

A IMPORTÂNCIA DA MICROFAUNA COMO FERRAMENTA DE TRABALHO EM ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS

Maria J. MARTINS ⁽¹⁾; Ana NICOLAU ⁽²⁾; Manuel MOTA ⁽³⁾; Nelson LIMA ⁽⁴⁾

Palavras Chave: classe de qualidade, espécies indicadoras, Índice Biótico de Lamas (SBI), lamas activadas, microfauna, protozoários

1 - AS LAMAS ACTIVADAS

Um dos processos mais utilizados no tratamento secundário de águas residuais, quer domésticas quer industriais, para a remoção de matéria orgânica carbonada, é o processo de lamas activadas.

Este processo foi desenvolvido em Manchester, Inglaterra, por Ardern e Lockett em 1914 e deve o seu nome ao facto dos microrganismos em forma de flocos formarem uma massa, ou lama biológica activa, que se mantém em suspensão no efluente arejado que se pretende tratar.

Assim, o princípio deste processo consiste no fornecimento constante de matéria orgânica e oxigénio a uma comunidade de microrganismos que, através do seu metabolismo, transformam essa matéria orgânica em nova biomassa microbiana, CO₂, H₂O, e minerais, como se pode observar na Figura 1.1.

⁽¹⁾ Licenciada em Engenharia Biológica (ramo Controlo da Poluição), Biotempo – Consultoria em Biotecnologia, Lda.; Braga; Portugal

⁽²⁾ Doutorada em Engenharia Química e Biológica, Biotempo – Consultoria em Biotecnologia, Lda.; Braga; Portugal

⁽³⁾ Professor Catedrático, Centro de Engenharia Biológica – IBQF, Universidade do Minho; Braga; Portugal

⁽⁴⁾ Professor Associado, Centro de Engenharia Biológica – IBQF, Universidade do Minho; Braga; Portugal

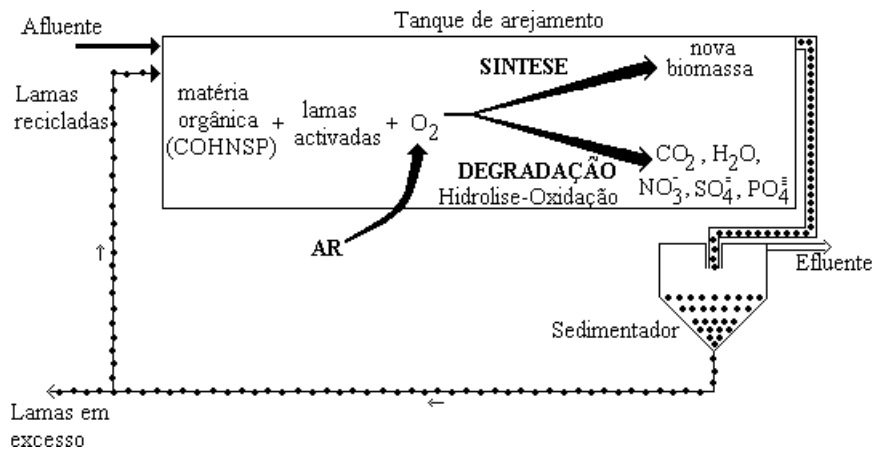


Figura 1.1. Desenvolvimento e controlo da biomassa nas lamas activadas (GRAY (1990)).

Em sistemas contínuos, este processo é mais eficiente se for operado em estado estacionário, sendo importante compreender que certas variações do processo afectam o desempenho do sistema, devendo-se procurar uma diminuição desta variabilidade, que se repercutirá nas características do efluente. Os factores responsáveis pelas variações na comunidade biológica podem ser: factores ambientais (temperatura, condições climáticas, etc.) que podem causar variações nas características e caudal do afluente; flutuações dos parâmetros operacionais, como o tempo de residência das lamas, a taxa de fornecimento de nutrientes aos microrganismos, a taxa de reciclagem e a concentração de sólidos; o facto de as necessidades em termos de oxigénio serem ou não satisfeitas; as características de sedimentação das lamas; etc. (METCALF e EDDY (1991)).

Actualmente existem diversas variantes do processo original, desenvolvidas com o objectivo principal de se obter um efluente com as características desejadas e a baixos custos de operação, mas basicamente os componentes principais são os mesmos (GRAY (1990); DGSB (1978)):

- reactor - normalmente designado por tanque de arejamento, onde se pretende o arejamento da população de microrganismos e que esta seja mantida em suspensão e completamente misturada com o afluente, formando o chamado licor misto;
- lamas activadas - flocos compostos pela biomassa microbiana existente no reactor (bactérias, protozoários, metazoários entre outros), cuja concentração de sólidos suspensos normal existente varia de 2 a 5 kg/m³;
- sistema de arejamento/mistura - o arejamento e a mistura do afluente com os flocos são essenciais, uma vez que evitam o aparecimento de zonas anaeróbias e favorecem as actividades metabólicas dos microrganismos, devendo promover a dissolução do oxigénio no licor e assegurar uma concentração de oxigénio dissolvido que seja suficiente (2*10⁻³ a 3*10⁻³ kg/m³); normalmente estes processos são conseguidos por um único sistema (ex.: ar comprimido);

- sedimentador - ocorre uma clarificação final onde os agregados microbianos são removidos, separando-se por densidade do efluente tratado que, por sua vez, sairá pela parte superior do sedimentador;
- recirculação de lamas - as lamas que sedimentaram no tanque de sedimentação voltam ao reactor para que a concentração de microrganismos necessária seja mantida, com o objectivo de assegurar a continuação do tratamento;
- purga de lamas - as lamas em excesso são retiradas do sistema e enviadas para um tratamento posterior.

Neste tipo de tratamento, é necessário compreender a importância da comunidade de microrganismos do sistema, sendo as bactérias os mais importantes, uma vez que são responsáveis pela decomposição da matéria orgânica do afluente.

Normalmente, as bactérias existentes neste sistema de lamas activadas, pertencem aos géneros *Pseudomonas*, *Zoogloea*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Bdellovibrio*, *Mycobacterium*, bactérias nitrificantes como *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, podendo ainda existir bactérias filamentosas de várias espécies. Além dos decompositores, outros microrganismos aparecem nas lamas activadas, alimentando-se das bactérias dispersas no licor misto. Dentro destes últimos, realçam-se os protozoários e os pequenos metazoários, bem como os rotíferos, os nemátodos e os gastrotríquios.

2 - A IMPORTÂNCIA DOS PROTOZOÁRIOS

Como foi anteriormente referido, a microfauna das lamas activadas não se reporta apenas às bactérias. A comunidade microbiana que se desenvolve no tanque de arejamento é muito importante nos processos de purificação das águas e a estrutura desta comunidade é um valioso instrumento de diagnóstico e avaliação do desempenho da estação de tratamento (NICOLAU *et al* (1996); (1999) e NICOLAU (2002)), uma vez que as análises físico-químicas têm a desvantagem de serem morosas.

Assim, nas lamas activadas, a componente biótica é representada pelos “decompositores” (bactérias e fungos) que retiram a energia, para o seu desenvolvimento, da matéria orgânica que existe em suspensão no afluente e pelos seus “consumidores” que são todos os que predam as bactérias dispersas e outros organismos (MADONI (1994^a)). É neste segundo grupo que se inserem os protozoários.

Se se considerar a divisão dos seres vivos em cinco reinos: Monera, Protista, Plantas, Fungos e Animais; os protozoários podem ser considerados um sub-reino dos Protistas (JAHN *et al* (1992)). São seres unicelulares, complexos, podendo ter várias formas e um dos aspectos mais importantes destes seres é o facto de poderem ser usados para monitorizar a operação de processos de tratamento de águas residuais (COLIN e CURDS (1992)), como será descrito mais adiante.

Os protozoários ciliados são numerosos em todos os tipos de processos de tratamento aeróbio de águas residuais, alcançando normalmente uma densidade de $10 \cdot 10^9$ células/m³ de licor misto arejado, o que representa aproximadamente 9% dos sólidos suspensos (peso seco de MLSS - “Mixed Liquor Suspended Solids”).

Outras 230 espécies (33 de flagelados, 25 de rizopódios, 6 de actinopódios e 160 de ciliados) foram assinaladas nos vários tipos de tratamento aeróbio mas só um número limitado destas aparece frequentemente (MADONI (1994^a)).

A Tabela 2.1 apresenta uma lista dos ciliados mais importantes encontrados nas lammas activadas.

Tabela 2.1 - Lista dos protozoários mais frequentes nas lammas activadas e respectivos grupos tróficos

| CARNÍVOROS | BACTERIÓFAGOS | | |
|---------------------------|--|----------------------------------|--------------------------------|
| | Nadadores | Móveis de Fundo | Sésseis |
| Olotrichi | <i>Colpoda</i> sp. | <i>Acineria uncinata</i> | <i>Carchesium</i> spp. |
| <i>Acineria incurvata</i> | <i>Colpidium colpoda</i> | <i>Aspidisca cicada</i> | <i>Epistylis</i> spp. |
| <i>Amphileptus</i> sp. | <i>Colpidium campylum</i> | <i>Aspidisca lynceus</i> | <i>Opercularia coarctata</i> |
| <i>Coleps hirtus</i> (*) | <i>Cinetochilum margaritaceum</i> | <i>Chilodonella uncinata</i> | <i>Opercularia microdiscus</i> |
| <i>Litonotus</i> spp. | <i>Cyclidium glaucoma</i> | <i>Drepanomonas revoluta</i> | <i>Opercularia minima</i> |
| <i>Spathidium</i> spp. | <i>Dexiotricha</i> sp. | <i>Euplotes affinis</i> | <i>Stentor</i> spp. |
| Suttori | <i>Glaucoma scintillans</i> | <i>Euplotes moebiusi</i> | <i>Vaginicola crystallina</i> |
| <i>Acineta</i> spp. | <i>Loxocephalus</i> sp. | <i>Euplotes patella</i> | <i>Vorticella aquadulcis</i> |
| <i>Metacineta</i> sp. | <i>Paramecium</i> spp. | <i>Stylonychia</i> spp. | <i>Vorticella convallaria</i> |
| <i>Podophrya</i> spp. | <i>Pseudocohnilembus pusillum</i> | <i>Trachelophyllum pusillum</i> | <i>Vorticella microstoma</i> |
| <i>Tokophrya</i> spp. | <i>Sathrophilus</i> sp. | <i>Trithigmostoma cucullulus</i> | <i>Zoothamnium</i> spp. |
| | <i>Spirostomum teres</i> | <i>Trochilia minuta</i> | |
| | <i>Tetrahymena pyriformis</i> complexo | | |
| | <i>Uronema nigricans</i> | | |

(*) Omnivoro

A maior parte dos ciliados presentes nas estações de tratamento alimentam-se de bactérias, embora existam outros que predam ciliados ou flagelados. Estes ciliados bacteriófagos das lammas activadas podem ser divididos em três grupos funcionais com base no seu comportamento:

- 1) nadadores (“free-swimmers”): nadando na fracção líquida e permanecendo em suspensão no tanque de sedimentação;
- 2) móveis de fundo (“crawlers”): habitam a superfície dos flocos;
- 3) sésseis (“attached”): estão fixos por um pedúnculo aos flocos e precipitam com estes durante a sedimentação.

O processo de lammas activadas baseia-se na formação de agregados bacterianos sobre os quais outros microrganismos se podem desenvolver. Assim, uma população de organismos com a capacidade de se juntar e de se manter estreitamente associada aos flocos, tem vantagens sobre outros organismos que nadam na fracção líquida e que podem ser “lavados” do sistema através do efluente. Outra característica importante destes ciliados, é o seu comportamento alimentar. Todos os ciliados bacteriófagos criam uma corrente ciliar que direcciona as bactérias dispersas e suspensas na fracção líquida para a sua “boca” mas, enquanto que os nadadores e os sésseis competem pelas bactérias dispersas na fracção líquida, os móveis de fundo, que estão em estreita proximidade com a superfície do floco, alimentam-se de bactérias que estão apenas levemente agarradas ao floco, ocupando um nicho ecológico diferente, com todas as vantagens que daí advêm (MADONI (1994^a)).

A Figura 2.1 ilustra o mecanismo de alimentação atrás descrito.

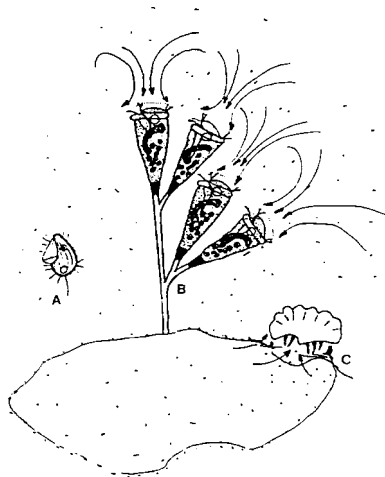


Figura 2.1. Mecanismo de filtração de bactérias por parte dos diferentes grupos de ciliados bacteriófagos: nadadores (A), sésseis (B) e móveis de fundo (C).

Foi demonstrado que os protozoários ciliados melhoram a qualidade do efluente através da predação da maior parte das bactérias dispersas que entram continuamente com o afluente. Assim, na ausência de ciliados, o efluente do sistema é caracterizado por uma CBO elevada e por alta turbidez (MADONI (1994^a); SALVADÓ *et al* (1995)).

No tanque de arejamento estabelece-se uma verdadeira rede trófica como ilustra o diagrama simplificado da Figura 2.2.



Figura 2.2. Rede trófica que se desenvolve nas lamas activadas (NICOLAU *et al* (1996); (1999)).

O crescimento dos decompositores, especialmente bactérias heterotróficas, depende da qualidade e quantidade de matéria orgânica dissolvida na fracção líquida. Para os predadores, o crescimento depende da disponibilidade de predação.

Como a Figura 2.3 exemplifica, as relações de competição e predação criam, ao longo do tempo, oscilações e sucessões das populações no sentido de se alcançar uma estabilidade dinâmica.

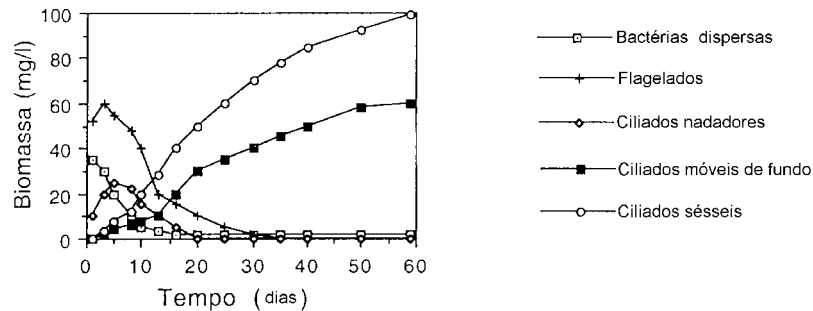


Figura 2.3. Dinâmica de colonização das lamias activadas em estações de tratamento biológico de águas residuais desde o início do seu funcionamento (NICOLAU *et al* (1996)).

Pesquisas efectuadas sobre a dinâmica de colonização e sobre a sucessão de populações nas lamias activadas, evidenciaram o efeito determinante das condições ambientais nos tanques de arejamento sobre a comunidade de ciliados. Em tanques de arejamento idênticos em termos de construção e de funcionamento (carga orgânica, caudal, arejamento, etc.) encontram-se comunidades de protozoários muito semelhantes em estrutura e espécies.

Um outro resultado importante, obtido nas pesquisas sobre a dinâmica de colonização da microfauna, é a identificação de três fases distintas que se sucedem desde a fase de arranque do sistema até à fase de estabilização, nomeadamente no tanque de arejamento (MADONI (1994^a); NICOLAU *et al* (1996)):

- 1) a fase inicial da instalação é caracterizada pela presença de espécies que são típicas do afluente - flagelados e ciliados nadadores - independentes das lamias activadas e que estão continuamente a entrar;
- 2) com a formação das lamias, surge a segunda fase que é caracterizada pelo forte desenvolvimento de ciliados típicos - móveis de fundo e sésseis - e pelo rápido declínio das espécies pioneiras; a comunidade apresenta uma grande riqueza em espécies, mas a sua composição varia com o progressivo aumento da quantidade de lamias;
- 3) a terceira fase, ou fase de estado estacionário, é caracterizada por uma microfauna cuja composição e estrutura reflectem as condições estáveis decorrentes do balanço entre a carga orgânica e as lamias produzidas, removidas e recicladas.

Uma estação de tratamento, em funcionamento pleno, não deve conter as espécies características da fase de colonização em número significativo, pois indicará um mau funcionamento. Se tal acontecer transitoriamente, poderá significar perda de lamias devido à remoção exagerada, carga excessiva ou insuficiente, falta de oxigenação, variações significativas nos tempos de retenção ou presença de substâncias tóxicas. A análise da estrutura da microfauna é um válido instrumento para diagnosticar o bom ou mau funcionamento do sistema de tratamento. Assim, a presença ou ausência de uma determinada espécie e a composição da microfauna, podem ser consideradas um bom indicador da eficiência biológica de depuração das lamias activadas.

Sintetizando, um sistema de lamias activadas eficiente apresenta as seguintes características (MADONI (1994^a)):

1. elevada densidade da microfauna ($\geq 10^9$ organismos / m³);
2. microfauna composta principalmente por móveis de fundo e sésseis, com os flagelados praticamente ausentes;
3. comunidade diversificada onde nenhuma espécie ou grupo domine numericamente em mais do que um factor de 10.

Quando isto não se observa, o grupo dominante dá uma indicação que permite diagnosticar o estado de funcionamento do sistema. A Tabela 2.2 apresenta alguns exemplos.

Tabela 2.2 - Situações particulares do funcionamento de estações de tratamento biológico de águas residuais por lamas activadas

| Grupo dominante | Eficiência | Causa possível |
|--------------------------------------|------------|---|
| pequenos flagelados | Má | lamas pouco oxigenadas, entrada de substâncias em vias de fermentação |
| pequenas amibas nuas e flageladas | Má | carga elevada e/ou dificilmente degradável |
| pequenos ciliados nadadores (<50 µm) | mediocre | permanência breve; lamas pouco oxigenadas |
| Grandes ciliados nadadores (>50 µm) | mediocre | carga demasiado alta |
| Ciliados sésseis | baixa | fenómenos transitórios |
| Ciliados móveis de fundo | boa | |
| Ciliados sésseis + móveis de fundo | boa | |
| Amibas com teca | boa | carga baixa e/ou diluída; boa nitrificação |

De um modo geral, uma grande quantidade de ciliados ($\geq 10^9$ organismos/m³) indica uma boa depuração e um óptimo desempenho da estação de tratamento. Por outro lado densidades inferiores a 10^7 organismos/m³ indicam má depuração e consequentemente elevada turbidez e elevada CBO (MADONI (1994^a); NICOLAU *et al* (1996), (1999), (2002)).

2.1 - Espécies e grupos dominantes

A Tabela 2.3 apresenta o quadro sistemático dos protozoários presentes nas lamas activadas.

Tabela 2.3 - Quadro sistemático dos protozoários presentes nas lamas activadas (AGAC (1996))

| | | | |
|------|-------------------|---------|---------------------|
| Filo | SARCOMASTIGOPHORA | Género: | <i>Chilodonella</i> |
|------|-------------------|---------|---------------------|

| | | | |
|--------------------|--|-----------------|---|
| Subfilo 1 | MASTIGOPHORA (FLAGELADOS) | | <i>Trithigmostoma</i> <i>Trochilia</i> |
| Classe 1 | PHYTOMASTIGOPHOREA | | <i>Drepanomonas</i> |
| Género: | <i>Euglena</i> <i>Peranema</i> | S.classe | Suctorina |
| Classe 2 | ZOOMASTIGOPHOREA | Género: | <i>Acineta</i> <i>Podophrya</i> <i>Tokophrya</i> |
| Género: | <i>Bodo</i> <i>Cercobodo</i> <i>Hexamita</i> <i>Trepomonas</i> | Classe | OLIGOHYMENOPHOREA |
| Subfilo 2 | SARCODINA (AMIBA) | S.classe | Hymenostomatia |
| Superclasse | <u>RHIZOPODA</u> | Género: | <i>Colpidium</i> <i>Glaucoma</i> <i>Tetrahymena</i> |
| Classe | LCBOSEA | | <i>Cinetochilum</i> <i>Paramecium</i> <i>Sathrophilus</i> <i>Pseudocohnilembus</i> |
| S.classe | Gymnoamoeba (amiba nua) | | <i>Uronema</i> <i>Cyclidium</i> |
| Género | <i>Chaos</i> <i>Mayorella</i> <i>Vahlkampfia</i> <i>Thecamoeba</i> | S.classe | Peritricha |
| S.classe | Testacea (amiba com teca) | Género: | <i>Vorticella</i> <i>Carchesium</i> <i>Zoothamnium</i> <i>Epistylis</i> <i>Opercularia</i> <i>Vaginicola</i> |
| Género: | <i>Arcella</i> <i>Cochliopodium</i> <i>Diffugia</i> <i>Euglypha</i> | | |
| Filo | CILIOPHORA | Classe | POLYHYMENOPHOREA |
| Classe | KINETOFRAGMINOPHOREA | Ordem | Heterotrichida |
| S.classe | Gymnostomatia | Género: | <i>Blepharisma</i> <i>Spirostomum</i> <i>Stentor</i> |
| Género: | <i>Prorodon</i> <i>Coleps</i> <i>Trachelophyllum</i> <i>Spathidium</i> <i>Amphileptus</i> <i>Litonotus</i> <i>Acineria</i> | Ordem | Hypotrichida |
| | | Género: | <i>Aspidisca</i> <i>Euplotes</i> <i>Oxytricha</i> <i>Stylonychia</i> |
| S.classe | Hypostomatia | | |

2.1.1 – Flagelados

Os pequenos flagelados heterotróficos (*Bodo*, *Polytoma* e *Tetramitry*) estão normalmente presentes em quantidade na fase de arranque do sistema, quando os flocos ainda não se encontram devidamente formados, entrando continuamente com o afluente. Estes, alimentam-se de bactérias dispersas e com o tempo são substituídos pelos ciliados bacteriófagos, quer devido à competição que estabelecem com estes quer por estarem sujeitos à predação pelos ciliados carnívoros.

Num sistema com bom funcionamento, a sua presença é limitada a menos de 10 indivíduos contados na diagonal da Câmara de Fuchs-Rosenthal (ver secção 4) (MADONI (1994^b)), isto é densidades menores do que $5 \cdot 10^9$ indivíduos/m³.

Em casos de disfunções (ver Tabela 2.2) o número aumentará para mais do que 10 indivíduos, na referida diagonal, e ocorrerá um decréscimo da eficiência depurativa.

Quando a densidade sobe para $5 \cdot 10^{11}$ indivíduos/m³, isto é números na ordem dos 100 indivíduos na diagonal, são considerados dominantes na amostra em questão. Os grandes flagelados (*Euglena* e *Peranema*) são menos frequentes nas lammas activadas e a sua presença está geralmente associada a afluentes com baixa carga orgânica.

2.1.2 - Ciliados nadadores

Os ciliados nadadores predominam no tanque de arejamento na fase inicial de tratamento. À medida que a floculação aumenta, são substituídos gradualmente pelos Sésseis, filtradores muito mais eficientes, que ganham a competição pelas bactérias dispersas do licor misto.

No caso dos ciliados nadadores serem o grupo dominante, a qualidade do efluente produzido é, geralmente, má.

Alguns autores (CURDS e COCKBURN (1970)) associam-nos a cargas elevadas no tanque de arejamento.

Os pequenos ciliados predominam quando a permanência no tanque de arejamento é breve ou quando a oxigenação é deficiente (ver Tabela 2.2).

Embora estes pequenos ciliados apresentem maior resistência à carência de oxigénio ou à entrada de compostos tóxicos que outros componentes da microfauna, necessitam de elevadas densidades bacterianas para sobreviverem.

2.1.3 - Ciliados móveis de fundo e sésseis

Devido ao facto de ocuparem nichos ecológicos diferentes e não haver competição entre si, a sua coexistência é possível apesar da relação entre as suas abundâncias variar com a carga orgânica do afluente. Assim, são estes dois grupos que geralmente partilham a dominância da microfauna nas lammas activadas.

Os móveis de fundo tendem a apresentarem uma diminuição das suas densidades em presença de elevada carga orgânica, enquanto que os sésseis apresentam uma maior resistência.

2.1.3 - Ciliados sésseis

Analisando a Tabela 2.2 verifica-se que a presença dominante de apenas este grupo leva a diferentes situações dependendo da espécie ou espécies presentes.

Se espécies do género *Opercularia* dominam a microfauna, há geralmente elevadas CBO's do afluente ou cargas demasiado elevadas no tanque de arejamento. Por exemplo a *O. coarcata* pode ser a única espécie presente em estações que tratam esgotos contendo sais metálicos, mas a presença desta espécie, por si só, não é indicadora de mau funcionamento do sistema ou baixa qualidade do efluente.

A *Vorticella microstoma*, indicadora de carência de oxigénio no tanque de arejamento, é uma espécie frequente na fase de colonização das lammas activadas, sendo substituída posteriormente pela *V. convallaria*. A alternância entre as duas espécies nas lammas indica geralmente uma prolongada redução da concentração de oxigénio no tanque de arejamento. A *V. convallaria* é muito menos resistente à depleção em oxigénio.

2.1.4 - Amibas com teca

As *Arcella*, *Diffugia* e *Euglypha* são os três géneros mais frequentes nas lamas activadas. São indicadores de boas condições de nitrificação e aparecem sobretudo em lamas com pouca matéria orgânica, com elevada concentração de oxigénio no tanque de arejamento e em lamas com grandes tempos de retenção.

2.1.5 – Outros organismos

No tanque de arejamento surgem ainda os Metazoários, que são animais pluricelulares, alimentando-se de protozoários e bactérias. Estes têm uma maior complexidade biológica que os protozoários e o seu ciclo reprodutivo é mais lento. Assim, a sua presença nas lamas activadas é limitada apenas a algumas formas mais simples e com tempos de gestação menores que a idade das lamas. Nos sistemas de arejamento prolongado (oxidação total), a sua presença é usual.

As espécies que, devido a estas causas, aparecem no tanque de arejamento são principalmente os Rotíferos e os Nemátodos. Outras formas como crustáceos, larvas de insectos, etc. são apenas observadas raramente, pois entram com o afluente e não têm possibilidades de reprodução pelas causas atrás citadas.

3 - Índice Biótico das Lamas (SBI)

Vários índices bióticos têm sido desenvolvidos com o intuito de se quantificar o grau de poluição em ecossistemas aquáticos.

Em 1980, Woodiwiss desenvolveu o EBI (“Extended Biotic Index”) usado nos rios e baseado em macroinvertebrados, sendo um dos índices mais usados na Europa.

A análise de rotina da microfauna, como indicadora da performance das instalações das lamas activadas, tem-se tornado cada vez mais comum pois fornece informações bastante úteis sobre a actividade biológica das lamas baseada na estrutura da comunidade microbiana presente.

Apesar das vantagens, muitos dos métodos de análises microbiológicas e índices usados são subjectivos pois não se baseiam em cálculos rigorosos (SALVADÓ *et al* (1995)).

Após vários anos de estudo, Madoni propõe um índice objectivo - o Índice Biótico das Lamas (“Sludge Biotic Index” - SBI) (MADONI (1994^a)). Inspirado no EBI de Woodiwiss, o método baseia-se na abundância e na diversidade específica da comunidade e nas diferentes sensibilidades reveladas por alguns grupos da microfauna aos factores físico-químicos prevalentes no sistema.

A aplicabilidade deste método às estações de tratamento biológico de águas residuais por lamas activadas foi testada em quarenta e cinco estações durante um ano e a microfauna utilizada neste Índice tem uma distribuição cosmopolita permitindo a sua utilização em estações de tratamento biológico de águas residuais por lamas activadas de diferentes áreas geográficas. Uma das vantagens do SBI, reside no facto da avaliação ser feita através de valores numéricos, o que permite ao operador comparar a qualidade biológica das lamas no tanque de arejamento ao longo do tempo e, conseqüentemente, as condições operacionais da estação em causa. Não deve esquecer-se, contudo, o facto do SBI avaliar apenas o funcionamento da estação ao nível do tanque de arejamento, não permitindo inferir sobre a qualidade do tratamento ao nível do tanque de sedimentação secundária, mesmo se eventuais problemas a este nível vierem a causar variações na estrutura da microfauna (MADONI (1994^a)).

3.1 – Cálculo do SBI

O Índice é calculado com base numa tabela de duas entradas (Tabela 3.1). A entrada vertical é feita tendo em consideração a riqueza específica da amostra e o número de pequenos flagelados na diagonal da Câmara de Fuchs-Rosenthal. Na coluna da direita estão distribuídos os diversos grupos da microfauna associados a uma decrescente qualidade biológica das lamias. Na entrada horizontal é tomado em consideração o grupo dominante no tanque de arejamento e, depois, a densidade total da microfauna ($>$ ou $< 10^9$ indivíduos/m³). Se dois ou mais grupos compartilham a dominância da amostra, escolhe-se o grupo que ocupa a posição mais baixa na tabela (MADONI (1994^b)).

Tabela 3.1 - Tabela de duas entradas para o cálculo do SBI (S - nº de espécies da microfauna, excluindo os flagelados e F - nº pequenos flagelados na diagonal da Câmara de Fuchs-Rosenthal)

| Grupo | Densidade (ind/l) | S>10 | | 8≤S≤10 | | 5≤S≤7 | | S<5 | |
|--|----------------------|------|----------|--------|----------|-------|----------|------|----------|
| | | F<10 | 10<F<100 | F<10 | 10<F<100 | F<10 | 10<F<100 | F<10 | 10<F<100 |
| Ciliados Móveis de Fundo + Sésseis* e/ou Amibas com Teca | ≥ 10 ⁶ | 10 | 8 | 9 | 7 | 8 | 6 | 7 | 5 |
| | < 10 ⁶ | 9 | 7 | 8 | 6 | 7 | 5 | 6 | 4 |
| Ciliados Sésseis* > 80% | ≥ 10 ⁶ | 9 | 7 | 8 | 6 | 7 | 5 | 6 | 4 |
| | < 10 ⁶ | 8 | 6 | 7 | 5 | 6 | 4 | 5 | 3 |
| <i>Opercularia</i> spp. | ≥ 10 ⁶ | 7 | 5 | 6 | 4 | 5 | 3 | 4 | 2 |
| | < 10 ⁶ | 6 | 4 | 5 | 3 | 4 | 2 | 3 | 1 |
| <i>Vorticella microstoma</i> | ≥ 10 ⁶ | 6 | 4 | 5 | 3 | 4 | 2 | 3 | 1 |
| | < 10 ⁶ | 5 | 3 | 4 | 2 | 3 | 1 | 2 | 0 |
| Ciliados Nadadores | ≥ 10 ⁶ | 5 | 3 | 4 | 2 | 3 | 1 | 2 | 0 |
| | < 10 ⁶ | 4 | 2 | 6 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| Peq. Flagelados (>100%) | ≥ 10 ⁶ | 4 | | 3 | | 2 | | 1 | |
| | < 10 ⁶ | 3 | | 2 | | 1 | | 0 | |

* *Opercularia* spp. e *Vorticella microstoma* não dominantes.

O valor do SBI é determinado pela intersecção da coluna e da linha seleccionadas, obtendo-se um valor numérico entre 1 e 10 e estes valores são agrupados em quatro classes de qualidade biológica das lamias que permitem, por sua vez, quatro diferentes graus de eficiência para avaliação do funcionamento do sistema (Tabela 3.2) (MADONI (1994^b)).

Tabela 3.2 - Conversão do valor do SBI em classes de qualidade biológica das lamias activadas e avaliação da eficiência depuradora do tratamento

| Valor SBI | Classe | Avaliação |
|------------------|---------------|--|
| 8 - 10 | I | lamas bem colonizadas e estáveis; actividade biológica óptima; elevada eficiência depuradora |
| 6 - 7 | II | lamas bem colonizadas e estáveis; actividade sub-optimal; eficiência depuradora suficiente |
| 4 - 5 | III | actividade biológica insuficiente; eficiência depuradora medíocre |
| 0 - 3 | IV | actividade biológica muito baixa; eficiência depuradora baixa |

3.2 – Metodologia de amostragem e de observação microscópica

O SBI baseia-se na diversidade e densidade da microfauna, devendo ser dada particular atenção à identificação e contagem dos organismos que a compõem. Assim é extremamente importante que se sigam correctamente as indicações descritas seguidamente.

3.2.1 - Amostragem

As amostras de lamas activadas do tanque de arejamento, devem ser recolhidas em pontos bastantes homogeneizados, devendo-se evitar locais vizinhos das paredes do tanque (zonas mortas), locais vizinhos do sistema de arejamento, locais com espumas e locais vizinhos dos pontos de inserção de lamas recicladas.

Estas amostras devem, ainda, ser recolhidas a cerca de meia profundidade do tanque, devendo haver o cuidado de apenas iniciar colheita de licor misto a esta profundidade. Para tal, poderá ser usado um sistema de amostragem que consiste numa vara de metal com cerca de 2,5 m e com um suporte na base onde se prende um frasco de recolha. O frasco é mergulhado fechado e, quando se atinge a profundidade pretendida, a tampa é puxada permitindo assim a entrada do licor misto apenas no ponto pretendido.

Para a análise microscópica das lamas apenas é necessário cerca de 1 litro de licor misto.

3.2.2 – Transporte da amostra

A actividade biológica das lamas é elevada e, normalmente, o oxigénio dissolvido no licor misto é completamente usado para a actividade metabólica dos microrganismos num curto espaço de tempo (20-30 minutos). Assim, quando as amostras são recolhidas para observação imediata não é necessário o uso de arejadores portáteis, uma vez que o ar que se encontrava no frasco (que deverá estar semi-cheio) será suficiente para precaver situações de anóxia durante o transporte.

No caso em que o tempo de espera para análise se prolonga para além dos 20 minutos, dever-se-á recorrer ao arejamento e refrigeração da amostra.

3.2.3 – Observação microscópica

A análise deve ser feita logo após a recolha ou, no máximo, nas 5 horas que a precedem, de maneira a evitar quer uma elevada mortalidade de algumas espécies quer, pelo contrário, o crescimento de outras. O arejamento prolongado também poderá influenciar a análise.

Antes da observação, as amostras devem ser bem agitadas para serem representativas. Seguidamente, usando uma pipeta de Pasteur, coloca-se uma gota com cerca de 0,5 ml de licor misto numa lâmina de vidro, cobrindo-se a zona com uma lamela de 24×24 mm, e analisa-se ao microscópio óptico de contraste de fase usando a ampliação de 100×.

Esta primeira identificação das formas de vida é designada por rastreio e deve ser feito pelo menos uma ou duas vezes por amostra., já que fornece o número de unidades sistemáticas da microfauna (nº espécies) necessário para o cálculo do SBI. A identificação das espécies presentes é feita recorrendo a chaves de classificações de protozoários. Por vezes torna-se necessário recorrer ao uso de ampliações maiores (200× e 400×) para uma correcta identificação taxonómica.

Apesar do grande número de microrganismos presentes nas lamas activadas, alguns não são contabilizados neste método, tais como amibas nuas, algas, crustáceos e insectos. Os microrganismos que se incluem são os grandes e pequenos flagelados, os ciliados, as amibas com teca, rotíferos, nemátodos e gastrotríquios.

Apenas são contabilizadas como espécies presentes as espécies em que se observam pelo menos 2 indivíduos durante o rastreio ou pelo menos uma vez durante a contagem microscópica.

A identificação das várias espécies de protozoários é muito importante para se obter um valor exacto do SBI.

3.2.4 - Contagem microscópica

Após a identificação das várias espécies e grupos presentes na amostra, estima-se a sua abundância relativa, quer das unidades taxonómicas (grupos, géneros ou espécies conforme os microrganismos), quer dos grupos funcionais (sésseis, nadadores e móveis de fundo dentro dos ciliados bacteriofagos). Para tal efectua-se contagens dos microrganismos presentes num volume conhecido de cada amostra do seguinte modo:

- com uma micropipeta automática de volume variável (0 a 50 µl), retiram-se 25 µl da amostra e colocam-se numa lâmina de vidro cobrindo em seguida com uma lamela de 18×18 mm (lamelas de maiores dimensões favorecem uma mais rápida evaporação da amostra);
- coloca-se a amostra no microscópio óptico de contraste de fase, sendo usada a ampliação de 100× para contar o número de indivíduos de cada espécie identificada no rastreio; esta contagem é feita da esquerda para a direita, seguindo o trajecto indicado na Figura 3.1;

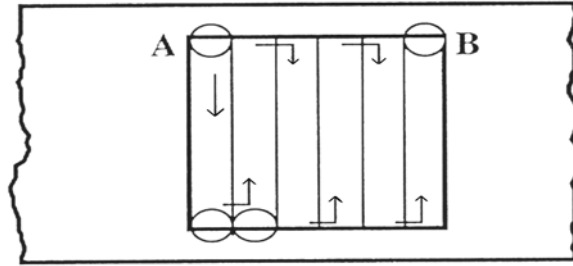


Figura 3.1. Esquema representativo do procedimento correcto de contagem da microfauna (os círculos representam o campo de visão ao microscópio e partindo da posição **A**, inspecciona-se toda a lâmina, seguindo o percurso indicado até à posição final **B**).

- repete-se a contagem com nova preparação da mesma amostra, devidamente homogeneizada;
- determina-se para cada espécie ou grupo, o nº indivíduos/ml de lama activada;
- para estimar a abundância de pequenos flagelados, necessária para o método do cálculo do SBI, usa-se uma câmara de Fuchs-Rosenthal de 3,2 μ l. Esta consiste numa célula de contagem quadrangular, com dois reticulados de 16 \times 16 quadrículas de 250 μ m de lado. Assim colocam-se duas gotas de amostra, uma sob cada reticulado da câmara, e contam-se os pequenos flagelados que se encontram dentro ou sob as 16 quadrículas (0,2 μ l) que formam cada uma das diagonais desta câmara. A ampliação a usar deve ser a de 200 \times (ver Figura 3.2);
- por fim, calcula-se a dominância considerando os seguintes grupos: sésseis, amibas com teca, móveis de fundo, ciliados nadadores e pequenos flagelados (entrada vertical da Tabela 3.1).

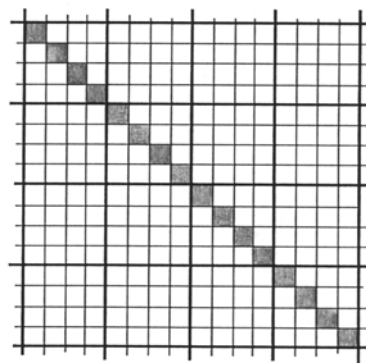


Figura 3.2. Esquema da câmara de Fuchs-Rosenthal para a contagem de pequenos flagelados (a cinza estão marcadas as 16 quadrículas da diagonal).

Durante a contagem não são contabilizados indivíduos mortos, formas móveis de ciliados coloniais (Telotropos), ciliados nadadores que entram no campo de visão provenientes de zonas já contabilizadas e deverá ser feita uma terceira contagem quando surgirem elevado número de ciliados coloniais numa das contagens e poucos na sua réplica, procedendo-se em seguida ao cálculo de uma média das três contagens.

Com os dados adquiridos e de acordo com as Tabelas 3.1 e 3.2, calcula-se o SBI e a classe de qualidade biológica das lamas activadas para as várias amostras.

BIBLIOGRAFIA

- AGAC - *Atlante Fotografico - Guida all'Analisi Microscopica del Fango Attivo*. Reggio Emilia. Università degli Studi di Parma, 1996.
- COLIN, R.; CURDS, DSc. - *Protozoa and the Water Industry*. Cambridge University Press, 1992.
- CURDS, C.R.; COCKBURN, A. - "Protozoan in Biological Sewage Processes II Protozoa as indicator in the activated sludge process", *Wat. Res.*, vol. 4; 1970; pp 237-249.
- DGSB - DIRECÇÃO GERAL DO SANEAMENTO BÁSICO, Centro Tecnológico, - CAES - *Curso de Actualização em Engenharia Sanitária*. Módulo 4 - Tratamento de águas residuais - Lamas activadas; 1978.
- GRAY, N. F. - *Activated Sludge - Theory and Practice*. Oxford University Press; Trinity College - University of Dublin; 1990.
- JAHN, T. L.; BOVEE, E. C.; JAHN, F. F. "How to Know the Protozoa", 2nd edition. *The Pictured Key Nature Series*. Wm. C. Brown Company Publishers. Dubuque, Iowa; 1979.
- MADONI, P. - "A Sludge Biotic Index (SBI) for the Evaluation of the Biological Performance of Activated Sludge Plants based on the Microfauna Analysis", *Wat. Res.* vol. 28; nº 1; 1994^a, pp 67-75.
- MADONI, P. - "La Microfauna nell'Analisi di Qualità Biologica dei Fanghi Attivi - Indice Biotico del Fango: SBI", *Manuale di Applicazione*; Azienda Gas Acqua Consorziale di Reggio Emilia; Università degli Studi di Parma; 1994^b.
- METCALF & EDDY - "Wastewater Engineering: treatment, disposal and reuse"; 3rd edition; McGraw-Hill International Editions; 1991.
- NICOLAU, A.P.M.R.C. - *Monitorização Microbiológica da Poluição: uso das respostas fisiológica e ecológica de protistas*. Tese de doutoramento; Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho; 2002.
- NICOLAU, A.; MARTINS, M.J.; MOTA, M.; LIMA, N. - "Estudo da Comunidade de Protozoários Exposta a Tóxicos em Estações de Tratamento de Águas Residuais", *6ª Conferência Nacional sobre a Qualidade do Ambiente*; vol. 2, 1999, pp. 659-668.
- NICOLAU, A.; LIMA, N.; MOTA, M.; MADONI, P. - "Os Protozoários como Indicadores da Qualidade Biológica das Lamas Activadas", *Boletim de Biotecnologia*; 1996.
- SALVADÓ, H.; GRACIA, M. P.; AMIGÓ, J. M.. "Capability of Ciliated Protozoa as Indicators of Effluent Quality in Activated Sludge Plants". *Wat. Res.* vol. 29; nº 4; 1995, pp 1041-1050.