

# Estudos sobre granulação bacteriana em reatores anaeróbios de fluxo ascendente operando com esgotos domésticos

Rosana F. Vazollér Novaes<sup>1</sup>  
Célia Maria Rech<sup>1</sup>

## Introdução e objetivos

A Cetesb tem realizado estudos para aplicação dos reatores de fluxo ascendente no tratamento anaeróbio de esgotos domésticos. Resultados de excelente eficiência do processo foram obtidos, bem como a formação de um lodo granulado de boa qualidade em ensaios de laboratório com um reator de 106 l de capacidade, operando com esgoto doméstico pré-decantado, a 35°C e inoculado com lodo de esgoto digerido (1).

A granulação do lodo em reatores tratando esgoto doméstico ainda não havia sido observada. Lettinga e col. (2) têm descrito o fenômeno da granulação em biodigestores operando com resíduos industriais. Estudos básicos têm sido realizados para compreensão dos mecanismos biológicos que afetam a granulação, uma vez que sua importância para o processo é fundamental na manutenção da biomassa no reator.

Este trabalho apresenta resultados de isolamento e identificação do grupo de bactérias metanogênicas presente nos grânulos, provenientes do biodigestor de fluxo ascendente de 106 l operando com esgotos domésticos.

## Metodologia

### Inóculo

Amostra de lodo granulado de um biodigestor de 106 l operando com o esgoto doméstico pré-decantado. O tempo de detenção hidráulico do reator era de 4 horas e à temperatura de 35°C.

### Técnica de Cultivo de Anaeróbios Estritos

A técnica de isolamento e cultivo utilizada foi baseada no método do "roll-tube", descrito por Hungate (3) e Bryant (4) e adaptado nos laboratórios de pesquisas em microbiologia de processos de tratamento de resíduos da Cetesb (5).

(1) Biólogas da Cetesb-Cia. de Tecnologia em Saneamento Ambiental - Gerência de Pesquisas de Tratamento de Resíduos e Qualidade de Águas - Diretoria de Pesquisa.

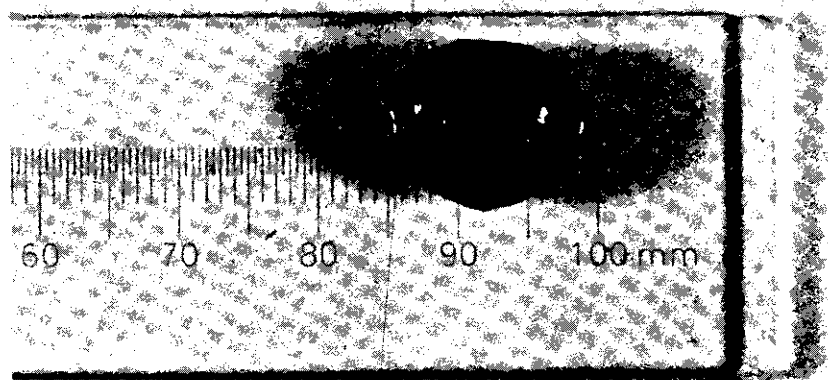
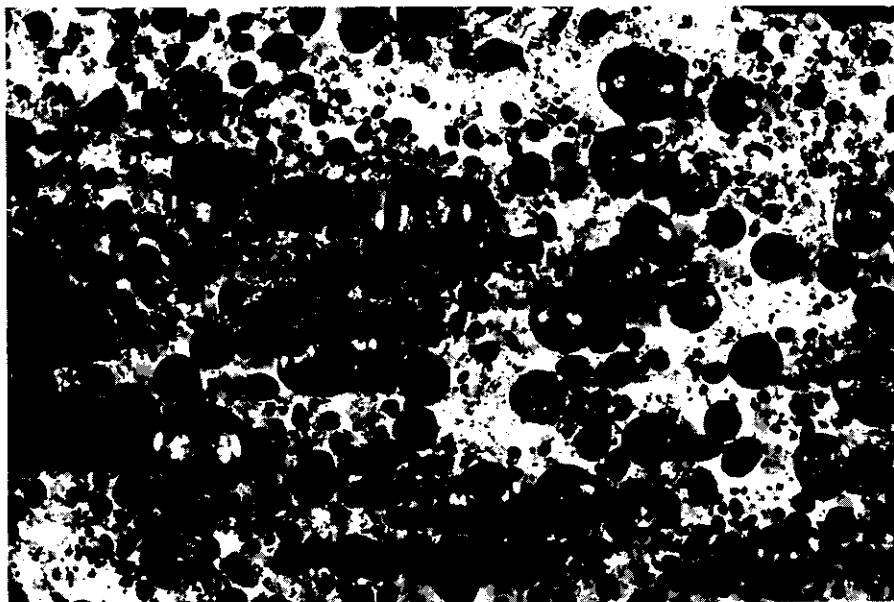
## Meio de Cultura para o Isolamento de Bactérias

Os meios de cultura e a solução de diluição da amostra foram descritos por Bryant (6), para isolamento e caracterização de bactérias metanogênicas. Fase gasosa 80% H<sub>2</sub> e 20% CO<sub>2</sub>. A temperatura de incubação dos tubos foi de 37°C.

## Resultados

Amostras do lodo do biodigestor de fluxo ascendente apresentaram grânulos esféricos, regulares, mecanicamente resistentes, escuros, de tamanho médio igual a 4 mm (figuras 1 e 2).

Análises microscópicas a partir de esfregaços de amostras dos grânulos, individualmente macerados, apresenta-



Figuras 1 e 2 — Amostras dos grânulos formados no reator de fluxo ascendente, de 106 l, operando com esgoto pré-decantado, com 4 horas de tempo de detenção a 35°C (ampliação 25 vezes).

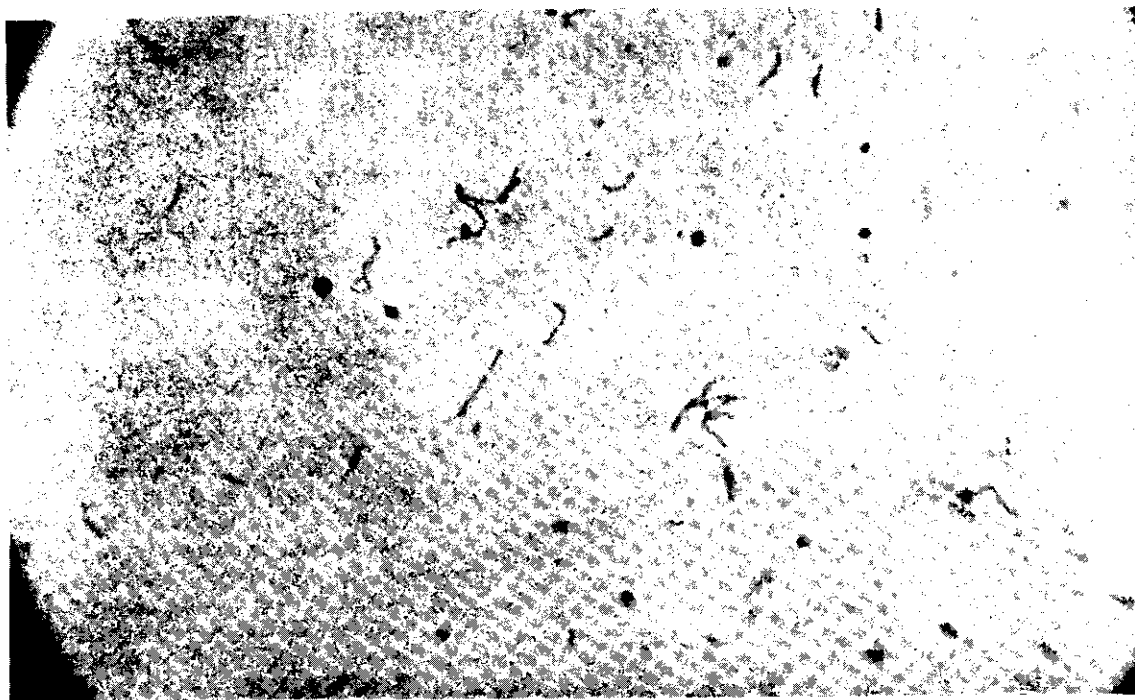


Figura 3 — Cultura pura de bactéria metanogênica, isolada dos grânulos do biodigestor de fluxo ascendente operando com esgotos domésticos. Gênero *Methanobacterium* (2.000 x).

ram bacilos gram-negativos de tamanho em torno de 5  $\mu\text{m}$ .

Verificou-se a presença de bactérias metanogênicas em todos os tubos de isolamento. O teor de metano nos tubos foi de 80% em média. As colônias crescidas nos tubos de isolamento foram muito semelhantes, apresentando coloração amarela e de configuração lisa. As culturas bacterianas isoladas e purificadas a partir dessas colônias eram bactérias metanogênicas, em formato de bacilos gram-negativos, de tamanho médio igual a 5  $\mu\text{m}$  e móveis (figura 3). Testes em meios com acetato, formiato,  $\text{H}_2\text{CO}_2$  (80%:20%) e metanol foram realizados para a caracterização da fonte de carbono utilizada pelas culturas metanogênicas.

O formiato e o  $\text{H}_2/\text{CO}_2$  foram as fontes de carbono utilizadas para crescimento e produção de metano. O tempo médio de crescimento das culturas em tubos de ensaio foi de três dias.

## Discussão

Os grânulos analisados, provenientes de biodigestores do fluxo ascendente operando com esgoto doméstico pré-decantado, a 35°C, mostraram algumas semelhanças em tamanho, formato e cor, com descrições de amostras de grânulos deste mesmo tipo de reatores tratando resíduos industriais, encontradas em literatura (2,7).

Verificou-se, também, que os grânulos, ao serem macerados e observados ao microscópio (2.000 x), eram constituídos exclusivamente por bactérias em formato de bacilos e gram-negativas.

Após isolamento e purificação das culturas de bactérias metanogênicas presentes no grânulo, constatou-se que a morfologia das células em cultura pura era muito semelhante à das células observadas no grânulo.

As bactérias metanogênicas isoladas foram identificadas, segundo suas características, como pertencentes ao gênero *Methanobacterium*, de acordo com a chave taxonômica de Balch et alii (8).

Comparando-se o tipo de bactéria metanogênica isolada nos grânulos estudados, uma *Methanobacterium*, com dados apresentados por Hulshoff e col. (7), constatou-se a diferença quanto ao gênero de bactéria metanogênica encontrado. Hulshoff e col. citam o gênero *Methanotrix*, uma bactéria metanogênica utilizadora de acetato, como sendo o principal tipo de metanobactéria encontrada em seus estudos sobre granulação em reatores de fluxo ascendente operando com meio sintético, basicamente, uma mistura de ácidos voláteis (acetato, propionato e butirato).

A ocorrência de diferentes tipos de bactérias formadoras de metano pode ser explicada pelas diferentes condições de operação do biodigestor, bem como ao projeto do reator ou ao substrato. No entanto, maiores investigações nesse sentido devem ser realizadas.

## Conclusões

Nenhuma partícula sólida foi observada no grânulo, além de bactérias.

Todas as bactérias constituintes do grânulo apresentaram a mesma morfologia: bacilos gram-negativos.

Se não a totalidade, grande parte das bactérias do grânulo era metanogênica.

As bactérias metanogênicas isoladas do grânulo pertencem ao gênero *Methanobacterium*.

## Referências bibliográficas

1. VIEIRA, S. M. M. — Tratamento de esgotos por digestores anaeróbios de fluxo ascendente. *Revista DAE*, 44 (139): 322-28, 1984.
2. LETTINGA, G.; VAN VELSEN, A. F. M.; HOBMA, S. W.; ZEEUW, W. Use of the up-flow sludge blanket (UASB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. *Biotechnology and Bioengineering*, 22 (4): 699-734, 1980.
3. HUNGATE, R. E. A roll-tube method for cultivation of strict anaerobes. *Methods in Microbiology* — edited by J. R. Morris and D. W. Ribbons. New York Academic, 3B: 117-132, 1969.
4. BRYANT, M. P. Comentary on the Hungate technique for culture of anaerobic bacteria. *American Journal Clinical Nutrition*, (25): 1324-28, 1972.
5. NOVAES, R. F. V. Microbiologia da digestão anaeróbia. *Relatório Interno* — Cetesb, 1985.
6. BRYANT, M. P. Comunicação Pessoal Urbana — University of Illinois, Department of Microbiology, 1977.
7. HULSHOFF POL, L. W.; ZEEUW, W. J.; VELZEBOER, C. T. M.; LETTINGA, G. Granulation in UASB — Reactors. *Wat. Sci. Techn.*, 15: 291-304, 1983.
8. BALCH et alii. Methanogens: reevaluation of a unique biological group. *Microbiological Reviews*, 43 (2): 260-96.