

**17º**  
**congresso**  
**brasileiro**  
**de engenharia**  
**sanitária**  
**e ambiental**

*Natal / RN*  
*19 a 23/09/93*

V.2  
TRATADOS TÉCNICOS  
TOMO I



TEMA CENTRAL  
Saneamento Ambiental  
Ação de Saúde Pública

ANAIIS DO 17º CONGRESSO  
BRASILEIRO DE ENGENHARIA  
SANITÁRIA E AMBIENTAL

Natal - RN, 19 a 23 de setembro de 1993

Vol. 2 - Trabalhos Técnicos - Tomo I

CIP-Brasil. Catalogação-na-fonte  
Sindicato Nacional dos Editores de Livros, RJ.

C759a

Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental (17. : 1993 : Natal, RN)

Anais / do 17. Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Vol. 2, tomo I ; promoção ABES-Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental ; realização ABES Seção Rio Grande do Norte. — Rio de Janeiro : ABES, 1993

Conteúdo: v.2 t.1. Trabalhos técnicos  
ISBN 85-7022-109-6

1. Engenharia ambiental - Brasil - Congressos.
2. Engenharia sanitária - Brasil - Congressos. I. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. II. Título.

93-0804

CDD - 628.06081  
CDU - 628:061.3(81)

# EXTRAÇÃO DE COMPONENTES EXTRACELULARES DE LODOS ATIVADOS

Carlos Eduardo Blundi  
Maria Alice Martins Judice

(\*)

## CURRÍCULO

- (\*) Licenciatura em Química pela FFCL-UNESP, Araraquara, 1969.  
Bacharelado em Química pela FFCL-UNESP, Araraquara, 1970.  
Engenharia Civil pela FECA, Araraquara, 1975.  
Mestrado em Hidráulica e Saneamento pela EESC-USP, 1982.  
Doutorado em Hidráulica e Saneamento pela EESC-USP, 1989.  
Professor Doutor do Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos-USP.

Área de Atuação: Tratamento de Águas Residuárias.

- (\*\*) Engenharia Civil pela Faculdade de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, 1989.  
Mestrado em Hidráulica e Saneamento pela EESC-USP, 1991.  
Área de Atuação: Saneamento.

## RESUMO

O material extracelular, constituinte de um lodo ativado produzido em laboratório, foi obtido por um processo de extração alcalina, sendo sua concentração determinada em termos de proteínas, carboidratos, Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Sólidos Totais.

Através da metodologia empregada, monitorou-se a degradação aeróbia de um substrato, num reator do tipo descontínuo, obtendo-se, dessa maneira, em cada instante considerado, os valores das respectivas concentrações do substrato decomposto, dos sólidos suspensos voláteis produzidos e do material extracelular formado. Comparando-se esses resultados, observou-se que as maiores concentrações do material extracelular verificaram-se logo após à fase de crescimento exponencial dos microrganismos estudados e que esse material representou aproximadamente 17% da concentração dos Sólidos Suspensos Voláteis.



ENDEREÇO: (\*) Escola de Engenharia de São Carlos-USP  
Av. Dr. Carlos Botelho, 1465  
13560-250 São Carlos-SP

0853414

## 1. INTRODUÇÃO

O material extracelular, constituinte dos lodos biológicos dos sistemas de tratamento de águas residuárias, é originário do metabolismo de seus microrganismos. Representam uma fração importante do lodo e possui funções específicas no processo de floculação biológica, na remoção de metais, na desidratação e espessamento dos lodos.

Os componentes extracelulares apresentam estrutura polimérica constituída principalmente por polissacarídeos e proteínas, contendo também determinadas quantidades de ácidos nucleicos em sua matriz. Recebem várias denominações, tais como, polímero extracelular, exopolímero, biopolímero, exopolissacarídeo ou polímero celular.

Esses polímeros constituem uma considerável parcela dos sólidos suspensos voláteis que é computada no valor dessa determinação, ocasionando erros, quando tal medida (SSV) tem o propósito de avaliar a biomassa de um sistema.

Portanto, devido a todas essas considerações, o presente trabalho tem o objetivo de estudar um método viável de extração do material extracelular, determinar seus constituintes em termos de concentração de proteínas, carboidratos, Sólidos Totais e de Demanda Química de Oxigênio (DQO), utilizando um lodo obtido através da retirada periódica de amostras de um reator aeróbio descontínuo, durante o funcionamento do mesmo.

## 2. POLÍMEROS EXTRACELULARES

Autores, como Gehr e Henry (8), definem o material extracelular como aquele que pode ser removido das culturas mistas ou puras de microrganismos sem causar ruptura celular. Esse material pode ser caracterizado por dois tipos de componentes: o material capsular, que fica aderido às células, e o gel que é uma secreção viscosa, levemente aderida às mesmas. Brown e Lester (3) relatam que nos lodos ativados aeróbios, o gel permanece nas fases líquida e coloidal do efluente, enquanto que o material capsular permanece aderido aos flocos, sedimentando-se. A origem e formação do material extracelular é motivo de controvérsia entre os pesquisadores. Wilkinson (13) afirma que, provavelmente, a maioria dos polissacarídeos seja formada no interior da célula ou na superfície interna da membrana citoplasmática, onde os componentes necessários à síntese desse material estão presentes. Sua composição é complexa e McKinney (10) julga que tal material seja formado por polissacarídeos de alto peso molecular, contendo ácidos, acetil e amina em quantidades variáveis. Washington e Symons (12) verificaram que o material extracelular pode auxiliar certos processos que ocorrem no biofilme fortalecendo as ligações e outras forças de aderência entre as partículas protegendo as células, por ele envolvidas, de mudanças rápidas no ambiente adsorvendo substratos e os materiais tóxicos, retirando-os do sistema armazenando energia e favorecendo as transferências de material genético entre as células. Dudman e Wilkinson (7) verificaram que o polissacarídeo extracelular por eles isolado, apresentava a aparência de uma massa fibrosa branco-acinzentada, altamente higroscópico, absorvendo umidade rapidamente, mostrando dificuldade para se dissolver em água.

Estudos realizados por Brown e Lester (4) mostraram que as concentrações de carboidratos e de DNA de polímeros extracelulares, obtidos de lodos ativados, eram maiores para tempos de retenção celulares menores, correspondentes entre 3 e 9 dias, estudados em seus trabalhos.

Beccari et al. (2) relatam que o polímero extracelular tem comportamento semelhante a um polieletrólito no processo de coagulação e floculação das

partículas em suspensão nos lodos, existindo uma correlação entre a concentração de polímero extracelular e a sedimentabilidade desses lodos.

### 3. METODOLOGIA

Empregou-se um reator aeróbio, tipo descontínuo, para a obtenção dos dados do presente trabalho, utilizando-se como substrato uma solução, em partes iguais, de peptona e lactose, totalizando-se uma concentração equivalente a 2000 mg/l de DQO. Foi inoculado nesse meio, lodo proveniente da estação de tratamento das Indústrias Nestlé, unidade Araraquara-SP, para a partida do reator. Adicionou-se, também, ao substrato, nitrogênio e fósforo na proporção DQO : N : P igual a 100 : 5 : 1, respectivamente.

As amostras foram retiradas, aproximadamente, de 24 em 24 horas, durante um período de 160 a 232 horas de funcionamento do reator. Determinaram-se as concentrações de DQO e de Sólidos Suspensos Voláteis referentes a essas amostras e extraiu-se o material extracelular contido em seu lodo.

O método de extração alcalina de componentes extracelulares de lodos biológicos, consiste de quatro etapas: pré-tratamento ou remoção do gel, extração propriamente dita, precipitação, e separação e recuperação do material extraído.

Na etapa de pré-tratamento, centrifugou-se 100 ml de amostra do reator (a 4000 rpm em centrífuga Fanen 204 NR), descartou-se o sobrenadante e lavou-se o material precipitado com água destilada, centrifugando-o novamente. Em seguida adicionaram-se ao material precipitado e lavado, da etapa anterior, aproximadamente dois volumes de NaOH, 2 N, mantendo-se essa mistura em agitação lenta, à temperatura ambiente, por duas horas, centrifugando-a, posteriormente, a 4000 rpm por 15 minutos, recolhendo-se o sobrenadante e descartando-se o precipitado. Essa extração foi baseada no método de Tezuka (11). Na etapa seguinte, ao sobrenadante recolhido anteriormente, adicionaram-se cerca de 2 volumes de álcool etílico, armazenando-se essa mistura, a 4 graus Celsius, durante 24 horas. Na etapa de separação e recuperação do material extraído, separou-se o precipitado formado na solução alcoólica, através de uma centrifugação a 5000 rpm por 20 minutos. Lavou-se, com solução alcoólica a 75%, e centrifugou-se novamente, repetindo-se essa lavagem por mais uma vez. Recolheu-se o material precipitado em cápsula de porcelana para a etapa de secagem em estufa a 37 graus Celsius. A esse material seco recuperado foi adicionado 50 ml de água destilada e sua concentração foi determinada em termos de carboidratos, proteínas, DQO e Sólidos Totais. A concentração de carboidratos foi determinada através do método colorimétrico do fenol-ácido sulfúrico, desenvolvido por Dobois, Gilles, Hamilton, Rebers e Smith (6), utilizando-se glicose como padrão. Proteínas foram determinadas pelo método colorimétrico do micro-biureto, segundo Itzhaki e Gill (9), utilizando-se caseína como padrão.

As determinações de DQO, Sólidos Totais e Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) foram realizadas segundo metodologia descrita no Standard methods for the examination of water and wastewater (1).

### 4. RESULTADOS

O decaimento da DQO em função do tempo, acompanhado pelo correspondente crescimento de microrganismos, através da variação da concentração dos SSV para o reator estudado, é mostrado na Fig. 4.1.

As figuras seguintes, 4.2, 4.3, 4.4 e 4.5 mostram a variação de SSV comparada com a variação da concentração de material extracelular extraído referida em termos de proteínas, carboidratos, DQO e Sólidos Totais.

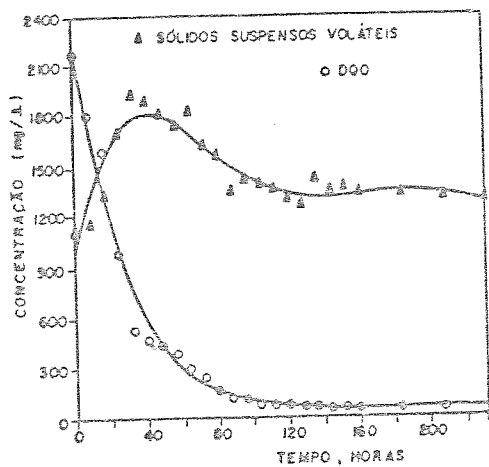


Figura 4.1 - Variação de SSV e DQO em função do tempo para o reator estudado

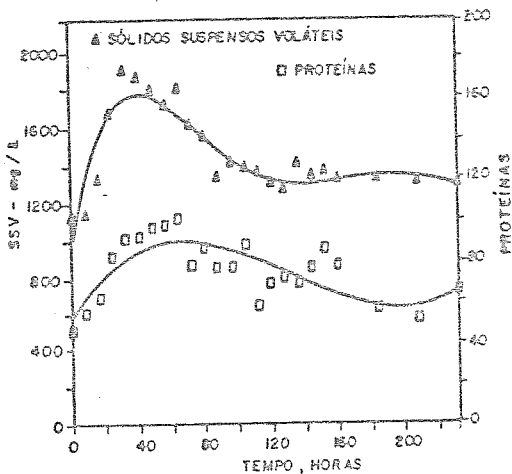


Figura 4.2 - Variação de SSV e concentração de proteínas em função do tempo

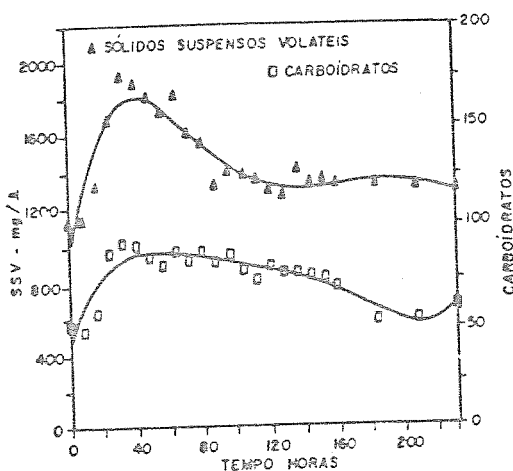


Figura 4.3 - Variação de SSV e concentração de carboidratos em função do tempo

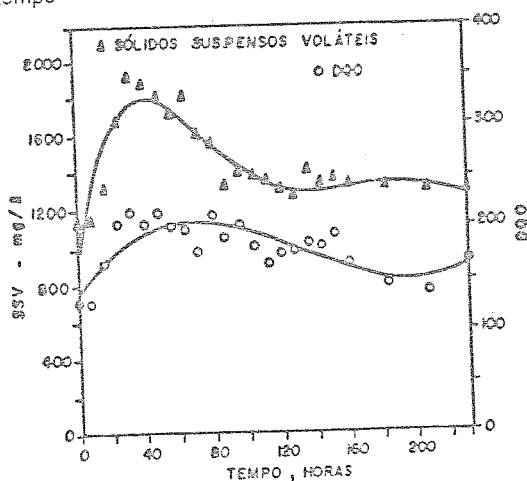


Figura 4.4 - Variação de SSV e DQO do material extraído em função do tempo

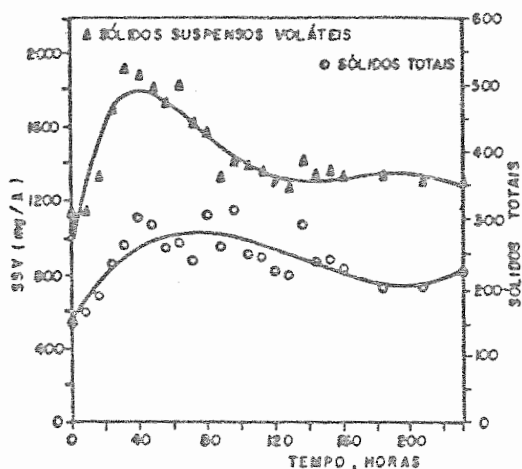


Figura 4.5 - Variação de SSV e Sólidos Totais do material extraído em função do tempo

A Fig. 4.6 mostra uma visão global da variação das concentrações de carboidratos, proteínas, DQO e Sólidos Totais do material extraído.

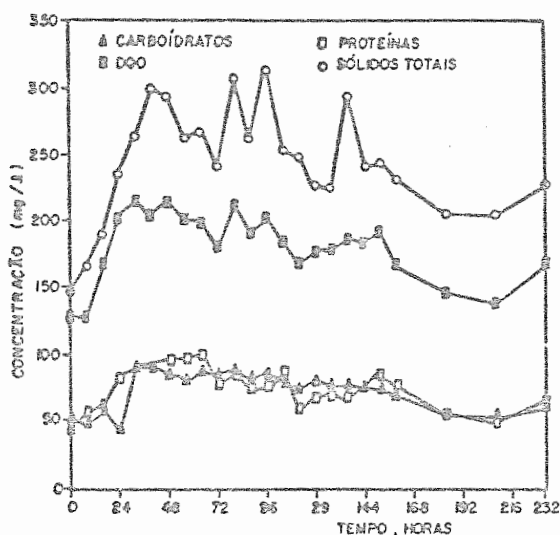


Figura 4.6 - Variação da concentração de carboidratos, proteínas, DQO e Sólidos Totais do material extraído em função do tempo

## 5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

As curvas apresentadas no item anterior foram obtidas através de um ajuste de regressão polinomial, adotando-se aquela que apresentasse a menor



variação e que visualmente se adaptasse aos pontos obtidos experimentalmente.

Analisando-se as variações das concentrações de carboidratos, proteínas, DQO e Sólidos Totais do material extracelular, observa-se, através das figuras 4.2, 4.3, 4.4 e 4.5, que, de um modo geral, a sua máxima produção ocorre logo após a fase de crescimento de microrganismos, ou seja, praticamente no início do processo endógeno, conforme o descrito por vários autores.

Observando-se a variação da concentração de carboidratos, através da Fig. 4.2, verifica-se que ela parte de um valor mínimo, cerca de 50 mg/l, passando por um máximo de aproximadamente 80 mg/l após 50 h de funcionamento do reator. Em seguida, diminui, tendendo a aumentar-se no final do período estudado.

Já a variação da concentração de proteínas, partindo de valor semelhante ao de carboidratos, atinge valores máximos, próximos de 90 mg/l, após aproximadamente 60 h de funcionamento do reator, conforme mostra a Fig. 4.3.

Neste trabalho, a variação da concentração do material extracelular, também foi avaliada em DQO e em Sólidos Totais. Observa-se, através das figuras 4.4 e 4.5, que essas variações têm comportamentos semelhantes entre si, e que Sólidos Totais apresentaram valores maiores que os correspondentes de DQO, medindo, desta forma, mais material extracelular. Os valores máximos dessas variações podem ser observados nas figuras citadas e ocorrem, ambos, após cerca de 70 h de funcionamento.

Com a finalidade de se ter noções a respeito das relações existentes entre os valores dos resultados obtidos, referentes ao material extraído, compararam-se as médias das concentrações de carboidratos, proteínas e DQO com a média das concentrações de Sólidos Totais, adotado como controle. A relação apresentada para carboidratos e Sólidos Totais foi de 31%, para proteínas e Sólidos Totais foi também de 31% e para DQO e Sólidos Totais foi de 74%. Comparou-se também a média das concentrações dos Sólidos Totais do material extracelular com a média dos Sólidos Voláteis Suspensos produzidos no reator e o valor obtido foi de 17%.

## 5. CONCLUSÕES

Seguem-se as principais conclusões deste trabalho :

- Para o reator estudado, a produção máxima de compostos extracelulares verifica-se no início da fase endógena do processo.
- O material extracelular estudado contém quantidades consideráveis de carboidratos e proteínas em proporções iguais, ou seja, 31 %.
- As medidas de Sólidos Totais do material extracelular são maiores do que as de DQO correspondentes.
- O material extracelular, neste caso, representa cerca de 17% do lodo, relação esta, avaliada em termos de concentração de sólidos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. American Water Works Association. Water Pollution Control Federation, Standard methods for the examination of water and wastewater, 16 th ed., Publication Office, American Public Association, Washington, 1985.

2. BECCARI, M., MAPELLI, P., TANDOI, V. Relationship between bulking and physicochemical - biological properties of activated sludges. Biotech. and Bioeng., v. 22, 969-979, 1980.
3. BROWN, M. J., LESTER, J. N. Metal removal in activated sludge : The role of bacterial extracellular polymers. Water Res., v. 13, 817-837, 1979.
4. BROWN, M. J., LESTER, J. N. Role of bacterial extracellular polymers in metal uptake in pure bacterial culture and activated sludge. / effects of mean cell retention time. Water Res., v. 16, n. 11, 1549-1560, 1982.
5. CHARACKLIS, W. G., COOKSEY, K. E. Biofilms and microbial fouling. Adv. in Appl. Microbiol., v. 29, 93-138, 1983.
6. DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. K., REBERS, P. A., SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Anal. Chem., v. 22, n. 3, 350-356, 1956.
7. DUDMAN, W. F., WILKINSON, J. F. The composition of the extracellular polysaccharides of *Aerobacter - Klebsiella*, strains. Biochem. Jour., v. 62, 289-295, 1956.
8. GEHR, R., HENRY, J. G. Removal of extracellular material : Techniques and pitfalls. Water Res., v. 17, n. 12, 1743-1748, 1983.
9. ITZHAKI, R. F., GILL, P. M. A micro-biuret method for estimating protein. Anal. Biochem., v. 9, 401-410, 1964.
10. MCKINNEY, R. E. A fundamental approach to activated sludge process. - II. a proposed theory of floc formation. Sew. and Ind. Wastes, v. 24, n. 3, 280-287, 1952.
11. TEZUKA, Y. A *Zoogloea* bacterium with gelatinous mucopolysaccharide matrix. Jour. Water Poll. Control Fed., v. 45, n. 3, 531-536, 1973.
12. WASHINGTON, D. R., SYMONS, J. M. Volatile sludge accumulation in activated sludge systems. Jour. Water Poll. Control Fed., v. 34, n. 8, 767-790, 1962.
13. WILKINSON, J. F. The extracellular polysaccharides of bacteria. Bacteriol. Rev., v. 22, 46-73, 1958.