



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro de Tecnologia e Ciências

Faculdade de Engenharia

Joana Miloski

**Caracterização da microbiota envolvida nos processos aeróbios (lodos
ativados) e anaeróbios (UASB) de uma indústria de alimentos**

Rio de Janeiro

2015

Joana Miloski

Caracterização da microbiota envolvida nos processos aeróbios (lodos ativados) e anaeróbios (UASB) de uma indústria de alimentos

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Saneamento Ambiental – Controle da Poluição Urbana e Industrial.

Orientador: Prof. Dr. Gandhi Giordano

Coorientador: Prof. Dr. Roberto Júnio Pedroso Dias

Rio de Janeiro

2015

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC/B

M661 Miloski, Joana.

Caracterização de microbiota envolvida nos processos aeróbios (lodos ativados) e anaeróbios (UASB) de uma indústria de alimentos / Joana Miloski. - 2015.

96 f.

Orientador: Gandhi Giordano.

Coorientador: Roberto Júnio Pedroso Dias.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Engenharia.

1. Engenharia Ambiental. 2. Alimentos -- Indústria -- Aspectos ambientais – Dissertações. 3. Águas residuais -- Purificação -- Processo de lodo ativado -- Dissertações. I. Giordano, Gandhi. II. Dias, Roberto Júnio Pedroso. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. III. Título.

CDU 628.356

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Joana Miloski

Caracterização da microbiota envolvida nos processos aeróbios (lodos ativados) e anaeróbios (UASB) de uma indústria de alimentos

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Saneamento Ambiental – Controle da Poluição Urbana e Industrial.

Aprovada em 10 de abril de 2015.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Gandhi Giordano (Orientador)

Faculdade de Engenharia - UERJ

Profa. Dra. Márcia Marques Gomes

Faculdade de Engenharia - UERJ

Dr. Marcus Vinícius Xavier Senra

Instituto de Ciências Biológicas - UFJF

Rio de Janeiro

2015

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer aos meus pais, Fátima e Alexandre, pelo incentivo, apoio e carinho de sempre. Agradeço ao meu irmão, Bernardo, pela ajuda e paciência. Agradeço ao Bruno pelo companheirismo, compreensão, incentivo e ajuda essencial nas coletas. Amo vocês!

Agradeço ao Gandhi, por me orientar e me motivar. Ao Roberto, por estar comigo desde a ideia inicial do projeto, por ter acreditado no meu trabalho e por estar sempre disposto a contribuir. À Dionéia, por me receber com tanto carinho em seu laboratório e, gentilmente, me ensinar muito sobre técnicas moleculares e também sobre relações humanas. Vocês foram fundamentais para a conclusão do meu trabalho.

Aos professores do PEAMB, em especial professor João e professora Daniele por me darem a oportunidade de trabalhar no LES e adquirir experiência prática na área.

Aos amigos que fiz no PEAMB, em especial Leila, Cláudia, Moisés, Fabrício, Amanda, Tati, Ju, Giselle, Thaís e Dani Prates, pelas conversas, risadas e incentivo, vou levar vocês para sempre na vida.

Ao pessoal do LEBIOMM por me receber tão bem e fazer com que eu me sentisse “em casa”.

Aos funcionários da TECMA, em especial João Paulo, por estar sempre disposto a ajudar.

Aos amigos e familiares por estarem sempre vibrando com o meu crescimento.

A todos vocês, meu muito obrigada, de coração.

RESUMO

MILOSKI, Joana. *Caracterização da microbiota envolvida nos processos aeróbios (lodos ativados) e anaeróbios (UASB) de uma indústria de alimentos*. 2015. 96f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

O aumento da concentração de nutrientes nos corpos receptores, principalmente nitrogênio e fósforo oriundos de efluentes sanitários e industriais pode gerar o fenômeno da eutrofização. Para que isto não ocorra é necessário que este efluente passe por um tratamento adequado, no entanto, o papel desempenhado por diversos grupos de microrganismos encontrados nos sistemas de tratamento de efluentes não é completamente compreendido devido à complexidade das interações. Este trabalho teve como objetivo caracterizar a estrutura e dinâmica da comunidade microbiana (bactérias envolvidas no ciclo do nitrogênio e microfauna) e avaliar a atividade biológica dos reatores aeróbio e anaeróbio de uma indústria de alimentos. Os parâmetros físico-químicos da estação de tratamento foram monitorados, bem como foi feita a avaliação da estrutura e dinâmica da comunidade bacteriana envolvida no ciclo do nitrogênio por meio da técnica de Hibridização *in situ* Fluorescente. A microfauna do reator aeróbio foi caracterizada e classificada conforme o Índice Biótico do Lodo. A atividade biológica do lodo foi avaliada através do Teste de Respirometria e foram feitas correlações entre a microbiota encontrada no reator aeróbio e parâmetros físico-químicos. Os parâmetros físico-químicos analisados estiveram dentro dos limites permitidos pelas legislações federais e estaduais e os parâmetros Demanda Bioquímica de Oxigênio, Demanda Química de Oxigênio e Nitrogênio Kjeldahl foram reduzidos de 99,8%, 99,6% e 74,9%, respectivamente. Foi possível observar a presença tanto de bactérias oxidadoras de nitrito quanto de amônia em ambos os reatores analisados, bem como em cada ponto de coletas dentro dos reatores. A bactéria *Pseudomonas fluorescens* também ocorreu em todos os pontos de coleta dos dois reatores. Dentre os grupos que compõem a microfauna do lodo ativado, os ciliados rastejantes foram os mais frequentes, seguido pelas tecamebas, rotíferos, ciliados sésseis, ciliados livre natantes, flagelados e outros invertebrados. Além disso, não houve diferença entre as densidades dos grupos encontradas nos Pontos 1 e 2 do reator aeróbio e o Índice Biótico do Lodo encontrado foi igual a 8 (classe I). A semelhança apresentada entre a Taxa de Consumo de Oxigênio dos pontos 1 e 2, bem como a Taxa de Consumo de Oxigênio específica entre os pontos 1 e 2 sugere que o oxigênio é distribuído de forma homogênea dentro do tanque de aeração, fazendo com que os microrganismos tenham condições semelhantes de crescimento. Os ciliados livre natantes apresentaram correlação positiva com a DQO e DBO₅ e os ciliados sésseis apresentaram correlação negativa com a DQO e com a DBO₅. Os rotíferos apresentaram correlação negativa com Sólidos Suspensos Voláteis do reator aeróbio. Os ciliados rastejantes, tecamebas e rotíferos apresentaram correlação positiva com a microfauna total encontrada no reator aeróbio. Os ciliados livre natantes apresentaram correlação negativa com os ciliados sésseis, bactérias totais, *Nitrobacter* e outras bactérias; e correlação positiva com outros invertebrados. Os flagelados apresentaram correlação negativa com as bactérias totais, enquanto as outras bactérias apresentaram correlação positiva. Os outros invertebrados apresentaram correlação negativa com *Nitrobacter*.

Palavras-chave: Indústria de alimentos; Lodos Ativados; UASB; Microbiota; FISH; Índice Biótico do Lodo.

ABSTRACT

MILOSKI, Joana. *Characterization of microbiota involved in aerobic (activated sludge) and anaerobic (UASB) processes in a food industry*. 2015. 96f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

The increasing concentration of nutrients in receiving water bodies, especially nitrogen and phosphorus originating from domestic and industrial effluent discharges can cause eutrophication. In order to avoid that, the effluents must be properly treated for nutrients removal in wastewater treatment plants prior discharge. However, the role played by various groups of microorganisms found in wastewater treatment systems is not completely understood due to the complexity of interactions. This study aimed to characterize the structure and dynamics of microbial community (with focus on bacteria involved in the nitrogen cycle and microfauna) and evaluate the biological activity of aerobic and anaerobic reactors for wastewater treatment operated at a food industry. The physical and chemical parameters of the treatment plant were monitored. At the same time, hybridization *in situ* fluorescent assessed the structure and dynamics of bacterial community involved in the nitrogen cycle. The microfauna in the aerobic reactor were characterized and classified according to the Sludge Biotic Index. The sludge biological activity was assessed by respirometry assays and correlations were made between the microbiota found in the aerobic reactor and selected physicochemical parameters. The physical and chemical parameters analysed complied with the limits allowed by the federal and state regulations and parameters Biochemical Oxygen Demand (BOD), Chemical Oxygen Demand (COD) and Kjeldahl nitrogen were reduced 99.8%, 99.6% and 74.9%, respectively. It was found the presence of both nitrite-oxidizing and ammonia-oxidizing bacteria in both reactors and in each sampling point within the reactors. *Pseudomonas fluorescens* bacteria also occurred in all collection points of both reactors. Among the microorganism groups observed in the activated sludge, crawling ciliates were the most frequent, followed by tecamoebians, rotifers, ciliates sessile, free natant ciliates, flagellates and other invertebrates. In addition, there was no difference between the densities of the groups found in Points 1 and 2 in the aerobic reactor and the Sludge Biotic Index was found equal to 8 (class I). The similarity between the presented Oxygen Consumption Rate of items 1 and 2 as well as the Oxygen Consumption Rate particularly between points 1 and 2 suggest that oxygen is distributed evenly within the aeration tank, causing the microorganisms to have similar growth conditions. The free natant ciliates were positively correlated with COD and BOD₅ and sessile ciliates showed a negative correlation with the COD and the BOD₅. Rotifers were negatively correlated with Suspended Volatile Solids in the aerobic reactor. Crawling ciliates, rotifers and the tecamoebians were positively correlated with the total microorganisms found in the aerobic reactor. The free natant ciliates showed a negative correlation with the sessile ciliates, total bacteria, *Nitrobacter* and other bacteria and a positive correlation with other invertebrates. The flagellates were negatively correlated with the total bacteria, while other bacteria were positively correlated. The other invertebrates showed a negative correlation with *Nitrobacter*.

Keywords: Food industry; Activated Sludge; UASB; microbiota; FISH; Biotic Index Sludge.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Curva de crescimento microbiano.....	24
Figura 2 -	Sucessão dos microrganismos em função do tempo dentro de um tanque de aeração.....	28
Figura 3 -	O ciclo do nitrogênio.....	33
Figura 4 -	Esquema representando as etapas da ETE da indústria de alimentos estudada.....	40
Figura 5 -	Pontos de coleta do reator anaeróbio.....	41
Figura 6 -	A) Ponto 1 de coleta no reator aeróbio e decantador ao lado; B) Ponto 2 de coleta no reator aeróbio.....	41
Figura 7 -	A) Câmara de contagem Fuchs-Rosenthal; B) Câmara de contagem Sedgwick-Rafter.....	45
Figura 8 -	Aparato para o Teste de Respirometria.....	48
Figura 9 -	Fotomicrografias <i>in vivo</i> de protistas ciliados rastejantes encontrados no lodo do reator aeróbio. A-B: <i>Euplotes</i> sp. 1; C-D: <i>Euplotes</i> sp. 2; E-F: <i>Aspidisca</i> sp. Barras = A-D: 50 μ m; E-F: 20 μ m.....	62
Figura 10 -	Fotomicrografias <i>in vivo</i> de protistas ciliados sésseis encontrados no lodo do reator aeróbio. A-B. <i>Vorticella</i> sp.; C. Telotróquio de um ciliado da subclasse Peritrichia (<i>Vorticella</i>); D-F, H. Suctoria morfotipo 1 (ciliado com tentáculos); G. Suctoria morfotipo 2. Barras = A-B. 20 μ m; C-H 50 μ m.....	63
Figura 11 -	Fotomicrografias <i>in vivo</i> de protistas ciliados livre natantes, tecamebas (amebas com carapaça) e micrometazoários encontrados no lodo do reator aeróbio. A. <i>Litonotus</i> sp. (Ciliophora); B. Ciliado não identificado; C. Tecameba do gênero <i>Arcella</i> ; D. Tecameba do gênero <i>Euglypha</i> ; E. Rotífero (Metazoa); F. Anelídeo (Metazoa). Barras = A-B. 10 μ m; C, E, F. 50 μ m; D. 20 μ m.....	64

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Decaimento da DQO e DBO ₅ ao longo do sistema de tratamento de efluentes da indústria de alimentos no período de coleta.....	51
Gráfico 2 -	Densidade bacteriana (10 ⁶ cél./mL) do número total (DAPI) e dos grupos <i>Nitrobacter</i> (NIT 3), Nitrosomonadaceae (NSO), Nitrospiraceae (Ntspa) e <i>P. fluorescens</i> (PsAg), nos três pontos de coleta do reator anaeróbio ao longo dos dias de coleta.....	54
Gráfico 3 -	Densidade bacteriana (10 ⁶ cél./mL) do número total (DAPI) e dos grupos <i>Nitrobacter</i> (NIT 3), Nitrosomonadaceae (NSO), Nitrospiraceae (Ntspa) e <i>P. fluorescens</i> (PsAg), nos dois pontos do tanque de aeração ao longo dos dias de coleta.....	56
Gráfico 4 -	Densidade bacteriana (10 ⁶ cél./mL) do número total (DAPI) e dos grupos <i>Nitrobacter</i> (NIT 3), Nitrosomonadaceae (NSO), Nitrospiraceae (Ntspa) e <i>P. fluorescens</i> (PsAg), nos dois sistemas estudados (anaeróbio e aeróbio).....	57
Gráfico 5 -	Densidade de cada grupo da microfauna encontrada nos dois pontos de coleta do reator aeróbio.....	60
Gráfico 6 -	Dominância, diversidade, riqueza e equitabilidade dos protozoários e micrometazoários encontrados nos dois pontos do tanque de aeração.....	60
Gráfico 7 -	Densidade (10 ⁶ ind./mL) dos grupos da microfauna no reator aeróbio ao longo do período amostral.....	61
Gráfico 8 -	Consumo de O ₂ ao longo do tempo nos pontos 1 e 2 do tanque de aeração.....	66
Gráfico 9 -	Densidade dos protozoários e micrometazoários (10 ⁶ ind./mL) em relação à densidade das bactérias (10 ⁶ cél./mL) observadas no reator aeróbio.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sequência e especificidade das sondas utilizadas no ensaio de Hibridização <i>in situ</i> Fluorescente (FISH).....	44
Tabela 2 - Tabela de duas entradas para cálculo do IBL, baseada nos grupos dominantes, densidade e número de unidades taxonômicas da microfauna.....	46
Tabela 3 - Conversão do valor de IBL em classes de qualidade biológica do lodo e avaliação da eficiência depuradora do tratamento.....	46
Tabela 4 - Classificação das correlações.....	49
Tabela 5 - Temperatura (°C), Concentração de Nitrogênio Total, de Nitrato e de Nitrito em mg/L do efluente tratado da ETE da indústria de alimentos durante o período de coleta.....	50
Tabela 6 - Sólidos suspensos totais e Sólidos suspensos voláteis em mg/L do Reator Aeróbio da ETE da indústria de alimentos durante o período de coleta.....	50
Tabela 7 - Valores do pH medido no efluente bruto, saída do tratamento primário, saída do reator anaeróbio, tanque de aeração, saída do reator aeróbio e efluente tratado da ETE da indústria de alimentos durante o período de coleta.....	51
Tabela 8 - Concentração e eficiência de redução da DBO ₅ e DQO no efluente bruto e tratado e Fósforo Total e Nitrogênio Kjeldahl na saída do UASB e do efluente tratado da ETE da indústria de alimentos no período de coleta.....	52
Tabela 9 - Densidade (10 ⁶ cél./mL) das bactérias analisadas nos três pontos de coleta do reator anaeróbio.....	52
Tabela 10 - Densidade (10 ⁶ cél./mL) das bactérias analisadas nos dois pontos de coleta do reator aeróbio.....	55
Tabela 11 - Frequência relativa e densidade dos grupos componentes da microfauna presente no lodo ativado do reator aeróbio.....	58
Tabela 12 - Frequência relativa dos microrganismos nos dois pontos do reator aeróbio.....	59
Tabela 13 - Índices ecológicos apresentados por dia nos dois pontos de coleta do reator aeróbio.....	61
Tabela 14 - Resultados dos testes estatísticos para TCO e TCOe no reator aeróbio.....	65

Tabela 15 - Correlações entre ciliados livre natantes, ciliados sésseis e rotíferos com DBO ₅ e DQO do efluente tratado e SSV do tanque de aeração.....	66
Tabela 16 - Correlações entre a microfauna e a comunidade bacteriana encontrada no reator aeróbio.....	67
Tabela 17 - Temperatura, O. G., Materiais sedimentáveis, N. total e Nitrato no efluente tratado.....	87
Tabela 18 - SST e SSV no tanque de aeração.....	87
Tabela 19 - Resultados do pH medidos no efluente bruto, saída do tratamento primário, saída do UASB, tanque de aeração, saída do aeróbio e efluente tratado.....	88
Tabela 20 - Resultados da DBO ₅ medida no efluente bruto, saída do tratamento primário, saída do UASB, tanque de aeração, saída do aeróbio e efluente tratado.....	88
Tabela 21 - Resultados da DQO medida no efluente bruto, saída do tratamento primário, saída do UASB, tanque de aeração, saída do aeróbio e efluente tratado.....	88
Tabela 22 - Resultados do Fósforo Total medido na saída do UASB e efluente tratado.....	89
Tabela 23 - Resultados do Nitrogênio Kjeldahl medido na saída do UASB e efluente tratado.....	89
Tabela 24 - Densidade de bactérias (10 ⁶ cél./mL) para cada sonda específica, encontrada em cada ponto dos sistemas estudados.....	90
Tabela 25 - Densidade de microrganismos (10 ⁶ ind./mL) encontrados no lodo dos dois pontos de coleta do reator aeróbio.....	91
Tabela 26 - Resultados do Teste de Respirimetria.....	92

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANAMMOX	<i>Anaerobic Ammonium Oxidation</i> – Oxidação anaeróbia da amônia
AOB ou BOA	<i>Ammonia-oxidizing Bacteria</i> - Bactérias Oxidadoras de Amônia
Ca ²⁺	Íon Cálcio
CANON	<i>Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite</i>
CO ₂	Gás carbônico
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DQO	Demanda química de oxigênio
ETE	Estação de Tratamento de Efluentes
FISH	<i>Fluorescence in situ Hybridization</i> - Hibridização <i>in situ</i> Fluorescente
IBL	Índice biótico do lodo
Mg ²⁺	Íon Magnésio
N ₂	Nitrogênio gasoso
N ₂ O	Óxido nitroso
NH ₃ e NO ₄ ⁺	Nitrogênio amoniacal
NO	Óxido nítrico
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO ₃ ⁻	Nitrato
NOB ou BON	<i>Nitrite-Oxidizing Bacteria</i> - Bactérias Oxidadoras de Nitrito
NTK	Nitrogênio Kjeldhal
OD	Oxigênio dissolvido
OG	Óleos e graxas
OLAND	<i>Oxygen limited autotrophic nitrification and denitrification</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> - Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial hidrogeniônico
rDNA	DNA ribossomal
RNA	Ácido ribonucleico
SHARON	<i>Single reaction high activity over nitrite</i>
spp	Mais de uma espécie
SST	Sólidos suspensos totais
SSV	Sólidos suspensos voláteis

TCO	Taxa de consumo de oxigênio
TCOe	Taxa de consumo de oxigênio específico
TRH	Tempo de retenção hidráulica
UASB	Reator anaeróbico de fluxo ascendente com manta de lodo

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	15
Objetivos.....	17
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
1.1 A Indústria de Alimentos e seu efluente	19
1.2 Reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB)	20
1.3 Lodos ativados	21
1.3.1 <u>Microbiologia de lodos ativados</u>	22
1.4 Remoção biológica do Nitrogênio	30
1.5 A utilização de microrganismos no monitoramento do tratamento biológico	33
1.5.1 <u>Hibridização <i>in situ</i> fluorescente (FISH)</u>	34
1.5.2 <u>Índice Biótico do Lodo</u>	35
1.5.3 <u>Respirometria</u>	35
1.6 Legislação Ambiental	37
2. MATERIAL E MÉTODOS	40
2.1 Caracterização da área de estudo	40
2.2 Pontos amostrais	41
2.3 Determinação dos parâmetros físico-químicos	42
2.4 Comunidade bacteriana	43
2.5 Microfauna e Índice Biótico do Lodo	44
2.6 Testes de Respirometria	47
2.7 Análise estatística	48
3. RESULTADOS	50
3.1 Parâmetros físico-químicos	50
3.2 Comunidade bacteriana	52
3.3 Microfauna e Índice Biótico do Lodo	58
3.4 Respirometria	65
3.5 Correlação dos microrganismos com parâmetros físico-químicos	66
3.6 Correlação entre a microfauna e a comunidade bacteriana no reator aeróbio	67
4. DISCUSSÃO	69
5. CONCLUSÕES	76

6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
	REFERÊNCIAS	80
	APÊNDICE 1 – Dados brutos dos parâmetros físico-químicos.....	87
	APÊNDICE 2 – Dados brutos FISH.....	90
	APÊNDICE 3 – Dados brutos IBL.....	91
	APÊNDICE 4 – Dados brutos dos Testes de Respirimetria.....	92

INTRODUÇÃO

O crescimento populacional e econômico tem gerado sérios problemas devido ao grande volume de águas residuárias contaminadas com efluentes industriais e domésticos. Esses efluentes contêm altas cargas de matéria orgânica e contaminantes e, muitas vezes, são lançados no meio ambiente sem o tratamento adequado, causando um desequilíbrio do ecossistema (MARCHINI et al., 2011). Isto se dá devido a variação de pH, temperatura, composição e concentração de cada componente (NASCIMENTO, 1996) e nutriente. A água contaminada torna-se danosa ao consumo humano, à indústria, à agricultura, à pesca, às atividades recreativas, aos animais domésticos e aos selvagens. (MARCHINI et al., 2011).

As atividades humanas têm alterado o ciclo biogeoquímico do nitrogênio, estas atividades antrópicas dobraram a taxa de nitrogênio no ciclo e estes números continuam subindo (VITOUSEK et al., 1997). O aumento da concentração de nutrientes nos corpos receptores, principalmente nitrogênio e fósforo oriundos de efluentes sanitários e industriais, pode gerar o fenômeno da eutrofização. Com a eutrofização ocorre a redução do oxigênio em todos os níveis do corpo receptor devido ao crescimento excessivo de espécies fitoplanctônicas, bactérias e macrófitas aquáticas. Pois este crescimento excessivo dificulta a entrada da luminosidade no sistema, impedindo que ocorra a fotossíntese. Com isso, há um déficit na concentração de oxigênio que leva à morte de peixes e de outros organismos aquáticos por asfixia (DEZZOTI et al., 2011; RICKLEFS, 1996). Esse aumento de matéria orgânica, faz com que aumente a quantidade de bactérias anaeróbias decompositoras que liberam toxinas agravando ainda mais a situação dos ambientes afetados. Esta adição de nutrientes pode causar cargas de nutrientes impróprias e alterar profundamente o equilíbrio natural dos ecossistemas aquáticos (RICKLEFS, 1996).

No meio aquático, o nitrogênio pode ser encontrado nas seguintes formas químicas: nitrogênio molecular (N_2) em equilíbrio entre a água e a atmosfera; nitrogênio orgânico dissolvido e em suspensão; nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) e nitrogênio amoniacal (NH_3 e NH_4^+) (TEIXEIRA, 2006). A determinação da forma predominante do nitrogênio pode fornecer informações sobre o estágio de poluição. Assim, uma poluição recente, caracteriza-se, em geral, pela predominância de nitrogênio nas formas orgânica e amoniacal. Em uma poluição remota, quando em condições aeróbias, o nitrogênio amoniacal passa às formas de nitrito e nitrato, menos tóxicas (BAUNGARTEN, 2001).

Devido à poluição causada pelas diferentes formas de nitrogênio, é de extrema importância que ocorra a nitrificação e desnitrificação de forma eficaz para a remoção deste nutriente. Durante anos os processos de tratamento visaram simplesmente reduzir material particulado em suspensão ou matéria orgânica biodegradável. Posteriormente, a demanda de oxigênio associada à oxidação do nitrogênio amoniacal passou a ser requerida e, conseqüentemente, a nitrificação foi contemplada na concepção das estações de tratamento (DEZOTTI et al., 2011).

Com o tempo verificou-se a necessidade de reduzir não apenas o nitrogênio amoniacal como também as formas inorgânicas oxidadas desse elemento (nitrito e nitrato) e o fósforo. Houve, então, o desenvolvimento de diferentes processos que combinaram ambientes anóxicos e óxicos em diferentes tanques ou em diferentes períodos num mesmo tanque (DEZOTTI et al., 2011).

Além disso, cada vez mais a sociedade tem tomado consciência quanto aos danos causados pelos resíduos líquidos industriais (PARENTE & BARROS e SILVA, 2002) e esse crescimento da poluição tem levado o Estado a adotar leis mais restritivas para o controle do descarte de efluentes líquidos industriais e o mercado consumidor a exigir indústrias mais eficientes na gestão dos recursos naturais. Com isso, as indústrias são forçadas a optar por sistemas de tratamento que garantam efluentes de boa qualidade e por processos produtivos mais eficientes, que demandem um menor consumo de recursos naturais e que gerem menos resíduos (BERANGER, 2009).

Desde a primeira Estação de Tratamento de Esgotos pelo processo de lodos ativados em 1922, diversos pesquisadores (ALMEIDA & MATOS, 2003; BENTO et al., 2005; CURDS, 1982; JARDIM et al., 1997; LEE et al., 2004; MADONI, 1994; OLIVEIRA et al., 2009) têm utilizado a caracterização da microbiota do tanque de aeração como indicadora das condições operacionais e eficiência do sistema. De acordo com Madoni (1994), um bom desempenho do sistema está diretamente relacionado às espécies dominantes no processo. Entretanto, o papel desempenhado por diversos grupos de organismos no processo de purificação em muitos casos não é completamente compreendido (CURDS, 1982) e, na grande maioria, estes dados são subutilizados (BENTO et al., 2005) devido à complexidade das interações. Além disso, a análise microscópica do lodo não integra o programa padrão de análises em estações de tratamento que, em geral, só realizam análises físico-químicas (SILVA & DA-RIN, 2001).

Porém, este cenário tende a mudar com a aplicação de técnicas moleculares em estudos de ecologia microbiana, como exemplo, as baseadas em reação em cadeia da polimerase (PCR) e hibridização *in situ* fluorescente (FISH). Entender os fenômenos que estão acontecendo nos

ambientes de tratamento é fundamental para se compreender suas reais consequências. (MEDEIROS, 2013). Portanto, a investigação da microbiota nas etapas biológicas do tratamento de efluentes é útil, uma vez que análises microscópicas simples correlacionadas com fatores físico-químicos podem indicar as condições operacionais do sistema (ALMEIDA & MATOS, 2003).

Este trabalho visa caracterizar a microbiota presente no sistema de tratamento de efluentes de uma indústria de alimentos a fim de entender o papel desempenhado pelos microrganismos que contribuem para a qualidade do efluente. Sendo que para que este efluente seja lançado no corpo receptor de forma adequada, ele está sendo recirculado do decantador para o reator anaeróbio, onde ocorre a desnitrificação necessária. Sob a hipótese de que os microrganismos do reator anaeróbio são capazes de realizar a desnitrificação de forma eficaz mesmo sem a adição de matéria orgânica específica e sem a necessidade de um reator de desnitrificação.

Objetivos

Caracterizar a estrutura e dinâmica da comunidade microbiana (bactérias envolvidas no ciclo do nitrogênio e microfauna) e avaliar a atividade biológica dos reatores aeróbio e anaeróbio de uma indústria de alimentos.

Objetivos específicos

- ✓ Monitorar o pH, temperatura, DBO, DQO, fósforo total, óleos e graxas, nitrogênio total, nitrogênio Kjeldahl, nitrito, nitrato, SST, SSV e sólidos sedimentáveis da ETE de uma indústria de alimentos através das metodologias específicas para cada parâmetro;
- ✓ Avaliar a estrutura da comunidade bacteriana envolvida no ciclo do nitrogênio por meio da técnica de FISH e comparar a densidade destas bactérias de acordo com os sistemas utilizados (anaeróbio e aeróbio), bem como em função dos diferentes pontos de cada sistema e do período de coleta;
- ✓ Identificar a microfauna presente no reator aeróbio através de análises microscópicas e comparar índices ecológicos de diversidade, riqueza, dominância e equitabilidade entre duas estações amostrais neste reator ao longo do tempo;
- ✓ Calcular o Índice Biótico do Lodo em função da microfauna encontrada;

- ✓ Avaliar a atividade biológica do lodo por meio de Testes de Respirometria e comparar a taxa de consumo de oxigênio nos pontos de coleta do reator aeróbio;
- ✓ Correlacionar a microbiota encontrada com a DQO, DBO, NTK e nitrato do efluente tratado e SSV do tanque de aeração,
- ✓ Correlacionar a microfauna com a comunidade bacteriana encontrada no lodo do reator aeróbio.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 A Indústria de Alimentos e seu efluente

No preparo de alimentos existem muitas operações que contribuem para a geração de efluentes que ocasionam a deficiência da atividade dos microrganismos nos tratamentos biológicos. Como exemplo destas operações tem-se as lavagens e desinfecções frequentes de equipamentos e utensílios de cozinha, lavagem de pisos, quebra de embalagens contendo óleos e gorduras e lubrificação de correias transportadoras, que geram efluentes contendo gordura animal, vegetal, detergentes e lubrificantes (VEIGA, 2003). Além disso, estes efluentes são caracterizados por seu alto teor de proteína, a qual é responsável pela alta concentração de nutrientes, principalmente nitrogênio em suas diferentes formas (TEIXEIRA, 2006).

O nitrogênio orgânico presente nestes efluentes é degradado principalmente à amônia, e a descarga de efluentes contendo altas concentrações de amônia é indesejável, pois pode causar uma excessiva demanda de oxigênio nos corpos receptores, que pode levar à eutrofização do meio. Além disso, pode proporcionar um aumento sensível do pH dos corpos hídricos, tornando-os tóxicos para muitas vidas aquáticas. (TEIXEIRA, 2006).

Sendo assim, o efluente gerado na Indústria Alimentícia contém resíduos formados por moléculas orgânicas de difícil decomposição e alta DBO (PARENTE & BARROS e SILVA, 2002). Em geral, apresentam facilidade de degradação por via biológica, uma vez que a maior parte da carga a ser digerida é de natureza orgânica biodegradável, primariamente gorduras e proteínas presentes tanto na forma particulada quanto dissolvida (TEIXEIRA, 2006; VEIGA, 2003). Esta fração de lipídeos é caracterizada por óleos, graxas, gorduras e ácidos graxos livres que, somado a proteínas e carboidratos, formam os principais compostos orgânicos de efluentes de indústrias alimentícias (MENDES et al., 2005).

Estes lipídeos podem adsorver na superfície do lodo, reduzindo significativamente a eficiência do tratamento biológico (VEIGA, 2003). Segundo Mendes et al. (2005), a transformação de lipídeos em lodo ativado é necessária pois os lipídeos contribuem com 30-40% da matéria orgânica presente nos efluentes e esses compostos estimulam o crescimento de microrganismos filamentosos, que promovem a sustentação do lodo formado. Contudo, os lipídeos são compostos que causam problemas ao meio ambiente, como a formação de filmes de óleo nas superfícies aquáticas, impedindo a difusão de oxigênio do ar para esse meio e promovem a mortandade da vida aquática (MENDES et al., 2005).

1.2 Reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB)

O tratamento anaeróbio de águas residuárias industriais tem se tornado uma tecnologia viável nos últimos anos devido ao rápido desenvolvimento de reatores de altas taxas (elevada retenção de biomassa no reator) (STETS, 2008). O tipo de reator anaeróbio de alta taxa mais difundido na indústria é o UASB – *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* – anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo. O processo consiste na passagem de um fluxo ascendente de efluente através do leito e da manta de lodo. A velocidade ascensional do líquido proporciona uma constante pressão seletiva sobre os microrganismos, que passam a aderirem-se uns aos outros levando à formação de grânulos que apresentam boa capacidade de sedimentação (SCHOENHALS et al., 2007). O tamanho dos grânulos é importante para a transferência metabólica (PONTES & CHERNICHARO, 2009). Os sistemas anaeróbios de alta taxa se caracterizam, basicamente, pela capacidade em reter grandes quantidades de biomassa mesmo com a aplicação de baixos tempos de retenção hidráulica (TRH) (CHERNICHARO, 1997). A estabilização da matéria orgânica ocorre em todas as camadas do lodo ao longo da altura do reator. A mistura, devido ao tratamento ascendente, é responsável por garantir o maior contato entre a biomassa e o substrato. Essa mistura é facilitada pelo fluxo ascensional do efluente e pelas bolhas de biogás formadas pela decomposição anaeróbia da matéria orgânica (CHERNICHARO, 1997).

A biodigestão anaeróbia depende fundamentalmente dos microrganismos presentes no interior dos reatores, que devem estar adaptados ao efluente em questão e serem resistentes a variações do processo (STETS, 2008). Os principais microrganismos empregados no processo anaeróbio são as bactérias (NASCIMENTO, 1996) e a diversidade morfológica de microrganismos anaeróbios é influenciada, principalmente, pelo tipo de substrato, condições ambientais e condições hidráulicas (MENDONÇA, 2002).

O processo anaeróbio baseia-se na utilização de microrganismos na ausência de oxigênio livre, para a degradação de matéria orgânica. Os produtos finais do processo anaeróbio são metano e compostos inorgânicos, incluindo o dióxido de carbono e amônia (NASCIMENTO, 1996). Esta técnica consome pouca energia, produz pouco lodo e gera um biogás combustível que pode ser utilizado no local de produção (ISOLDI et al., 2005).

No entanto, os sistemas anaeróbios não são capazes de produzir efluentes finais com elevado grau de qualidade, por isso devem ser considerados como uma primeira etapa do tratamento de efluentes (CHERNICHARO, 1997). Sistemas combinados anaeróbio/aeróbio são uma alternativa para o tratamento de águas residuárias. Estes sistemas são mais econômicos,

produzem uma quantidade menor de resíduos sólidos e, muitas vezes, removem além da matéria orgânica, nutrientes como nitrogênio e fósforo (GOULART, 2013).

Apesar disso, os reatores UASB oferecem muitas vantagens, tais como: suportar altas taxas de carga orgânica tendo simplicidade construtiva e baixos custos operacionais (CHERNICHARO, 1997), volumes de reator bem menores; microrganismos densamente agrupados, entre outras (SCHOENHALS et al., 2007).

1.3 Lodos ativados

O processo de tratamento biológico por lodos ativados foi introduzido na Inglaterra pela primeira vez em 1914 (ABREU, 2004). É atualmente aquele que mais tem sido aplicado no tratamento de águas residuais domésticas e industriais em todo o mundo, principalmente pela alta eficiência alcançada associada à pequena área de implantação requerida, quando comparado a outros sistemas de tratamento (BENTO et al., 2005; VON SPERLING, 1997). No entanto, no ponto de vista econômico, esse sistema tem como fator limitante os altos custos de implantação, operação e manutenção. A utilização extensiva deste sistema propiciou um maior conhecimento de suas aplicabilidades, contribuindo para o crescimento da sua aplicação como solução no tratamento de efluentes de diferentes tipos de indústrias (BERANGER, 2009).

O sistema de lodos ativados é composto pelas seguintes etapas: tanque de aeração (reator); tanque de decantação (decantador secundário) e recirculação do lodo (VON SPERLING, 1997). As comunidades consistem em uma cultura microbiológica de enriquecimento, constituída por microrganismos que metabolizam substâncias inorgânicas e orgânicas do efluente, transformando-as em formas ambientalmente aceitas (ABREU, 2004). A eficiência do processo depende, dentre outros fatores, da capacidade de floculação da biomassa ativa e da composição dos flocos formados (BENTO et al., 2005).

Os flocos biológicos constituem um microsistema complexo formado por bactérias, fungos, protozoários e micrometazoários. As bactérias são as principais responsáveis pela depuração da matéria carbonácea e pela estruturação dos flocos. Entretanto, os componentes da microfauna (protozoários e micrometazoários) também têm importante papel na manutenção de uma comunidade bacteriana (BENTO et al., 2005), já que alguns se alimentam destas bactérias. A aeração é necessária para satisfazer as necessidades de oxigênio das bactérias quimioheterotróficas aeróbias, as quais metabolizam os substratos orgânicos do licor misto, formando CO_2 e biomassa celular. É necessária também para as bactérias quimioautotróficas nitrificantes, que obtêm energia através da oxidação do NH_4^+ a NO_3^- (ABREU, 2004). Para os

consumidores (protozoários e os metazoários) também é importante para satisfazer as necessidades de oxigênio.

A sedimentação dos sólidos ocorre no decantador secundário, permitindo que o efluente final saia clarificado. Parte dos sólidos sedimentados no fundo do decantador secundário é recirculada para o reator. Devido a essa recirculação dos sólidos, estes permanecem no sistema por um tempo superior ao do líquido. É esta maior permanência dos sólidos no sistema que garante a elevada eficiência dos sistemas de lodos ativados, já que a biomassa tem tempo suficiente para metabolizar praticamente toda a matéria orgânica (VON SPERLING, 1997).

Algumas características dos efluentes a serem tratados podem influenciar na estabilidade do processo, como por exemplo, a presença de OG, de compostos tóxicos, o seu pH, a sua carga orgânica, a ausência de determinados nutrientes e micronutrientes, a temperatura, entre outros (BERANGER, 2009). Muitos dos problemas relacionados com sistemas de depuração biológicos têm origem bioquímica e ocasionam disfunções estruturais na biomassa do reator, tais como: espumas, *bulking*, crescimento disperso, desnitrificação no sedimentador secundário, turvação do efluente, etc (ABREU, 2004). Mais recentemente, a opção de utilização do sistema de lodos ativados como pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios passou a ser pesquisada. As vantagens de sua utilização estão associadas principalmente ao menor consumo de energia elétrica e à menor produção de lodo, mantendo-se a qualidade do efluente comparável ao de um sistema de lodos ativados clássico (VON SPERLING, 1997).

1.3.1 Microbiologia de lodos ativados

Os componentes bióticos dos lodos ativados são basicamente representados por microrganismos decompositores como bactérias e fungos que utilizam a matéria orgânica dissolvida, e por microrganismos consumidores, como protozoários e micrometazoários, que se alimentam de bactérias dispersas e outros organismos (MADONI, 1994). Já os componentes não biológicos são componentes orgânicos e inorgânicos.

Os microrganismos podem ser classificados de acordo com a forma como eles obtêm carbono e energia. O carbono é o elemento mais abundante da célula microbiana e a maioria dos microrganismos obtém carbono de moléculas orgânicas, proveniente direta ou indiretamente de outros organismos. Esses organismos são considerados heterotróficos e incluem todos os fungos e protozoários, bem como a maioria das bactérias. Já os organismos autotróficos utilizam compostos inorgânicos e químicos ou energia da luz como fonte de

energia (quimiossintetizantes e fotossintetizantes). Uma outra distinção pode ser feita com base na fonte de elementos e elétrons para a biossíntese: litotróficos usam unicamente compostos inorgânicos, enquanto organotróficos requerem compostos orgânicos para vias de biossíntese (HOGG, 2005; KIRCHMAN, 2000)

Trabalhos utilizando métodos clássicos de isolamento e cultivo microbiológico sugerem que a base do floco é formada por bactérias heterotróficas dos seguintes gêneros: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Citromonas* e *Zooglea*. Porém, estudos recentes utilizando ferramentas de biologia molecular moderna estão mudando esta lista, tendo em vista que o método microbiológico clássico é falho ao detectar a grande maioria dos microrganismos em amostras ambientais (JENKINS et al., 2003).

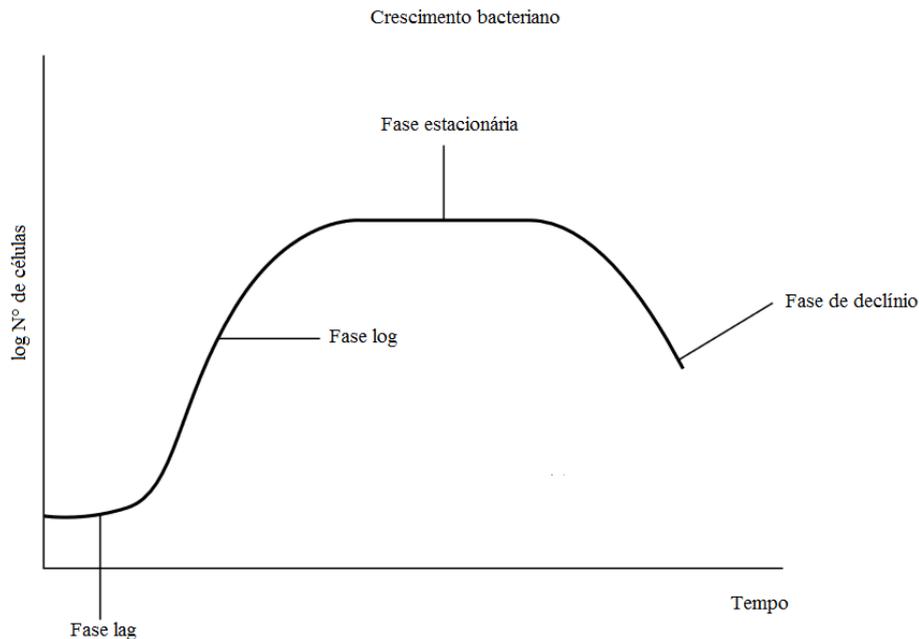
A biofloculação pode ser definida como a interação do exopolímero de células floculantes individuais para formar uma matriz tridimensional. Essa matriz é capaz de agregar partículas inorgânicas que incrementam o peso e a estrutura física do floco e melhoram a sua sedimentação (CURDS, 1992). Flocos bem formados cooperam para um eficiente tratamento e boa remoção da matéria orgânica; flocos mal formados possuem má sedimentabilidade, com tendência à dispersão, facilitando a desagregação dos constituintes e sendo perdidos no efluente final (SANTOS, 2012).

A natureza da microfauna presente é característica da idade do lodo e também característica da qualidade da água, o que é refletido pelas espécies constituintes da comunidade. A microfauna do lodo ativado é indicadora do conjunto de parâmetros de funcionamento do processo, uma vez que sua estrutura varia com o nível de depuração, com a concentração de oxigênio dissolvido, com a presença de substâncias tóxicas etc., dentro do tanque de aeração (VAZOLLÉR et al., 1991). De uma forma geral, a biomassa num processo de lodos ativados é constituída, aproximadamente, por 95% de bactérias e 5% de outros organismos, dos quais fazem parte os fungos, protozoários, rotíferos e invertebrados (ABREU, 2004).

BACTÉRIAS

Os procariotos são os seres mais abundantes da Terra compondo dois dos três domínios da “árvore da vida”, *Bacteria* e *Archaea*. São organismos unicelulares, mas fazem parte de comunidades extremamente complexas (MEDEIROS, 2013). Têm tamanhos e formas dos mais variados, colonizando quase todos os ambientes conhecidos no planeta Terra. As bactérias se desenvolvem de acordo com a curva representada na Figura 1.

Figura 1 – Curva de crescimento microbiano.



Fonte: Adaptado de Hogg, 2005.

Nessa curva, a fase lag representa a fase de aclimação dos microrganismos, em que não há crescimento, no entanto as células estão metabolicamente ativas. Em seguida, ocorre a fase log ou exponencial onde há uma aceleração de crescimento com intenso consumo de substrato. A fase exponencial é limitada por fatores ambientais (por exemplo, substrato, oxigênio, etc), e como a taxa de crescimento diminui, a cultura entra na próxima fase. O nivelamento da curva de crescimento não significa que a divisão celular cessou completamente, mas sim que o aumento devido a células recém-formados é cancelado por um número semelhante de mortes celulares. Eventualmente, como a taxa de mortalidade aumenta, os números globais caem e entra-se na fase final de crescimento. Na fase de declínio (endógena) a velocidade de morte é maior que a de crescimento, e a célula consome as reservas armazenadas no próprio protoplasma para a sobrevivência, num processo de autooxidação, com isso, a população total de células viáveis cai (HOGG, 2005).

Em um sistema de tratamento de efluentes a população mista de bactérias não está em crescimento sincronizado, sendo que uma parte das bactérias está na fase lag de crescimento, outra parte na fase estacionária, e uma terceira parte na fase de declínio (CETESB, 1985). As populações microbianas possuem papel fundamental nos processos de tratamento de esgotos por lodos ativados. Além de estabilizar a matéria orgânica, a população microbiana desempenha

o papel de aglomerador, que se dá devido à interação da excreção de EPS e das camadas que revestem a membrana externa da célula (glicocálix das células Gram-negativas e peptídeoglicanos das células Gram-positivas) que auxilia no processo de adesão celular (SANT'ANNA JÚNIOR, 2010). Durante o processo de decomposição, elas degradam primeiramente os compostos mais solúveis e simples e, uma vez esgotados, os substratos complexos e insolúveis (COSTA, 2009).

- Bactérias formadoras de floco:

Bactérias formadoras de flocos secretam biopolímeros compostos basicamente por proteínas e carboidratos, que formam pontes entre os microrganismos. Basicamente, com valores de pH próximos do neutro, estes polímeros ficam carregados negativamente. É através desta carga negativa que cátions bivalentes como Ca^{2+} e Mg^{2+} interagem com este polímero formando as pontes, o que permite que outros microrganismos se juntem formando o floco (JENKINS et al., 2003). *Zoogloea ramigera* foi considerada por muito tempo como a única responsável pela floculação (CETESB, 1985).

- Bactérias filamentosas:

De acordo com Gerardi (2006), as vantagens das bactérias filamentosas incluem a redução de DBO solúvel, melhora na formação do floco e degradação de formas complexas de compostos orgânicos. E como desvantagens é possível que se tenha problemas de sedimentação, perda de sólidos e produção de espuma.

Dentre as bactérias filamentosas, *Sphaerotilus natans* é a mais comum em lodos ativados, podem ser encontradas também *Nocardioforms* e *Microthrix parvicella* (CETESB, 1985; GERARDI, 2006).

- Bactérias nitrificantes:

Esse grupo compreende bactérias aeróbias Gram-negativas quimiolitotóxicas, que obtêm energia a partir da oxidação de compostos nitrogenados inorgânicos (amônia ou nitrito), e carbono do CO_2 (HOGG, 2005).

A nitrificação é a oxidação de amônia em nitrato, este processo é dividido em dois estágios. O primeiro passo é mediado por bactérias oxidadoras de amônia (AOB), que produzem nitrito, que por sua vez é oxidado a nitrato por oxidadoras de nitrito (NOB). *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio* são geralmente aceitos como grupo AOB e *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospina* e *Nitrospira* são as NOB

(HERBERT, 1999; JURETSCHKO et al., 1998). Estas bactérias somente desenvolvem atividade bioquímica na presença de oxigênio dissolvido.

Taxa de nitrificação depende da temperatura, pH, concentração de O₂, nitrito, carbono orgânico dissolvido, espessura e formato do floco, além da abundância de bactérias nitrificantes. Normalmente, bactérias heterotróficas tem maior taxa de crescimento e de produção celular quando comparadas com as bactérias autotróficas nitrificantes. Estas bactérias representam usualmente < 10% da população bacteriana presente no lodo ativado (GERARDI, 2006).

- Bactérias desnitrificantes:

As bactérias desnitrificantes são capazes de utilizar oxigênio dissolvido, nitrato ou nitrito, porém só conseguem processar um a cada momento (GERARDI, 2006), são quimioheterotróficas (HOGG, 2005). Existem diversos gêneros que contém espécies de bactérias desnitrificantes, entre os quais: *Alcaligenes*, *Bacillus* e *Pseudomonas*, este último sendo o gênero mais comum (PAYNE, 1981).

FUNGOS

Geralmente são organismos saprofiticos e classificados pelo seu modo de reprodução, além disso, grande parte é estritamente aeróbia e pode tolerar ambientes ácidos e baixas concentrações de nitrogênio. O pH ótimo para a maioria das espécies de fungo situa-se ao redor de 5,6 e a quantidade de nitrogênio exigida para o crescimento é metade que a necessária para as bactérias (MCKINNEY, 2004). Os fungos não são muito frequentes em lodos ativados e, quando presentes, em geral são Deuteromicetos (CETESB, 1985). Na realidade, o fato é que existem poucos estudos com fungos em lodos ativados, devido à dificuldade de se trabalhar com eles.

PROTOZOÁRIOS

Os protozoários são organismos unicelulares móveis e eucarióticos, unidos por possuírem em comum mobilidade (RUPPERT et al., 2005). Algumas espécies formam colônias, sendo suas células fundamentalmente independentes e similares na estrutura e função (COSTA, 2009). De acordo com o tipo de organela utilizada para a locomoção e captura de alimentos, os protozoários podem ser subdivididos nos seguintes grupos: amebas nuas e

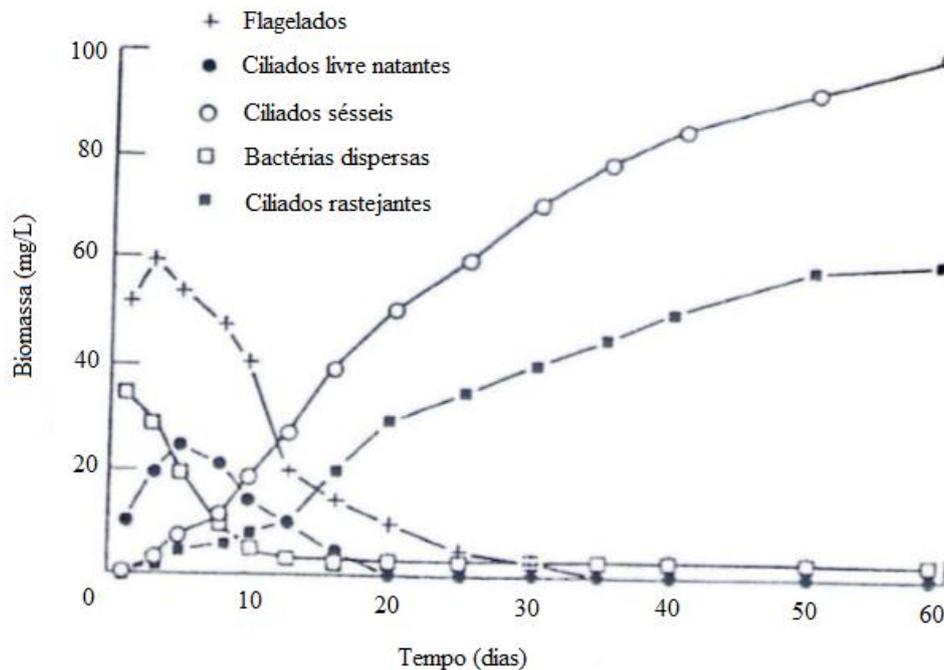
tecadas, flagelados, ciliados de vida-livre (rastejantes, livre natantes e sésseis), embora se saiba atualmente que esta organização não reflete genuína divergência evolutiva.

Protozoários e micrometazoários podem representar 5% do peso da biomassa do lodo ativado, sendo que cerca de 230 espécies destes organismos já foram identificadas por Madoni (1994) em sistemas de tratamento de efluentes. Estes organismos desempenham importantes funções no lodo ativado, tais como a remoção de bactéria não flocculada para produzir um efluente clarificado (JENKINS et al., 2003) sendo ainda grupo predominante quando o sistema de lodos ativados está funcionando adequadamente.

De uma forma geral, os tipos de organismos presentes estão relacionados com o desempenho da estação e a qualidade do efluente (JENKINS et al., 2003). A dominância ou a ausência de uma espécie particular, assim como a composição e estrutura da microfauna, podem ser consideradas bons indicadores da eficiência biológica da depuração por lodos ativados (ABREU, 2004).

Madoni (1994) afirma que ciliados sésseis e rastejantes são geralmente codominantes na microfauna do lodo ativado, devido ao diferente hábito de alimentação, que previne a competição. Já as tecamebas colonizam lodos com carga muito baixa, em particular são encontradas em tanques de aeração com remoção de nitrogênio e alto OD no tanque de aeração. Ciliados bacterívoros livre natantes são mais comuns nas primeiras fases de desenvolvimento das plantas de tratamento, quando os flocos no lodo ainda são escassos e, conseqüentemente, ciliados sésseis são ausentes. Esses protozoários bacterívoros requerem grandes concentrações de bactérias dispersas, mas sobrevivem melhor que outros componentes da microfauna à toxicidade do afluente e à falta de oxigênio. Pequenos flagelados também são dominantes nas fases iniciais quando o floco ainda não está formado. Mas a presença massiva destes protozoários em uma fase mais avançada significa má performance da depuração da matéria orgânica devido à pobre aeração do lodo e sobrecarga. A Figura 2 demonstra uma possível sucessão dos microrganismos em função do tempo dentro de um tanque de aeração. Segundo Jenkins et al. (2003), a identificação em nível de espécie não é necessária, mas reconhecer os principais grupos funcionais de protozoários e outras formas de vida pode ser útil na operação de lodos ativados.

Figura 2 – Sucessão dos microrganismos em função do tempo dentro de um tanque de aeração.



Fonte: Adaptado de Madoni, 1994.

- Amebas:

Variam na forma e tamanho (10 a 200 μ m) e se movem através de pseudópodes. Algumas espécies possuem uma dura e ornamentada carapaça que pode ser secretada pelo citoplasma ou composta por materiais aglutinados na célula, chamada testa. As amebas têm um bom crescimento em matéria orgânica particulada e são capazes de tolerar ambientes com baixo OD. Elevada abundância de amebas podem indicar muita matéria orgânica particulada (JENKINS et al., 2003). Nos lodos ativados, os principais gêneros de tecamebas são: *Arcella*, *Diffugia* e *Euglypha* (ABREU, 2004).

- Flagelados:

São pequenos (5 a 20 μ m), forma oval ou alongada, se movem através de um ou mais flagelos. Muitas espécies encontradas no lodo ativado se alimentam de matéria orgânica solúvel e sua presença indica níveis altos de DBO. Muitos ocorrem em baixo OD e altas cargas (JENKINS et al., 2003). A presença maciça destes protozoários no lodo é associada a um mau desempenho biológico (ABREU, 2004).

- Ciliados:

Possuem formatos diversos (20 a 3000 μ m) e se movem através fileiras de cílios curtos. Os ciliados geralmente são encontrados em boas condições de formação de floco e indicam operação do lodo ativado satisfatória. Os ciliados são sensíveis e sua presença e/ou abundância podem indicar toxicidade (JENKINS et al., 2003).

Podem ser subdivididos em:

Ciliados rastejantes: que são organismos livres associados à superfície do floco de lodo de ativado. Possuem corpo dorsoventralmente achatado e cílios ou cirros distribuídos na face ventral da célula em contato com o substrato. Apresentam desenvolvida ciliatura oral, sendo vorazes predadores de bactérias e flagelados. Os principais representantes deste grupo funcional incluem ciliados dos táxons: Hypotrichia, Cyrtophorida e Microthoracida (GOULART, 2013).

Ciliados livre natantes: que são organismos livres que nadam livremente entre os flocos. Possuem cílios distribuídos regularmente por todo o corpo e nadam livremente entre os flocos. Podem ser bacterívoros ou carnívoros (predadores de outros ciliados e micrometazoários). Constitui esse grupo funcional ciliados pertencentes aos táxons Heterotrichea, Litostomatea (Haptoriais), Oligohymenophorea e Karyorelictea (GOULART, 2013).

Os ciliados rastejantes e livre natantes dominam a microfauna de lodos ativados, ocupando nichos ecológicos diferentes evitando desta forma a competição. No entanto, a relação de abundância entre os dois grupos tende a variar com a carga orgânica do efluente (ABREU, 2004).

Ciliados sésseis: são encontrados fixados nos flocos por um pedúnculo (rígido ou contrátil). Ciliados pedunculados geralmente ocorrem em baixas cargas orgânicas (JENKINS et al., 2003). Os principais grupos de ciliados sésseis em lodos ativados são Peritrichia e Suctoria. Os peritríqueos são bacterívoros, com uma desenvolvida ciliatura oral, podendo ser solitários ou coloniais. Os suctórios possuem tentáculos usados para capturar outros ciliados (GOULART, 2013). Alguns táxons de ciliados sésseis, tais como *Vorticella microstoma* e *Opercularia* spp., podem sobreviver e crescer em lodos ativados expostos a condições ambientalmente críticas (carência de O₂, substâncias tóxicas, etc). Quando estas espécies estão presentes em elevada densidade, devem ser consideradas separadamente das outras formas sésseis (ABREU, 2004).

ROTÍFEROS

São metazoários com grande variedade de formas e tamanho (50 a 500µm) e possuem cabeça com corona ciliar típica e órgãos com estrutura complexa (JENKINS et al., 2003). São organismos multicelulares, que se alimentam de bactérias e protozoários. (GOULART, 2013).

OUTROS INVERTEBRADOS

Além dos rotíferos, outros metazoários invertebrados podem ser encontrados em sistemas de tratamento de esgoto por lodos ativados: nematóides, tardígrados, gastrotrícheos e anelídeos. Tardígrados, gastrotrícheos e anelídeos parecem ocorrer somente sistemas de lodos ativados nitrificantes, provavelmente porque são suscetíveis a toxicidade de amônia (JENKINS et al., 2003). A abundância de nematóides em um sistema de lodos ativados geralmente representa menos de 1% da microfauna, sua presença é limitada pelo baixo tempo de residência da biomassa no sistema (ZHOU et al., 2008). Os rotíferos e nematóides podem quebrar as partículas do floco, permitindo o contato entre o substrato e as bactérias localizadas no centro das partículas, eles facilitam a penetração de oxigênio dissolvido, nitrato (NO_3^-), substratos e nutrientes (GERARDI, 2006; MCKINNEY, 2004).

1.4 Remoção biológica do Nitrogênio

O nitrogênio é essencial para todos os seres vivos como um componente de proteínas e ácidos nucleicos, e apesar do nitrogênio elementar compor 3/4 da atmosfera terrestre, apenas algumas formas de vida são capazes de utilizá-lo para fins metabólicos (HOGG, 2005). Vários fatores agregam importância à remoção de nitrogênio, porém o principal se refere ao processo de eutrofização, o qual é causado pelo acréscimo na disponibilidade desse nutriente em corpos d'água, levando à elevação da produção primária, gerando o crescimento excessivo de espécies fitoplanctônicas, bactérias e macrófitas aquáticas. Pois este crescimento excessivo dificulta a entrada da luminosidade no sistema, impedindo que ocorra a fotossíntese. Com isso, há um déficit na concentração de oxigênio que leva à morte de peixes e de outros organismos aquáticos por asfixia (DEZZOTI et al., 2011; RICKLEFS, 1996). Esse aumento de matéria orgânica, faz com que aumente a quantidade de bactérias anaeróbias decompositoras que liberam toxinas agravando ainda mais a situação dos ambientes afetados. Esta adição de nutrientes pode causar cargas de nutrientes impróprias e alterar profundamente o equilíbrio natural dos ecossistemas

aquáticos (RICKLEFS, 1996). O nitrogênio pode ser removido de efluentes tanto por tratamentos físico-químicos como por via biológica. No entanto, a remoção do nitrogênio por processos biológicos apresenta-se efetiva e com baixos custos (PHILIPS, 2008).

O nitrogênio molecular entra nos caminhos biológicos do ciclo do nitrogênio através da sua assimilação por certos microrganismos e vegetais (RICKLEFS, 1996). A fixação de nitrogênio, amonificação, nitrificação e desnitrificação são alguns dos passos que compõem este ciclo. Existem complexas inter-relações entre diferentes espécies nitrogenadas (tais como amônio, nitrito, nitrato e outras) e diferentes mecanismos de transformação. O nitrogênio orgânico é representado por diversos compostos incluindo aminoácidos, ureia, ácido úrico e bases nitrogenadas. Por meio de hidrólise e mineralização, o nitrogênio orgânico é convertido a nitrogênio amoniacal, que é um dos mais importantes compostos nitrogenados em águas de superfície e outros ecossistemas (DEZOTTI et al., 2011; RICKLEFS, 1996).

A remoção biológica de nitrogênio geralmente é realizada pela combinação dos processos de nitrificação autotrófica e desnitrificação heterotrófica (ARAÚJO et al., 2010; PHILIPS, 2008). A nitrificação é a oxidação de amônia em nitrato tendo nitrito como produto intermediário (Equação 1), este processo é dividido em dois estágios e envolve dois grupos de bactérias quimiolitotróficas, isto é, que obtêm energia para as suas funções vitais da oxidação de um composto inorgânico (GEETS et al., 2007; JURETSCHKO et al., 1998; PHILIPS, 2008). O primeiro passo é mediado por bactérias oxidadoras de amônia (AOB ou BOA), que produzem nitrito (Equação 2), que por sua vez é oxidado a nitrato (Equação 3) por oxidadoras de nitrito (NOB ou BON) (DEZOTTI et al., 2011; GEETS et al., 2007). *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* e *Nitrosovibrio* são geralmente aceitos como grupo AOB e *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospina* e *Nitrospira* são as NOB (HERBERT, 1999; JURETSCHKO et al., 1998). A presença de altos teores de nitrito nas águas significa uma alta atividade bacteriana e carência de oxigênio. A forma oxidada mais estável do nitrogênio em solução aquosa é o nitrato, um importante nutriente dissolvido para os produtores primários e bactérias que conseguem absorvê-lo (TEIXEIRA, 2006).



A estabilidade da nitrificação depende de diversas condições ambientais como temperatura, pH, concentração de OD, presença e abundância de bactérias nitrificantes. Além

disso, bactérias nitrificantes são suscetíveis à inibição através da presença de toxinas orgânicas, metais pesados, altos níveis de salinidade e altas concentrações de substrato (BASSIN et al., 2012; GEETS et al., 2007; KIRCHMAN, 2000).

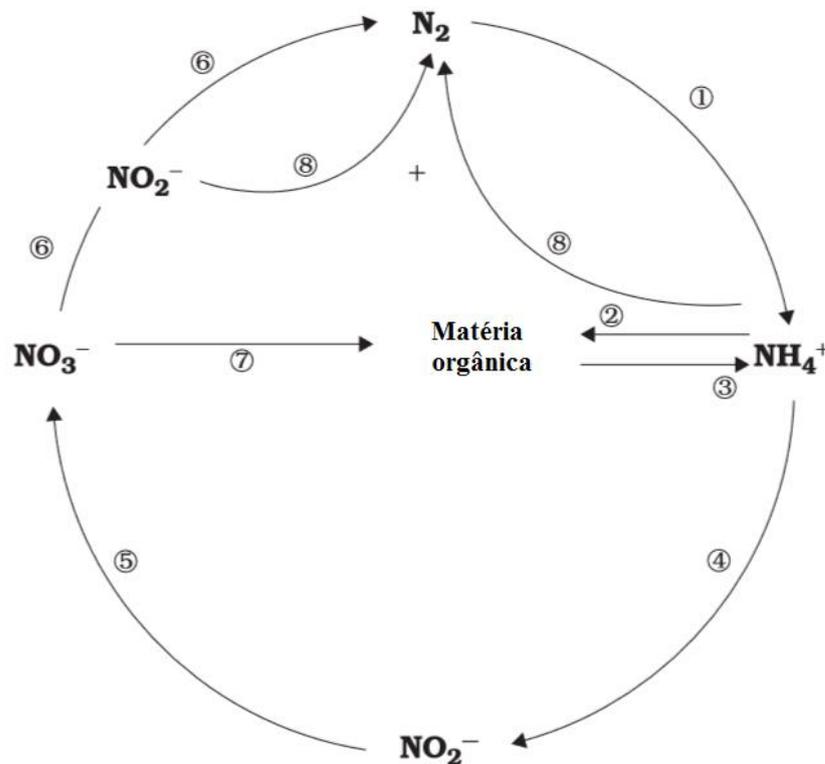
A desnitrificação, que é a redução anaeróbia do nitrato, via nitrito, óxido nítrico, óxido nitroso para nitrogênio gasoso (Equação 4) (DEZOTTI et al., 2011; GEETS et al., 2007), é o mecanismo biológico pelo qual o nitrogênio fixado retorna para a atmosfera, solo ou água para completar o ciclo do nitrogênio (MEDEIROS, 2013), que está representado na Figura 3.



A maioria das bactérias desnitrificantes pertence a várias subclasses de *Proteobacteria*, outras a bactérias Gram-positivas e até *Archaea* (GEETS et al., 2007). As desnitrificantes não requerem condições anaeróbias estritas, porém as mais comumente utilizadas em tratamento de efluente são as heterotróficas capazes de realizar a respiração anaeróbia, utilizando como acceptor de elétrons o nitrato (MAIER et al., 2000).

Em alguns casos, a utilização de lodos ativados como pós-tratamento de efluentes anaeróbios não são particularmente eficientes na remoção de nitrogênio, pelo fato de haver pouca disponibilidade de matéria orgânica para os organismos que realizam a desnitrificação, uma vez que grande parte da matéria orgânica foi previamente removida no reator UASB (VON SPERLING, 1997). Por isso, e também com o avanço da biotecnologia, novas bactérias relacionadas aos processos de remoção de compostos nitrogenados foram identificadas e isoladas a partir de diversos ambientes, o que culminou no surgimento de novos processos de remoção de nitrogênio. Como exemplo de novos processos envolvidos na remoção de nitrogênio pode-se mencionar: Anammox (*Anaerobic Ammonium Oxidation*), nitrificação parcial (SHARON – *Single Reactor High Activity Removal Over Nitrite*), desamonificação aeróbia/anóxica, OLAND (*Oxygen Limited Autotrophic Nitrification and Denitrification*), CANON (*Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrite*) e sistema de *wetlands* (DEZOTTI et al., 2011).

Figura 3 – O ciclo do nitrogênio.



Legenda:

- 1) Nitrogênio é convertido em amônia pelas bactérias fixadoras de nitrogênio.
- 2) A amônia produzida pela fixação do nitrogênio é assimilada por vegetais e bactérias formando aminoácidos, que podem então formar proteínas e alimentar as vias de síntese de nucleotídeos.
- 3) O nitrogênio orgânico na forma de planta morta e materiais de origem animal mais excrementos reintegram o ambiente, onde se submete à mineralização. Este processo de mineralização pode ocorrer em condições aeróbias ou anaeróbias.
- 4,5) Processo de nitrificação, onde a amônia é oxidada primeiro em nitrito e depois em nitrato, envolvendo os dois grupos distintos de bactéria BOA e BON.
- 6) O nitrato formado pode atuar como um aceptor de elétrons na respiração aeróbia, tornando-se reduzido a nitrogênio, através de uma série de intermediários, incluindo nitrito, óxido nítrico e óxido nitroso.
- 7) Alternativamente, o nitrato pode ser reduzido à amônia e daí convertido em nitrogênio orgânico.
- 8) Anammox é a formação de gás nitrogênio através da oxidação anaeróbia de amônia e nitrito e é realizada por membros de um grupo de bactérias Gram-negativas chamado o Planctomycetes.

Fonte: Adaptado de Hogg, 2005.

1.5 A utilização de microrganismos no monitoramento do tratamento biológico

Em alguns países, como por exemplo, na Alemanha, a análise microscópica do lodo é prescrita legalmente para sistemas de lodos ativados que atendem mais de 10.000 habitantes. Porém, no Brasil a maioria dos sistemas de tratamento de esgotos é monitorada e controlada pelas análises físico-químicas. A observação microscópica ainda é um instrumento raro, geralmente realizada em curtos períodos de tempo e seus resultados são, na grande maioria, subutilizados (BENTO et al., 2005).

A análise das características químicas e físicas de um ecossistema torna-se insuficiente, quando o objetivo é o entendimento de sua complexidade, e os aspectos biológicos devem ser considerados. Por serem, os componentes da microfauna, extremamente sensíveis às alterações no processo, o controle microscópico do licor misto é uma ferramenta útil e rápida para conhecer o estado de um reator biológico e constitui um elemento base de operação, não só porque permite diagnosticar as patologias habituais do processo, mas também porque permite prever de forma antecipada o seu aparecimento (ABREU, 2004; BENTO et al., 2005; ZHOU et al., 2008).

1.5.1 Hibridização *in situ* fluorescente (FISH)

No final da década de 80, os avanços das técnicas da biologia molecular, como a descrição da técnica de PCR (abreviatura do inglês *Polymerase Chain Reaction*), os estudos da comunidade microbiana ganharam um impulso (MEDEIROS, 2013). Em se tratando da microbiologia de sistemas de tratamento de águas residuárias, a técnica de FISH (do inglês *Fluorescence in situ Hybridization*) tem se mostrado bastante útil, possibilitando a obtenção das características morfológicas da célula e de sinais de células com alta sensibilidade de detecção (DEZOTTI et al., 2011). Essa técnica consiste em uma das mais simples e rápidas aplicadas na detecção, identificação e quantificação de diferentes microrganismos em comunidades complexas. Este método, assim como o PCR, também permite a detecção de formas não cultiváveis (AMANN & FUCHS, 2008).

A técnica FISH se baseia na existência de sequências conhecidas e específicas do rRNA de um organismo, as quais permitem que se desenhe uma sequência complementar à primeira. Esta sequência específica ligada a um fluoróforo é conhecida como sonda. A sonda fluorescente é comumente uma sequência pequena (15 a 30 nucleotídeos) de DNA de fita simples, ligada a fluoróforos, que reconhece sequências complementares de rRNA (subunidades 16S e 23S no caso das bactérias) nas células previamente fixadas (AMANN & FUCHS, 2008). As células microbianas são fixadas não somente para estabilizar a morfologia celular, como também para permeabilizar a membrana celular para a subsequente hibridização. Após a incubação com a sonda, geralmente por algumas horas, o oligonucleotídeo se liga ao seu correspondente dentro da célula formando híbridos específicos e o excesso de sonda é lavado. Com isso, a amostra está pronta para a identificação e quantificação através de um microscópio de epifluorescência (AMANN & FUCHS, 2008).

Análises moleculares têm demonstrado que os métodos de cultivo e isolamento dos procariotos geralmente subestimam a população de bactérias numa amostra, pois a grande maioria dos microrganismos não pode ser facilmente cultivada. Essas técnicas baseadas em cultura selecionam apenas os microrganismos heterótrofos que melhor se adaptavam as condições de crescimento dos meios gerais de cultivo, não caracterizando a real composição e diversidade da comunidade microbiana dos diversos ecossistemas (GILBRIDE et al., 2006; MEDEIROS, 2013).

1.5.2 Índice Biótico do Lodo

O Índice Biótico do Lodo, proposto por Madoni (1994), é resultado de estudo de 20 anos realizado em 44 ETEs com sistema de lodos ativados na Itália. O autor correlacionou condições operacionais das ETEs com a composição e estrutura da assembleia de protozoários encontrados nos tanques de aeração, sendo assim, definidos grupos funcionais dominantes indicadores da operação destes sistemas. Esses grupos funcionais são: ciliados rastejantes, ciliados livre natantes, ciliados sésseis, tecamebas e flagelados. Os ciliados rastejantes, ciliados sésseis e tecamebas são tidos pelo autor como grupos positivos (indicadores de boa condição operacional e de funcionamento da ETE), e flagelados, ciliados livre natantes e sésseis (*Vorticella microstoma* e *Opercularia* spp.) como grupos negativos.

Este índice foi proposto para estimar a qualidade biológica do lodo em um tanque de aeração de um sistema de lodos ativados e o método se baseia na abundância e na diversidade específica da comunidade e nas diferentes sensibilidades reveladas por parte de alguns grupos da microfauna aos fatores físico-químicos prevaletentes no sistema. Um bom desempenho do sistema está diretamente relacionado às espécies dominantes no processo. Detalhes do método para aplicação deste índice será apresentado no item “Material e Métodos”.

1.5.3 Respirometria

Na respiração o oxigênio dissolvido na água é utilizado como acceptor dos elétrons liberados na quebra da matéria orgânica, com consequente produção de água e dióxido de carbono e liberação de energia. Essa energia é armazenada pelas células sob a forma de ATP e usada posteriormente nas reações celulares (CETESB, 1985). Cada vez mais se faz uso de métodos respirométricos para a determinação das características de biodegradabilidade dos afluentes e da atividade biológica em estações de tratamento de esgoto e tratamento de efluentes

industriais baseadas nos sistemas de lodos ativados (ANDREOTTOLA et al., 2005), tendo em vista a rapidez na obtenção de resultados e a possibilidade imediata de identificar possíveis cargas tóxicas, o que contribui na manutenção da boa eficiência nestes sistemas (BERANGER, 2009).

A respirometria é a medida, em curto prazo, da concentração de oxigênio dissolvido necessário para oxidar a matéria orgânica biodegradável presente na amostra. É utilizado um equipamento medidor de oxigênio dissolvido, conhecido por oxímetro (BERANGER, 2009) e a unidade de medida é em miligramas de oxigênio por litro de lodos ativados em função do tempo, podendo ser segundos, minutos ou horas (SANTOS, 2012).

Segundo Andreottola e colaboradores (2005), o teste de TCO (Taxa de Consumo do Oxigênio) considera as variações na taxa de respiração do lodo em consequência do tipo de substrato acrescentado e da velocidade de degradação de parte da biomassa. A absorção do oxigênio se desenvolve através de duas fases principais:

- 1) *respiração endógena do lodo*: é o oxigênio necessário para a respiração do lodo ativado, ou seja, a energia requerida para manter as funções das células;
- 2) *degradação do substrato*: representa o consumo de oxigênio por parte dos microrganismos para a degradação dos substratos presentes no líquido alimentado. Substratos rapidamente biodegradáveis geram uma elevada velocidade de consumo de oxigênio, enquanto substratos lentamente biodegradáveis geram uma velocidade de utilização do oxigênio inferior àquela precedente, porém, superior àquela endógena.

O valor da TCO difere consideravelmente de uma indústria para outra, variando de acordo com a quantidade disponível de alimentos, nutrientes, micronutrientes e fatores físicos (COSTA, 2009). Além disso, a TCO é um parâmetro muito importante para controle de operação e acompanhamento do desempenho de sistemas de lodo ativado. Uma diminuição do valor da TCO, quando não há redução da carga orgânica aplicada, pode ser indicativa da presença de substâncias tóxicas ou inibidoras no afluente (COSTA, 2009; FERNANDES et al., 2001; SANTOS, 2012;).

A alta TCO indica alta atividade biológica e vice-versa. Na maioria dos sistemas de lodos ativados a TCO se situa entre 30 e 100 mgO₂/L.h, significando taxa baixa e taxa alta, respectivamente (VAN HAANDEL & MARAIS, 1999 apud ALBUQUERQUE, 2012). Santos (2012) afirma, ainda, em seu estudo que alguns autores explicam que baixas concentrações de SSV geram uma TCO muito baixa e um maior tempo para ocorrer a completa oxidação dos poluentes; altas concentrações de sólidos suspenso voláteis pode causar efeitos inibitórios. Fernandes et al. (2001) afirmam que a determinação da TCO, medida continuamente, é um bom

parâmetro para avaliar a atividade biológica do sistema de lodo ativado, se comparado com os demais testes que se conhece até o momento como, por exemplo, a turbidez ou a concentração de material orgânico do afluente ou ainda a produção de lodo no sistema.

1.6 Legislação Ambiental

Para atender as exigências legislativas, as fontes poluidoras devem dispor de sistemas de tratamento de efluentes líquidos e a forma de tratamento está relacionada diretamente com as características dos efluentes (NASCIMENTO, 1996). A legislação ambiental utilizada para lançamento de efluentes líquidos e para a qualidade das águas de corpos receptores é um essencial instrumento norteador das estratégias de controle da poluição. Porém, no país existe um distanciamento entre o desejado e o praticado, não só por parte dos poluidores privados (indústrias), mas também por parte dos poluidores públicos (companhias de saneamento municipais e estaduais), bem como pelos próprios órgãos ambientais estaduais, onde falta de estrutura para a fiscalização de poluidores (VON SPERLING, 1998).

Novos conhecimentos científicos geraram necessidades para mudanças nas legislações recentes a fim de uma melhor avaliação dos riscos ambientais e impactos de saúde decorrentes de todas as substâncias lançadas e da toxicidade das misturas das substâncias. Os efluentes podem ser relativamente simples para caracterizar físico-quimicamente, mas seus efeitos biológicos muitas vezes são impossíveis de prever (CHARLES et al., 2011).

As principais Leis e Normas aplicáveis a este trabalho são as seguintes, também ilustradas no Quadro 1:

Diretriz 205 R.6 (INEA, 2007) - Trata-se da Diretriz de controle de carga orgânica em efluentes líquidos de origem industrial. Estabelece como parte integrante do Sistema de Licenciamento de Atividades Poluidoras – SLAP, exigências de controle de poluição das águas que resultem na redução de:

- Matéria orgânica biodegradável de origem industrial;
- Matéria orgânica não biodegradável de origem industrial;
- Compostos orgânicos de origem industrial que interferem nos mecanismos ecológicos dos corpos d'água e na operação de sistemas biológicos de tratamento implantados pelas indústrias e pelas operadoras de serviços de esgoto.

Com relação ao parâmetro DQO, os efluentes de indústrias alimentícias (excusive pescado) com vazão maior do que 3,5 m³/dia, devem apresentar valores < 400 mg/L ou 8,0 kg/dia.

Norma Técnica 202 R.10 (INEA, 1986) - Esta Norma Técnica estabelece critérios e padrões para lançamentos diretos ou indiretos de efluentes líquidos, provenientes de atividades poluidoras, em águas interiores ou costeiras, superficiais ou subterrâneas do Estado do Rio de Janeiro, através de quaisquer fontes, inclusive da rede pública de esgotos.

Resolução Federal CONAMA 357 (BRASIL, 2005) - Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes.

Para preservar a qualidade dos cursos d'água, a Legislação Federal Brasileira divide os corpos hídricos em quatro classes de acordo com suas características e estabelece que nas águas de classe especial devam ser mantidas as condições naturais do corpo de água.

Esta Resolução propõe que os valores máximos admissíveis dos parâmetros relativos às formas químicas de nitrogênio e fósforo, nas condições de vazão de referência, poderão ser alterados em decorrência de condições naturais, ou quando estudos ambientais específicos, que considerem também a poluição difusa, comprovem que esses novos limites não acarretarão prejuízos para os usos previstos no enquadramento do corpo de água. E afirma ainda que para águas doces de classes 1 e 2, quando o nitrogênio for fator limitante para eutrofização, nas condições estabelecidas pelo órgão ambiental competente, o valor de nitrogênio total (após oxidação) não deverá ultrapassar 1,27 mg/L para ambientes lênticos e 2,18 mg/L para ambientes lóticos, na vazão de referência.

Resolução Federal CONAMA 430 (BRASIL, 2011) - Dispõe sobre as condições e padrões de lançamentos de efluentes, complementa e altera a Resolução do CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. Esta Resolução estabelece condições e padrões físico-químicos para lançamentos de efluentes em corpos hídricos, tais como pH, temperatura, materiais sedimentáveis, óleos e graxas (animais e vegetais), materiais flutuantes, parâmetros orgânicos e inorgânicos (muitos metais), além de redução de 60% de DBO.

Quadro 1 – Nitrogênio na Legislação Ambiental.

	NT-202.R-10	CONAMA 357	CONAMA 430
N amoniacal total	5,0 mg/L N	<p>Águas doces Classe 1, 2: 3,7mg/L N, para pH ≤ 7,5 2,0 mg/L N, para 7,5 < pH ≤ 8,0 1,0 mg/L N, para 8,0 < pH ≤ 8,5 0,5 mg/L N, para pH > 8,5 Classe 3: 13,3 mg/L N, para pH ≤ 7,5 5,6 mg/L N, para 7,5 < pH ≤ 8,0 2,2 mg/L N, para 8,0 < pH ≤ 8,5 1,0 mg/L N, para pH > 8,5</p> <p>Águas salinas Classe 1: 0,40 mg/L N Classe 2: 0,70 mg/L N</p> <p>Águas salobras Classe 1: 0,40 mg/L N Classe 2: 0,70 mg/L N</p>	20,0 mg/L N
N total	10,0 mg/L N		
Nitrito		<p>Águas doces Classe 1, 2 e 3: 1,0 mg/L N</p> <p>Águas salinas Classe 1: 0,07 mg/L N Classe 2: 0,20 mg/L N</p> <p>Águas salobras Classe 1: 0,07 mg/L N Classe 2: 0,20 mg/L N</p>	
Nitrato		<p>Águas doces Classe 1, 2 e 3: 10,0 mg/L N</p> <p>Águas salinas Classe 1: 0,40 mg/L N Classe 2: 0,70 mg/L N</p> <p>Águas salobras Classe 1: 0,40 mg/L N Classe 2: 0,70 mg/L N</p>	

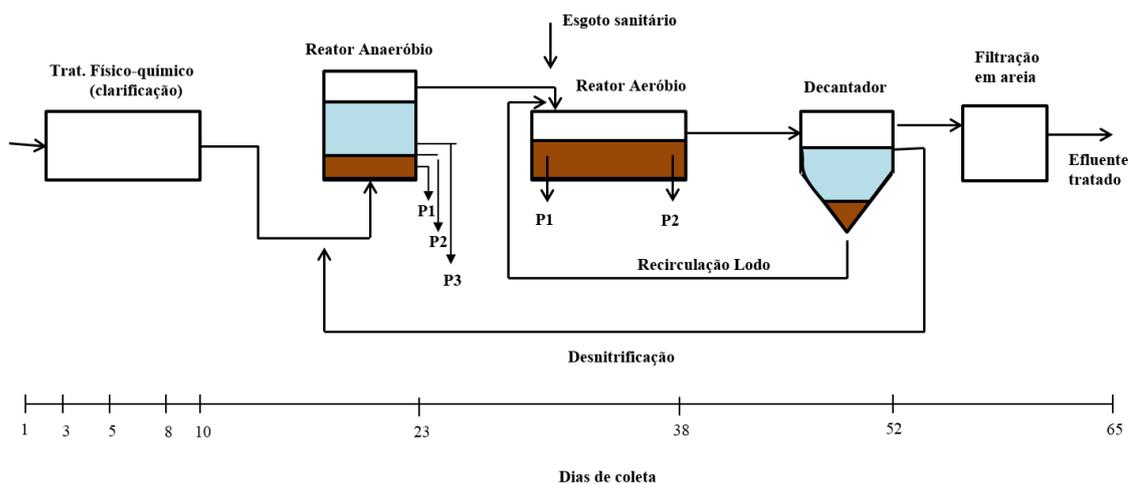
2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização da área de estudo

O ambiente de estudo escolhido foi a Estação de Tratamento de Efluentes (Figura 4) de uma indústria alimentícia na cidade do Rio de Janeiro que produz principalmente sorvete, tortas, molhos e carnes, além de receber também esgoto sanitário dos funcionários. O tratamento é realizado de acordo com as seguintes etapas:

- Preliminar, que inclui gradeamento, peneiramento, equalização e controle de vazões;
- Primário, incluindo o controle e correção de pH, coagulação, floculação e flotação por ar dissolvido;
- Secundário, formado por reator anaeróbico de fluxo ascendente (UASB) (Figura 5), reator aeróbico (lodos ativados) e decantação secundária (Figura 6);
- Terciário, através de filtração com areia;
- Tratamento do lodo, que consiste no seu condicionamento e desaguamento mecânico com decanter centrífuga.

Figura 4 – Esquema representando as etapas da ETE da indústria de alimentos estudada.



Fonte: O autor, 2015.

Figura 5 – Pontos de coleta do reator anaeróbio.

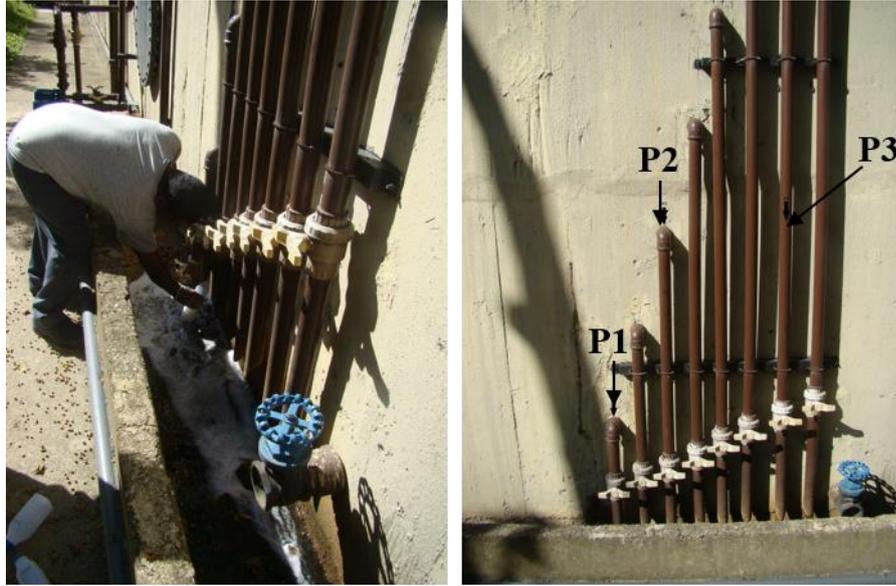


Figura 6 – A) Ponto 1 de coleta no reator aeróbio e decantador ao lado; B) Ponto 2 de coleta no reator aeróbio.



2.2 Pontos amostrais

Para a realização do Teste de Respirometria, Índice Biótico do Lodo e quantificação das bactérias ligadas ao ciclo do nitrogênio, foram coletadas amostras simples de julho a setembro de 2014, ocorrendo cinco coletas em dias alternados e mais quatro coletas com o intervalo de 15 em 15 dias. Foram selecionados cinco pontos de coleta, sendo dois em diferentes regiões do tanque de aeração e os outros três em pontos com diferentes alturas no reator anaeróbio (Ponto 1 = 0,20m; Ponto 2 = 0,30m e Ponto 3 = 0,50m da base).

Para as análises físico-químicas, foram realizadas coletas semanais de amostras compostas nos meses de junho a setembro de 2014. As amostras são referentes ao efluente bruto, saída do tratamento primário, saída do reator anaeróbio, tanque de aeração, saída do tratamento secundário e efluente tratado.

2.3 Determinação dos parâmetros físico-químicos

As amostras coletadas foram encaminhadas para a empresa Tecnologia em Meio Ambiente LTDA (TECMA), no Rio de Janeiro, onde foram realizadas as análises físico-químicas. A empresa possui laboratórios credenciados pelo INEA – Instituto Estadual do Ambiente sob o certificado CCL N° IN002298 e acreditado pelo INMETRO sob o certificado CRL 0200. Os seguintes parâmetros foram avaliados: Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO₅), Demanda Química de Oxigênio (DQO) e pH do efluente bruto, saída do tratamento primário, saída do UASB, tanque de aeração (somente pH), saída do reator aeróbio e efluente tratado; Fósforo Total e Nitrogênio Kjeldahl da saída do UASB e efluente tratado; SST e SSV do tanque de aeração; Temperatura, Óleos e Graxas, Nitrogênio Total, Nitrito, Nitrato, e Sólidos Sedimentáveis do efluente tratado.

As análises foram realizadas conforme o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 22th* (APHA et al., 2012) (Quadro 2).

Para os parâmetros físico-químicos, foi realizada uma análise qualitativa das variáveis: Temperatura, Nitrogênio Total, Nitrato e Nitrito no efluente tratado; SST e SSV no reator aeróbio; pH, DBO e DQO no efluente bruto, saída do tratamento primário, saída do reator anaeróbio (UASB), tanque de aeração, saída da aeração e efluente tratado.

Quadro 2 – Metodologias utilizadas para as análises físico-químicas de acordo com o *Standard Methods 22th*.

Parâmetro	Metodologia
DBO ₅	5210 (B) – Demanda Bioquímica de Oxigênio 5 dias
DQO	5220 (B) – Demanda Química de Oxigênio - refluxo aberto
pH	4500 – H ⁺ (A) – Potencial Hidrogeniônico
Fósforo	4500 – P(A) – Introdução 4500 – P(B) – Preparação da amostra
NTK	4500 N _{org} (B) – Macro Kjeldahl
Óleos e Graxas	5520 (B) – Óleos e Graxas – Partição – Gravimétrica
Temperatura	2500 (A) – Temperatura
Nitrito	4500 NO ₂ (B) – Nitrito – Colorimétrica
Nitrato	4500 NO ₃ (E) – Nitrato por Coluna Redutora De Cádmio
Sólidos sedimentáveis	2540 (F) – Sólidos Sedimentáveis e Flutuantes
Sólidos	2540 (E) – Sólidos Fixos e Suspensos Voláteis

2.4 Comunidade bacteriana:

A comunidade bacteriana foi analisada através da técnica de hibridização *in situ* fluorescente FISH. As amostras foram fixadas em paraformaldeído na concentração final de 2% no dia das coletas e levadas, posteriormente, para o Laboratório de Ecologia e Biologia Molecular de Microrganismos (LEBIOMM) da Universidade Federal de Juiz de Fora, onde foram processadas.

Para desprender os microrganismos das partículas, os seguintes passos foram realizados (adaptado de EPSTEIN & ROSSEL, 1995): 10 mL de cada amostra foram sonicados em tubos imersos em gelo usando o Vibra Cell VCX130PB (Sonics & Materials, USA) três vezes com pulsos de duração de 60 segundos e intervalos de 60 segundos entre cada pulso, com a amplitude de 90%. Em seguida, as amostras foram vigorosamente agitadas e centrifugadas a 500G por 5 minutos. O sobrenadante foi coletado e foi adicionado 5 mL de água filtrada ao pellet para mais uma centrifugação, etapa que se repetiu novamente posteriormente. Os sobrenadantes das amostras do reator anaeróbio foram diluídos 10 vezes, enquanto os das amostras do reator aeróbio foram diluídos 100 vezes. Cada amostra (2 mL) foi filtrada em filtro de policarbonato 25 mm de diâmetro e 0,22 mm de poro. Os filtros foram armazenados a -4°C até a hibridização, quando cada filtro foi cortado em 5 pedaços. A hibridização foi realizada baseada em Cottrell (2001). Os filtros foram colocados em uma lâmina e cobertos com 40 µL de solução de hibridização contendo as sondas marcadas com CY3 na concentração final de 2,5 ng/µL. As sequências das sondas e as condições de hibridização específicas estão na Tabela 1. Os filtros foram incubados na câmara de hibridização a 42°C por aproximadamente 12 horas. Depois, lavados com 0,5 mL de solução tampão de lavagem e incubados a 48°C por 15 minutos. Em seguida, os filtros foram corados com 100 µL de DAPI na concentração final de 2 µg/mL por 3 minutos à temperatura ambiente. Após corados, eles foram lavados três vezes em etanol 80%, secos e montados sobre lâmina com uma solução de Glicerol:PBS (7:3). As células bacterianas nos filtros foram observadas em microscópio BX60 (Olympus, Japão). Os microrganismos foram analisados em 10 campos aleatórios para contagem de células coradas com a sonda específica, em cada amostra. A densidade média foi calculada assim como os desvios padrões. Considerando os fatores de diluição e volume filtrado, todas as contagens foram corrigidas subtraindo o valor obtido no controle negativo.

Tabela 1 – Sequência e especificidade das sondas utilizadas no ensaio de Hibridização *in situ* Fluorescente (FISH).

Organismo alvo	Sonda	Sequência (5'-3')	Form (%)	NaCl (mM)	Referência
<i>Nitrobacter</i>	NIT3	CCTGTGCTCCATGCTCC	40	56	Wagner et al., 1996
Nitrosomonadaceae	NSO1225	CGCCATTGTATTACGTGTGA	35	80	Mobarry et al., 1996
Nitrospiraceae	Ntspa712	CGCCTTCGCCACCGGCCTTCC	50	28	Daims et al., 2001
<i>P. fluorescens</i>	PsAg1	GATAACTCGTCATCAGCTC	30	100	Boye et al., 1995
Controle negativo	NON	ACTCCTACGGGAGGCAGC	30	102	Wallner et al., 1993

2.5 Microfauna e Índice Biótico do Lodo

O cálculo do Índice Biótico do Lodo teve como base o método desenvolvido por Madoni (1994) e a metodologia de análise quantitativa da microfauna do lodo foi adaptada conforme orientações da CETESB (1985). Para sua realização foram coletadas amostras de 500 mL em dois pontos (P1 e P2) do tanque de aeração. As amostras foram levadas para o Laboratório de Microbiologia da empresa TECMA, onde foram feitas as análises microscópicas do lodo. A partir destas amostras foi realizada a quantificação dos organismos *in vivo* no dia da coleta.

A análise quantitativa dos micrometazoários e dos protozoários foi realizada em câmara de Sedgwick-Rafter (Figura 7B) utilizando microscópio de campo claro E200 da NIKON no aumento de 100x. Esta câmara tem formato retangular (50 x 20 mm), com 1 mm de profundidade, área de 1000 mm² e volume útil de 1 mL. Após a homogeneização da amostra, uma alíquota de 1 mL de lodo ativado foi diluída (1:3) em água mineral e, com auxílio de uma pipeta, 1 mL dessa diluição foi utilizado para preencher lentamente a câmara de quantificação. A contagem foi feita em 10 campos com área de 0,0314 mm² cada, distribuídos aleatoriamente na câmara. Foram feitas cinco lâminas para cada ponto.

Para o cálculo do número de microrganismos/mL foi aplicada a Equação 5 (CETESB, 1985):

$$\text{N}^\circ \text{ de microrganismos/mL} = \frac{C \times 1.000 \text{ mm}^3 / \text{mL} \times \text{fator de diluição}}{A \times D \times F} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde:

C = número de microrganismos contados;

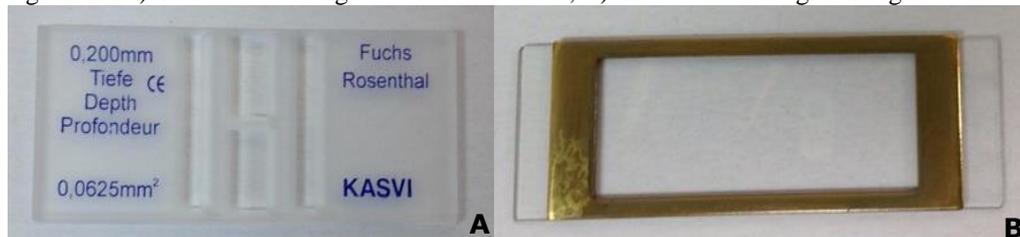
A = área de um campo em mm²;

D = profundidade da câmara;

F = número de campos contados

A contagem dos flagelados foi realizada em câmara de Fuchs-Rosenthal (Figura 7A) seguindo protocolo proposto por (Madoni, 1994). Esta câmara possui uma rede de contagem no centro dividida em 16 quadrados, que são subdivididos em 16 quadrados menores cada um. Possui ainda profundidade de 0,200 mm e resolução de 0,0625 mm².

Figura 7 – A) Câmara de contagem Fuchs-Rosenthal; B) Câmara de contagem Sedgwick-Rafter.



Para cálculo do IBL é necessário identificar e quantificar os principais grupos que compõem a microfauna do lodo ativado, visto proposta de Madoni (1994) (Tabela 2). Os quatro parâmetros usados para se obter o índice do lodo final são: ¹grupo ou táxon dominante, ²densidade da microfauna, ³número de táxons ou unidades taxonômicas e ⁴abundância de flagelados.

Tabela 2 – Tabela de duas entradas para cálculo do IBL, baseada nos grupos dominantes, densidade e número de unidades taxonômicas da microfauna.

Grupo dominante	Densidade Ind./L	NÚMEROS TAXONÔMICOS							
		>10		8-10		5-7		<5	
		F<10	10<F<100	F<10	10<F<100	F<10	10<F<100	F<10	10<F<100
Ciliados rastejantes + sésseis * e/ou tecamebas	≥ 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 livre natantes	≥ 10 ⁶	5	3	4	2	3	1	2	0
	< 10 ⁶	4	2	3	1	2	0	1	0
Pequenos flagelados (>100) !	≥ 10 ⁶		4		3		2		1
	< 10 ⁶		3		2		1		0

Legenda: * *Opercularia* spp. e *Vorticella microstoma* não abundante.

!: número de flagelados na diagonal da câmara de Fuchs-Rosenthal.

Fonte: Adaptado de Madoni, 1994.

Por fim, os valores de IBL são agrupados em quatro classes de qualidade, designadas por um número romano (Tabela 3). Estas classes permitem representar a qualidade biológica do lodo.

Tabela 3 – Conversão do valor de IBL em classes de qualidade biológica do lodo e avaliação da eficiência depuradora do tratamento.

Valor do IBL	Classe	Prognóstico
8-10	I	Lodo estável, excelente atividade biológica, excelente eficiência
6-7	II	Lodo estável, atividade biológica em declínio, boa eficiência
4-5	III	Depuração biológica insuficiente no tanque de aeração, eficiência média Depuração biológica muito baixa no tanque de aeração, eficiência muito
0-3	IV	baixa

Fonte: Adaptado de Madoni, 1994.

2.6 Testes de Respirometria

Os testes de respiração foram baseados e adaptados de Araújo (2010), Beranger (2009), Costa (2009) e Santos (2012), nos quais foi medida a concentração de oxigênio dissolvido na fase líquida e não houve fluxo de ar no sistema. Os testes foram realizados imediatamente após a coleta das amostras em dois pontos do tanque de aeração. Para a realização dos testes, as amostras foram transferidas para frascos de DBO com volume de 300 mL, onde foi determinado o consumo de oxigênio num período de 7 minutos. Utilizou-se um oxímetro portátil da marca YSI, modelo 550A, que mediu a concentração de oxigênio dissolvido em mg/L constantemente. A amostra, durante o ensaio, permanecia sob agitação constante sobre um agitador magnético marca Fisatom modelo 752 para sua homogeneização (Figura 8). As medições das concentrações de oxigênio dissolvido foram anotadas a cada 30 segundos e foram calculadas as taxas de consumo de oxigênio (TCO) e as taxas de consumo de oxigênio específico (TCOe) para cada amostra, através das equações 6 e 7:

$$TCO = \frac{(OD_i - OD_f)}{\Delta t} \quad \text{(Equação 6)}$$

Onde:

TCO = taxa de consumo de oxigênio ($\text{mg.L}^{-1} \text{h}^{-1}$);

OD_i = concentração de oxigênio dissolvido no início do teste (mg/L);

OD_f = concentração de oxigênio dissolvido no final do teste (mg/L);

Δt = tempo de duração do teste (h)

$$TCOe = \frac{TCO}{SSV} \quad \text{(Equação 7)}$$

Onde:

TCOe = taxa de consumo de oxigênio específica ($\text{mg.g}^{-1} \text{h}^{-1}$);

SSV = sólidos suspensos voláteis (g/L)

Figura 8 – Aparato para o Teste de Respirometria.



2.7 Análise estatística

A normalidade e homocedasticidade dos dados foi verificada pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Para os dados que apresentaram distribuição normal foi realizado o Teste t e para os dados que apresentaram distribuição não normal foram realizados os Testes de Wilcoxon, Kruskal-Wallis e Mann-Whitney.

As correlações entre as variáveis biológicas e físico-químicas no reator aeróbio foram verificadas pelos testes correlação de Pearson quando atenderam à distribuição normal e teste de correlação de Spearman quando não atenderam. As correlações positivas indicam relação direta e negativas indicam relação inversa. As correlações foram classificadas conforme Santos (2007), Tabela 4:

Tabela 4 – Classificação das correlações.

Coeficiente de correlação	Significado da correlação
$r = 1$	Perfeita Positiva
$0,8 \leq r < 1$	Forte Positiva
$0,5 \leq r < 0,8$	Moderada Positiva
$0,1 \leq r < 0,5$	Fraca Positiva
$0 \leq r < 0,1$	Ínfima Positiva
0	Nula
$-0,1 < r \leq 0$	Ínfima Negativa
$-0,5 < r \leq -0,1$	Fraca negativa
$-0,8 < r \leq -0,5$	Moderada negativa
$-1 < r \leq -0,8$	Forte Negativa
$r = -1$	Perfeita Negativa

Os resultados são apresentados na forma de média e desvio-padrão quando apresentarem distribuição normal, e mediana para dados com distribuição não normal. Para uma melhor comparação com outros trabalhos, a média também é apresentada para dados com distribuição não normal. Os dados foram analisados através do programa SPSS (v.20, SPSS Inc, Chicago, IL), considerando um nível de significância $p \leq 0,05$.

Os índices de diversidade de espécies de protozoários e micrometazoários encontradas nos dois pontos do reator aeróbio foram calculados pela fórmula de Shannon-Wiener (H'), que valoriza a abundância proporcional das espécies enfatizando a riqueza e a homogeneidade. A dominância foi obtida pelo índice de Berger-Parker (d). A uniformidade da distribuição de abundância entre as espécies (equitabilidade) foi calculada segundo a fórmula de Pielou (J) e a riqueza foi obtida pelo índice de Margalef. Os cálculos foram feitos utilizando o programa Past, versão 2.17c.

3. RESULTADOS

3.1 Parâmetros físico-químicos

Em todo o período de coleta, os parâmetros físico-químicos estiveram dentro dos limites permitidos pelas legislações do Rio de Janeiro, a NT 202 R.10 (INEA, 1986) e a DZ 205 R.06 (INEA, 2007) e Federais CONAMA 357:2005 (BRASIL, 2005) e CONAMA 430:2011 (BRASIL, 2011). Os resultados encontram-se a seguir nas Tabela 5, 6 e 7.

Em relação aos parâmetros Óleos e Graxas e Material Sedimentável, foi observado uma frequência de 100% de resultados menores que 6,0 mg/L e menores que 0,5 ml/L respectivamente, nas 14 amostras do Efluente Tratado.

Tabela 5 – Temperatura (°C), Concentração de Nitrogênio Total, de Nitrato e de Nitrito em mg/L do efluente tratado da ETE da indústria de alimentos durante o período de coleta.

	Nº amostral	Média	DP	Mínimo	Máximo
Temperatura (°C)	11	25,9	0,97	24,0	27,0
Nitrogênio Total (mg/L)	8	2,3	1,19	0,8	3,8
Nitrato (mg/L)	10	0,36	0,37	0,04	1,24
Nitrito (mg/L)	3	0,34	0,57	0,01	1,00

Fonte: Apêndice 1, Tabela 17.

A relação entre SSV/SST foi 0,75.

Tabela 6 – Sólidos suspensos totais e sólidos suspensos voláteis em mg/L do Reator Aeróbio da ETE da indústria de alimentos durante o período de coleta.

	Nº amostral	Média	DP	Mínimo	Máximo
SST (mg/L)	15	4661	893	1913	5435
SSV (mg/L)	15	3496	697	1430	4195

Fonte: Apêndice 1, Tabela 18.

Os menores valores médios de pH foram encontrados no efluente bruto (4,29) e os maiores no tanque de aeração (7,14).

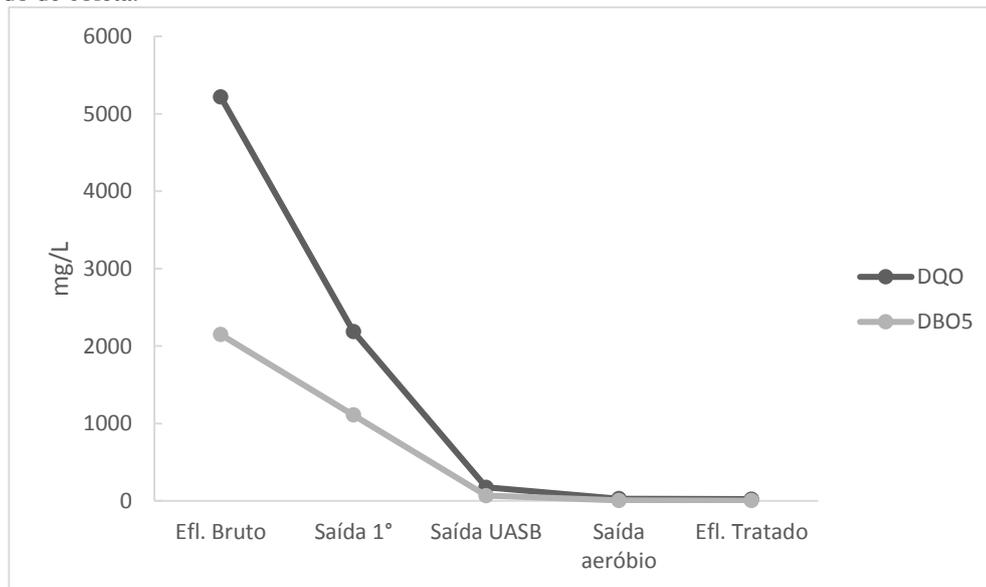
Tabela 7 – Valores do pH medido no efluente bruto, saída do tratamento primário, saída do reator anaeróbio, tanque de aeração, saída do reator aeróbio e efluente tratado da ETE da indústria de alimentos durante o período de coleta.

	N° amostral	Média	DP	Mínimo	Máximo
Efl. Bruto	13	4,29	0,44	3,74	5,10
Saída 1°	13	6,53	0,43	6,00	7,30
Saída UASB	13	7,11	0,21	7,00	7,70
Tq. Aeração	13	7,14	0,23	7,00	7,60
Saída aeróbio	13	7,06	0,22	7,00	7,80
Efl. Tratado	13	7,08	0,30	7,00	8,07

Fonte: Apêndice 1, Tabela 19.

O Gráfico 1 demonstra o decaimento da DQO e DBO₅ ao longo do tratamento, onde os maiores valores foram encontrados no efluente bruto (DQO – 5216 mg/L e DBO₅ – 2148 mg/L) e os menores no efluente tratado (DQO – 21 mg/L e DBO₅ – 3 mg/L).

Gráfico 1 – Decaimento da DQO e DBO₅ ao longo do sistema de tratamento de efluentes da indústria de alimentos no período de coleta.



Fonte: Apêndice 1, Tabelas 20 e 21.

Conforme apresentado na Tabela 8, os parâmetros DBO₅ e DQO obtiveram uma eficiência de redução, 99,8% e 99,6% respectivamente. Os testes estatísticos apontaram diferença significativa entre o efluente bruto e tratado para ambos os parâmetros. De acordo com o teste estatístico, houve diferença significativa nos valores de fósforo entre o efluente bruto e tratado, porém a eficiência de remoção foi de 39,3%. Conforme apresentado, o teste estatístico demonstrou uma diferença significativa entre os valores de Nitrogênio Kjeldahl nos efluentes bruto e tratado. A remoção do nutriente também se mostrou eficiente, sendo de 74,9%.

Tabela 8 – Concentração e eficiência de redução da DBO₅ e DQO no efluente bruto e tratado e Fósforo Total e Nitrogênio Kjeldahl na saída do UASB e do efluente tratado da ETE da indústria de alimentos no período de coleta.

Parâmetro	Número amostral	Medida de tendência central	Concentração (mg/L)			Eficiência de remoção (%)
			Efluente Bruto	Saída UASB	Efluente Tratado	
DBO ₅ *	8	Mediana	2148	-	3	99,8
DQO*	14	Mediana	5216	-	21	99,6
P Total*	14	Mediana	-	0,5	0,2	39,3
NTK**	12	Média	-	7,3	1,7	74,9

Legenda: *Teste de Wilcoxon, p = 0,001.

**Teste t pareado, p = 0,001 e t = 9,3.

Fonte: Apêndice 1, Tabelas 20-23.

3.2 Comunidade bacteriana

Analisando a densidade bacteriana nos três pontos do reator anaeróbio, foi observada uma diferença significativa apenas entre os Pontos 2 e 3 na contagem número total de bactérias (teste de Kruskal-Wallis, p = 0,004). A Tabela 9 apresenta os valores das medianas e as médias das densidades das bactérias analisadas no reator anaeróbio, bem como seus valores mínimos e máximos. A tabela mostra que o número total de bactérias ($41,52 \times 10^6$ cél./mL) e a densidade de *P. fluorescens* ($1,53 \times 10^6$ cél./mL) foram maiores no Ponto 1, enquanto que a densidade de Nitrosomonadaceae ($1,12 \times 10^6$ cél./mL) e Nitrospiraceae ($1,43 \times 10^6$ cél./mL) foram maiores no Ponto 2 e a densidade do grupo *Nitrobacter* ($4,01 \times 10^6$ cél./mL) foi maior no Ponto 3.

Tabela 9 – Densidade (10^6 cél./mL) das bactérias analisadas nos três pontos de coleta do reator anaeróbio.

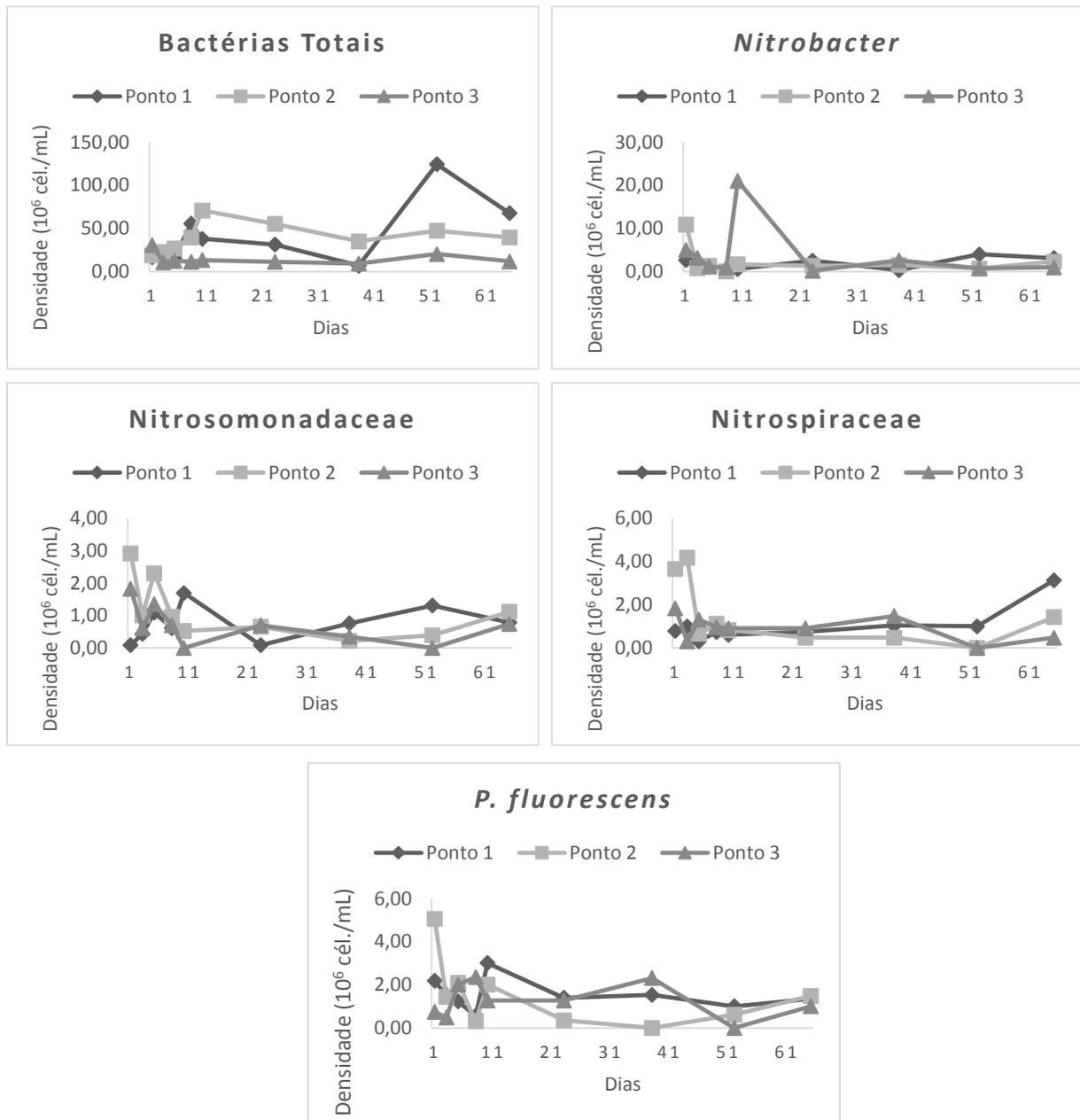
Sonda	Ponto	Mediana	Média	Mínimo	Máximo
Total	P1	31,50	41,52	6,98	124,50
	P2	37,49	39,68	19,02	70,89
	P3	11,91	14,69	9,51	30,75
NIT 3	P1	1,83	1,87	0,35	4,01
	P2	1,37	2,32	0,09	10,91
	P3	1,18	4,01	0,22	21,03
NSO	P1	0,70	0,76	0,09	1,70
	P2	0,81	1,12	0,22	2,92
	P3	0,65	0,70	0,00	1,83
Ntspa	P1	0,76	1,04	0,31	3,14
	P2	0,74	1,43	0,00	4,19
	P3	0,96	0,91	0,00	1,83
PsAg	P1	1,37	1,53	0,57	3,01
	P2	1,03	1,48	0,00	5,06
	P3	1,00	1,27	0,00	2,36

Fonte: Apêndice 2, Tabela 24.

Nitrobacter corresponde a 8,55% do total de bactérias encontradas no reator anaeróbio, enquanto Nitrosomonadaceae corresponde a 2,70%, Nitrospiraceae a 3,53% e *P. fluorescens* a 4,47%. Juntos estes grupos correspondem a 19,24% das bactérias totais encontradas no reator anaeróbio.

No Gráfico 2 é apresentada a densidade bacteriana ao longo do período amostral, onde se pode observar que a densidade das bactérias totais no Ponto 1 apresentou um pico isolado no 52º dia, o que não se observa nos Pontos 2 e 3. Em relação à *Nitrobacter*, observa-se um pico máximo ($21,03 \times 10^6$ cél./mL) no 10º dia de coleta no Ponto 3. O máximo destas bactérias encontradas no Ponto 2 foi no início das amostragens ($10,91 \times 10^6$ cél./mL). A densidade de Nitrosomonadaceae também foi maior no início das amostragens nos Pontos 2 e 3. Nos três pontos amostrais houve um aumento da densidade destas bactérias no 3º dia. No Ponto 1 a densidade das bactérias da família das Nitrosomonadaceae aumentou no início das amostragens, atingindo seu valor máximo no 10º dia ($1,70 \times 10^6$ cél./mL). Bactérias desta família estiveram ausentes no Ponto 3 em dois momentos (10º e 52º dia). A densidade de Nitrospiraceae no Ponto 1 atingiu valores máximos no último dia de amostragem (65º dia). No Ponto 2 a densidade destas bactérias diminuiu no 3º dia, voltando a aumentar no final do período de amostragem. Não foram encontradas essas bactérias nos Pontos 2 e 3 no 52º dia de amostragem. A densidade de *P. fluorescens* no Ponto 1 se estabilizou a partir do 23º dia, com máximo no 10º dia. A densidade máxima observada dessas bactérias no Ponto 2 foi no início das amostragens ($5,06 \times 10^6$ cél./mL). Elas não foram encontradas no Ponto 2 no 38º dia e nem no Ponto 3 no 52º dia.

Gráfico 2 – Densidade bacteriana (10^6 cél./mL) do número total (DAPI) e dos grupos *Nitrobacter* (NIT 3), Nitrosomonadaceae (NSO), Nitrospiraceae (Ntspa) e *P. fluorescens* (PsAg), nos três pontos de coleta do reator anaeróbio ao longo dos dias de coleta.



Em relação aos dois pontos analisados no reator aeróbio, não houve diferença significativa da densidade bacteriana. Entretanto, pode-se observar na Tabela 10 que todas as médias de densidades, com exceção de *P. fluorescens* ($2,34 \times 10^6$ cél./mL), foram maiores no Ponto 2, sendo o número total de bactérias $72,32 \times 10^6$ cél./mL, *Nitrobacter* $2,38 \times 10^6$ cél./mL, Nitrosomonadaceae $2,22 \times 10^6$ cél./mL e Nitrospiraceae $2,85 \times 10^6$ cél./mL.

Tabela 10 – Densidade (10^6 cél./mL) das bactérias analisadas nos dois pontos de coleta do reator aeróbio.

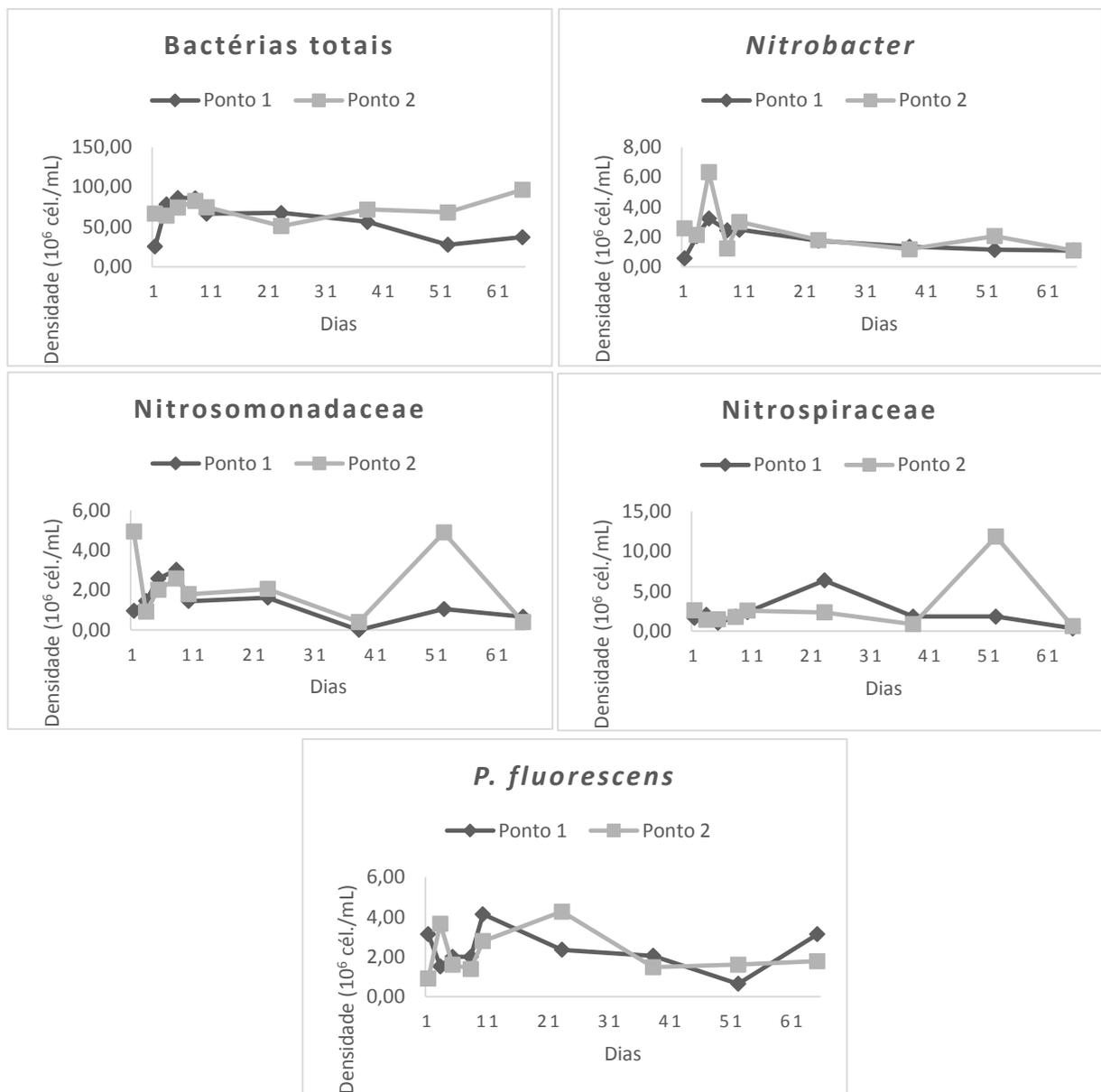
Sonda	Ponto	Mediana	Média	Mínimo	Máximo
Total	P1	66,66	59,07	19,02	70,89
	P2	71,94	72,32	9,51	30,75
NIT 3	P1	1,74	1,79	0,57	3,23
	P2	2,05	2,38	1,09	6,33
NSO	P1	1,44	1,42	0,00	3,01
	P2	2,01	2,22	0,39	4,93
Ntspa	P1	1,83	2,15	0,35	6,37
	P2	1,79	2,85	0,61	11,87
PsAg	P1	2,05	2,34	0,65	4,14
	P2	1,61	2,17	0,92	4,28

Fonte: Apêndice 2, Tabela 24.

Nitrobacter corresponde a 3,19% do total de bactérias encontradas no reator aeróbio, enquanto Nitrosomonadaceae corresponde a 2,76%, Nitrospiraceae a 3,80% e *P. fluorescens* a 3,43%. Juntos estes grupos correspondem a apenas 13,18% das bactérias totais encontradas no reator aeróbio.

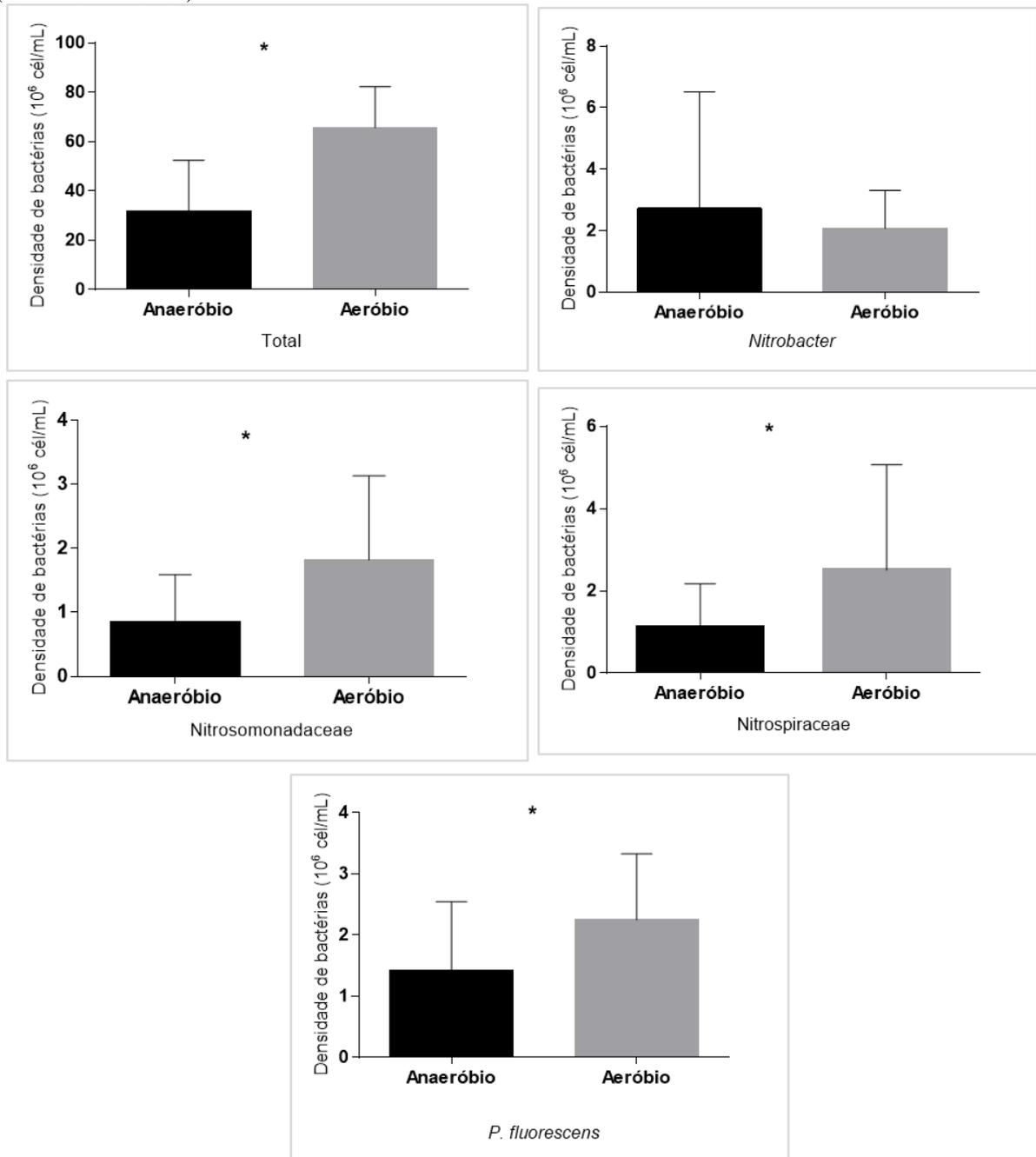
O Gráfico 3 apresenta a densidade bacteriana ao longo do período amostral, onde se pode observar que a densidade das bactérias totais no Ponto 1 teve um crescimento acelerado nos primeiros dias de amostragem (até o 5º dia), o que não é observado no Ponto 2. Em relação à *Nitrobacter*, destaca-se os picos máximos no 5º dia, especialmente no Ponto 2 ($6,33 \times 10^6$ cél./mL). A densidade de Nitrosomonadaceae também aumentou nos primeiros dias de coleta no Ponto 1 e foi ausente no 38º dia neste ponto. Já no Ponto 2 houve uma redução no número encontrado destas bactérias no início e um pico com valor máximo ($4,89 \times 10^6$ cél./mL) no 52º dia. A densidade de Nitrospiraceae no Ponto 1 apresentou um pico no 23º dia, enquanto que no Ponto 2 o pico ocorreu no 52º dia, assim como em Nitrosomonadaceae. A densidade de *P. fluorescens* no Ponto 1 diminuiu no início das amostragens, voltando a aumentar logo em seguida atingindo seu máximo no 10º dia. Já no Ponto 2 foram observados dois picos, um no 3º dia ($3,66 \times 10^6$ cél./mL) e outro no 23º dia ($4,28 \times 10^6$ cél./mL).

Gráfico 3 – Densidade bacteriana (10^6 cél./mL) do número total (DAPI) e dos grupos *Nitrobacter* (NIT 3), Nitrosomonadaceae (NSO), Nitrospiraceae (Ntspa) e *P. fluorescens* (PsAg), nos dois pontos de coleta do reator aeróbio ao longo dos dias de coleta.



Comparando, através do teste de Mann-Whitney, a densidade bacteriana nos dois sistemas (anaeróbio e aeróbio), o grupo *Nitrobacter* foi o único que apresentou densidade semelhante. Houve diferença significativa entre a densidade total de bactérias nos dois tanques ($p < 0,01$), bem como a densidade de Nitrosomonadaceae ($p = 0,009$), Nitrospiraceae ($p = 0,001$) e *P. fluorescens* ($p = 0,006$) (Gráfico 4). As densidades, com exceção do grupo *Nitrobacter* ($2,73 \times 10^6$ cél./mL), foram maiores no reator aeróbio: número total de bactérias $65,70 \times 10^6$ cél./mL, Nitrosomonadaceae $1,82 \times 10^6$ cél./mL, Nitrospiraceae $2,50 \times 10^6$ cél./mL e *P. fluorescens* $2,25 \times 10^6$ cél./mL.

Gráfico 4 – Densidade bacteriana (10^6 cél./mL) do número total (DAPI) e dos grupos *Nitrobacter* (NIT 3), Nitrosomonadaceae (NSO), Nitrospiraceae (Ntspa) e *P. fluorescens* (PsAg), nos dois sistemas estudados (anaeróbio e aeróbio).



Legenda: *Diferença significativa entre os sistemas

3.3 Índice Biótico do Lodo

Durante o presente estudo, foram encontrados 9524 microrganismos, sendo 4972 observados no ponto 1 e 4552 observados no ponto 2 do reator aeróbio. Foram identificados nove táxons de protozoários ciliados, além de protozoários flagelados e amebóides, bem como micrometazoários no lodo do reator aeróbio da ETE da indústria de alimentos.

Dentre os grupos que compõem a microfauna do lodo ativado, os ciliados rastejantes foram os mais frequentes durante as observações, correspondendo a 41,05% dos organismos observados em relação à comunidade, seguido pelas tecamebas (40,19%), rotíferos (9,21%), ciliados sésseis (5,13%), ciliados livre natantes (3,12%), flagelados (1,06%) e outros invertebrados (0,21%) (Tabela 11).

Tabela 11 – Frequência relativa e densidade dos grupos componentes da microfauna presente no lodo ativado do reator aeróbio.

Grupo	Frequência relativa (%)	Densidade (10⁶ ind./mL)	DP
Ciliados rastejantes	41,05	24,86	1,41
Ciliados livre natantes	3,12	1,89	0,15
Ciliados sésseis	5,13	3,11	0,29
Flagelados	1,06	0,64	0,21
Tecamebas	40,19	24,34	1,59
Rotíferos	9,21	5,58	0,29
Outros invertebrados	0,21	0,24	0,15

Legenda: DP: Desvio Padrão

Fonte: Apêndice 3, Tabela 25.

A frequência em que os táxons foram encontrados no lodo em relação à comunidade foi semelhante nos dois pontos do reator aeróbio (Tabela 12). A microfauna do lodo está representada nas Figuras 4, 5 e 6.

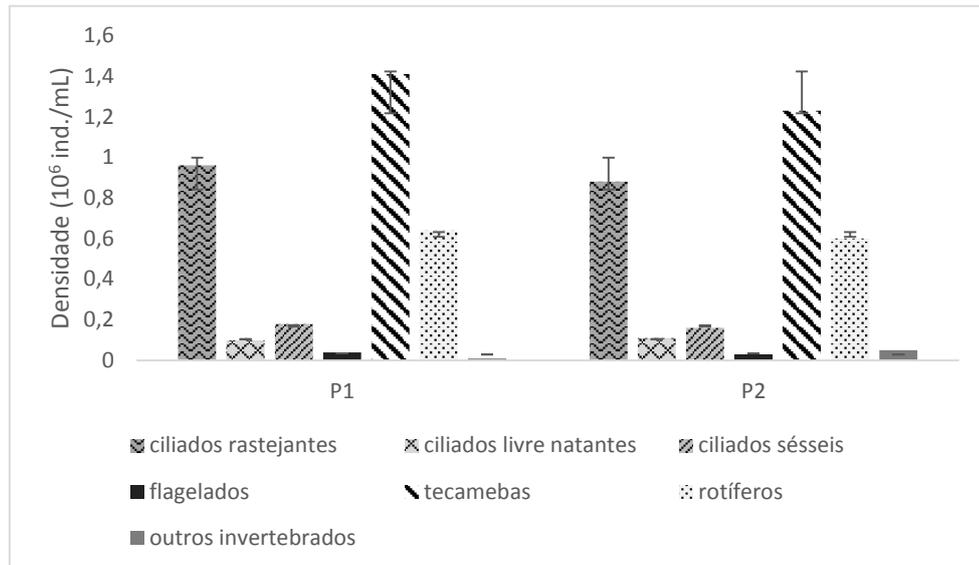
Tabela 12 – Frequência relativa dos microrganismos nos dois pontos do reator aeróbio.

Grupo	Espécie	Frequência relativa (%)	
		P1	P2
Ciliados rastejantes	<i>Euplotes</i> sp 1.	1,55	1,54
	<i>Euplotes</i> sp 2.		
	<i>Aspidisca</i> sp.	39,16	39,60
	não identificado	0,12	0,00
Ciliados livre natantes	<i>Litonotus</i> sp.	1,29	1,56
	não identificado*	1,53	1,89
Ciliados sésseis	<i>Vorticella</i> sp.	4,38	4,22
	Suctoria 1		
	Suctoria 2	0,84	0,79
Flagelados	x	1,25	0,86
Tecamebas	<i>Arcella</i> sp.	30,09	29,48
	<i>Euglypha</i> sp.	10,12	10,54
Rotíferos	x	9,13	9,27
Anelídeos	x	0,26	0,09
Nematóides	x	0,06	0,02
Gastrotricha	x	0,22	0,11

Legenda: *Possível Tetrahymenida.

Baseado na microfauna encontrada nos dois pontos do tanque de aeração, é possível afirmar que o Índice Biótico do Lodo é igual a 8, que corresponde à classe I, onde o lodo é considerado estável, com excelente atividade biológica e excelente eficiência. O Gráfico 5 apresenta a densidade dos grupos encontrados no lodo do reator aeróbio.

Gráfico 5 – Densidade de cada grupo da microfauna encontrado nos dois pontos de coleta do reator aeróbio.



Os índices ecológicos de diversidade ($P1 = 1,64$ e $P2 = 1,62$), dominância ($P1 = 0,26$ e $P2 = 0,27$), riqueza ($P1 = 1,53$ e $P2 = 1,66$) e equitabilidade ($P1 = 0,62$ e $P2 = 0,60$) não apresentaram diferença entre os dois pontos analisados dentro do tanque de aeração (Gráfico 6), evidenciando que os dois pontos apresentam as mesmas características relativas à microfauna. De acordo com a Tabela 13, nota-se que não houve diferença significativa em relação aos dias de coleta e nem entre os pontos.

Gráfico 6 – Dominância, diversidade, riqueza e equitabilidade dos protozoários e micrometazoários encontrados nos dois pontos do tanque de aeração.

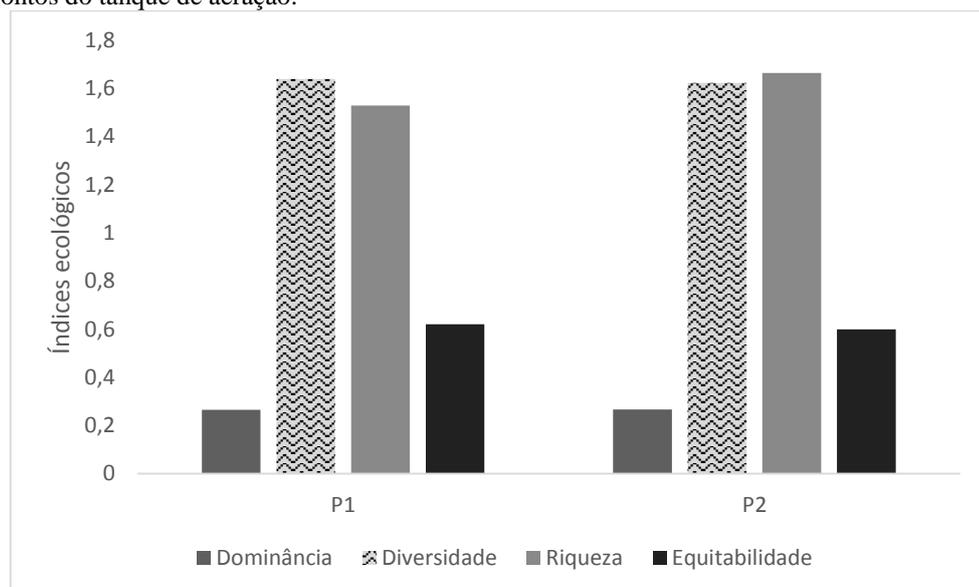
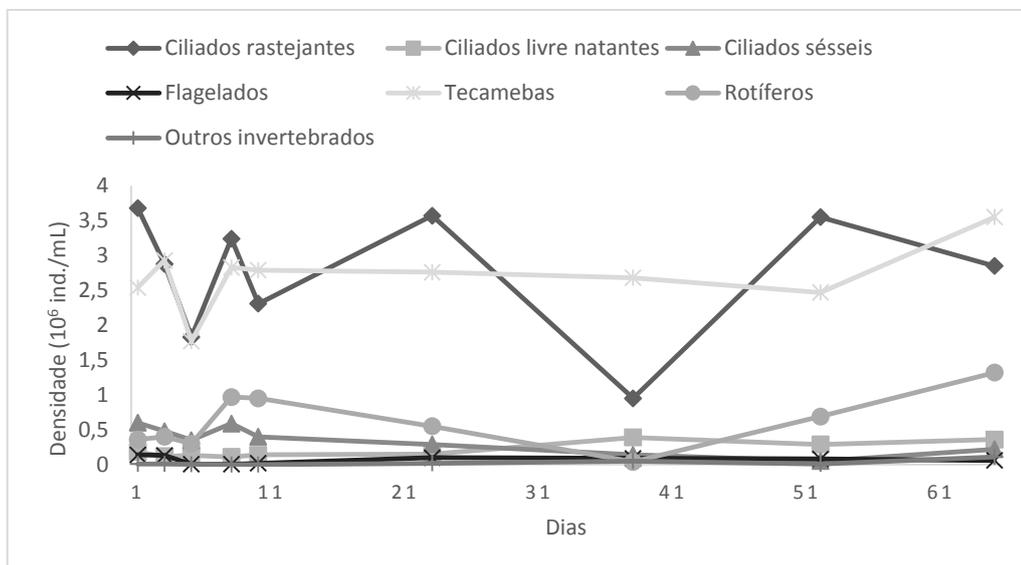


Tabela 13 – Índices ecológicos apresentados por dia nos dois pontos de coleta do reator aeróbio.

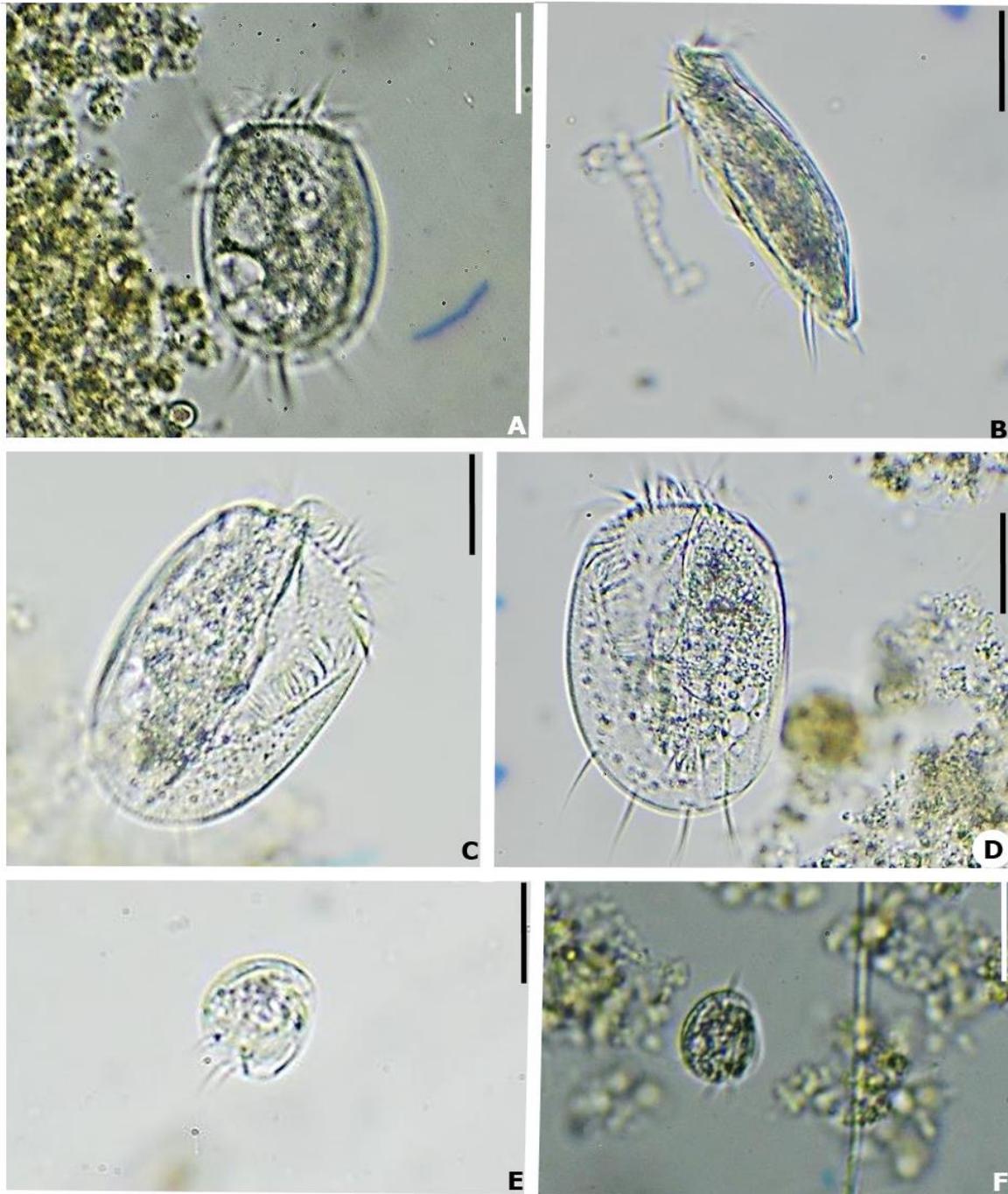
Índices ecológicos		Dia 1	Dia 3	Dia 5	Dia 8	Dia 10	Dia 23	Dia 38	Dia 52	Dia 65
Ponto 1	N° de táxons	12	12	11	9	11	11	12	10	11
	Densidade (10^6 ind./mL)	0,51	0,45	0,28	0,52	0,46	0,44	0,29	0,45	0,57
	Dominância	0,2901	0,2438	0,2964	0,2791	0,2443	0,3109	0,3507	0,3248	0,235
	Diversidade	1.553	1.685	1.529	1,5	1.619	1.483	1.457	1.418	1.669
	Riqueza	1.702	1.735	1,71	1.235	1.572	1.584	1.868	1.421	1.522
	Equitabilidade	0,6251	0,678	0,6375	0,6828	0,6751	0,6185	0,5863	0,6157	0,6962
Ponto 2	N° de táxons	9	9	9	10	10	10	10	9	10
	Densidade (10^6 ind./mL)	0,43	0,42	0,27	0,45	0,37	0,49	0,26	0,44	0,49
	Dominância	0,2671	0,2626	0,2597	0,258	0,2535	0,3387	0,3482	0,3525	0,2236
	Diversidade	1.637	1.601	1.603	1.613	1.595	1.405	1,43	1.317	1.652
	Riqueza	1.431	1.277	1,37	1.419	1.467	1.556	1.559	1.265	1,4
	Equitabilidade	0,7108	0,7287	0,7294	0,7004	0,6925	0,5857	0,6208	0,5995	0,7176

O Gráfico 7 apresenta a densidade dos grupos da microfauna ao longo do período amostral. Pode-se observar que apenas o grupo dos ciliados rastejantes apresentou variações ao longo dos dias, atingindo seu valor mínimo no 38° dia ($0,95 \times 10^6$ ind./mL). A densidade dos rotíferos aumentou no início das coletas atingindo máximo no 10° dia ($0,97 \times 10^6$ ind./mL), porém também atingiu seu valor mínimo no 38° dia ($0,04 \times 10^6$ ind./mL). No entanto, a densidade do ciliados livre natantes aumentou um neste mesmo dia. A densidade das tecamebas se manteve estável a partir do 8° dia até o 52° dia, tendo seu valor mínimo na 3ª coleta ($1,77 \times 10^6$ ind./mL) e máximo no último dia ($3,55 \times 10^6$ ind./mL). A densidade dos ciliados sésseis, flagelados e outros invertebrados se mostrou menos variável em todo o período amostral.

Gráfico 7 – Densidade (10^6 ind./mL) dos grupos da microfauna no reator aeróbio ao longo do período amostral.

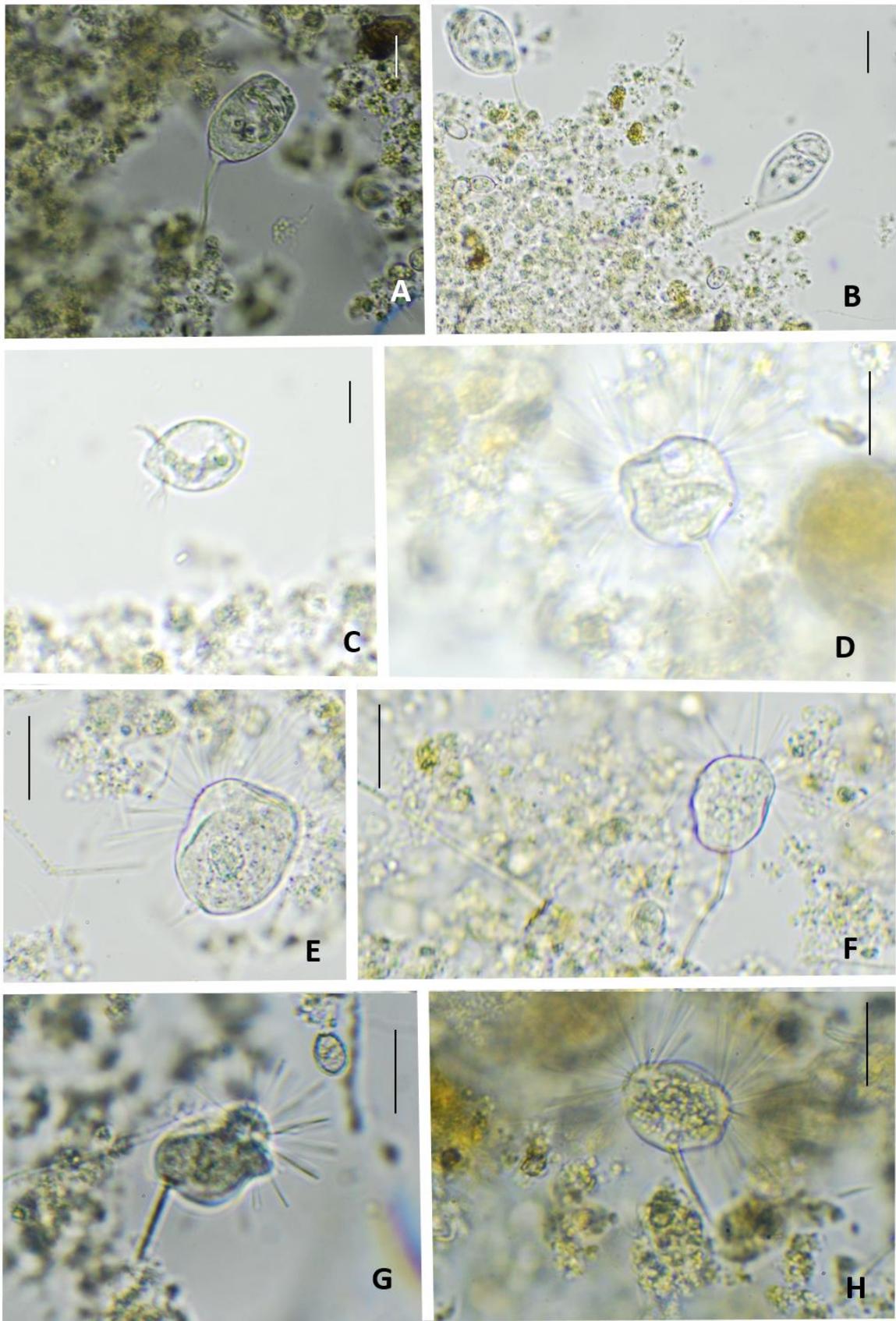
As Figuras 9, 10 e 11 exemplificam os representantes de cada grupo de microfauna encontrado no reator aeróbio durante o período amostral.

Figura 9 – Fotomicrografias *in vivo* de protistas ciliados rastejantes encontrados no lodo do reator aeróbio.



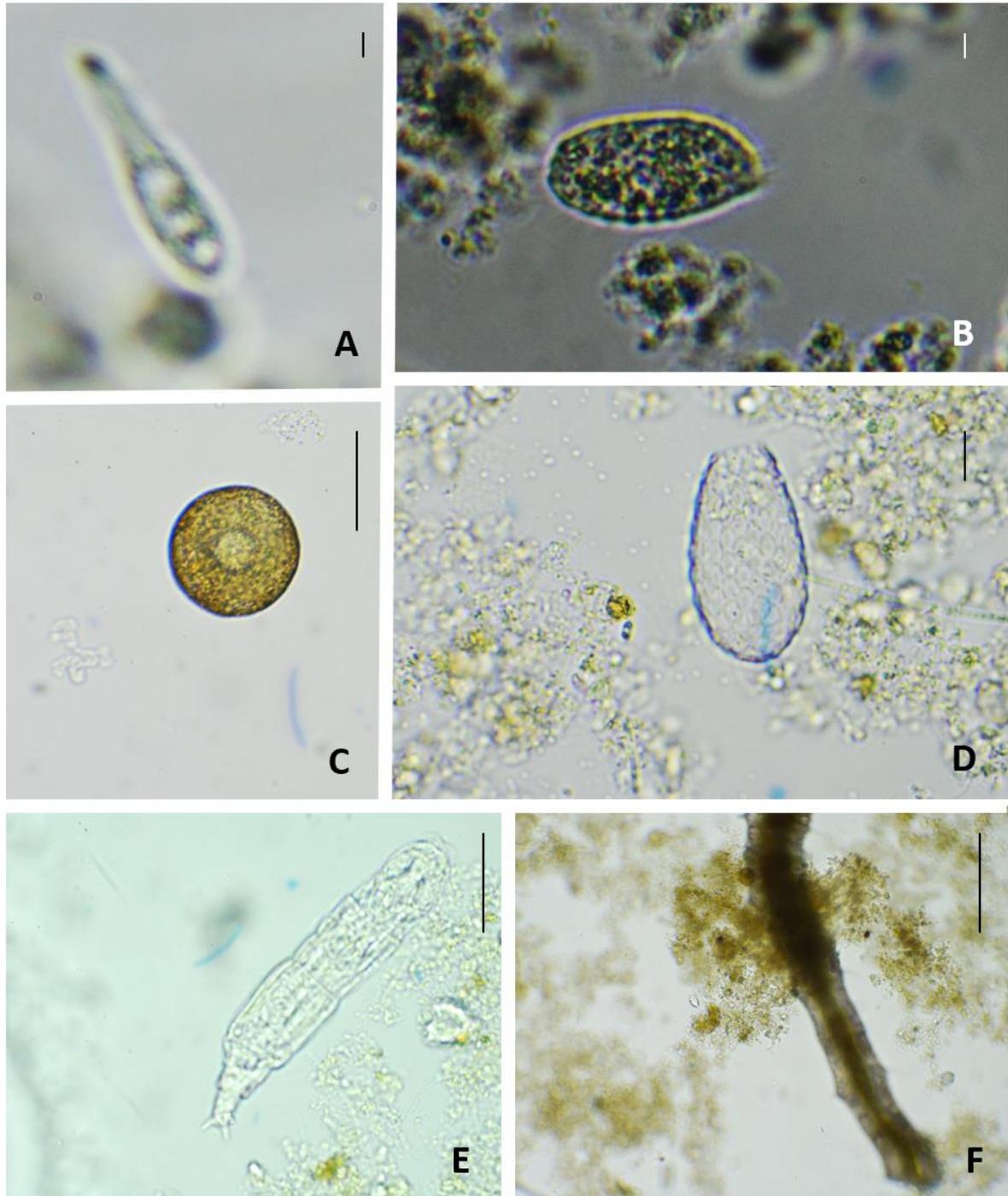
Legenda: **A-B:** *Euplotes* sp. 1; **C-D:** *Euplotes* sp. 2; **E-F:** *Aspidisca* sp. Barras = A-D: 50 μ m; E-F: 20 μ m.

Figura 10 – Fotomicrografias *in vivo* de protistas ciliados sésseis encontrados no lodo do reator aeróbio.



Legenda: **A-B.** *Vorticella* sp.; **C.** Telotróquio de um ciliado da subclasse Peritrichia (*Vorticella*); **D-F, H.** Suctorina morfotipo 1 (ciliado com tentáculos); **G.** Suctorina morfotipo 2. Barras = A-C. 20 μm; D-H 50 μm.

Figura 11 – Fotomicrografias *in vivo* de protistas ciliados livre natantes, tecamebas (amebas com carapaça) e micrometazoários encontrados no lodo do reator aeróbio.



Legenda: **A.** *Litonotus* sp. (Ciliophora); **B.** Ciliado não identificado (Possível Tetrahymenida); **C.** Tecameba do gênero *Arcella*; **D.** Tecameba do gênero *Euglypha*; **E.** Rotífero (Metazoa); **F.** Anelídeo (Metazoa). Barras = A-B. 10 μ m; C,E,F. 50 μ m; D. 20 μ m.

3.4 Respirometria

As análises dos testes de respirometria geram um valor que é a variação de oxigênio dissolvido. Dividindo essa variação pelo tempo, a taxa de oxigênio consumido (TCO) pela comunidade bacteriana é obtida. O valor bruto da TCO não leva em consideração a concentração da microbiota presente. Sendo assim, os resultados de TCO foram divididos pela concentração de SSV resultando na TCOe (taxa de consumo de oxigênio específica).

A TCO e a TCOe apresentaram distribuição normal, em virtude disso, foi utilizado o teste T para amostras independentes, que demonstraram não haver diferença entre os pontos do reator aeróbio. Os testes buscaram comparar a concentração destas variáveis nos pontos 1 e 2 do reator aeróbio. Os resultados da TCO e TCOe nos pontos 1 e 2, bem como o decaimento da concentração de O₂ no tanque de aeração são apresentados na Tabela 14 e Gráfico 8, respectivamente. Durante a realização dos testes a temperatura média das amostras foi de 24,46 °C, não havendo grandes variações.

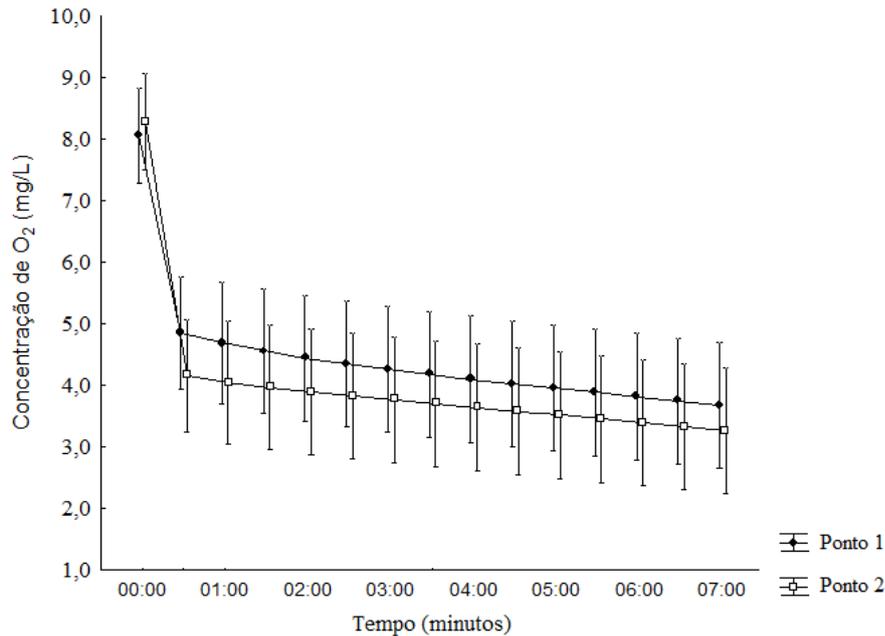
Tabela 14 – Resultados dos testes estatísticos para TCO e TCOe no reator aeróbio.

Parâmetro	Número amostral	Medida de tendência central	Concentração O ₂		Teste	Valor de p
			Ponto 1	Ponto 2		
TCO*	9	Média	36,52	41,82	t (amostras independentes)	0,38
TCOe**	9	Média	9,54	10,87	t (amostras independentes)	0,40

Legenda: *(mg L⁻¹ h⁻¹) ***(mg g⁻¹ h⁻¹)

Fonte: Apêndice 4, Tabela 26.

O gráfico demonstra que os dois pontos apresentam um padrão de comportamento semelhante, onde há uma queda brusca na concentração de O₂ em um primeiro momento e em seguida esta concentração continua caindo, porém de forma mais lenta. Pelo gráfico pode se observar ainda, que a TCO é baixa e os níveis de O₂ no sistema se mantém altos, entre 3,0 a 4,0 mg/L.

Gráfico 8 – Consumo de O₂ ao longo do tempo nos pontos 1 e 2 do tanque de aeração.

3.5 Correlação dos microrganismos com parâmetros físico-químicos

Os resultados dos testes de correlação estão representados na Tabela 15. Sendo que, os ciliados livre natantes apresentaram correlação forte positiva com a DQO e moderada positiva DBO₅ e os ciliados sésseis apresentaram correlação forte negativa com a DQO e moderada negativa com a DBO₅. Os rotíferos apresentaram correlação moderada negativa com SSV. Os testes estatísticos não apresentaram correlação entre bactérias, ciliados rastejantes, flagelados e outros invertebrados com a DBO₅, DQO, NTK e Nitrato do efluente tratado e SSV do tanque de aeração.

Tabela 15 – Correlações entre ciliados livre natantes, ciliados sésseis e rotíferos com DBO₅ e DQO do efluente tratado e SSV do tanque de aeração.

	DBO ₅	DQO	SSV
Ciliados livre natantes**	+0,71	+0,83	-
Ciliados sésseis**	-0,71	-0,88	-
Rotíferos*	-	-	-0,69

Legenda: *Teste de Pearson

**Teste de Spearman

3.6 Correlação entre a microfauna e a comunidade bacteriana no reator aeróbio

A microfauna total encontrada no reator aeróbio apresentou correlação positiva com os ciliados rastejantes (forte), tecamebas (moderada) e rotíferos (moderada). Os ciliados livre natantes apresentaram correlação negativa com os ciliados sésseis (moderada), bactérias totais (moderada), *Nitrobacter* (forte) e outras bactérias (moderada) e correlação moderada positiva com outros invertebrados. Os flagelados apresentaram correlação moderada negativa com as bactérias totais, enquanto as outras bactérias apresentaram correlação forte positiva. Os outros invertebrados apresentaram correlação forte negativa com *Nitrobacter* (Tabela 16).

Tabela 16 – Correlações entre a microfauna e a comunidade bacteriana encontrada no reator aeróbio.

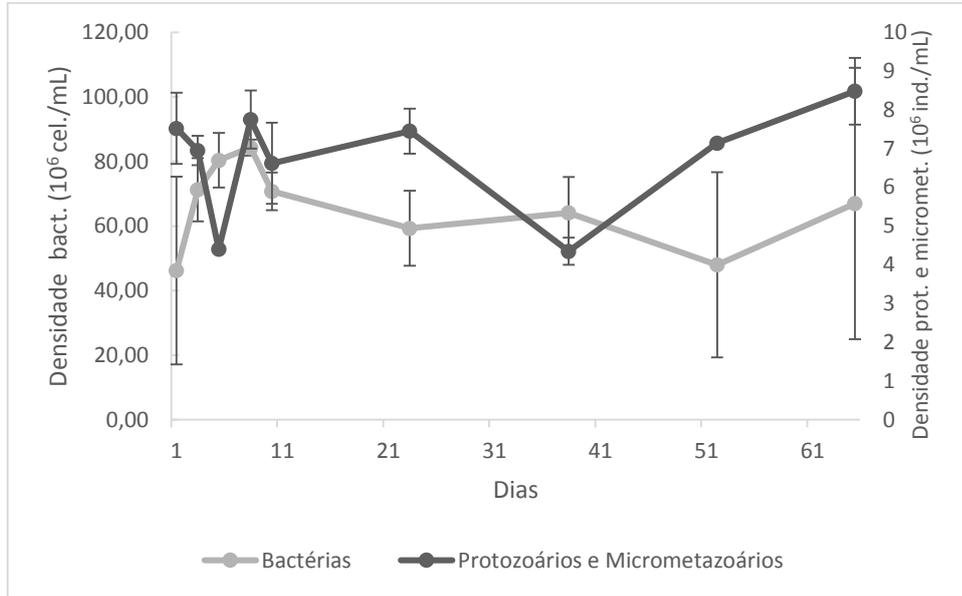
	Ciliados sésseis	Outros invertebrados	Microfauna total	Bactérias Totais	<i>Nitrobacter</i>	Outras bactérias
Ciliados rastejantes*	-	-	+0,84	-	-	-
Ciliados livre natantes**	-0,68	+0,77	-	-0,71	-0,82	-0,67
Flagelados*	-	-	-	-0,72	-	-
Tecamebas*	-	-	+0,69	-	-	-
Rotíferos*	-	-	+0,74	-	-	-
Outros invertebrados**	-	-	-	-	-0,80	-
Outras bactérias*	-	-	-	+0,98	-	-

Legenda: *Teste de Pearson

**Teste de Spearman

Não foi observada correlação entre a densidade total de protozoários e metazoários com a densidade total de bactérias no reator aeróbio. O Gráfico 9 apresenta o comportamento dos microrganismos dentro do tanque de aeração.

Gráfico 9 – Densidade dos protozoários e micrometazoários (10^6 ind./mL) em relação à densidade das bactérias (10^6 cél/mL) observadas no reator aeróbio.



4. DISCUSSÃO

As variáveis analisadas no presente estudo não foram observadas sendo analisadas em conjunto em outros trabalhos. Esta carência de informação sobre avaliação da performance de sistemas de tratamento de efluentes que analisam a microfauna concomitantemente com a comunidade bacteriana dificulta uma comparação deste aspecto com outros trabalhos.

Os parâmetros físico-químicos analisados neste estudo estiveram dentro dos limites permitidos pelas legislações do Rio de Janeiro, a NT 202 R.10 (INEA, 1986) e a DZ 205 R.06 (INEA, 2007) e Federais CONAMA 357:2005 (BRASIL, 2005) e CONAMA 430:2011 (BRASIL, 2011). As médias altas de SST e SSV encontradas no tanque de aeração sugerem grande quantidade de biomassa e a relação entre SSV/SST, segundo Von Sperling (1997), se mostrou dentro da faixa de valores médios de idade do lodo para sistema de lodos ativado convencionais ($SSV/SST = 0,70$ a $0,85$).

Os dados apresentados evidenciam um efluente bruto com pH ácido, que é clarificado por processo físico-químico com correção de pH, adição de coagulante $FeCl_3$ e polieletrólito, seguido de flotação, e se mantém neutro após este processo. Isto propicia uma melhor condição para que ocorram as reações de redução da matéria orgânica, bem como para a remoção de nutrientes. Os parâmetros DBO_5 e DQO obtiveram uma alta eficiência de redução, 99,8% e 99,6% respectivamente, o que pode ser evidenciado com o resultado do IBL. Segundo a DZ 205 R.06 (INEA, 2007), a DQO do efluente tratado para indústrias do ramo alimentício deve ser < 400 mg/L, estando o efluente em questão com valores sempre inferiores. A alta redução da DBO_5 sugere grande concentração de biomassa (VON SPERLING, 1997), o que é comprovado por este estudo tendo em vista que o valor médio de SSV no tanque de aeração é 3496 mg/L. A remoção do Nitrogênio Kjeldahl da saída do reator anaeróbio para o efluente tratado se mostrou eficiente, sendo de 74,9%. Essa porcentagem sugere alta taxa de nitrificação no reator aeróbio.

Foi possível observar a presença tanto de bactérias oxidadoras de nitrito quanto de amônia em ambos os reatores analisados, bem como em cada ponto de coletas dentro dos reatores. A bactéria *P. fluorescens* também ocorreu em todos os pontos de coleta dos dois reatores. Entretanto, não foram observadas bactérias da família das Nitrosomonadaceae no Ponto 3 (reator anaeróbio) no 10° dia e no Ponto 1 (reator aeróbio) no 38° dia. Bem como não foram encontradas bactérias do grupo das Nitospiraceae nos Pontos 2 e 3 (reator anaeróbio) e *P. fluorescens* no Ponto 3 (reator anaeróbio) no 52° dia.

No reator anaeróbio foi observada diferença significativa apenas entre os Pontos 2 e 3 na contagem do número total de bactérias. Embora os Pontos 1 e 3 apresentem valores discrepantes do número total de bactérias, o Ponto 1 apresenta uma grande variação e, devido a isso, é mais difícil que haja uma diferença significativa entre estes pontos. Os resultados, no entanto, sugerem que a densidade de bactérias é maior nos pontos mais próximos à base do reator anaeróbio, onde a camada de lodo é mais densa. Em relação à densidade das bactérias específicas, o reator anaeróbio apresentou um padrão de distribuição semelhante entre os três pontos analisados, indicando que *Nitrobacter*, Nitrospiraceae Nitrosomonadaceae e *P. fluorescens* não variam de acordo com a profundidade. Em relação aos dois pontos analisados no reator aeróbio, não houve diferença significativa da densidade bacteriana, estando de acordo com os resultados obtidos nos testes de Respirometria e com a distribuição homogênea dos protozoários e micrometazoários observados. O grupo *Nitrobacter* apresentou densidade semelhante nos dois sistemas analisados. Porém, houve diferença significativa entre a densidade total de bactérias dos dois reatores, bem como a densidade de Nitrosomonadaceae, Nitrospiraceae e *P. fluorescens*, sendo todas maiores no reator aeróbio. O fato da densidade bacteriana ser maior no reator aeróbio pode ocorrer devido ao maior tempo de permanência das bactérias neste reator, já que ocorre a recirculação do lodo e as bactérias envolvidas no ciclo do nitrogênio, segundo Gilbride et al. (2006), apresentam um crescimento lento.

As bactérias envolvidas no ciclo do Nitrogênio correspondem a um percentual baixo em relação ao total de bactérias encontradas em ambos os sistemas analisados, indicando que a gama de bactérias envolvidas nos sistemas de tratamento de efluentes é enorme e merece ser mais pesquisada para um melhor entendimento destes processos.

Juretschko et al. (1998) mostraram que as bactérias *Nitrospira* foram mais dominantes que *Nitrobacter* em sistemas de lodos ativados e ocorreram em microcolônias agregadas com *Nitrosomonas mobilis*. No presente estudo *Nitrobacter* e Nitrospiraceae apresentaram densidades semelhantes no reator aeróbio. Porém, no reator anaeróbio a densidade de *Nitrobacter* foi maior que a de Nitrospiraceae. Em um estudo com sistema de lodos ativados para tratamento de esgoto, Daims et al. (2001) descobriram que a capacidade de *Nitrospira* de incorporar simultaneamente carbono inorgânico e orgânico pode contribuir para a sua competitividade em estações de tratamento de águas residuárias e como nenhum substrato foi assimilado em condições anóxicas ou anaeróbias, foi sugerido que elas não respiram anaerobiamente. Missaglia (2010) afirma que o predomínio de *Nitrospira* sobre *Nitrobacter* na maioria das ETEs que operam com lodos ativados é um reflexo de suas diferentes estratégias de sobrevivência, pois de acordo com Daims et al. (2001), *Nitrospira* representam k-

estrategistas adaptados a baixas concentrações de nitritos e de oxigênio, enquanto *Nitrobacter* sp. é considerada r-estrategista, que prospera em concentrações mais elevadas de nitrito e oxigênio.

Em sua pesquisa com aquários de água doce, Hovanec et al. (1998) combinou o uso de FISH com o monitoramento da água e sugeriu uma correspondência entre mudanças na composição da comunidade bacteriana e o início da oxidação da amônia. No reator aeróbio, embora os testes estatísticos não apresentem diferenças significantes entre os pontos, foi possível observar as variações das densidades específicas ao longo dos dias de coleta. Apesar dos testes estatísticos também não apresentarem correlação entre os ciliados rastejantes e as bactérias, dois gêneros encontrados são bacterívoros, *Aspidisca* e *Euplotes*. Os gráficos mostram que o padrão de densidade apresentado pelo total de bactérias no reator aeróbio é inversamente proporcional ao apresentado pelos ciliados rastejantes. Indicando uma possível relação de predação das bactérias pelos ciliados.

A densidade das bactérias totais se manteve mais alta no reator aeróbio durante o período amostral, exceto no 52º dia, no qual a densidade no reator anaeróbio ultrapassou os valores do aeróbio. Este fato ocorreu devido ao pico apresentado pelo Ponto 1 no reator anaeróbio neste mesmo dia, que pode também explicar a variação encontrada neste ponto, fazendo com que o teste estatístico não apresentasse diferença significativa entre os Pontos 1 e 3. A densidade de *Nitrobacter* se manteve estável nos dois pontos, porém no reator aeróbio houve um pico no 3º dia e no anaeróbio, no 10º. Os ciliados livre natantes e outros invertebrados, que apresentaram correlação negativa com *Nitrobacter* também se mantiveram estáveis ao longo do período amostral. No reator aeróbio, o padrão de densidade apresentado pelos ciliados rastejantes foi semelhante ao encontrado por Nitrosomonadaceae em todo o período e por Nitrospiraceae a partir do 23º dia. A densidade de *P. fluorescens* se apresentou oscilante, no entanto, a partir do 38º dia o padrão de comportamento foi semelhante em ambos os reatores. A densidade dos rotíferos se manteve estável, porém, assim como os ciliados rastejantes, atingiu seu valor mínimo no 38º dia. A densidade das tecamebas se manteve estável a partir do 8º dia, enquanto a densidade dos ciliados sésseis e flagelados se mostrou estável em todo o período amostral.

O número total de protozoários e micrometazoários observados no lodo da ETE da indústria de alimentos foi 9524, apresentando pouca variação entre os dois pontos de coleta. Goulart (2013) atenta para a importância da avaliação da dinâmica populacional de protozoários no lodo ativado de reatores aerados que recebem efluentes de reatores anaeróbios, pois há a possibilidade de se encontrar uma abundância e diversidade de espécies de protozoários distintas das descritas para lodos ativados de sistemas convencionais, tendo em vista que uma

grande proporção de moléculas biodegradáveis já foi removida na fase anaeróbia. Porém, a microfauna encontrada no presente estudo está de acordo com a observada em outros estudos em sistemas de lodos ativados convencionais (AL SHAHWANI & HORAN, 1991; CHEN et al, 2004; LEE et al., 2004; MADONI, 1994; TUAGY et al., 2008). Neste estudo, houve predominância do grupo de ciliados rastejantes, principalmente o gênero *Aspidisca*; seguido de tecamebas, com maior número de indivíduos do gênero *Arcella*; e ciliados sésseis, com especial destaque para o gênero *Vorticella*. Zhou et al. (2008) fizeram um estudo em lodos ativados de um sistema de tratamento de esgoto e observaram que ciliados sésseis e rastejantes são os grupos mais representativos em um tanque de aeração estável, já que são os mais bem adaptados ao ambiente de lodos ativados através da sua capacidade de se associar aos flocos. Tuagy et al. (2008), também com um trabalho em lodos ativados de um sistema de tratamento de esgoto, observaram a predominância dos gêneros *Vorticella*, *Aspidisca*, *Chilodonella*, *Epystilis*, *Arcella*, *Opercularia* e *Litonotus*, e espécies de ciliados similares foram relacionados com um efluente de boa qualidade em trabalhos como os de Al Shahwani & Horan (1991), Chen et al (2004) e Lee et al. (2004). Tuagy et al. (2008) concluiu que um efluente de alta qualidade é produzido quando há dominância de ciliados sésseis e rastejantes, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo.

É possível afirmar que a natureza do efluente pode desempenhar um papel importante na determinação da estrutura da comunidade da microfauna. No presente trabalho foi feita uma análise dos índices ecológicos da comunidade observada no reator aeróbio da ETE da indústria de alimentos. A estrutura da comunidade se manteve semelhante nos dois pontos de coleta analisados, porém os índices demonstraram que a dominância, verificada pelo Índice de Berger-Parker, apresentou um valor de 0,2653 no Ponto 1 e 0,2663 no Ponto 2, evidenciando uma dominância baixa onde predomina mais de uma espécie com números de indivíduos semelhantes. A diversidade foi verificada com o Índice de Shannon-Wiener, e os valores no Ponto 1 (1,637) e Ponto 2 (1,621), demonstraram que, apesar de não serem identificadas muitas espécies, não houve diferença na diversidade entre os dois pontos. A riqueza foi medida pelo Índice de Margalef, apresentando um valor de 1,527 no Ponto 1 e 1,662 no Ponto 2. Valores menores que 2 demonstram áreas de baixa riqueza. Por fim, a equitabilidade foi verificada através do Índice de Pielou, que apresentou o valor de 0,6203 no Ponto 1 e 0,5986 no Ponto 2. Levando em consideração que 1 corresponde à equitabilidade máxima, é possível afirmar que os organismos apresentam uma distribuição mediana dentro da comunidade. Estudos da microfauna de lodos ativados quase nunca apresentam esta abordagem sobre a estrutura da comunidade encontrada, tornando difícil a comparação.

A semelhança apresentada entre a TCO dos pontos 1 e 2, bem como a TCOe entre os pontos 1 e 2 sugere que o oxigênio é distribuído de forma homogênea dentro do tanque de aeração, fazendo com que os microrganismos tenham condições semelhantes de crescimento, o que é confirmado comparando a microbiota dos dois pontos de coleta dentro do reator aeróbio. No entanto, os baixos valores da TCO e TCOe e o baixo número de espécies de protozoários e micrometazoários encontrados sugerem que haja algum tipo de toxicidade no lodo. Embora haja grande quantidade de biomassa e o valor do IBL no reator sugerirem um efluente de qualidade e alta eficiência de depuração, este índice avalia apenas a presença dos organismos depuradores de matéria orgânica, que podem ter sido selecionados por esta possível toxicidade.

Os resultados obtidos com o Teste de Respirimetria evidenciaram que os níveis de O₂ no sistema se mantiveram altos, entre 3,0 a 4,0 mg/L. Goulart (2013) observou uma correlação positiva entre a densidade de *Arcella hemisphaerica* e oxigênio dissolvido no tanque de aeração. Liu et al. (2008), estudando um sistema combinado anaeróbio/aeróbio observaram que, após os ciliados, as tecamebas foram o segundo grupo mais abundante, assim como foi observado no presente estudo. Os mesmos autores observaram correlação de Pearson positiva entre as tecamebas e a concentração de OD, indicando que estas amebas são sensíveis aos níveis de OD em sistemas de lodos ativados. Chen et al. (2004), Lee et al. (2004), Madoni (1994) e Tuagy et al. (2008) observaram predominância de *Arcella* e *Euplotes* sp. em altas concentrações de OD no tanque de aeração e baixa concentração de nitrogênio amoniacal no efluente, o que pode ser explicado pelo fato de ciliados do gênero *Euplotes* se alimentarem de bactérias do ciclo do nitrogênio.

Um estudo realizado por Araújo (2010) também aponta taxas baixas de respiração em um lodo de indústria alimentícia (com esgoto de funcionários), que foi explicada devido a uma alta concentração de carbono em relação a outros nutrientes e a não adição de micronutrientes. Além disso, este tipo de efluente possui uma grande concentração de gordura natural, o que também pode ter sido responsável pela menor capacidade respiratória. Beranger (2009) também encontrou taxas de consumo de oxigênio baixas em efluentes de indústrias de alimentos. Costa (2009), em seu estudo com efluentes de indústria farmacêutica e de alimentos, afirma que lodos ativados que não recebem descargas de materiais tóxicos nem de óleos e graxas apresentam taxas de respiração maiores, indicando que a TCO está diretamente relacionada com a presença de compostos tóxicos e gorduras.

Apesar de os testes de correlação entre os microrganismos e os parâmetros físico-químicos não apresentarem muitos resultados significativos, a literatura afirma que há correlação entre a densidade dos microrganismos com a diminuição da matéria orgânica no

efluente. Al Shahwani & Horan (1991), Curds (1982), Esteban et al. (1991), Madoni (1994), Salvadó et al. (1995) entre outros, afirmam que a presença de protozoários ciliados reflete um aumento na qualidade do efluente e, em um mesmo grupo, algumas espécies podem ser sensíveis à uma variável, enquanto outras podem ser mais resistentes (OLIVEIRA et al., 2009).

Os ciliados livre natantes apresentaram correlação positiva com a DQO e DBO₅ do efluente tratado, indicando que este grupo não contribui para a remoção da carga orgânica do efluente. Porém, Oliveira et al. (2009), em um estudo em lodos ativados de uma ETE que trata efluentes de mais de 50 indústrias, correlacionaram negativamente ciliados livre natantes com a carga de DQO do efluente e com a concentração de sólidos sedimentáveis, devido a não aderência desses organismos aos flocos, estando dispersos no licor misto. Os ciliados sésseis apresentaram correlação negativa com a DQO e DBO₅ do efluente tratado, indicando que este grupo está diretamente relacionado com a remoção da matéria orgânica. Este resultado está de acordo com o resultado observado por Goulart (2013) e Jardim et al. (1997). No entanto, não houve correlação deste grupo com os outros parâmetros físico-químicos analisados. No estudo de Goulart (2013) as espécies de *Vorticella* spp. apresentaram correlação negativa com DBO do efluente tratado indicando que, provavelmente, é um dos grupos mais importantes dentro dos ciliados sésseis na remoção de matéria orgânica. Já no trabalho de Salvadó et al. (1995) espécies de Suctória, com exceção de *Acineta tuberosa*, não apresentaram uma relação estreita com qualidade do efluente. Segundo Lee et al. (2004) e Oliveira et al. (2009), os ciliados sésseis podem ser utilizados como indicadores de remoção de carga orgânica e sólidos sedimentáveis, possivelmente por filtração de partículas e de bactérias dispersas. Porém, Jardim et al. (1997) observaram que quanto menor a remoção de sólidos sedimentáveis, maior é a presença deste grupo de protozoários provavelmente porque estes organismos são carregados quando ocorre uma remoção dos sólidos eficaz, comprovando a utilidade dos ciliados pedunculados como indicadores de uma baixa eficiência de sistemas de tratamento deste tipo na remoção do material sólido. Bento et al. (2005) e Jardim et al. (1997) observaram ainda correlações entre a ocorrência de nitrificação e a presença de ciliados sésseis no reator, no entanto, em nenhum dos dois trabalhos foi feita uma análise das bactérias envolvidas no ciclo do nitrogênio. Os rotíferos apresentaram correlação negativa com o SSV, o que também foi encontrado por Chen et al. (2004), Goulart (2013) e Zhou et al. (2008). Esta correlação pode ser explicada devido aos rotíferos serem considerados predadores de bactérias dispersas. Chen et al. (2004) constataram que os rotíferos mostraram uma associação negativa com a redução de DBO₅, DQO e remoção de sólidos em suspensão em duas estações de tratamento de esgoto na China. Goulart (2013) observou ainda que os rotíferos apresentaram correlação positiva com OD do tanque de aeração.

Os ciliados rastejantes, tecamebas e rotíferos apresentaram correlação positiva com o total de protozoários e micrometazoários encontrados no reator aeróbio. Esta correlação faz sentido, visto que estes três grupos foram os que apresentaram maior densidade. Bento et al. (2005), Goulart (2013) e Jardim et al. (1997) encontraram correlação negativa entre ciliados rastejantes e nitrogênio total e nitrato do efluente tratado, no qual estes autores afirmam que este grupo atua no processo de nitrificação, devido à presença do gênero *Aspidisca* que se alimenta de bactérias do ciclo do nitrogênio como *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. No entanto, nenhum destes autores fizeram análises com a densidade das bactérias envolvidas no ciclo do nitrogênio. Curds (1982) e Oliveira et al. (2009) observaram ainda, uma correlação negativa entre os ciliados rastejantes e a concentração de sólidos suspensos, que pode ocorrer pois estes ciliados se alimentam de bactérias que compreendem a maior parcela da biomassa do lodo ativado e dos sólidos liberados nos efluentes.

Os ciliados livre natantes apresentaram correlação negativa com os ciliados sésseis, indicando uma relação de predação; com o total de bactérias, *Nitrobacter* e outras bactérias, que não as envolvidas no ciclo do nitrogênio, no reator aeróbio, indicando que este grupo é predador de bactérias. No entanto, os ciliados livre natantes apresentaram correlação positiva com os outros invertebrados encontrados no tanque de aeração, indicando uma competição entre os dois grupos, confirmada pela correlação negativa apresentada entre os outros invertebrados e *Nitrobacter*. Os flagelados apresentaram correlação negativa com o total de bactérias encontradas no tanque de aeração, sugerindo que este grupo também é bacterívoro. Mobarry et al. (1996) verificou que as espécies *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* ocorreram em flocos aglomerados dentro de lodos ativados. A localização de bactérias oxidadoras de amônia de crescimento lento dentro do floco pode protegê-las da predação dos protozoários na superfície, além disso, os protozoários predadores de bactérias heterotróficas podem melhorar a capacidade das bactérias oxidadoras de amônia de desempenhar a sua função (GILBRIDE et al., 2006). O número total de bactérias apresentou correlação positiva com outras bactérias, que não as envolvidas no ciclo do nitrogênio, no reator aeróbio. Esta correlação faz sentido, visto que estas bactérias correspondem a 86,82% do total.

Apesar de não haver correlação entre a microfauna total e o total de bactérias encontradas no reator aeróbio, foi observada uma interação entre estes grupos, sugerindo uma relação de presa e predador, pois quando a densidade de um grupo aumenta a do outro diminui e vice-versa.

5. CONCLUSÕES

- Os parâmetros físico-químicos analisados neste estudo estiveram dentro dos limites permitidos pelas legislações do Rio de Janeiro, a NT 202 R.10 (INEA, 1986) e a DZ 205 R.06 (INEA, 2007) e Federais CONAMA 357:2005 (BRASIL, 2005) e CONAMA 430:2011 (BRASIL, 2011). Os valores de pH medidos nos reatores propiciam uma melhor condição para que ocorram as reações de redução da matéria orgânica, bem como para a remoção de nutrientes. Os parâmetros DBO₅ e DQO obtiveram uma alta eficiência de redução e a remoção do Nitrogênio Kjeldahl da saída do reator anaeróbio para o efluente tratado se mostrou eficiente, sugerindo alta taxa de nitrificação no reator aeróbio.
- Foi possível observar a presença tanto de bactérias oxidadoras de nitrito quanto de amônia em ambos os reatores analisados, bem como em cada ponto de coletas dentro dos reatores. A bactéria *P. fluorescens* também ocorreu em todos os pontos de coleta dos dois reatores. No reator anaeróbio foi observada diferença significativa apenas entre os Pontos 2 e 3 na contagem do número total de bactérias. Os resultados sugerem que a densidade de bactérias é maior nos pontos mais próximos à base do reator anaeróbio, onde a camada de lodo é mais densa. O estudo indicou também que *Nitrobacter*, Nitrospiraceae Nitrosomonadaceae e *P. fluorecens* não variam de acordo com a profundidade no reator anaeróbio. Em relação aos dois pontos analisados no reator aeróbio, não houve diferença significativa da densidade bacteriana. No entanto, o fato da densidade bacteriana ser maior no reator aeróbio pode ocorrer devido ao maior tempo de permanência das bactérias neste reator, já que ocorre a recirculação do lodo e as bactérias envolvidas no ciclo do nitrogênio apresentam um crescimento muito lento. A densidade das bactérias sofreu variações ao longo dos dias de coleta, mesmo não sendo evidenciadas pelos testes estatísticos. As bactérias envolvidas no ciclo do Nitrogênio correspondem a um percentual baixo em relação ao total de bactérias encontradas em ambos os sistemas analisados, indicando que a gama de bactérias envolvidas nos sistemas de tratamento de efluentes merece ser mais pesquisada para um melhor entendimento destes processos.

- Dentre os grupos que compõem a microfauna do lodo ativado, os ciliados rastejantes foram os mais frequentes, seguido pelas tecamebas, rotíferos, ciliados sésseis, ciliados livre natantes, flagelados e outros invertebrados. Não houve diferença entre as densidades dos grupos encontradas nos Pontos 1 e 2 do reator aeróbio. Os índices ecológicos evidenciaram uma riqueza baixa, dominância baixa onde predomina mais de uma espécie com números de indivíduos semelhantes e que apesar de não serem identificadas muitas espécies, não houve diferença na diversidade entre os dois pontos. Além disso, é possível afirmar que os organismos apresentam uma distribuição mediana dentro da comunidade.
- Baseado na microfauna encontrada nos dois pontos do tanque de aeração, é possível afirmar que o Índice Biótico do Lodo é igual a 8, que corresponde à classe I, onde o lodo é considerado estável, com excelente atividade biológica e excelente eficiência.
- A semelhança apresentada entre a TCO dos pontos 1 e 2, bem como a TCOe entre os pontos 1 e 2 sugere que o oxigênio é distribuído de forma homogênea dentro do tanque de aeração, fazendo com que os microrganismos tenham condições semelhantes de crescimento, o que é confirmado comparando a microbiota dos dois pontos de coleta dentro do reator aeróbio. No entanto, os baixos valores da TCO e TCOe e o baixo número de espécies de protozoários e micrometazoários encontrados sugerem que haja algum tipo de toxicidade no lodo.
- Apesar de os testes de correlação entre os microrganismos e os parâmetros físico-químicos não apresentarem muitos resultados significativos, a literatura afirma que há correlação entre a densidade dos microrganismos com a diminuição da matéria orgânica no efluente. Os ciliados livre natantes apresentaram correlação positiva com a DQO e DBO₅ do efluente tratado, indicando que este grupo não contribui para a remoção da carga orgânica do efluente. Já os ciliados sésseis apresentaram correlação negativa com a DQO e DBO₅ do efluente tratado, indicando que este grupo está diretamente relacionado com a remoção da matéria orgânica e os rotíferos apresentaram correlação negativa com o SSV, esta correlação pode ser explicada devido aos rotíferos serem considerados predadores de bactérias dispersas.

- Os ciliados rastejantes, tecamebas e rotíferos apresentaram correlação positiva com o total de protozoários e micrometazoários encontrados no reator aeróbio. Esta correlação faz sentido, visto que estes três grupos foram os que apresentaram maior densidade. Os ciliados livre natantes apresentaram correlação negativa com os ciliados sésseis, indicando uma relação de predação; com o total de bactérias, *Nitrobacter* e outras bactérias, que não as envolvidas no ciclo do nitrogênio, no reator aeróbio, indicando que este grupo é predador de bactérias. No entanto, os ciliados livre natantes apresentaram correlação positiva com os outros invertebrados encontrados no tanque de aeração, indicando uma competição entre os dois grupos, confirmada pela correlação negativa apresentada entre os outros invertebrados e *Nitrobacter*. Os flagelados apresentaram correlação negativa com o total de bactérias encontradas no tanque de aeração, sugerindo que este grupo também é bacterívoro. O número total de bactérias apresentou correlação positiva com outras bactérias, que não as envolvidas no ciclo do nitrogênio, no reator aeróbio. Esta correlação faz sentido, visto que estas bactérias correspondem a 86,82% do total. Apesar de não haver correlação entre a microfauna total e o total de bactérias encontradas no reator aeróbio, foi observada uma interação entre estes grupos, sugerindo uma relação de presa e predador, pois quando a densidade de um grupo aumenta a do outro diminui e vice-versa. Além disso, embora dos testes estatísticos não apresentarem correlação entre os ciliados rastejantes e as bactérias, dois gêneros encontrados são bacterívoros, *Aspidisca* e *Euplotes* e os gráficos mostram que o padrão de densidade apresentado pelo total de bactérias no reator aeróbio é inversamente proporcional ao apresentado pelos ciliados rastejantes, sugerindo uma possível relação de predação dos ciliados em relação as bactérias. Os ciliados livre natantes e outros invertebrados, que apresentaram correlação negativa com *Nitrobacter* também se mantiveram estáveis ao longo do período amostral, assim como a densidade de *Nitrobacter*. No reator aeróbio, o padrão de densidade apresentado pelos ciliados rastejantes foi bem semelhante ao encontrado por Nitrosomonadaceae em todo o período e por Nitrospiraceae a partir do 23º dia.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento da microbiota pode ajudar os biólogos a entender a estrutura da comunidade e os engenheiros a entender melhor o funcionamento do sistema em busca de uma eficiência máxima. Em virtude da carência de estudos associando a microfauna com a comunidade bacteriana em sistemas de tratamento de efluentes, é necessário que se faça mais pesquisas com este enfoque. O tempo do estudo deve ser adequado, bem como a escolha dos parâmetros físico-químicos, a metodologia de identificação da microfauna e sondas específicas para hibridização *in situ* fluorescente, para que se obtenha resultados satisfatórios. Embora a identificação de bactérias através de técnicas moleculares ser mais onerosa, seus resultados, associados ao estudo da microfauna, garantem um melhor entendimento das estações de tratamento em geral.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. A. V. *Identificação de Bactérias Filamentosas em Processos de Lamas Activadas através da Técnica de Hibridização in-situ de Fluorescência (FISH)*. 2004. 142f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia do Ambiente) – Escola de Engenharia, Universidade do Minho, Portugal, 2004.
- ALBUQUERQUE, E. M. *Avaliação do tratamento combinado de lixiviado de aterro sanitário e esgoto sanitário em sistema de lodos ativados*. 2012. 276f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2012.
- AL SHAHWANI, S. M. & HORAN, N. J. The use of protozoa to indicate changes in the performance of activated sludge plants. **Water Research**, v. 25, p. 633–638, 1991.
- AMANN, R.; FUCHS, B.M. Single-cell identification in microbial communities by improved fluorescence *in situ* hybridization techniques. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, p. 339-348, 2008.
- APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER ENVIRONMENT FEDERATION. *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 22 ed., Washington – D.C. 1108 p. 2012.
- ANDREOTTOLA, G; OLIVEIRA, E. L.; FOLADORI, P.; DALLAGO, L.; PETERLINI, R.; CADONNA, M. Método Respirométrico para o Monitoramento de Processos Biológicos. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 10, n. 1, p. 14-23, 2005.
- ALMEIDA, P. R. M.; MATOS, Z. M. R. Atuação dos protozoários no tratamento biológico de esgoto doméstico na ETE de Feira de Santana – Bahia. In: 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, ABES. *Anais*, 2003.
- ARAÚJO, J. C.; CAMPOS, A. P.; CORREA, M. M. S.; SILVA, E. C.; VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C. A. L. Enriquecimento de bactérias anaeróbias oxidadoras de amônia – Anammox. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v.15, n.2, p. 205-212, abr/jun, 2010.
- ARAÚJO, L. G. B. R. *Avaliação da influência dos nutrientes metálicos nos processos de lodos ativados*. 2010. 187f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.
- BASSIN, J. P.; KLEEREBEZEM, R.; ROSADO, A. S.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; DEZOTTI, M. Effect of Different Operational Conditions on Biofilm Development, Nitrification, and Nitrifying Microbial Population in Moving-Bed Biofilm Reactors. **Environmental Science and Technology**, v. 46, p. 1546-1555, 2012.
- BAUMGARTEN, M. Z.; POZZA, S. A. *Qualidade de Águas. Descrição de parâmetros físico-químicos referidos na legislação ambiental*. Editora da FURG, Rio Grande, 166p, 2001.
- BENTO, A. P.; SEZERINO, P. H., PHILIPPI, L. S; REGINATTO, V.; LAPOLLI, F. R. Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgoto do tipo lodos ativados: um

instrumento de avaliação e controle do processo. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 4, p. 329-338, 2005.

BERANGER, M. A. *Avaliação da influência do pH na respiração de lodos ativados*. 2009. 216f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

BOYE, M.; AHL, T.; MOLIN, S. Application of a strain-specific rRNA oligonucleotide probe targeting *Pseudomonas fluorescens* Ag1 in a mesocosm study of bacterial release into the environment. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, p.1384-1390, 1995.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução n° 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamentos de efluentes, e dá outras providências.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução n° 430 de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamentos de efluentes, complementa e altera a Resolução n° 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Manual técnico da microbiologia para sistemas de lodos ativados operando com esgoto doméstico. 43 p. 1985.

CHARLES, J.; SANCEY, B.; MORIN-CRINI, NADIA; BADOT, P-M; DEGIORGI, F; TRUNFIO, G.; CRINI, G. Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 2057–206, 2011.

CHEN, S.; XU, M.; CAO, H.; ZHU, J.; ZHOU, K.; YANG, X.; GAN, Y.; LUI, W.; ZHAI, J.; SHAO, Y. The activated-sludge fauna and performance of five sewage treatment plants in Beijing, China. **Euro. J. Protistology**, v. 40, p. 147-152, 2004.

CHERNICHARO, C. A. L. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Vol. 5. Reatores anaeróbios. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFMG, Belo Horizonte. 246p. 1997.

COSTA, V. S. L. *Avaliação de efeito tóxico utilizando o método respirométrico em processos de lodos ativados*. 2009. 139f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais e de Processos Químicos e Metalúrgicos, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

COTTRELL, M. T. Fluorescent *in situ* Hybridization (FISH). 2001. Disponível em: <http://www.ceoe.udel.edu/File%20Library/Our%20People/Profiles/kirchman/FISH.pdf>. Acesso em: 31 mar. 2015.

CURDS, C. R. The ecology and role of protozoa in aerobic sewage treatment processes. **Rev. Microbiol.**, v. 36, p. 27-46, 1982.

CURDS, C. R. *Protozoa in the water industry*. Cambridge University, Cambridge. 122p. 1992.

DAIMS, H., NIELSEN, J. L.; NIELSEN, P. H.; SCHLEIFER, K. H.; WAGNER, M. In situ characterization of *Nitrospira*-like nitrite-oxidizing bacteria active in wastewater treatment plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 11, p. 5273-5284. 2001.

DEZOTTI, M.; SANT'ANNA-JR, G. L.; BASSIN, J. P. *Processos biológicos avançados para tratamento de efluentes e técnicas de biologia molecular para o estudo da diversidade microbiana*. Rio de Janeiro. Ed. Interciência Ltda. 368 p. 2011.

EPSTEIN, S. S; ROSSEL, J. Enumeration of Sandy sediment bacteria: search for optimal protocol. **Marine Ecology Progress Series**, v. 117, p. 289-298. 1995.

ESTEBAN, G.; TELLEZ, C.; BAUTISTA, L. M. Dynamics of ciliated protozoa communities in activated-sludge process. **Water Research**, v. 25, p. 967-972, 1991.

FERNANDES, J. G. S.; VAN HAANDEL, A.; CAVALCANTI, P. F. F.; COURA, L. R. Utilização da respirometria no controle operacional de sistemas aeróbios de tratamento de águas residuárias - A experiência da CETREL. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 6, n. 3, jul/set, 2001 e n. 4, out/dez, 2001.

GEETS, J.; COOMAN, M.; WITTEBOLLE, L.; HEYLEN, K.; VANPARYS, B.; DE VOS, P.; VERSTRAETE, W.; BOON, N. Real-time PCR assay for the simultaneous quantification of nitrifying and denitrifying bacteria in activated sludge. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 75, p. 211-221, 2007.

GERARDI, M.H. *Wastewater Bacteria*. New Jersey: John Wiley & Sons, 272p. 2006.

GILBRIDE, K. A.; LEE, D. Y.; BEAUDETTE, L. A. Molecular techniques in wastewater: Understanding microbial communities, detecting pathogens, and realtime process control. **Journal of Microbiological Methods**, v. 66, p. 1-20, 2006.

GOULART, J. A. G. *Estudo da remoção de cistos de Giardia spp. e oocistos Cryptosporidium spp. e caracterização da microfauna em estações de tratamento de esgoto: instrumentos de avaliação e controle do processo*. 2013. 190f. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

HERBERT, R.A. Nitrogen cycling in coastal marine ecosystems. **FEMS Microbiology Review**, v. 23, p. 563-590, 1999.

HOGG, S. *Essential Microbiology*. Chichester. John Wiley & Sons. 481p. 2005.

HOVANEC, T. A.; TAYLOR, L. T.; BLAKIS, A.; DELONG, E. F. *Nitrospira*-like bacteria associated with nitrite oxidation in freshwater aquaria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 258-264, 1998.

INEA (INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE) – *Norma Técnica 202 R.10. Critérios e Padrões para Lançamentos de Efluentes Líquidos*. Rio de Janeiro, 1986.

INEA (INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE) – *Diretriz 205 R.06. Diretriz de Controle de Carga Orgânica em Efluentes Líquidos de origem Industrial*. Rio de Janeiro, 2007.

ISOLDI, L. A.; KOETZ, P. R.; ISOLDI, L. A. Pós-tratamento de efluente nitrificado da parboilização de arroz utilizando desnitrificação em reator UASB. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 10, n. 4, p. 271-277, out-dez, 2005.

JARDIM, F. A.; BRAGA, J. M. S.; MESQUITA, M. M. F. Avaliação da eficiência do tratamento biológico de esgotos através da caracterização da microbiota da ETE Fonte Grande – Contagem – MG. In: 19º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, ABES. *Anais*. 1997.

JENKINS, D; RICHARD, M. G.; DAIGGER, G. T. *Manual on the causes and control of activated sludge, bulking, foaming and other solids separation problems*. 3 ed. CRC Press, 190p. 2003.

JURETSCHKO, S.; TIMMERMANN, G.; SCHMID, M.; SCHLEIFER, K. H.; POMMERENING-ROSER, A.; KOOPS, H. P.; WAGNER, M. Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge: *Nitrosococcus mobilis* and *Nitrospira*-like bacteria as dominant populations. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 8, p. 3042-3051, 1998.

KIRCHMAN, D. L. *Microbial ecology of the oceans*. New York. John Wiley & Sons. 542p. 2000.

LEE, S.; BASU, S.; TYLER, C. W.; WEI, I. W. Ciliate populations as bio-indicators at Deer Island treatment plant. **Advances in Environmental Research**, v. 8, p. 371-378, 2004.

LIU, J. et al. Comparative study of protozoan communities in full-scale MWTPs in Beijing related to treatment processes. **Water Research**, v. 42, n. 8-9, p. 1907-18, 2008.

MADONI, P. A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analyses. **Water Research**, v. 28, n. 1, p. 67-75, 1994.

MAIER, R. M.; PEPPER, I. L.; GERBA, C. P. *Environmental Microbiology*. San Diego: Academic Press, 585p., 2000.

MARCHINI, A. E.; MACHADO, V. R.; STÜLP, S. Avaliação preliminar do potencial de reuso de efluente gerado em indústria de alimentos degradado por via fotoquímica. **Tecno-Lógica**, v. 15, n. 2, p. 67-72, jul./dez, 2011.

MCKINNEY, R. E. *Environmental Pollution Control Microbiology*. New York: Marcel Dekker. 468p, 2004.

MEDEIROS, J. D. *Análise da diversidade taxonômica e funcional da atividade microbiana de um ambiente lótico urbano*. 2013. 131f. Dissertação (Ciências Biológicas – Genética e Biotecnologia) – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.

MENDES, A. A.; CASTRO, H. F.; PEREIRA, E. B.; FURIGO JR, A. Aplicação de lípases do tratamento de águas residuárias com elevados teores de lipídeos. **Química Nova**, v. 28, n. 2, p. 296-305, 2005.

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

MISSAGIA, B. *Estudo das comunidades bacterianas em filros biológicos percoladores utilizados para o pós-tratamento de efluentes de um reator UASB*. 2010. 113f. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

MOBARRY, B. K.; WAGNER, M.; URBAIN, V.; RITTMANN, B. E.; STAHL, D. A. Phylogenetic Probes for Analyzing Abundance and Spatial Organization of Nitrifying Bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 6, p. 2156-2162, 1996.

NASCIMENTO, R. A. *Desempenho de reator anaeróbio de manta de lodo utilizando efluentes líquidos de indústria alimentícia*. 1996. 139f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

OLIVEIRA, G. S. S.; ARAÚJO, C. V. M.; FERNANDES, J. G. S. Microbiologia de sistema de lodos ativados e sua relação com o tratamento de efluentes industriais: a experiência da CETREL. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 2, p. 183-192, 2009.

PARENTE, A. H.; BARROS e SILVA, E. A. Redução de efluentes líquidos na indústria alimentícia. **Química e Tecnologia**, ano 1, n. 1, jul./dez, 2002.

PAYNE, W. J. *Denitrification*. New York: Wiley. 419p., 1981.

PHILIPS, A. M. L. *Utilização de reator de biodiscos para tratamento de efluentes com altas concentrações de nitrogênio*. 2008. 194f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina. 2008.

PONTES, P. P.; CHERNICHARO, C. A. L. Efeito do retorno do lodo aeróbio sobre as características da biomassa presente em reatores UASB tratando esgoto sanitário. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 14, n. 2, abr/jun, 2009.

RICKLEFS, R. W. *Ecologia da Natureza*. 3 ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. 1996.

RUPPERTS, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. *Zoologia dos Invertebrados*. 7ed. Editora Roca, São Paulo. 1145p. 2005.

SALVADÓ, H.; GRACIA, M. P.; AMIGÓ, J. M. Capability of ciliated protozoa as indicators of efluente quality in activated sludge plants. **Water Research**, v. 29, n. 4, p. 1041-1050, 1995.

SANT'ANNA JÚNIOR, G. L. *Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro: Interciência. 418p., 2010.

SANTOS, C. *Estatística Descritiva - Manual de Auto-aprendizagem*, Lisboa, Edições Sílabo, 2007.

SANTOS, L. S. *A influência da salinidade nos processos de tratamento de efluentes por lodos ativados*. 2012. 102f. Dissertação (Mestrado Engenharia Ambiental). Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2012.

SCHOENHALS, M.; FRARE, L. M.; SARMENTO, L. A. V. Análise do desempenho de reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo no tratamento de efluentes da suinocultura. **Engenharia Ambiental**, v. 4, n. 1, p. 5-23, jan/jun, 2007.

SILVA, T. C. R. & DA-RIN, B. P. Caracterização da biota de uma estação experimental de tratamento de esgotos em diferentes idades de lodo. In: XXVII CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, ABES. *Anais*. 2001.

STETS, M. A. *Avaliação da influência do material suporte e caracterização da diversidade microbiana de reatores anaeróbios para o tratamento de efluentes de abatedouro*. 2008. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2008.

TEIXEIRA, R. M. *Remoção de nitrogênio de efluentes da indústria frigorífica através da aplicação dos processos de nitrificação e desnitrificação em biorreatores utilizados em um sistema de lagoas de tratamento*. 2006. 154f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2006.

TYAGI, V. K.; SUBRAMANIYAN, S.; KAZMI, A. A.; CHOPRA, A. K. Microbial community in conventional and extended aeration activated sludge plants in India. **Ecological Indicators**, v. 8, p. 550-554, 2008.

VAN HANDEEL, A. C.; MARAIS, G. *O comportamento do sistema de lodo ativado – Teoria e aplicações para projetos e operação*. Campina Grande, PB. 472p., 1999.

VAZOLLÈR, R. F.; GARCIA, A. D.; CONCEIÇÃO NETO, J. *Microbiologia de Lodos Ativados: Série Manuais*. CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. São Paulo. CETESB, 23p., 1991.

VEIGA, A. A. *Biodegradação de gordura em efluente, através da adição controlada de enzimas e microorganismos em reatores aeróbios em série*. 2003. 134f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.

VITOUSEK, P. M.; ABER, J.; HOWARTH, R. W.; LIKENS, G. E.; MATSON, P. A.; SCHINDLER, D. W.; SCHLESINGER, W. H.; TILMAN, G. D. Human alteration of the global nitrogen cycle: causes and consequences. **Ecological Applications**, v. 7, p. 737-750, 1997.

VON SPERLING, M. *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Lodos Ativados*. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 428 p., 1997.

VON SPERLING, M. Análise dos padrões brasileiros de qualidade de corpos d'água e de lançamento de efluentes líquidos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 3, n. 1, p. 111-132, 1998.

WAGNER, M.; AMANN, R. I.; LEMMER, H.; SCHLEIFER, K. H. Probing activated sludge with oligonucleotides specific for proteobacteria: inadequacy of culture dependent methods for describing microbial community structure. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, 1520-1525, 1996.

WALLNER, G.; AMANN, R.; BEISKER, W. Optimizing fluorescent *in situ* hybridization with rRNA-targeted oligonucleotide probes for flow cytometric identification of microorganisms. **Cytometry**, v. 14, p. 136-143, 1993.

ZHOU, K.; XU M.; LIU, B.; CAO, H. Characteristics of microfauna and their relationships with the performance of an activated sludge plant in China. **J. Environ. Sci.**, v. 20, p. 482–486, 2008.

APÊNDICE 1 – Dados brutos dos parâmetros físico-químicos

Tabela 17 – Temperatura, O.G., Materiais sedimentáveis, N. Total e Nitrato no Efluente Tratado.

	Temperatura (°C)	O.G.	Mat. Sediment.	N. Total	Nitrato
04/jun	27,0	<6,0	<0,5	0,8	-
17/jun	27,0	<6,0	<0,5	3,6	-
24/jun	-	<6,0	<0,5	-	0,29
02/jul	26,0	<6,0	<0,5	2,2	0,37
09/jul	26,5	<6,0	<0,5	-	0,18
17/jul	25,5	<6,0	<0,5	1,1	-
22/jul	-	-	-	-	0,04
30/jul	24,0	<6,0	<0,5	-	-
06/ago	25,0	<6,0	<0,5	2,0	0,48
12/ago	26,0	<6,0	<0,5	-	0,47
21/ago	25,0	<6,0	<0,5	3,5	<0,01
27/ago	-	<6,0	<0,5	-	0,14
02/set	26,0	<6,0	<0,5	3,8	1,24
10/set	-	<6,0	<0,5	-	0,07
18/set	27,0	<6,0	<0,5	1,5	-

Tabela 18 – SST e SSV no Tanque de aeração.

	SST	SSV
04/jun	4400	3260
17/jun	4365	3210
24/jun	3965	2860
02/jul	1913	1430
09/jul	5387	3865
17/jul	5090	3855
30/jul	4550	3425
06/ago	4340	3275
12/ago	5355	4100
21/ago	4773	3670
27/ago	5430	4195
02/set	5435	4115
10/set	5315	4125
18/set	4733	3563
23/set	4865	3500

Tabela 19 – Resultados do pH medidos no efluente bruto, saída do tratamento primário, saída do UASB, tanque de aeração, saída do aeróbio e efluente tratado.

	Efl. Bruto	Saída 1°	Saída UASB	Tq. Aeração	Saída aeróbio	Efl. Tratado
04/jun	5,00	6,00	7,00	7,00	7,00	7,00
17/jun	4,00	6,50	7,00	7,00	7,00	7,00
24/jun	4,30	6,21	7,70	7,10	7,00	7,00
02/jul	4,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
09/jul	4,80	6,90	7,00	7,00	7,00	7,00
17/jul	4,30	6,20	7,10	7,60	7,00	7,00
30/jul	4,00	6,50	7,00	7,00	7,80	8,07
06/ago	4,50	7,30	7,30	7,50	7,00	7,00
12/ago	4,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
21/ago	4,00	6,50	7,00	7,00	7,00	7,00
27/ago	4,00	6,00	7,00	7,00	7,00	7,00
02/set	5,10	6,70	7,00	7,10	7,00	7,00
18/set	3,74	6,08	7,30	7,50	7,00	7,00

Tabela 20 – Resultados da DBO₅ medida no efluente bruto, saída do tratamento primário, saída do UASB, tanque de aeração, saída do aeróbio e efluente tratado.

	Efl. Bruto	Saída 1°	Saída UASB	Saída aeróbio	Efl. Tratado
04/jun	3260	1174	82	6	3
17/jun	1841	-	-	-	3
02/jul	11990	1042	53	<3	3
17/jul	1953	-	-	-	3
06/ago	2344	1378	129	4	3
21/ago	1699	-	-	-	50
02/set	1475	985	27	5	5
18/set	2452	-	-	-	4

Tabela 21 – Resultados da DQO medida no efluente bruto, saída do tratamento primário, saída do UASB, tanque de aeração, saída do aeróbio e efluente tratado.

	Efl. Bruto	Saída 1°	Saída UASB	Saída aeróbio	Efl. Tratado
04/jun	8820	2742	193	21	16
13/jun	-	2597	93	-	-
17/jun	5120	1472	108	-	44
24/jun	5020	2453	83	-	21
02/jul	30480	2018	151	23	16
09/jul	5390	2046	58	-	15
17/jul	5054	2330	230	-	15
22/jul	-	1751	89	-	-
30/jul	4308	-	-	-	27
06/ago	5312	2853	256	34	20
12/ago	5585	2010	196	-	18
21/ago	3817	2000	290	-	143

27/ago	4745	2046	161	-	29
02/set	7531	2510	188	164	139
10/set	4646	2510	233	-	-
18/set	7333	-	-	-	24

Tabela 22 – Resultados do Fósforo Total medido na saída do UASB e efluente tratado.

	Saída UASB	Efl. Tratado
04/jun	0,5	0,3
13/jun	0,8	0,6
17/jun	0,7	0,6
24/jun	0,6	0,6
02/jul	0,5	0,4
09/jul	0,5	0,5
17/jul	0,6	0,1
22/jul	0,3	0,2
06/ago	0,5	0,1
12/ago	0,3	0,1
27/ago	0,4	0,2
02/set	0,5	0,3
10/set	0,5	0,2
18/set	0,3	0,2

Tabela 23 – Resultados do Nitrogênio Kjeldahl medido na saída do UASB e efluente tratado.

	Saída UASB	Efl. Tratado
13/jun	5,3	1,7
17/jun	9,0	2,1
24/jun	6,0	1,8
02/jul	4,8	1,6
09/jul	4,7	1,4
17/jul	9,3	1,1
22/jul	11,3	2,2
06/ago	6,0	1,7
12/ago	9,0	1,3
21/ago	9,0	2,1
27/ago	5,9	1,5
02/set	7,5	2,3

APÊNDICE 2 – Dados brutos FISH

Tabela 24 – Densidade de bactérias (10^6 cél/mL) para cada sonda específica, encontrada em cada ponto dos sistemas estudados.

Amostra	Sistema	Ponto	Dia	DAPI	NIT 3	NSO	NTSPA	PsAg	NON
1	anaeróbio	1	1	16,84	2,66	0,09	0,79	2,18	0,00
2	anaeróbio	2	1	19,02	10,91	2,92	3,66	5,06	4,89
3	anaeróbio	3	1	30,75	5,06	1,83	1,83	0,74	1,13
6	anaeróbio	1	3	16,32	1,83	0,44	1,00	1,53	0,09
7	anaeróbio	2	3	22,77	0,79	1,00	4,19	1,44	0,39
8	anaeróbio	3	3	10,99	3,23	0,61	0,31	0,48	0,48
11	anaeróbio	1	5	15,88	1,13	1,09	0,31	1,22	1,22
12	anaeróbio	2	5	26,83	1,40	2,31	0,65	2,09	0,96
13	anaeróbio	3	5	12,39	1,18	1,35	1,31	2,01	2,62
16	anaeróbio	1	8	55,71	0,57	0,61	0,74	0,57	0,31
17	anaeróbio	2	8	39,74	0,09	0,96	1,13	0,31	0,00
18	anaeróbio	3	8	11,52	0,96	0,70	0,96	2,36	0,04
21	anaeróbio	1	10	38,13	0,61	1,70	0,61	3,01	0,00
22	anaeróbio	2	10	70,89	1,70	0,52	0,83	2,01	0,39
23	anaeróbio	3	10	13,38	21,03	0,00	0,91	1,27	7,46
26	anaeróbio	1	23	31,50	2,53	0,09	0,74	1,40	0,35
27	anaeróbio	2	23	55,40	1,35	0,65	0,48	0,35	2,14
28	anaeróbio	3	23	11,34	0,22	0,7	0,91	1,27	1,27
31	anaeróbio	1	38	6,98	0,35	0,76	1,04	1,53	0,45
32	anaeróbio	2	38	35,25	1,57	0,22	0,48	0,00	0,48
33	anaeróbio	3	38	9,51	2,62	0,35	1,48	2,31	0,09
36	anaeróbio	1	52	124,50	4,01	1,31	1,00	1,00	0,92
37	anaeróbio	2	52	47,51	0,74	0,39	0,00	0,61	0,96
38	anaeróbio	3	52	20,37	0,79	0,00	0,00	0,00	0,74
41	anaeróbio	1	65	67,79	3,14	0,79	3,14	1,35	0,70
42	anaeróbio	2	65	39,62	2,32	1,12	1,43	1,48	1,28
43	anaeróbio	3	65	11,91	1,00	0,74	0,48	1,00	0,13
4	aeróbio	1	1	25,69	0,57	0,96	1,66	3,14	0,17
5	aeróbio	2	1	66,79	2,57	4,93	2,62	0,92	0,87
9	aeróbio	1	3	78,13	2,05	1,44	2,05	1,53	0,39
10	aeróbio	2	3	64,35	2,14	0,92	1,44	3,66	0,83
14	aeróbio	1	5	86,38	3,23	2,57	1,05	2,01	0,26
15	aeróbio	2	5	74,38	6,33	2,01	1,48	1,61	0,35
19	aeróbio	1	8	86,03	2,44	3,01	1,83	2,01	0,09
20	aeróbio	2	8	82,58	1,22	2,57	1,79	1,40	0,13
24	aeróbio	1	10	66,66	2,49	1,44	2,40	4,14	0,48
25	aeróbio	2	10	74,86	3,01	1,79	2,57	2,79	0,61
29	aeróbio	1	23	67,53	1,74	1,61	6,37	2,36	0,79
30	aeróbio	2	23	51,08	1,79	2,05	2,36	4,28	0,39
34	aeróbio	1	38	56,27	1,35	0,00	1,83	2,05	0,65

35	aeróbio	2	38	71,94	1,18	0,39	0,87	1,48	0,44
39	aeróbio	1	52	27,70	1,13	1,05	1,83	0,65	0,22
40	aeróbio	2	52	68,27	2,05	4,89	11,87	1,61	0,74
44	aeróbio	1	65	37,25	1,09	0,65	0,35	3,14	0,13
45	aeróbio	2	65	96,67	1,09	0,39	0,61	1,79	1,35

APÊNDICE 4 – Dados brutos dos Testes de Respirometria

Tabela 26 – Resultados do Teste de Respirometria

Data	Tempo (min)	Ponto 1 (mgO₂/L)	Ponto 2 (mgO₂/L)
Dia 1	00:00	7,00	8,78
	00:30	5,78	5,33
	01:00	5,73	5,29
	01:30	5,68	5,24
	02:00	5,63	5,2
	02:30	5,58	5,15
	03:00	5,52	5,1
	03:30	5,46	5,05
	04:00	5,41	5,01
	04:30	5,35	4,95
	05:00	5,30	4,91
	05:30	5,24	4,86
	06:00	5,18	4,81
	06:30	5,13	4,76
	07:00	5,08	4,71
Dia 3	00:00	9,43	9,39
	00:30	5,83	5,97
	01:00	5,66	5,86
	01:30	5,54	5,77
	02:00	5,42	5,70
	02:30	5,35	5,62
	03:00	5,24	5,54
	03:30	5,16	5,47
	04:00	5,06	5,40
	04:30	4,97	5,34
	05:00	4,86	5,27
	05:30	4,77	5,21
	06:00	4,69	5,13
	06:30	4,61	5,08
	07:00	4,52	5,01
Dia 5	00:00	9,93	8,09
	00:30	4,03	3,03
	01:00	3,76	2,86
	01:30	3,55	2,74
	02:00	3,40	2,64
	02:30	3,26	2,54
	03:00	3,13	2,46
	03:30	3,02	2,37

	04:00	2,91	2,29
	04:30	2,82	2,21
	05:00	2,73	2,14
	05:30	2,65	2,06
	06:00	2,57	2,00
	06:30	2,50	1,92
	07:00	2,43	1,85
	<hr/>		
	00:00	8,71	8,11
	00:30	5,52	5,17
	01:00	5,50	5,10
	01:30	5,46	5,05
	02:00	5,45	5,00
	02:30	5,40	4,95
	03:00	5,35	4,91
Dia 8	03:30	5,29	4,85
	04:00	5,25	4,80
	04:30	5,21	4,75
	05:00	5,15	4,71
	05:30	5,11	4,65
	06:00	5,07	4,61
	06:30	5,02	4,56
	07:00	4,97	4,50
	<hr/>		
	00:00	9,50	8,54
	00:30	6,00	4,07
	01:00	5,82	4,01
	01:30	5,64	3,93
	02:00	5,46	3,86
	02:30	5,31	3,79
	03:00	5,17	3,71
Dia 10	03:30	5,06	3,64
	04:00	4,94	3,56
	04:30	4,84	3,49
	05:00	4,73	3,41
	05:30	4,63	3,34
	06:00	4,52	3,27
	06:30	4,40	3,20
	07:00	4,26	3,12
	<hr/>		
	00:00	7,22	7,36
	00:30	4,75	3,80
	01:00	4,72	3,73
Dia 23	01:30	4,57	3,62
	02:00	4,46	3,56
	02:30	4,33	3,47
	03:00	4,26	3,4
	03:30	4,17	3,32
	<hr/>		

	04:00	4,09	3,26
	04:30	3,99	3,19
	05:00	3,94	3,11
	05:30	3,85	3,04
	06:00	3,80	2,98
	06:30	3,73	2,90
	07:00	3,64	2,84
	<hr/>		
	00:00	7,13	7,60
	00:30	2,08	1,55
	01:00	1,43	1,28
	01:30	1,23	1,21
	02:00	1,08	1,14
	02:30	0,97	1,08
	03:00	0,88	1,05
Dia 38	03:30	0,82	1,03
	04:00	0,74	0,98
	04:30	0,68	0,92
	05:00	0,62	0,87
	05:30	0,55	0,82
	06:00	0,50	0,77
	06:30	0,46	0,73
	07:00	0,45	0,68
	<hr/>		
	00:00	6,10	7,46
	00:30	4,37	3,89
	01:00	4,21	3,74
	01:30	4,08	3,66
	02:00	3,98	3,57
	02:30	3,91	3,49
	03:00	3,91	3,43
Dia 52	03:30	3,84	3,38
	04:00	3,76	3,30
	04:30	3,71	3,25
	05:00	3,65	3,18
	05:30	3,62	3,13
	06:00	3,59	3,05
	06:30	3,53	3,00
	07:00	3,49	2,91
	<hr/>		
	00:00	7,55	9,22
	00:30	5,36	4,66
	01:00	5,40	4,54
Dia 65	01:30	5,28	4,48
	02:00	5,09	4,41
	02:30	5,01	4,38
	03:00	4,91	4,31
	03:30	4,83	4,25
	<hr/>		

04:00	4,74	4,17
04:30	4,66	4,10
05:00	4,65	4,04
05:30	4,54	3,96
06:00	4,44	3,89
06:30	4,36	3,84
07:00	4,28	3,77
