

ESTUDO DA COMUNIDADE DE PROTOZOÁRIOS EXPOSTA A TÓXICOS EM ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS

A. NICOLAU¹, M. J. MARTINS^{1,2}, M. MOTA¹ e N. LIMA¹

¹Centro de Engenharia Biológica – IBQF, Universidade do Minho, 4700-320 Braga, Portugal

²Instituto de Engenharia Biomédica, Praça Coronel Pacheco nº1, 4050 Porto, Portugal

RESUMO

A importância e o papel dos protozoários nos processos de tratamento aeróbio de águas residuais são bem conhecidos, e constituem um valioso instrumento da avaliação do funcionamento das ETAR, por permitir relacionar a densidade, diversidade ou a ocorrência de determinadas espécies com a composição do esgoto ou com os factores físico-químicos prevalentes no tanque de arejamento. No presente trabalho, duas estações de tratamento de águas residuais experimentais foram alimentadas com esgoto real e as lamas foram expostas a diversas concentrações de cobre, zinco e cicloheximida. Nestas condições, foi estudada a evolução da comunidade de protozoários, em termos de diversidade, de densidade e da sua estrutura, utilizando o Índice Biótico de Lamas, e relacionada esta evolução com a eficiência de remoção da CQO.

PALAVRAS-CHAVE: Índice Biótico de Lamas, Indicadores biológicos, Lamas activadas, Protozoários, Toxicidade

INTRODUÇÃO

No tanque de arejamento das estações de tratamento de águas residuais por lamas activadas, estabelece-se uma verdadeira rede trófica (Figura 1) e qualquer modificação da estrutura da comunidade dos protozoários pode vir a afectar todo o desempenho biológico da estação.

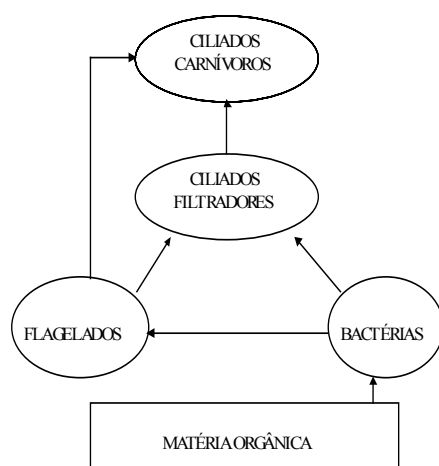


Figura 1 – Rede trófica nas lamas activadas.

Através da predação da maior parte das bactérias dispersas na fracção líquida, e ainda de parte dos seus agregados, os protozoários melhoram a qualidade da água. De facto, na ausência de protozoários, e sobretudo de protozoários ciliados, os efluentes são caracterizados por elevadas CBO's e grande turbidez.

No que diz respeito aos ciliados bacteriófagos das lamas activadas, eles são de três tipos, de acordo com o seu comportamento (Figura 2): (A) nadadores, aqueles que nadam na fracção líquida e permanecem em suspensão no tanque de sedimentação, (B) sésseis, aqueles que estão fixos por um pedúnculo aos flocos e precipitam no tanque de sedimentação; (C) móveis de fundo, aqueles que habitam a superfície dos flocos. Os processos de tratamento por lamas activadas baseiam-se na formação de agregados bacterianos aos quais outros organismos se associam. Assim, uma população de organismos com a capacidade de se associar aos flocos tem uma grande vantagem sobre outros que nadam na fracção líquida e que estão, além disso, sujeitos a serem expulsos do sistema através do efluente que drena água continuamente para o exterior. Por outro lado, nadadores e sésseis competem pelo alimento, constituído pelas bactérias dispersas na fracção líquida; os designados móveis de fundo, tendo uma “boca ventral” com que raspam as bactérias aderentes à superfície dos flocos, ocupam um nicho ecológico exclusivo, com todas as vantagens que daí advêm.

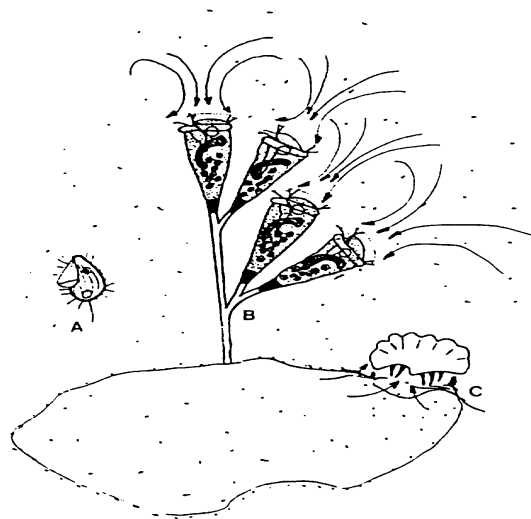


Figura 2 – Mecanismo de filtração das bactérias por parte dos diferentes grupos de ciliados bacteriófagos: nadadores (A), sésseis (B) e móveis de fundo (C)(Madoni, 1994a).

Uma estação de tratamento a funcionar em pleno não deve albergar, em número significativo, espécies características da fase de colonização, mas tal pode acontecer transitoriamente no caso de, falta de oxigenação, carga excessiva ou muito variável no tempo, variações significativas dos tempos de retenção, etc. De um modo geral, as lamas activadas devem apresentar: (1) densidade elevada da microfauna, isto é, pelo menos 10^6 células por litro; (2) composição específica baseada em formas sésseis e

móveis de fundo, estando os flagelados quase ausentes; (3) uma comunidade particularmente diversificada, onde nenhum grupo ou espécie domine numericamente outros em mais do que um factor de 10 (Madoni, 1994b).

Muitos estudos têm centrado a sua atenção no papel e importância dos protozoários no tratamento biológico das águas residuais, tendo sido inclusivamente demonstrado que a estrutura da comunidade que se desenvolve no tanque de arejamento de uma ETAR é um valioso instrumento de diagnóstico e avaliação do desempenho da estação de tratamento. Por isso, além do seu papel no tratamento das águas residuais, são também indicadores biológicos, proporcionando um importante parâmetro de avaliação da qualidade desse mesmo tratamento (Curds, 1982; Madoni, 1984). Por outro lado, os protozoários pertencem a um grupo de microrganismos pouco caracterizado em termos de aplicações biotecnológicas e o seu potencial como indicadores biológicos tem sido, neste campo, muito menosprezado.

A presença de metais pesados e outros tóxicos como poluentes dos sistemas aquáticos tornou-se, nos últimos anos, um problema comum. Têm a sua principal origem nos esgotos industriais, reduzindo a eficiência dos tratamentos biológicos das águas residuais, devido a fenómenos de intoxicação das lamas. No presente trabalho, duas estações de tratamento de águas residuais experimentais foram alimentadas com esgoto real e as lamas foram expostas a diversas concentrações de cobre, zinco e cicloheximida com o objectivo de melhor compreender nestas situações a evolução da comunidade de protozoários com o desempenho das estações.

MATERIAL E MÉTODOS

Descrição da instalação experimental

Foram construídos dois protótipos iguais de estações de tratamento de águas residuais para o tratamento secundário constituídos, cada um deles, por tanque de arejamento e decantador secundário (Figura 3). A partir de um tanque comum, alimentaram-se as duas estações com esgoto proveniente da Estação de Tratamento de Águas Residuais de Braga. Este foi recolhido após o tratamento primário, *i.e.*, após remoção de sólidos grossos, areias e gorduras e decantação primária. O esgoto foi recolhido três vezes por semana, de modo a que não ocorresse uma modificação significativa no tanque de alimentação que pudesse vir a influenciar os resultados. O Oxigénio Dissolvido nos tanques de arejamento foi mantido entre 3,6 e 4,8 mg/l. O pH do esgoto situou-se à volta de 7, e nos tanques de arejamento o pH situou-se entre 5,8 e 6,3.

Tóxicos e concentrações

Os tóxicos foram ministrados numa única dose nas seguintes concentrações: 4, 8, 20 ou 50 mg/l de cobre sem habituação, e 4 mg/l de cobre com habituação; 4, 8, 25 ou 50 mg/l de zinco sem habituação, e 4 ou 8 mg/l de zinco com habituação; 1, 5 ou 20 mg/l de

cicloheximida sem habituação, e 15 mg/l de cicloheximida com habituação. O termo “habituação” refere-se à adição do tóxico quando a comunidade foi previamente aclimatizada ao tóxico, por uma adição anterior, sem ter passado tempo suficiente para que os organismos fossem substituídos por outros não expostos ao tóxico. Em certas alturas, as lamas tiveram de ser substituídas por lamas novas, quando não parecia haver hipótese de recuperação total do equilíbrio antes de um novo ensaio.

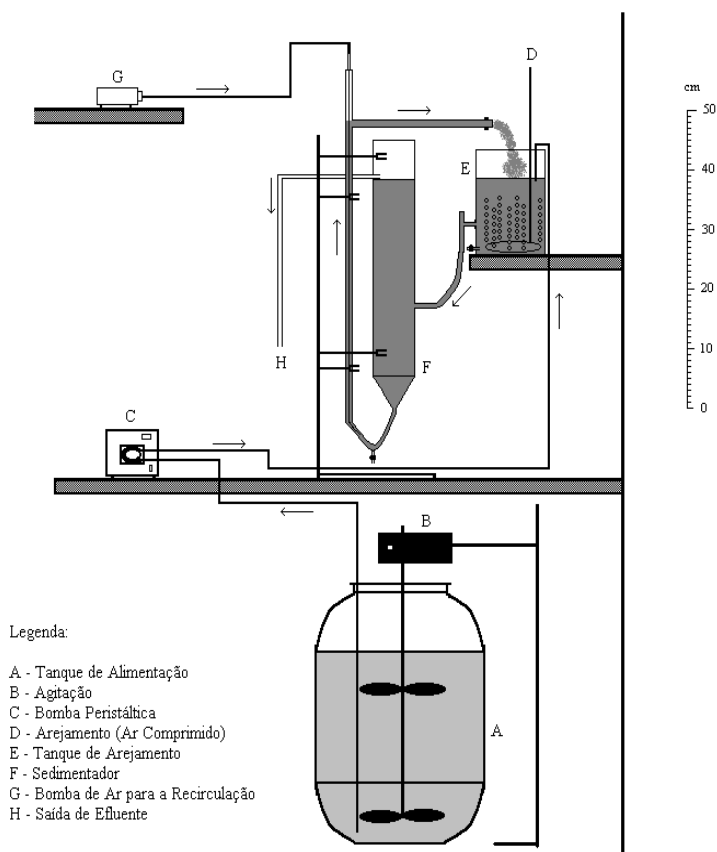


Figura 3 – Protótipo das estações experimentais.

Análise dos parâmetros físico-químicos

Durante o período de ensaios, que decorreu entre Março de 1998 e Março de 1999, foram avaliados regularmente, entre outros, os seguintes parâmetros físico-químicos: Carência Química em Oxigénio (CQO), Zinco (Zn) e Cobre (Cu). Para o efeito foram usados os métodos fotométricos Spectroquant da Merck.

Análise dos parâmetros biológicos

A evolução da comunidade de protozoários do tanque de arejamento foi acompanhada através da observação microscópica. Segundo o método descrito por Madoni (1984), determinou-se as espécies presentes (sempre que foi possível chegar até este nível), o número de indivíduos de cada taxon e o número de pequenos flagelados, de duas amostras de lamas de 25 µl. Foi ainda determinado o Índice Biótico de Lamas (“Sludge Biotic Index” - SBI), proposto por Madoni (1994b). Este índice baseia-se na abundância e diversidade específica da comunidade de protozoários no tanque de arejamento com lamas activadas e nas diferentes sensibilidades reveladas por alguns grupos da microfauna aos factores físico-químicos prevalentes no sistema. A avaliação é feita através de valores numéricos (entre 0 e 10), o que permite comparar a qualidade biológica das lamas no tanque de arejamento ao longo do tempo e, conseqüentemente, as condições operacionais da estação em causa.

O número de pequenos flagelados, que entra como factor de ponderação no cálculo do SBI, foi também usado independentemente deste índice para caracterizar a microfauna no tanque de arejamento: um elevado número de flagelados indica geralmente uma deficiente depuração na estação. Para este parâmetro foram definidos os três patamares de variação propostos por Madoni (1994b) para o cálculo do SBI: entre 0 e 10 (na Figura 4 aparece como 0), entre 10 e 100 (na Figura 4 aparece como 10) e mais de 100 (na Figura 4 aparece como 100).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas figuras que se seguem estão apresentados apenas os resultados mais relevantes dos ensaios de toxicidade. A Figura 4 mostra a variação do SBI, número de pequenos flagelados, número de espécies (ou taxa supra-específicos quando não foi possível chegar à espécie) e eficiência de remoção da CQO.

De um modo geral, a introdução do cobre levou a um abaixamento brusco do SBI, do número de espécies e da eficiência de remoção da CQO. Com as concentrações mais elevadas (20 e 50 mg/l), o SBI não recuperou os valores iniciais ao fim de cerca de 7 dias, apesar do número de espécies ser superior a 10 e permitir esperar um elevado SBI. O elevado número de pequenos flagelados e a variação da composição específica (Figura 5) levaram ao abaixamento do SBI obtido. Na Figura 4, não se apresenta a variação da composição específica para 20 mg/l de cobre por esta ser muito semelhante à do ensaio com 50 mg/l. Por outro lado, a eficiência de remoção da CQO recuperou bem mesmo nestes duas concentrações (Figura 3). No ensaio de toxicidade com prévia habituação a 4 mg/l de cobre, não houve grandes variações da eficiência de remoção da CQO. Contudo e neste caso, a adição de cobre foi sentida sobretudo quer no número de espécies, apesar destas se terem mantido sempre acima das 10, quer na composição específica. A aparente degradação da comunidade no sétimo dia, patente na composição específica, no SBI, no aumento do número de flagelados e na eficiência de remoção da

CQO, pode ser atribuída a uma alteração não desejável da qualidade do esgoto que, como atrás se disse, foi recolhido periodicamente na ETAR de Braga.

No caso do zinco, a eficiência de remoção da CQO foi menos afectada do que no caso anterior observando-se sempre, excepto no caso da adição de 50 mg/l e dos 8 mg/l com habituação, um aumento da eficiência de remoção da CQO nos dois dias seguintes à adição e só depois um decréscimo, que só foi significativo no caso do ensaio com 25 mg/l. De um modo geral, a inoculação de zinco reflectiu-se no valor do SBI e no número de espécies, mas no caso dos ensaios com 50 mg/l e 4 mg/l com habituação, houve recuperação em termos do número de espécies mas não do valor do SBI, devido ao aumento do número de flagelados. O ensaio com 4 mg/l teve resultados inesperados ao fim de 8 dias (Figura 4), mas a degradação da comunidade de protozoários e a descida da eficiência de remoção da CQO foi mais uma vez atribuída à qualidade do esgoto com que foi alimentada a estação no oitavo dia. Esta diminuição da qualidade do esgoto reflectiu-se primeiro no SBI e no número de espécies da microfauna e só depois na eficiência de remoção da CQO. Ao nível da composição específica (Figura 5), também aqui se observa que só a adição de 50 mg/l de zinco teve efeitos drásticos na microfauna, tendo os móveis de fundo desaparecido completamente no segundo dia e só voltando aos níveis iniciais ao fim de 16 dias.

A cicloheximida foi o tóxico que teve efeitos menos drásticos ao nível da microfauna. O número de pequenos flagelados nunca foi superior a 10 e não desapareceu nenhum dos grupos funcionais existentes no início de cada ensaio. A eficiência de remoção da CQO foi afectada logo após a inoculação só no caso das adições de 15 e 20 mg/l deste composto, mas houve sempre recuperação dos valores iniciais até ao fim dos ensaios. A adição de concentrações mais baixas teve efeitos neste parâmetro só ao fim de 2 ou 3 dias. É de realçar, no entanto, que o número de espécies presente e o valor do SBI só recuperou completamente até ao final de cada ensaio no caso da concentração mais baixa (1 mg/l) e no caso em que tinha havido prévia habituação das lamas (15 mg/l). Neste último caso, o sistema partiu de um SBI de 7, e ao fim de 3 dias o SBI passou para 10, reflectindo uma recuperação neste parâmetro. A adição de 20 mg/l de cicloheximida não permitiu a recuperação da microfauna em termos do SBI e do número de espécies em 7 dias. Contudo, aparentemente, permitiu a recuperação das bactérias heterotróficas pois a eficiência de remoção da CQO recuperou nesse espaço de tempo. Esta observação está de acordo com o facto da cicloheximida inibir a síntese proteica em eucariontes mas não em procariontes.

Na Figura 6 está evidenciada a tendência de variação da densidade de *Aspidisca cicada* no tanque de arejamento de acordo com a concentração inicial de cobre adicionado e com o SBI. Neste caso, verifica-se que *Aspidisca cicada* prevalece como móvel de fundo em sistemas com concentrações baixas de cobre, diminuindo a sua densidade conforme a concentração de cobre se torna mais elevada. Este comportamento observado implica que *Aspidisca cicada* contribua para elevados SBI. Quando se encontra SBI baixos para concentrações de cobre elevadas, naturalmente que esta espécie indicadora deixa de estar presente nas lamas intoxicadas.

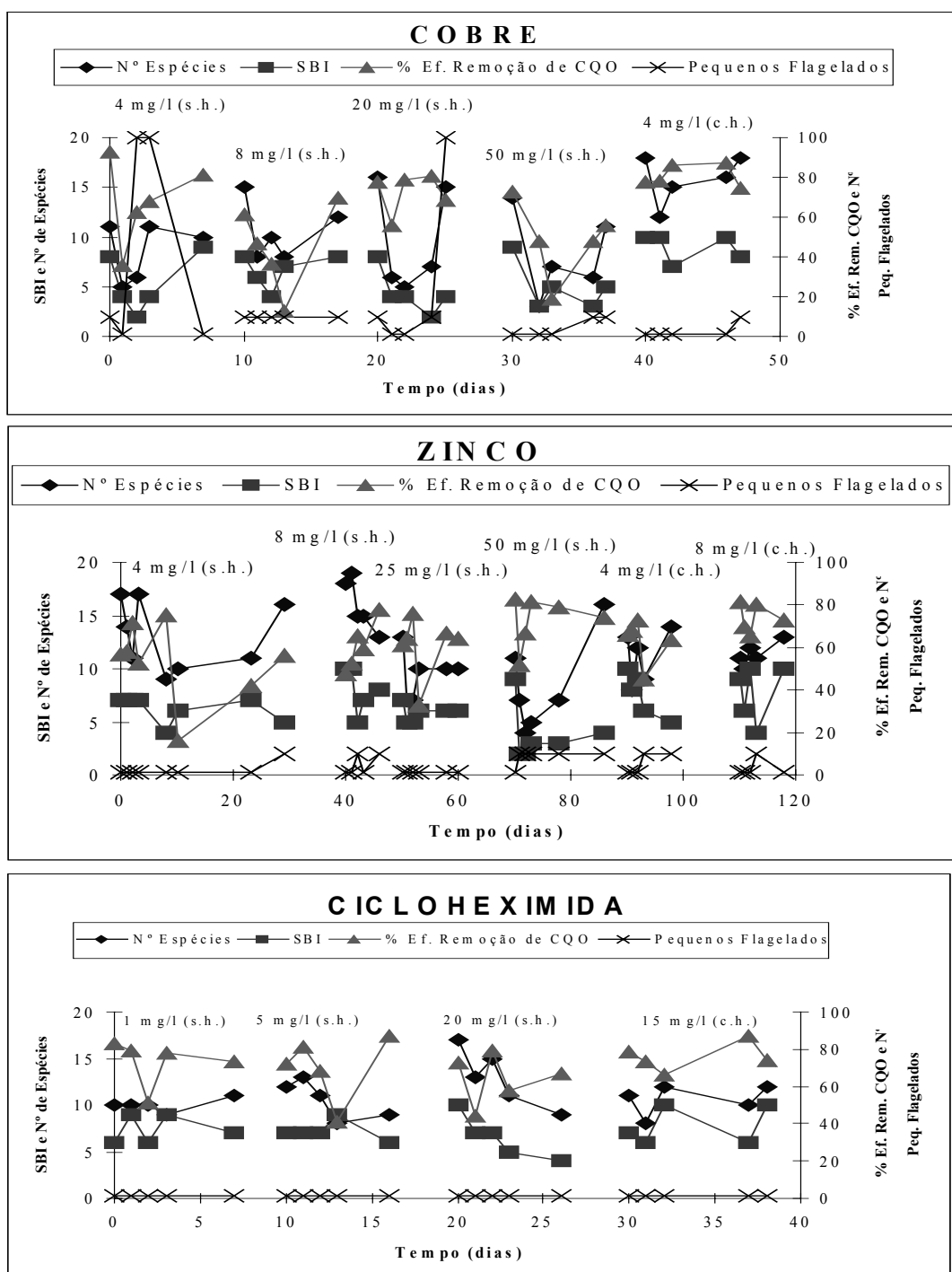


Figura 4 - Evolução ao longo do tempo de alguns parâmetros, após exposição das estações experimentais, a diversas concentrações de cobre, zinco e cicloheximida. Estão individualizados os ensaios e as concentrações iniciais dos tóxicos com indicação de sem habituação (s.h.) e com habituação (c.h.).

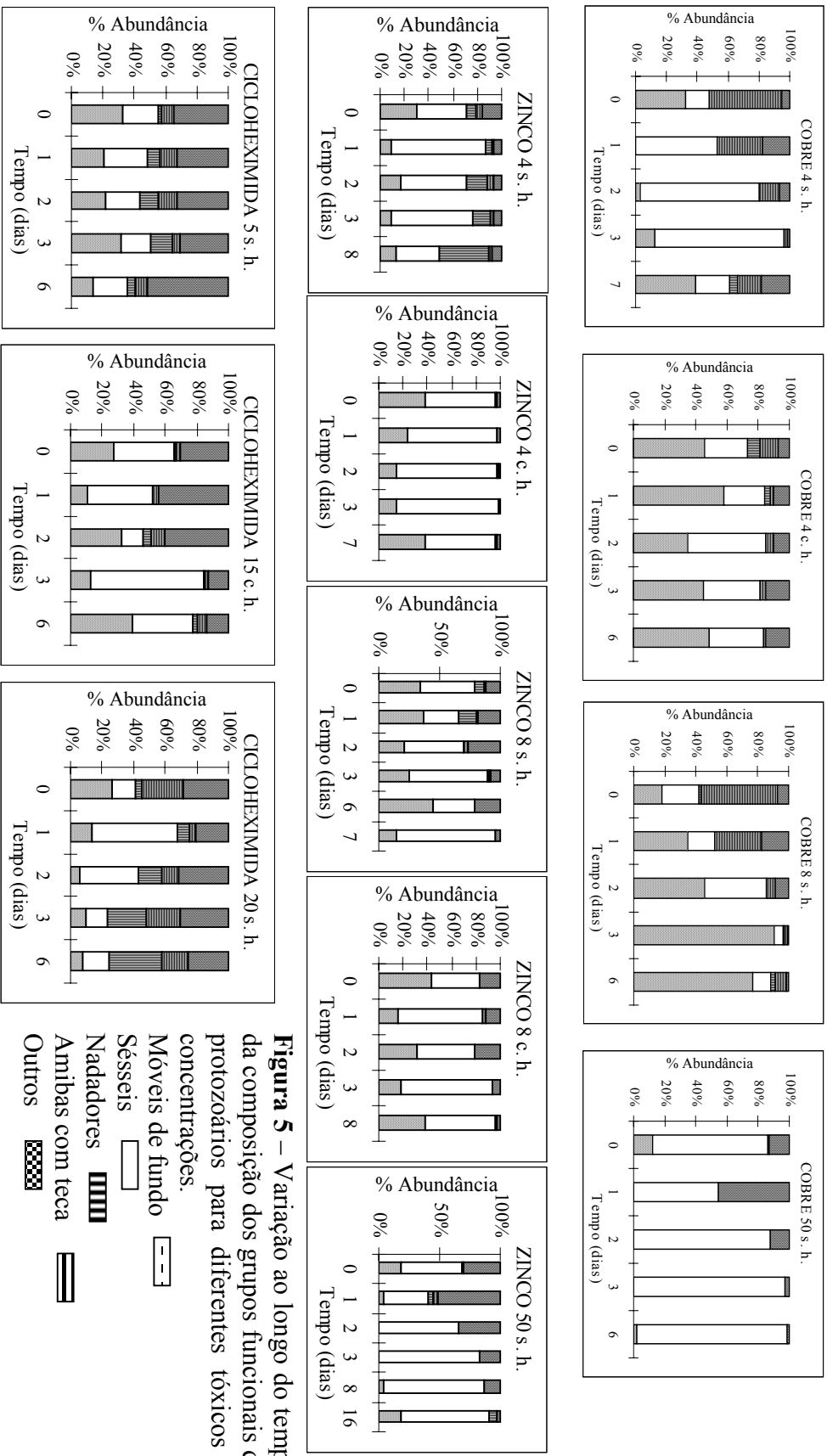
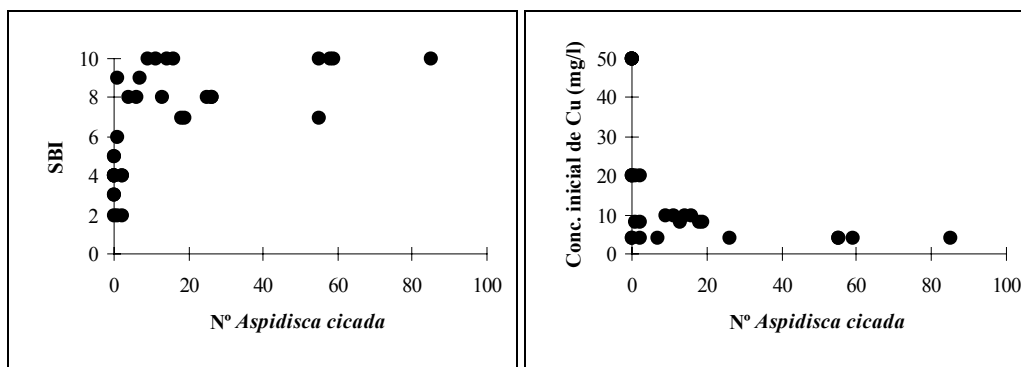


Figura 5 – Variação ao longo do tempo da composição dos grupos funcionais de protozoários para diferentes tóxicos e concentrações.
 Móveis de fundo
 Sésseis
 Nadadores
 Amibas com teca
 Outros

Por outro lado, *Euplotes* sp. apresentou comportamento idêntico ao da *Aspidisca cicada* quando as estações foram tratadas com a cicloheximida. Neste sentido, este género poderá ser um bom candidato a indicador biológico.



No caso dos metais pesados há ainda a assinalar o facto de algumas espécies de móveis de fundo serem especialmente tolerantes a baixas concentrações de metais (resultados não apresentados); apesar deste grupo ter sido reconhecido como um bom indicador de um tratamento biológico eficaz, é aconselhável não generalizar as conclusões no caso de haver possibilidade de ocorrência de baixas concentrações de metais, sobretudo no caso de lamas possivelmente aclimatizadas. Outros autores têm vindo a fazer referência a estes fenómenos (Abraham *et al.*, 1997; Salvadó *et al.*, 1995). A comunidade dos protozoários no tanque de arejamento permanece um instrumento válido e inovador para a verificação e o controlo do tratamento biológico de águas residuais. Outros estudos de avaliação e comparação dos efeitos de compostos tóxicos nesta comunidade poderão torná-la ainda mais valiosa na monitorização destes processos.

AGRADECIMENTOS

A. Nicolau é bolsista do Programa Praxis (BD/5080/95). O trabalho experimental e M.J. Martins foram financiados pelo projecto Praxis - 2/2.1/BIO/1118/95.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abraham, J. V., Butler, R. D. e Sigee, D. C., 1997. Ciliate populations and metals in an activated-sludge plant. *Wat. Res.*, **31**, 1103-1111.

Curds, C. R., 1982. The ecology and role of protozoa in aerobic sewage treatment processes. *Ann. Ver. Microbiol.*, **36**, 27-46.

Madoni, P., 1984. Estimation of the size of freshwater ciliate populations by a sub-sampling technique. *Hydrobiologia*, **111**, 201-206.

Madoni, P., 1994a. *La microfauna nell'analisi di qualità biologica dei fanghi attivi*. Azienda Gas Accqua Consorziale di Reggio Emilia, Università degli Studi di Parma, Itália.

Madoni, P., 1994b. A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge based on the microfauna analysis. *Wat. Res.*, **28**, 67-75.

Salvadó, H., Gracia, M. P. e Amigó, J. M., 1995. Capability of ciliated protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants. *Wat. Res.*, **29**, 1041-1050.