

Utilização da Dispersão Mecânica na contagem de bactérias de lodos de esgoto

ROSANA ELDA GREGORI,
ELOISA FRANÇA FERREIRA *
SANDRA MARA PEREIRA DE QUEIRÓS *

1. INTRODUÇÃO

O estudo quantitativo da população microbiana de lodos de esgoto pelo método de contagem em placas utilizado comumente, fornece resultados que não podem ser considerados mais do que índices da concentração total de bactérias realmente existente na amostra examinada.

Esta situação se deve ao fato de as bactérias se apresentarem na forma de flocos, tanto mais compactos quanto menor o tempo em que o lodo se encontra em digestão.

Yin e Moyer (1), trabalhando com amostras de lodo, estudaram a ação de 37 dispersantes químicos com a finalidade de conseguir a desagregação dos flocos bacterianos, sem resultados positivos.

Como objetivo, o presente estudo procura, por meio de agitação mecânica, estabelecer um método mais eficiente para enumeração das bactérias existentes nos lodos de estação de tratamento de esgotos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. AMOSTRAS DE LODO

Utilizou-se, para os ensaios, amostras de lodo adensado coletadas após tratamento primário, e de lodo em processo de digestão. As amostras de lodo adensado e de lodo em digestão foram coletadas na ETE — Pinheiros (SABESP), em recipientes de 250 ml, respectivamente na bomba que envia o lodo adensado ao digestor e na bomba n.º 3 de recirculação dos digestores anaeróbios.

2.2. MEIO DE CULTURA

Utilizou-se, como meio de cultura para crescimento bacteriano, o Agar Nutritivo Desidratado (Difco) cuja composição é:

Extrato de Carne (Bacto) .	3,0 g/1
Peptona (Bacto)	5,0 g/1
Agar (Bacto)	15,0 g/1

O pH do meio de cultura é 6,8 a temperatura de 25°C.

2.3. Descrição dos Métodos de desagregação utilizados

2.3.1. AGITAÇÃO MANUAL COM PÉROLAS DE VIDRO

Em um erlenmeyer de 250 ml, esterilizado, contendo 30 g de pérolas

de vidro (diâmetro médio de 3 mm), foram colocados 10 ml de lodo e 40 ml de água destilada e esterilizada.

A mistura foi agitada vigorosamente durante 30 minutos, com movimentos verticais. A partir dessa mistura, preparou-se, em tubo de ensaio (18 mm x 180 mm), 10 ml de uma suspensão de concentração 10 vezes menor que foi agitada em agitador de tubos ("ciclo — mixer") durante 5 minutos. As diluições subsequentes, também realizadas em tubos de ensaios, foram agitadas no "ciclo-mixer" durante 1 minuto.

2.3.2. HOMOGENIZAÇÃO COM AGITADOR MAGNÉTICO

Em um erlenmeyer de 250 ml esterilizado, foram colocados 10 ml de lodo e 40 ml de água destilada e esterilizada. A mistura foi agitada por 30 min. em agitador magnético. A partir dessa mistura, prepararam-se diluições como descrito no item 2.3.1.

2.3.3. HOMOGENEIZAÇÃO EM LIQUIDIFICADOR

Em um copo de liquidificador (capacidade 1,4 litros) previamente desinfetado com Eucaform (10%), foram colocados 25 ml de lodo e 225 ml de água destilada e esterilizada.

(*) Divisão de Pesquisas Microbiológicas, GTB, Superintendência de Pesquisas — DDPET, CETESB, SP.

TABELA 1
RESULTADOS OBTIDOS APLICANDO-SE A TÉCNICA DESCRITA NO
ÍTEM 2.3.1. A LODO EM DIGESTÃO

Ensaio N.º	Diluição, D	M ₁	M ₂	M ₁ /M ₂
1	2 . 10 ⁻⁵	118	22	5,4
2	2 . 10 ⁻⁴	354	50	6,0
3	2 . 10 ⁻⁴	99	12	8,2
4	2 . 10 ⁻⁵	59	7	8,4
5	4 . 10 ⁻⁵	100	24	4,2
6	2 . 10 ⁻⁵	164	27	6,1
7	4 . 10 ⁻⁵	99	21	4,7
8	2 . 10 ⁻⁴	299	35	8,5
9	2 . 10 ⁻⁵	154	25	6,2
10	2 . 10 ⁻⁵	58	8	7,3

M₁ = número médio de colônias por placa utilizando-se, na contagem, a diluição D.
M₂ = número médio de colônias por placa utilizando-se, na contagem, a diluição D/10.
Valor médio de M₁/M₂ = 6,5 (coeficiente de variação = 24%).

TABELA 2
RESULTADOS OBTIDOS APLICANDO-SE A TÉCNICA DESCRITA NO
ÍTEM 2.3.3 A LODO EM DIGESTÃO

Ensaio N.º	Diluição, D	M ₁	M ₂	M ₁ /M ₂
1	2 . 10 ⁻⁵	121	26	4,7
2	2 . 10 ⁻⁵	76	20	3,2
3	2 . 10 ⁻⁴	207	27	7,7
4	2 . 10 ⁻⁴	159	19	8,7
5	2 . 10 ⁻⁴	432	24	18,0
6	4 . 10 ⁻⁵	76	19	4,0
7	4 . 10 ⁻⁵	101	27	3,7
8	4 . 10 ⁻⁶	24	3	8,0
9	4 . 10 ⁻⁶	19	6	3,2
10	4 . 10 ⁻⁶	27	7	3,9

M₁ = número médio de colônias por placa utilizando-se, na contagem, a diluição D.
M₂ = número médio de colônias por placa utilizando-se, na contagem, a diluição D/10.
Valor médio de M₁/M₂ = 6,5 (coeficiente de variação = 6,9%).

TABELA 3
RESULTADOS OBTIDOS APLICANDO-SE A TÉCNICA DESCRITA NO
ÍTEM 2.3.3 A LODO EM DIGESTÃO

Ensaio N.º	Diluição, D	M ₁	M ₂	M ₁ /M ₂
1	10 ⁻⁵	210	25	8,4
2	10 ⁻⁵	185	20	9,3
3	10 ⁻⁵	200	16	12,5
4	10 ⁻⁵	267	28	9,5
5	10 ⁻⁵	325	40	8,1
6	10 ⁻⁵	455	45	10,1
7	10 ⁻⁵	253	35	7,2
8	10 ⁻⁵	194	15	12,9
9	10 ⁻⁵	252	35	7,2
10	10 ⁻⁵	228	21	10,9

M₁ = número médio de colônias por placa utilizando-se, na contagem, a diluição D.
M₂ = número médio de colônias por placa utilizando-se, na contagem, a diluição D/10.
Valor médio de M₁/M₂ = 6,5 (coeficiente de variação = 21%).

TABELA 4
RESULTADOS OBTIDOS APLICANDO-SE A TÉCNICA DESCRITA NO
ÍTEM 2.3.3. A LODO ADENSADO.

Diluição, D	M
10 ⁻¹⁰	68
10 ⁻¹²	7.500
10 ⁻¹⁴	275
10 ⁻¹⁶	50
10 ⁻¹⁸	28
10 ⁻²⁰	18
10 ⁻²²	27
10 ⁻²⁴	13
10 ⁻²⁶	25
10 ⁻²⁸	9

M = número médio de colônias por placa utilizando-se, na contagem a diluição, D.

A mistura foi submetida a agitação intensa no liquidificador, durante 30 minutos. Além de evitar elevação da temperatura da mistura acima de 40°C, a agitação foi interrompida a cada 5 min e o copo foi mergulhado em água a temperatura por igual tempo.

As diluições subsequentes foram preparadas como descrito no item 2.3.1.

2.4. Técnicas de Semeadura

Após a preparação das diluições convenientes da suspensão homogeneizada, semearam-se placas de Petri segundo a técnica de contagem em placa (2).

Foram semeadas 5 placas para cada diluição. As placas foram incubadas a (30,0 ± 0,5)°C durante 70 a 75 horas, procedendo-se então à contagem das colônias formadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 1 a 4 mostram os resultados obtidos. Nessas Tabelas entende-se por "Diluição" (D), a relação entre a concentração da suspensão utilizada para semear a placa e a concentração do lodo.

Analisando-se, nas Tabelas 1 a 3, os valores da relação M₁/M₂, e considerando que essa relação deveria ser igual a 10 se os flocos da suspensão inicial de células tivessem sido perfeitamente desagregados, verificamos que somente a técnica descrita no item 2.3.3 (Tabela 3) apresenta bons resultados quando aplicada a lodos em digestão.

A aplicação dessa técnica (item 2.3.3), contudo, a amostras de lodo adensado, não conduziu a bons resultados, como pode ser observado na Tabela 4. De fato a relação entre os valores M correspondentes a duas diluições consecutivas é muito diferente do valor que deveria ter sido encontrado (neste caso, igual a 100) se os flocos de bactérias tivessem sido completamente desagregado.

Os resultados obtidos permitem concluir que, para amostras de lodo em digestão, a técnica de homogeneização utilizando-se liquidificador (item 2.3.3) permite uma estimativa mais real do número de bactérias existentes no lodo. A mesma técnica, aplicada a amostras de lodo adensado não conduz a bons resultados.

4. BIBLIOGRAFIA

- 4.1. Yin, S. C. and Moyer, J. E. — Use of Chemical Dispersants in the Enumeration of Bacteria in Activated Sludge. — *Appl. Microbiol.*, **16**, 1790 (1968).
- 4.2. Standards Methods for the examination of Water and Wastewater, 14.ª ed. — 1975.