização da matéria orgânica.
<i>Protozoários</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Organismos unicelulares sem parede celular. - A maioria é aeróbia ou facultativa. - São essenciais no tratamento biológico para a manutenção de um equilíbrio entre os diversos grupos.
<i>Fungos</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Organismos aeróbios, multicelulares, não fotossintéticos, heterotróficos. - São de grande importância na decomposição da matéria orgânica. - Podem crescer em condições de baixo pH.
<i>Helminhos</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Animais superiores. - Ovos de helmintos presentes nos esgotos podem causar doenças.

Fonte: Sperling, 1996b.

2.2.3.1 - Tratamento anaeróbio

Dentre os processos de tratamento secundário descritos, os que terão maior relevância no presente trabalho serão os processos anaeróbios, particularmente o Reator Anaeróbio de Manta de Lodo (UASB-RAFA), como mostra o esquema apresentado na **Figura 1**.

Uma consciência crescente de que o tratamento de águas residuárias é de vital importância para a saúde pública e para o combate a poluição das águas de superfície, levou à

necessidade de se desenvolver sistemas que combinam uma alta eficiência com custos baixos de construção e de operação. O aumento do preço de energia, nos anos 70, diminuiu a atratividade de sistemas de tratamento aeróbio e intensificou a pesquisa de sistemas sem demanda de energia. Assim, nas últimas décadas, desenvolveram-se vários sistemas que se baseiam na aplicação da digestão anaeróbia para a remoção do material orgânico de águas residuárias (HAANDEL; LETTINGA, 1994).

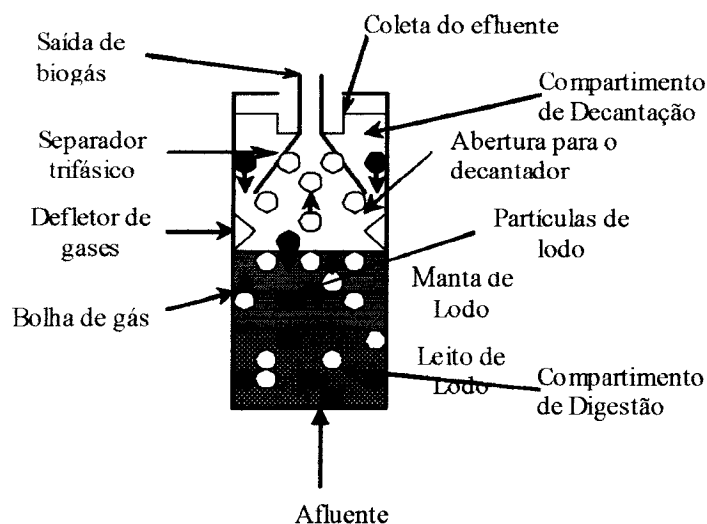


Figura 1-Desenho esquemático de um reator UASB-RAFA.

A digestão anaeróbia tornou-se uma tecnologia que oferece efetiva proteção ao meio ambiente, a baixo custo. Os processos anaeróbios requerem, em geral, menor espaço e têm baixa produção de lodo e também oferecem a possibilidade de recuperação e utilização do metano (CH_4) como combustível (CHERNICHARO, 1997; FORESTI, 1997).

Em princípio, todos os compostos orgânicos podem ser degradados pela via anaeróbia, sendo que o processo se mostra mais eficiente e mais econômico quando os dejetos são facilmente biodegradáveis. Os digestores anaeróbios têm sido largamente aplicados para o tratamento de resíduos sólidos, incluindo culturas agrícolas, dejetos de animais, lodos de ETEs e lixo urbano (CHERNICHARO, 1997).

O tratamento anaeróbio necessita integração em um programa de tratamento global, porque para se obter uma completa remoção e recuperação ou reutilização de poluentes, também outros processos de tratamento são requeridos. Uma das principais desvantagens dos processos anaeróbios é a elevada concentração de amônia no seu efluente, o que impede a sua descarga direta em um corpo receptor. Um pós-tratamento, simples e de baixo custo, como o filtro aeróbio, alcança eficiências comparáveis aos dos processos convencionais na remoção de amônia (CHERNICHARO, 1997; DURÁN, 1997).

Os reatores anaeróbios podem ser classificados como de alta e de baixa taxa. Os sistemas de alta taxa se caracterizam pela capacidade em reter grandes quantidades de biomassa, de elevada atividade, mesmo com a aplicação de baixos tempos de detenção hidráulica. Dessa forma, consegue-se manter um elevado tempo de detenção celular, mesmo com a aplicação de elevadas cargas hidráulicas no sistema. O resultado é a obtenção de reatores compactos, com volumes bastante inferiores aos digestores anaeróbios convencionais, mantendo-se, no entanto, o elevado grau de estabilização da matéria orgânica (METCALF; EDDY, 1991; BEAL, 1995; CHERNICHARO, 1997).

A denominação de alguns tipos de reatores no Brasil, principalmente, os de manta de lodo, é sem dúvida bastante confusa. Esses reatores, que na sua versão mais aperfeiçoada tiveram sua origem na Holanda, na década de 70, após trabalhos desenvolvidos pela equipe do Prof. Gatze Lettinga, na Universidade de Wageningen, foram denominados de reatores UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactors). Na tradução para o português, os mesmos deveriam ser denominados Reatores Anaeróbios de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo (CHERNICHARO, 1997).

A digestão anaeróbia é um processo biológico de decomposição de material orgânico que, em princípio, não corrige outras características indesejáveis do efluente, como a presença de microrganismos patogênicos e nutrientes. Se o objetivo do tratamento for a remoção de matéria orgânica carbonada, há grande vantagem no uso do UASB como um sistema de pré-tratamento, com tratamento complementar em sistemas convencionais como lagoas de estabilização ou o sistema de lodo ativado. Estes sistemas combinados podem fornecer um efluente de qualidade superior, a um custo muito menor, do que os sistemas convencionais (HAANDEL; LETTINGA, 1994).

Nos últimos anos, diversas instituições têm se dedicado a trabalhos de pesquisa fundamental e aplicada, tendo contribuído significativamente, para a evolução e para uma maior disseminação da tecnologia de tratamento anaeróbio no Brasil. Em decorrência da ampliação de conhecimento na área, os sistemas anaeróbios de tratamento de efluentes, principalmente, os reatores de manta de lodo (UASB), passaram a ocupar uma posição de destaque, não só em nível mundial, mas principalmente, em nosso país. Essa trajetória de aceitação passou de um estágio de descrédito, até o início dos anos 80, para a fase atual de grande aceitação e foi responsável pelo grande avanço da biotecnologia anaeróbia para tratamento de águas residuárias (CHERNICHARO, 1997; ZAIAT ET AL., 1997).

A aceitação e a disseminação da tecnologia anaeróbia para o tratamento de esgotos domésticos, principalmente dos reatores tipo UASB, colocam o Brasil em uma posição de vanguarda, em nível mundial (CHERNICHARO, 1997).

Embora os reatores UASB incluam amplas vantagens, principalmente, no que diz respeito a requisitos de área, simplicidade e baixos custos de projeto, operação e manutenção, algumas desvantagens ainda são atribuídas aos mesmos: (i) as bactérias anaeróbias são susceptíveis à inibição por um grande número de compostos; (ii) a partida do processo pode ser lenta na ausência de lodo de semente adaptado; (iii) alguma forma de pós-tratamento é usualmente necessária; (iv) a bioquímica e a microbiologia da digestão anaeróbia são complexas e ainda precisam ser mais estudadas; (v) possibilidade de geração de maus odores, porém controláveis; (vi) possibilidade de geração de efluente com aspecto desagradável; (vii) remoção insatisfatória de nitrogênio, fósforo e microrganismos patogênicos (SPERLING, 1996).

2.2.3.2- Métodos de tratamento secundário

Existe uma grande variedade de métodos de tratamento a nível secundário. Os tipos mais comuns são: lagoas de estabilização, lodos ativados e suas variantes, tratamento aeróbio com biofilme, sistema de fossa séptica – filtro anaeróbio e Reator Anaeróbio de Manta de Lodo (UASB) (COMPANHIA DE SANEAMENTO DE MINAS GERAIS - COPASA, 2006).

-Lagoas de estabilização: São lagoas construídas de forma simples, onde os esgotos entram em uma extremidade e saem na oposta. A matéria orgânica, na forma de sólidos em suspensão, fica no fundo da lagoa, formando um lodo que vai aos poucos sendo estabilizado. O processo se baseia nos princípios da respiração e da fotossíntese: as algas existentes no esgoto, na presença de luz, produzem oxigênio que é liberado através da fotossíntese. Esse oxigênio dissolvido (OD) é utilizado pelas bactérias aeróbias (respiração) para se alimentarem da matéria orgânica em suspensão e dissolvida presente no esgoto. O resultado é a produção de sais minerais – alimento das algas - e de gás carbônico.

-Lodos ativados: É composto, essencialmente, por um tanque de aeração (reator biológico), um tanque de decantação (decantador secundário) e uma bomba de recirculação do lodo. O princípio do sistema é a recirculação do lodo do fundo de uma unidade de decantação para uma de aeração. Em decorrência da recirculação contínua de lodo do decantador e da adição

continua da matéria orgânica, ocorre o aumento da biomassa de bactérias, cujo excesso é descartado periodicamente.

-Tratamento aeróbio com biofilme: Os esgotos são aplicados sobre um leito de material grosseiro, como pedras e ripas ou material plástico, e percola em direção a drenos no fundo. Este fluxo do esgoto permite o crescimento de bactérias na superfície do leito, formando uma película de microorganismos. O ar circula nos espaços vazios entre as pedras ou ripas, fornecendo oxigênio para os microorganismos decompor a matéria orgânica.

-Sistema fossa séptica – filtro anaeróbio - Muito usado no Brasil, no meio rural e em comunidades de pequeno porte. Os sólidos em suspensão se sedimentam no fundo da fossa séptica e formam o lodo onde ocorre a digestão anaeróbia. O líquido se encaminha para o filtro anaeróbio que possui bactérias que crescem aderidas a uma camada suporte formando a biomassa que reduz a carga orgânica dos esgotos.

-Reator Anaeróbio de Manta de Lodo (UASB): A biomassa cresce dispersa no meio e não aderida como nos filtros. Esta biomassa cresce e forma pequenos grânulos, que por sua vez servem de suporte para outras bactérias. O fluxo do líquido é ascendente e são formados gases – metano e gás carbônico, resultantes do processo de fermentação anaeróbia.

2.2.3.3 - Microbiologia da digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia representa um sistema ecológico delicadamente balanceado, onde cada microrganismo tem uma função essencial. O papel desempenhado pelos microrganismos, no tratamento de efluentes, depende do processo a ser utilizado. Nos sistemas anaeróbios de tratamento, as condições são favoráveis, ou mesmo exclusivas, ao desenvolvimento de microrganismos adaptados funcionalmente à ausência de oxigênio. Existem três grupos principais de bactérias que fazem parte desse processo que são denominadas hidrolíticas, acidogênicas e metanogênicas. Na presença de sulfato surge o grupo das sulforredutoras (SPERLING, 1996).

As bactérias hidrolíticas promovem a solubilização da matéria orgânica, ou seja, a quebra dos polímeros transformando-os em compostos menores. Das proteínas obtêm-se os aminoácidos, dos carboidratos complexos os monômeros de açúcar e a partir das gorduras os ácidos graxos de cadeia longa. Essas reações ocorrem em função da liberação, pelos microrganismos, de enzimas como amilase, celulase, protease e lipase e suas velocidades dependem da superfície específica de contato do substrato com as enzimas (LIMA, 2005).

A partir dos produtos solúveis da hidrólise, que são absorvidos e metabolizados pelas bactérias fermentativas acidogênicas, surgem novos produtos no meio que apresentam moléculas menores, tais como os ácidos fórmico, acético, propiônico, butírico, valérico, láctico, etanol, amônia, gás carbônico e hidrogênio. Após a acidogênese, as bactérias acetogênicas oxidam os produtos gerados naquela etapa e produzem um substrato mais apropriado para as bactérias metanogênicas. Seus produtos são acetato, hidrogênio e gás carbônico (LIMA, 2005).

A última etapa do processo de degradação anaeróbia de compostos orgânicos é a metanogênese. As bactérias metanogênicas ao produzirem metano, que na maior parte se desprende para a fase gasosa, ocorre a efetiva remoção da matéria orgânica. O substrato utilizado por estas bactérias é limitado. Entre os compostos usados estão o acetato, hidrogênio, dióxido de carbono, metanol, metilaminas, ácido fórmico e monóxido de carbono. Existem dois grupos de bactérias metanogênicas. O primeiro que usa o ácido acético ou metanol para produzir metano são as acetoclásticas e o segundo são aquelas que utilizam o hidrogênio e o dióxido de carbono são as hidrogenotróficas (LIMA, 2005).

Durante a oxidação da matéria orgânica sulfato, sulfito e outros compostos derivados do enxofre são reduzidos a sulfeto, através da ação de um grupo de bactérias anaeróbias estritas, denominadas bactérias redutoras de sulfato ou sulforedutoras. Estas são consideradas um grupo muito versátil de microrganismos, capazes de utilizar uma ampla gama de substratos, incluindo toda a cadeia de ácidos graxos voláteis, diversos ácidos aromáticos, hidrogênio, metanol, açúcares, aminoácidos e vários compostos fenólicos. Dessa forma as bactérias sulforedutoras passam a competir com as bactérias fermentativas, acetogênicas e metanogênicas pelos substratos disponíveis (CHERNICHARO, 1997).

Para manter um sistema anaeróbio de tratamento que estabilize eficientemente a matéria orgânica, as bactérias não-metanogênicas e metanogênicas devem estar em um estado de equilíbrio dinâmico. Para estabelecer e manter este estado o conteúdo do reator tem que estar livre de oxigênio dissolvido e de constituintes inibidores como metais pesados e sulfetos. A alcalinidade deve ser suficiente para manter o pH na faixa de 6,6 a 7,6. O pH não pode cair de 6,2 porque as bactérias metanogênicas não funcionam abaixo deste pH. A faixa de alcalinidade para o processo quando está funcionando bem deve estar entre 1000 e 5000 mg./L e a concentração de ácidos voláteis não deve ser maior que 250 mg./L. A temperatura ótima de crescimento para as mesófilas deve ser de 20 a 40°C e para as termófilas de 50 a

60°C (METCALF; EDDY, 1991; MATHIOT *et al.*, 1992; FORESTI, 1997; VITORATTO, 2004).

2.2.4-O sistema de tratamento de esgotos do DMAE

Uberlândia conta hoje com três ETEs que estão sob a responsabilidade do DMAE: Uberabinha, Ipanema e Aclimação. Nestas estações o processo de tratamento do esgoto ocorre de forma geral em três etapas.

A primeira etapa do processo de tratamento do esgoto é a preliminar. Neste processo são utilizadas grades para remoção de sólidos grosseiros (pneus, pedaços de cadeira, colchão, garrafas PET entre outros). Em seguida o esgoto passa por tanques denominados desarenadores nos quais o material fino e pesado, composto principalmente por areia, é decantado em tanques. Esse material vai para o aterro sanitário.

A próxima etapa ocorre dentro dos reatores anaeróbios, onde bactérias que não necessitam de oxigênio para viver e que podem ser encontradas no esgoto, promovem a degradação de cerca de 60% da matéria orgânica. O lodo, que fica retido no fundo do reator, é periodicamente desidratado e posteriormente encaminhado para o aterro sanitário.

A última etapa do tratamento ocorre no Canal de Flotação. O líquido que sai dos reatores segue para o canal de flotação para receber a adição de dois produtos químicos: o cloreto férrico e o polieletrólito, que formam flocos gelatinosos. Toda a matéria particulada presente no efluente vai se agregar a esses flocos. Em seguida, microbolhas são injetadas no efluente e fazem os flocos subirem. Assim, toda sujeira que sobe, forma um novo lodo que vai ser removido mecanicamente e encaminhado novamente para os reatores.

O efluente está pronto para voltar ao rio. Ao final do processo, foi removida aproximadamente 95% da matéria orgânica. O tempo em que ocorre todo o processo de tratamento do esgoto é de aproximadamente 10 horas (SANTANA, 2005).

4-MATERIAIS

4.1 - Coleta das amostras

- Frascos estéreis com tampa, caixa de isopor;

4.2 - Pesquisa de bactérias:

- Becker, bastão, espátula, tubos de ensaio, pipetas de 10ml e 1ml, placas de Petri, estufa;
- Meios de cultura: salina, ágar tripton glicose extrato de levedura;
- Amostras de esgoto;
- Método de Gram: →Lâminas, bico de Bunsen, alça de Henle, microscópio;
→Reagentes: cristal violeta, lugol, éter- cetona, safranina;

4.2.1 - Pesquisa de bactérias anaeróbias:

- Frascos com tampa, lacre de alumínio, máquina para lacre, nitrogênio gasoso, pipetas de 10ml, seringas de 1ml;
- Meios de cultura: solução redutora (ácido ascórbico, tioglicolato de sódio e resarsorina) e tioglicolato;
- Amostras de esgoto.

4.3 - Pesquisa de coliformes:

- Becker, bastão, espátula, tubos de ensaio, tubinhos de Durham, pipetas de 10ml, de 1ml e de 0,1ml, estufa;
- Meios de cultura: caldo lauril triptose, caldo lactosado bile verde brilhante, caldo extrato de carne (EC).
- Amostras de esgoto.

4.4 - Pesquisa de fungos:

- Becker, bastão, espátula, tubos de ensaio, pipetas de 10ml e 0,1ml, placas de Petri, estufa, lupa;
- Meios de cultura: salina, ágar dextrose;
- Amostras de esgoto.

4.5 - Pesquisa de protozoários:

- Lâminas, lamínulas, alça de Henle, microscópio;
- Reagente: Azul de Metileno;
- Amostras de esgoto.

5- METODOLOGIA

5.1 - Coleta das amostras

Para realização do trabalho, seis amostras de esgoto foram coletadas em frascos estéreis em seis pontos diferentes de amostragem do processo de tratamento de esgoto da ETE: entrada do reator (esgoto bruto), 1º ponto do reator (região inferior), 2º ponto do reator (região intermediária), 3º ponto do reator (região superior), saída do reator e saída do flotador (esgoto tratado). Aproximadamente dez amostras foram coletadas no período da manhã entre os meses de maio e setembro de 2006.

5.2 - Pesquisa de bactérias:

Para a pesquisa de bactérias foram feitas diluições das amostras de esgoto em salina. As diluições variaram de 10^{-1} a 10^{-7} . Em seguida, 42 placas de Petri foram divididas em grupos de 7 e numeradas de 10^{-1} a 10^{-7} . Logo após, as placas foram inoculadas com 1ml das diluições e em seguida verteu-se 10ml do meio ágar triptona extrato de levedura fundido e resfriado a aproximadamente 50°C . Após solidificação da mistura, as placas foram invertidas e incubadas a 35°C por 48 horas. Posteriormente foram retiradas algumas colônias das placas que continham diluições 10^{-7} e destas foram feitas a coloração de Gram. Este método também foi utilizado para identificar as bactérias presentes nas amostras frescas, ou seja, retirou-se uma alíquota de cada amostra colocando-a em uma lâmina e fixando-a no bico de Bunsen, em seguida corou-a com os reagentes de Gram.

5.1.2 - Pesquisa de bactérias anaeróbias:

Distribuiu-se 9ml de solução redutora em 10 frascos e 9ml do meio tioglicolato em 30 frascos. Cada um dos frascos recebeu nitrogênio gasoso e logo após foram tampados e lacrados. Os frascos contendo solução redutora foram numerados nas concentrações de 10^{-1} a 10^{-10} . Em seguida, colocou-se 1ml de amostra no frasco com de concentração 10^{-1} , diluindo-a até o frasco de concentração 10^{-10} . Posteriormente, de cada uma das diluições, foi transferida 1ml para os frascos contendo o meio tioglicolato de sódio, fazendo diluições até 10^{-4} . Os frascos foram incubados por 28 dias. Para essa análise foram escolhidos dois pontos do reator: segunda e terceira fases do reator.

5.3 - Pesquisa de coliformes:

- ◆ Coliformes Totais
 - Teste presuntivo

Para realizar o teste presuntivo 10ml de meio de cultura lauril sulfato foram distribuídos em 15 tubos de ensaio. Em seguida, tubinhos de Durham foram colocados dentro dos tubos para verificar se haveria formação de gás (o que seria observado com formação de bolhas dentro dos tubinhos de Durham atestando o resultado positivo para coliformes). Em 5 tubos de ensaio, colocou-se 10ml de amostra de esgoto, nos outros 5 colocou-se 1ml e nos 5 restantes, 0,1ml. Para realizar este teste foi escolhida a amostra da saída do reator. Os tubos foram incubados a 35°C por 48 horas.

- Teste confirmativo

Depois de decorridas as 48 horas, contou-se o número de tubos positivos (com formação de gás). Distribuiu-se 10ml de caldo lactosado verde brilhante em tubos de ensaio com tubinhos de Durham. Em seguida, transferiu-se uma alíquota dos tubos positivos (teste presuntivo) para os tubos com VB que foram incubados a 35°C por 48 horas. Após esse período, contou-se o número de tubos positivos, confirmando a presença de coliformes totais na amostra.

◆ Coliformes Fecais

Para análise de coliformes fecais 10ml de caldo EC foram distribuídos em tubos de ensaio. Em seguida, uma alíquota dos tubos positivos no teste presuntivo para coliformes totais foi transferida para os tubos contendo caldo EC. Por fim, estes foram incubados a 44°C por 24 horas. Decorrido esse tempo, contou-se o número de tubos com formação de gás.

5.4 - Pesquisa de fungos:

A pesquisa de fungos é semelhante à de bactérias. As amostras foram diluídas em salina e as placas numeradas de 10^{-1} a 10^{-7} . Foram feitas diluições das amostras do esgoto em salina (10^{-1} a 10^{-7}). Em seguida, as placas foram inoculadas com 10ml do meio ágar dextrose. Após o ágar ter se solidificado, inoculou-se em cada placa 0,1ml de cada diluições (10^{-1} a 10^{-7}). As placas foram incubadas a 30°C por sete dias. Após esse período, as colônias foram contadas e algumas delas foram transferidas para lâminas e observadas ao microscópio para identificação.

5.5 - Pesquisa de protozoários:

A presença de protozoários foi verificada da seguinte maneira: colocou-se uma alíquota de amostra de esgoto sobre a lâmina, pingou-se uma gota de Azul de Metileno e cobriu-a com uma lamínula. Levou-se ao microscópio para identificação dos microrganismos.

6 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 - Análises físico-químicas

Os resultados das análises da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Demanda Química de Oxigênio (DQO), sólidos totais, pH e temperatura foram gentilmente fornecidos pela ETE Aclimação. Os valores encontram-se dispostos na **Tabela 3**.

Tabela 3- Valores das análises físico-químicas.

<i>Parâmetros</i>	<i>Unidade</i>	<i>Esgoto bruto</i>	<i>Saída do Reator</i>	<i>Saída do Flotador</i>
DBO	mg/L	370	80	24
DQO	mg/L	752,0	137,0	64,9
pH	–	7,41	6,70	6,21
Sólidos Totais	mg/L	584	220	212
Temperatura	°C	25,5	26,0	26,0

Analisando-se a DBO nos diferentes pontos de coleta, observa-se que há um decréscimo significativo desta variável. Segundo Jordão e Pessoa (1995), a faixa ótima de DBO varia entre 100 e 300 mg/L para o esgoto bruto e entre 20 e 30 mg/L para o esgoto tratado (saída do flotador). No esgoto bruto, a DBO apresentou um valor de 370 mg/L, enquanto que para o esgoto tratado observou-se um valor de 24 mg/L. Isso indica que houve degradação de 78% da matéria orgânica pelos microrganismos durante o processo de tratamento do esgoto e ao final de todo o processo esse valor atinge cerca de 93,5%. Pode-se afirmar, portanto, que a ETE Aclimação apresenta um eficiente sistema de tratamento anaeróbio do esgoto.

Ao visualizarem-se os índices de DQO, observa-se que no esgoto bruto obteve-se um valor de 752,0 mg/L enquanto no esgoto tratado o valor foi de 64,9 mg/L. Isso mostra que no início do tratamento o esgoto apresentava grande quantidade de matéria orgânica, já no final do processo ocorreu uma queda da quantidade da matéria, o que indica uma remoção química da matéria orgânica oxidável de 91,4 %.

Na entrada do reator anaeróbio (esgoto bruto) o pH apresenta-se levemente básico (7,41), já na saída do reator nota-se que há um decréscimo (6,70). Isso ocorre porque no esgoto bruto encontram-se muitos compostos químicos básicos como carboidratos, proteínas e lipídios, no entanto, à medida que esses compostos degradam-se pela ação das bactérias,

conforme **Figura 2**, há liberação de subprodutos ácidos (CO_2 e H_2S) diminuindo o pH do meio.

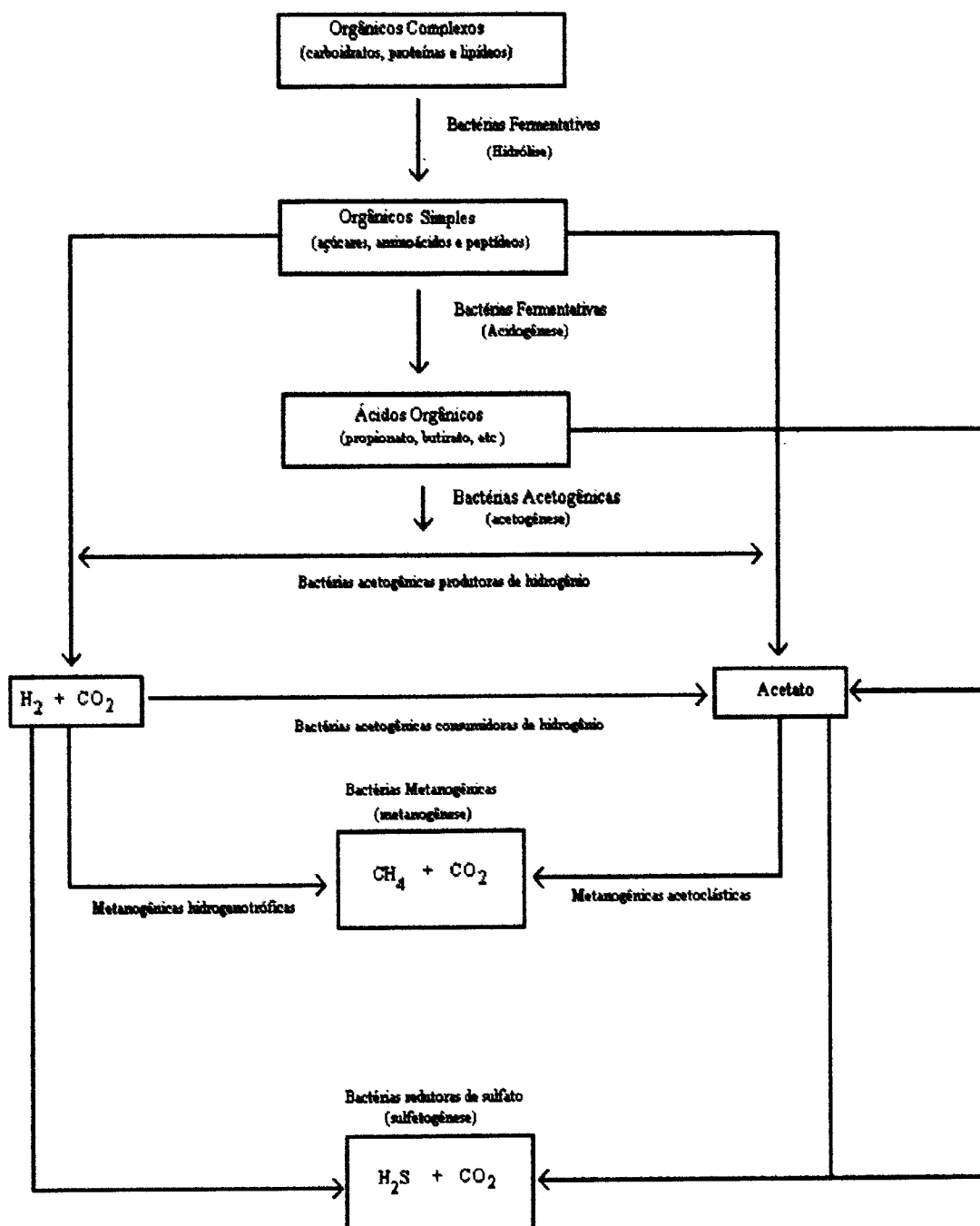


Figura 2 – Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia (com redução de sulfato) (Adaptado de Chernicharo, 1997).

Uma outra característica física do esgoto que foi analisada refere-se à presença de sólidos totais. Quanto a esse fator observa-se que no esgoto bruto o valor obtido foi de 584 mg/L, enquanto que na saída do reator esse valor decresce para 220 mg/L, o que evidencia a

atuação dos microrganismos sobre o esgoto, transformando a matéria orgânica em compostos gasosos, como mostra a **Figura 3**.

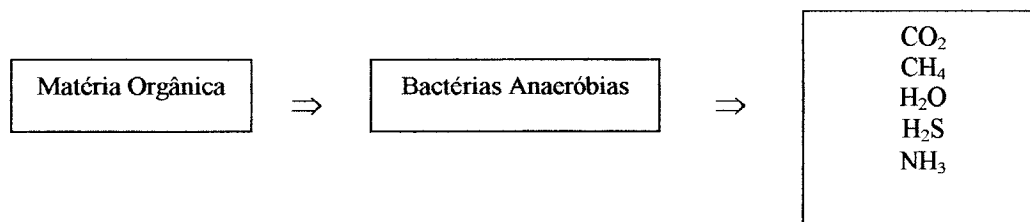


Figura 3 – Transformação dos compostos orgânicos pelas bactérias anaeróbias com produção de gases.

O valor de temperatura medido no reator foi em torno de 26 °C o que o caracteriza como mesofílico, ou seja, trabalha em uma faixa média de temperatura, segundo Vitoratto (2004) essa faixa está em torno de 20 a 40 °C. Apesar de a digestão anaeróbia ser mais rápida em temperaturas mais elevadas com maior produção de gás, os reatores mesofílicos são mais vantajosos que os termofílicos (50 a 60 °C), pois não há gasto com energia para se elevar a temperatura e são mais estáveis (Mara e Horan, 2003).

6.2 - Pesquisa de bactérias

A **Tabela 4** apresenta os gêneros de bactérias identificados nas amostras coletadas na ETE Aclimação do DMAE, os pontos de amostragem e os tipos de processos utilizados para identificação.

Tabela 4 - Gêneros de bactérias presentes no esgoto da ETE Aclimação (DMAE – Uberlândia) em diferentes pontos de amostragem.

<i>Pontos de coleta</i>	<i>Gêneros de bactérias identificados a "in natura"</i>	<i>Gêneros de bactérias identificadas no meio ágar triptona glicose extrato de levedura</i>	<i>Gêneros de bactérias identificadas no meio tioglicolato de sódio</i>
Esgoto bruto	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia</i>	
	<i>Bacteroides</i>	<i>Staphylococcus</i>	
	<i>Vibrio</i>	<i>Streptococcus</i>	
	<i>Klebsiella</i>		
	<i>Veillonella</i>		
	<i>Treponema</i>		

Saída do reator	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia</i>
	<i>Bacteroides</i>	<i>Lactobacillus</i>
	<i>Sporomusa</i>	<i>Veillonella</i>
	<i>Clostridium</i>	
	<i>Lactobacillus</i>	—
	<i>Acetobacterium</i>	
	<i>Acetoanaerobium</i>	
	<i>Streptococcus</i>	
	<i>Peptococcus</i>	
	<i>Peptostreptococcus</i>	
	<i>Veillonella</i>	
Esgoto tratado	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia</i>
	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>
		<i>Staphylococcus</i>
		<i>Streptococcus</i>

A **Figura 4** corresponde às bactérias presentes no esgoto bruto observadas ao microscópio em aumento de 100x utilizando-se o método de Gram na amostra “in natura”.



Figura 4 – Bactérias presentes no esgoto bruto utilizando-se o método Gram para a amostra “in natura”.

Os microrganismos de maior relevância presentes no esgoto são as bactérias, pois estas são capazes de degradar eficientemente a matéria orgânica. Segundo Sperling (1996a) no esgoto bruto, os teores de oxigênio dissolvido são normalmente nulos ou próximos a zero devido à grande quantidade de matéria orgânica, implicando em um elevado consumo de oxigênio pelos microrganismos aeróbios e como o meio torna-se suprimido em oxigênio,

propicia também o aparecimento de microrganismos anaeróbios. Observando-se a **Figura 4**, nota-se a presença de inúmeros microrganismos gram-negativos que são corados em rosa quando submetidos ao método de Gram. Comparando-se imagens de espécies microbianas predominantes na flora normal do corpo contidas em Pelczar et. al. (1996) com a **Figura 4**, pode-se afirmar que os pequenos bacilos móveis provavelmente pertencem ao gênero *Escherichia* que é um bastonete facultativo capaz de sobreviver na presença ou ausência de oxigênio. Observa-se também a presença de bacilos pleomórficos que podem pertencer ao gênero *Bacteroides* que é anaeróbio e faz parte do grupo das bactérias hidrolíticas. Foi também observada a presença de vibriões que são semelhantes aos microrganismos pertencentes ao gênero *Vibrio*, o qual é facultativo e que atua no esgoto como bactéria hidrolítica. O longo filamento formado por muitos cocos anaeróbios provavelmente pertence ao gênero *Treponema*, uma bactéria acetogênica, segundo Diekert (2006). Apesar de ser acetogênico, esse microrganismo conseguiu sobreviver em um meio com pH levemente básico, sendo considerado, portanto, um microrganismo extremamente resistente a alterações de pH. Provavelmente os cocos pertencem ao gênero *Veillonella* e podem aparecer na forma de diplococos ou formando pequenos filamentos. Esse é um microrganismo anaeróbio que atua no processo da acidogênese durante a degradação da matéria orgânica. Outro gênero de bactéria que pode estar presente no esgoto bruto por comparação com imagens contidas em Pelczar et. al. (1996) é a *Klebsiella* (bacilos ou diplobacilos facultativos) este não é citado em nenhuma referência pesquisada como constituintes do processo de tratamento do esgoto. Não foram observadas no esgoto bruto bactérias pertencentes aos grupos das acetogênicas (exceto *Treponema*) e das metanogênicas que são a maioria formada por microrganismos gram-positivos com exceção do gênero *Sporomusa* (acetogênica) e *Methanospirillum* (metanogênica).

A **Figura 5** corresponde às bactérias presentes no 1º ponto do reator observadas ao microscópio em aumento de 100x utilizando-se o método de Gram “in natura”.



Figura 5 – Bactérias presentes no 1º ponto do reator utilizando-se o método Gram para a amostra “in natura”.

Observando-se a **Figura 5**, visualizam-se bastonetes corados fortemente em roxo pelo método de Gram. Esses bacilos provavelmente pertencem ao gênero *Methanobacterium*, segundo comparação feita com imagens observadas em Pelczar et. al. (1980) e com caracterização do gênero realizada por Mara e Horan (2003). De acordo com essas referências o gênero *Methanobacterium* é formado por espécies que possuem longos bastões e podem constituir pequenas cadeias. Podem-se visualizar outros pequenos bacilos gram-positivos que provavelmente pertencem ao mesmo gênero ou a outros gêneros como *Lactobacillus* que é um bacilo facultativo e que atua no esgoto como uma bactéria acidogênica, *Clostridium* (bacilo anaeróbio que pode agir nos processos de hidrólise, acidogênese ou acetogênese), *Acetobacterium* ou *Acetoanaerobium*, ambas acetogênicas. Bacilos e cocos gram-negativos também podem ser visualizados como *Escherichia*, *Bacteroides*, *Sporomusa*, *Veillonella* ou o grupo das sulforredutoras (*Desulfobulbus*, *Desulmonas*, *Desulfotomaculum* e *Desulfobacterium*). A presença de uma variedade de microrganismos nesse ponto deve-se ao fato da concentração de sedimentos no fundo do reator, o que indica alimento para os organismos propiciando o desenvolvimento dos mesmos. Apesar de haver um decréscimo do pH nesse ponto, este ainda é favorável ao crescimento das bactérias metanogênicas. Neste ponto as condições são mais adequadas para o desenvolvimento dessas bactérias.

A **Figura 6** corresponde às bactérias presentes no 2º ponto do reator observadas ao microscópio em aumento de 100x utilizando-se o método de Gram “in natura”.

Figura 6 – Bactérias presentes no 2ª ponto do reator na amostra “in natura” coradas pelo método de Gram.

No 2º ponto do reator (**Figura 6**), observa-se a presença de bacilos gram-negativos que podem pertencer aos gêneros *Escherichia*, *Bacteroides*, *Sporomusa* ou ao grupo das sulforredutoras do qual fazem parte os bastões dos gêneros *Desulfobulbus*, *Desulfomonas*, *Desulfotomaculum* e *Desulfobacterium*, que são estritamente anaeróbios. Os cocos gram-negativos podem pertencer ao gênero *Veillonella* ou *Desulfococcus*, este também redutor de sulfato. Alguns bacilos gram-positivos também são encontrados, podendo pertencer ao gênero *Clostridium* ao grupo das acetogênicas (*Acetobacterium* e *Acetoanaerobium*). Nesse ponto a quantidade de substrato é mínima, portanto é provável que as bactérias metanogênicas não tenham conseguido sobreviver, já que estas são extremamente sensíveis a mudanças de ambiente, além disso, são encontradas “ligadas” ao substrato. As bactérias acetogênicas foram caracterizadas segundo Diekert (2006). As bactérias sulforredutoras podem aparecer nesse ponto porque provavelmente formaram-se compostos a base de enxofre no meio.

A **Figura 7** corresponde às bactérias presentes no 3º ponto do reator observadas ao microscópio em aumento de 100x utilizando-se o método de Gram “in natura”.



Figura 7 – Bactérias observadas no 3º ponto do reator presentes na mostra “in natura” coradas pelo método de Gram.

No 3º ponto de coleta do reator, **Figura 7**, o meio é propício para o desenvolvimento das bactérias metanogênicas por serem estritamente anaeróbias. Observa-se nesse ponto uma grande quantidade de microrganismos gram-positivos (corados em roxo pelo método de Gram), o que confirma a presença das metanogênicas. Além da total ausência de oxigênio nesse ponto, um outro fator que possibilitou o crescimento desses microrganismos foi a grande quantidade de sólidos nesse ponto. Podem-se visualizar pequenos bastões gram-positivos que provavelmente pertencem ao gênero *Methanobacterium* ou *Methanobrevibacter*. Segundo comparação com Pelczar et al. (1980), pode-se também encontrar nessa fase o gênero *Methanosarcina*, que é formado por pequenos aglomerados de cocos. Os longos filamentos de cocos podem também pertencer ao gênero *Methanothrix*, conforme caracterização realizada por Mara e Horan (2003). Dentre o grupo das bactérias hidrolíticas os prováveis gêneros observados, segundo comparação com Pelczar et al. (1996), são *Staphylococcus* (cocos facultativos formando pequenos aglomerados) que também podem atuar como acidogênicos e *Peptococcus* (cocos anaeróbios geralmente encontrados separadamente ou unidos em dois). Os prováveis gêneros pertencentes ao grupo das acidogênicas são o *Staphylococcus*, *Streptococcus* (cocos facultativos que formam pequenos filamentos) e *Peptostreptococcus* (cocos anaeróbios que formam pequenos ou longos filamentos). Não foi possível identificar exatamente cada gênero, pois fatores como pH (levemente básico) e temperatura (26 °C) estão favoráveis para o crescimento dos três grupos de bactérias descritos.

A **Figura 8** corresponde às bactérias presentes na saída do reator observadas ao microscópio em aumento de 100x utilizando-se o método de Gram “in natura”.

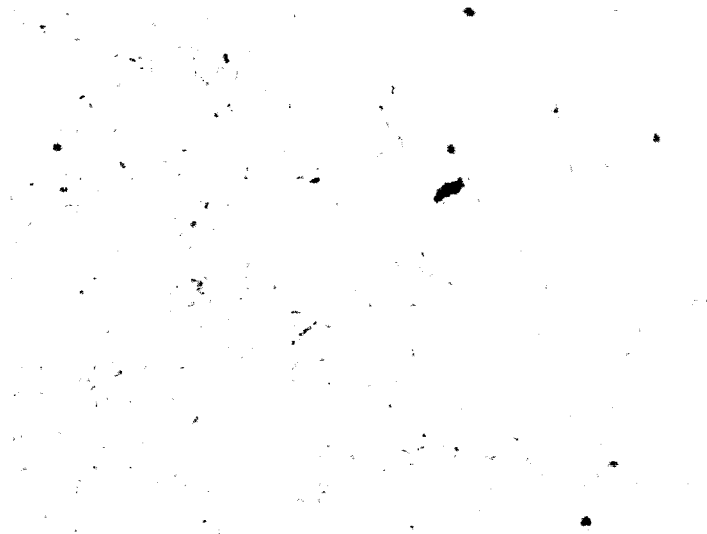


Figura 8 – Bactérias coradas pelo método de Gram observadas na saída do reator.

Na saída do reator (**Figura 8**), observa-se a presença de bacilos gram-negativos que podem pertencer aos gêneros *Escherichia*, *Bacteroides* e *Sporomusa*. Ocorre também a presença de bacilos gram-positivos que provavelmente pertencem aos gêneros *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Acetobacterium* ou *Acetoanaerobium*. Além dessas formas, podem ser visualizados cocos gram-negativos e alguns gram-positivos que provavelmente pertencem aos gêneros *Veillonella*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* ou *Streptococcus*. Provavelmente as bactérias metanogênicas não estão presentes nesse ponto, pois são extremamente sensíveis a mudanças ambientais. Neste caso, elas sairiam de um meio propício para seu desenvolvimento (dentro do reator) em que há pH adequado e nutrientes disponíveis para migrar para um meio mais ácido e que há menor quantidade de alimento. Nesse ponto de coleta só conseguiriam sobreviver as espécies mais resistentes a mudanças ambientais drásticas.

A **Figura 9** corresponde às bactérias presentes na saída do flotor (esgoto tratado) observadas ao microscópio em aumento de 100x utilizando-se o método de Gram “in natura”.

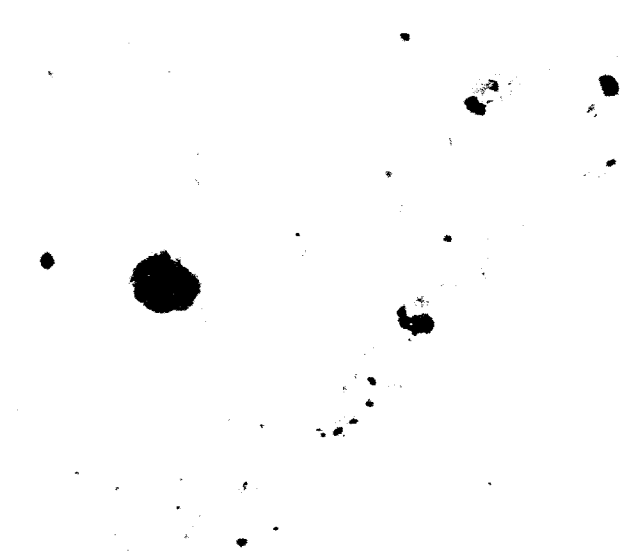


Figura 9 – Bactérias coradas pelo método de Gram observadas no esgoto tratado.

No canal do flutador é borbulhado ar (rico em oxigênio) ao esgoto, portanto nessa fase do tratamento só poderão ser encontradas bactérias facultativas. Observando-se a **Figura 9**, nota-se a presença de pequenos bacilos gram-negativos, com isso pode-se afirmar que estes microrganismos provavelmente pertencem ao gênero *Escherichia*, uma vez que esta é uma bactéria facultativa muito versátil, capaz de resistir a mudanças drásticas como no caso a presença de oxigênio. Outros pequenos bacilos gram-positivos também são observados em menor quantidade, podendo pertencer ao gênero *Lactobacillus*, que é um microrganismo facultativo.

A **Figura 10** representa as bactérias presentes no esgoto bruto que cresceram em meio ágar triptose extrato de levedura e foram coradas pelo método de Gram e visualizadas ao microscópio em aumento de 100x.

Figura 10 – Bactérias cultivadas em meio ágar glicose extrato de levedura, coradas pelo método de Gram presentes no esgoto bruto.

Observa-se na **Figura 10** a presença de inúmeros bacilos gram-negativos, além de numerosos cocos gram-positivos. Pode-se dizer que os bastonetes pertencem ao gênero *Escherichia* e os cocos provavelmente pertencem aos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*, segundo comparação com imagens contidas em Pelczar et. al (1996). Ao analisarem-se as **Figuras 4 e 10**, ambas correspondentes ao esgoto bruto, observa-se que há algumas diferenças entre os microrganismos visualizados. Na **Figura 4** todas as bactérias são gram-negativas, já na **Figura 10**, aparecem cocos gram-positivos, além dos microrganismos gram-negativos. Esse fato pode ser explicado devido a uma mudança de ambiente e pelo fato de as bactérias gram-negativas presentes na amostra estarem em condições que permitam seu desenvolvimento caracterizando assim uma maior quantidade das mesmas no meio. Na **Figura 4**, a coloração de Gram foi realizada a “in natura”, enquanto que na **Figura 10** as bactérias cresceram em meio de cultura (ágar tripton glicose extrato de levedura). Provavelmente, o ágar tenha selecionado alguns tipos de bactérias (as mais resistentes a mudanças de ambiente). Neste caso, as bactérias acetogênicas, metanogênicas e muitas hidrolíticas e acidogênicas não conseguiram sobreviver a uma mudança drástica de ambiente. Como *Escherichia*, *Staphylococcus* e *Streptococcus* são microrganismos facultativos conseguiram se desenvolver no meio de cultura, ao contrário dos demais grupos que são extremamente sensíveis a exposição ao oxigênio. Provavelmente o meio era propício para o desenvolvimento desses microrganismos: os nutrientes eram adequados e a temperatura favorável.

A **Figura 11** refere-se às bactérias que cresceram em meio ágar triptona glicose extrato de levedura e foram coradas pelo método de Gram, visualizadas ao microscópio em aumento de 100x e que estão presentes no 1º ponto do reator.

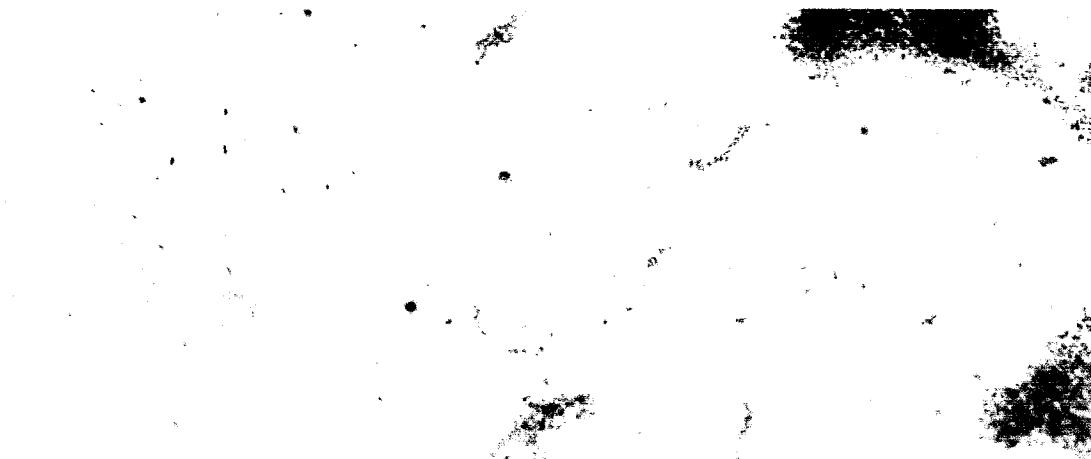


Figura 11 – Bactérias cultivadas em meio ágar glicose extrato de levedura, coradas pelo método de Gram presentes no 1º ponto do reator.

Observa-se na **Figura 11** a presença de bacilos gram-negativos e gram-positivos, cocos gram-negativos e gram-positivos que provavelmente pertencem aos gêneros *Escherichia*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* e/ou *Staphylococcus* e *Veillonella*, respectivamente. Nesse ponto, a coleta foi realizada no fundo do reator, local em que se encontram materiais sedimentados que podem servir de nutrientes para os microrganismos. É provável que os nutrientes presentes estejam em quantidade adequada para o desenvolvimento dos microrganismos. É possível observar que nesse ponto que há uma maior variedade de espécies, apesar de meio ter selecionado somente os mais resistentes.

A **Figura 12** refere-se às bactérias que cresceram em meio ágar triptona glicose extrato de levedura e foram coradas pelo método de Gram, visualizadas ao microscópio em aumento de 100x e que estão presentes no 2º ponto do reator.


A microscopic image showing Gram-stained bacteria. The field is mostly clear with a few scattered, small, dark-stained cocci and some faint, elongated bacilli. The background is light, indicating a low concentration of organisms.

Figura 12 – Bactérias cultivadas em meio ágar glicose extrato de levedura, coradas pelo método de Gram presentes no 2º ponto do reator.

Observa-se na **Figura 12** a presença de alguns bacilos e cocos gram-negativos. Os bacilos provavelmente pertencem ao gênero *Escherichia* e os cocos ao gênero *Veillonella*. Nesse 2º ponto do reator o esgoto apresenta-se com maior atividade de degradação anaeróbia e como o meio de cultura foi realizado em condições aeróbias, a quantidade de microrganismos facultativos nesta fase é baixa, como descrito anteriormente e, portanto justifica-se o aparecimento de pequenas quantidades de microrganismos na **Figura 12**.

A **Figura 13** refere-se às bactérias que cresceram em meio ágar tripton glicose extrato de levedura e foram coradas pelo método de Gram, visualizadas ao microscópio em aumento de 100x e que estão presentes no 3º ponto do reator.


A microscopic image showing Gram-stained bacteria. The field is filled with numerous small, dark-stained cocci, some appearing in pairs or small clusters. There are also some larger, dark-stained structures that could be bacilli or clumps of cocci. The background is light, indicating a higher concentration of organisms compared to Figure 12.

Figura 13 – Bactérias cultivadas em meio ágar glicose extrato de levedura, coradas pelo método de Gram presentes no 3º ponto do reator.

No 3º ponto do reator, **Figura 13**, observa-se a presença de grande quantidade de bacilos gram-positivos, alguns bacilos gram-negativos e cocos gram-positivos. Os bastonetes gram-positivos provavelmente pertencem ao gênero *Lactobacillus* que é uma bactéria facultativa. Nessa fase do reator encontram-se muitos sólidos, o que pode dificultar o crescimento de muitos microrganismos. O *Lactobacillus* é encontrado em grande número nesse local porque provavelmente é uma bactéria altamente resistente e consegue sobreviver em condições adversas. Os bastões gram-negativos encontrados podem pertencer a *Escherichia* que apesar de ser uma bactéria bastante versátil não conseguiu se reproduzir tanto quanto o *Lactobacillus*, talvez porque neste ponto não tenha nutrientes suficientes. Os cocos provavelmente pertencem aos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* que são encontrados em menor quantidade pelo mesmo motivo que a *Escherichia*. Uma provável explicação para esta queda nos microrganismos facultativos nesta fase é devido a grande quantidade de bactérias anaeróbias (metanogênicas, acidogênicas e acetogênicas) presentes nesta fase e que pelas condições desta fase se desenvolvem em maiores quantidades, limitando o crescimento das outras bactérias.

A **Figura 14** refere-se às bactérias que cresceram em meio ágar triptona glicose extrato de levedura e foram coradas pelo método de Gram, visualizadas ao microscópio em aumento de 100x e que estão presentes na saída do reator.



Figura 14 – Bactérias cultivadas em meio ágar glicose extrato de levedura, coradas pelo método de Gram presentes na saída do reator.

Observa-se na **Figura 14** a presença de inúmeros bacilos gram-negativos e gram-positivos, que podem pertencer respectivamente aos gêneros *Escherichia* e *Lactobacillus*.

Alguns cocos gram-negativos também podem ser visualizados, podendo pertencer ao gênero *Veillonella*.

A **Figura 15** refere-se às bactérias que cresceram em meio ágar triptona glicose extrato de levedura e foram coradas pelo método de Gram, visualizadas ao microscópio em aumento de 100x e que estão presentes na saída do flotador (esgoto tratado).

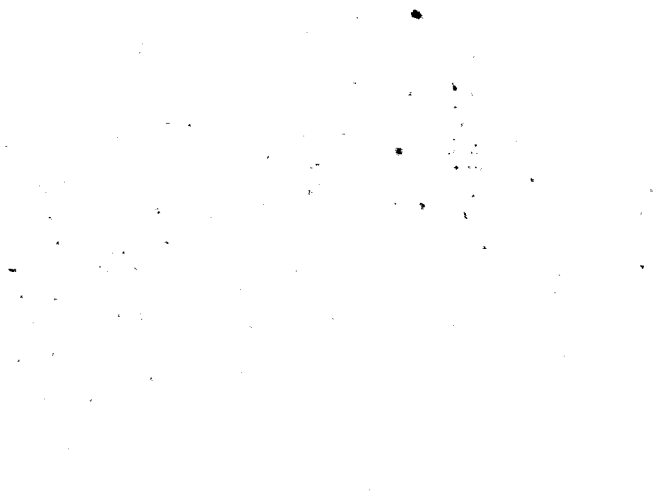


Figura 15 – Bactérias desenvolvidas em meio de cultura e coradas pelo método de Gram.

Na saída do flotador (**Figura 15**) observa-se a presença de cocos gram-negativos e gram-positivos. Alguns bacilos gram-positivos e gram-negativos também são visualizados. Esses microrganismos podem pertencer aos gêneros *Veillonella* (cocos gram-negativos), *Streptococcus* e *Staphylococcus* (cocos gram-positivos), *Escherichia* (bacilos gram-negativos) e *Lactobacillus* (bacilos gram-positivos). Ao contrário do que ocorre na saída do reator, nesta fase (saída do flotador) a maior parte dos microrganismos observados são cocos e não bacilos. Esta fase já possui condições para o desenvolvimento de microrganismos aeróbios que podem vir de esporos presentes no meio ou do próprio ambiente e que encontram nutrientes para desenvolverem-se.

As bactérias anaeróbias foram cultivadas em laboratório sob condições ideais de crescimento. Por questão de tempo e pouca disponibilidade de materiais, a análise para os microrganismos anaeróbios foram realizadas somente para os 1º e 2º pontos do reator.

A **Figura 16** mostra as bactérias presentes no 1º ponto de coleta do reator que foram cultivadas em meio tioglicolato de sódio e coradas de acordo com o método de Gram, posteriormente visualizadas ao microscópio em aumento de 100x.

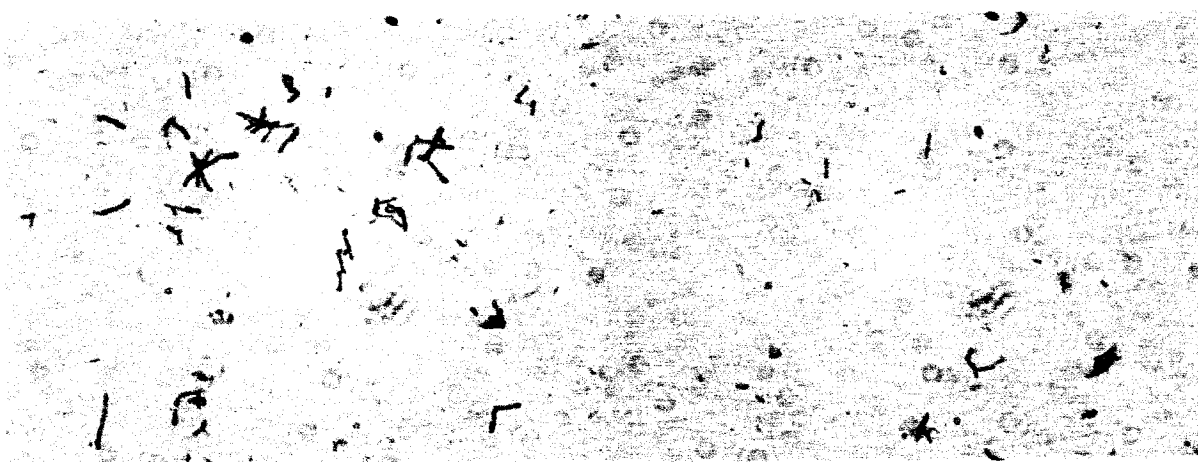


Figura 16 – Bactérias desenvolvidas em meio de cultura tioglicolato de sódio e coradas pelo método de Gram.

O 1º ponto de coleta, como mostra a **Figura 16**, apresenta inúmeros bacilos gram-positivos. Segundo comparação com imagens contidas em Pelczar et. al. (1996), é provável que estes bastões pertençam ao gênero *Propionibacterium* que são caracterizados como bacilos gram-positivos pleomórficos dispostos em cadeias curtas ou em agrupamentos em forma de V ou Y, conforme observa-se na **Figura 16**. Esse microrganismo é responsável pela produção do ácido propiônico, incluindo-se, portanto, no grupo das bactérias acidogênicas. Observa-se também a presença de outros bastonetes gram-positivos formando pequenas cadeias que comparados à micrografias presentes em Pelczar et. al. (1980) e de acordo com caracterização realizada por Mara e Horan (2003) pode-se dizer que esses bastões pertençam ao gênero *Methanobrevibacter*. Há ainda a presença de pequenos bacilos encontrados separadamente que podem pertencer aos gêneros *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Acetobacterium*, *Acetoanaerobium* ou *Methanobacterium*. Neste ponto nota-se que existe grande concentração de bactérias anaeróbias nos dois primeiros pontos do reator indicando a ocorrência de forte degradação de matéria orgânica, caracterizando um comportamento de digestor anaeróbio de baixa carga, diferentemente do comportamento de RAFA convencional.

A **Figura 17** mostra as bactérias presentes no 1º ponto de coleta do reator que foram cultivadas em meio tioglicolato de sódio e coradas de acordo com o método de Gram, posteriormente visualizadas ao microscópio em aumento de 100x.

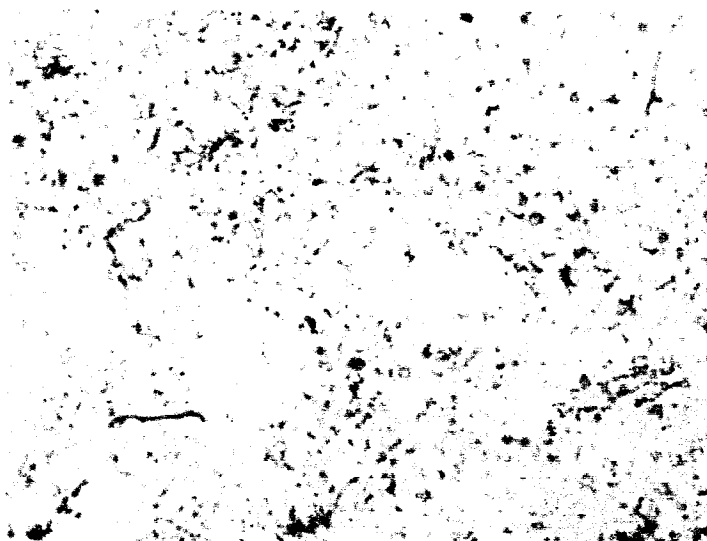


Figura 18 – Bactérias desenvolvidas em meio de cultura tioglicolato de sódio e coradas pelo método de Gram.

Observa-se na **Figura 17** a presença de bacilos filamentosos gram-positivos. Segundo caracterização feita por Mara e Horan (2003) esses bastões podem pertencer ao gênero *Methanobacterium*. Os bastonetes visualizados podem também ser do gênero *Clostridium*, uma vez que este apresenta pleomorfismo. Encontram-se presentes neste 1º ponto de coleta inúmeros cocos gram-positivos que provavelmente pertencem aos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* e/ou *Methanothrix*.

A **Figura 18** mostra as bactérias presentes no 1º ponto de coleta do reator que foram cultivadas em meio tioglicolato de sódio e coradas de acordo com o método de Gram, posteriormente visualizadas ao microscópio em aumento de 100x.

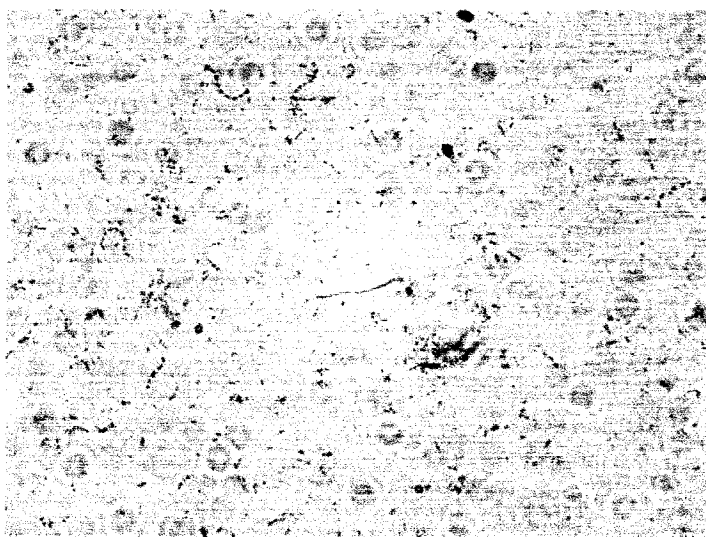


Figura 18 – Bactérias desenvolvidas em meio de cultura tioglicolato de sódio e coradas pelo método de Gram.

No 1º ponto de coleta encontra-se uma grande variedade de microrganismos gram-negativos, como se observa na **Figura 18**. Estão presentes bacilos gram-negativos que podem pertencer aos gêneros *Escherichia*, *Bacteroides*, *Sporomusa*, *Desulfobulbus*, *Desulfomonas*, *Desulfotomaculum* e/ou *Desulfobacterium*. Há também neste ponto um bacilo formando um longo filamento que segundo comparação com imagens contidas em Pelczar et. al. (1980), pertence ao gênero *Methanospirillum*. Observa-se ainda a presença de cocos gram-negativos que provavelmente pertencem aos gêneros *Veillonella* ou *Desulfococcus*.

A **Figura 19** mostra as bactérias presentes no 1º ponto de coleta do reator que foram cultivadas em meio tioglicolato de sódio e coradas de acordo com o método de Gram, posteriormente visualizadas ao microscópio em aumento de 100x.

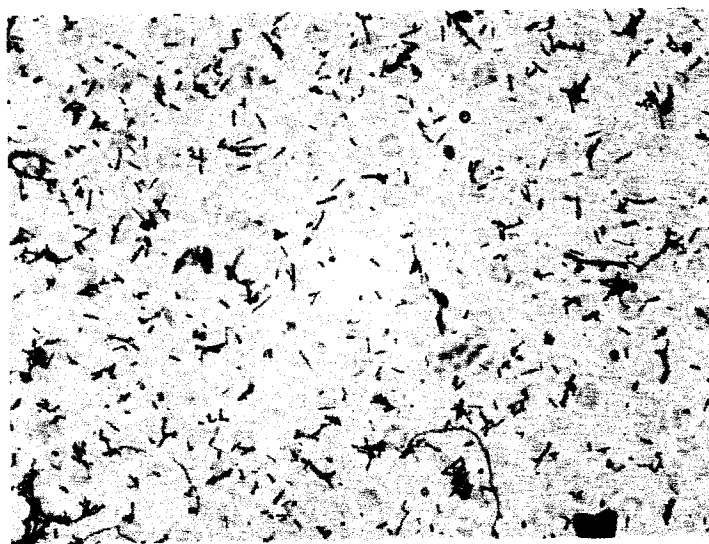


Figura 19 – Bactérias desenvolvidas em meio de cultura tioglicolato de sódio e coradas pelo método de Gram.

Observa-se na **Figura 19** a presença de inúmeros bacilos gram-negativos que apresentam formas irregulares. Provavelmente esses microrganismos pertencem ao grupo das bactérias sulforredutoras que compreende os gêneros *Desulfobulbus*, *Desulfomonas*, *Desulfotomaculum* e *Desulfobacterium*. Encontram-se também pequenos bacilos gram-negativos que podem pertencer ao gênero *Escherichia* ou *Bacteroides*. Visualizam-se ainda alguns cocos gram-negativos. É provável pertençam ao gênero *Veillonella*.

A **Figura 20** mostra as bactérias presentes no 2º ponto de coleta do reator que foram cultivadas em meio tioglicolato de sódio e coradas de acordo com o método de Gram, posteriormente visualizadas ao microscópio em aumento de 100x.

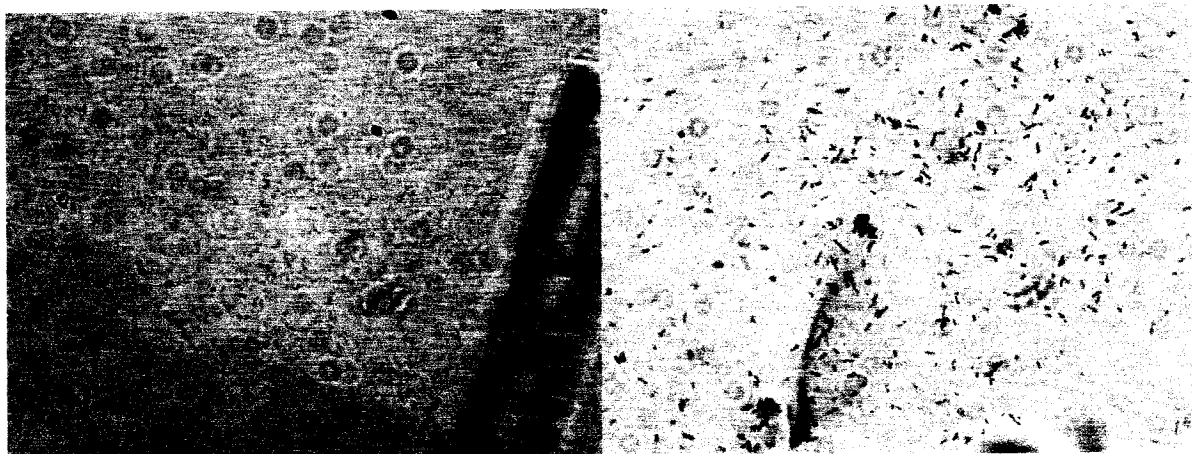


Figura 20 – Bactérias desenvolvidas em meio de cultura e coradas pelo método de Gram

No 2º ponto do reator (**Figura 20**) encontram-se inúmeros cocos gram-positivos, que provavelmente pertencem aos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Peptococcus* e/ou *Peptostreptococcus*. Observa-se também a presença de muitos bacilos gram-negativos que podem pertencer aos gêneros *Bacteroides*, *Escherichia*, *Sporomusa*, *Desulfobulbus*, *Desulfomonas*, *Desulfotomaculum* e/ou *Desulfobacterium*. Nesse ponto, o esgoto apresenta-se pouco turvo, o que indica pequena quantidade de substrato, ou seja, pouco alimento para os microrganismos. Por essa razão, talvez estejam presentes somente as bactérias mais resistentes que conseguem sobreviver em condições inóspitas, como foi observado no mesmo ponto de coleta para as outras análises (“in natura” e em meio de cultura ágar triptose extrato de levedura).

6.3 - Pesquisa de coliformes

O teste para detecção de coliformes totais e fecais foi realizado na saída do reator e os resultados estão dispostos na **Tabela 5**.

Tabela 5 – Resultados experimentais da pesquisa dos grupos de coliformes presentes no esgoto da ETE Aclimação (DMAE – Uberlândia).

Grupo de Coliformes	Teste Presuntivo	Teste Confirmativo para Coliformes Totais	Teste de Coliformes Fecais
Coliformes Totais	Positivo	Positivo	-
Coliformes Fecais	Positivo	-	Positivo

As bactérias do grupo coliforme são microrganismos indicadores de poluição. A presença desses seres no esgoto evidencia que este está poluído com material fecal de origem humana ou de outros animais de sangue quente. Os coliformes totais (fecais e não-fecais) são utilizados como indicadores gerais de poluição. Quando este teste apresenta resultado

positivo, realiza-se o teste confirmativo garantir a qualidade da análise. No teste presuntivo observou-se que houve formação de gás dentro dos tubos de Durham, atestando resultado positivo, ou seja, a presença do grupo coliforme no esgoto. Em seguida, realizou-se o teste confirmativo que também se apresentou positivo. A partir do teste presuntivo, realizou-se também o teste para análise específica de coliformes fecais. A *Escherichia coli* é um tipo fecal de coliforme capaz de fermentar a lactose e produzir ácido e gás em condições ideais de temperatura e pH. Outros membros do grupo coliforme encontram-se amplamente distribuídos na natureza, mas não apresentam as mesmas propriedades que a *E. coli*, sendo, portanto, considerados como microrganismos não-fecais. A fermentação da lactose é a reação-chave para indicar a poluição do meio. Observando-se o teste para coliformes fecais visualizou-se a formação de gás demonstrando a contaminação do esgoto por esses microrganismos.

6.4 - Pesquisa de fungos

Os fungos são encontrados em diversos ambientes, mas a maioria vive nos solos, o que explica a presença dos mesmos no esgoto. Esses seres apresentam capacidade de sobreviver em faixas de pH reduzidas e em locais com pouco nitrogênio, isso faz com que os mesmos possam ser importantes no tratamento de certos despejos industriais. No entanto, fungos de estrutura filamentosa podem prejudicar a decantabilidade do lodo, reduzindo a eficiência do processo.

As principais espécies de fungos observadas no esgoto encontram-se dispostas na

Tabela 6.

Tabela 6 – Espécies de fungos presentes no esgoto da ETE Aclimação (DMAE – Uberlândia) em diferentes pontos de amostragem.

Pontos de amostragem	Espécies
Esgoto bruto	<i>Fusarium sp.</i>
	<i>Candida dubliniensis</i>
	<i>Geotrichum candidum</i>
1º ponto do reator (região inferior)	—
2º ponto do reator (região intermediária)	<i>Candida dubliniensis</i>
	<i>Fusarium sp.</i>
3º ponto do reator (região inferior)	<i>Fusarium sp.</i>

	<i>Candida dubliniensis</i> <i>Geotrichum candidum</i>
Saída do reator	<i>Candida dubliniensis</i> <i>Geotrichum candidum</i>
Esgoto tratado	<i>Candida dubliniensis</i>

Segundo Mara e Horan (2003), algumas espécies de fungos têm conseguido sobreviver dentro dos reatores anaeróbios, auxiliando no processo de digestão através da degradação da matéria orgânica que utilizam como alimento. De acordo com Sperling (1996), os fungos são de grande importância na decomposição da matéria orgânica, mas não são tão eficientes nesse processo quanto as bactérias, pois devido à ausência de oxigênio no meio são poucas as espécies que sobrevivem e as que conseguem sobreviver não se reproduzem muito como pode ser observado nas figuras de 21 a 24.

A **Figura 21** apresenta as principais espécies de fungos presentes no esgoto bruto visualizados com o auxílio de uma lupa.

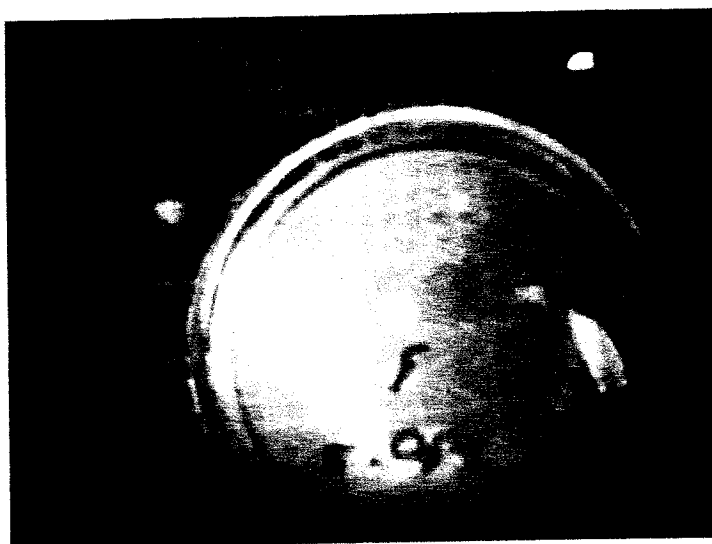


Figura 21 – Colônias de fungos presentes no esgoto bruto, visualizadas com o auxílio de uma lupa.

Observam-se na **Figura 21** colônias amarelas que segundo comparação com imagens contidas no Atlas de microrganismos vscht (2006), as mesmas pertencem a *Candida dubliniensis*. De acordo com a referência citada, as colônias brancas e pequenas são semelhantes às colônias do *Geotrichum candidum* e as colônias rosadas e grandes podem

pertencer ao gênero *Fusarium sp.* No esgoto bruto há uma grande concentração de matéria orgânica, o que explica as diversas espécies visualizadas.

No 1º ponto do reator não foram visualizadas colônias de fungos, o que pode ser explicado pelo fato de que nesse ponto o meio é propício ao crescimento de bactérias, havendo uma competição entre esses microrganismos pelo substrato e devido a natureza aeróbia dos fungos, eles podem não ter resistido a essa intensa competição.

A **Figura 22** apresenta as principais espécies de fungos presentes no 2º ponto do reator visualizados com o auxílio de uma lupa.

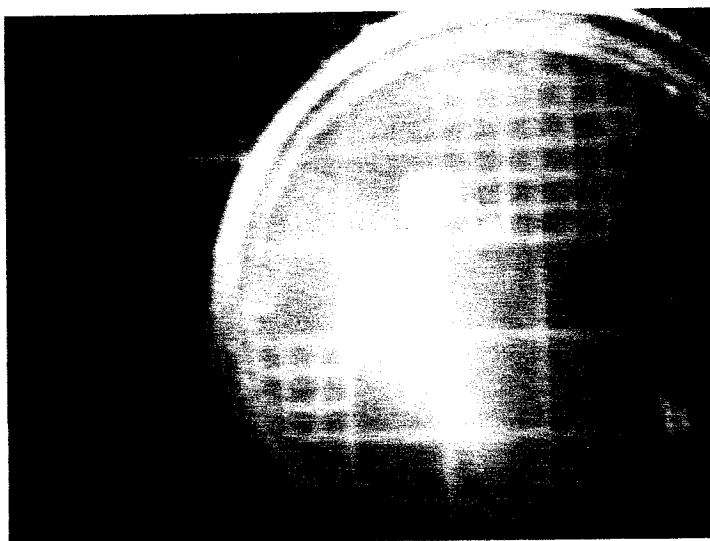


Figura 22 – Colônias de fungos presentes no 2º ponto do reator, visualizadas com o auxílio de uma lupa.

No 2º ponto do reator, como se pode observar na **Figura 22**, apresenta poucas colônias que provavelmente pertencem a *Candida dubliniensis* (colônias amarelas) e ao *Fusarium sp.* (colônias róseas). Nesse ponto há pouca quantidade de sedimentos, ou seja, pouco alimento para os organismos, sobrevivendo somente as espécies mais resistentes.

A **Figura 23** apresenta as principais espécies de fungos presentes no 3º ponto do reator visualizados com o auxílio de uma lupa.

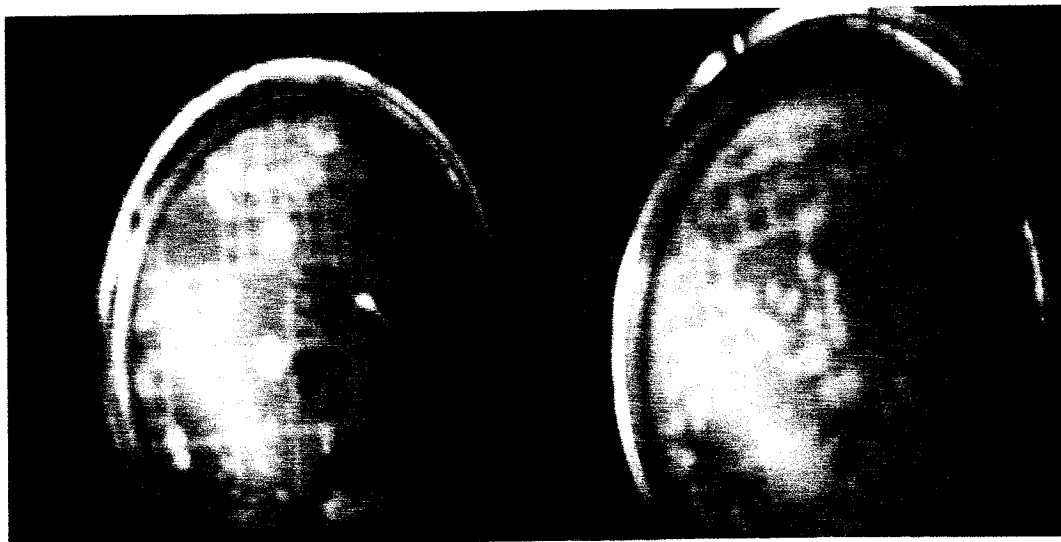


Figura 23 – Colônias de fungos presentes no 3º ponto do reator, visualizadas com o auxílio de uma lupa.

Na **Figura 23** observam-se na placa da esquerda, colônias amareladas e róseas que provavelmente pertencem a *Candida dubliniensis* e ao *Fusarium sp.*, respectivamente. Já na placa da direita visualizam-se inúmeras colônias brancas que provavelmente pertencem ao *Geotrichum candidum*. Nesse ponto de coleta ainda pode-se ver diversas espécies de fungos, o que é explicado pela concentração de substrato no local.

A **Figura 24** apresenta as principais espécies de fungos presentes na saída do reator visualizados com o auxílio de uma lupa.

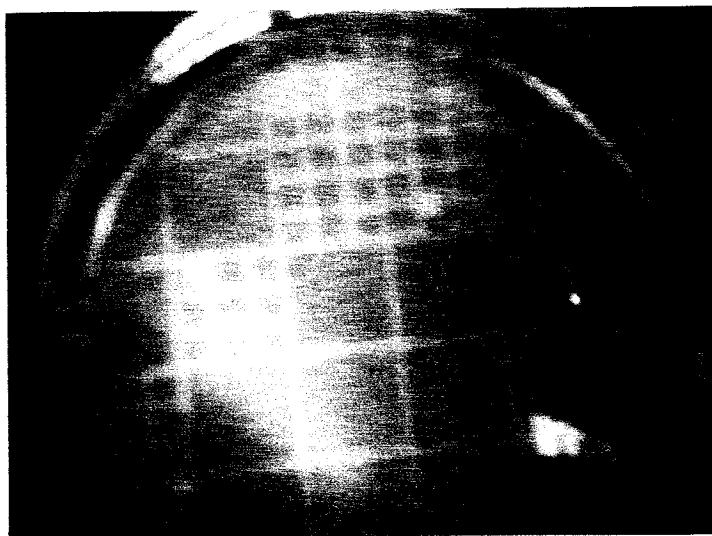


Figura 24 – Colônias de fungos presentes na saída do reator, visualizadas com o auxílio de uma lupa.

Como se pode observar na **Figura 24** formaram-se poucas colônias que provavelmente pertencem a *Candida dubliniensis* e ao *Geotrichum candidum*. Na saída do

reator, o esgoto encontra-se com pouquíssimo sedimento, por isso nesse ponto sobreviverão somente os organismos que são mais resistentes a pequenas quantidades de alimento.

A **Figura 25** apresenta as principais espécies de fungos presentes na saída do flotador, visualizadas com o auxílio de uma lupa.

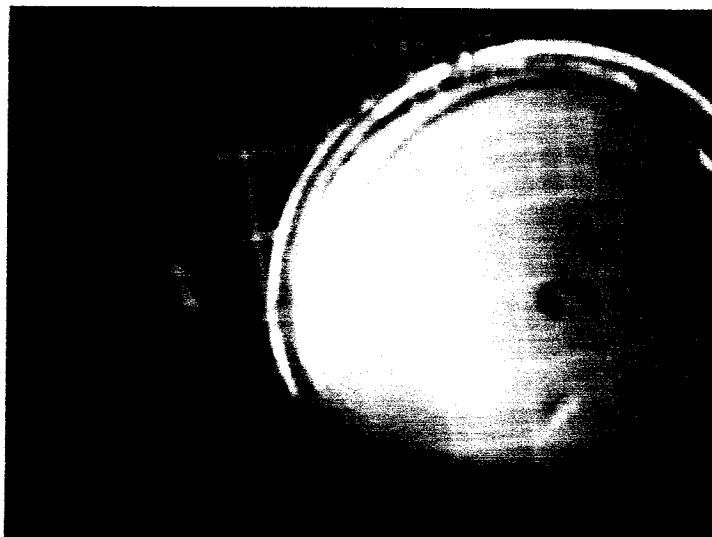


Figura 25 – Colônias de fungos presentes na saída do flotador, visualizadas com o auxílio de uma lupa.

Como se observa na **Figura 25** a única espécie que sobreviveu foi a *Candida dubliniensis*. Provavelmente essa é uma espécie muito resistente a mudanças de ambiente e pouca quantidade de alimento.

6.5 - Pesquisa de protozoários

Na realização dessa pesquisa visualizaram-se diferentes formas de microrganismos, destacando-se entre estes protozoários, helmintos e fungos. Dentre estes, a maioria observada foi de helmintos. Os gêneros observados encontram-se dispostos na **Tabela 7**.

Tabela 7 – Microrganismos presentes no esgoto “in natura”.

<i>Grupos de microrganismos</i>	<i>Espécies</i>
<i>Protozoários</i>	<i>Ceratiomyxa swarmers</i>
<i>Helmintos</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i>
<i>Fungos</i>	<i>Fusarium culmorum</i>

A **Figura 26** apresenta uma espécie de protozoário observada no 2º ponto do reator e visualizada ao microscópio em aumento de 40x.



Figura 26 – Protozoário presente no 2º ponto do reator, observado nas amostras preparadas “in natura”, corado com Azul de Metileno e visualizado ao microscópio em aumento de 40x.

Visualiza-se na **Figura 26** um protozoário que segundo comparação com Patterson (1992) caracteriza a *Ceratiomyxa swarmers*, uma espécie de ameba flagelada. A maioria dos protozoários são organismos heterotróficos, aeróbios estritos, o que explica a pequena ocorrência desses microrganismos no esgoto. De acordo com Sperling (1996), os protozoários contribuem para a remoção da matéria orgânica dos esgotos, mas não apresentam significativa importância no processo de digestão anaeróbia, segundo Mara e Horan (2003). A contribuição desses organismos é relevante nos processos de tratamento por lodos ativados, pois segundo Sperling (1996), os protozoários exercem atividade predatória sobre as bactérias suspensas no meio líquido, contribuindo, portanto, para a melhoria da qualidade do efluente final.

A **Figura 27** apresenta um helminto observado no 1º ponto do reator e visualizado ao microscópio em aumento de 10x.

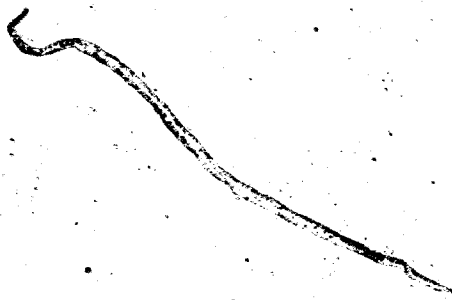


Figura 27 – Helminto presente no 1º ponto do reator, observado nas amostras preparadas “in natura”, corado com Azul de Metileno e visualizado ao microscópio em aumento de 10x.

Foram observados inúmeros helmintos no esgoto quando se realizou a análise das amostras a fresco, o que se explica pelo fato de serem encontrados em grande quantidade no ambiente, principalmente nos solos. Como se observa na **Figura 27**, os helmintos são vermes cilíndricos de corpo alongado e podem causar diversos tipos de doenças. Segundo Mara e Horan (2003), esses vermes não apresentam grande importância no processo de digestão anaeróbia. O helminto visualizado na **Figura 27** caracteriza-se como sendo o *Ascaris lumbricoides*, segundo comparação com imagens contidas no Atlas Ficharionline (2006).

A **Figura 28** apresenta um fungo observado no 3º ponto do reator e visualizado ao microscópio em aumento de 20x.



Figura 28 – Fungo presente no 3º ponto do reator, observado nas amostras preparadas “in natura”, corado com Azul de Metileno e visualizado ao microscópio em aumento de 20x.

Na análise realizada a “in natura”, observou-se também a presença de uma espécie de fungo. Segundo comparação com micrografias presentes no Atlas de microrganismos vscht (2006) esse microrganismo caracteriza-se como sendo o *Fusarium culmorum*, como se observa na **Figura 28**. Esse microrganismo também foi visualizado na pesquisa específica para fungos, o que confirma sua presença no esgoto.

7- CONCLUSÃO

O estudo da microbiota do Reator de Fluxo Ascendente do DMAE indicou a presença de uma grande quantidade de microrganismos anaeróbios e facultativos como esperado. A identificação correta das espécies necessitaria da realização de novos experimentos em meios de culturas específicos aos microrganismos buscando a obtenção de culturas puras.

Diferentes formas de microrganismos (bactérias, fungos, protozoários e helmintos) foram encontradas durante o processo de tratamento do esgoto, no entanto, os de maior relevância na digestão anaeróbia foram as bactérias. A maior concentração desses microrganismos foi observada no 1º ponto do reator, o que indica forte digestão anaeróbia nesse ponto.

Observou-se que diversos grupos de bactérias trabalham em interação no processo de degradação da matéria orgânica, apresentando uma eficiência de aproximadamente 78%. Ao final do tratamento a remoção é cerca de 94%, o que indica uma boa eficiência do processo anaeróbio realizado pela ETE Aclimação.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-ANDREOLI, C. V. **Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição final.** 1ª ed. Rio de Janeiro: Ed. Rima, Abes, 2001.
- 2- BEAL, L.L. **Avaliação de processo anaeróbio em duas fases tratando efluentes de curtume.** Porto Alegre, UFRGS, 1995. (Dissertação de Mestrado).
- 3- CHERNICHARO, C.A.L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Reatores anaeróbios.** Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, 1997. 5 v.
- 4-COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Técnica de abastecimento e tratamento de água.** 2ª ed. São Paulo, 1978. 1 v.
- 5-DURÁN, J. Remoção biológica de nutrientes. In: **III Curso de tratamento biológico de resíduos.** Santa Catarina, Florianópolis: UFSC, 1997.
- 6-FORESTI, E. Sistemas de tratamento anaeróbio. In: **III Curso de tratamento biológico de resíduos.** Santa Catarina, Florianópolis: UFSC, 1997.
- 7-HAANDEL, A. C. V.; LETTINGA, G. **Tratamento anaeróbio de esgotos.** Campina Grande: Epgraf, 1994.
- 8-JORDÃO, E.P.; PESSOA, C.A. **Tratamento de esgotos domésticos.** 3ª ed. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES), 1995.
- 9-JORDÃO, E.P.; PESSOA, C.A. **Tratamento de esgotos domésticos; concepções clássicas de tratamento de esgotos.** São Paulo: Ed. CETESB, 1975.
- 10-LIMA, F. P. **Energia no tratamento de esgoto: análise tecnológica e institucional para conservação de energia e uso do Biogás.** São Paulo: USP, 2005. (Dissertação de Mestrado)
- 11-MARA, D.; HORAN, N. **Handbook of Water and Wastewater Microbiology.** California: School of Civil Engineering University of Leeds, UK, 2003.
- 12- MATHIOT, S., ESCOFFIER, Y., EHLINGER, F., COURDEC, J. P., LEYRIS, J. P., MOLETTA, R. Control parameter variations in na anaerobic fluidised bed reactor subjected to organic shockloads. **Water Science Technology**, n.7, 1992. 25 v.
- 13-METCALF; EDDY. **Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse.** 3 ed. New York: McGraw-Hill, 1991.
- 14-PATTERSON, D. J., HEDLEY S. **Free-Living Freshwater Protozoa: A Colour Guide.** London: Wolfe Publishing Ltda, 1992.
- 15-PELCZAR, M. J. J., CHAN, E.C.S., KRIEG, N. R.- **Microbiologia; conceitos e aplicações-** 2ª ed. São Paulo: Ed. MAKRON Books, 1996. 2 v.

16- SILVA, M. O. **Análises físico-químicas para controle de estações de tratamento de esgotos.** São Paulo. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB), 1977.

17-SPERLING, M. V. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** 2ª ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; UFMG, 1996a. 1 v

18-SPERLING, M. V. **Princípios básicos do tratamento de esgotos; princípios do tratamento biológico de águas residuárias.** Belo Horizonte: Ed. SEGRAC, 1996b. 2 V.

19-VITORATTO, E. **Tratamento de efluentes líquidos orgânicos: sistemas anaeróbios.** Faculdade Oswaldo Cruz, 2004.

20- ZAIAT, M., VIEIRA, L. G. T., CABRAL, A. K. A., NARDI, I. R., VELA, F. J., FORESTI, E. Reator anaeróbio horizontal de leito fixo para tratamento de águas residuárias. In: **III Curso de tratamento biológico de resíduos.** Santa Catarina, Florianópolis: UFSC, 1997.

Sites:

1- ATLAS DE MICORGANISMOS. Disponível em:

<<http://www.vscht.cz/kch/galerie/menu1.htm>>. Acesso em: 25 ago. 2006.

2-BASE DE DADOS TROPICAL (BDT). **Microbiologia e saneamento ambiental.**

Disponível em:

<<http://www.bdt.fat.org.br/publicacoes/padct/bio/cap9/3/rosbio.html>>. Acesso em: 18 fev. 2006.

3- BORSOI, Z.; LUCIA, M.; LANARI, N.; TORRES, S.; GOMES, S. M. **Tratamento de esgoto: tecnologias acessíveis.** Disponível em:

<www.bndes.gov.br/conhecimento/infra/g7416> Acesso em: 27 mai. 2006.

4-CÉSAR, J. **A poluição da água.** Disponível em:

<<http://www.curupira.com.br>>. Acesso em: 08 set. 2005.

5-COPASA. **Processos de tratamento.** Disponível em:

<<http://www.copasa.com.br/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm>> Acesso em: 27 mai 2006.

6- ATLAS DE HELMINTOS. Disponível em:

<http://www.ficharionline.com/biologia/pagina_exibe.p...>

- 7-HAGLER, C. M. De que forma os microrganismos podem ajudar na purificação da água. **Revista Ciência Hoje**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Microbiologia Geral, Instituto de Microbiologia Professor Paulo Góes, Rio de Janeiro, nº 217, publicado em julho de 2005. Disponível em:
<<http://www.cienciahoje.uol.com.br>>. Acesso em: 31 ago. 2005.
- 8- REINOLD, M. R. **O tratamento de efluentes na cervejaria**. Revisado em mar. 2003. Disponível em:
<http://www.cervesia.com.br/tratamento_de_efluentes.asp>. Acesso em 07 set. 2005.
- 9-SANTANA, P.H. **Tratamento de esgoto no DMAE**. Disponível em:
<<http://peac.phsantana.infinitehost.com.br/frameArtigos.htm>>. Acesso em 25 set. 2005.
- 10-SISTEMA DE ABASTECIMENTO DE ÁGUA DO ESTADO DE SÃO PAULO (SABESP). **Tratamento de água**. Disponível em:
<http://www.sabesp.com.br/o_que_fazemos/captacao_e_distribuicao_de_agua/tratamento_de_agua.htm>. Acesso em: 07 set. 2005.
- 11-UBBI. **O que é Biorremediação Natural**. In: Ubbi Home Pages Ciência e Saúde. Disponível em:
<<http://www.ubbi.com.br>>. Acesso em: 31 ago. 2005.