

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE MICROORGANISMOS EM
REATORES ANAERÓBIOS DE LEITO FIXO EM CONDIÇÕES ACIDOGÊNICA E
SOLVENTOGÊNICA ATRAVÉS DO BIOSPECKLE**

Douglas Batista da Silva¹, Ariovaldo José da Silva², Juliana Fracarolli², Inácio Maria Dal Fabbro²

¹Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da FEAGRI/UNICAMP. Endereço: Av. Candido Rondon, 501, Barão Geraldo - Campinas / SP. Cidade Universitária Zeferino Vaz CEP 13083-875. Contato: (19) 3521-1109, douglas.ifsm@gmail.com

²Professor (a) na Faculdade de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual de Campinas. Av. Candido Rondon, 501, Barão Geraldo - Campinas / SP. Cidade Universitária Zeferino Vaz CEP 13083-875. Contato: (19) 3521-1025, ariovaldo.silva@feagri.unicamp.br, juliana.fracarolli@feagri.unicamp.br, inacio.fabbrro@feagri.unicamp.br

RESUMO: Após a crise de 1970, os reatores anaeróbios emergiram como principal alternativa para reduzir o teor de matéria orgânica de águas residuárias. Nessas unidades ocorre uma série de reações biológicas pela ação dos microrganismos. Novas técnicas estão sendo empregadas nas áreas científicas e industrial para obtenção de informações, possibilitando uma interação do homem com os fenômenos físico-biológico. A atividade biológica de microrganismos pode ser medida utilizando-se técnicas ópticas de sensores. Neste contexto, o presente trabalho tem por objetivo avaliar a atividade biológica de microrganismos provenientes de reatores anaeróbios. Para isso, foi empregado a técnica do *biospeckle* laser e correlacionado com o Momento de Inércia (MI). Foram realizados dois tratamentos com 15 repetição, sendo o tratamento 1 composto por amostras de biomassa de um reator anaeróbio acidogênico e o tratamento 2 composto por amostra de um reator anaeróbio solventogênico. Após o processamento, foram obtidos os valores de MI. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5%. Os maiores valores de MI foram obtidos na biomassa do reator solventogênico. Este fato pode ser explicado pela condição que a biomassa estava submetida, ou seja, pelo pH do meio e a temperatura que os reatores eram operados. Com a realização, foi possível correlacionar a característica da biomassa pelo Momento de Inércia, porém, faz-se necessário outros experimentos que possam melhor demonstrar o comportamento da atividade biológica dos microrganismos.

PALAVRAS-CHAVE: Reatores biológicos, momento de inércia, microrganismos.

ABSTRACT: After the 1970 crisis, the anaerobic reactors emerged as the main alternative for reduction of organic matter in wastewater. In these units occur a series of biological reactions by the action of microorganisms. New techniques are applied for achieve informations and make possible the human interaction with fisical and chemical phenomenons. The microorganism's biological activities can be measures by sensors optical techniques. We used the techniques of laser biospeckle and correlated with the Inertia Moment (MI) for two treatment with 15 repetitions. The first treatment with anaerobic acidogenic biomass and second treatment with anaerobic solventogenic biomass. After processing, the MI values were obtained. The results were statistically analyed by Tukey's. Teste at 5% significance. The higher MI values were obtained for the solventogenic biomass. This fact can be explained by

the condition of biomass cultivation, or by the drastic conditions of pH and temperatura wich the reactors were operated. In this work, it was posible to correlate biomass feature by inertia momento however, it is necessary ohter experiments that can best demonstrate the behavior of biological activity of anaerobic microrganism.

KEYWORDS: Biological reactors, inertia moment, microorganisms.

INTRODUÇÃO

Após a crise energética ocorrida no início dos anos 70, os processos anaeróbios de biodegradação emergiram como principal alternativa para reduzir o teor de matéria orgânica de águas residuárias (FORESTI, 1994). Diante desse cenário, houve grande impulso o desenvolvimento de reatores direcionados para o tratamento de águas residuárias.

Os reatores biológicos constituem-se como elemento primordial no tratamento de água residuárias e, nessas unidades ocorre uma série de reações biológicas para biodegradação de matéria orgânica, tanto dissolvida ou particulada, para obtenção de produtos de alto valor (ZAIAT, 2003).

Atualmente, os sistemas anaeróbios de tratamentos de águas residuárias encontra-se em grande fase, devido a sua fácil aplicabilidade, associada aos baixos custos de implantação, simplicidade operacional, baixa geração de sólidos além de minimizar os impactos ambientais. (CHERNICHARO, 1997).

Os processos anaeróbios empregam a utilização de microrganismos no tratamento de águas residuárias, permitindo a estabilização de compostos orgânicos. Existem diferentes configurações de reatores, proporcionando um verdadeiro ecossistema (VAZOLLER, 2005).

Novas tecnologias vêm contribuindo tanto nas áreas científicas quanto na indústria, na obtenção de dados, informações possibilitando uma melhor interação do homem com os fenômenos físicos biológicos (CHAVES, 2011).

Dentre essas tecnologias, destaca-se a utilização de métodos ópticos de análise de materiais biológicos, através do fenômeno *biospeckle*, que caracteriza-se como fenômeno óptico de interferência que carrega informações do material que sendo exposto a uma fonte de luz coerente (FRACAROLII, 2011). O *biospeckle* pode ser aplicado em diversas áreas, para a determinação da mobilidade celular em biscoitos, monitoramente da atividade biológica de sêmen animal, etc. (MARQUES, 2009). Além disso, a técnica pode ser empregada para avaliar a qualidade de produtos biológicos, como frutas, sementes, folhas, pele de animais e carnes (ANSARI e NIRALA, 2013; KURENDA; ADAMIAK; ZDUNEK, 2013; AMARAL et al., 2013; ALVES; BRAGA; VILAS BOAS, 2013) e, em materiais não biológicos, como corrosão de metais e secagem de pinturas (ADAMIAK et al., 2012; BRAGA et al., 2011).

Tendo em vista estudos sobre o comportamento do *biospeckle* laser sobre matérias biológicas e não biológicas, este trabalho tem por objetivo, avaliar a atividade dos microrganismos, empregando-se a técnica do *biospeckle* laser e diferenciar os tratamentos através do teste de Tukey.

MATERIAL E MÉTODO

Os ensaios com *biospeckle* laser foram realizados no Laboratório de Máquinas Agrícolas da Faculdade de Engenharia Agrícola (FEAGRI)-Universidade Estadual de Campinas-SP.

Biomassa

Foram coletadas amostras ativas de microrganismos provenientes de dois reatores anaeróbios de leito fixo de 3,77 litros, instalado no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia Agrícola (FEAGRI) – Universidade Estadual de Campinas-SP. Os reatores eram alimentados em fluxo contínuo ascendente com solução de sacarose e nutrientes, mantidos em temperatura ambiente.

Identificação das amostras de biomassa

Inicialmente, as amostras de biomassa foram colocadas em placas de petri acrílicas para realização do ensaio com o *biospeckle*. A Figura 1, ilustra o arranjo e a disposição nas placas de petri.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com 15 repetições, sendo observados dois tratamentos. O tratamento 1 era composto de amostras provenientes do reator anaeróbio acidogênico e o tratamento 2 composto por amostras do reator solventogênico).

As amostras foram iluminadas pelo laser em ordem, conforme a disposição das placas de petri apresentada nas figuras, fazendo-se 15 repetições para cada tratamento. Durante a iluminação foram feitos filmes de 20 s para cada amostra de cada tratamento.

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo Teste F e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Sisvar 5.3. As variáveis respostas adotadas foram os valores de MI.

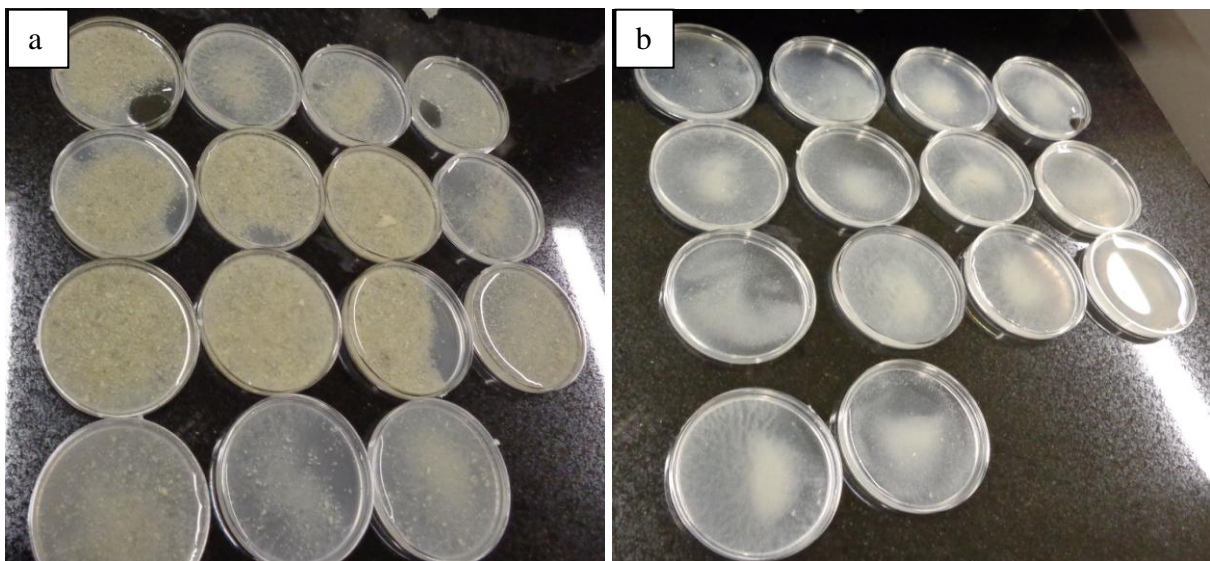


Figura 1. Placas de petri com a biomassa em estado líquido. a: biomassa proveniente do reator acidogênico; b: biomassa proveniente do reator solventogênico.

Momento de Inércia

Os equipamentos empregados nos ensaios ópticos incluíram um laser diodo de 632 nm de comprimento de onda (vermelho) e 10 mW de potência, uma câmera filmadora digital marca SAMSUNG® e modelo SC-HMX20C com taxa de aquisição de 30 Hz (Figura 2), um computador tipo PC com processador *Core i7* com 4 Gb de memória RAM com *softwares* para o processamento das imagens, como ImageJ versão 1.48e (SCHNEIDER; RASBAND; ELICEIRI, 2012), MATLAB® versão 7.12.0.635 (R2011a, The Mathworks, Inc., Natick, MA) os *softwares* estatísticos Sisvar versão 5.3 (FERREIRA, 2003).



Figura 2. Câmera filmadora utilizada na aquisição das imagens.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Acredita-se que a atividade do biospeckle é o resultado obtido pelo espalhamento de luz por partículas que se movem sobre a célula. Este fenômeno pode estar associado com a distribuição de substâncias acumuladas, transporte de metabolitos através da membrana celular interna (Kurenda et al. 2012). Os fatores pH e temperatura pode influenciar o espalhamento do biospeckle sobre a atividade do microrganismo.

Para os resultados obtidos neste ensaio, foi realizada a análise de variância seguida pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A análise de variância da biomassa indicou que não houve diferença estatística pelo teste F, nível de 1% de probabilidade ($P < 0,01$), conforme apresentado na Tabela 1. A comparação entre os valores médios de biomassa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) consta na Tabela 2.

Tabela 1. Análise de variância (Teste de Tukey) para os valores médios de Momento de Inércia (MI) para cada tratamento. Tratamento 1: biomassa reator acidogênico e Tratamento 2: biomassa reator solventogênico. **Anova and F test ($p < 0,01$ and $P < 0,05$) to the mean values of moment of inertia (MI) of each treatment. Treatment 1: reactor acidogenic biomass and Treatment 2: reactor solventogenic biomass.**

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	Pr>FC
Tratamento	1	3942,6988	3942,6988	2,227	0,1578
Repetição	14	23014,0578	1643,8612	0,929	0,5541
Erro	14	24780,8388	1770,0599		
Total corrigido	29	51737,5955			
CV (%)	41,83				
Média Geral	100,5813				
Nº de observações	30				

FV: Fonte de Variação; GL: Graus de Liberdade; SQ: Soma de Quadrados, feita pela soma dos quadrados das diferenças entre cada observação e a média geral do experimento; QM: Quadrados Médios, obtidos pela razão entre a Soma de Quadrados e o número de Graus de Liberdade; Fc: Valor de f calculado; Pr>Fc: Nível de significância; CV: Coeficiente de Variação.

Tabela 2. Valores médios de biomassa do Teste de Tukey ($p < 0,05$) para o Momento de Inércia (MI) para cada tratamento. Sendo o tratamento 1: biomassa reator acidogênico e Tratamento 2: biomassa reator solventogênico. **Average values of biomass and Tukey Teste ($p < 0,05$) to the moment of inertia (MI) of each treatment. Treatment 1: reactor acidogenic biomass and Treatment 2: reactor solventogenic biomass**

Tratamentos	Médias	Resultados do Teste
1	89,1173	a1
2	112,0453	a1

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,01$).

Os resultados obtidos revelaram uma diminuição da atividade biológica e nos valores de MI nas amostras do reator acidogênico, o que pode ser explicado pela concentração de biomassa. Contudo, as amostras do reator solventogênico apresentaram os maiores valores de MI. Analisando os dois resultados, observa-se que a concentração de biomassa tenha interferido na incidência do *biospeckle* laser.

Mesmo tratando-se do mesmo tipo de amostra, porém proveniente de reator diferente, esperava-se que os resultados fossem diferentes, devido à condição em que os reatores eram mantidos. Outro fator que possa ter contribuído para os baixos valores de MI é a condição de operação do reator, como o pH e a temperatura. No momento da coleta, o pH da amostra estava em torno de $4,6 \pm 0,2$, sendo que pH afluente que alimentava os reatores era mantido em torno de 6,0 a 7,0 com adição de bicarbonato de sódio.

CONCLUSÃO

Foi possível observar que a incidência do *biospeckle* laser sobre a biomassa não apresentou diferenças significativas no comportamento da atividade dos microrganismos. E neste caso, o pH e temperatura podem ter influenciado na atividade biológica dos microrganismos.

Para ter a certeza que estes fatores influenciaram significativamente na incidência do *biospeckle* laser sobre a biomassa, necessita que outros ensaios sejam realizados para comprovar porque os microrganismos não apresentaram atividades mediante a condição em que estavam submetidos.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, I. C. et al. Application of biospeckle laser technique for determining biological phenomena related to beef aging. **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 1, p. 135–139, nov. 2013.
- ANSARI, M. D. Z.; NIRALA, A. K. Biospeckle activity measurement of Indian fruits using the methods of cross-correlation and inertia moments. **Optik - International Journal for Light and Electron Optics**, v. 124, n. 15, p. 2180–2186, ago. 2013.
- CHAVES, M. J. **Desenvolvimento de uma metodologia par análise do biospeckle laser com portabilidade, acessibilidade e robustez**. Lavras (Mestrado). Programa de Engenharia de Sistemas, área de concentração em modelagem de Sistemas Biológicos - Universidade Federal de Lavras, 2011.
- CHERNICHARO, C.A.L. 1997. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias – Volume 5: Reatores anaeróbios**. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental-UFMG. Belo Horizonte, 245 p.

FORESTI, E. 1994. Fundamentos do processo de digestão anaeróbia. **In:** Vinhãs, M.; SOUBES, M.; BORZACCONI, L.; MUXI, L. (eds). Taller y Seminario Latino Americano – Tratamento Anaeróbio de Águas Residuales, 3, Montevideo, Uruguay, p.97-123.

FRACAROLLI, J.A. **Utilização do biospeckle laser na avaliação do potencial germinativo de sementes de ipê-roxo. Campinas.** Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia Agrícola – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2011.

KURENDA, A. et al. Effect of Cytochalasin B, Lantrunculin B, Colchicine, Cycloheximid, Dimethyl Sulfoxide and Ion Channel Inhibitors on Biospeckle Activity in Apple Tissue. **Food Biophysics**, v. 8, n. 4, p. 290–296, dez. 2013.

KURENDA, A. et al. Temperature effect on apple biospeckle activity evaluated with different índices. **Postharvest Biology and Technology**.v. 67, p. 118-123, 2012.

VAZOLLER, R. F. 2005. **Microbiologia e saneamento ambiental**. Disponível em: <<http://www.bdt.fat.org.br/publicacoes/padct/bio/cap9/3/rosana.html>> Acesso em: 22 de maio de 2015.

ZAIAT, M. **Desenvolvimento e análise de biorreatores anaeróbios contendo celular imobilizadas para o tratamento de águas residuárias.** Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos. Livre-Docente, 2003.