

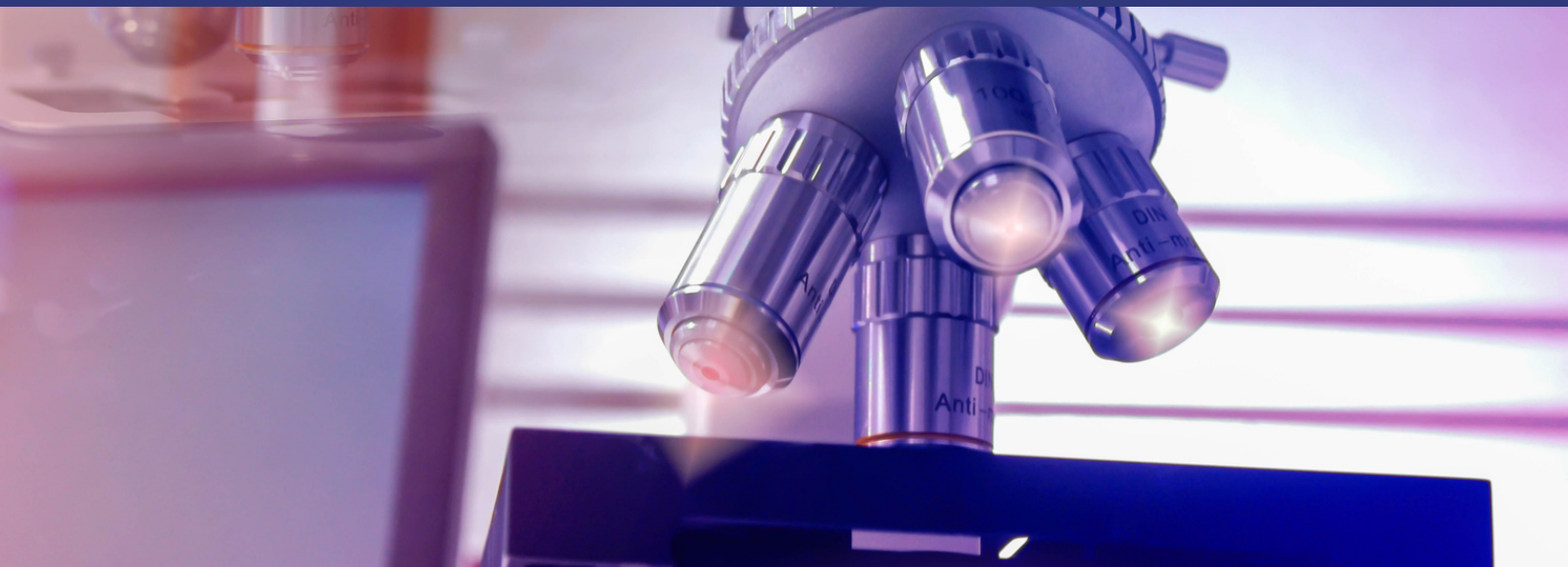
E-BOOK



ACQUA EXPERT
Engenharia Ambiental

Protozoários & Metazoários

E-BOOK IDENTIFICAÇÃO E CONTAGEM DOS
PROTOZOÁRIOS & METOZOÁRIOS EM LODOS ATIVADOS



VISÃO GERAL DO MÓDULO

A observação microscópica de protozoários e outras formas de vida superiores em lodo ativado é uma prática comum e difundida. De uma forma muito geral, os tipos desses organismos presentes podem ser relacionados ao desempenho da planta e à qualidade do efluente. Eles são úteis para avaliação de toxicidade, mas têm pouco ou nenhum valor para determinar as propriedades do lodo ativado que influenciam seu comportamento nos processos de separação de sólidos. Por outro lado, os protozoários melhoram a qualidade do efluente tratado através da predação da maior parte das bactérias dispersas no lodo. Na ausência de protozoários, o efluente final é caracterizado por possuir DBO e turbidez mais elevadas, devido a muitas bactérias dispersas.

A densidade e diversidade da comunidade de protozoários estão relacionadas com o desempenho da instalação e com a qualidade do efluente final. A dominância ou ausência de uma espécie particular, assim como a composição global da microfauna, podem ser consideradas bons indicadores da eficiência biológica da depuração em lodos ativados.

Protozoários e outras formas de vida superiores podem constituir aproximadamente 5% em peso da biomassa de lodo ativado e são representados por cerca de 200 espécies.

O objetivo deste e-book é apresentar um método simples de identificação dos protozoários & metazoários presentes em uma amostra de lodo e também apresentar como é feita a contagem desses organismos na lâmina.



SUMÁRIO

1 MÉTODO ANALÍTICO

2 IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES

3 QUANTIFICAÇÃO DOS PROTOZOÁRIOS & METAZOÁRIOS

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS



MÉTODO ANALÍTICO

Para observar esses organismos fizemos um passo a passo completo para te auxiliar na hora de examinar seu lodo ativado.

Siga este procedimento frequentemente (várias vezes por semana ou mesmo diariamente) porque as populações de protozoários no lodo ativado podem mudar rapidamente em certas circunstâncias (por exemplo, um transtorno causado pela toxicidade).

A microfauna presente no lodo ativado é vasta e indica alguns parâmetros importantes.

Para isso, é necessário identificar as espécies de microrganismos encontradas nas amostras.

O importante é saber quais espécies estão predominando na amostra, portanto, além da identificação devemos também fazer a contagem de cada espécie.

Primeiro vamos aprender a identificar estes organismos e depois vamos aprender a contá-los.

- **Coloque uma gota (0,05 mL) de lodo ativado em uma lâmina de vidro**
- **Adicione uma lamínula (pode ser de 20 mm x 30 mm) e examine-a no aumento de 100x usando iluminação de contraste de fase.**
- **Conte todos os protozoários e outras formas de vida superiores presentes examinando toda a área da lamínula usando o estágio mecânico do microscópio.**
- **O ideal é repetir a contagem em uma segunda lâmina.**



IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES

A forma mais fácil de identificar os protozoários & metazoários é através do tipo de locomoção. Alguns organismos se locomovem por cílios, outros por flagelos, etc...



Segue abaixo um guia de como identificar os principais grupos utilizando a locomoção dos mesmos:

LOCOMOÇÃO POR PSEUDÓPODES

AMEBA NUA

As primeiras espécies a se desenvolver no lodo ativado são as amebas (FIGURA 1).

Esses organismos se movem lentamente através de pseudópodes.

Normalmente são bem pequenos medindo de 25 μm até 200 μm .

Se o analista ainda não tem muita experiência pode achar que se trata de uma “sujeira” na lâmina, já que seus movimentos são muito lentos.

Quando estão predominando na amostra as amebas indicam:



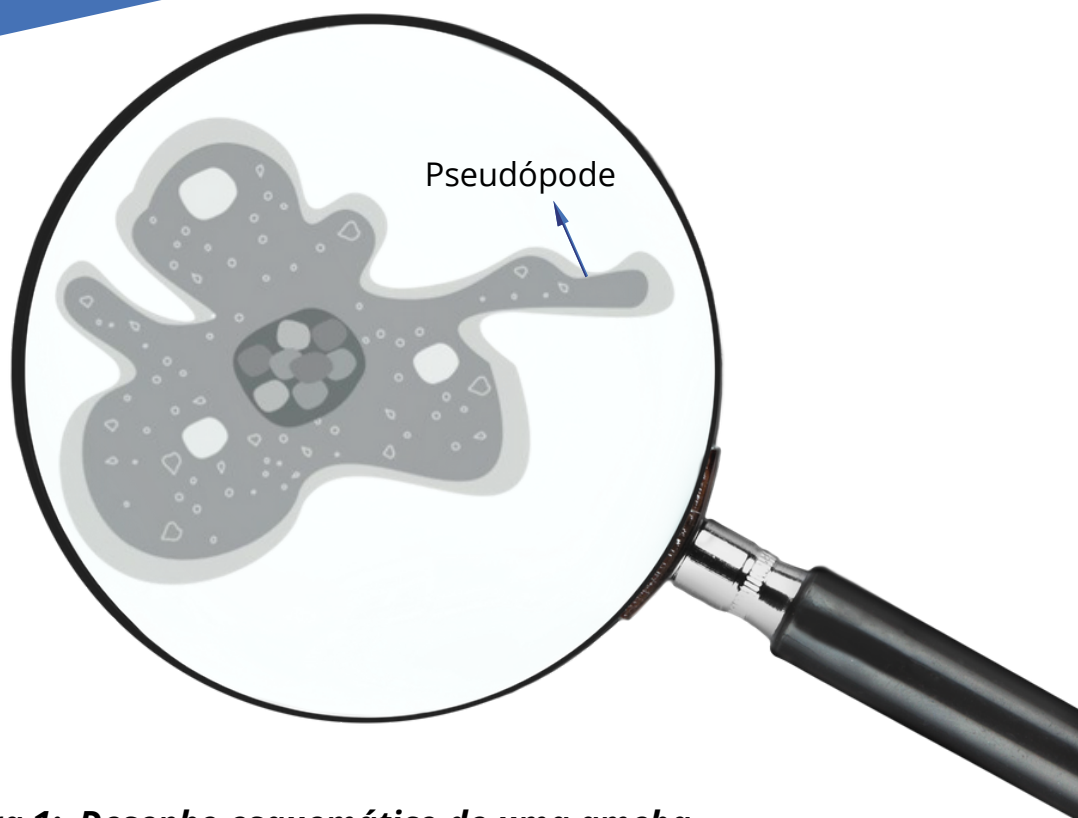
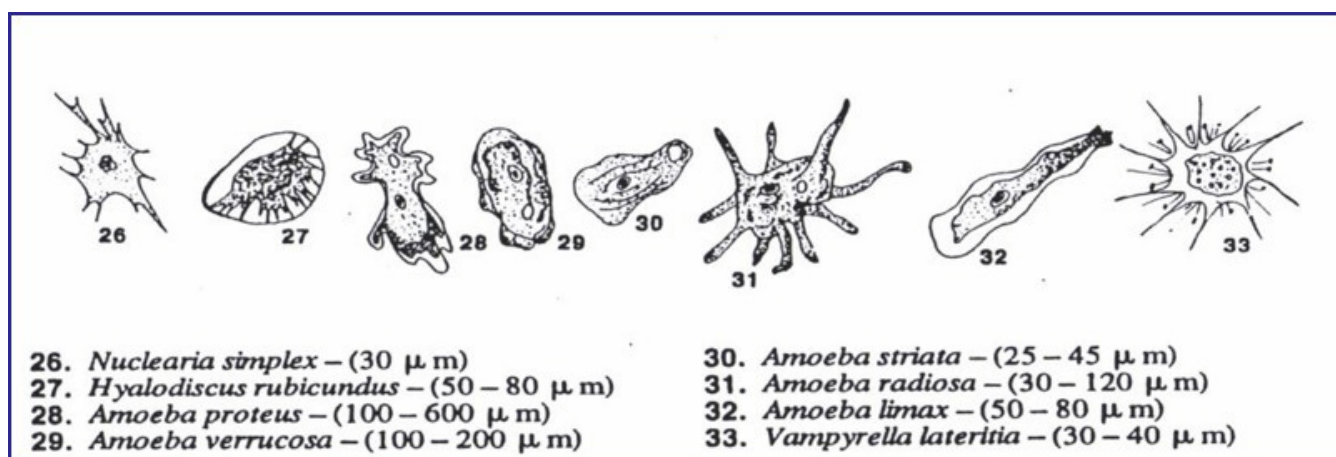


Figura 1: Desenho esquemático de uma ameba.



A FIGURA 2 apresenta algumas espécies de amebas que podem ser encontradas em lodos ativados.

Um crescimento excessivo de amebas pode indicar também uma alta quantidade de matéria orgânica particulada, como amido (água residual de indústria de papel), levedura (água residual de cervejaria) e areia (água residual municipal).

TECAMEBA

Outro protozoário que também se locomove por pseudópodes são as amebas com tecas ou também chamadas tecamebas (FIGURA 3).

Essa teca pode ser secretada pelas próprias tecamebas ou ser formada de partículas retiradas do efluente, de natureza calcárea, silicosa ou orgânica.

Então as duas principais características para identificar esse protozoário na amostra de lodo são: emissão de pseudópodes e presença de teca.

Vale salientar, contudo, que nem sempre é possível vê-los em movimento, é bem comum visualizarmos apenas as tecas.

TAMANHO

O tamanho destes protozoários pode variar de 70 µm até 600 µm.

Existem várias espécies de tecamebas (FIGURA 4), mas a *Arcella* sp., esta da FIGURA 3, que tem a teca alaranjada, é a mais comum.

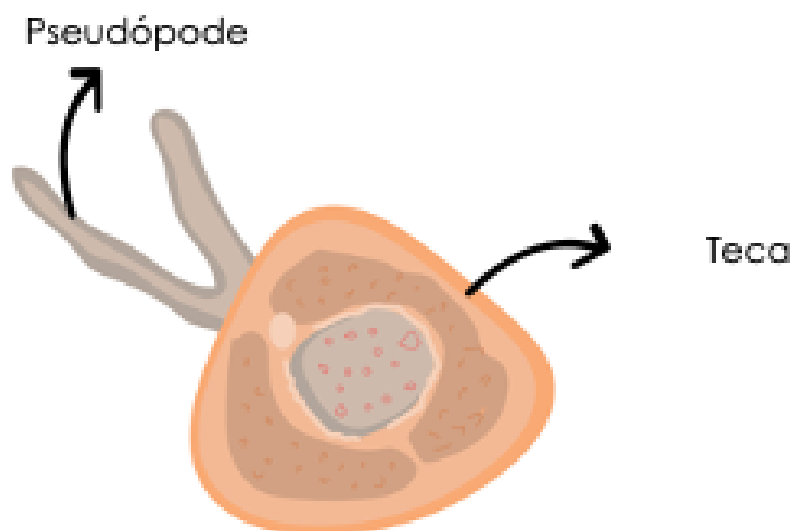


Figura 3: Desenho esquemático de uma tecameba.

Estes organismos predominam em lodos ativados que funcionam com baixa carga orgânica e são típicos de lodos ativados concebidos para fazer remoção de nitrogênio

As amebas com teca são dominantes em:

1

Sistemas com baixa carga de DBO

2

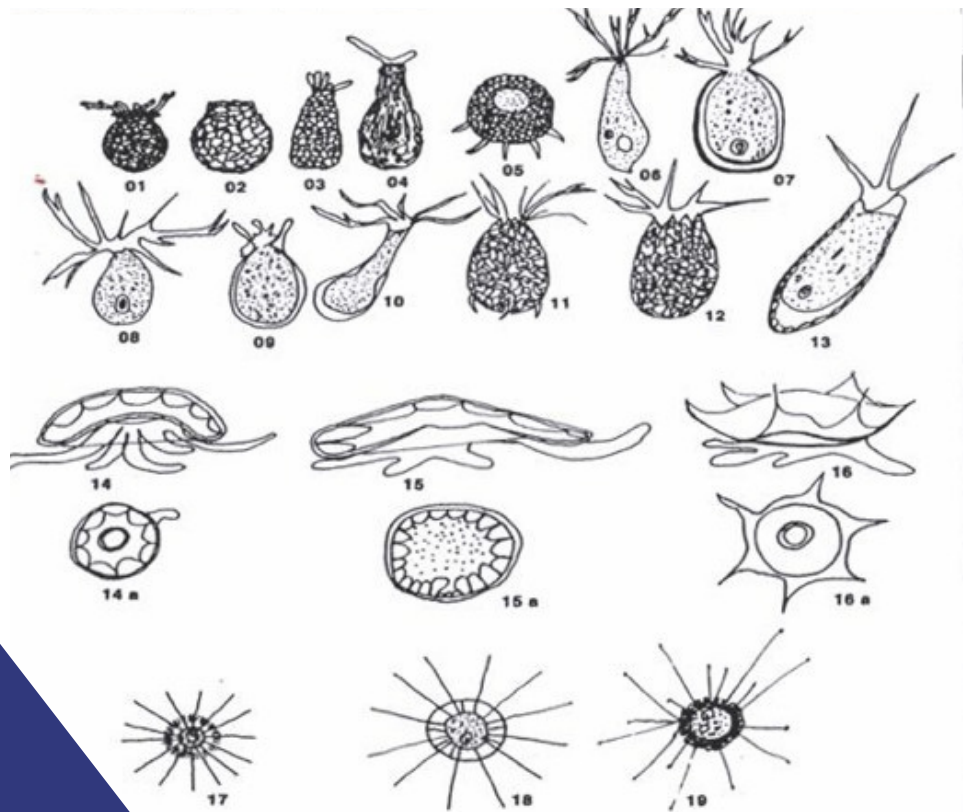
Idade do lodo alta

3

Alta concentração de OD

4

IVL baixo



01. *Diffugia urceolata* – (200 – 300 μ m)
 02. *Diffugia lebes* – (400 μ m)
 03. *Diffugia oblonga* – (60 – 580 μ m)
 04. *Diffugia bacillifera* – (145 – 160 μ m)
 05. *Centropyx aculeata* – (100 – 150 μ m)
 06. *Pamphagus mutabilis* – (40 – 100 μ m)
 07. *Chlamydomorphys stercorea* – (18 – 20 μ m)
 08. *Chlamydomorphys minor* – (17 μ m)
 09. *Cochliopodium bilimbosum* – (24 – 56 μ m)
 10. *Cyphoderia ampulla* – (60 – 200 μ m)
 11. *Euglypha alveolata* – (50 – 100 μ m)

12. *Euglypha tuberculata* – (45 – 100 μ m)
 13. *Trinema lineare* – (35 μ m)
 14. *Arcella vulgaris* – (30 – 100 μ m)
 14 a. Vista superior
 15. *Arcella discoides* – (70 – 260 μ m)
 15 a. Vista superior
 16. *Arcella dentata* – (95 μ m)
 16 a. Vista superior
 17. *Heterophrys myriopoda* – (65 – 80 μ m)
 18. *Astradisculus* sp – (13 – 17 μ m)
 19. *Pompholyxophrys punicea* – (25 – 30 μ m)

**Essas características
permitem geralmente obter
uma completa nitrificação.**

**Sob tais condições, a qualidade do
efluente é excelente e o desempenho
da instalação alcança o valor máximo.**

**Figura 4: Principais espécies de Tecamebas que podem ser registradas
em lodos ativados.**

LOCOMOÇÃO POR FLAGELOS

FLAGELADOS

Um dos organismos mais comuns no sistema de lodos ativados são os flagelados (FIGURA 4).

Estes se movem por flagelos e podem ter um ou mais flagelos.

Consomem matéria orgânica sólida ou substâncias orgânicas e inorgânicas dissolvidas.

Eles são muito pequenos (5 μm a 100 μm) e se movem rapidamente.

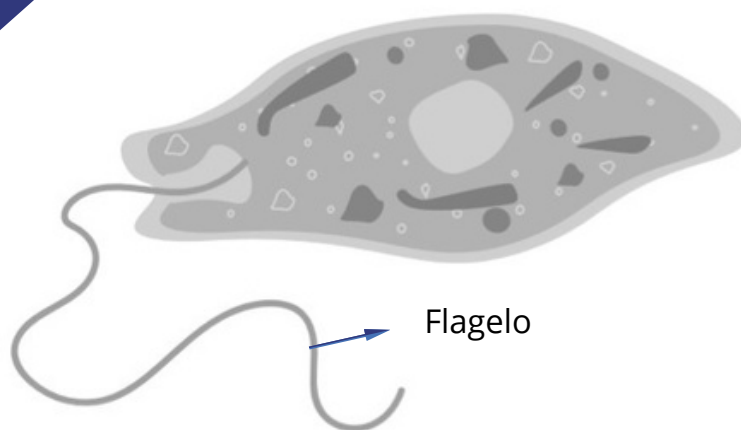


FIGURA 5: DESENHO ESQUEMÁTICO DE UM FLAGELADO.

Quando presente junto com as amebas, indica início de operação ou baixa idade do lodo.

Quando eles são predominantes, eles caracterizam que o processo é deficiente em aeração, má purificação, sobrecarga orgânica, sobrecarga tóxica e entrada de substâncias em fermentação.

Existem dezenas de espécies de flagelados que pode ser encontradas (FIGURA 6) em lodos ativados, a grande maioria não dá nem para ver o flagelo na objetiva de 10x.

Mas tem uma espécie que é maior – *Peranema* sp. – o flagelo dessa espécie é grande e fácil de visualizar mesmo na objetiva de 10x e essa espécie indica ambientes bem equilibrados, com DBO mais baixa e bom teor de OD.

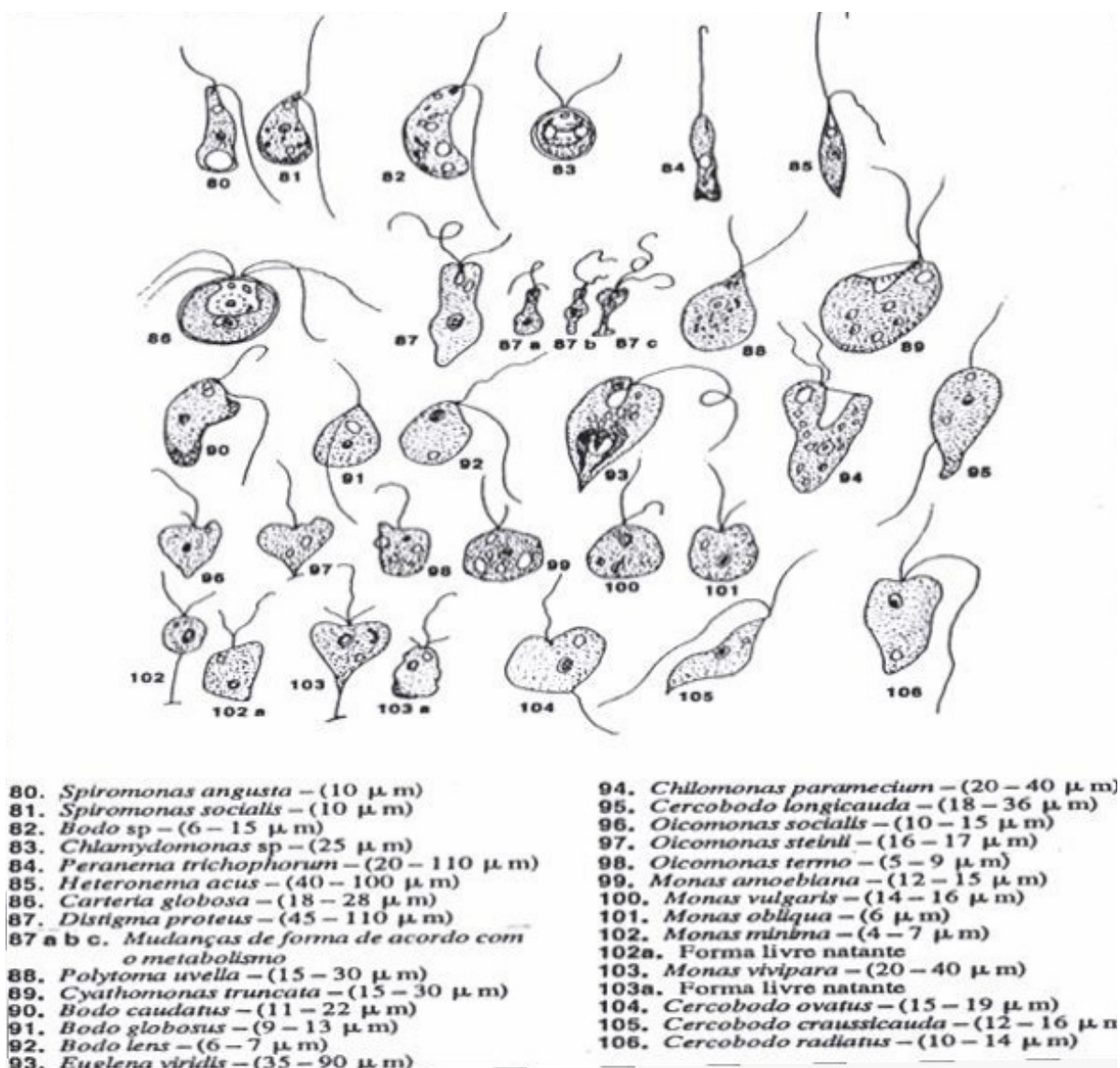


Figura 6: Principais espécies de Flagelados que podem ser registradas em lodos ativados.

LOCOMOÇÃO POR CÍLIOS

CILIADOS LIVRE-NATANTES

Outra classe de protozoários muito comum em sistemas de lodos ativados é a classe dos ciliados livre-natantes. Eles têm esse nome por ter suas células cobertas por cílios. Eles têm o formato redondo a oval e seu tamanho pode variar de 20 μm a 400 μm . Se reproduzem por fissão binária e se alimentam principalmente de bactérias.

As espécies mais comuns são a *Uronema* sp. (FIGURA 7) e o *Paramecium* sp. (FIGURA 8).

A *Uronema* sp. é bem pequena (cerca de 50 μm) e seu movimento é bem peculiar; ela se move bem rapidamente e de repente para ficando parada por alguns segundos até se movimentar novamente. Ela tem um cílio mais cumprido no lado inferior da sua célula, que ajuda a caracterizá-la bem.

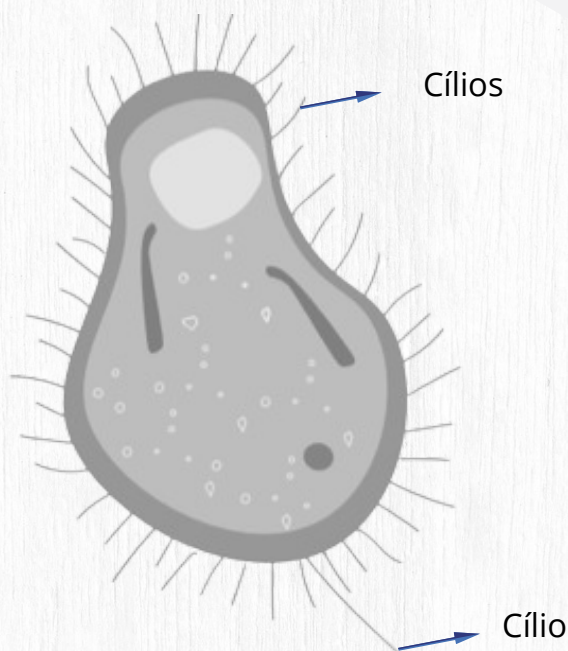


Figura 7: Desenho esquemático do ciliado livre-natante *Uronema* sp.

Quando estão predominando na amostra as Uronemas indicam condições desfavoráveis, tais como:

Lodo muito jovem ou com relação F/M muito alta (0,6 a 0,9 kg DBO/kgSSV.d);

Alta carga orgânica;

Alta variação de carga orgânica;

baixo teor de OD no tanque de aeração;

influência de substâncias tóxicas inibidoras

Os pequenos ciliados nadadores observam-se sempre juntos com pequenos flagelados e, por vezes, estes dois grupos dominam a microfauna.

Dentre os ciliados livre-natantes grandes, o mais comum é o *Paramecium* sp. (FIGURA 8).

Essa espécie costuma aparecer em condições intermediárias, quando a DBO começa baixar, os flocos biológicos começam a ficar com uma qualidade melhor (IVL mais baixo), o teor de OD já estão mais elevado, etc., isto é, indicam uma condição transitória de características ruins para boas.

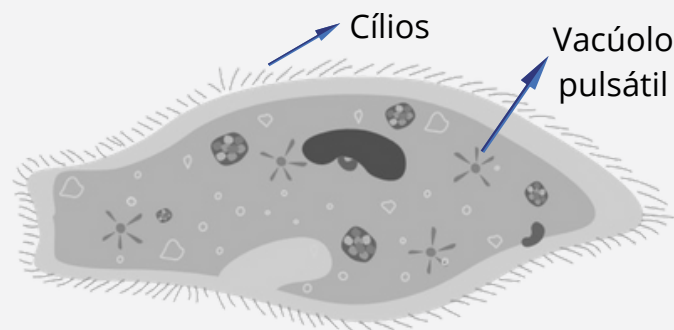


Figura 8: Desenho esquemático do ciliado livre-natante *Paramecium* sp.

CILIADOS ANDARILHOS

Os ciliados andarilhos (FIGURA 9) fazem parte do grupo de ciliados livre-natantes. Contudo, o diferencial é que eles conseguem “andar” sobre os flocos biológicos. Isto se dá porque eles possuem uma banda especializada de filas ciliares (membranelas) e tufos de cílios (cirros) amplamente separados.

Por meio da ação coordenada dessas estruturas, os andarilhos são capazes de andar sobre os flocos e de vários outros movimentos complicados, além da natação, como girar bruscamente e mover-se para trás.

Os cirros da parte traseira do organismo estão conectados à extremidade anterior em uma área conhecida como motor. As fibras do motor aparentemente fornecem coordenação entre os cirros e as membranelas. As membranelas, cirros e motor constituem um sistema neuromotor.

Dois gêneros são bem comuns no sistema de lodos ativados: a *Aspidisca* sp. (cerca de 30 μm) e o *Euplotes* sp. (cerca de 100 μm).

O predomínio de andarilhos no lodo ativado indica afluente com baixa carga orgânica, idade do lodo alta, lodo de boa qualidade (IVL baixo) e boa nitrificação.

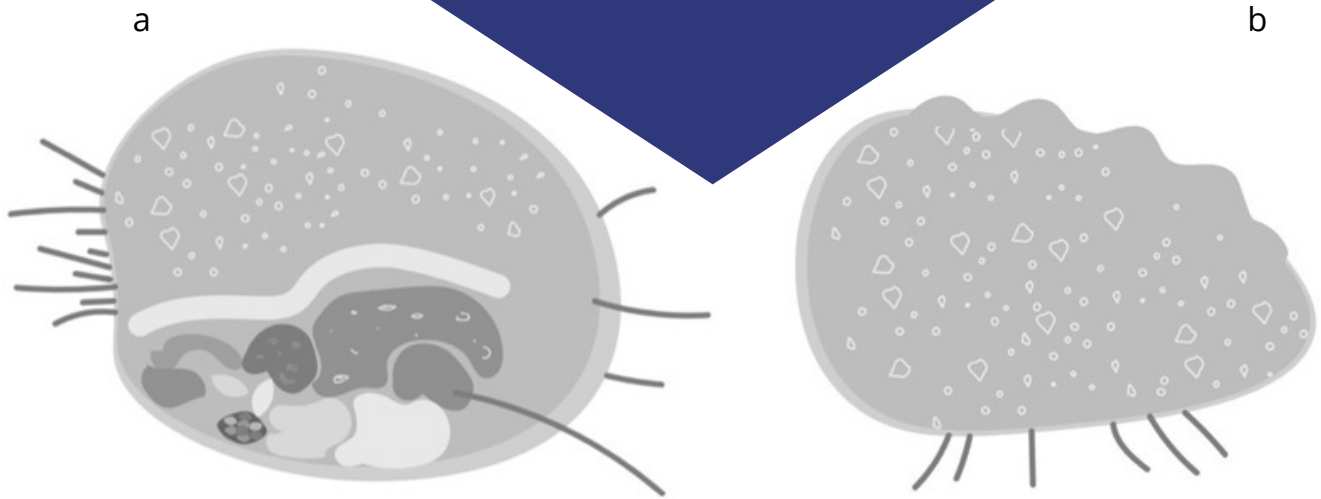


Figura 9: Desenho esquemático de um ciliado livre-natante andarilho. Vista de cima, nadando entre os flocos (a) e vista lateral e andando sobre os flocos (b).

CILIADOS CARNÍVOROS

Os ciliados carnívoros, por sua vez, também possuem cílios e nadam livremente entre os flocos. A diferença deste protozoário para os outros ciliados livre-natantes é que ele tem um corpo mais alongado e com a parte superior que parece um “pescoço”.

Eles são conhecidos como carnívoros porque, além de se alimentar de bactérias como os outros protozoários, ele é um predador, isto é, se alimenta de outros protozoários.

TAMANHO

O tamanho pode variar de 50 μm a 900 μm e eles indicam condições favoráveis:

1

idade do lodo alta

2

ambiente em estabilização

3

carga orgânica em redução

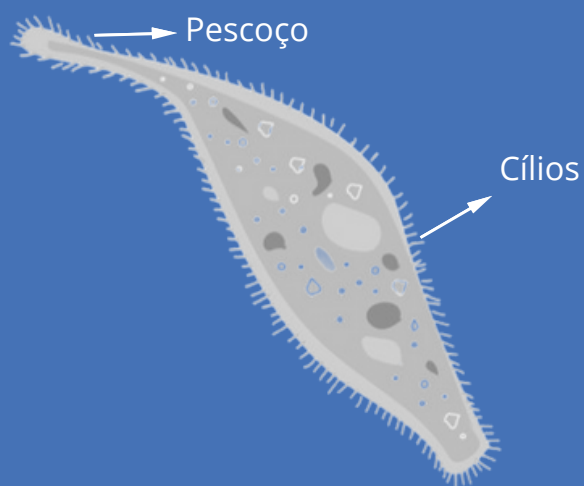
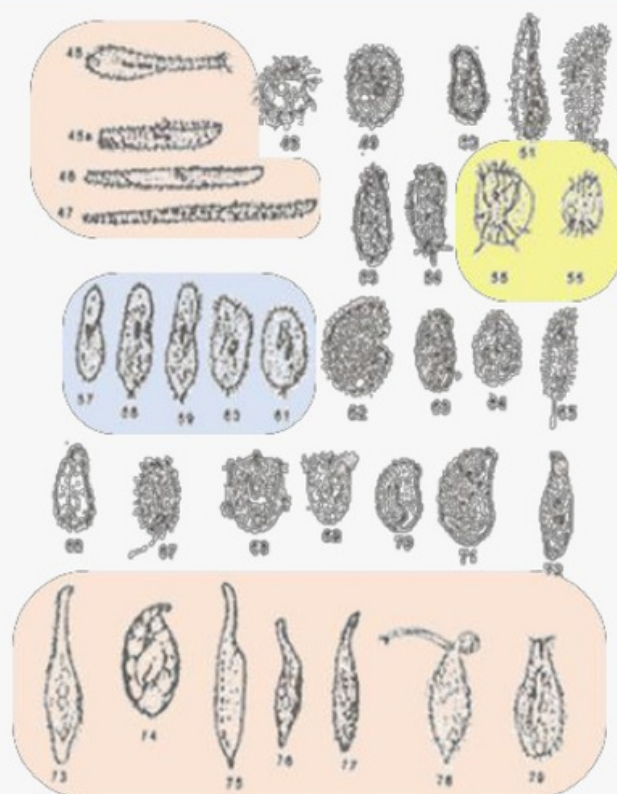


Figura 10: Desenho esquemático de um ciliado livre-natante carnívoro.

A FIGURA 11 apresenta os desenhos esquemáticos das principais espécies de ciliados livre-natantes que podem ser registradas em lodos ativados.



PROTOZÁRIOS ANCORADOS AOS FLOCOS

CILIADOS PEDUNCULADOS OU CILIADOS FIXOS

Os ciliados pedunculados ou fixos têm este nome porque ficam presos aos flocos através de um pedúnculo.

O processo de lodos ativados baseia-se na formação de agregados de bactérias sobre os quais os outros organismos podem desenvolver.

Por isso, uma população de microrganismos com capacidade de se ligarem ao lodo, como é o caso dos ciliados pedunculados, tem vantagem sobre a população que nada livremente na fração líquida e que está, portanto, sujeita a ser levada para fora do sistema, junto com o efluente.

Os cílios dos ciliados pedunculados não têm a função de locomoção, mas sim a função de captar alimentos (bactérias).

Eles podem viver solitários (FIGURA 12) ou coloniais (FIGURA 13). O fato de estarem ancorados ao floco dá-lhes uma grande economia de energia, porque não precisam ficar no sistema em natação contínua. Esta é a razão pela qual esses microrganismos sobrevivem com quantidades muito menores de alimento.

Eles são normalmente co-dominantes em lodos ativados com bons resultados. No entanto, em ocasiões de condições transitórias da instalação, em que existe a redução da eficiência depurativa, estes ciliados podem aumentar rapidamente a sua densidade podendo representar mais de 80% da microfauna total. Tais condições transitórias podem ser:

- **Rápido aumento da relação F/M devido a perda ou extração de lodo;**
- **Variação de carga orgânica de forma descontínua;**

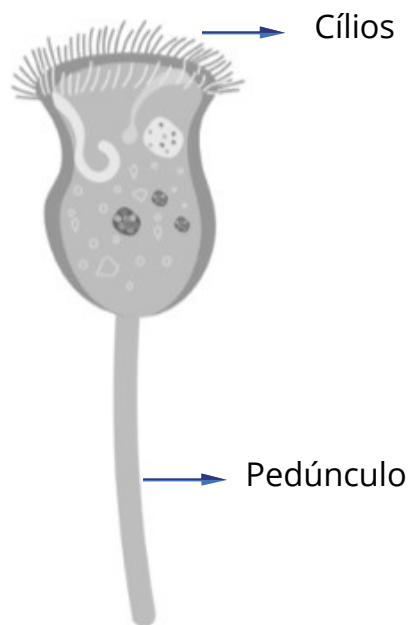


Figura 12: Desenho esquemático de um ciliado fixo solitário.

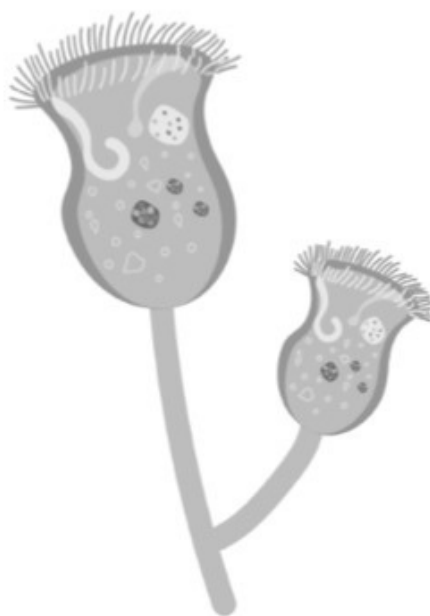


Figura 13: Desenho esquemático de um ciliado fixo colonial.



Entre os ciliados pedunculados existem algumas espécies, como a *Vorticella microstoma* e *Opercularia* spp., que podem sobreviver em lodos ativados expostos a condições ambientalmente críticas (carência de OD, entrada de substâncias tóxicas, etc).

Quando estas espécies estão presentes em elevada densidade, devem ser consideradas separadamente das outras formas fixas.

O analista também deve estar atento a presença de ciliados fixos sem o pedúnculo.

É comum em condições ambientalmente críticas (carência de OD ou entrada de substâncias tóxicas) o ciliado se soltar do pedúnculo e ficar nadando livremente entre os flocos, até morrer.

A FIGURA 14 apresenta os desenhos esquemáticos das principais espécies de ciliados pedunculados que podem ser registradas em lodos ativados.

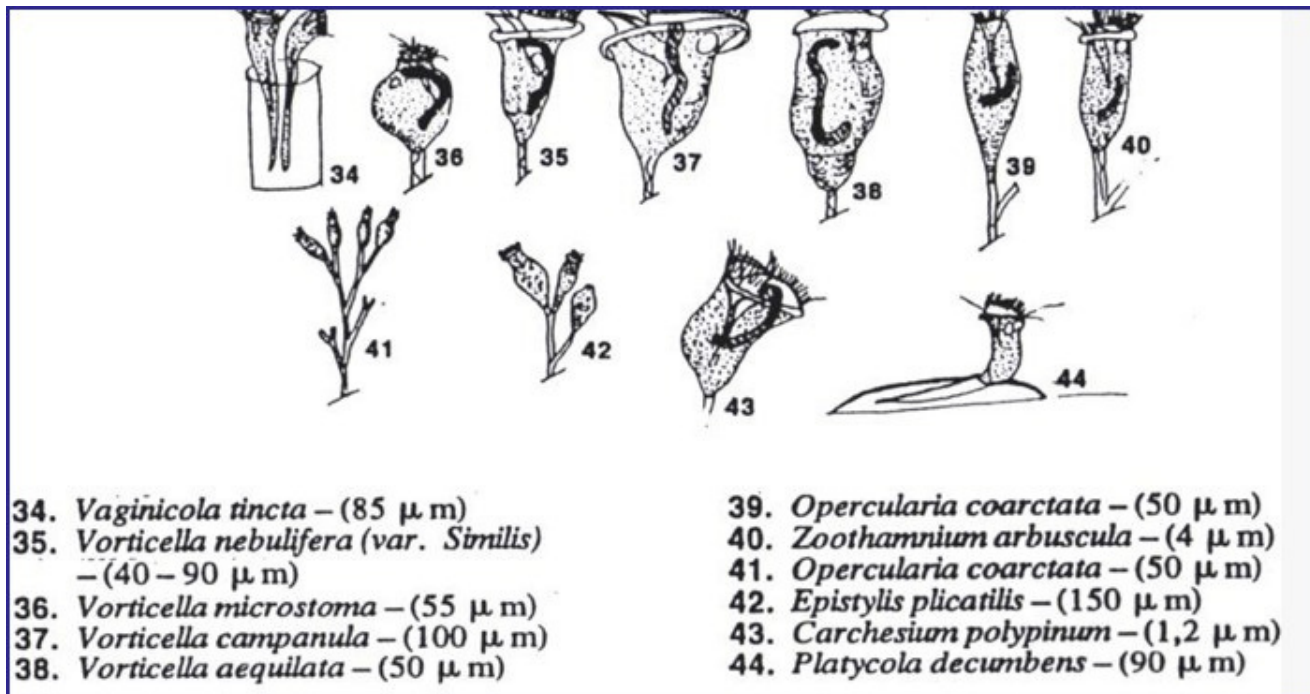


Figura 14: Principais espécies de ciliados pedunculados que podem ser registrados em lodos ativados.

Existe um ciliado pedunculado que encontramos com baixa frequência em algumas plantas de celulose e papel e também em lodos ativados que tratam chorume. É a espécie *Chaetospora muelleri* (FIGURA 15).

Este protozoário muitas vezes passa despercebido na análise do lodo, pois na maioria das vezes ele fica “paradinho” e “camuflado” dentro do floco biológico.

Este ciliado vive anexado ao substrato, protegido por uma lorica em formato de frasco, que é uma espécie de carapaça secretada por eles mesmo. O que mais chama a atenção do observador é uma espécie de tromba extensível e contrátil, que é utilizada para sua alimentação.

Sua ecologia ainda permanece obscura, não sendo possível fazer correlações com a operação do lodo ativado ou com a qualidade do efluente.

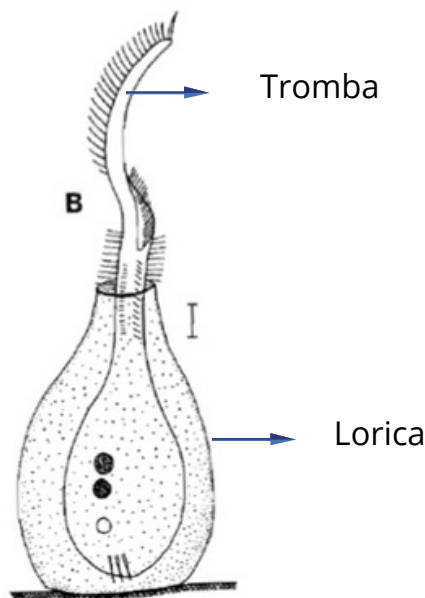


Figura 15: Desenho esquemático da espécie *Chaetospira muelleri*.

SUCTÓRIAS

Há também um grupo de ciliados, com adaptação, transformando os cílios da parte cefálica em tentáculos rígidos e ocos, são chamados suctórias (FIGURA 16). Na aproximação de surpresa, o tentáculo suga a célula e esvazia seu conteúdo. O predomínio de suctórias indica:

- ambiente estabilizado
- aeração suficiente
- baixa DBO

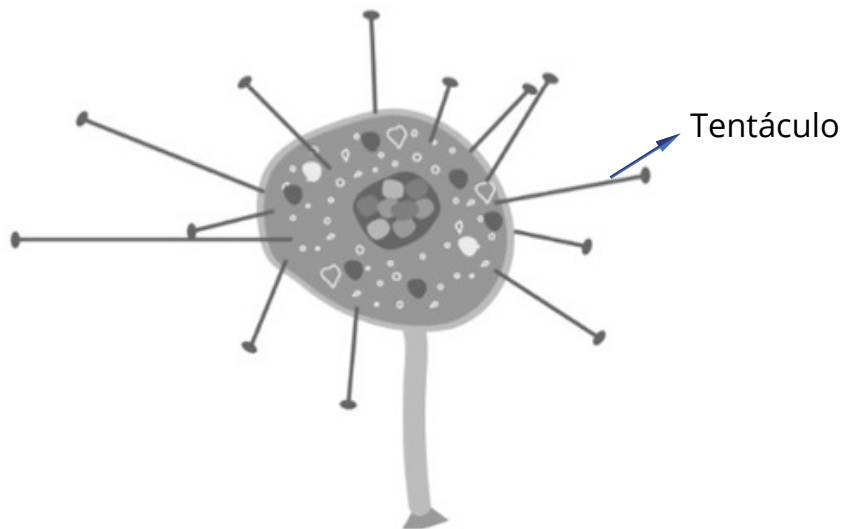


Figura 16: Desenho esquemático de uma suctória

A FIGURA 17 apresenta os desenhos esquemáticos das principais espécies de ciliados pedunculados que podem ser registradas em lodos ativados.

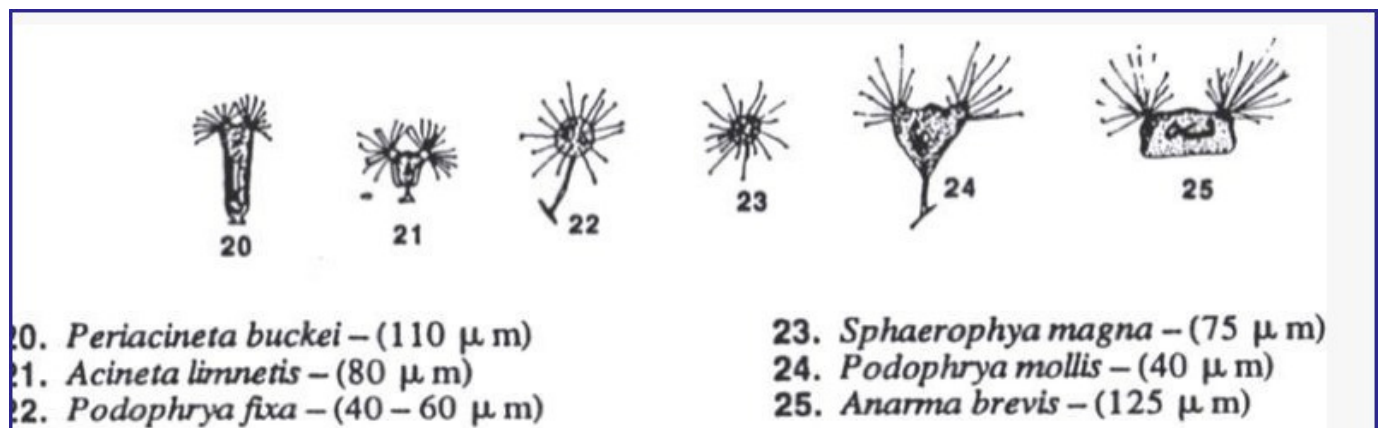


Figura 17: Principais espécies de Suctórias que podem ser registradas em lodos ativados.

METAZOÁRIOS

Tudo que vimos até agora foi relacionado a microrganismos unicelulares, isto é, formado por apenas uma célula. A partir de agora vamos falar de microrganismos pluricelulares, maiores que os protozoários.

ROTÍFEROS

O seu nome deriva do latim para “roda”, com referência a coroa de cílios que rodeiam a boca destes animais e que se movem rapidamente, para captar partículas de alimento, parecendo uma roda a girar.

Eles ficam aprisionados aos flocos por seus espinhos caudais (“pés” bifurcados) e fazem forte filtração de sólidos através de seus cílios (FIGURA 18). São organismos bem grandes, variando de 100 µm a 1000 µm.

Uma característica muito peculiar desses organismos é a presença de uma organela chamada MASTAX, que constitui a faringe muscular do animal e é composto por sete peças duras chamadas trofos. A função do MASTAX é triturar os alimentos para posterior digestão.

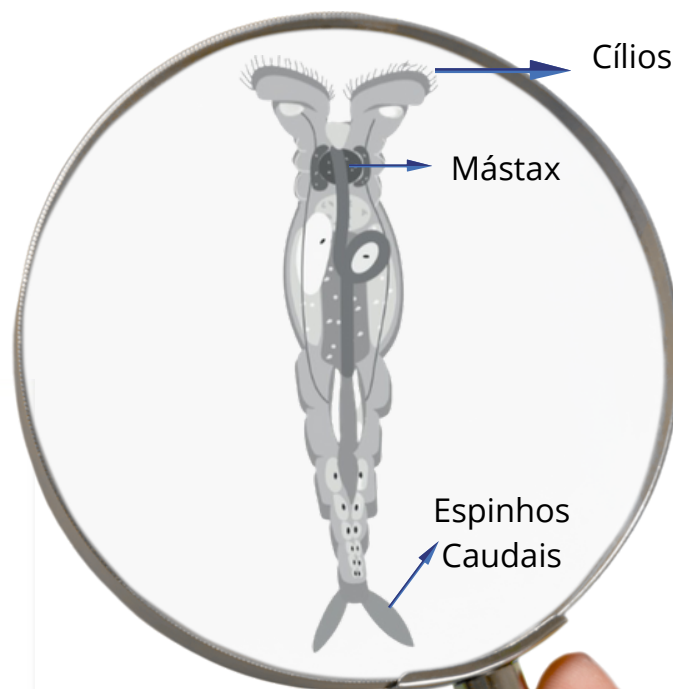
Na maior parte do tempo os rotíferos ficam presos aos flocos através de seus espinhos caudais, mas eles se locomovem de um floco para outro por rastejamento, pelo batimento ciliar da coroa ou ainda saltando pelo líquido.

Os sexos são separados (machos e fêmeas), sendo que normalmente as fêmeas são maiores do que os machos.

O predomínio de rotíferos no lodo indica:

- Carga orgânica baixa
- Boa depuração
- OD alto
- Idade do lodo alta

Figura 18: Desenho esquemático de um metazoário Rotífero.



A FIGURA 19 apresenta os desenhos esquemáticos das principais espécies de Rotíferos que podem ser registradas em lodos ativados.

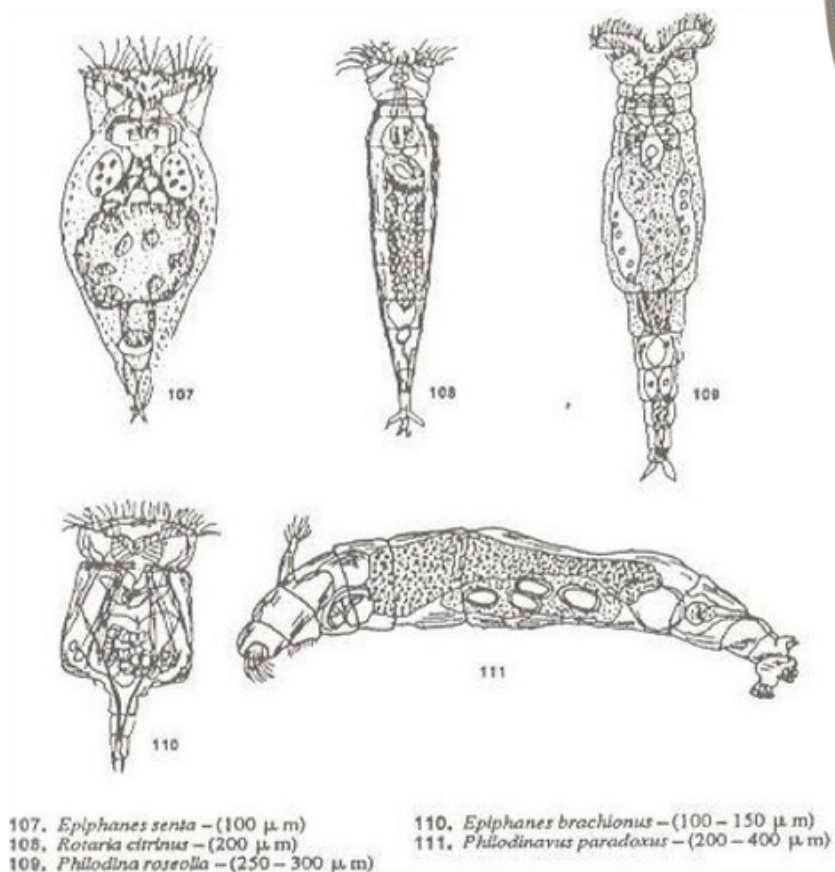


Figura 19: Principais espécies de Rotíferos que podem ser registrados em lodos ativados.

GASTROTRÍQUIOS

Este metazoário muitas vezes é confundido com o Rotífero. Mas ele é bem diferente.

Este metazoário pertence ao filo Gastrotricha (do grego: gaster, estômago; trix, cabelo). É um pequeno filo com cerca de 430 espécies entre marinhas e de água doce. Normalmente encontramos eles em sistemas de lodos ativados operando com idade do lodo alta.

TAMANHO

Seu tamanho varia de 50 μm a 1000 μm de comprimento

- Possuem cílios na parte ventral e tufos de cílios na cabeça (anterior).
- O corpo em forma de pino de boliche ou de fita é achatado ventralmente e arqueado dorsalmente e a locomoção se dá por deslizamento.

São hermafroditas ou partenogenéticos e a espécie que mais observamos em lodos ativados é a *Lepidodermella squamata* (FIGURA 20).

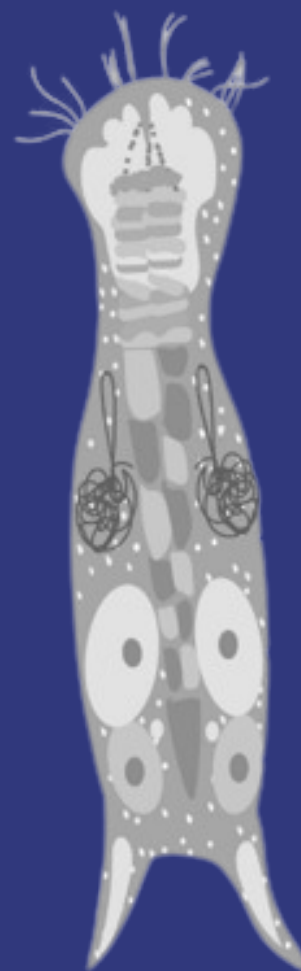


Figura 20: Desenho esquemático de um metazoário Gastrotríquio

VERMES NEMATÓIDES e AELOSSOMA SP.

Os vermes Nematóides (FIGURA 21) e da espécie *Aelossoma* sp. (FIGURA 22) podem predominar em sistemas de lodos ativados operando com idade do lodo alta e/ou com teor de OD muito alto.

Em grande quantidade eles podem conferir uma cor avermelhada ao lodo ativado devido às suas "manchas oculares" de cor vermelha ou laranja.



Figura 21: Desenho esquemático de um verme nematóide.



Figura 22: Desenho esquemático de um verme Aelossoma sp.

TARTÍGRADOS

Os tartígrados, também conhecidos como Ursinho d'água (FIGURA 23) possuem um corpo roliço e pernas com garras, que lembram um ursinho. Eles possuem no total quatro pares de pernas e cada uma possui de quatro a oito garras.

Ele é muito raro de ser encontrado em sistemas de lodos ativados, sendo normalmente observado quando a eficiência de remoção de carga orgânica está bem elevada e a DBO de entrada está estável e baixa.

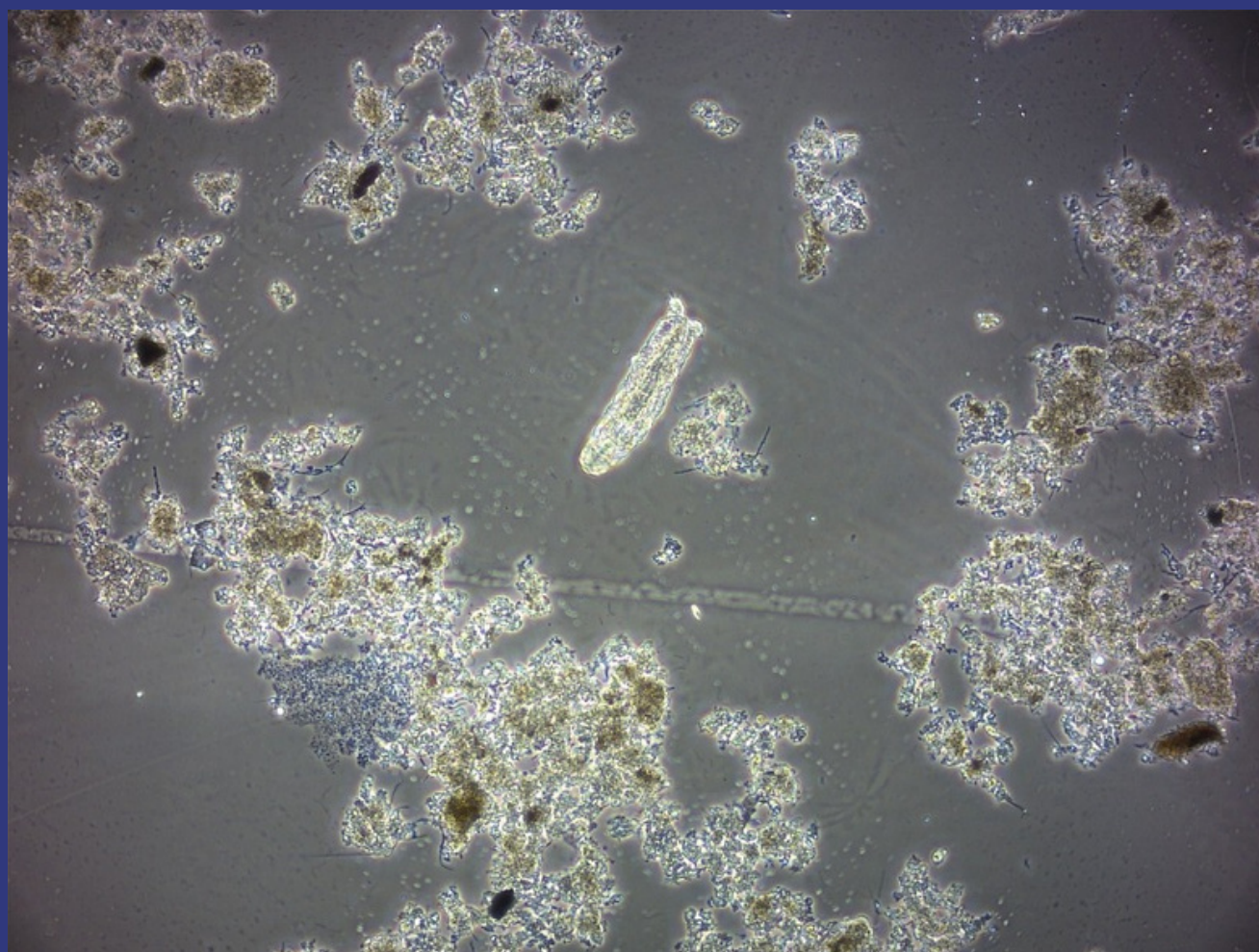


Figura 23: Micrografia de um tartígrado – aumento de 100 x com contraste de fase.



QUANTIFICAÇÃO DOS PROTOZOÁRIOS E METOZOÁRIOS

Junto com a identificação desses microrganismos, o analista deve quantificar sua presença. É interessante ressaltar que a lâmina deve ser analisada inteiramente em movimentos de zigue-zague.

Para facilitar, a contagem deve ser seguida de acordo com a Tabela 1, sendo que a quantidade do organismo se encaixa em um determinado valor, o que corresponde à sua classificação em termos de sua densidade.

QUANTIDADE DE CADA ORGANISMO	VALORES	CLASSIFICAÇÃO
1 a 5	1	Raros
6 a 10	2	Poucos
11 a 20	3	Médio
21 a 30	4	Médio a muitos
Acima de 30	5	Muitos

Tabela 1- Relação da contagem de organismos com a densidade.

Semanalmente o analista deve quantificar os protozoários & metazoários e ir criando um histórico dos resultados, conforme exemplo abaixo (FIGURA 24).

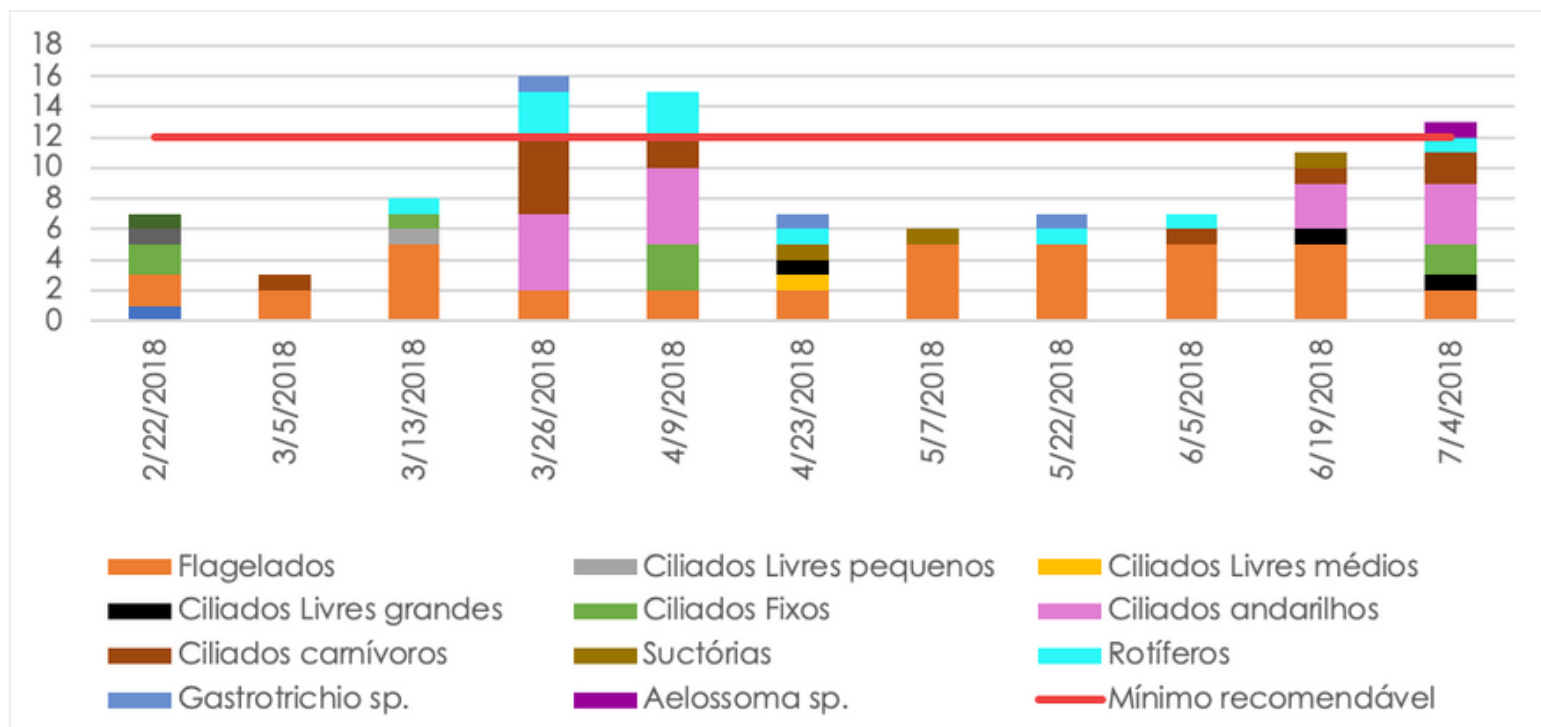


Figura 24: Exemplo da representação gráfica do monitoramento histórico dos protozoários & metazoários de uma planta de Lodos Ativados.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como a sedimentação do lodo frequentemente se deteriora em extremos de carga orgânica, muitas plantas tentam ajustar os parâmetros do processo com base nos tipos de protozoários e outras formas de vida superiores observados no lodo ativado.

Esta não é uma abordagem muito sofisticada para o controle da sedimentação do lodo ativado, porque muitos outros fatores, além da carga orgânica, contribuem para o crescimento dos organismos filamentosos que causam a deterioração da sedimentação do lodo ativado.

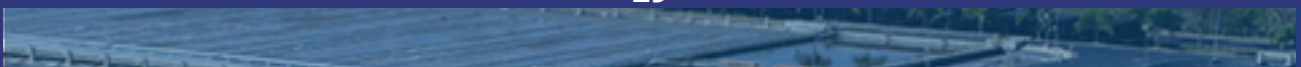
Um dos usos mais valiosos da observação microscópica desses organismos é a avaliação da toxicidade. Esses organismos, particularmente os ciliados e rotíferos, são geralmente os primeiros a serem impactados por materiais tóxicos e podem servir como indicadores de biomonitoramento *In situ* para substâncias tóxicas e outros estresses adversos no processo de lodo ativado.

O primeiro sinal perceptível de toxicidade ou estresse é geralmente a diminuição ou interrupção do movimento dos cílios. Em seguida, os grupos de protozoários predominantes mudam para flagelados e pequenos ciliados de natação livre que freqüentemente "florescem" em números elevados (BLOOM).

Isso é uma indicação da quebra do floco de lodo ativado e da produção de grande número de bactérias dispersas (turbidez) utilizadas como fonte de alimento pelos flagelados e ciliados de natação livre.

Finalmente, em casos graves, esses protozoários morrem, lisam e liberam seu conteúdo celular, às vezes produzindo uma espuma branca que contém protozoários mortos e fragmentos de protozoários. Estresses além da toxicidade que induzem essas respostas incluem:

- **Baixo OD,**
- **PH fora da faixa de 6,5 a 8,5 e**
- **Altas temperaturas. Os protozoários e outras formas de vida superiores geralmente estão ausentes dos sistemas de lodo ativado operados em temperaturas acima de 37 a 40 ° C.**





+ DE 45 ANOS DE EXPERIÊNCIA SOMADOS NO TRATAMENTO DE ESGOTO

Nossa empresa surgiu pelas observações, inicialmente isoladas, de que a engenharia sozinha não resolvia os problemas operacionais de ETES, e que a biologia sabia apontar os problemas das ETES, mas não as soluções práticas.

Quando a Ana Luiza, EXPERT em microbiologia e o João Rosa, EXPERT em engenharia se conheceram, viram que seus conhecimentos se complementavam.

Nasceu aí a ideia de juntar a **BIOLOGIA + ENGENHARIA** para solucionar de maneira original os problemas operacionais das ETES de seus clientes, formando assim a **ACQUA EXPERT**.