

II- 193- CARACTERIZAÇÃO DA COMUNIDADE MICROBIANA DO LODO DE ETE MULTIFABRIL NA PRESENÇA DE COMPOSTOS RECALCITRANTES

José do Carmo Barbosa Neto⁽¹⁾

Graduando em Biomedicina

Laisa Gabriele Batista de Jesus⁽²⁾

Graduanda em Ciências Biológicas com ênfase em Ambientais

Bruna Kelly de Oliveira Silva⁽³⁾

Doutoranda em Ciências Biológicas, Mestre em Ciências Farmacêuticas, Pós-graduada em Análises Clínicas, Graduada em Ciências Biológicas Bacharelado

Fabício Motteran⁽⁴⁾

Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, do Centro de Tecnologia e Geociências (CTG) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Pesquisador do Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) e Laboratório de Biologia Molecular e Tecnologia Ambiental (LABIOTA). Membro do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da UFPE.

Endereço⁽⁴⁾: Av. da Arquitetura - Cidade Universitária, Recife - PE, 50740-540 - e-mail: fabício.motteran@ufpe.br

RESUMO

Considera-se como micro-organismos extremófilos aqueles capazes de adaptar-se a situações adversas, como: altas temperaturas, pH ácido, alto teor de salinidade, alta concentração de matéria orgânica e contaminantes. Esses micro-organismos desenvolvem mecanismos de adaptação que permeiam por muitas vezes mudanças no seu metabolismo, o qual permite que utilizem contaminantes presentes no ambiente como fontes de carbono preferenciais. Estas fontes de carbono por muitas vezes são constituídos por hidrocarbonetos aromáticos, pesticidas, dentre outros, que podem ser citados como compostos recalcitrantes. Esses compostos são extremamente tóxicos, podendo ser carcinogênicos e teratogênicos, eles bioacumulam com facilidade, são hidrofóbicos e quimicamente estáveis, o que dificulta a sua remoção do ambiente ao qual estão contaminando. Muitos compostos recalcitrantes, fazem parte do processo industrial de vários produtos, o que reflete na facilidade de encontra-los no ambiente e esgotos. Deste modo, entende-se que as Estações de Tratamento de Esgoto (ETE), principalmente as que recebem efluentes fabris, como a ETE multifábrica do Jaboatão dos Guararapes, está repleta de compostos recalcitrantes como estes citados e também de micro-organismos adaptados a situações extremas. Análises anteriores realizadas nessa unidade amostral demonstrou que a estação é altamente eficiente na remoção de matéria orgânica e tratamento do efluente, quando comparadas a outras estações de tratamento pertencentes a Companhia de Saneamento de Pernambuco (COMPESA). Esta característica nos despertou a entender o perfil da comunidade microbiana ali presente. Nossas análises metagenômica apontam que de fato as bactérias e archaeas presentes nas lagoas estão intimamente relacionadas com o tipo de efluente lançado na estação, e que provavelmente o sucesso no desempenho do tratamento do efluente está ligado ao metabolismo dos micro-organismos que estão nas lagoas.

PALAVRAS-CHAVE: ETE, Bactérias extremófilas, Contaminantes, Esgoto, Metagenômica.

INTRODUÇÃO

Estações de Tratamento de Esgotos (ETE) são ricas em micro-organismos capazes de degradar compostos orgânicos presentes nos esgotos sanitários. Os níveis de poluentes presentes nesses efluentes desencadeiam uma série de adaptações nos micro-organismos que os tornam capazes de metabolizar substâncias e produtos do meio (GÓMEZ-ACATA et al., 2021; OLIART-ROS et al., 2016). A ETE Multifábrica do Jaboatão dos Guararapes, em Pernambuco, vem demonstrando boa remoção de matéria

orgânica e poluentes presente no efluente que chegam a três lagoas de tratamento que compõem o sistema. Os padrões de remoção de contaminantes da ETE é considerado bom, pois se enquadra ao que é estabelecido pela Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA Nº 430/2011.

Esta estação está localizada em um complexo industrial, recebendo esgoto de fábricas de diversas categorias além de esgoto domésticos. A maior parte destes efluentes contêm compostos orgânicos recalcitrantes, como gorduras, hidrocarbonetos, corantes, metais, surfactantes, dentre outros (SKARIYACHAN et al., 2018; ZHANG et al., 2019). Estes compostos bioacumulam no ambiente e representam riscos à saúde pública por serem tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos. Análises físico-químicas realizadas nas lagoas demonstraram estar dentro do que é estabelecido pelo CONAMA (CONAMA, 2011).

O lodo da ETE Multifábrica apresenta comunidades microbianas que podem se especializar e constituírem populações específicas para diferentes composições do substrato ou mesmo para diferentes nichos dentro dos sistemas de tratamento (LUCENA et al. 2011). Um ponto relevante no tratamento de efluentes é, portanto, a possibilidade de identificar populações existentes, para melhorar a capacidade de biotransformação de tecnologias evolutivamente adaptadas, reconfigurando projetos de reatores para utilizar essas populações em diferentes processos de estações de tratamento (MENEZES et al., 2020; GAVAZZA et al., 2020). Devido à presença de bactérias com alta eficiência para a biodegradação.

Deste modo, o bom desempenho desta unidade justificam análises metagenômicas nas lagoas, a fim de caracterizar o perfil da comunidade microbiana presente no sistema de tratamento de esgoto industrial, como também as interações mantidas pelas mesmas, o que pode explicar o bom desempenho e estabilidade das lagoas de tratamento.

OBJETIVO

Determinar e caracterizar os micro-organismos do efluente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) Multifábrica por meio de ferramentas de biologia molecular e sequenciamento genômico em larga escala.

MATERIAIS E MÉTODOS

A ETE Multifábrica de Jaboatão dos Guararapes está localizada na região metropolitana do Recife, Brasil, e pertence à Companhia Pernambucana de Saneamento (COMPESA). A estação é composta por três lagoas facultativas com 2 metros de profundidade, cada (Figura 1-B). A ETE recebe efluentes de um complexo fabril que contém cerca de 12 indústrias, que contemplam os nichos de papelaria, galvanizados, lavanderia, alimentos, tintas e vernizes, além de policloreto de vinilo (PVC) (Figura 1-A). Uma característica única desta ETE é que a mesma nunca passou por um processo de limpeza e remoção do lodo desde o início de suas operações, o que confere a lagoa 1 uma alta concentração de matéria orgânica e tamponamento quase que total da sua superfície, o que limitou o fluxo do efluente e criou várias zonas mortas nesta lagoa de tratamento (Figura 1-C).

Na figura 1 a parte (A) trata-se da imagem de satélite da ETE Multifábrica do Jaboatão dos Guararapes e do complexo industrial do entorno. A parte (B) refere-se a imagem de satélite das lagoas de tratamento. Na parte (C) temos a lagoa 1, demonstrando a concentração de matéria orgânica em sua superfície.

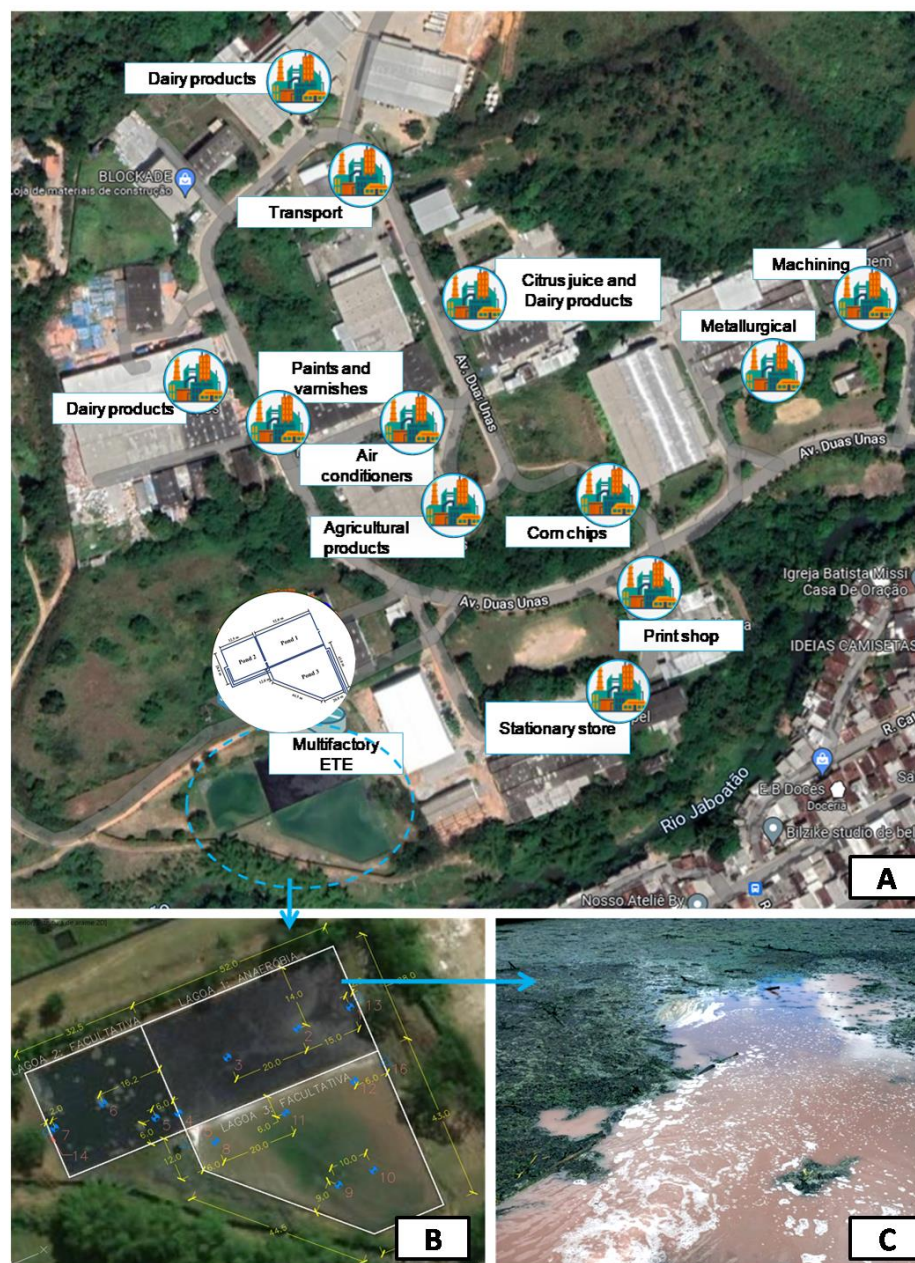


Figura 1. ETE Multifábrica do Jabotão dos Guararapes.

Foram coletadas 12 amostras de lodo da ETE Multifábrica de Jabotão dos Guararapes (Figura 2). Na lagoa 1 as amostras foram retiradas das margens da lagoa, utilizando-se de um braço de coleta. Nas lagoas 2 e 3, a coleta foi feita em toda a extensão da lagoa utilizando-se de bote e com o auxílio de uma garrafa de Van Dorn. As amostras de lodo passaram por extração do DNA total utilizando o kit para extração PowerSoil DNA seguindo protocolo recomendado pelo fabricante. O DNA total foi quantificado utilizando o equipamento NanoDrop 2000 da Thermo Scientific. Das 12 amostras, seis amostras representativas (pontos laranja da figura 2), foram enviadas para a empresa Neoprospecta para análise de identificação taxonômica por meio do sequenciamento em metabarcoding. O sequenciamento de alto desempenho foi realizado nas regiões V3/V4 do gene 16S rRNA. Os dados foram processados no Metagenomics Rapid Annotation Using Subsystems Technology (MG-RAST) e o banco de dados escolhido foi o SILVA SSU.

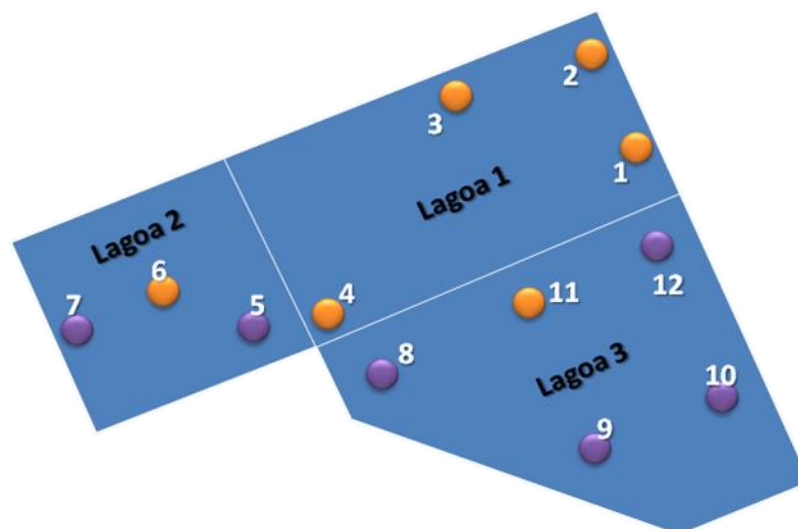


Figura 2. Figura da planta da ETE e dos pontos amostrais.

RESULTADOS

Com o resultado do sequenciamento genômico da comunidade microbiana foi possível observar 542 gêneros para o Domínio Bacteria e 18 gêneros para o Domínio Archaea que são reflexo dos efluentes que chegam até a estação de tratamento. A ETE recebe efluentes indústrias de fabricação de tintas, vernizes, sucos, PVC, galvanizados, papel e lavanderia. Nos gêneros analisados do Domínio Bacteria foram encontrados, micro-organismos associados à degradação de hidrocarbonetos aromáticos, celulose, tiosulfato, nitrato, dentre outros compostos (NAN et al., 2002), como é o caso do gênero *Fervidobacterium*, com abundância relativa de 35,4% na lagoa 1, 66,3% na lagoa 2 e 46,4% na lagoa 3 (Gráfico 1). Enquanto que no domínio archaeas foi encontrado gêneros como *Methanoregula*, com abundância relativa de 0,90% na lagoa 3, e *Methanolinea*, com abundância relativa de 0,44% na lagoa 1, 0,55% na lagoa 2 e 0,97% na lagoa 3, e que são gêneros que possuem metabolismo metanogênico (IMACHI et al., 2008; BRAÜER, 2010).

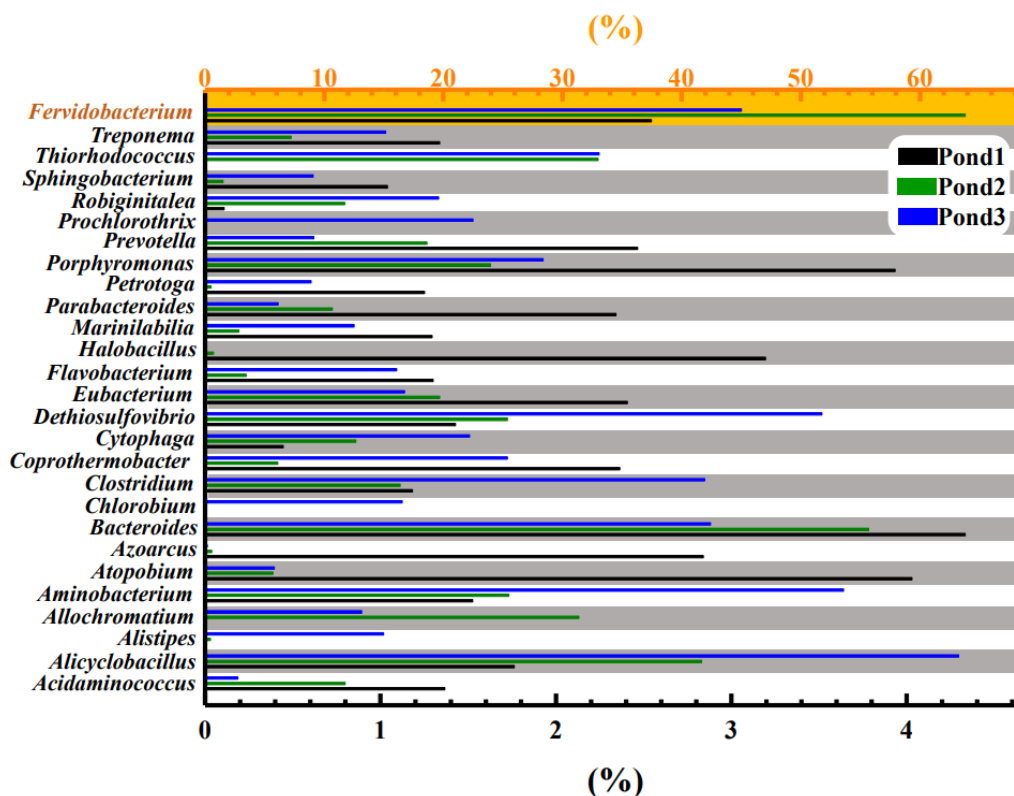


Gráfico 1. Gráfico da abundância relativa acima de 1% dos gêneros de bactérias encontrados pela análise metagenômica nas lagoas de tratamento.

DISCUSSÃO

As ETes apresentam grande diversidade de micro-organismos capazes de degradar compostos descartados nestes sistemas. Com isso, as amostras da primeira lagoa de tratamento apresentaram predominância de bactérias anaeróbias, como a *Fervidobacterium*, que pertence à família *Thermothegaceae*, associada à degradação de petróleo e queratina (NAN et al., 2002). Este gênero é descrito como bactéria comumente encontrada em fontes termais e poços de óleo, que suportam temperaturas até 68°C, e possui metabolismo fermentativo. Além de estar presente na primeira lagoa, o gênero *Fervidobacterium* apresentou abundância relativa de 35% na primeira lagoa, 66% na segunda lagoa e 46% na terceira lagoa, demonstrando ser o gênero mais abundante neste sistema de tratamento. Outro gênero em destaque foi o *Acidaminococcus*, bactéria anaeróbia e Gram-negativa, que utiliza aminoácidos como única fonte de energia, e por meio de fermentação os metaboliza em ácido acético, ácido butírico e CO₂ (RUSSEL, 2015).

Na amostra correspondente a segunda lagoa observa-se a presença do gênero *Alicyclobacillus* que são bactérias aeróbias, Gram-positiva, ácido-termorresistente, não patogênico e formadora de esporos, estando constantemente associada a degradação efluentes oriundo do processamento de vinhos e sucos cítricos industriais (Pornpukdeewattana, 2019). Estes micro-organismos são capazes de produzir um composto chamado guaiacol caracterizado pelo odor e sabor desagradáveis aos produtos. Corroborando mais uma vez a associação da microbiota ao efluente, uma vez que uma das estações fabris presentes no local é produtora de sucos cítricos. Já nas amostras correspondentes à terceira lagoa foi observada a presença do gênero *Aminobacterium* com abundância relativa acima de 0,5%. Este grupo microbiano se apresenta como Gram-negativas, anaeróbias, responsáveis por degradar aminoácidos e são encontradas tanto em lodos como em estações de tratamento de águas (Baena, 2000; Hamdi, 2015).

Além dos gêneros bacterianos, também foi detectado a presença de archaeas, com destaque para os gêneros *Methanolinea*, *Methanosaeta* e *Methanoregula* associadas a lodos de biodigestores, as quais possuem metabolismo metanogênico (ZHANG et al., 2019; BRAÜER et al., 2011) e apresentaram abundância relativa bastante representativa na primeira lagoa. Esta abundância deve-se ao fato que nesta lagoa possui uma camada de matéria orgânica espessa em sua superfície, conferindo características de um biorreator anaeróbio.

CONCLUSÃO

Com os dados obtidos por meio do sequenciamento genético em larga escala foi possível observar a abundância relativa dos gêneros bacterianos encontrados nas amostras de todas as lagoas do sistema de tratamento multifabril e que os grupos microbianos estavam bem distribuídos na primeira e segunda lagoas, enquanto na terceira lagoa algumas espécies eram exclusivas daquela unidade de tratamento. Isso confirma o fato de que cada lagoa abriga um consórcio bacteriano compatível com suas condições físico-químicas e de fluxo de nutrientes, e esse consórcio altera conforme haja mudança das condições microambientais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acidaminococcus gen. n., *Acidaminococcus fermentans* sp. n., Anaerobic Gram-negative Diplococci Using Amino Acids as the Sole Energy Source for Growth Morrison Rogosa

Baena S., Fardeau M. L., Labat M., Ollivier B., Garcia J. L., Patel B. K. *Aminobacterium mobile* sp. nov., a new anaerobic amino-acid-degrading bacterium. Int J Syst Evol Microbiol, v 50, p. 259-264, jan. 2000. Doi: 10.1099/00207713-50-1-259.

Bräuer SL, Cadillo-Quiroz H, Ward RJ, Yavitt JB, Zinder SH. *Methanoregula boonei* gen. nov., sp. nov., an acidiphilic methanogen isolated from an acidic peat bog. Int J Syst Evol Microbiol. 2011 Jan;61(Pt 1):45-52. doi: 10.1099/ijs.0.021782-0. Epub 2010 Feb 12. PMID: 20154331.

Gavazza (2020) Caproic acid formation by carbon chain elongation during fermentative hydrogen production of cassava wastewater. Waste and Biomass Valorization. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01174-3>

Lucena et al (2011) Study of the microbial diversity in a full-scale UASB reactor treating domestic wastewater. World Journal of Microbiology & Biotechnology 27: 2893-2902

Pornpukdeewattana S., Jindaprasert A., Massa S. Alicyclobacillus spoilage and control - a review. Crit Rev Food Sci Nutr, v. 60, n. 1, p. 108-122, 2020. Doi: 10.1080/10408398.2018.1516190

CONAMA, Resolução 430/2011; Disponível online em 16 de novembro de 2022 às 7:30h no link: https://www.saude.mg.gov.br/images/documentos/RE%20CONAMA%20403-2011_Lancamento%20de%20Efluentes.pdf

Gavazza (2020) Caproic acid formation by carbon chain elongation during fermentative hydrogen production of cassava wastewater. Waste and Biomass Valorization. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01174-3>

Gómez-Acata, Elizabeth Selene, Laura Mariana Ayala-Gámez, Raúl García-Covarrubias, Martha Yvette Torres-Núñez, Liliana Vargas-López, Susana Hernández-Camargo, Itzel Guadalupe Becerril-Rojas, Marcos León-Domínguez, Lizbeth Zurita-García, Yendi E Navarro-Noya, Eloy Conde-Barajas, and Luc Dendooven. "Bioprospección De Microorganismos Haloalcolófilos Aislados De Un Maar Desecado Del Volcán "Hoya Rincón De Parangueo"." Nova Scientia 13.26 (2021): Nova Scientia, 2021, Vol.13 (26). Web.

IMACHI, Hiroyuki et al. *Methanolinea tarda* gen. nov., sp. nov., a methane-producing archaeon isolated from a methanogenic digester sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 58, n. 1, p. 294-301, 2008.

Lucena et al (2011) Study of the microbial diversity in a full-scale UASB reactor treating domestic wastewater. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 27: 2893-2902

Nam, GW., Lee, DW., Lee, HS. et al. Native-feather degradation by *Fervidobacterium islandicum* AW-1, a newly isolated keratinase-producing thermophilic anaerobe. *Arch Microbiol* 178, 538–547 (2002). <https://doi.org/10.1007/s00203-002-0489-0> Oliart-Ros, Rosa María, María Guadalupe Sánchez-Otero, and Ángeles Manresa-Presas. "Utilización De Microorganismos De Ambientes Extremos Y Sus Productos En El Desarrollo Biotecnológico." *CienciaUAT* 11.1 (2016): 79-90. Web.

Pornpukdeewattana S., Jindaprasert A., Massa S. *Alicyclobacillus* spoilage and control - a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, v. 60, n. 1, p. 108-122, 2020. Doi: 10.1080/10408398.2018.1516190

RUSSELL, James B. *Acidaminococcus*. **Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria**, p. 1-3, 2015.

Rui Zhang , Shuo Wang, Chong Wang, Guang-Yu Wang, Zong-Jun Du; *Marinailabilia rubra* sp. nov., isolado de uma salina solar marinha; *Microbiology society*, 2019