

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL, ARQUITETURA E URBANISMO
DEPARTAMENTO DE SANEAMENTO E AMBIENTE

Remoção de Helmintos e Protozoários em Sistema de Tratamento Filtro Anaeróbio - Filtro de Areia visando uso agrícola

Alexandre Patto Kanegae

Campinas

2005

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL, ARQUITETURA E URBANISMO
DEPARTAMENTO DE SANEAMENTO E AMBIENTE

Remoção de Helmintos e Protozoários em Sistema de Tratamento Filtro Anaeróbico - Filtro de Areia visando uso agrícola

Alexandre Patto Kanegae

Orientador: Bruno Coraucci Filho

Co-orientador: Roberto Feijó de Figueiredo

Dissertação de Mestrado apresentada à Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil, na Área de Concentração em Saneamento e Ambiente.

Campinas, São Paulo

Março de 2005

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA - BAE - UNICAMP

K131r Kanegae, Alexandre Patto
Remoção de helmintos e protozoários em sistema de tratamento
filtro anaeróbio – Filtro de areia visando uso agrícola / Alexandre
Patto Kanegae. --Campinas, SP: [s.n.], 2005.

Orientador: Bruno Coraucci Filho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo.

1. Águas residuais. 2. Águas residuais – Purificação - Filtração.
3. Águas residuais – Purificação – Tratamento biológico. 4.
Bactérias anaeróbias. 5. Esgotos - Saneamento. 6. Engenharia
sanitária. 7. Helmitos. 8. Protozoários. 9. Esgotos. I. Coraucci
Filho, Bruno. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade
de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo. III. Título.

Título em Inglês: Helminths and protozoans removal in treatment of anaerobic filter –
sand filter system focusing agricultural use

Palavras-chave: Waste water; Sewage – Purification – Filtration; Sewage – Biological
treatment; Anaerobic bacteria; Sanitation – Sewage, Sanitary
engineering, Helminths, Protozoans

Área de concentração: Saneamento e Ambiente

Titulação: Mestre em Engenharia Civil

Banca examinadora: Carlos Augusto de Lemos Chernicharo, Antonio Roberto Siviero

Data da defesa: 17/03/2005

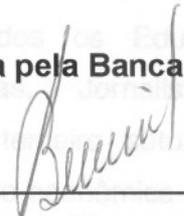
Remoção de Helmintos e Protozoários em Sistema de Tratamento Filtro Anaeróbio - Filtro de Areia visando uso agrícola

DEDICATÓRIA

Alexandre Patto Kanegae

Dedico este trabalho a todos os Educadores Biólogos, Esportivos,
Dissertação de Mestrado aprovada pela Banca Examinadora, constituída por:

Administradores, representantes do meio acadêmico e todos aqueles que também
desenvolvem trabalhos sobre Educação Ambiental.



Prof. Dr. Bruno Coraucci Filho

Faculdade de Engenharia Civil – UNICAMP



Prof. Dr. Carlos Augusto Lemos Chernicharo

Universidade Federal de Minas Gerais



Prof. Dr. Antônio Roberto Siviero

Faculdade de Engenharia Civil – UNICAMP

Campinas

2005

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os Educadores, Biólogos, Engenheiros, Geógrafos, Geólogos, Economistas, Jornalistas, Ecólogos, Ambientalistas, Administradores, representantes do terceiro setor e todos aqueles que também desenvolvam trabalhos sob a ótica sócio-econômica-ambiental.

AGRADECIMENTOS

Aos Profs. Bruno Coraucci Filho e Roberto Feijó de Figueiredo pela orientação deste trabalho de Mestrado.

À Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo – DSA, por proporcionar o desenvolvimento do aprendizado necessário para a realização deste e também aos professores, colaboradores e funcionários da FEC.

Aos amigos e companheiros de campo e laboratório, que tiveram participação essencial no desenvolvimento de meu projeto. Camilla, pela ajuda diária nos processamentos e análises de amostras. Lígia, pelo socorro nas horas apertadas. Enelton, pelas orientações técnicas. Saulo, pela divisão do trabalho pesado. Bianca, pelas viagens até a Graminha e consertos de bomba, aplicação no sistema, etc. Dora, pelo apoio e companheirismo na hora da desinfecção e muitas outras análises e pela amizade. Oder, por se dispor a ficar até tarde no laboratório. Dani e Kelly, pela ajuda nas análises com a desinfecção. Haydée, pelas análises parasitológicas e conversas diárias. Ronaldo e Edna por trazerem o efluente na primeira parte do experimento. Adriano por me apresentar o sistema de filtros e também pelas dicas de funcionamento. Verônica e Marta pelas análises microbiológicas. Cecília pelo auxílio estatístico. Renata, pelas localizações de reagentes. Cristiano, pela companhia nos finais de semana. Cláudia, por estar sempre disposta a sugerir.

A toda minha família e amigos que não estiveram presentes, mas me deram apoio.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por proporcionar o auxílio financeiro para o desenvolvimento do projeto, processo 02/05253-0.

A Águas de Limeira S/A por permitir a construção e operação do sistema de tratamento de esgotos.

A Deus, por proporcionar cada dia necessário de aprendizado, com saúde.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	vii
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xv
RESUMO.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO GERAL.....	5
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
3.1 ENTEROPARASITAS E ENTEROPARASIToses	7
3.2 CONDIÇÕES SANITÁRIAS E DOENÇAS.....	12
3.3 PARASITAS NO AMBIENTE	14
3.4 FILTRO ANAERÓBIO.....	17
3.5 FILTRO DE AREIA	19
3.6 LEITO DE AREIA E BIOFILME.....	23
3.7 SISTEMA COMBINADO: FILTRO ANAERÓBIO E FILTRO DE AREIA	25

3.8 REÚSO E SITUAÇÃO DO BRASIL	29
3.9 DESINFECÇÃO COM OZÔNIO.....	30
3.10 LEGISLAÇÃO E NORMAS	32
4 MATERIAL E MÉTODOS	37
ETAPA 4.1	38
4.1.1 O SISTEMA DE TRATAMENTO DE ESGOTO E OPERAÇÃO DOS FILTROS DE AREIA.....	38
4.1.2 PROCEDIMENTOS DE COLETA E ANÁLISES LABORATORIAIS DOS EFLUENTES.....	44
4.1.2.1 COLETA DOS EFLUENTES.....	44
4.1.2.2 ANÁLISE QUANTITATIVA DE OVOS DE HELMINTOS.....	45
4.1.2.3 TÉCNICA DE COLORAÇÃO PARA <i>Cryptosporidium</i> spp.....	47
4.1.2.4 ANÁLISE QUALITATIVA	48
4.1.2.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO EFLUENTE APÓS DESINFECÇÃO COM OZÔNIO.....	49
4.1.2.6 ANÁLISE DE TURBIDEZ.....	50
4.1.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS REFERENTES AO ESTUDO NOS FILTROS DE AREIA.....	51
ETAPA 4.2	53
4.2.1 DESINFECÇÃO COM OZÔNIO.....	53
ETAPA 4.3	55
4.3.1 PROCEDIMENTOS DE COLETA DA AREIA DO FILTRO	55
4.3.2 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DOS ESTRATOS DOS LEITOS DE AREIA	56
4.3.3 CÁLCULO PARA EXPRESSÃO DO NÚMERO DE COLIFORMES POR GRAMA DE SOLO SECO.....	57
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
ETAPA 5.1	60
5.1.1 RESULTADOS DAS ANÁLISES ESTATÍSTICAS PARA TURBIDEZ E ORGANISMOS NOS EFLUENTES DOS FILTROS DE AREIA.....	60
5.1.2 RESULTADOS DAS ANÁLISES QUALITATIVAS.....	65
5.1.3 RESULTADOS DAS ANÁLISES QUANTITATIVAS	67
5.1.3.1 ORGANISMOS	67

5.1.3.2 TURBIDEZ.....	86
5.1.3.3 OVOS x CAIXAS DE SEDIMENTAÇÃO	87
ETAPA 5.2.....	88
5.2.1 RESULTADOS DA DESINFECÇÃO COM OZÔNIO DO EFLUENTE DO SISTEMA LAGOA ANAERÓBIA – FILTRO DE AREIA.....	88
5.2.1.1 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DO EFLUENTE DESINFETADO	88
5.2.1.2 RESULTADOS REFERENTES A COLIFORMES TOTAIS E FECALIS	90
5.2.1.3 RESULTADOS REFERENTES A TURBIDEZ	93
5.2.1.4 RESULTADOS REFERENTES A PROTOZOÁRIOS E LARVAS NEMATÓDEO.....	94
ETAPA 5.3.....	97
5.3.1 RESULTADOS DA ANÁLISE MICROBIOLÓGICA NOS ESTRATOS DOS LEITOS DE AREIA	97
6 CONCLUSÕES.....	107
7 RECOMENDAÇÕES.....	111
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	113
9 ANEXO I.....	123

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Protozoários causadores de doenças encontrados no ambiente.	14
Tabela 3.2	Helmintos causadores de doenças encontrados no ambiente.....	15
Tabela 5.1	Teste de normalidade Lilliefors-Kolmogorov Smirnov para valores referentes a número de microrganismos.....	60
Tabela 5.2	Teste de normalidade Lilliefors-Kolmogorov Smirnov para valores referentes a turbidez.	61
Tabela 5.3	Correlação de Spearman para no de microrganismos x taxas de aplicação, turbidez x taxas de aplicação e turbidez x no de microrganismos.....	64
Tabela 5.4	Resultados da análise qualitativa do esgoto bruto e do efluente do filtro anaeróbio (presença/ausência) realizada com a leitura de lâminas preparadas a fresco.	65
Tabela 5.5	Resultados da análise qualitativa de efluente dos 4 filtros de areia (presença/ausência) realizada com a leitura de lâminas preparadas a fresco, após coletas nas taxas de 20, 40, 60 e 80 Lm ⁻² dia ⁻¹	66
Tabela 5.6	Teste de normalidade Lilliefors-Kolmogorov Smirnov para valores referentes a número de coliformes totais, coliformes fecais e turbidez para desinfecção do efluente dos filtros de areia.	89

Tabela 5.7	Correlação de Spearman para valores de dose de O ₃ , turbidez, coliformes totais e coliformes fecais na desinfecção do efluente dos filtros de areia.	89
Tabela 5.8	Análise da areia pelo método Riqueza de Espécies (BARMFORTH, 1998) após 10 dias de incubação.....	99
Tabela 5.9	Análise da areia pelo método Riqueza de Espécies (BARMFORTH, 1998) após 20 dias de incubação.....	101
Tabela 5.10	Valores totais de organismos em F075 e F100 em 10 e 20 dias de incubação.	103
Tabela 5.11	Valores de Coliformes totais e <i>E coli</i> encontrados nos estratos dos filtros de areia.	105

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1	Desenho esquemático do filtro de areia.....	39
Figura 4.2	Curva de distribuição granulométrica da areia utilizada nos filtros.	40
Figura 4.3	Fluxo do esgoto no sistema de tratamento anaeróbio e posterior filtro de areia na ETE Graminha – Limeira, SP.	42
Figura 4.4	Esquema do sistema de desinfecção.	54
Figura 5.1	Comparação entre os efluentes dos F25, F50, F75 e F100 referentes a número de microrganismos pela Análise de Variância de Friedman, para determinação de diferenças nos tratamentos.	62
Figura 5.2	Comparação entre os efluentes dos F25, F50, F75 e F100 referente a turbidez pela Análise de Variância de Friedman, para determinação de diferenças nos tratamentos.	63
Figura 5.3	Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbio e nos filtros de areia na taxa de $20 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$. Coletas I e II.	69
Figura 5.4	Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbio e nos filtros de areia na taxa de $20 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$. Coletas III e IV.....	71

Figura 5.5	Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbico e nos filtros de areia na taxa de 40 Lm ⁻² dia ⁻¹ . Coletas I e II.	73
Figura 5.6	Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbico e nos filtros de areia na taxa de 40 Lm ⁻² dia ⁻¹ . Coletas III e IV.	75
Figura 5.7	Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbico e nos filtros de areia na taxa de 60 Lm ⁻² dia ⁻¹ . Coletas I e II.	77
Figura 5.8	Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbico e nos filtros de areia na taxa de 60 Lm ⁻² dia ⁻¹ . Coletas III e IV.	78
Figura 5.9	Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbico e nos filtros de areia na taxa de 80 Lm ⁻² dia ⁻¹ . Coletas I e II.	80
Figura 5.10	Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbico e nos filtros de areia na taxa de 80 Lm ⁻² dia ⁻¹ . Coletas III e IV.	81
Figura 5.11	Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbico e nos filtros de areia na taxa de 100 Lm ⁻² dia ⁻¹ . Coletas I e II.	83
Figura 5.12	Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbico e nos filtros de areia na taxa de 100 Lm ⁻² dia ⁻¹ . Coletas III e IV.	84
Figura 5.13	Valores Médios de microrganismos das coletas dos efluentes dos filtros de areia em 5 taxas de aplicação com o efluente do filtro anaeróbico.	86
Figura 5.14	Valores Médios de turbidez das coletas dos efluentes dos filtros de areia	

em 5 taxas de aplicação com o efluente do filtro anaeróbio.....	87
Figura 5.15 Desinfecção de coliformes totais em 4 coletas do efluente dos filtros de 0,75 e 1,00 m com taxa de aplicação de efluente da lagoa anaeróbia de 200 Lm ⁻² dia ⁻¹ em cada filtro.	91
Figura 5.16 Desinfecção de <i>Escherichia coli</i> em 4 coletas do efluente dos filtros de 0,75 e 1,00 m com taxa de aplicação de efluente da lagoa anaeróbia de 200 Lm ⁻² dia ⁻¹ em cada filtro.	92
Figura 5.17 Valores de turbidez de 4 coletas do efluente dos filtros de 0,75 e 1,00 m com taxa de aplicação de efluente da lagoa anaeróbia de 200 Lm ⁻² dia ⁻¹ em cada filtro.	93
Figura 5.18 Número de protozoários/L em 4 coletas do efluente dos filtros de 0,75 e 1,00 m com taxa de aplicação de efluente da lagoa anaeróbia de 200 Lm ⁻² dia ⁻¹ em cada filtro.	94
Figura 5.19 Número de larvas nematódeo/L em 4 coletas do efluente dos filtros de 0,75 e 1,00 m com taxa de aplicação de efluente da lagoa anaeróbia de 200 Lm ⁻² dia ⁻¹ em cada filtro.	95
Figura 5.20 Número de organismos/L em 4 coletas do efluente dos filtros de 0,75 e 1,00 m com taxa de aplicação de efluente da lagoa anaeróbia de 200 Lm ⁻² dia ⁻¹ em cada filtro.	96
Figura 5.21 Coliformes Totais e <i>E coli</i> em NMP nos leitos de areia.....	104

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AWWA - American Water Works Association

ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

CF – Coliformes fecais

CT – Coliformes totais

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio

DQO - Demanda Química de Oxigênio

DT – Dose de ozônio transferida na corrente líquida

EB - Esgoto Bruto

EF – Efluente do Filtro de Areia

EL – Efluente da Lagoa Anaeróbia

FAN - Efluente do Filtro Anaeróbio

F2 – Segunda desinfecção com ozônio do efluente do filtro de areia (com recirculação)

F3 – Terceira desinfecção com ozônio do efluente do filtro de areia (com recirculação)

F3 SR – Terceira desinfecção com ozônio do efluente do filtro de areia (sem recirculação)

F4 – Quarta desinfecção com ozônio do efluente do filtro de areia (com recirculação)

F4 SR – Quarta desinfecção com ozônio do efluente do filtro de areia (sem recirculação)

F5 SR – Quinta desinfecção com ozônio do efluente do filtro de areia (sem recirculação)

F025 - Filtro com 0,25 m de profundidade de leito de areia

F050 - Filtro com 0,50 m de profundidade de leito de areia

F075 - Filtro com 0,75 m de profundidade de leito de areia

F100 - Filtro com 1,00 m de profundidade de leito de areia

MiEB – Microrganismos no esgoto bruto

MiFAN – Microrganismos no efluente de filtro anaeróbio

MiF25 – Microrganismos no efluente de F25

MiF50 – Microrganismos no efluente de F50
MiF75 – Microrganismos no efluente de F75
MiF100 – Microrganismos no efluente de F100
NBR - Norma Técnica Brasileira
OMS - Organização Mundial de Saúde
PROSAB - Programa de Pesquisas em Saneamento Básico
Tu – Turbidez
TuEB – Turbidez do esgoto bruto
TuFAN – Turbidez do efluente de filtro anaeróbio
TuF25 – Turbidez do efluente de F25
TuF50 – Turbidez do efluente de F50
TuF75 – Turbidez do efluente de F75
TuF100 – Turbidez do efluente de F100
UASB - Up Flow Anaerobic Sludge Blanket
USEPA - United States Environmental Protection Agency

RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido com o intuito de se verificar a utilização de filtros de areia, como um sistema de pós-tratamento de efluentes de filtros anaeróbios na remoção de organismos patogênicos presentes nos esgotos, tais como protozoários e helmintos. Para tanto, foi feita a verificação das melhores taxas de aplicação de efluente de filtro anaeróbio em 4 filtros de areia, com profundidades de 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 m. As taxas de aplicação foram de 20, 40, 60, 80 e 100 Lm²dia⁻¹. O tempo do experimento foi de Maio de 2003 a Agosto de 2004. Para verificação dos organismos presentes no efluente utilizou-se a metodologia adotada pela Cetesb, descrita pela norma L5.550 (1989) – Hoffman modificado e os resultados foram expressos em número de organismos/L. Os resultados demonstraram que o processo de tratamento biológico ocorrido nos filtros de areia com leito mais profundo (1,00 m) foi o que apresentou melhor performance. Não houve correlação entre o número de organismos encontrados e as taxas aplicadas, mas o valor estipulado pela NBR 7229 (1993) de 100 Lm²dia⁻¹ de efluente aplicado, apresentou resultados satisfatórios.

Palavras chave: helmintos, protozoários, esgoto, filtros de areia, filtros anaeróbios, microrganismos.

ABSTRACT

This project was developed with the aim of verifying the use of sand filters as a post treatment system of effluents from anaerobic filters. Most of the pathogens found in the wastewater can be classified as protozoans and helminths. For that, the best application rates of anaerobic effluent were studied in four sand filters. They were 0,25; 0,50; 0,75 and 1,00 m deep. The application rates were 20, 40, 60, 80 e 100 $\text{Lm}^{-2}\text{day}^{-1}$. The experiment was run from May 2003 to August 2004. To verify the presence of the organisms in the wastewater, the methodology adopted by Cetesb was used (described as Standard L5.550, 1989) – Hoffman modified and the results were expressed in number of organisms/L. The results show that the biological process of treatment occurred in the deepest sand filter (1,00 m) was the one which presented the best performance. There was no correlation between the number of microorganisms found and the applied rates but, the value established by NBR 7229 (1993) of 100 $\text{Lm}^{-2}\text{day}^{-1}$ of effluent presented satisfactory results.

Key words: helminths, protozoans, wastewater, sand filters, anaerobic filters, microorganisms.

1 INTRODUÇÃO

Em 1703 o cientista Francês Phillipe La Hire propôs a utilização de filtros de areia no tratamento da água de consumo doméstico e em 1746, ainda na França, Joseph Amy foi contemplado com a primeira patente pelo design de um filtro; que era composto por camadas de areia em sobreposição com outro material esponjoso. Nos Estados Unidos, a primeira estação de filtração lenta foi construída em Richmont em 1832, e por volta de 1870 os filtros de areia começaram a ser utilizados em Massachussetts com o intuito de se melhorar a qualidade da água. No período de 1870 a 1880, foi demonstrado que os microrganismos presentes na água poderiam causar doenças tanto no homem como em outros animais. Dez anos após, o sistema de filtração já era reconhecido como um sistema de remoção de microrganismos patogênicos. Hoje, o processo de filtração continua sendo utilizado, mas de modo mais refinado, considerando a complexidade dos sistemas físico e químico que interagem no processo de funcionamento dos filtros de areia (HALL, 2004).

O sistema de filtração lenta é apropriado para pequenas comunidades e quando seguido de processo de desinfecção, é sugerido o reúso do efluente na agricultura ou

na piscicultura. O processo de tratamento em um filtro de areia envolve mecanismos físicos, químicos e biológicos. O físico age pela retenção de partículas através da sua filtração, o químico pela adsorção de determinados componentes e o biológico pela habilidade dos microrganismos em decompor e extrair energia dos poluentes. Por possibilitar boa remoção de matéria orgânica e, considerando a melhoria da qualidade do efluente, o filtro de areia pode ser utilizado para pós-tratamento de esgoto, reduzindo a concentração de matéria orgânica antes de ser lançado no corpo receptor.

Outro fator considerável na utilização dos filtros de areia é o econômico porque o sistema de tratamento não requer equipamentos especializados, eletricidade e pode ser facilmente operado. Para HAWKEN et al. (2004) que relatam a existência de críticas aos sistemas de tratamento de água e esgoto, o conjunto do sistema de esgotamento sanitário, que compreende a coleta e o tratamento, é mais caro que as soluções locais ou mesmo diretas de tratamento biológico. Quando os nutrientes oriundos de despejos domésticos ou industriais são encontrados em altas concentrações nos rios, geralmente há proliferação em massa de microrganismos e algas. Havendo altas concentrações de matéria orgânica na água, os microrganismos encontram condições propícias para crescimento e proliferação. Desse modo, há uma maior predisposição para o desenvolvimento de organismos patogênicos.

É sabido que várias doenças causadas por patógenos estão associadas à água. Quando há coleta e tratamento de esgotos, estes irão reduzir o potencial de contaminação do ambiente, e como consequência, reduzir o número de casos de infecção por patógenos. Quando esgoto é lançado em um corpo receptor, esse pode incorporar toda a gama de agentes transmissores, afetando as condições de uso como abastecimento de água potável e recreação. As infecções transmitidas pela água ocorrem quando um microrganismo infeccioso é adquirido por ingestão de ou por contato com água contaminada por material fecal. Quando esses contaminam a rede de abastecimento público ou outras fontes utilizadas pela população, podem aparecer surtos epidêmicos de doenças gastrointestinais, afetando grande número de pessoas em

um curto período. A detecção da fonte contaminada, associada aos casos confirmados, auxilia na determinação da origem de tais epidemias.

Vírus, bactérias, protozoários e helmintos têm sido considerados responsáveis por doenças transmitidas pela água e por alimentos. Enquanto muitas dessas doenças são de natureza gastrointestinal, algumas podem afetar outras partes do organismo, como os músculos ou o sistema neural. A melhor forma de prevenção contra a contaminação da água, do solo e dos alimentos por patógenos é via tratamento dos esgotos, melhoria das condições de saneamento básico e educação sanitária.

A utilização dos filtros de areia é recomendada para sistemas de tratamento de esgotos de pequeno porte. Quando as características do solo não forem favoráveis à implantação da fossa séptica ou do sumidouro, devido à impermeabilidade ou saturação de água, recomenda-se a utilização do filtro de areia como forma de pós-tratamento do efluente. Além destes aspectos, também pode se considerar a utilização dos filtros, quando a legislação sobre as águas dos corpos receptores exigirem alta remoção de poluentes dos efluentes do sistema tanque séptico – filtro anaeróbio ou outra técnica de tratamento de esgotos. Por fim, a aplicação do filtro pode ser recomendada quando for considerado vantajoso o aproveitamento do efluente tratado, sendo este adotado como uma unidade de polimento dos processos anteriores e também quando o lençol freático estiver próximo à superfície (CORAUCCI FILHO et al., 2001).

As taxas de aplicação no filtro não devem ultrapassar $100 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$, quando houver aplicação direta de efluentes de tanques sépticos, e $200 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ para processos aeróbios de tratamento (NBR 13969/1997). Dada a recomendação do filtro de areia no polimento de esgotos no sistema tanque séptico – filtro anaeróbio, procurou-se trabalhar com os filtros no sistema filtro anaeróbio – filtro de areia para averiguação da remoção de organismos patogênicos em diferentes taxas (20, 40, 60, 80 e $100 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$). Também foram verificadas as profundidades de leito de 0,25; 0,50,

0,75 e 1,00 m para posteriormente compará-las com a NBR 7729 (1993) que recomenda a utilização de leitos variando entre 0,60 e 1,10 m.

2 OBJETIVO GERAL

Foi proposto o estudo da remoção de protozoários e helmintos no sistema filtro anaeróbio – filtro de areia, com o intuito de se avaliar a habilidade dos leitos de areia na retenção de patógenos, promovendo a geração de um efluente final com menores riscos de contaminação ambiental e/ou infecção humana e animal.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Monitorar a presença de protozoários e de helmintos em efluente de filtros de areia, esgoto bruto, e efluente de filtro anaeróbio;
- Verificar a eficácia das diferentes camadas de leitos dos filtros de areia no que se refere à remoção de possíveis patógenos nas profundidades de 1,00; 0,75; 0,50 e 0,25 m;
- Verificar as melhores taxas do efluente anaeróbio, aplicadas nos filtros de areia (20, 40, 60, 80 ou 100 Lm⁻²dia⁻¹) uma vez ao dia, em relação à remoção de helmintos e protozoários;
- Avaliar a possibilidade de reuso agrícola do efluente desinfetado com ozônio, de

acordo com os padrões da OMS; e

- Verificar a adequação do efluente à legislação Brasileira, referente à classificação das águas (Resolução CONAMA 20/1986).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A literatura especializada referente a filtros de areia é extensa no que diz respeito a aspectos operacionais, fatores de interferência no funcionamento do filtro e também na capacidade de remoção de carga orgânica. No entanto, referências relativas à remoção de protozoários e de helmintos ainda são poucas, havendo maior dificuldade no estabelecimento de padrões, a respeito destes organismos no processo de tratamento de esgotos por filtração lenta.

3.1 ENTEROPARASITAS E ENTEROPARASITOSE

O sub-reino Protozoa inclui animais unicelulares eucarióticos. As várias funções orgânicas são realizadas por estruturas intracelulares especializadas conhecidas como organelas. Cada grupo de protozoários possui diferenciação morfológica pela qual pode ser identificado. Cada espécie de protozoário parasita, em geral, é confinada a uma ou a poucas espécies de hospedeiro. Pelo menos trinta espécies de protozoários

parasitam o homem, e muitas têm distribuição mundial ampla. Outros vertebrados também abrigam parasitas protozoários, freqüentemente sem sinais clínicos. Os parasitas que tiveram longa evolução com as suas espécies hospedeiras (inclusive protozoários parasitas) desenvolveram adaptações que permitem evasão dos mecanismos imunológicos de reconhecimento e de resposta de seus hospedeiros. Não é raro que uma infecção acidental do homem por protozoários, como hospedeiro anormal, a partir de hospedeiros reservatórios normais, cause doença humana mais grave. Existem dois modos principais de transmissão de infecções por protozoários: pela ingestão do protozoário infectante ou pela transmissão por um artrópodo vetor (LEVENTHAL & CHEADLE, 1997).

A palavra verme no sentido popular significa animal que possui estrutura corporal mole, relativamente alongada e sem patas. Existem dois grupos principais: 1) Platelminhos que são vermes achatados (Exemplos: planária, tênia, esquistossomo) e 2) Nematódeos que são vermes cilíndricos e não segmentados (Exemplos: ancilostomatídeos, *Ascaris sp.*). Várias espécies dos dois grupos ocupam o ambiente aquático. Muitos são parasitas e desse modo, obtêm alimento, umidade e abrigo no interior do corpo de um hospedeiro. Os nematódeos incluem várias formas parasitas de grande interesse médico e veterinário, como as lombrigas e os vermes causadores do amarelão (*Ancylostoma duodenale*) e da elefantíase (*Wuchereria bancrofti*). Muitos são de vida livre e desenvolvem-se na água e no solo úmido (NEVES, 2004).

Podem ser definidos como parasitas entéricos os protozoários e os helmintos que parasitam o trato intestinal humano e de outros animais, os quais são liberados no ambiente juntamente com as fezes, tornando-se potenciais causadores de doenças. A contaminação do solo por tais parasitas está associada diretamente ao destino dado às excretas humanas e animais, refletindo as condições higiênicas e de saneamento da população. Condições sanitárias inadequadas, disposição não controlada de dejetos animais no ambiente e falta de tratamento dos esgotos são fatores que devem ser observados para que a contaminação e/ou poluição de corpos receptores sejam

evitadas. A água, por sua vez, é um importante veículo de disseminação, transmissão e sobrevivência de formas resistentes de parasitas. Também deve-se considerar que as águas de abastecimento podem ser poluídas pela drenagem de campos possivelmente contaminados, além de enxurradas provocadas por chuvas.

Na ecologia, o hospedeiro faz parte do ciclo de vida do parasita. Quando se aborda enteroparasitoses, homens ou animais são considerados habitats variados. Os parasitas têm adaptações que os permitem sobreviver no organismo, mas os hospedeiros também possuem estratégias de resposta de ataque, como reações fisiológicas e imunológicas contra os corpos estranhos (BUSH, 2001). Como na ecologia há uma tendência ao equilíbrio; parasitas e hospedeiros têm que se adaptar às adversidades existentes. O sucesso no combate ao parasitismo consiste no conhecimento de todo o seu ciclo de vida, para que ações preventivas possam impedir sua infecção e desenvolvimento nos hospedeiros.

Segundo MARZOCHI (1977), alguns protozoários parasitas do homem como a *Giardia lamblia* e a *Entamoeba histolytica* são transmitidas de um hospedeiro a outro, pela ingestão de suas formas de resistência que são denominadas cistos. Esse modo de transmissão também está condicionado a certos fatores epidemiológicos tais como a ingestão de água contaminada, de vegetais consumidos crus e de alimentos servidos frios. Assumem também certa importância o contato direto dos manipuladores de alimentos ou o contato de uma pessoa a outra. FAYER et al. (2000) afirmam que todas espécies de *Cryptosporidium* são obrigatoriamente intracelulares e extracitoplasmáticas. São protozoários parasitas que possuem desenvolvimento endógeno, culminando com o processo de encistamento, originando oocistos que podem ser encontrados nas fezes do hospedeiro. Para NEVES (2004), tanto cistos como oocistos são formas de resistência ou inativas. O protozoário produz uma parede resistente (parede cística) que o protegerá quando estiver em meio impróprio ou em fase de latência. Os cistos podem ser encontrados em tecidos ou fezes dos hospedeiros e os oocistos nas fezes. As duas formas são importantes para os

protozoários para que haja dispersão, sobrevivência e infecção. Também são considerados os estágios de maior importância para a identificação e detecção em análises clínicas e ambientais.

As condições sanitárias precárias, a necessidade de hospedeiros e as formas de resistência dos enteroparasitas são fatores a serem considerados em uma análise parasitológica. Além destes, SPRENT (1963) apud MARZOCHI (1977) considera que o desenvolvimento dos ovos e o tempo de sobrevivência das larvas no solo, dependem de fatores físicos, químicos e biológicos tais como: temperatura, umidade, porosidade, textura e consistência do solo, grau de exposição à luz solar, às chuvas e aos ventos; ausência ou presença de certas plantas, animais e fungos predatórios e ingestão por hospedeiros não naturais.

As análises realizadas para a verificação de oocistos de *Cryptosporidium* não apresentaram resultados positivos. Tal fato provavelmente ocorreu devido ao método empregado. Segundo CASTRO LIMA & STAMFORD (2003) os métodos utilizados em amostras de água têm sido os mesmos que aqueles para análises clínicas, mas a maior preocupação com o procedimento de análise é que, previamente ao método de identificação do parasito, é necessário empregar um método de concentração satisfatório, porque apesar da existência de métodos de identificação sofisticados para pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium spp.*, como a biologia molecular, todos são precedidos de métodos para a concentração dos oocistos na amostra.

SMITH et al. (1989) apud CASTRO LIMA & STAMFORD (2003) analisaram amostra de água in natura. Esta foi filtrada e tratada utilizando um inóculo contendo 10^3 oocistos de *Cryptosporidium spp./mL* previamente purificado e armazenado a 4° C por duas semanas, para posterior concentração por solução descontínua de sacarose. Para a identificação dos oocistos foram comparados os métodos de coloração histoquímica (Ziehl - Nielsen, auramina-fenol, Giemsa e safranina-azul de metileno) e imunofluorescência indireta com anticorpo monoclonal (FITC - Mab). Os autores

verificaram que os métodos de Ziehl - Nielsen e FITC - Mab foram os melhores na identificação dos oocistos, proporcionando recuperação de números elevados e semelhantes (86% e 87%, respectivamente), considerando os valores-teste da amostra-controlado entre 71 e 89% de recuperação.

Para CASTRO LIMA & STAMFORD (2003), a técnica de biologia molecular tem sido avaliada e seu desempenho na identificação de espécies de *Cryptosporidium* e na diferenciação entre os genótipos do *C. parvum* pode auxiliar na investigação dos casos clínicos da criptosporidiose. Além disso, a performance dessa técnica na análise de amostras ambientais poderá ser útil na monitoração da ocorrência de *Cryptosporidium spp.* em baixo número.

FRANCO et al. (2001) investigaram a presença de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* nas águas do Rio Atibaia em Campinas - SP pela técnica de imunofluorescência. Foi constatada a presença dos dois protozoários em todas as amostras. FARIAS et al. (2002) também avaliaram a presença de oocistos de *Cryptosporidium* em esgoto sanitário da cidade de São Paulo pela mesma técnica e obtiveram resultados positivos para todas análises.

A correlação positiva observada entre a densidade de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* com turbidez, coliformes totais e coliformes fecais foi reportada por LeCHEVALLIER et al. (1991). Relação significativa foi obtida entre *Giardia* e coliformes fecais ($r = 0,70$; $p < 0,01$) e coliformes totais ($r = 0,66$; $p < 0,01$). A densidade de *Cryptosporidium* demonstrou correlação significativa com a turbidez do efluente ($r = 0,75$; $p < 0,01$). Estes resultados foram diferentes dos obtidos por AKIN & JABUKOWSKI (1986) e ROSE et al. (1988) apud LeCHEVALLIER et al. (1991) que não encontraram relação entre densidades de *Giardia* ou *Cryptosporidium* e coliformes totais e fecais ou com turbidez. Para LeCHEVALLIER et al. (1991) uma das possíveis razões para a não compatibilidade de dados se deve às diferenças na qualidade de amostras analisadas.

Baseados nos relatos científicos, embora oocistos de *Cryptosporidium* não foram identificados nas amostras, não pode ser inferido que os mesmos estiveram ausentes em todas as análises realizadas. A não detecção se deu muito provavelmente à técnica utilizada.

3.2 CONDIÇÕES SANITÁRIAS E DOENÇAS

De acordo com ESREY & HABICHT (1986), a maioria dos estudos de impacto na saúde e os de aspectos sanitários têm se preocupado com a incidência de diarreia, de má nutrição e de mortalidade infantil. O estudo de algumas doenças como as causadas por *Ascaris lumbricoides*, *Dracunculus medinensis*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma mansoni*, *Chlamydia trachomatis* e diarreias foram o foco de ESREY et al. (1991) devido às suas amplas distribuições e também por constituírem sérios problemas onde presentes. Os autores enfatizam que todos países em desenvolvimento são afetados por doenças que causam diarreia e também por ascaridíases, sendo as outras enfermidades mais restritas a algumas localidades. Ainda consideram que a intervenção sanitária pode reduzir a incidência, a prevalência e/ou a severidade de todas as doenças. Para comprovação dos benefícios oferecidos pelo saneamento básico, HRY (1981) constatou que a prevalência de *Ascaris spp* foi reduzida em 31% em crianças com acesso à água tratada e condições higiênicas adequadas; quando comparadas com crianças sem as mesmas.

De acordo com valores norte americanos estimados, aproximadamente 2% de todos os testes de fezes realizados são positivos para *Cryptosporidium*. Estima-se que dos 15 milhões de casos de diarreia anuais, aproximadamente 300.000 pessoas apresentem infecção por *Cryptosporidium* (MEAD et al. 1999). Testes positivos para oocistos de *Cryptosporidium* foram obtidos por JOHNSON et al. (1995) em esgoto não

tratado, esgoto tratado secundariamente por filtração, efluente de lodo ativado, refluxo de drenos (causado por enchente), água subterrânea, água de superfície e água tratada. A comunidade científica tem dado especial atenção à criptosporidiose porque segundo FAYER et al. (2000) esta é uma doença de escala mundial em humanos. Das 10 espécies de *Cryptosporidium* somente *C. parvum* é passível de infectar humanos e outros mamíferos. A transmissão ocorre por via fecal oral, no estágio de oocisto através de água, alimentos e recreação em água contaminada.

LIMA et al. (1987) estudou a severidade da esquistossomose em crianças brasileiras de 5 a 14 anos e constatou que estas ficavam 7,3 vezes mais propensas a terem esplenomegalia (indicador de esquistossomose severa), quando não possuíam água encanada em casa. Para ESREY et al. (1991) houve redução de incidência em 26% para diarreia, 27% para *Trachoma*, 29% para *Ascaris*, 77% para esquistossomose e 78% para dracunculíases após implantação de sistema de saneamento. Os autores consideram que a melhoria da qualidade de serviços de disposição das excretas e a quantidade de água disponível estão associadas a melhores práticas de higiene e produzem melhores impactos na saúde. Nota-se, portanto, a importância do estudo das águas tratadas para consumo, como também o desenvolvimento e aprimoramento de novos sistemas de tratamento de esgotos sanitários. Além disso, o monitoramento dos parasitas entéricos em sistemas de distribuição de água também se faz necessário.

3.3 PARASITAS NO AMBIENTE

Várias espécies de parasitas podem encontrar na água, no solo ou no esgoto condições propícias para desenvolvimento, nutrição, obtenção de umidade e manutenção do estado de latência, quando em formas de resistência. As Tabelas 3.1 e 3.2 apresentam alguns parasitas que podem ser encontrados no ambiente, as doenças e os sintomas causados, como também as suas distribuições geográficas, o ambiente, o estágio de transmissão e a via de infecção.

Tabela 3.1 Protozoários causadores de doenças encontrados no ambiente.

Organismo	Doença/sintoma	Distribuição Geográfica	Ambiente	Forma infectante (tamanho) e via de infecção
<i>Balantidium coli</i>	Diarréia e disenteria	Cosmopolita	Água, alimento e solo	Cisto (50-60 μm) ingestão
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Diarréia	Cosmopolita	Água, alimento e solo	Oocisto (4,5-5,5 μm) ingestão
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	Diarréia	Cosmopolita	Alimento, água e solo	Oocisto (8-10 μm) ingestão
<i>Entamoeba histolytica</i>	Disenteria e abscesso no fígado	Cosmopolita	Alimento, água e solo	Cisto (9-14,5 μm) ingestão
<i>Giardia intestinalis</i>	Diarréia, má absorção	Cosmopolita	Água, alimento e solo	Cisto (8-12 μm) ingestão
Microsporidio	Diarréia, hepatite, peritonite, queratoconjuntivite, etc.	Cosmopolita	Alimento, água e solo	Esporo (1,8-5,0 μm) ingestão / contato com os olhos
<i>Sarcocystis sp.</i>	Diarréia, fraqueza muscular	Cosmopolita	Alimento, água e solo	Oocisto (7,5-17 μm) ingestão
<i>Toxoplasma gondii</i>	Linfadenopatia, febre, infecções congênitas	Cosmopolita	Alimento, água e solo	Oocisto (10-12 μm) ingestão

Fonte: Adaptado de SMITH (1988).

Tabela 3.2 Helminthos causadores de doenças encontrados no ambiente.

Organismo	Doença/sintoma	Distribuição Geográfica	Ambiente	Forma infectante (tamanho) e via de infecção
<i>Echinococcus spp.</i>	Hidatidose	Cosmopolita	Solo, água e alimento	Ovo (32-38 x 21-30 μm) ingestão
<i>Fasciola hepatica</i> (<i>Fasciola gigantica</i>)	Assintomático, inflamação crônica do ducto biliar, anemia	Cosmopolita (em criações)	Alimento	Metacercária (250 μm) ingestão
<i>Fasciolopsis buski</i>	Assintomático, diarreia, associada ao ovo, flatulência e vômito	Ásia	Alimento	Metacercária (9-14,5 μm) ingestão
<i>Schistosoma spp.</i>	Cirrose, hematuria, patologias fibro-inflamatórias associadas ao ovo	África, América Central, América do Sul e Ásia	Água	Cercária (<500 μm) penetração da pele
<i>Taenia solium</i>	Cisticercose e neurocisticercose	Cosmopolita	Alimento, água e solo	Ovo (31-43 μm diam) ingestão
<i>Ascaris lumbricoides</i>	Ascariases pulmonar e intestinal, alergia	Cosmopolita	Solo, alimento e água	Ovo (55-75 x 35-50 μm) ingestão
<i>Dracunculus medinensis</i>	Urticaria, febre, formação de feridas, calcificação	África central e parte oeste, Índia	Água	1º estágio de larva (490-737 x 18-24 μm) ingestão do 3º estágio
Ancilostomídeos	Asma, fadiga, anemia, hipoproteinemia	Cosmopolita	Solo e alimento	Filariforme (infectiva) larva (600-720 μm) penetração da pele e ingestão com alimento
<i>Strongyloides stercoralis</i>	Diarreia, enteropatia, hipereosinofilia, strongiloidiases	Cosmopolita	Solo e alimento	Filariforme (infectiva) larva (240-460 x 12 μm) penetração da pele
<i>Toxocara spp.</i>	Toxocariases visceral e ocular	Cosmopolita	Solo, alimento e água	Ovo (75 x 85 μm) ingestão
<i>Trichuris trichiura</i>	Assintomático, baixa dor abdominal, síndrome da disenteria	Cosmopolita	Solo, alimento e água	Ovo (50-55 x 22-24 μm) ingestão

Fonte: Adaptado de SMITH (1988).

Para SMITH (1988), muitos parasitas eucarióticos utilizam o ambiente para o desenvolvimento do ciclo de vida (ovos, cistos e oocistos) e também estágios ativos de larvas (cercárias e outras larvas infectantes). Tradicionalmente, têm sido utilizadas técnicas de microscopia com técnicas de concentração ou sedimentação para a detecção de parasitas no ambiente. Ainda segundo o mesmo autor, testes de identificação microscópica de estágios infectantes, de detecção imunológica de antígenos específicos e de detecção molecular de ácidos nucleicos contribui para o diagnóstico laboratorial. Para análises ambientais, testes similares podem ser utilizados, mas é necessário considerar: 1) extração dos organismos da água, do solo, do lodo e dos alimentos; 2) necessidade de detecção de baixas concentrações e 3) necessidade de se determinar a viabilidade dos organismos encontrados. Os esforços voltados para a detecção e para a tecnologia aplicada na identificação de várias espécies transmissíveis são freqüentemente dependentes da importância econômica dos parasitas. A contaminação do ambiente por ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, Ancilostomatídeos, cistos de *Giardia intestinalis* e oocistos de *Cryptosporidium parvum* se tornaram foco na saúde pública. Deve-se focar nos métodos e nos vários tipos de matrizes utilizados (solo, água, lodo, alimento) que têm auxiliado na detecção e ocorrência dos parasitas no ambiente.

Helmintos e protozoários causadores de enteroparasitoses podem infectar o homem, quando o material contaminado com organismos infecciosos é ingerido por um hospedeiro suscetível. A infecção ocorre por fezes, solo contaminado com fezes, água ou alimentos contaminados. Alguns estágios de transmissão necessitam de um período externo de maturação antes de se tornarem infecciosos no ambiente. Nessas circunstâncias, o contato com fezes recentes não é considerado de grande risco. O solo e alimentos vegetais são importantes veículos para a transmissão de ovos, larvas, cistos e oocistos, considerando contato de pessoa a pessoa e também transmissão por animais. O potencial de contaminar o ambiente depende: do número de hospedeiros contaminados, do número de estágios transmissíveis, das atividades humanas e não-humanas, das diferenças éticas e sócio-econômicas, da distribuição geográfica, das

condições sanitárias, da qualidade da água para consumo e de abastecimento, do clima e da hidrogeologia da área (SMITH, 1988).

3.4 FILTRO ANAERÓBIO

O tratamento anaeróbio depende dos microrganismos que agem na ausência de oxigênio, transformando os dejetos gerados pela ação humana em produtos mais simples como metano, gás carbônico e água (METCAL & EDDY, 1991). Sabe-se que o reator anaeróbio gera pouco lodo, é de fácil instalação e manutenção, mas tem como inconveniente a geração de efluente não adequado aos padrões ambientais exigidos pela legislação brasileira vigente.

O filtro anaeróbio é caracterizado pela presença de um material suporte estacionário e inerte no qual a biomassa é aderida ou fica retida nos interstícios, formando um biofilme que irá degradar o substrato contido no fluxo de esgoto (VON SPERLING, 1996). De acordo com a NBR 13969 (1997), “um filtro anaeróbio é um reator biológico com esgoto em fluxo ascendente ou descendente, composto de uma câmara inferior vazia e uma câmara superior preenchida de meio filtrante e submerso, onde atuam microrganismos facultativos e anaeróbios, responsáveis pela estabilização da matéria orgânica.” Para CHERNICHARO (1997), este tipo de reator é operado por meio de um fluxo vertical ascendente ou descendente. No primeiro fluxo o efluente flui pela base, passa pelo meio suporte e deixa o reator pela região superior do filtro. No fluxo descendente, o esgoto é distribuído na região superior e recolhido na base.

CAMPOS et al. (1999) consideram que o tratamento por processo anaeróbio apresenta baixo custo, não consome energia e produz pouco lodo. Não é necessária a construção e a utilização de grandes equipamentos mecânicos, mas apresenta baixa

eficiência na remoção de patógenos, nutrientes e matéria orgânica, que pode chegar a 70%. CHERNICHARO & MACHADO (1998) apresentaram melhores resultados no sistema UASB/FA¹ com tempo de retenção hidráulica de 4 a 6 horas. Houve remoção de DQO e DBO₅ variando entre 85% e 95% e também baixa concentração de sólidos no efluente final. Para BODIK et al. (2002), todos os resultados revistos demonstram que o processo anaeróbio é suficientemente satisfatório como um processo independente de tratamento, ou como estágio de pré-tratamento para um processo aeróbio. LETTINGA (1996) e BODIK et al. (2002) consideram o tratamento anaeróbio de esgoto doméstico uma alternativa atrativa para pequenas comunidades.

Nos últimos anos, novos sistemas de reatores anaeróbios modificados têm sido utilizados para o tratamento de esgotos de baixa concentração. Embora o tratamento anaeróbio de esgoto doméstico esteja sendo utilizado em larga escala em vários países tropicais - especialmente reatores UASB, o processo ainda não está sendo amplamente aplicado em países de temperaturas mais baixas. O sucesso na utilização de tais reatores no (pré) tratamento de efluente doméstico e/ou municipal, à temperatura ambiente, pode ser considerado um avanço tecnológico que poderia ter um maior impacto na redução de custos e de demanda energética para vários países (BODIK et al., 2002).

Para CHERNICHARO (1997) a temperatura é um dos fatores mais importantes que afetam o crescimento microbiano porque os organismos não possuem meios de controlar sua temperatura interna. Considerando que grande parte do Brasil apresenta espaço favorável ao desenvolvimento de sistemas anaeróbios, além de possuir temperaturas mais elevadas, esta tecnologia poderia ser amplamente utilizada para tratamento de esgotos em diversas regiões com população reduzida. Além disso, pela associação do quadro epidemiológico com o perfil sócio-econômico das comunidades brasileiras pode-se constatar a necessidade de sistemas simplificados de tratamento dos esgotos (CHERNICHARO, 2001).

¹ UASB/FA – Sistema composto por Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente seguido de Filtro Anaeróbio.

3.5 FILTRO DE AREIA

O filtro de areia consiste de um tanque preenchido com leito filtrante que recebe o efluente a ser tratado. O material de enchimento mais comumente utilizado é a areia, mas pode ser substituído por qualquer outro material filtrante, que proporcione condições ideais ao desenvolvimento de microrganismos responsáveis pela digestão da matéria orgânica presente no esgoto. A norma NBR 7229 (1993) estabelece como características da areia diâmetro efetivo entre 0,25 e 1,2 mm; coeficiente de uniformidade inferior a 4 e isenção de substâncias que possam compactar ou impermeabilizar a superfície. Estes sistemas podem ser construídos sob o solo (filtros de areia) ou subterraneamente (valas de filtração). De acordo com a NBR 13969 (1997), o filtro de areia é “um tanque preenchido de areia e outros meios filtrantes, com fundo drenante e com esgoto em fluxo descendente, onde ocorre a remoção de poluentes, tanto por ação biológica quanto física.”

Para METCALF & EDDY (1991) a construção e a estrutura de um filtro de areia biológico é extremamente simples. O desenvolvimento de sua tecnologia teve início por volta de 1703 na França (HALL, 2004), e desde então foi pouco alterada. No entanto, PELL & NYBERG (1989) assumem que o conhecimento do funcionamento devido à ação dos microrganismos ainda é pouco conhecido, complexo e variável, devido aos poucos estudos realizados. Segundo a USEPA (1980), o funcionamento de um filtro de areia depende principalmente da biodegradabilidade do efluente aplicado, das condições ambientais que o envolve e do seu projeto construtivo (características da areia e profundidade do leito).

Para JORDÃO & PESSOA (1995), o sistema é incorretamente chamado de filtro, pois o processo não possui como fundamentação primordial o peneiramento ou a filtração. Na realidade, existe principalmente o contato do efluente com uma cultura

biológica, que realiza a oxidação bioquímica. PELL & NYBERG (1989) consideram que as habilidades de decomposição dos microrganismos, quando em contato com os poluentes, são utilizadas em prol do tratamento do efluente.

Se os sistemas de filtração forem projetados corretamente, estes irão provavelmente apresentar alta capacidade de remoção de microrganismos presentes no efluente. De acordo com YAVUZ & HARRIDAS (1984) a eficiência de um filtro biológico está relacionada com a sua temperatura e com as condições físicas do fluxo. Essas condições são controladas pela quantidade, frequência, distribuição das aplicações do efluente e pelo tamanho das partículas encontradas no meio filtrante. Para LIÉNARD et al. (2001) a escolha da areia de preenchimento do leito do filtro, é sem dúvida um dos elementos chave para o bom resultado do sistema. O meio deve possuir permeabilidade inicial suficiente, para que garanta uma velocidade de infiltração após a colonização da biomassa de purificação. AUSLAND et al. (2002) também consideram que o conhecimento da taxa de aplicação, do método de distribuição e o do tamanho das partículas filtrantes sejam importantes para se reduzir o risco de poluição por sistemas de tratamento de esgoto.

Os poros são os espaços formados entre as partículas de enchimento do filtro. Um meio com alto coeficiente de uniformidade é caracterizado pela grande desigualdade no tamanho de suas partículas. Essa característica levará os grãos de areia a estarem muito próximos entre si, o que irá diminuir a porosidade total e a média de área dos espaços dos poros, reduzindo a sua permeabilidade para o efluente (WILLMAN et al. 1981). A USEPA (1980) e a NBR 13969 (1997) recomendam que o coeficiente de uniformidade seja menor do que 4.

Para STEVIK et al. (1999), o fluxo padrão no topo dos filtros é importante, considerando que a taxa de remoção de microrganismos seja mais alta nas partes superiores. Isso ocorre devido às melhores condições de oxigenação, maior número de protozoários ativos e menores tamanhos de poros devido a colmatação biológica. A

existência de oxigênio no filtro gera um ambiente propício para que os microrganismos decomponham por aerobiose a matéria orgânica do efluente. Os processos de decomposição aeróbios apresentam melhores resultados na remoção de matéria orgânica, quando comparados com os anaeróbios.

PELL & NYBERG (1989) obtiveram remoção de matéria orgânica na ordem de 90% quando trabalharam com colunas de areia grossa, que possibilitavam maior oxigenação dos filtros. Com o uso de areia fina, notaram a formação de áreas empoçadas sob condições anaeróbias, diminuindo a eficiência de remoção para 40%. De acordo com CORAUCCI FILHO et al. (2001) a utilização de areia muito fina resulta em pequena área efetiva, e como consequência, será possível somente a aplicação de baixas taxas, havendo pouca penetração da matéria sólida nas camadas do leito. Como resultado, haverá um alto tempo de retenção do efluente, ocasionando um curto período de vida útil para o filtro. No entanto, o efluente final terá sofrido um alto grau de tratamento. Por outro lado, a utilização de areia grossa implica na aplicação de altas taxas e um menor tempo de retenção.

TONETTI (2004) aplicou efluente de reatores anaeróbios em filtros de areia e observou que houve acréscimo na concentração de oxigênio dissolvido. Na maioria dos casos, resultados superiores a 6 mgL^{-1} , que é admissível para a emissão de efluentes em um corpo de água de Classe 2 (não inferior a $5 \text{ mgL}^{-1} \text{ O}_2$), de acordo com a resolução CONAMA 20 (1986). Para valores de DBO, houve variação de 96,5% a 99,1% de eficiência na remoção em filtro com leito de 1,00 m.

Para a USEPA (1980) a distribuição do efluente no filtro é importante para o bom rendimento do processo, visando assegurar a uniformidade da superfície. O sistema deve ser projetado para suportar uma camada inundada de 8 cm sob o leito, e possuir frequência de no mínimo duas aplicações por dia, alternada por períodos de repouso. Este descanso do leito tem como objetivo criar condição aeróbia no interior do filtro, a qual irá favorecer a degradação da matéria orgânica. STEVIK et al. (1999)

consideram que a retenção mínima do efluente no filtro parece ser outro parâmetro chave para a remoção de microrganismos. Tal fato se deve a fração mais rápida do fluxo, que pode ser interpretada como contribuinte para o transporte da maioria das bactérias, através das colunas de fluxo descendente do efluente.

AUSLAND et al. (2002) pesquisaram a remoção de coliformes e estreptococos fecais e perceberam que o tamanho dos grãos e a taxa hidráulica foram importantes na remoção. Estes fatores estavam diretamente relacionados com tempo de retenção e a dispersão dos filtros. Granulometria média, distribuição uniforme na superfície e baixa carga de carregamento aumentavam o tempo de retenção e diminuía a quantidade da dispersão longitudinal do esgoto nos filtros. Estes fatores aumentaram a probabilidade de absorção e eliminação, que eram mecanismos principais para imobilização e remoção de coliformes fecais nos poros.

A temperatura interfere diretamente na taxa de crescimento e na estabilização do meio microbiano que atua no tratamento de esgotos, nas reações químicas e no mecanismo de adsorção dos filtros de areia. PELL & NYBERG (1989) trabalharam com filtro de areia na Suécia e constataram que a cultura biológica demorou 95 dias para entrar em equilíbrio. No Egito, BAHGAT et al. (1999) notaram que a estabilização ocorreu em 52 dias. Nota-se, portanto que em regiões mais quentes, a estabilidade na da cultura biológica que atua no tratamento de efluentes pode ser atingida em menor tempo. No entanto, AUSLAND et al. (2002) verificaram a remoção de coliformes e estreptococos fecais em filtros de areia com profundidades de 1,20 m e notaram que não houve correlação entre a concentração de coliformes fecais no efluente do filtro e a temperatura, que variou de 2 a 17° C. Pode-se portanto considerar que a baixa temperatura (2-17° C) não proporcionou o ambiente térmico ideal para o desenvolvimento da micro-fauna.

Segundo a NBR 13969 (1997), as taxas de aplicação para o dimensionamento do filtro de areia têm o valor limitado a $100 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$, quando houver aplicação direta de

efluentes de tanques sépticos, e $200 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ para efluentes aeróbios de tratamento (CORAUCCI FILHO et al, 2001). Tanto a USEPA (1980) como a NBR 13969 (1997), recomendam que a areia do leito seja isenta de argila, terra, calcário ou quaisquer substâncias capazes de serem atacadas pelo esgoto ou de endurecerem formando uma massa compacta ou impermeável. De acordo com a NBR 7229 (1993), o filtro de areia deve possuir profundidade de leito variando entre 0,60 e 1,10 m. No presente estudo foram analisados filtros com leitos de 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00. O esgoto bruto recebeu tratamento em filtros anaeróbios de fluxo ascendente e posteriormente foi aplicado nos leitos de areia nas taxas de 20, 40, 60, 80 e $100 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$.

LIÉNARD et al. (2001), que avaliaram o tipo de areia escolhida na construção de filtros para tratamento de esgotos, consideram que haja utilização de vários sítios de infiltração em paralelo, com alimentação alternada para que ocorram: i) mineralização dos depósitos orgânicos superficiais trazidos por material suspenso, ii) auto-regulação da biomassa de purificação e iii) re-oxigenação dos poros. Também enfatizam que os leitos de areia têm que ter permeabilidade inicial suficiente para garantir que haja a infiltração do efluente e após o estabelecimento da micro fauna, ocorra o tratamento do efluente.

3.6 LEITO DE AREIA E BIOFILME

O item 3.5 é referente ao filtro de areia, que é uma unidade de tratamento de esgotos. O item 3.6 faz referência ao biofilme formado nos leitos dos filtros de areia.

O solo e a água podem conter acima de 10^8 - 10^{12} células bacterianas por grama de solo ou ainda por mililitro de água, se forem determinados por técnicas microscópicas. Várias bactérias presentes não podem ser detectadas por métodos de

cultura comumente empregados ou ainda utilizando-se meios especiais de ágar. Além disso, todas espécies presentes ainda não foram isoladas e identificadas sob condições laboratoriais devido aos requisitos referentes à composição do meio, à presença de fatores específicos de crescimento ou ainda condições ambientais (LORCH. et al. 1998). Para o número de amostras utilizadas, considera-se que os microrganismos são distribuídos de modo heterogêneo no solo, estando adsorvidos às partículas de argila. No entanto, amostras frescas de solo de pelo menos 20 g devem ser utilizadas nas séries de diluições. A secagem do solo, do lodo ou de compostos reduz o número e também altera a composição da microflora no solo (LORCH. et al.1998).

Em relação à formação de biofilmes, estes aparecem quando microrganismos aderem à superfície das partículas de areia, formando colônias e passando a viver de modo sésil. Nestas, ocorre geralmente a produção extracelular de substâncias poliméricas que formam uma matriz que imobiliza as células. Considera-se que os biofilmes podem auxiliar o homem na proteção ambiental, atuando contra a poluição, mas também podem causar danos ao ambiente. Portanto, é importante que haja conhecimento a respeito das propriedades e da dinâmica do biofilme analisado (FLEMMING, 1993).

Os biofilmes são formados por água (75 a 95 %), que é retida principalmente por substâncias secretadas pelos microrganismos. Estas substâncias, contribuem com cerca de 70 a 95 % da matéria orgânica da massa seca do biofilme. Os microrganismos representam somente a menor parte da massa e do volume, embora haja a excreção de polímeros e também controlem as propriedades físicas e químicas dos leitos (CHRISTENSEN & CHARACKLIS, 1990 apud FLEMMING, 1993). Os biofilmes tendem a formar uma fase gel entre a água e a superfície sólida. Dessa maneira, o crescimento do biofilme fica limitado ao transporte devido à matriz gelatinosa que só permite transporte de substâncias por difusão. Como ocorre a imobilização das partículas e também do crescimento, há um aumento do número de células ocasionando a formação de um consórcio de multiespécies. A estrutura e o funcionamento dos micro-

consórcios parecem ser um dos aspectos mais importantes na ecologia dos microrganismos (FLEMMING, 1993).

3.7 SISTEMA COMBINADO: FILTRO ANAERÓBIO E FILTRO DE AREIA

A remoção dos poluentes no tratamento de esgotos, de forma a adequar o seu lançamento a uma qualidade desejada ou ao padrão de qualidade legal vigente está associada aos conceitos de nível de tratamento dos esgotos. Os níveis são classificados como preliminar, primário, secundário e terciário. O tratamento preliminar objetiva apenas a remoção dos sólidos grosseiros, enquanto o tratamento primário visa a remoção de sólidos sedimentáveis e parte da matéria orgânica. Em ambos predominam os mecanismos físicos de remoção de poluentes. Já no tratamento secundário, no qual predominam mecanismos biológicos, o objetivo é principalmente a remoção de matéria orgânica e eventualmente nutrientes (nitrogênio e fósforo). O tratamento terciário tem como objetivo a remoção de poluentes específicos (usualmente tóxicos ou compostos não biodegradáveis) ou ainda, a remoção complementar de poluentes não suficientemente removidos no tratamento secundário. O tratamento terciário é bastante raro no Brasil (VON SPERLING, 1996).

Os baixos custos de implantação e de operação da unidade de tratamento do filtro anaeróbio convergem para sua aplicabilidade e uso em pequenas comunidades. O Filtro de Areia, por ser uma alternativa para o sistema de tratamento de esgotos e se operando em nível secundário, viria a favorecer a melhoria da qualidade final do efluente anaeróbio tratado. Esta composição de unidade de tratamento adequadamente projetada seria, uma possível solução para o tratamento de esgotos sanitários e posterior lançamento nos corpos receptores, ou ainda para reuso, podendo ser opção a aplicação do efluente na agricultura. A irrigação e o consumo não humano seguem, a

proposta da Organização Mundial da Saúde (OMS, 1989) e é atualmente adotada pelas agências dos Estados Unidos (USEPA) e da União Européia. Para SANCHES et al. (2000) a combinação de uma unidade anaeróbia com outra aeróbia apresenta uma alternativa inovadora para tratamento de esgotos. A norma NBR 13969 (1997) descreve alternativas técnicas para o tratamento do efluente de tanque séptico e posterior lançamento em um corpo receptor. Pode-se considerar como alternativa de tratamento a combinação tanque séptico – filtro anaeróbio – filtro de areia.

Segundo LIÉNARD et al. (2001), vários países utilizam plantas de tratamento de esgoto com leito de areia para o processo de degradação da matéria orgânica, realizado por microrganismos. Os sistemas são utilizados em pequenas comunidades rurais, casas individuais ou agrupamento das mesmas. Podem ser implementados sem qualquer equipamento eletromecânico, se a topografia permitir e qualquer indivíduo pode operá-lo facilmente. Estes reatores biológicos geralmente são precedidos por um tratamento primário que pode ser um tanque séptico ou um decantador primário (ou tanque de sedimentação). De acordo com a NBR 13969 (1997) os filtros de areia são recomendados para o pós-tratamento de efluentes quando: i) o lençol freático estiver próximo à superfície; ii) o solo ou o clima local não permitirem o emprego do sumidouro, da vala de infiltração ou as instalações destes sistemas exigirem área que não seja disponível; iii) a legislação da qualidade das águas dos corpos receptores impuser uma alta remoção de poluentes do efluente gerado no tanque séptico ou no filtro anaeróbio e iv) por diversos motivos, for considerado vantajoso o aproveitamento do efluente tratado, adotando-se o filtro de areia como uma unidade de polimento.

A aplicação desse sistema de tratamento de esgoto produziria um efluente de melhor qualidade que poderia ser reutilizado. Outra característica importante, é que nestes locais existem amplas áreas disponíveis de constituições arenosas e muito planas, o que facilitaria a instalação do filtro de areia como um método de tratamento (AZEVEDO NETO, 1969). Vale ressaltar que o efluente do filtro de areia não deve ser utilizado para consumo humano, sem antes passar por um processo de desinfecção, o

qual terá função de eliminar possíveis patógenos presentes no efluente.

TONETTI et al (2003) trabalharam com sistema combinado filtro anaeróbio – filtro de areia e constataram que devido à ação dos microrganismos anaeróbios aderidos à superfície do bambu e aeróbios aderidos na areia, foi obtida uma excelente remoção de matéria orgânica do esgoto que, caso fosse lançada em um corpo de água antes do processo de tratamento, levaria a um alto consumo de oxigênio. Em relação ao nitrogênio, ocorreu uma grande transformação de sua parte orgânica em nitrato, demonstrando a grande adaptação das bactérias responsáveis por esta reação bioquímica no ambiente formado no leito de areia.

De acordo com TONETTI (2004), em relação às superfícies dos filtros de areia, antes de iniciar a aplicação de afluente anaeróbio, a areia de todos os filtros possuía uma coloração clara característica e o líquido aplicado infiltrava-se para o interior do leito em um curtíssimo espaço de tempo. No decorrer da disposição das diversas cargas durante a primeira etapa, iniciou-se a formação de uma coloração levemente escura na camada superficial dos filtros, que atingiu seu tom máximo durante o emprego de 60 Lm^{-2} , quando houve a entrada indevida de um afluente que continha uma grande quantidade de sólidos e lodo. Esta camada impedia uma veloz infiltração do líquido, ocasionando o empoçamento de líquido na superfície. Nas aplicações seguintes, após o restabelecimento da disposição de um afluente dentro dos padrões normais encontrados no desenvolvimento do projeto, esta região problemática desapareceu, normalizando a velocidade de infiltração. Ressalta-se que neste caso não houve a necessidade de realizar-se uma operação física para o rompimento desta camada, sendo que nos dias seguintes à sua formação ocorreram rachaduras e posteriormente se deu um avanço de sua degradação.

Em relação ao oxigênio dissolvido, a média encontrada para todo o período de estudos no esgoto bruto foi de $2,47 \text{ mgL}^{-1}$. Após a passagem deste efluente líquido pelos filtros anaeróbios, houve uma redução da concentração de oxigênio em sua

composição, atingindo um valor médio de $1,72 \text{ mgL}^{-1}$, indicando que existiu seu consumo durante o processo de degradação da matéria orgânica. Ao aplicar-se o efluente dos reatores anaeróbios nos filtros de areia, em todas as situações ocorreu um acréscimo na concentração de oxigênio dissolvido atingindo, na maioria dos casos, resultados superiores a 6 mgL^{-1} , valor este admissível para emissão em um corpo d'água de Classe 1, segundo a resolução CONAMA 20 de 1986. Este desempenho garantiu que nesta variável, o efluente gerado pelo sistema poderia ter uma disposição final sem acarretar danos ao meio ambiente, ou ser empregado em alguma nova atividade (TONETTI, 2004).

Para coliformes totais e *Escherichia coli* o esgoto bruto e o afluente dos filtros de areia apresentaram resultados muito próximos para as concentrações dos dois grupos de bactérias. Em algumas ocasiões aconteceu o oposto do comportamento esperado para estes dois agrupamentos de microrganismos ou seja, a água residuária que chegava à estação de tratamento possuía valores inferiores ao do efluente que deixava os reatores anaeróbios. A concentração de coliformes totais nestes dois pontos de coleta (esgoto bruto e efluente do filtro anaeróbio) variou entre os patamares de 10^6 e $10^9 \text{ NMP100 mL}^{-1}$, enquanto que para a *Escherichia coli* encontrou-se resultados situados em uma faixa inferior, oscilando entre 10^6 e $10^8 \text{ NMP100 mL}^{-1}$. Estes valores demonstram que os filtros anaeróbios empregados não foram eficazes em diminuir a concentração destes microrganismos a valores inferiores à legislação, necessitando que exista um sistema de desinfecção (TONETTI, 2004).

No que se refere ao efluente que deixava os filtros de areia, os resultados obtidos foram diferenciados, de acordo com a profundidade dos leitos adotados e da carga em estudo. Durante a aplicação de 20, 40 e 60 Lm^{-2} nas três etapas, cada filtro propiciava efluentes que possuíam concentrações diferenciadas estatisticamente. Somente quando se empregou 80 e 100 Lm^{-2} nas etapas 2 e 3, F025 e F050 geraram tratamentos semelhantes, indicando que seria indiferente a escolha de uma das profundidades de areia adotada nestes filtros. Destaca-se que o F100, em todas as

situações, apresentava as menores concentrações de coliformes totais (TONETTI, 2004).

Como conclusão, TONETTI (2004) considera que um período de parada de um mês na aplicação do efluente anaeróbio nos filtros de areia pode garantir uma recuperação das propriedades do tratamento do sistema, principalmente quanto à melhora dos resultados de DQO, nitrificação e concentração de fósforo, coliformes totais e *Escherichia coli*. Também considera que devido à grande redução na concentração de DBO_F , DQO_F e COT_F pode-se concluir que o tratamento propiciado pelos filtros de areia não foi resultante somente de uma ação física, mas também influenciado pela ação degradadora dos microrganismos. Como conclusão final, por meio dos resultados obtidos no estudo, sugere que na aplicação de diferentes cargas de afluente anaeróbio a melhor profundidade a ser adotada para o leito de areia, tendo em vista um maior tratamento, seria a de 0,75 m. Esta consideração leva em conta que esta profundidade propiciou resultados significativamente melhores que aqueles encontrados para as profundidades de 0,25 m e 0,50 m e, na maioria dos casos, foram semelhantes estatisticamente aos obtidos no emprego de 1,00 m de leito de areia.

3.8 REÚSO E SITUAÇÃO DO BRASIL

Em outros lugares do mundo, o reúso de efluentes tratados já é considerado um elemento importante no planejamento dos recursos hídricos, sendo uma opção viável que auxilia a conservação da água e promove o uso eficiente dos componentes químicos existentes nestes despejos. Em Israel cerca de 70 % dos efluentes são utilizados na irrigação. Na Austrália, opera-se um sistema de tratamento por escoamento superficial no solo tratando cerca de $250.000 \text{ m}^3/\text{dia}^{-1}$ em 5.000 ha, permitindo posterior pastagem de rebanhos bovinos e ovinos alimentando cerca de

1600 animais nos campos irrigados. Em locais de extrema escassez de água como é o caso da Arábia Saudita e da Tunísia, as entidades governamentais estabeleceram como meta reutilizar a totalidade de seus efluentes domésticos (CAMPOS et al., 1999).

Infelizmente no Brasil não se tem uma legislação adequada ao reúso, e a população não tem consciência dos problemas relacionados aos recursos hídricos do país. Desta forma, sugere-se que um programa educacional de conscientização ambiental possa esclarecer e/ou remover possíveis oposições da comunidade ou até criar um clima onde seja ela própria quem exija uma distribuição mais justa das parcelas de água. Neste sentido, o gerenciamento de um sistema de reúso necessita de atenção constante no estímulo e na manutenção da aceitabilidade do usuário - objetivo alcançado através da transparência do processo junto aos usuários do efluente, da manutenção de qualidade do efluente e da disseminação de informações precisas sobre as vantagens e os riscos associados (GIORDANI & COSTA DOS SANTOS, 2004).

3.9 DESINFECÇÃO COM OZÔNIO

A seleção de um desinfetante deve considerar alguns pontos principais como: i) as características físico-químicas do esgoto (carbono orgânico total – TOC, demanda bioquímica de oxigênio – DBO, demanda química de oxigênio – DQO, sólidos em suspensão, turbidez, nitrogênio, pH, alcalidade, etc); ii) a eficiência de desinfecção em relação aos microrganismos a serem inativados; iii) formação de subprodutos e iv) segurança e saúde. (USEPA, 1999; TCHOBANOGLOUS et al., 2003).

O ozônio é um gás reativo muito oxidante e uma variedade alotrópica do oxigênio. Foi utilizado inicialmente para desinfecção de água de abastecimento, para

remover cor, sabor e odor. Data de 1906, em Nice, França, quando foi utilizado pela primeira vez para a desinfecção da água. A finalidade do tratamento com ozônio difere nos usos para desinfecção de água e para desinfecção de esgoto. No primeiro caso, a inativação dos organismos patogênicos é obrigatoriamente total enquanto que, no segundo caso, é permitida a inativação parcial dos organismos patogênicos, com concentração residual de microrganismos ativos variando de acordo com o uso pretendido para o esgoto tratado (CHERNICHARO et al., 2001).

O ozônio atua na inativação de patógenos de três maneiras, podendo ocorrer de forma combinada ou isolada. São elas: i) interferência no crescimento e síntese de proteínas, ácidos nucleicos e parede celular, ii) oxidação dos constituintes fundamentais da célula como parede celular, membranas semipermeáveis e protoplasma e iii) interferência no metabolismo, alterando ações enzimáticas (USEPA, 1999).

O ozônio age nos constituintes da membrana citoplasmática, nos sistemas enzimáticos e nos ácidos nucleicos dos microrganismos. De acordo com ASSIRATI (2005), o mecanismo responsável pela inativação de *E. coli* ainda não é bem compreendido. Pesquisas recentes demonstraram que o ozônio é capaz de penetrar nas células e causar alterações dos constituintes citoplasmáticos antes da destruição da membrana celular (ISHIZAKI et al, 1987), ou provocar danos ao DNA e perda da viabilidade em células aparentemente intactas (HUNT & MARIÑAS,1999). Nos vírus, o ozônio promove tanto a oxidação direta de nucleobases que formam o RNA como ataca as proteínas do capsídeo, alterando sua capacidade de fixação nas células (CAMEL & BERMOND, 1998).

O ozônio é um gás produzido a partir de oxigênio do ar ou de oxigênio puro e deve ser produzido no local de utilização, devido à sua alta reatividade e taxa de decomposição. O gás ozônio apresenta maior solubilidade na água que o oxigênio, sendo treze vezes mais solúvel que este. A quantidade de ozônio capaz de ser transferida ao meio aquoso é limitada pela pequena concentração de ozônio na fase

gasosa que os geradores de ozônio são capazes de produzir. Equipamentos de última geração que operam a partir do ar, em geral, produzem ozônio em concentrações máximas de até 6%, contra 20% daqueles alimentados diretamente com oxigênio (PARASKEVA & GRAHAM, 2002).

Uma vez dissolvido na água, o ozônio molecular não é estável, pois sua forte reatividade com numerosos compostos minerais e orgânicos, faz com que o ozônio seja consumido ou se decomponha em radicais (LEGUBE, 1996 apud CHERNICHARO et al., 2001). Por outro lado, certos compostos, como os íons carbonato e bicarbonato, aumentam a estabilidade do ozônio na água, o que melhora a capacidade de inativação de microrganismos, dado que pesquisas demonstram ser o ozônio molecular o principal responsável pela desinfecção (CHERNICHARO et al., 2001; HUNT & MARIÑAS, 1997).

O ozônio é produzido quando moléculas de oxigênio se dissociam em oxigênio atômico e se combinam na forma triatômica. Em temperatura ambiente, o ozônio é um gás incolor, instável, altamente corrosivo e tóxico. Tem forte odor, facilmente perceptível em concentrações entre 0,01 e 0,05 ppm, concentrações estas muito abaixo daquelas que representam riscos à saúde (USEPA, 1999). A instabilidade do ozônio no ar é maior que na água, mas, em ambos os casos, sua permanência é da ordem de minutos (TCHOBANOGLOUS, 2003).

3.10 LEGISLAÇÃO E NORMAS

A resolução CONAMA 20 (1986) considera aspectos relacionados à classificação de águas doces, salobras e salinas; custos de controle de poluição; enquadramento dos corpos d'água para atingir as necessidades da comunidade; a saúde e o bem estar humano e a necessidade de criação de instrumentos de avaliação

da qualidade das águas. De acordo com o artigo 1º existem 9 classes de águas, englobando as doces, salobras e salinas em todo o território nacional. Será dada maior atenção às águas doces. São 5 classes:

I) Classe Especial – águas destinadas:

- a) Ao abastecimento doméstico sem prévia ou com simples desinfecção;
- b) À preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas.

II) Classe 1 – águas destinadas:

- a) Ao abastecimento doméstico após tratamento simplificado;
- b) À proteção das comunidades aquáticas;
- c) À recreação de contato primário (natação, esqui aquático e mergulho);
- d) À irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película;
- e) À criação natural e/ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas à alimentação humana.

III) Classe 2 – águas destinadas:

- a) Ao abastecimento doméstico, após tratamento convencional;
- b) À proteção das comunidades aquáticas;
- c) À recreação de contato primário (esqui aquático, natação e mergulho);
- d) À irrigação de hortaliças e plantas frutíferas;
- e) À criação natural e/ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas à

alimentação humana.

IV) Classe 3 – águas destinadas:

- a) Ao abastecimento doméstico, após tratamento convencional;
- b) À irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras;
- c) À dessedentação de animais.

V) Classe 4 – águas destinadas:

- a) À navegação;
- b) À harmonia paisagística;
- c) Aos usos menos exigentes.

Pode-se observar pela classificação das águas que aquelas destinadas à irrigação são as Classes 1, 2 e 3.

Em relação aos coliformes tem-se que para águas de Classe 1, que as águas utilizadas para a irrigação de hortaliças ou plantas frutíferas que se desenvolvam rentes ao solo e que são consumidas cruas, sem remoção de casca ou película, não devem ser poluídas por excrementos humanos, ressaltando-se a necessidade de inspeções sanitárias periódicas. Para turbidez, é estipulado um valor de até 40 unidades nefilométricas de turbidez (UNT). Desse modo, se o efluente tratado em filtros de areia se enquadrar na qualidade de águas Classe 1, há a possibilidade de irrigação de hortaliças.

De acordo com o artigo 5º desta Resolução, para as águas de Classe 2 são estabelecidos os mesmos limites ou condições da Classe 1, com exceção de coliformes. Ou seja; não deverá ser excedido um limite de 1000 coliformes fecais por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 5 amostras mensais colhidas em qualquer

mês; no caso de não haver, na região, meios disponíveis para o exame de coliformes fecais, o índice limite será de até 5000 coliformes totais por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 5 amostras mensais colhidas em qualquer mês. Além disso, para a turbidez é aceito um valor de até 100 UNT.

Pelo artigo 6º, desta mesma Resolução referente às águas de Classe 3, são estabelecidos coliformes fecais até 4000 por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 5 amostras mensais colhidas em qualquer mês; no caso de não haver, na região, meios disponíveis para o exame de coliformes fecais, o índice limite será de até 20000 coliformes totais por 100 mililitros em 80 % ou mais de pelo menos 5 amostras mensais colhidas em qualquer mês. Para turbidez, até 100 UNT.

De acordo com a OMS (1989), para o reúso de efluentes tratados que tenham objetivo agrícola, *E. coli* deve ser inferior a 10^3 NMP 100 mL⁻¹ e o número de helmintos por litro deve ser menor ou igual a 1. Para a adequação do esgoto tratado e posterior lançamento em corpos receptores, a NBR 13969 (1997) considera a utilização de unidades de tratamento complementares como por exemplo tanque séptico, filtro anaeróbio e filtro de areia, para, dessa maneira, atender ao maior rigor legal ou ainda para efetiva proteção do manancial hídrico, a critério do órgão fiscalizador.

Esta Norma foi elaborada para oferecer aos usuários do sistema local de tratamento de esgotos, que têm tanque séptico como unidade preliminar, alternativas técnicas consideradas viáveis para proceder ao tratamento complementar e disposição final do efluente deste. Em decorrência das necessidades de saneamento básico efetivo das áreas não abrangidas por sistemas de rede coletora e tratamento de esgotos de porte, da proteção do meio ambiente e do manancial hídrico, tornou-se imperativo oferecer opções coerentes com aquelas necessidades. Com a crescente pressão demográfica, uma das alternativas para contornar este problema é, sem dúvida, o reúso de esgoto, sendo esta a política que deve ser seguida tanto no setor produtivo, para o qual prevê-se sensível elevação do custo de água no futuro próximo,

quanto pela população em geral. Além disso, é igualmente importante que sejam avaliados padrões de emissão estabelecidos nas leis, necessidade de proteção do manancial hídrico da área circunvizinha, disponibilidade de água etc., para seleção das alternativas que compõem o sistema local de tratamento de esgotos. As mesmas observações relativas ao consumo de água valem para determinados poluentes, cuja tecnologia para sua remoção ainda é onerosa (NBR 13969, 1997).

4 MATERIAL E MÉTODOS

A descrição da metodologia foi dividida em 3 etapas para facilitar a leitura e compreensão deste trabalho.

- Etapa 4.1:
 - 4.1.1 O Sistema de tratamento de esgoto e operação dos filtros de areia.
 - 4.1.2 Procedimentos de coleta e análises laboratoriais dos efluentes.
 - 4.1.3 Análise estatística dos dados referentes ao estudo nos filtros de areia.

- Etapa 4.2:
 - 4.2.1 Desinfecção com ozônio.

- Etapa 4.3:
 - 4.3.1 Procedimentos de coleta da areia do filtro.
 - 4.3.2 Análise microbiológica dos estratos dos leitos de areia.
 - 4.3.3 Cálculo para expressão do número de coliformes por grama de solo seco.

ETAPA 4.1

4.1.1 O SISTEMA DE TRATAMENTO DE ESGOTO E OPERAÇÃO DOS FILTROS DE AREIA

A intenção deste trabalho foi avaliar o potencial de remoção de protozoários e helmintos em filtros de areia, com quatro diferentes camadas de leito (1,00; 0,75; 0,50 e 0,25 m). Para tanto, efluente de filtro anaeróbio foi aplicado nos quatro filtros em 5 diferentes taxas (20, 40, 60, 80 e 100 Lm⁻²dia⁻¹). Foi verificada a melhor performance de remoção de helmintos e protozoários considerando-se a profundidade dos leitos e também as taxas aplicadas.

O sistema de tratamento de esgoto foi construído em uma área experimental na Estação de Tratamento de Efluentes Graminha, da Cia Águas de Limeira S.A. na cidade de Limeira, São Paulo. O efluente utilizado no experimento foi proveniente de 4 filtros anaeróbios pilotos de fluxo ascendente. Os reatores possuíam fundos cônicos, que funcionavam como compartimento de distribuição do fluxo de esgoto. O enchimento dos filtros foi de anéis de bambu da espécie *Bambusa tuldoides*. Foram

construídos pela equipe de pesquisadores da Faculdade de Engenharia Civil (DSA) da UNICAMP.

A construção do filtro de areia foi baseada na NBR13969 (1997) e na USEPA (1980) (Figura 4.1). A areia grossa, a pedra britada número 3 e o pedregulho utilizados, foram lavados antes de sua colocação no interior do filtro, para a retirada de qualquer material que pudesse interferir no experimento. O coeficiente de uniformidade da areia foi de 3,9 e o diâmetro efetivo de 1,0 mm. Para evitar a interferência das chuvas, que poderiam diluir o efluente aplicado ou ainda lavarem os filtros no período do experimento, foi construída uma cobertura sobre o sistema.

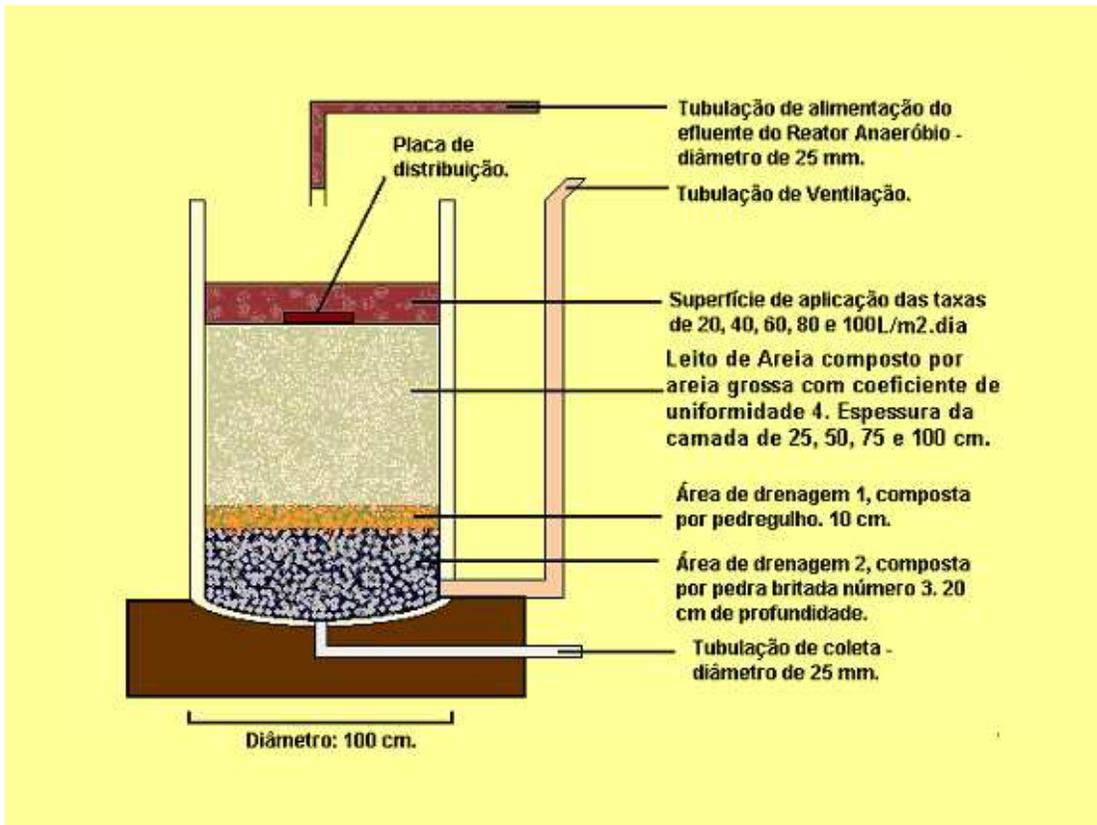


Figura 4.1 Desenho esquemático do filtro de areia.

A Figura 4.2 apresenta as características granulométricas da areia utilizada no preenchimento dos filtros. Os filtros foram compostos de leito de areia com 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 m de profundidade.

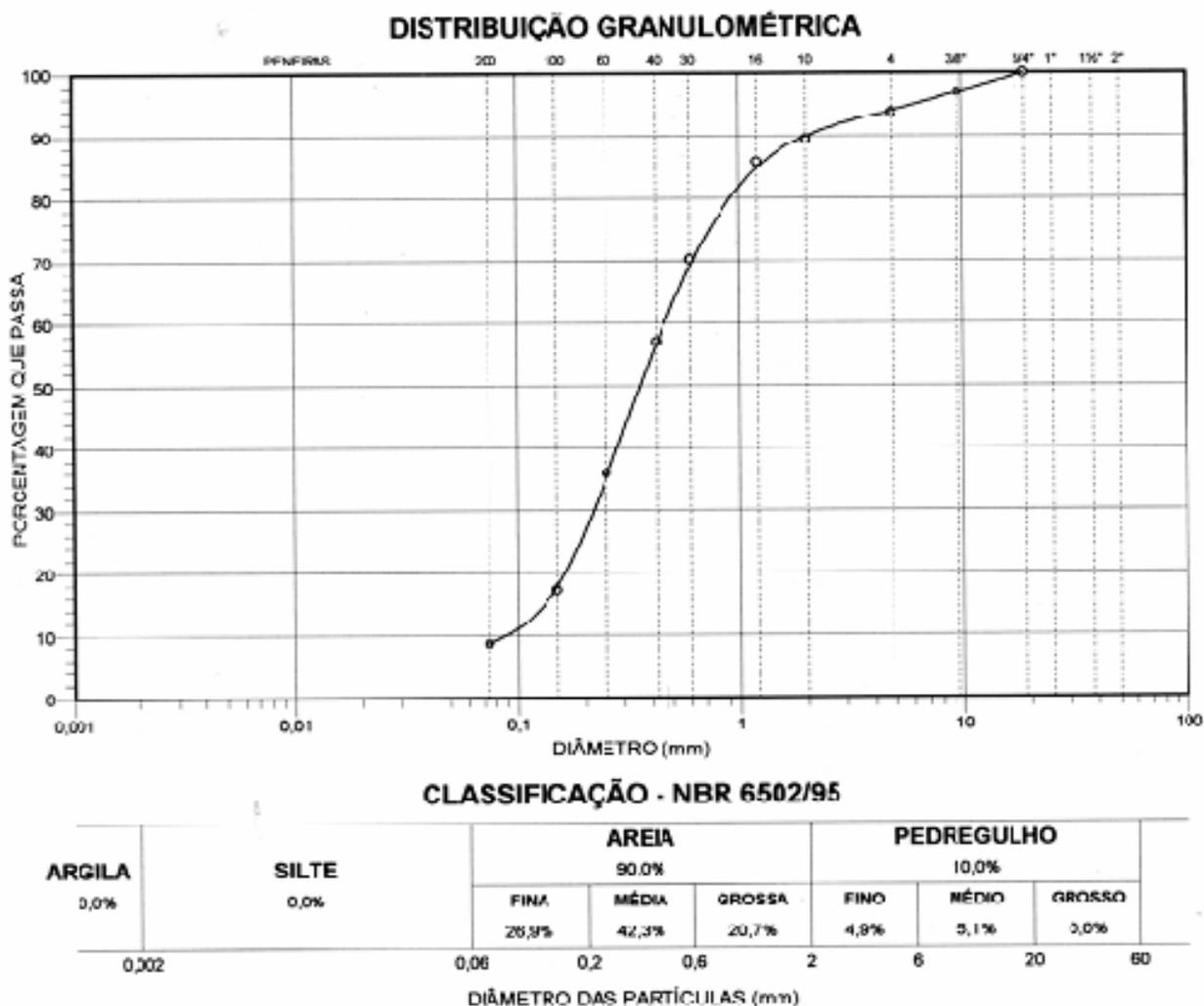


Figura 4.2 Curva de distribuição granulométrica da areia utilizada nos filtros.

Fonte: TONETTI, 2004.

O efluente utilizado era proveniente da Estação de Tratamento de Esgotos Graminha. A planta possuía tratamento preliminar constituído de grade e caixa de areia. O esgoto era então recalado até o sistema de tratamento biológico constituído de

lagoa anaeróbia, seguida por duas lagoas facultativas em série (NOUR et al. 2000). A vazão média de esgotos na estação é de 36 L s^{-1} ($129,6 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$) (MORAES, 2004). A Figura 4.3 ilustra o trajeto percorrido pelo esgoto no processo de tratamento no sistema filtro anaeróbio – filtro de areia, onde a primeira caixa de armazenamento (3) e o poço de abastecimento do esgoto bruto (1), substituem a função do tanque séptico.

Observando a Figura 4.3, primeiramente o efluente que recebeu tratamento preliminar (1) foi recalcado até a primeira caixa de cimento amianto com volume de 500 L (3). Uma peneira estática foi utilizada para a remoção de sólidos que pudessem obstruir tubulações e registros (2). O esgoto foi então repassado para um segundo reservatório de 500 L (4) cuja função era manter a carga hidráulica constante no sistema. As caixas de distribuição foram montadas em estrutura de madeira acima dos reatores e tinham função de escoar por gravidade. O esgoto era então enviado para os filtros anaeróbios de fluxo ascendente (5) e após o tratamento nestes, o efluente era reservado (6). Na segunda etapa do tratamento, o efluente anaeróbio era bombeado (7) até uma caixa reservatória de 500 L (8) localizada a uma altura superior aos filtros de areia para que as aplicações pudessem ser realizadas por gravidade. Uma caixa graduada de rápido armazenamento (9) foi utilizada para que as taxas de 20, 40, 60, 80 e $100 \text{ L m}^{-2}\text{dia}^{-1}$ pudessem ser medidas e aplicadas. O efluente anaeróbio era percolado nos filtros de areia de 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 m (10) e o filtrado liberado para o corpo receptor (11) – Córrego Graminha. Todas as taxas (20, 40, 60, 80 e $100 \text{ L m}^{-2}\text{dia}^{-1}$) foram dispostas sobre as superfícies dos filtros, iniciando-se a aplicação no filtro de 1,00 m e tendo seqüência nos filtros de 0,75; 0,50 e 0,25 m.

Para a operação do sistema, a bomba de recalque (7) era ligada para que o efluente anaeróbio pudesse ser armazenado na caixa de amianto (8) antes da aplicação nos filtros de areia. Após o enchimento desta (8), de acordo com a taxa a ser aplicada em cada filtro (10), a caixa de aplicação de 40 L (9) recebia o efluente por gravidade que era então aplicado nos filtros F100, F075, F050 e F025 (10). Para o funcionamento deste procedimento, a caixa de reserva de efluente anaeróbio (8) e a

caixa graduada de aplicação nos filtros de areia (9) possuíam registros hidráulicos. Após o enchimento desta última, fechava-se o registro do efluente anaeróbico reservado (8) para que ocorresse a aplicação nos filtros. Em seguida, após a abertura do registro de um filtro de areia (10) (enquanto os registros dos outros filtros eram mantidos fechados), o conteúdo da caixa graduada (9) era liberado para que pudesse escorrer por gravidade na superfície do leito de areia. De acordo com cada taxa aplicada, este procedimento era repetido até que o volume total necessário fosse disposto em cada filtro. Cada taxa foi aplicada em cada filtro uma vez ao dia.

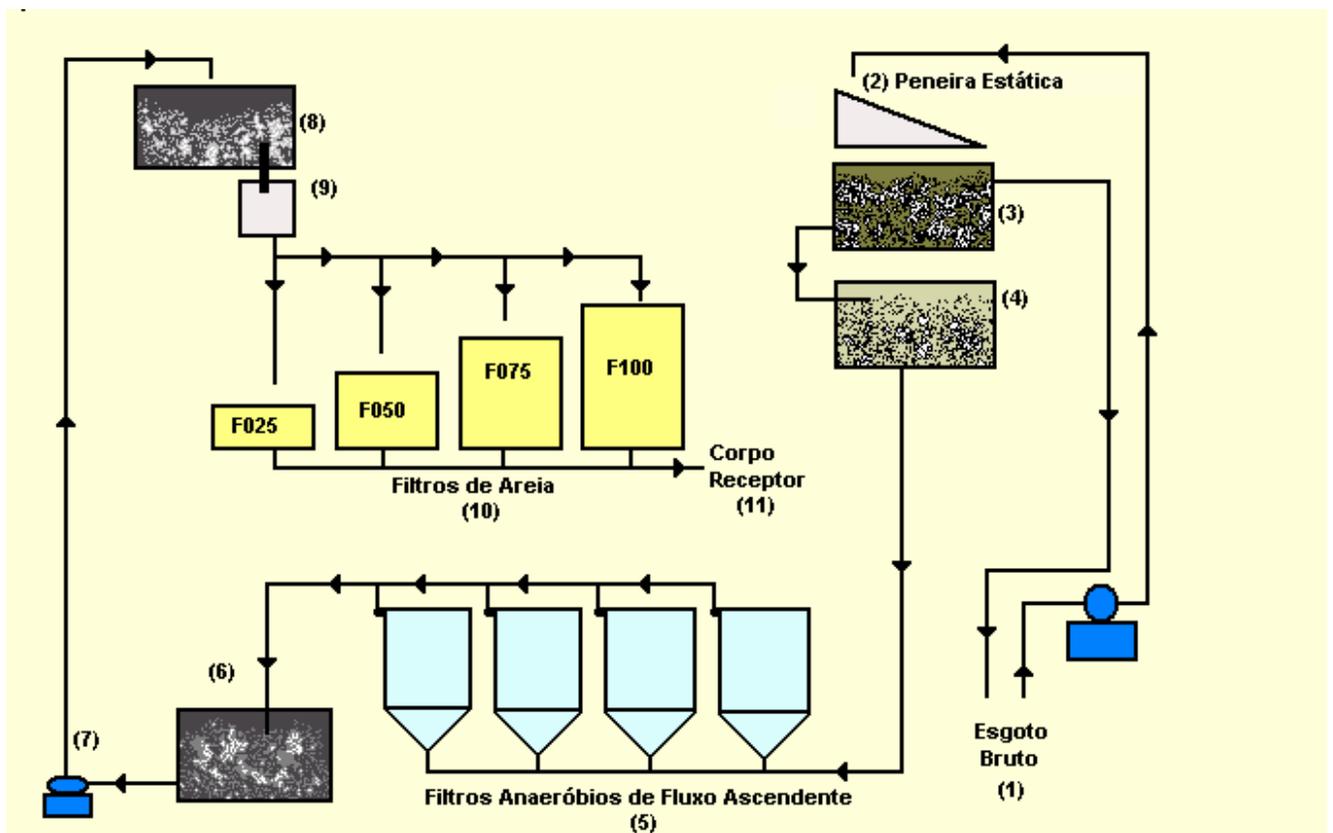


Figura 4.3 Fluxo do esgoto no sistema de tratamento anaeróbico e posterior filtro de areia na ETE Graminha – Limeira, SP.

As aplicações do efluente eram realizadas em uma única etapa através das tubulações de alimentação, sobre placas de distribuição posicionadas nas superfícies dos filtros (Figura 4.1). As placas de madeira tinham dimensões de 20 cm x 20 cm. A utilização de tal aparato teve o objetivo de melhorar o espalhamento do efluente anaeróbio e evitar que houvesse formação de canais preferenciais de infiltração. Além disso, evitavam que houvesse um forte choque entre o líquido e a superfície de areia, o que causaria erosão da área (TONETTI, 2004). Todas as aplicações do efluente anaeróbio nos filtros de areia foram realizadas manualmente e para tanto houve necessidade de um operador na ETE Graminha cinco vezes por semana. O tempo do experimento foi de Maio de 2003 a Agosto de 2004. Durante os finais de semana, não foram feitas aplicações para que houvesse descanso e condições de re-aeração nos leitos de areia.

A estação de tratamento de esgotos Graminha recebe efluente de 31 Bairros residentes na Bacia da Graminha. São eles: Jardim São Paulo, Jardim Esmeralda, Jardim Pérola, Jardim Nossa Senhora de Fátima, Jardim Senador Vergueiro, Jardim Monte Carlo, Jardim Limeirânea, Jardim Arruda, Jardim Itapuã, Chácara Boa Vista da Graminha, Jardim Agostinho Francisco de Assis, Jardim Colonial, Portal das Rosas, Jardim Terras de Santa Elisa, Jardim Parque Avenida, Chácara Cetesb, Chácara Aurora, Portal São Clemente, Chácara Basteli, Residencial Porto Seguro, Jardim Alto da Graminha, Jardim Colina Verde, Condomínio Sigmasville I, Jardim Santa Amália, Jardim Residencial Victório Lucato, Jardim Graminha, Jardim das Paineiras, Jardim Residencial Graminha III, Jardim Residencial Graminha II, Jardim Residencial Guimarães, Jardim Ipanema e Jardim das Palmeiras.

4.1.2 PROCEDIMENTOS DE COLETA E ANÁLISES LABORATORIAIS DOS EFLUENTES

4.1.2.1 COLETA DOS EFLUENTES

Foram realizadas análises dos efluentes dos filtros nas taxas de 20, 40, 60, 80 e 100 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$. Cada taxa foi aplicada por um período de 4 semanas. No total, foram coletadas 4 amostras de efluente em cada filtro, em cada taxa. Amostras de esgoto bruto e do efluente do filtro anaeróbico também foram analisadas para comparação. Uma vez por semana, após aplicação de cada taxa, eram coletados os efluentes dos filtros de areia e além destes, esgoto bruto e efluente do filtro anaeróbico. Foram feitas 4 coletas pontuais em cada taxa de aplicação em cada filtro (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 Número de coletas pontuais realizadas.

Taxas de aplicação ($\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$)	NÚMERO DE COLETAS PONTUAIS					
	Esgoto Bruto	Efluente dos Filtros Anaeróbios	F025	F050	F075	F100
20	4	4	4	4	4	4
40	4	4	4	4	4	4
60	4	4	4	4	4	4
80	4	4	4	4	4	4
100	4	4	4	4	4	4
Total	20	20	20	20	20	20

Tanto o esgoto bruto como o efluente anaeróbico possuía características turvas, sendo o segundo com aspecto visual mais escuro. O esgoto bruto ainda apresentava sólidos grosseiros, havendo necessidade de uma re-coleta, caso estes estivessem presentes nas amostras. Para tal procedimento era utilizado um recipiente de 300 mL adaptado a um bastão de 1,5 metros para evitar o contato com a amostra. Para a coleta do efluente dos filtros anaeróbios, o tubo de amostragem era disposto na tubulação de saída dos filtros anaeróbios, antes de cair na caixa de armazenamento (6) (Figura 4.3).

As coletas dos efluentes dos filtros de areia foram realizadas assim que o efluente começava a escorrer pela tubulação de coleta, dispondo os tubos de amostra na saída de cada filtro (Figura 4.1). Foi coletado 1,00 L de efluente de cada filtro, além de amostras de esgoto bruto e de efluente do filtro anaeróbio. As amostras de efluente do filtro, de esgoto bruto e de efluente anaeróbio foram condicionadas em recipiente de isopor e levadas até o laboratório de Saneamento da FEC.

4.1.2.2 ANÁLISE QUANTITATIVA DE OVOS DE HELMINTOS

Análises de ovos de helmintos foram realizadas segundo o método de sedimentação espontânea, adotado pela CETESB (norma L5.550) e modificado por PIRES (2003). As leituras das amostras dos efluentes (dos filtros anaeróbios e dos filtros de areia) foram realizadas no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia Civil. Estas foram coletadas em frascos plásticos de 1 L (identificados com etiquetas contendo local de coleta e data), e devido ao transporte realizado entre Limeira e Campinas, que provocou agitação do efluente, estas foram mantidas em repouso em ambiente refrigerado por pelo menos 3 horas, para que houvesse sedimentação. De acordo com a norma da CETESB L5.550 (1989), para a técnica de sedimentação é necessário:

- Distribuir um volume de 500 mL da amostra em um tubo cônico;
- Deixar a amostra em repouso para sedimentação durante um período de 24 horas;
- Após a sedimentação, preparar a amostra para exame microscópico de contagem em câmara de Sedgwick-Rafter, coletando o material sedimentado.

A câmara de Sedgwick possui capacidade para 1 mL e tem como dimensões 20 mm de largura por 50 mm de comprimento e 1 mm de profundidade. De acordo com NEVES (2004), o método de sedimentação espontânea ou Método de Hoffman, Pons e Janer (adotado pela CETESB) permite encontrar ovos e larvas de helmintos e cistos de

protozoários. Na metodologia modificada por PIRES (2003), após o período de repouso das amostras (pelo menos 3 horas), 900 mL eram descartados cuidadosamente e sem agitação da amostra, e os 100 mL restantes, divididos em dois frascos para centrífuga de 50 mL cada. Em seguida eram centrifugados por 5 minutos a uma velocidade de 1500 rpm. Com este procedimento evitou-se o tempo de espera de 24 horas para que a leitura das câmaras pudesse ser iniciada. No entanto, nas amostras dos filtros anaeróbios, que apresentavam características mais turvas, havia maior dificuldade na observação das alíquotas no microscópio.

Após a sedimentação, deve-se seguir os seguintes passos (L5.550, 1989):

- Colocar uma lamínula em posição diagonal sobre cada câmara de S-R a ser preparada, para evitar a formação de bolhas de ar;
- Colocar uma gota de solução de lugol no interior de metade dessas câmaras de S-R;
- Com auxílio de uma pipeta, transferir 1 mL da amostra sedimentada para o interior da câmara até preenche-la totalmente;
- Após o preenchimento da câmara com a amostra, recolocar a lamínula na posição adequada;
- Agitar lentamente a câmara de S-R, com movimentos desordenados, para distribuição homogênea do material;
- Deixar a câmara de S-R em repouso durante alguns minutos para sedimentação do material;
- Efetuar a primeira leitura ao microscópio, percorrendo toda a área da câmara de S-R, em sentido horizontal ou vertical, utilizando inicialmente ocular e objetivas de pequeno aumento e, a seguir, objetivas de aumentos maiores;
- Efetuar a contagem.

Os resultados serão expressos pelo número de ovos e/ou larvas de helmintos

ou cistos de protozoários por 1000 mL, quando se processam amostras líquidas. Este número será obtido a partir das contagens das lâminas examinadas diretamente ao microscópio a partir da aplicação da técnica de sedimentação (L5.550, 1989).

As alíquotas foram dispostas na Câmara de Sedgwick, coradas com lugol e todo o campo da câmara percorrido para leitura nos aumentos de 40 e de 100 vezes. Maiores aumentos não puderam ser utilizados devido à altura de 1 mm da câmara de contagem, o que impossibilitou a troca de lentes do microscópio. A identificação dos organismos presentes foi realizada com auxílio de literatura especializada e então registrada quantitativamente.

4.1.2.3 TÉCNICA DE COLORAÇÃO PARA *Cryptosporidium* spp

Para a detecção de oocistos de *Cryptosporidium* spp foi usada a técnica de coloração por Safranina – Azul de Metileno (BAXBY et al., 1984 apud PIRES, 2003), descrita a seguir:

- Fazer o esfregaço de material e secar ao ar;
- Fixar passando a lâmina rapidamente sobre a chama do bico de Bunsen;
- Fixar em ácido clorídrico a 3% em 100% de metanol (3-5');
- Lavar em água corrente de baixa pressão;
- Cobrir o esfregaço com safranina aquosa a 1% (60'') e aquecer até ebulição;
- Acrescentar corante e continuar aquecendo se for preciso;
- Lavar com água de baixa pressão;
- Cobrir o esfregaço com Azul de Metileno a 1% (30'');
- Lavar com água de baixa pressão. Secar;
- Colocar óleo de imersão e montar entre lâmina e lamínula. Fixar com bálsamo do Canadá ou esmalte;
- Deixar secar e observar.

Os oocistos de *Cryptosporidium* spp coram-se de cor alaranjada e destacam-se dos outros organismos presentes na lâmina, que irão corar-se de azul ou roxo, e desta forma é possível identifica-los.

4.1.2.4 ANÁLISE QUALITATIVA

Para análises qualitativas as amostras de esgoto bruto, de efluente de filtro anaeróbio e de efluente de filtros de areia foram analisadas em lâminas preparadas a fresco como segue:

- Após a sedimentação do efluente centrifugado (item 4.1.2.2), introduzir com cuidado uma pipeta Pasteur até o fundo do tubo e recolher uma porção do material sedimentado;
- Depositar o material sobre uma lâmina;
- Corar com lugol;
- Cobrir o material da lâmina com lamínula; e
- Examinar ao microscópio;
 - Realizar as leituras com auxílio de um microscópio binocular, percorrendo todo o campo da lâmina (sentido horizontal ou vertical), utilizando oculares com aumento de 10 vezes e objetivas de 10 e 40 (ou 100 vezes, se necessário);
 - Proceder à identificação dos organismos presentes na amostra, com auxílio de literatura especializada, registrando as espécies identificadas e a quantidade das mesmas em fichas de leitura.

Foram realizadas leituras qualitativas em 54 amostras. Foram feitas análises em EB, FAN, F025, F050, F075 e F100. Os seis tipos de amostra foram processados e posteriormente analisados em microscópio óptico comum. Na taxa de 20 Lm⁻²dia⁻¹ foi feita somente uma análise de cada amostra. Em 40 e 80 Lm⁻²dia⁻¹, foram repetidas 3 vezes para cada ponto amostral. Em 60 Lm⁻²dia⁻¹, repetiu-se 2 vezes. Não foram feitas

análises qualitativas em amostras referentes à taxa de $100 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ devido à falta de tempo.

4.1.2.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO EFLUENTE APÓS DESINFECÇÃO COM OZÔNIO

A análise das amostras dos efluentes foi realizada no Laboratório de Saneamento e Ambiente da Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo. Foram verificados a quantidade de coliformes totais e *Escherichia coli*. Além destes dois grupos de bactérias, também foi avaliada a presença de helmintos e protozoários antes e após o processo de desinfecção. Foram utilizadas metodologias de análise recomendadas pela CETESB L.5.550 (1989) e modificada por PIRES (2003) para helmintos e protozoários e o método cromogênico (AWWA, 1995) para determinação de coliformes.

O método de Substrato Cromogênico Definido ONPG-MUG, (Kit Colilert) para a determinação de coliformes totais e *E. coli* (AWWA, 1995) utiliza substratos hidrolizáveis para a detecção simultânea de coliformes totais e *E. coli*. O grupo de coliformes totais é definido como bactérias que possuem enzima β -D-galactosidase, que hidrolisa o substrato cromogênico (orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosideo – ONPG), e dessa forma libera o cromogênio, causando uma alteração de cor, caso os coliformes estejam presentes. A determinação de *E. coli* é feita utilizando-se o substrato fluorogênico 4-metilubelliferyl- β -D-glocuronide (MUG), que detecta a presença da enzima β -glucuronidase produzida por esta bactéria. Essa enzima hidrolisa o substrato e a amostra se torna fluorescente sob luz ultravioleta (336 nm), com fluorescência de cor azul brilhante (CETESB, 2000).

As amostras de esgoto afluyente (entrada do reator) e ozonizado (saída do reator) foram diluídas conforme estimativa inicial de NMP e em seguida foi adicionado o

substrato. Estas eram então incubadas por 24 horas em temperaturas de $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Os resultados foram expressos em NMP 100 mL^{-1} . O resultado final, tanto para coliformes totais como para *E. coli*, é dado pela contagem dos pontos positivos e negativos nas cartelas após incubação, os quais são correlacionados na tabela estatística fornecida pelo próprio fabricante (IDEXX), resultando no NMP. Foi utilizado o seguinte procedimento:

- Coletar 100 mL de amostra em um frasco ou bolsa estéril;
- Após a diluição conforme estimativa inicial de NMP;
- Adicionar o conteúdo do frascote Colilert-24 horas;
- Despejar o conteúdo do frasco, dentro da cartela Quanti-Tray;
- Selar a cartela e levar para a incubadora a 35°C por 24 horas;
- Após 24 horas, fazer a leitura da cartela – se apresentar coloração amarela o resultado é positivo para coliformes totais;
- Contar os cubos e verificar a tabela NMP;
- Em seguida fazer o teste de *E coli* expondo a cartela a luz UV – 365 nm;
- Se houver fluorescência o resultado é positivo para *E coli*, e
- Contar os cubos e verificar a tabela NMP.

4.1.2.6 ANÁLISE DE TURBIDEZ

A turbidez é a expressão da propriedade ótica que causa espalhamento e absorção da luz ao invés de sua transmissão sem mudança de direção ou intensidade através de uma amostra. A turbidez é causada por material suspenso e coloidal, tais como argila, silte, material orgânico finamente dividido, plâncton e outros organismos microscópicos. É difícil estabelecer correlação entre a turbidez e o número ou o tamanho das partículas, porque o tamanho, a forma e o índice de refração das partículas afetam as propriedades de espalhamento de luz da suspensão. Para a leitura da turbidez no efluente desinfetado, foi considerado que esta pode ocasionar oclusão

de microrganismos patogênicos e sua futura liberação conforme o material suspenso vai sendo solubilizado ou conforme o esgoto passa por barreiras mecânicas que causam a fragmentação desses sólidos. Para as análises de turbidez, foi adotado o procedimento a seguir:

- Sempre na primeira leitura, passar uma gota de óleo de silicone no exterior da cubeta com o auxílio de uma flanela;
- Evitar que amostra escorra pelo exterior da cubeta para que não haja necessidade de enxugar e reaplicar o silicone;
- Não tocar na cubeta após aplicação do óleo, sendo permitido tocar somente na região acima do diamante e no fundo da mesma;
- Não é recomendado diluir a amostra para fazer a leitura. Algumas partículas tendem a se comportar de forma diferente quando se altera a temperatura ou se dilui o meio;
- Adicionar quantidade de amostra suficiente na cubeta (HACH 2100N = 30 mL) tampar e homogeneizar para re-suspender qualquer depósito ou flotado que porventura venha a se formar na cubeta;
- Verificar se não há presença de bolhas de ar no interior ou manchas no exterior da cubeta;
- Introduzir a cubeta no compartilhamento de amostra, fazendo coincidir a marcação diamante da cubeta com a ranhura do equipamento; e
- Fechar o compartimento e teclar 'enter'. A leitura aparece no visor digital.

4.1.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS REFERENTES AO ESTUDO NOS FILTROS DE AREIA

A Estatística Paramétrica exige, como requisitos, que os dados se apresentem em distribuição normal e que haja homogeneidade entre as variâncias. Muitas vezes,

pesquisadores trabalhando com dados em escala intervalar, decidem aplicar provas paramétricas, sem dar atenção a tais requisitos. Se a amostra tiver $n < 100$, estes requisitos têm que ser testados através de provas estatísticas. Se $n > 100$, não há necessidade de verificação dos requisitos citados, pois se supõe que a distribuição seja normal e que haja homogeneidade entre as variâncias. Se os dados apresentados em escala intervalar e/ou de razão, não preencherem os requisitos necessários, o pesquisador deverá recorrer aos métodos não-paramétricos, que não necessitam de nenhum pré-requisito.

As distribuições dos valores obtidos na contagem de microrganismos e na análise de turbidez, de cada coleta, foram testados quanto à normalidade pelo teste Lilliefors-Kolmogorov Smirnov (AYERES et al. 2003). Após constatada a não normalidade dos dados, foi escolhido um teste não-paramétrico: Análise de Variância de Friedman. Este é um teste para dados mensurados em escala ordinal, abrangendo três ou mais amostras e equivalendo a ANOVA com dois critérios. Este procedimento recebe, também, a designação de Dupla Análise de Variância por Postos. As amostras devem ter o mesmo tamanho, a fim de permitir a comparação entre todos os indivíduos submetidos ao teste (AYRES et al. 2003).

O Teste de Correlação de Spearman (r_s) também é uma prova não-paramétrica com a finalidade de se determinar o grau de associação entre duas variáveis mensuradas, pelo menos em escala ordinal e dispostas em postos ordenados em duas séries: X e Y. Foram feitos Testes de Correlação de Spearman para n^o de microrganismos x taxas de aplicação, turbidez x taxas de aplicação e turbidez x n^o de microrganismos.

ETAPA 4.2

4.2.1 DESINFECÇÃO COM OZÔNIO

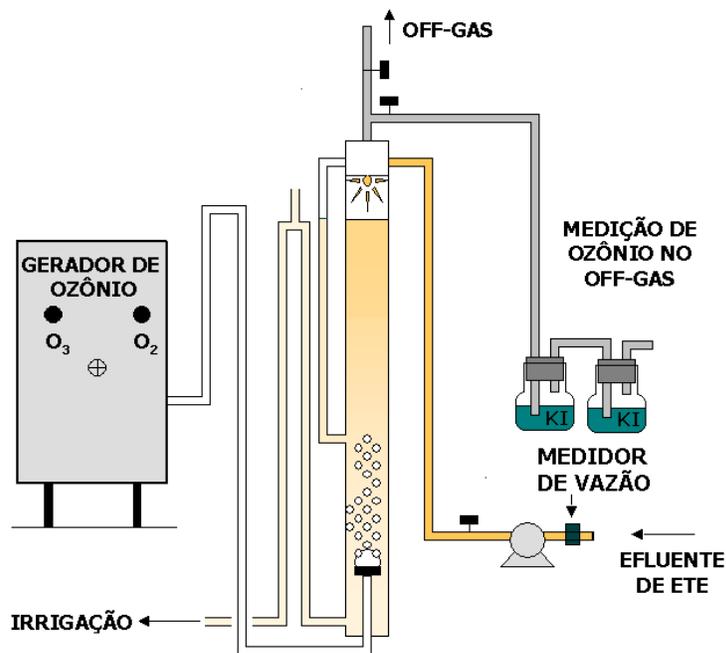
Os procedimentos de desinfecção com ozônio, descritos a seguir, fazem parte de outro projeto de pesquisa do grupo de pós-graduação do Departamento de Saneamento e Ambiente da FEC. A desinfecção do efluente dos filtros anaeróbios de fluxo ascendente, tratados em filtros de areia e inicialmente proposta no projeto não pôde ser realizada devido à falta de operador e regulação do sistema de tratamento de esgotos. No entanto, foram realizadas 4 desinfecções do efluente de lagoa anaeróbia, após tratamento nos filtros de areia com profundidades de 1,00 e 0,75 m. F100 e F075 foram utilizados para aplicação do efluente da lagoa, devido à produção de um efluente com melhor qualidade e por apresentarem leitos mais profundos. Além disso, também foram considerados os fatos destes filtros possuírem maior profundidade e da norma NBR 7229 (1993) recomendar valores entre 0,60 e 1,10 m.

A tubulação do sistema lagoa anaeróbia – filtro de areia foi obstruída durante a fase de aplicação de efluente da lagoa nos filtros. No entanto, para a aplicação do efluente, foi necessário a realização de coletas na saída da lagoa, onde o efluente era coletado com um balde adaptado à uma corda para que galões de 40 e 50 L pudessem ser preenchidos. Uma vez realizada a coleta do efluente anaeróbio, 200 L eram despejados manualmente sobre a superfície de cada filtro (F075 e F100). Quando o efluente começava a escorrer no tubo coletor dos filtros de areia, este era coletado para posterior processo de desinfecção com ozônio.

A desinfecção com ozônio foi realizada no Laboratório de Protótipos da Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo. O ozônio gasoso foi utilizado como desinfetante e aplicado em contra-corrente em uma coluna operando com

efluente de filtro de areia em fluxo descendente. O processo de desinfecção teve como foco a obtenção de padrões para reúso agrícola, estabelecidos pela OMS (1989). De acordo com esta resolução, a contagem de *E. coli* deve ser inferior a 10^3 NMP 100 mL^{-1} e menos do que 1 ovo de helminto L^{-1} .

O ozônio foi gerado em um equipamento, cedido pela empresa Eaglesat, por processo descarga corona, a partir de oxigênio concentrado em peneiras moleculares do próprio equipamento. O contato entre as correntes gasosa e líquida se deu em contra-corrente em um reator tubular, construído em PVC, com dimensões de 2,80 m de comprimento, diâmetro interno de 100 mm (Figura 4.4) e volume aproximado de 22 L. O nível no reator foi mantido por controle visual, por um sistema de vasos comunicantes. A descarga do efluente final e a coleta foram feitas pela parte inferior do reator. Para a dispersão do gás, foi utilizado um elemento poroso difusor de bolhas. O ozônio remanescente da câmara de contato foi coletado no topo do reator.



Fonte: ASSIRATI, (2005)

Figura 4.4 Esquema do sistema de desinfecção.

ETAPA 4.3

4.3.1 PROCEDIMENTOS DE COLETA DA AREIA DO FILTRO

Na primeira etapa do experimento foram realizadas aplicações de efluente de filtro anaeróbio nos 4 filtros de areia em 5 diferentes taxas. Na segunda etapa, que se refere à desinfecção com ozônio, foram feitas 4 desinfecções de efluente do filtro de areia (tratamento do efluente da lagoa). Na terceira etapa do projeto, procurou-se avaliar a micro-fauna presente nos estratos dos leitos de areia de profundidades 1,00 e 0,75 m. Estes filtros foram escolhidos por terem sido utilizados no tratamento do efluente da lagoa anaeróbia, antes da desinfecção com ozônio, e também por constituir parte da variação de camada filtrante adotada pela NBR 7229 (1993) que é de 0,60 a 1,00 m. Além disso, também foi considerado o fato dos filtros com maiores camadas de leito produzirem efluentes de melhor qualidade.

Finalizada a última aplicação do efluente da lagoa anaeróbia em F075 e F100, foram coletadas amostras da areia destes filtros. Foi feita coleta estratificada para verificação da densidade de microrganismos presentes em cada camada do leito filtrante. Em F100 foi coletada areia superficial, e areia nos estratos de 0 a 25 cm; 25 a 50 cm; 50 a 75 cm e 75 a 100 cm. Em F075 foi coletada areia superficial, e areia nos estratos 0 a 25 cm; 25 a 50 cm e 50 a 75 cm. O filtro de areia com profundidade de 0,50 m ficou por um período de 7 meses sem receber aplicação de qualquer tipo de efluente. Por esta razão, sua areia superficial foi coletada para verificar se havia presença de protozoários e helmintos, mesmo sem aplicação de efluente. Além disso, a areia inicial utilizada na construção dos filtros também foi avaliada.

A coleta da areia superficial foi realizada com o auxílio de uma pá de pedreiro e dos estratos com o auxílio de um trado de pedreiro graduado. Foi feita uma amostragem composta de cada filtro, e, para tanto, as superfícies de F075 e F100 foram divididas em 6 partes iguais, em formato de pizza. Primeiro, em cada pedaço correspondente, foi coletada amostra superficial. Em seguida, com o trado de pedreiro graduado em 25, 50, 75 e 100 cm; foi feita a coleta de cada uma das seis partes da divisão. O estrato de 0 a 25 cm foi o primeiro a ser coletado, sendo o procedimento repetido em cada uma das seis partes divididas. Para as coletas seguintes, tomou-se cuidado para que o trado fosse inserido no mesmo ponto de coleta, para que a próxima camada (25 a 50 cm) pudesse ser atingida. Esses passos foram repetidos até o último estrato e no total foram coletadas 11 amostras: F100 – superfície e 4 estratos; F075 – superfície e 3 estratos; F075 – superfície e areia inicial. Os procedimentos de amostragem da areia dos filtros foram realizados de acordo com a NBR 10007 (1987).

4.3.2 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DOS ESTRATOS DOS LEITOS DE AREIA

Feitas as 11 amostragens de areia, estas foram acondicionadas em isopor contendo gelo e transportadas até o Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia Civil. Foram realizados testes para verificação de presença ou ausência de protozoários e helmintos pelo método de Riqueza de Espécies (BARMFORTH, 1998). Neste, placas de petri autoclavadas foram preenchidas com 1 cm areia de cada amostra composta. Em seguida, as placas foram regadas com água destilada para que os microrganismos presentes obtivessem o ambiente propício para desenvolvimento e/ou sobrevivência. Após os períodos de 10 e 20 dias de incubação em temperatura ambiente, com o auxílio de uma pipeta, foi retirado 1 mL da água presente na camada superficial da areia e a alíquota transferida para a câmara de Sedgwick para a

contagem e verificação dos organismos presentes em cada placa. Em seguida, as câmaras de Sedgwick contendo a amostra foi colorida com uma gota de lugol e observada em microscópio óptico comum com oculares de 10X e objetivas com aumento de 4 e 10X.

Também foi realizado o teste cromofluorogênico para verificação da presença e quantidade de coliformes nos diferentes estratos dos filtros de 1,00 e 0,75 m de profundidade. O teste cromofluorogênico é recomendado pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater – 19^a edição (1995), como um dos métodos aplicáveis para análise de água para consumo humano, por ser mais preciso, além de sua rápida detecção, em um tempo de 24 a 28 horas. Para a determinação de *E. coli* foi utilizado o substrato cromogênico (ONPG/MUG) denominado Colilert P/A – Quanti Tray 2000.

Para as diluições, foram pesadas 10 g de cada amostra de areia coletada e diluída em 95 mL de água de diluição (GERMIDA, 1993). Em seguida foram incubadas diluições 10^{-2} e 10^{-4} , porque a primeira diluição (10^{-1}) apresentou características de alta turbidez que provavelmente iriam dificultar na leitura dos resultados finais. Após 15 dias da realização dos testes para coliformes nos estratos dos filtros de areia, foi feita uma nova coleta da superfície em F075 e F100 para verificar se havia decaimento destes após um período sem aplicação de efluentes.

4.3.3 CÁLCULO PARA EXPRESSÃO DO NÚMERO DE COLIFORMES POR GRAMA DE SOLO SECO

Além da determinação de coliformes na areia, também foi feita a análise do teor de umidade da seguinte maneira: uma cápsula vazia era pesada (tara), em seguida

pesava-se 10 g de areia na mesma e esta era então colocada em estufa a uma temperatura de 65° C durante 24 horas. Após este período a cápsula com a areia era transferida para um dessecador até atingir a temperatura ambiente e então pesada novamente. O teor de umidade (%) é dado pela diferença de peso do solo antes e depois da secagem na estufa (Equação 1) (FERRAZ DE CAMPOS, 2002).

$$\text{Umidade} = \frac{(\text{Peso úmido do solo} - \text{Peso seco do solo})}{\text{Peso seco do solo}} \times 100$$

Equação 1. Teor de Umidade

Após a determinação do número de coliformes totais e *Escherichia coli*, foi feito o cálculo de NMP (número mais provável) para cada grama de solo seco, utilizando-se a equação 2.

$$\text{NMP/g (solo seco)} = \frac{\text{NMP (solo úmido)} \times 100}{(100 - U)}$$

Equação 2. Número mais provável / grama de solo seco.

Onde:

NMP/g = Número mais provável por grama de solo seco

NMP = Número mais provável encontrado no solo diluído

U = Umidade do solo (%)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A título ilustrativo e para facilitar a leitura deste trabalho, os resultados foram divididos em 3 etapas.

- Etapa 5.1:
 - 5.1.1 Resultados das análises estatísticas para turbidez e organismos nos efluentes dos filtros de areia.
 - 5.1.2 Resultados das análises qualitativas.
 - 5.1.3 Resultados das análises quantitativas.

- Etapa 5.2:
 - 5.2.1 Resultados da desinfecção com ozônio do efluente do sistema lagoa anaeróbia – filtro de areia.

- Etapa 5.3:
 - 5.3.1 Resultados da análise microbiológica nos estratos dos leitos de areia.

ETAPA 5.1

5.1.1 RESULTADOS DAS ANÁLISES ESTATÍSTICAS PARA TURBIDEZ E ORGANISMOS NOS EFLUENTES DOS FILTROS DE AREIA.

As Tabelas 5.1 e 5.2 apresentam os dados relativos ao teste de normalidade Lilliefors-Kolmogorov Smirnov para valores referentes a número de microrganismos e turbidez, respectivamente. O tamanho da amostra corresponde ao número de coletas realizado em cada filtro, isto é, em F025 foram coletadas 4 amostras em 5 taxas diferentes, resultando em 20 coletas. O teste demonstrou não normalidade nas amostras MiEB, MiF25, MiF50, MiF75 e MiF100 e distribuição normal somente em MiFAN ($p > 0,05$). Isto significa que em MiFAN a distribuição de probabilidades dos dados amostrados se apresentaram de maneira simétrica em forma de sino e os pontos de inflexão, foram situados a igual distância da média. No entanto, nos outros pontos não houve essa distribuição.

Tabela 5.1 Teste de normalidade Lilliefors-Kolmogorov Smirnov para valores referentes a número de microrganismos.

Normalidade Lilliefors-Kolmogorov Smirnov						
	MiEB	MiFAN	MiF25	MiF50	MiF75	MiF100
Tamanho da amostra	20	20	20	20	20	20
Desvio máximo	0,2706	0,1352	0,3253	0,3126	0,3814	0,3167
Valor crítico (0.05)	0,1900	0,1900	0,1900	0,1900	0,1900	0,1900
Valor crítico (0.01)	0,2310	0,2310	0,2310	0,2310	0,2310	0,2310
p (valor)	< 0,01	> 0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Mi: Número de Microrganismos

FAN: Efluente do Filtro Anaeróbio

EB: Esgoto Bruto

F: Efluente dos Filtros de Areia

Tabela 5.2 Teste de normalidade Lilliefors-Kolmogorov Smirnov para valores referentes a turbidez.

Normalidade Lilliefors-Kolmogorov Smirnov						
	TuEB	TuFAN	TuF25	TuF50	TuF75	TuF100
Tamanho da amostra	20	20	20	20	20	20
Desvio máximo	0,1018	0,1160	0,2180	0,2797	0,2394	0,2566
Valor crítico (0.05)	0,1900	0,1900	0,1900	0,1900	0,1900	0,1900
Valor crítico (0.01)	0,2310	0,2310	0,2310	0,2310	0,2310	0,2310
p (valor)	> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Tu: Turbidez (NTU)			FAN: Efluente do Filtro Anaeróbio			
EB: Esgoto Bruto			F: Efluente dos Filtros de Areia			

Para valores relativos a turbidez, o teste demonstrou anormalidade nas amostras TuF25, TuF50, TuF75 e TuF100. Houve distribuição normal somente em TuFAN e TuEB ($p > 0,05$). Como os dados não apresentaram distribuição normal, a Análise de Variância de Friedman, que é um teste Não-Paramétrico, foi realizada com o intuito de se comparar os valores de microrganismos obtidos nos diferentes efluentes dos filtros de areia.

A Figura 5.1 apresenta diferenças significativas nas comparações entre os efluentes dos Filtros de Areia. Um grupo compreende F025 e F050 e o outro F075 e F100, ou seja, as profundidades dos filtros de areia não apresentaram resultados diferentes quando comparados os valores de número de microrganismos em F025 e F050 e também entre F075 e F100. Quando $p < 0,05$; isto significa que houve diferença significativa entre os valores de microrganismos nos efluentes testados e quando $p > 0,05$ os valores não apresentaram diferenças após tratamento nos leitos dos filtros.

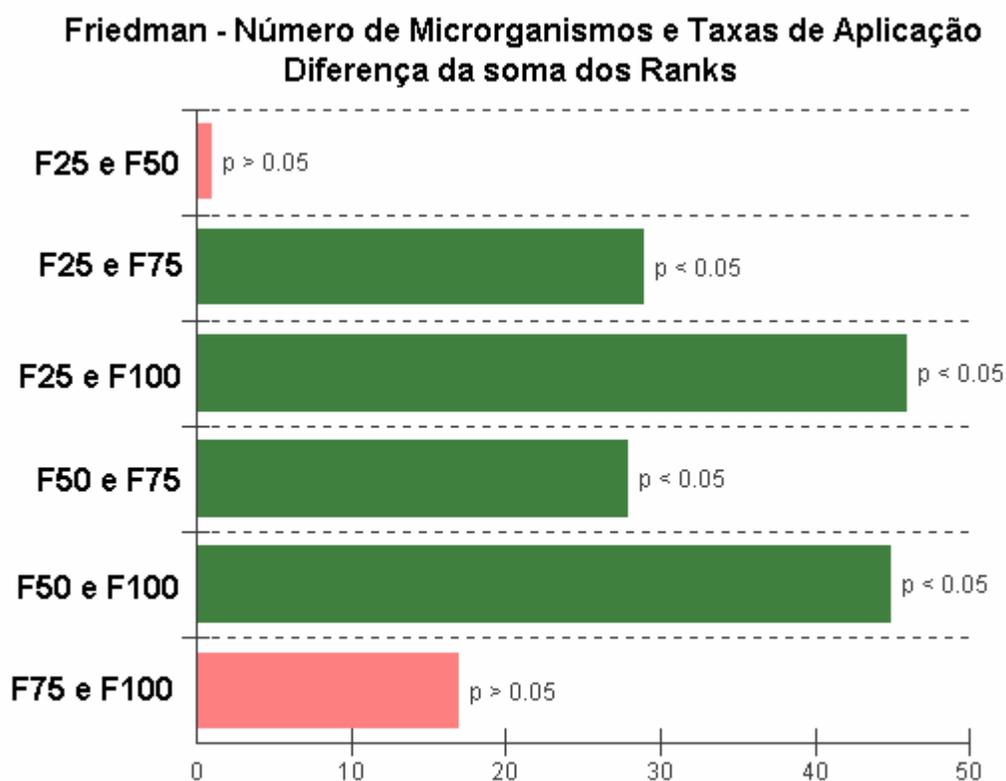


Figura 5.1 Comparação entre os efluentes dos F25, F50, F75 e F100 referentes a número de microrganismos pela Análise de Variância de Friedman, para determinação de diferenças nos tratamentos.

Como os valores de turbidez obtidos nas medições dos efluentes dos filtros de areia não apresentaram distribuição de curva normal, seus valores também foram submetidos à Análise de Variância de Friedman. Na Figura 5.2, que compara os valores de turbidez dos efluentes dos filtros de areia, pode ser observado que houve diferença nos valores de turbidez entre os efluentes de F025 e F100, e também entre F050 e F100, onde $p < 0,05$. Tanto F050 como F025 produziram efluente com características semelhantes para valores de turbidez. F100, apresentou resultados diferentes de F025 e F050.

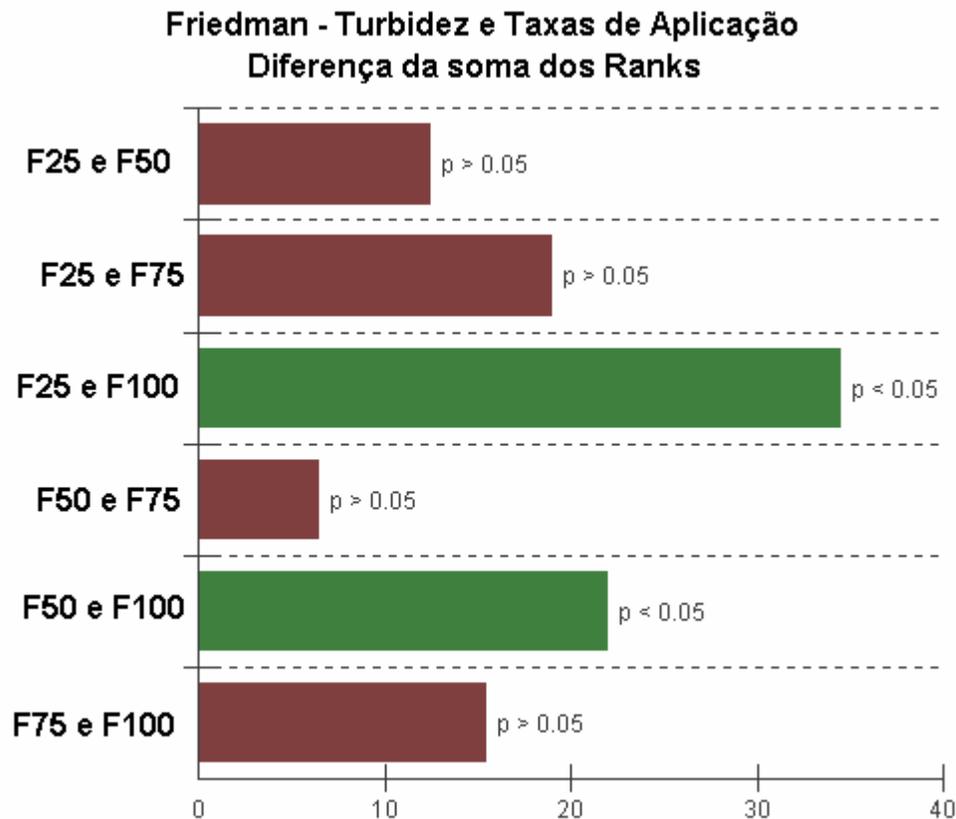


Figura 5.2 Comparação entre os efluentes dos F25, F50, F75 e F100 referente a turbidez pela Análise de Variância de Friedman, para determinação de diferenças nos tratamentos.

Os valores de turbidez e microrganismos das amostras e as taxas de aplicação foram submetidos ao teste de correlação de Spearman e estão apresentados na Tabela 5.3. O índice de correlação (r_s) varia de -1 a 1. Quanto mais próximo dos extremos, mais a correlação tem chances de ser significativa, caso contrário, se for próxima de zero não haverá correlação entre as variáveis. A probabilidade (p) é o erro associado ao fato de aceitar ou não uma hipótese. Se $p > 0,05$ aceita-se a hipótese nula ou seja a aquela que diz que não há correlação entre as variáveis testadas. Desse modo, pode-se observar que não houve correlação entre o número de microrganismos e as taxas de aplicação ($r < 0,50$; $p > 0,05$), sendo que maiores taxas não implicam obrigatoriamente em

maiores números de organismos detectados. No entanto, houve correlação entre a turbidez e as taxas de aplicação ($r > 0,50$; $p < 0,05$) e quando microrganismos e turbidez foram correlacionados, somente os valores para efluente de filtro anaeróbio apresentaram resultado significativo ($r = 0,6487$; $p < 0,05$).

Tabela 5.3 Correlação de Spearman para no de microrganismos x taxas de aplicação, turbidez x taxas de aplicação e turbidez x no de microrganismos.

Correlação Spearman		
Número de Microrganismos X Taxas de aplicação		
Correlação	Coefficiente Spearman (r_s)	(p)
Taxas X F25	0,2546	0,2785
Taxas X F50	0,1596	0,5015
Taxas X F75	0,1726	0,4668
Taxas X F100	0,1579	0,5062
Turbidez X Taxas de aplicação		
Taxas X F25	0,6806	0,0009
Taxas X F50	0,6990	0,0006
Taxas X F75	0,7051	0,0005
Taxas X F100	0,6683	0,0013
Turbidez X Número de microrganismos		
MiEB X TuEB	- 0,3417	0,1403
MiFAN X TuFAN	0,6487	0,0020
MiF25 X TuF25	0,3800	0,0983
MiF50 X TuF50	0,1829	0,4402
MiF75 X TuF75	0,4142	0,0693
MiF100 X TuF100	0,3262	0,1603

5.1.2 RESULTADOS DAS ANÁLISES QUALITATIVAS

As Tabelas 5.4 e 5.5 apresentam os dados referentes às análises qualitativas que foram feitas em 9 coletas de efluentes nos 6 pontos amostrados (54 amostras). As letras (A – I) correspondem à cada coleta realizada (9 amostras no total) e as cores representam as taxas de aplicação (20, 40, 60 e 80 Lm⁻²dia⁻¹). A coluna esgoto bruto foi a que apresentou maior variedade de organismos e ovos detectados pois em todas as coletas foram obtidos resultados positivos. No efluente do filtro anaeróbio, foram detectados organismos em 6 das 9 amostras, havendo portanto possível retenção no interior do filtro anaeróbio. As cores ilustram somente a coleta realizada tanto do esgoto bruto como do efluente anaeróbio, quando as taxas foram aplicadas nos filtros de areia.

Tabela 5.4 Resultados da análise qualitativa do esgoto bruto e do efluente do filtro anaeróbio (presença/ausência) realizada com a leitura de lâminas preparadas a fresco.

Análise Qualitativa dos Efluentes		
Microrganismos	Esgoto Bruto	Efluente Filtro Anaeróbio
Cisto de <i>Giardia lamblia</i>	A E G H I	B G H
Cisto de <i>Entamoeba coli</i>	A D E F G	B D H
Cisto de <i>Entamoeba histolitica</i>	C G H	F
<i>Endolimax nana</i>	G H I	
Larva de Artrópode	B C D E H I	
Larva de Nematódeo	C D G H I	C H
Ovo de <i>Ascaris sp</i>	A	
Ovo de <i>Enterobius vermicularis</i>	G	
Protozoário ciliado	C	
<i>Toxocara canis</i>	A	

A – Taxa 20 Lm ⁻² dia ⁻¹	D – Taxa 40 Lm ⁻² dia ⁻¹	G – Taxa 80 Lm ⁻² dia ⁻¹
B – Taxa 40 Lm ⁻² dia ⁻¹	E – Taxa 80 Lm ⁻² dia ⁻¹	H – Taxa 60 Lm ⁻² dia ⁻¹
C – Taxa 40 Lm ⁻² dia ⁻¹	F – Taxa 80 Lm ⁻² dia ⁻¹	I – Taxa 60 Lm ⁻² dia ⁻¹

Na Tabela 5.5 estão os dados para análises qualitativas obtidos nos efluentes dos 4 filtros de areia. Em F025 foram encontrados microrganismos nas taxas 40 e 80 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$, sendo este o efluente que apresentou maior variedade de ovos e organismos. Em F050, foram detectados organismos nas taxas de 40, 60 e 80 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ e em F075 somente nas taxas de 40 e 60 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$, sendo os representantes em menor número do que os filtros anteriores. Em F100, foram detectadas somente dois representantes, sendo este leito o que apresentou melhor resultado nas análises qualitativas. PIRES (2003) trabalhou com aplicação de lodo de ETE no solo e verificou que de modo geral, os patógenos foram detectados em regiões mais superficiais de até 0,25 m de profundidade.

Tabela 5.5 Resultados da análise qualitativa de efluente dos 4 filtros de areia (presença/ausência) realizada com a leitura de lâminas preparadas a fresco, após coletas nas taxas de 20, 40, 60 e 80 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$.

Análise Qualitativa dos Efluentes				
Microrganismos	F25	F50	F75	F100
Cisto de <i>Giardia lamblia</i>		E		
Cisto de <i>Entamoeba coli</i>	B E G	E H		
Cisto de <i>Entamoeba histolitica</i>		F		
<i>Endolimax nana</i>				
Larva de Artrópode	B D	D H	B D H	B
Larva de Nematódeo	B G	D		
Ovo de <i>Ascaris</i> sp				
Ovo de <i>Enterobius vermicularis</i>				
Protozoário ciliado	B	E	B	B
<i>Toxocara canis</i>				

A – Taxa 20 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$	D – Taxa 40 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$	G – Taxa 80 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$
B – Taxa 40 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$	E – Taxa 80 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$	H – Taxa 60 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$
C – Taxa 40 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$	F – Taxa 80 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$	I – Taxa 60 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$

5.1.3 RESULTADOS DAS ANÁLISES QUANTITATIVAS

5.1.3.1 ORGANISMOS

As Figuras de 5.3 a 5.12 apresentam os valores do número de ovos e organismos/L nas 5 taxas aplicadas. Cada taxa foi aplicada por aproximadamente 4 semanas. Foram feitas 4 coletas em cada taxa de aplicação e os valores de cada uma estão expressos nos gráficos com nomeação por algarismos romanos (coletas I, II, III e IV).

As Figuras apresentam os valores de ovos de ancilostomatídeos, protozoários ciliados e larvas nematódeos. No entanto, ovos de *Ascaris* foram detectados somente nas análises qualitativas (Tabela 5.4) e não foi feita a quantificação destes. Considerando o sistema de tratamento, as caixas de armazenamento 3, 4, 6 e 8 (Figura 4.3) podem ter atuado na retenção dos ovos, sendo uma possível causa da não detecção destes ovos nos efluentes, após o tratamento dos leitos de areia. Além disso, considera-se também o método utilizado na contagem dos organismos presentes nos efluentes. Pelo método empregado, L5.550 (1989), as amostras ainda continham grande quantidade de material particulado, o que dificultava na identificação de possíveis ovos de *Ascaris*. De acordo com ZERBINI & CHERNICHARO (2000), o método desenvolvido por BAILENGER (1979), modificado por AYERES & MARA em 1996 para enumeração de ovos de helmintos em águas residuárias brutas e tratadas, é o método mais adequado para amostra de esgotos. Além disso, este procedimento requer reagentes de menor custo e também é capaz de concentrar com sucesso a faixa de espécies rotineiramente encontradas em esgotos sanitários, como ovos de *Ascaris sp.* O método de BAILENGER está descrito no Anexo I.

Na Figura 5.3 pode ser observado que houve acentuada diminuição dos valores do número de ovos e organismos/L após o tratamento nos filtros de areia. Nas coletas I e II de 20 Lm⁻²dia⁻¹ foram detectados na contagem pela câmara de Sedgwick somente

larvas de nematódeo e ovos de ancilostomatídeo. Na coleta I, larvas foram contadas no esgoto bruto (EB), efluente de filtro anaeróbio (FAN) e efluentes dos filtros de areia de 0,25 (F025) e 0,50 m (F050) de profundidade. Os ovos de ancilostomatídeo foram detectados somente no EB, e desse modo, pode-se inferir que provavelmente os ovos presentes nos efluentes a serem filtrados teriam sido removidos nos filtros anaeróbios e/ou nos filtros de areia. A linha de tendência (linear) correspondente ao número total de organismos e ovos/L demonstra que houve decréscimo do número total, conforme o efluente era filtrado, principalmente após o tratamento nos filtros de 0,75 (F075) e 1,00 m (F100), onde não houve detecção.

Na coleta II, larvas de nematódeo foram ausentes somente em F100 e os ovos de ancilostomatídeos foram detectados somente no EB. Mais uma vez, o filtro anaeróbio pode ter retido os ovos antes presentes no esgoto bruto. Pela linha de tendência do número total de ovos e organismos/L, mais uma vez houve redução, com o aumento da profundidade nos filtros de areia, e ausência em F100. Também pode ser observado que diferente do esperado, F050 apresentou maior número de larvas, quando comparado com F025.

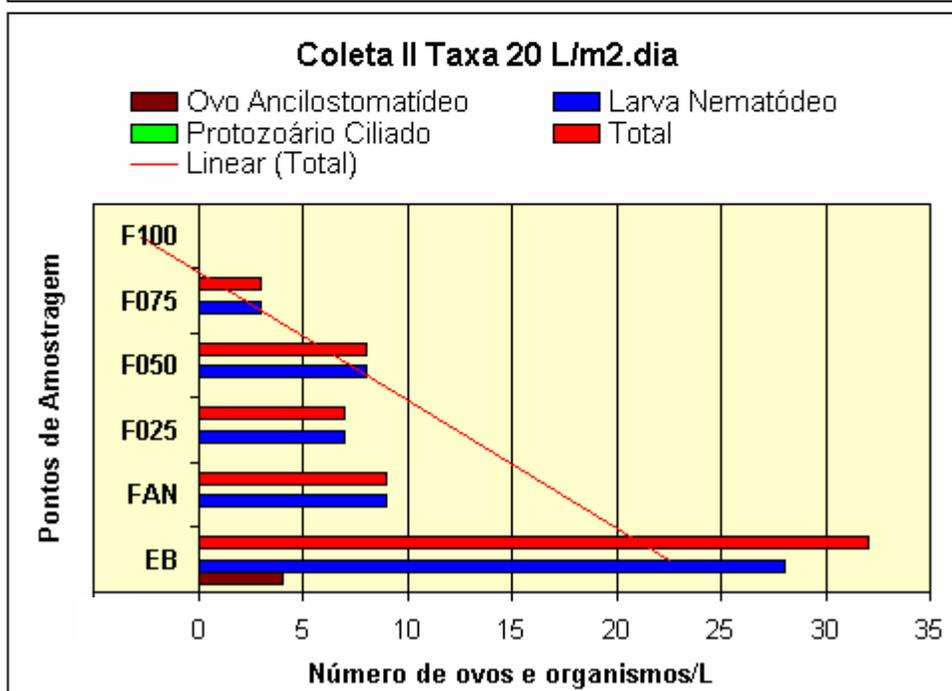
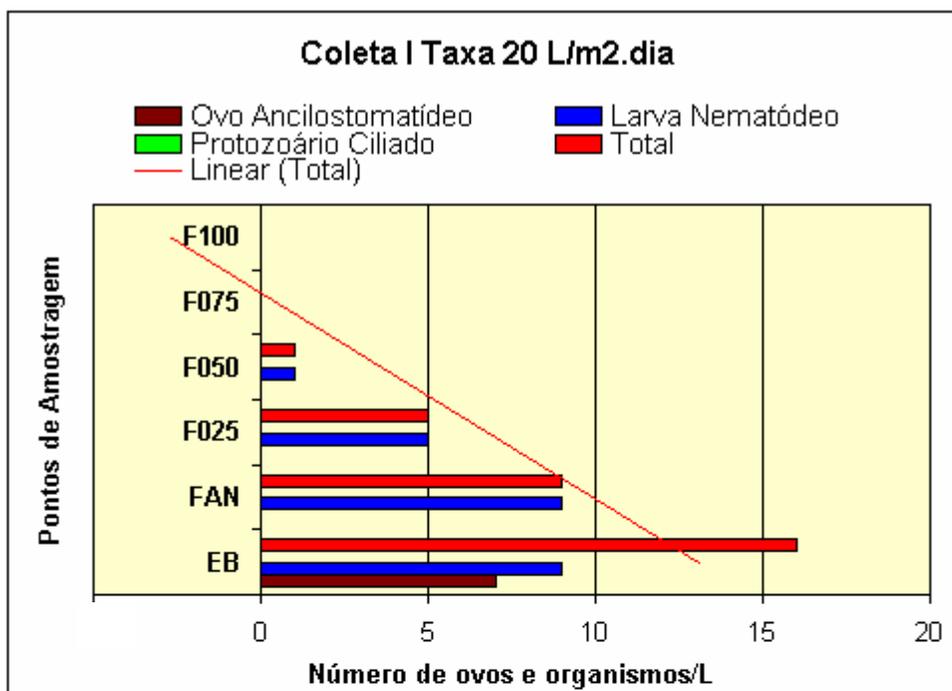


Figura 5.3 Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbico e nos filtros de areia na taxa de 20 Lm⁻².dia⁻¹. Coletas I e II.

A Figura 5.4 ilustra os dados obtidos nas coletas III e IV da taxa de $20 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$. Nestas, foram detectados ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e também protozoários ciliados. Os ovos foram observados somente no esgoto bruto da coleta III, havendo portanto a possibilidade de retenção destes no interior do filtro anaeróbio. Larvas de nematóide foram detectadas em EB, FAN, F025 e F050; e protozoários ciliados presentes somente em FAN, F025 e F050. Em F075 e F100 não houve detecção de organismos, sendo os leitos mais profundos aqueles com maior potencial de retenção. Acompanhando a linha de tendência, houve decréscimo do número de microrganismos com o aumento da profundidade dos leitos.

Na coleta IV na taxa de $20 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ apresentou os mesmos organismos encontrados na coleta III, com exceção de ovos de ancilostomatídeos, que foram antes detectados no esgoto bruto. Larvas foram detectadas em EB, FAN, F025 e F050 e sua ausência nos filtros mais profundos se deu provavelmente às maiores barreiras físicas constituídas pelos leitos de areia de 0,75 e 1,00 m. Protozoários ciliados estiveram presentes em F025, F050 e F075. Sua detecção em F075 ocorreu possivelmente devido ao fato destes serem organismos menores e portanto, possuem maior facilidade para passar entre os espaços formados entre os grãos de areia.

De modo geral, as quatro coletas realizadas na taxa de $20 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ apresentaram tendência de melhores remoções de número de ovos e organismos/L com o aumento da profundidade dos leitos de filtragem, sendo o filtro com 1,00 m o melhor tratamento observado. No entanto, houve situação em que foram encontrados protozoários e larvas nematódeos em filtro com leito mais profundo (F075) nas coletas VI e II, respectivamente. Pode ser que outros fatores, além do volume de efluente anaeróbio aplicado tenha interferido no processo de retenção destes organismos. Variação no tempo de retenção do efluente no filtro anaeróbio ou mesmo aplicação de um efluente que foi sedimentado na caixa de aplicação dos filtros de areia, podem ter interferido no processo de tratamento nos leitos de 0,75 m profundidade.

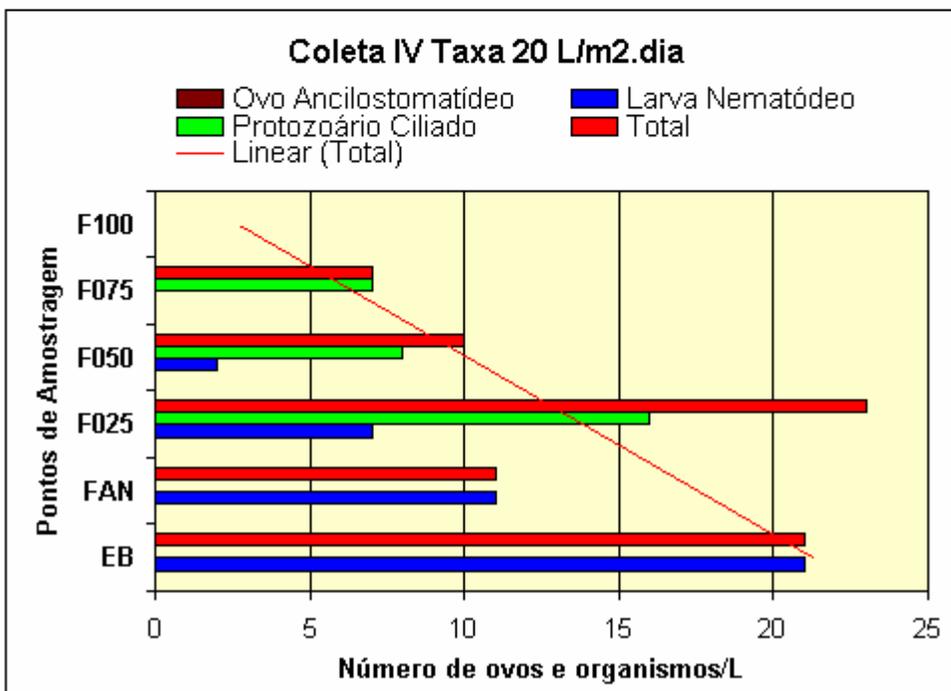
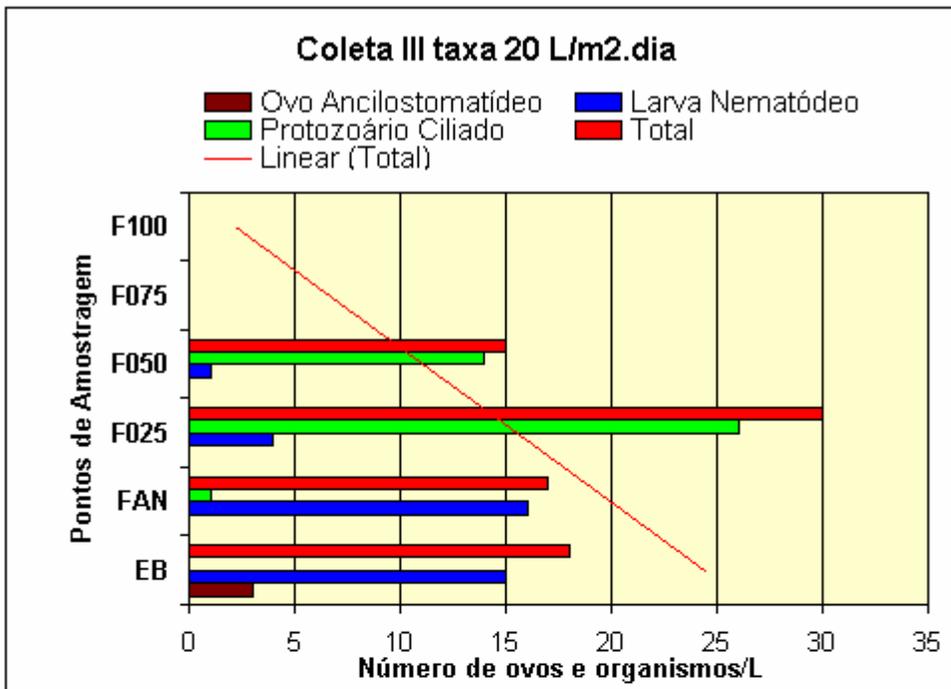


Figura 5.4 Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbico e nos filtros de areia na taxa de 20 Lm⁻²dia⁻¹. Coletas III e IV.

As Figuras 5.5 e 5.6 demonstram os resultados obtidos para número de ovos e organismos/L nas 4 aplicações de efluente anaeróbio na taxa de $40 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$. Larvas de nematódeos foram detectadas na contagem das coletas I e II em todos os pontos de amostragem. Na coleta I houve diminuição considerável após o tratamento no filtro anaeróbio, mas este número aumentou no filtro com 0,25 m de profundidade, diminuindo novamente em F050, F075 e F100. Na coleta II o número de larvas/L também foi reduzido após o tratamento no filtro anaeróbio, mas aumentou em F025 e F050. Em F075 e F100 houve redução considerável do número de larvas, mas em F100 foi constatada maior quantidade do que em F075.

Protozoários ciliados estiveram presentes somente em F100 na coleta I e em F025, F050 e F075 na coleta II. Pode ser que após a primeira aplicação do efluente anaeróbio na taxa de $40 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ o filtro tenha propiciado o desenvolvimento de melhores condições para o desenvolvimento destes organismos. Desse modo, os protozoários detectados na segunda coleta de $40 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ corresponderiam àqueles atuantes no processo de depuração do efluente anaeróbio, considerando o fato da ausência dos mesmos na primeira aplicação, com exceção do leito mais profundo, que teve provavelmente maior capacidade de retenção de umidade em sua parte inferior. No entanto, não foram detectados protozoários em F100 durante a segunda aplicação de $40 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$, não havendo tendência de distribuição dos valores.

A linha de tendência dos dados obtidos na coleta I demonstra que houve redução do número total de microrganismos, após o tratamento nos filtros de areia com diferentes profundidades. Na coleta II, o mesmo comportamento não foi observado, pois os valores de organismos totais presentes no efluente dos filtros de areia aumentaram de F025 para F050 e em seguida diminuíram em F075 e F100. Tanto na coleta I como em II, não houve um padrão de distribuição dos organismos após o tratamento nos filtros de areia, mas no geral os filtros com camadas filtrantes mais profundas apresentaram melhores resultados na remoção dos organismos.

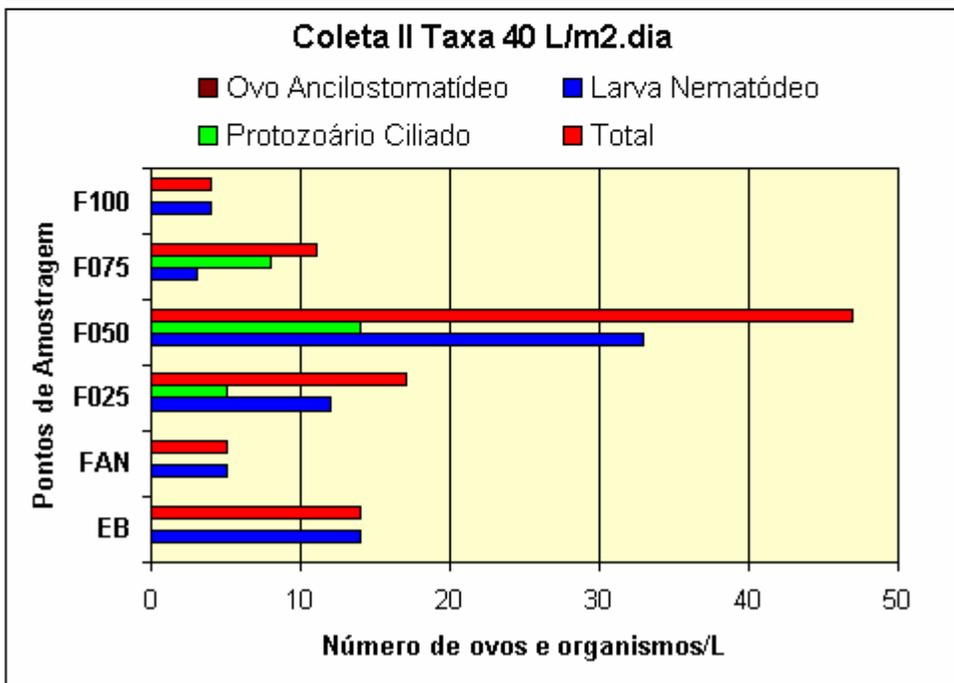
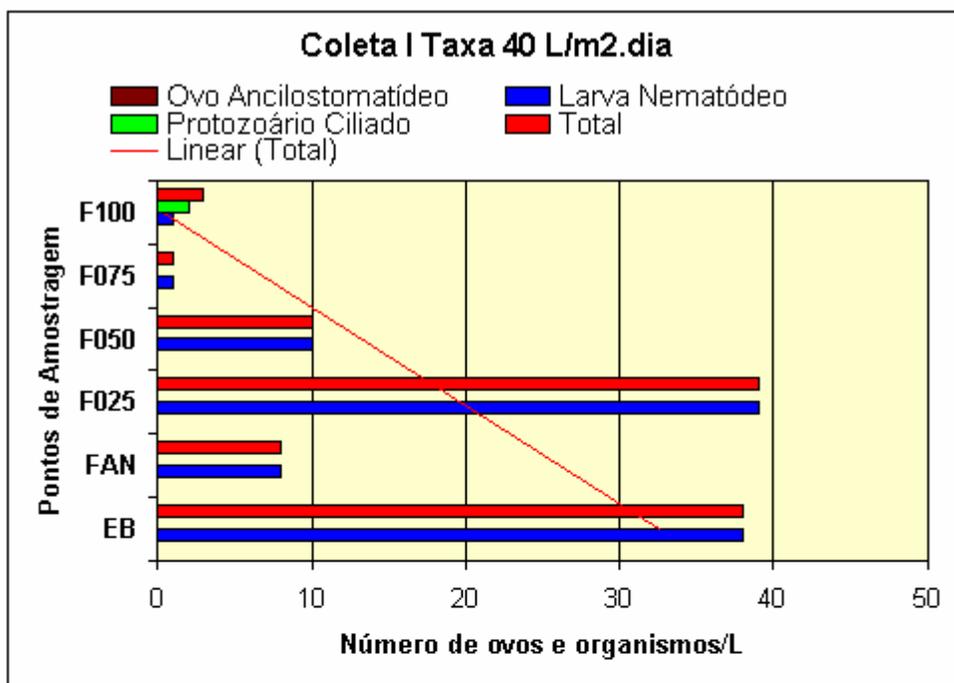


Figura 5.5 Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbico e nos filtros de areia na taxa de 40 Lm⁻².dia⁻¹. Coletas I e II.

Os resultados obtidos nas coletas III e IV (Figura 5.6) na taxa de $40 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ foram diferentes daqueles observados nas coletas I e II. Na coleta III, o número de larvas de nematódeos diminuiu após o tratamento no filtro anaeróbio, mas aumentou consideravelmente nos filtros F025, F050 e F075; estando ausente somente no F100. Protozoários ciliados estiveram presentes nos filtros de areia com profundidades de 0,25; 0,50 e 0,75 m e ausentes no último tratamento (F100). Pela linha de tendência, houve aumento do número de microrganismos após os tratamentos. No entanto, em F100 não foram detectados organismos, sendo este o tratamento com melhor performance na coleta III da taxa de $40 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$.

Na coleta IV, larvas de nematódeo estiveram presentes em todos os filtros, sendo o maior número de larvas/L em F025 e menor no efluente do filtro anaeróbio. Analisando o número de larvas somente nos filtros de areia, verificou-se que houve decaimento do número de F025 até F075. No entanto, F100 apresentou maior número do que F075.

Protozoários ciliados foram detectados nos 4 filtros de areia, sendo em maior número em F075 e menor em F025. Novamente, não foi detectado um padrão de distribuição dos valores tanto para protozoários como para larvas de nematódeo. Os primeiros aumentaram em número de F025 até F075 e diminuíram em F100. As larvas diminuíram de F025 até F075, mas em F100 foi detectado maior número.

A detecção de protozoários ciliados somente nos filtros de areia pode estar relacionada ao desenvolvimento destes no leito filtrante. Com a aplicação do efluente anaeróbio na superfície dos filtros, haveria o oferecimento de nutrientes, propiciando condições favoráveis ao desenvolvimento e sobrevivência dos protozoários, os quais tomam parte no processo de depuração dos efluentes tratados nos leitos.

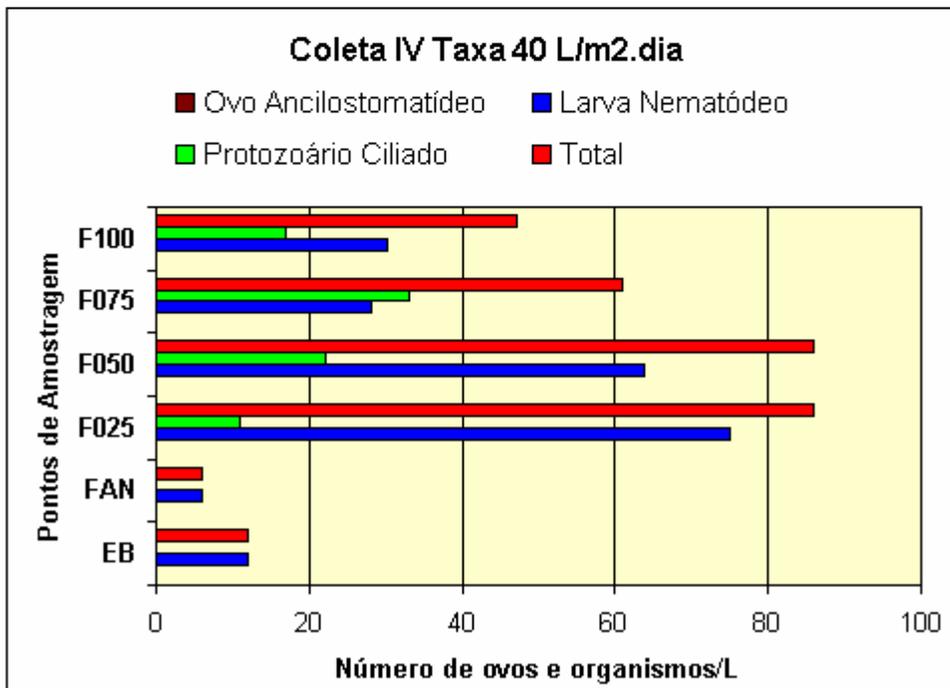
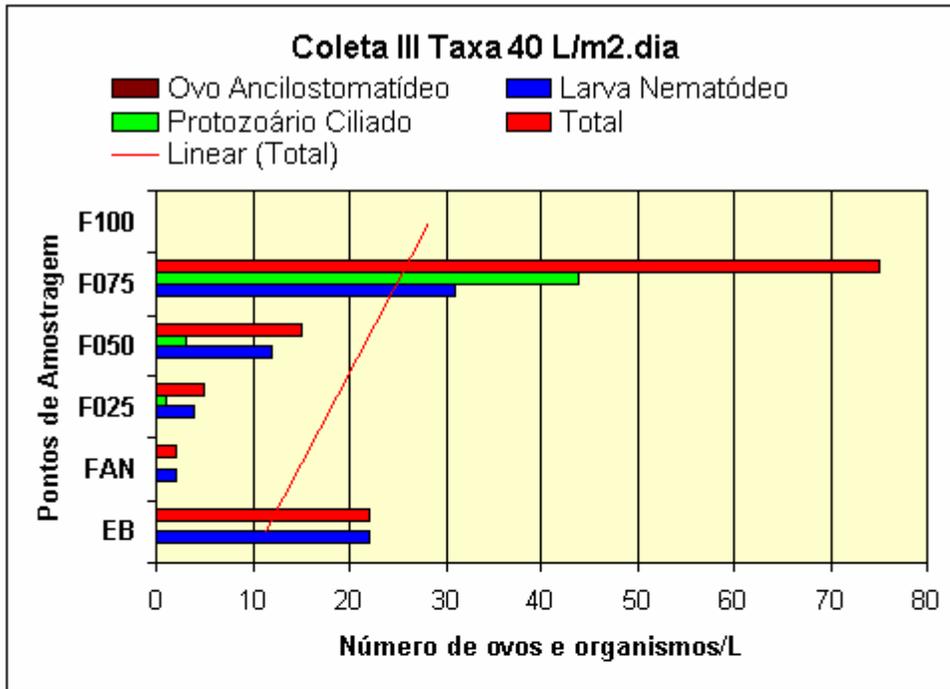


Figura 5.6 Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbico e nos filtros de areia na taxa de 40 Lm⁻²dia⁻¹. Coletas III e IV.

As Figuras 5.7 e 5.8 apresentam os resultados de número de ovos e organismos/L nas aplicações de efluente anaeróbio na taxa de $60 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$. Na coleta I, foram detectados protozoários ciliados e também larvas de nematódeos, sendo os primeiros somente nos filtros de areia e as larvas em todos os pontos de coleta.

Novamente os protozoários foram detectados somente nos filtros de areia, fato que pode estar associado ao desenvolvimento do biofilme dos leitos filtrantes. Além disso, não houve tendência de distribuição destes, com o aumento das profundidades. A distribuição das larvas nos 4 filtros também não apresentou tendência de diminuição de seus valores devido a um aumento acentuado em F050. No entanto, se forem analisados somente F025, F075 e F100 nota-se que houve decréscimo no número de larvas com o aumento da profundidade.

Na coleta II da taxa de $60 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$, também foram encontrados protozoários ciliados e larvas de nematódeos, como observado na coleta I. Em F100 não houve detecção de larvas e protozoários e F050 foi novamente o ponto que apresentou maior número de organismos totais.

Na coleta III da taxa $60 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ (Figura 5.8), tanto protozoários ciliados quanto larvas nematódeos estiveram presentes em F025 e F050. Em F075 foram detectados somente protozoários ciliados e em F100 não houve contagem destes organismos. Tanto F075 como F100 ocorreu boa remoção de organismos nesta coleta.

Na coleta IV, protozoários e larvas foram encontrados somente em F025 e F050. Os dois últimos filtros não apresentaram organismos, e pela tendência linear nota-se que houve redução dos valores totais com o aumento da profundidade dos leitos filtrantes.

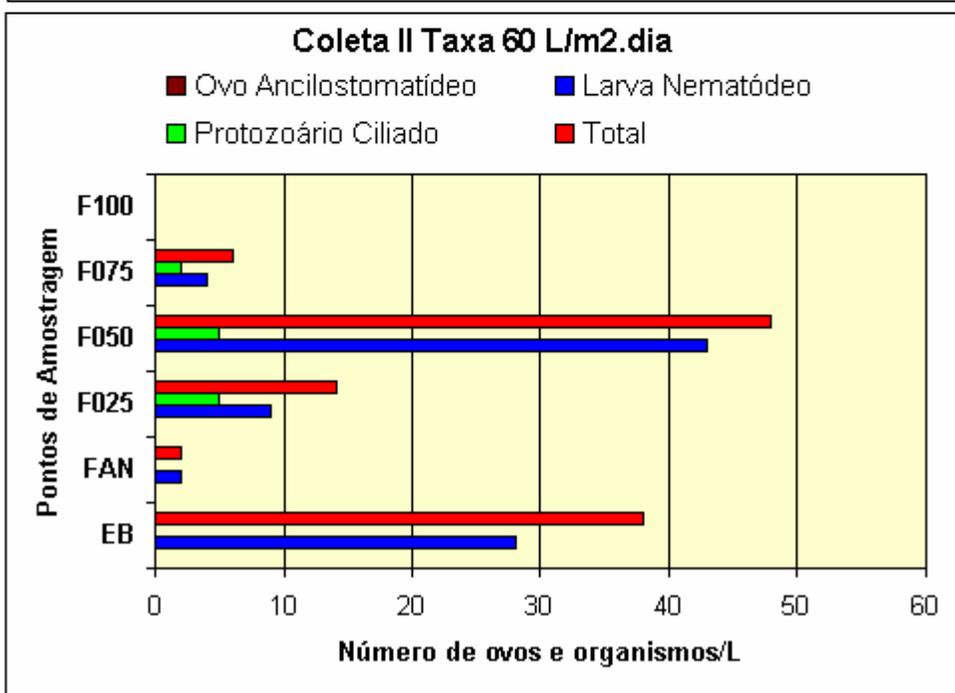
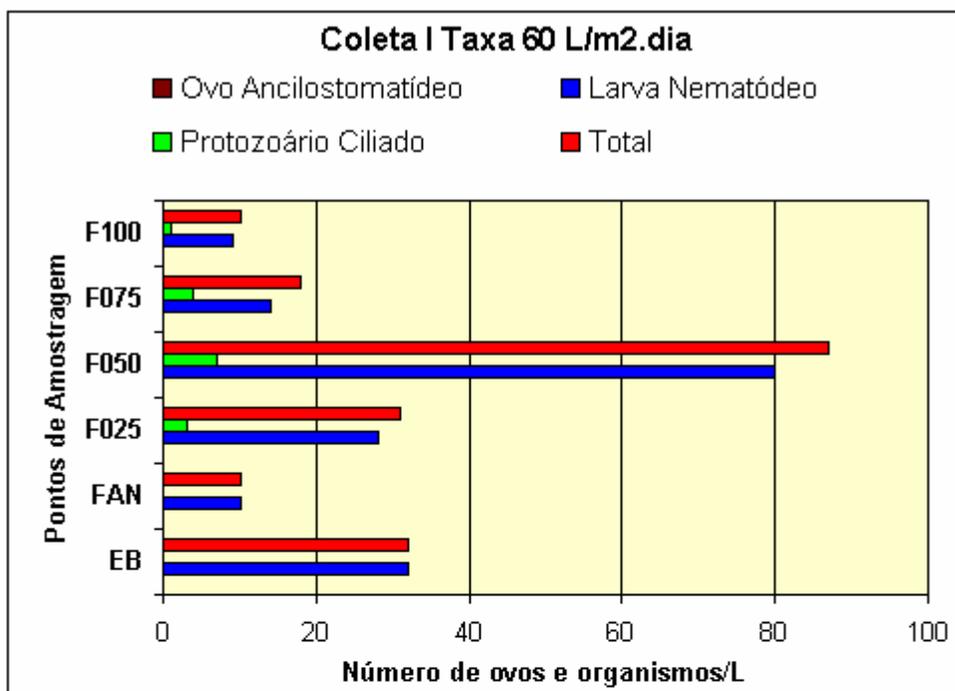


Figura 5.7 Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbio e nos filtros de areia na taxa de 60 Lm⁻².dia⁻¹. Coletas I e II.

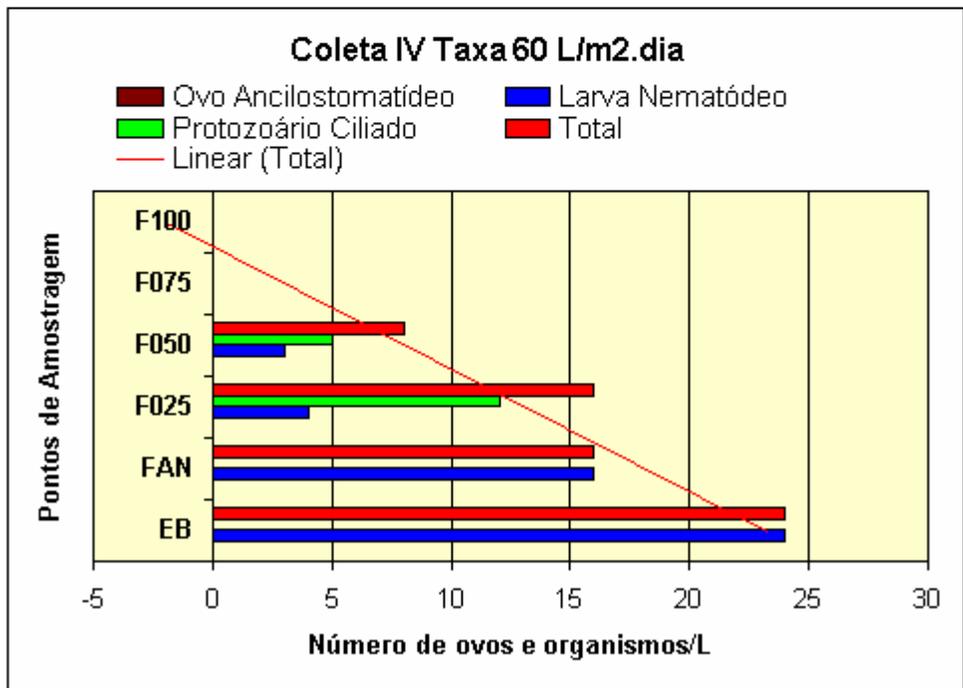
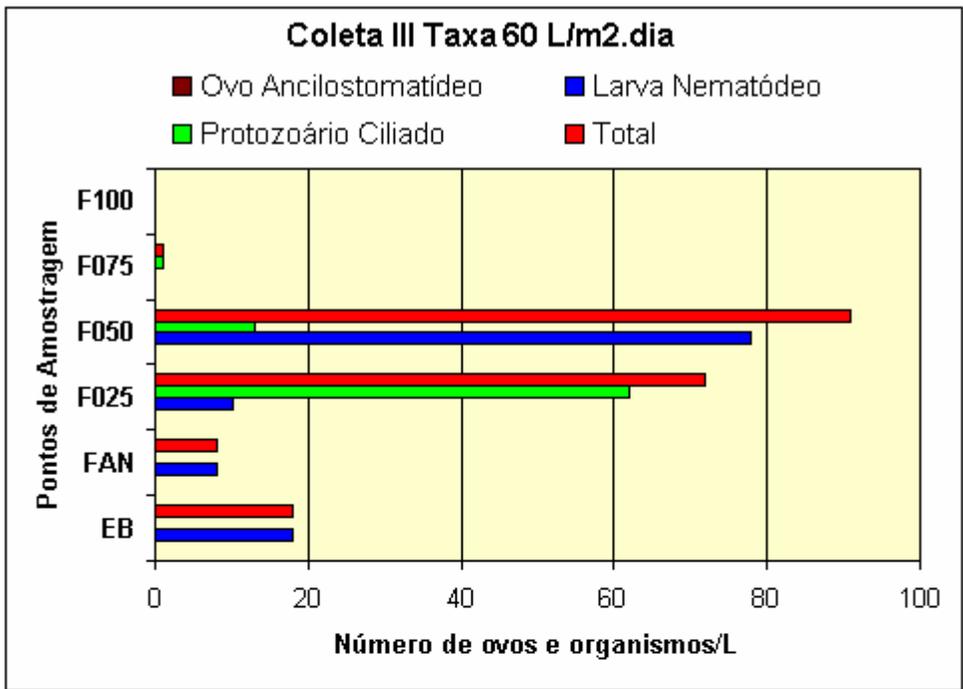


Figura 5.8 Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbio e nos filtros de areia na taxa de 60 Lm⁻²dia⁻¹. Coletas III e IV.

Nas Figuras 5.9 e 5.10, estão alocados os dados obtidos nas 4 coletas das aplicações de $80 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$. Na primeira coleta, foram detectados protozoários ciliados nos 4 filtros de areia e larvas nematódeas em todos os pontos verificados. Nessa etapa do experimento, o F050 mais uma vez apresentou maior número total de organismos e F100 foi o ponto de coleta com menor valor total.

Na segunda coleta, houve um comportamento similar à primeira sendo os pontos F025 e F050 os que apresentaram maiores valores totais. Os melhores resultados foram encontrados no filtro F100, considerando tanto I quanto II. Os protozoários ciliados estiveram presentes somente nos filtros de areia, como antes observado na maioria das coletas da taxa de $60 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$.

Na coleta III (Figura 5.10), os protozoários ciliados foram encontrados somente no ponto F025. Os valores totais em todos os tratamentos correspondem às larvas de nematódeo, com exceção de F025. Considerando a eficiência de remoção dos filtros mais profundos, F075 e F100 quase não apresentaram diferença em relação ao número de larvas. A tendência linear diminui com o aumento da profundidade do leito dos filtros.

Na última coleta da taxa de $80 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$, os protozoários foram detectados somente em F025 e F050. Mais uma vez, o número de larvas foi o maior contribuinte para os valores totais finais. F050 apresentou maior quantidade de larvas quando comparado com os outros leitos. Se considerados somente F025, F075 e F100, o número destas apresentaria tendência decrescente com o aumento de profundidade. Pela tendência linear, a coleta IV também demonstrou que houve diminuição dos valores de organismos com o aumento da profundidade do leito de tratamento.

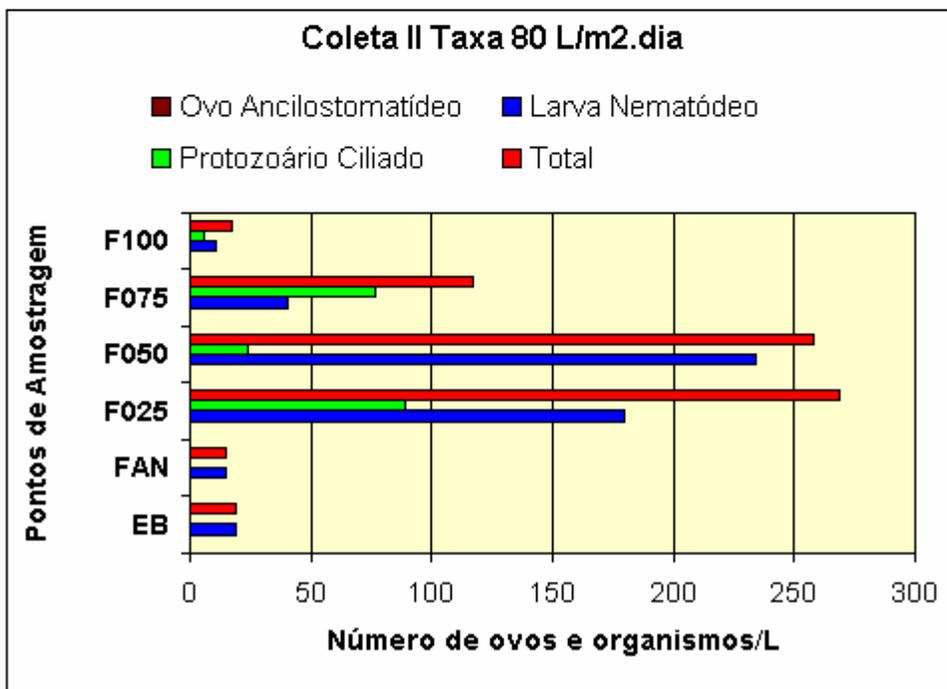
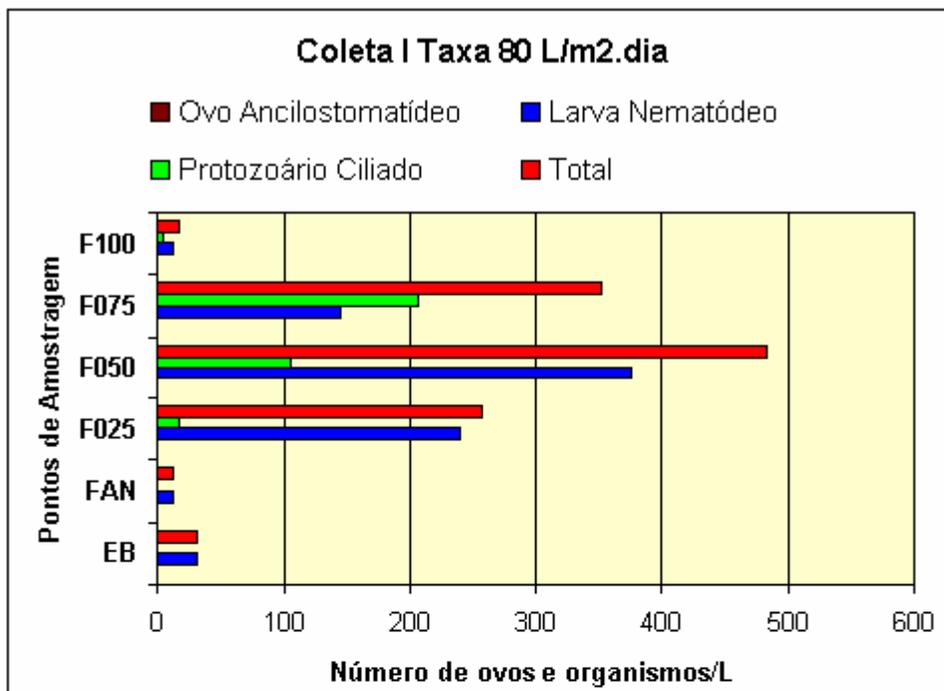


Figura 5.9 Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbio e nos filtros de areia na taxa de 80 Lm⁻².dia⁻¹. Coletas I e II.

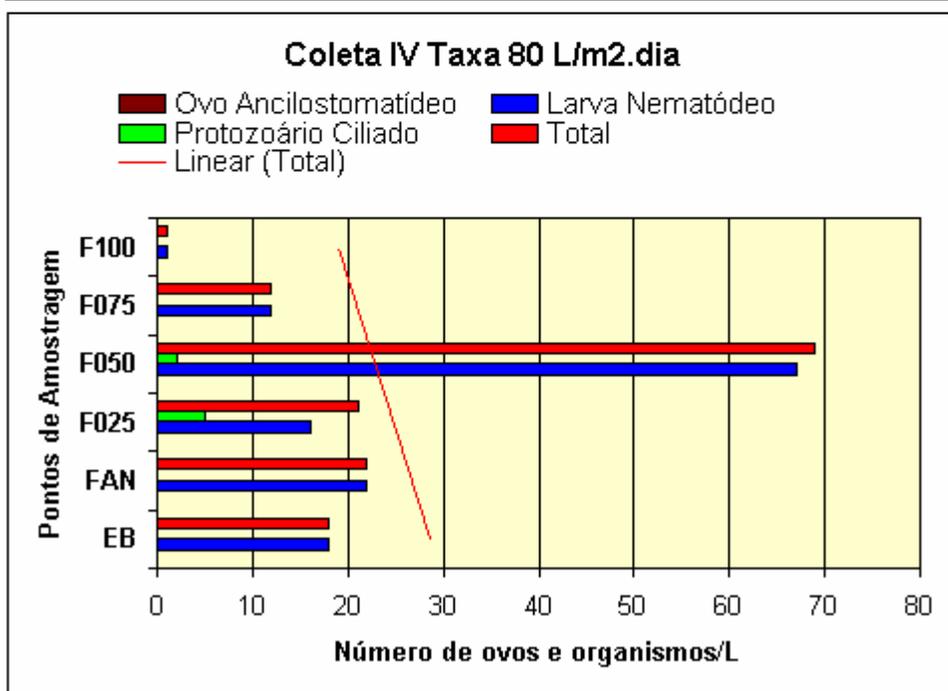
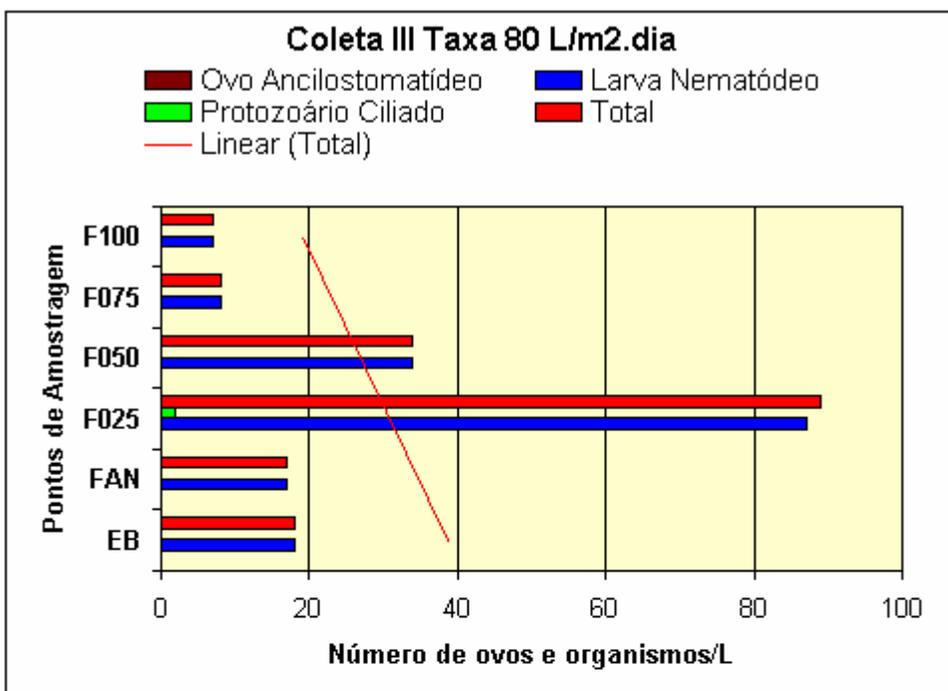


Figura 5.10 Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbio e nos filtros de areia na taxa de 80 Lm⁻²dia⁻¹. Coletas III e IV.

Nas Figuras 5.11 e 5.12, estão os valores encontrados nas amostras para as coletas realizadas nas taxas de $100 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$. Na coleta I não foram detectados protozoários ciliados e as larvas estiveram presentes somente em F025 e F050. Houve redução do número de larvas entre estes leitos de areia e nos mais profundos não houve contagem de microrganismos. Pela linha de tendência, houve diminuição do número de organismos com o aumento da profundidade dos leitos de areia. Ovos de Ancilostomatídeos foram encontrados no esgoto bruto nas 4 coletas e também na saída dos filtros anaeróbios em duas coletas (I e III).

Comparando-se as coletas I e II, nota-se que houve um considerável aumento no número de larvas nos leitos de areia. Desta vez, valores para F025 e F050 foram praticamente os mesmos e um pouco menores em F075. Mais uma vez, F100 foi o ponto de coleta que menos apresentou organismos em seu efluente. Ovos de ancilostomatídeo foram encontrados no esgoto bruto referente a esta coleta.

Na coleta III, as larvas correspondem aos valores totais de organismos. Pode-se observar que houve diminuição do número destas com o aumento da profundidade dos leitos de areia. Novamente, F100 foi o melhor tratamento. Ovos de ancilostomatídeo foram detectados no esgoto bruto e no efluente dos filtros anaeróbios.

Na coleta IV de $100 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ foram detectadas somente larvas nos efluentes dos leitos de areia. Houve novamente redução deste número com o aumento da profundidade dos filtros. F075 e F100 apresentaram melhores resultados. Ovos de ancilostomatídeo foram detectados novamente no esgoto bruto.

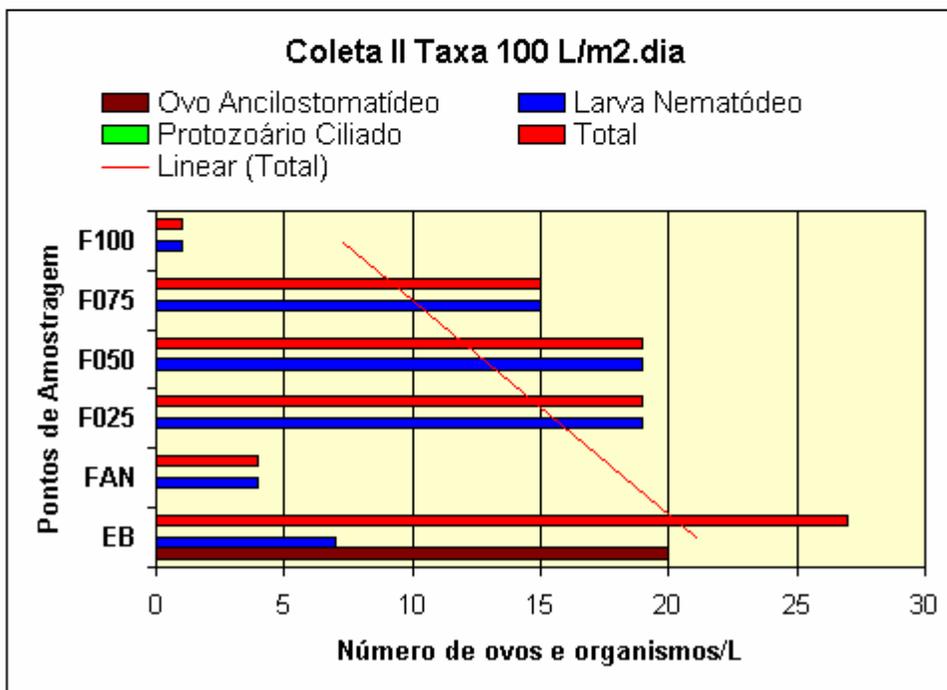
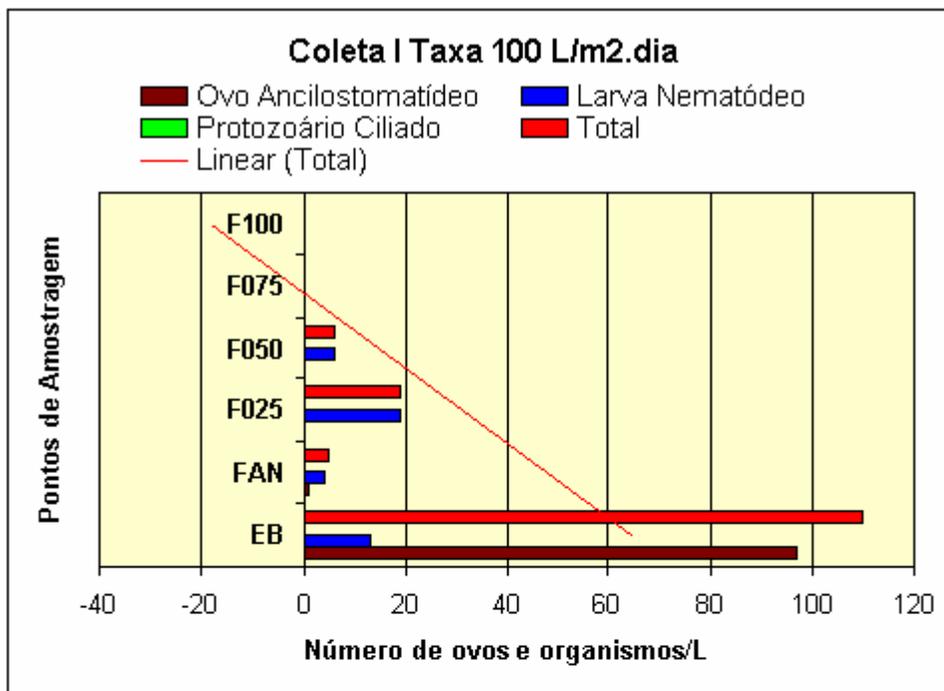


Figura 5.11 Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbio e nos filtros de areia na taxa de 100 Lm⁻².dia⁻¹. Coletas I e II.

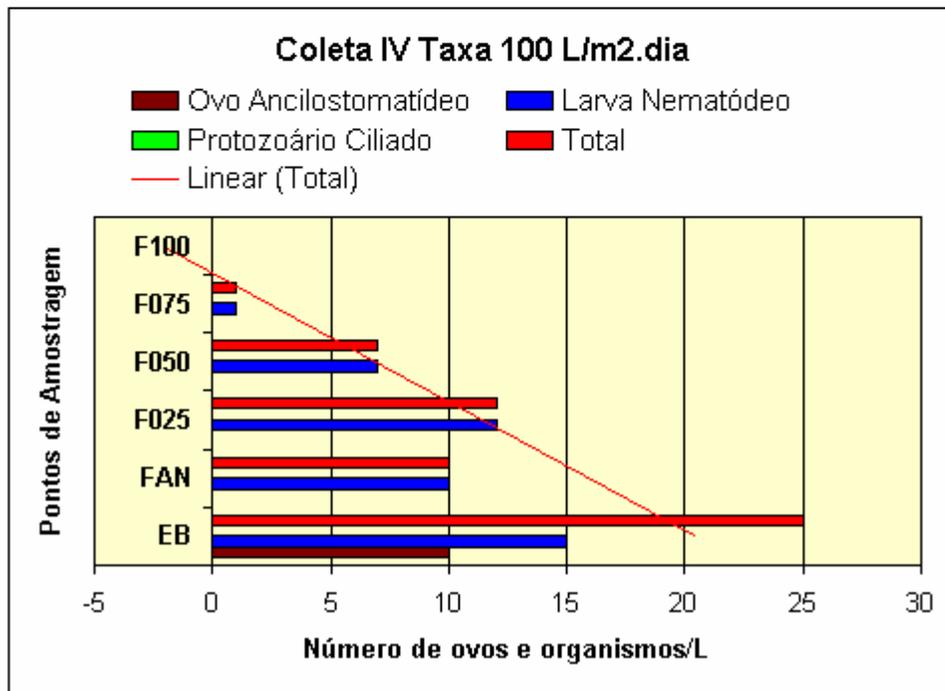
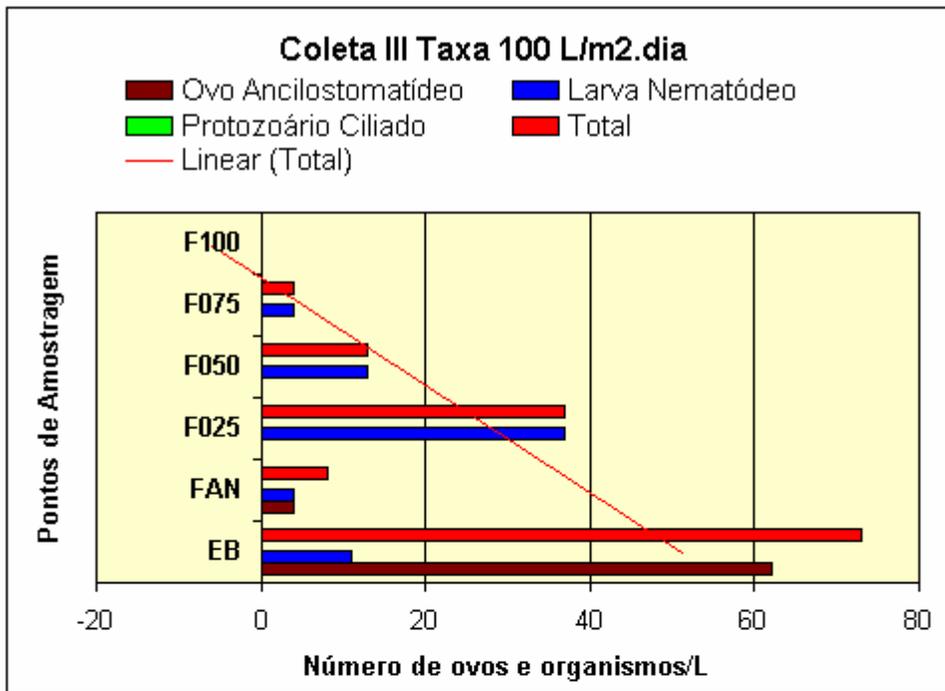


Figura 5.12 Densidade de ovos de ancilostomatídeo, larvas de nematódeos e protozoários ciliados encontrados no esgoto bruto, efluente de filtro anaeróbio e nos filtros de areia na taxa de 100 Lm⁻².dia⁻¹. Coletas III e IV.

A Figura 5.13 ilustra os valores médios de microrganismos. Para o cálculo dos valores médios foram considerados os ovos, larvas, e protozoários encontrados em cada taxa de aplicação do efluente anaeróbio. Observa-se que nas taxas de 20 e 100 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ houve redução do número médio de organismos com o aumento da profundidade dos leitos. Nas taxas de 40 e 60 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$, também houve redução dos valores, mas em 60, esta ocorreu de maneira mais acentuada em F075 e F100. No entanto, na taxa de 80 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ houve comportamento diferente do esperado pois os valores médios em F050 foram maiores do que em F025. Novamente, com o aumento da profundidade (F075 e F100) houve redução do número de organismos/L. Vale ressaltar que na taxa de 80 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$, houve necessidade da raspagem da camada superficial da areia dos leitos devido ao acúmulo de lodo em uma aplicação. Com a remoção desta, foi provavelmente eliminada a barreira de proteção inicial na superfície dos filtros de areia, permitindo que os organismos penetrassem no leito e ainda fossem detectados no efluente final analisado.

A taxa de aplicação para cálculo da área superficial dos filtros de areia deve ser limitada a 100 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$, quando houver aplicação direta de efluentes do tanque séptico (NBR 13969, 1997). Avaliando o gráfico (Figura 5.13) pode-se observar que as taxas que melhor apresentaram resultados com o aumento da profundidade dos leitos de areia foram 20 e 100 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$. Com exceção da taxa de 80 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$, em que houve remoção da camada superficial dos filtros, e que apresentou valores extremamente superiores às outras taxas, todos os valores médios apontam que há tendência de diminuição dos valores considerando os pontos F050, F075 e F100. No entanto, por questões operacionais dos filtros de areia ou ainda devido à diferença na qualidade do efluente aplicado, os valores não seguiram o mesmo padrão. Desse modo, pode-se considerar que a taxa de aplicação irá depender principalmente da qualidade do efluente a ser tratado nos leitos de areia, visto que também não foi constatada correlação entre taxa de aplicação e número de organismos (Tabela 5.3).

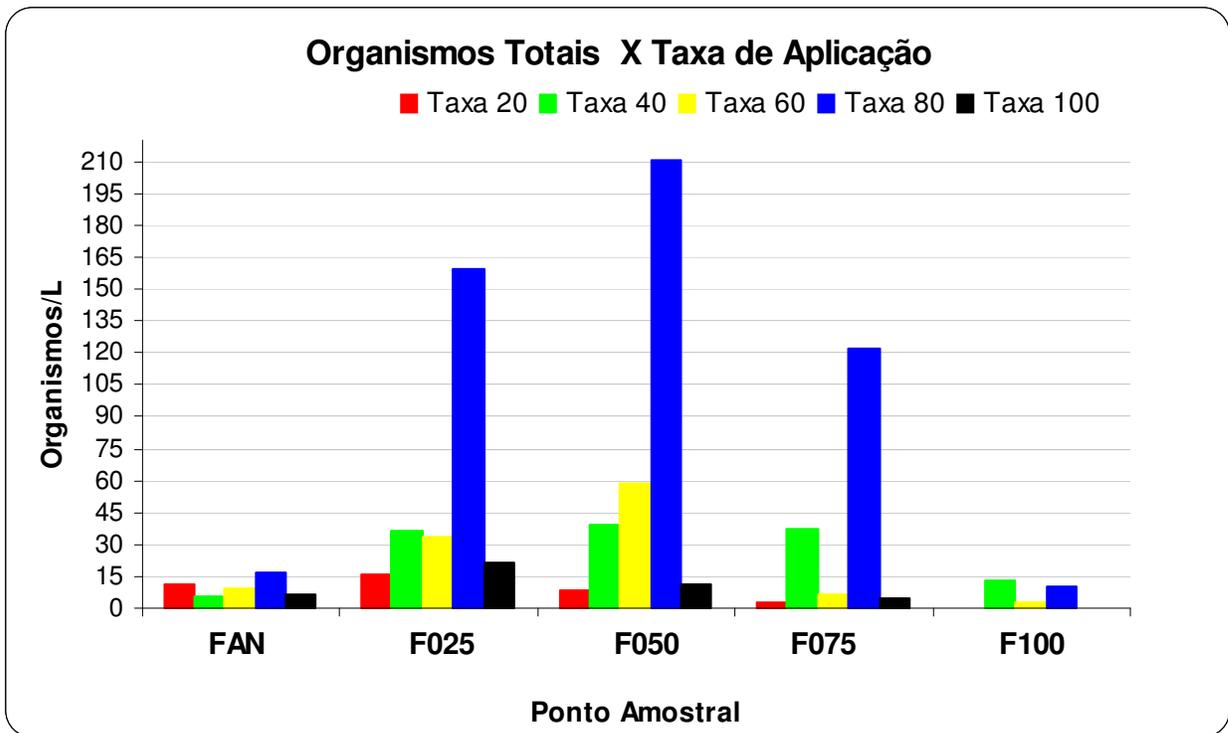


Figura 5.13 Valores Médios de microrganismos das coletas dos efluentes dos filtros de areia em 5 taxas de aplicação com o efluente do filtro anaeróbio.

5.1.3.2 TURBIDEZ

A Figura 5.14 apresenta os valores médios para turbidez nas taxas de 20, 40, 60, 80 e 100 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$. Pode-se observar que nas taxas de 20, 40 e 60 não houve grande diferença entre os valores de turbidez nos 4 filtros de areia. Com o aumento da taxa para 80 e 100 $\text{Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$, houve redução dos valores de turbidez de F025 para F050 e de F075 para F100. O sistema de filtros de areia no tratamento de efluentes anaeróbios promoveu uma remoção da matéria orgânica suspensa do esgoto, melhorando sua qualidade final, na saída dos filtros de areia, principalmente em F100. Com o aumento das taxas de aplicação do efluente anaeróbio, observa-se que os valores de turbidez também aumentaram, conferindo com os resultados obtidos no teste de correlação para taxas de aplicação e turbidez (Tabela 5.3).

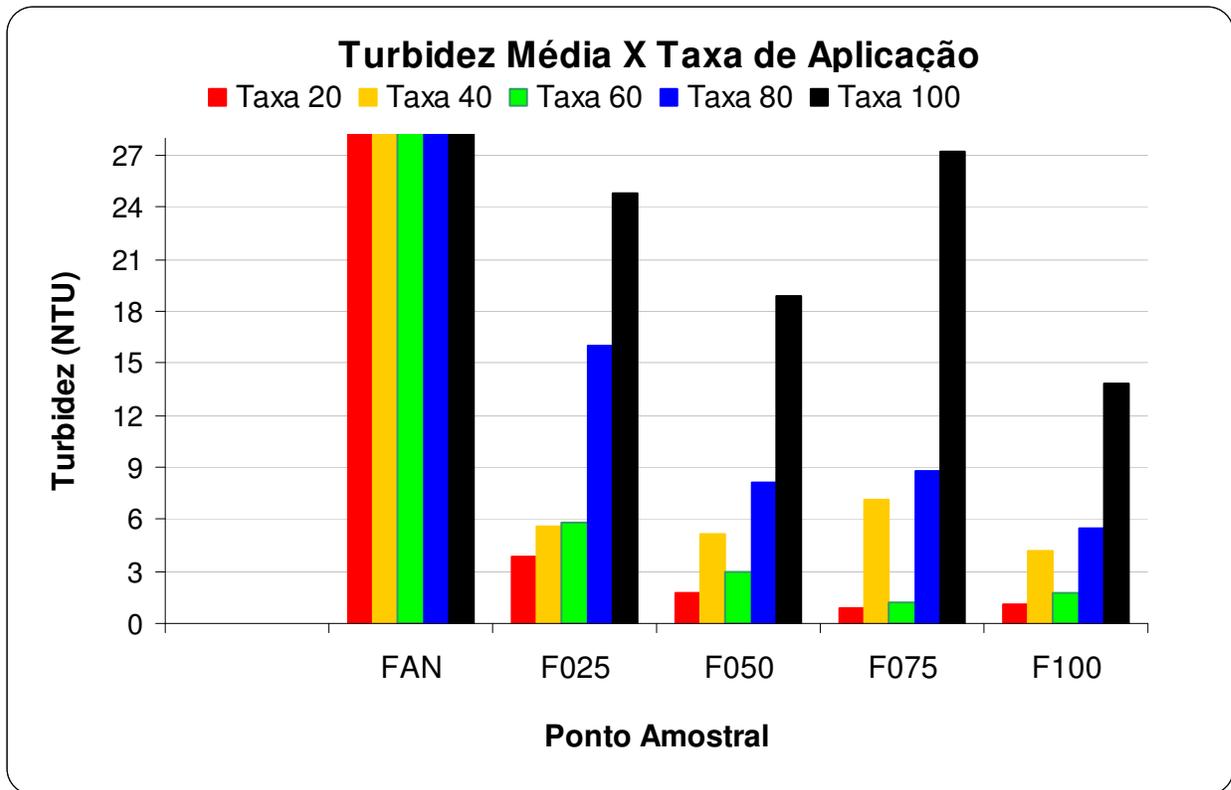


Figura 5.14 Valores Médios de turbidez das coletas dos efluentes dos filtros de areia em 5 taxas de aplicação com o efluente do filtro anaeróbico.

5.1.3.3 OVOS x CAIXAS DE SEDIMENTAÇÃO

A detecção de ovos de *Ascaris* foi menor do que a de ovos de ancilostomídeos. Na maioria das análises realizadas, foram encontrados ovos de ancilostomídeos no esgoto bruto e nos efluentes de filtro anaeróbico e filtros de areia. Ovos de *Ascaris* foram, no entanto, encontrados somente em análises qualitativas. Estes não foram detectados nem nas coletas pontuais dos efluentes, nem tampouco nas análises dos leitos de areia. Analisando a Figura 4.3, pode-se verificar que após o bombeamento do esgoto bruto, este passava por duas caixas de armazenamento (caixas 3 e 4). Pode ser que o tempo em que o efluente ficava armazenado nestas tenha proporcionado a sedimentação dos ovos, atuando de modo similar a um tanque séptico. Além disso,

após o tratamento nos filtros anaeróbios, havia o armazenamento do efluente anaeróbio (caixa 6) e em seguida, o efluente era novamente armazenado para aplicação nos leitos de areia (caixa 8). Desse modo, os possíveis ovos a serem detectados foram provavelmente sedimentados nas caixas de reserva de efluentes.

Para a verificação, haveria a necessidade de analisar o lodo sedimentado nas caixas de armazenamento. Em relação aos leitos de areia, uma proposta seria a coleta de amostras positivas para *Ascaris* em hospitais e em seguida, conhecendo-se o número de ovos / L, o efluente seria aplicado nos filtros de areia. Pela coleta do efluente e da areia dos leitos, haveria a verificação do processo de sedimentação ocorrido nas caixas de armazenamento.

ETAPA 5.2

5.2.1 RESULTADOS DA DESINFECÇÃO COM OZÔNIO DO EFLUENTE DO SISTEMA LAGOA ANAERÓBIA – FILTRO DE AREIA

5.2.1.1 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DO EFLUENTE DESINFETADO

A Tabela 5.6 ilustra o teste de normalidade para valores de turbidez, coliformes totais, coliformes fecais e dose transferida no interior do reator. Observa-se que nenhuma das variáveis apresentou distribuição normal ($p < 0,01$) e por esta razão o teste de correlação de Spearman, que é não paramétrico, foi realizado.

Tabela 5.6 Teste de normalidade Lilliefors-Kolmogorov Smirnov para valores referentes a número de coliformes totais, coliformes fecais e turbidez para desinfecção do efluente dos filtros de areia.

Normalidade Lilliefors Kolmogorov Smirnov				
	DT	Tu	CT	CF
Tamanho da amostra	50	50	50	50
Desvio máximo	0,2637	0,2969	0,3875	0,3928
Valor crítico (0.05)	0,1253	0,1253	0,1253	0,1253
Valor crítico (0.01)	0,1458	0,1458	0,1458	0,1458
P (valor)	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Tu: Turbidez		CT: Coliformes Totais		
DT: Dose Transferida		CF: Coliformes Fecais		

Pelo teste de correlação de Spearman (Tabela 5.7), que determina o grau de associação de duas variáveis mensuradas, pode-se observar que houve associação inversamente proporcional e significativa apenas entre dose x coliformes totais ($r_s = -0,7273$; $p < 0,0000$) e dose x coliformes fecais ($r_s = -0,6927$; $p < 0,0000$). Os valores negativos do índice de correlação (r_s) indicam que quando há um aumento na dose de ozônio transferida, há diminuição do número de coliformes presentes nas amostras. Além destes, também houve correlação diretamente proporcional entre coliformes totais x coliformes fecais ($r_s = 0,9734$; $p < 0,0000$).

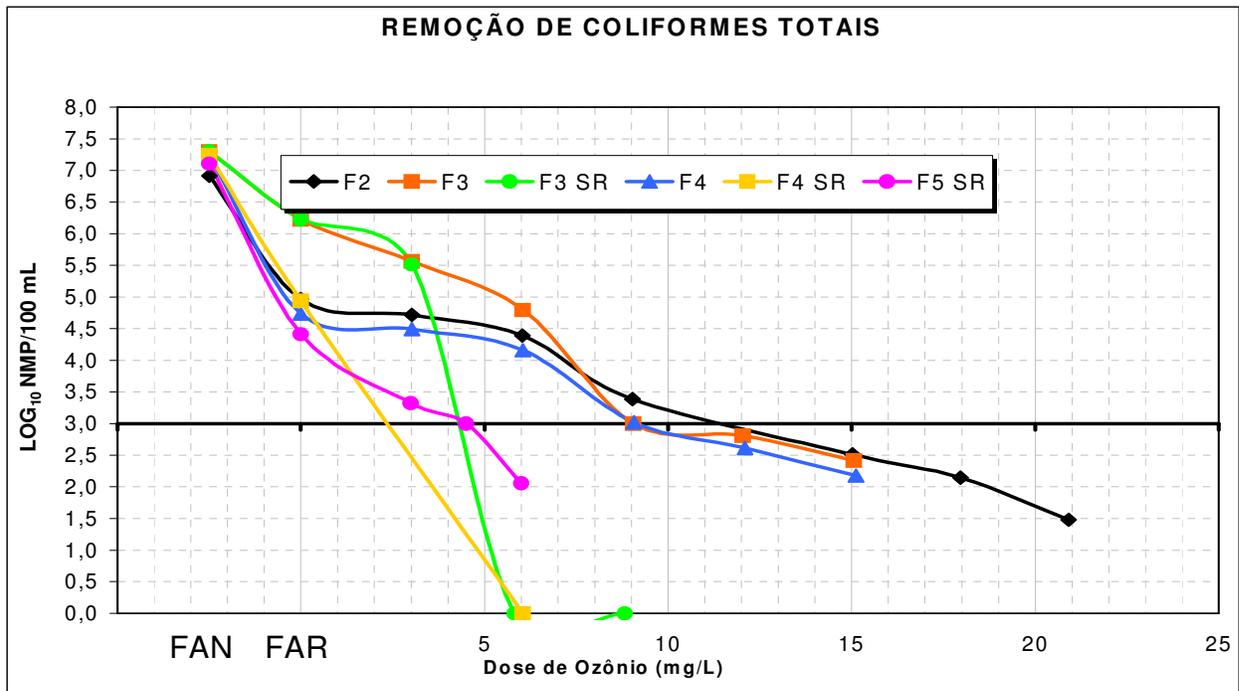
Tabela 5.7 Correlação de Spearman para valores de dose de O_3 , turbidez, coliformes totais e coliformes fecais na desinfecção do efluente dos filtros de areia.

Correlação Spearman para Filtros de Areia		
Correlação	Coeficiente Spearman (r_s)	(p)
Dose X Turbidez	- 0,3859	0,0056
Dose X C Total	- 0,7273	0,0000
Dose X C Fecal	- 0,6927	0,0000
Turbidez X C Total	0,4592	0,0008
Turbidez X C Fecal	0,4276	0,0019
C Total X C Fecal	0,9734	0,0000

5.2.1.2 RESULTADOS REFERENTES A COLIFORMES TOTAIS E FECAIS

A Figura 5.15 ilustra os dados referentes ao número de coliformes totais nas 4 desinfecções que foram realizadas no efluente dos filtros de areia. Foram utilizados somente efluentes dos filtros de 1,00 e 0,75 m, porque a profundidade estabelecida pela norma brasileira NBR 7729 (1993) é entre 0,60 e 1,10 m e também porque estes filtros apresentaram melhores resultados de remoção de organismos. No gráfico, a letra "F" corresponde à origem do efluente utilizado (Filtro) e o número é referente à numeração do experimento. "SR" significa sem recirculação, pois também foi comparada a eficiência do tratamento entre uma única aplicação ($X \text{ mgL}^{-1}$) com duas aplicações de $X/2 \text{ mgL}^{-1}$, para verificar se havia a mesma eficiência nos tratamentos.

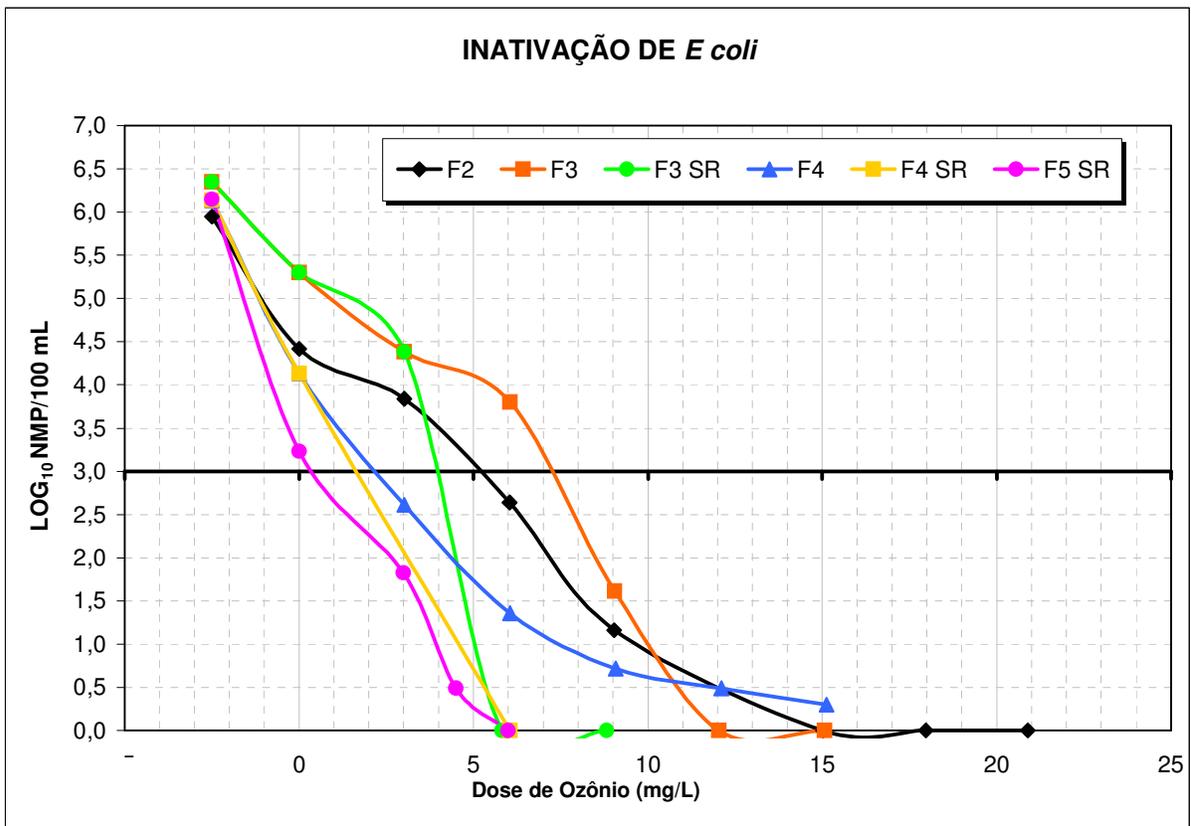
Na Figura 5.15, F2, F4, F5 SR e F4 SR apresentaram comportamento semelhante logo na saída do filtro de areia (ponto referente a 0 mgL^{-1} de ozônio) com valores de 4,96; 4,74; 4,42 e 4,94 \log_{10} NMP 100 mL^{-1} respectivamente. F3 e F3 SR expressaram valores maiores do que as 4 análises anteriormente descritas (6,23 e 6,23 \log_{10} NMP 100 mL^{-1}). O valor médio de coliformes totais na saída dos filtros de areia foi de 5,25 \log_{10} NMP 100 mL^{-1} . F2 e F4 apresentaram curvas parecidas, sendo que a primeira atingiu valores de 10^3 NMP100 mL^{-1} com dose de 11 mgL^{-1} e a segunda com 9 mgL^{-1} . F3 também se enquadrou na resolução CONAMA 20 (1986) após a aplicação de 9 mgL^{-1} de ozônio. Para os experimentos em que não houve recirculação, a dose para desinfecção foi menor sendo; F3 SR com aproximadamente 4 mgL^{-1} ; F4 SR com aproximadamente 2 mgL^{-1} e F5 SR com $4,5 \text{ mgL}^{-1}$.



Fonte: Adaptado de ASSIRATI (2005)

Figura 5.15 Desinfecção de coliformes totais em 4 coletas do efluente dos filtros de 0,75 e 1,00 m com taxa de aplicação de efluente da lagoa anaeróbia de $200 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ em cada filtro.

Na Figura 5.16 estão expressos os valores de *E coli* encontrados no efluente do filtro de areia desinfetado. Na saída do filtro de areia (ponto referente a 0 mgL^{-1} de ozônio), os valores foram de 4,42 (F2); 5,30 (F3 e F3 SR); 4,13 (F4 e F4 SR) e 3,23 (F5 SR) $\log_{10} \text{ NMP } 100 \text{ mL}^{-1}$. O valor médio de *E coli* na saída dos filtros de areia foi de 4,42 $\log_{10} \text{ NMP } 100 \text{ mL}^{-1}$. De acordo com a resolução CONAMA 20 (1986) não deverá ser excedido um limite de 1000 coliformes fecais por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 5 amostras mensais colhidas em qualquer mês, para águas de classe 2. Observa-se na figura 5.16 que nas 4 séries de desinfecção realizadas os valores legais foram obtidos com doses inferiores a 10 mgL^{-1} de O_3 . Novamente, as desinfecções realizadas sem recirculação (SR) necessitaram de doses menores.



Fonte: Adaptado de ASSIRATI (2005)

Figura 5.16 Desinfecção de *Escherichia coli* em 4 coletas do efluente dos filtros de 0,75 e 1,00 m com taxa de aplicação de efluente da lagoa anaeróbia de $200 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ em cada filtro.

Análises do grupo coliformes totais e também *E. coli* não foram realizadas na primeira etapa do experimento (anterior à desinfecção) porque já haviam sido avaliadas em projeto de andamento simultâneo. A concentração de coliformes totais detectadas no esgoto bruto e no efluente dos filtros anaeróbios variou entre 10^6 e 10^9 NMP 100 mL^{-1} . Para *Escherichia coli* os resultados apresentaram uma faixa inferior, oscilando entre 10^6 e 10^8 NMP 100 mL^{-1} . Estes valores demonstram que os filtros anaeróbios empregados não foram eficazes na diminuição da concentração destas bactérias a concentrações inferiores à legislação CONAMA 20 (1986), havendo necessidade de um sistema de pós-tratamento (TONETTI, 2004). Este foi realizado com a utilização dos filtros de areia e posteriormente com o processo de desinfecção por ozônio.

5.2.1.3 RESULTADOS REFERENTES A TURBIDEZ

No processo de desinfecção foram feitas análises do efluente com uma única aplicação da dose de ozônio e também aplicações sucessivas no efluente que já havia sido desinfetado. Tal procedimento foi realizado devido à capacidade de produção de ozônio pelo gerador ter ficado abaixo da expectativa e não ter sido possível operar o reator de desinfecção em vazões baixas o suficiente para utilização de doses mais altas em uma única aplicação. A Figura 5.17 ilustra os valores de turbidez obtidos no processo de desinfecção com ozônio. Pode-se observar que houve redução considerável nos valores de turbidez após o tratamento do efluente da lagoa (EL) nos filtros de areia (EF). Com a aplicação de doses crescentes de ozônio no efluente dos filtros de 0,75 e 1,00 m, nota-se que não houve grande variação dos valores de turbidez após desinfecção com ozônio com doses variando de 2,5 a 20,0 mgL⁻¹. Desse modo, pode-se inferir que os valores de turbidez não sofreram interferência do desinfetante, visto que os seus valores praticamente não alteraram com o aumento da dose de ozônio.

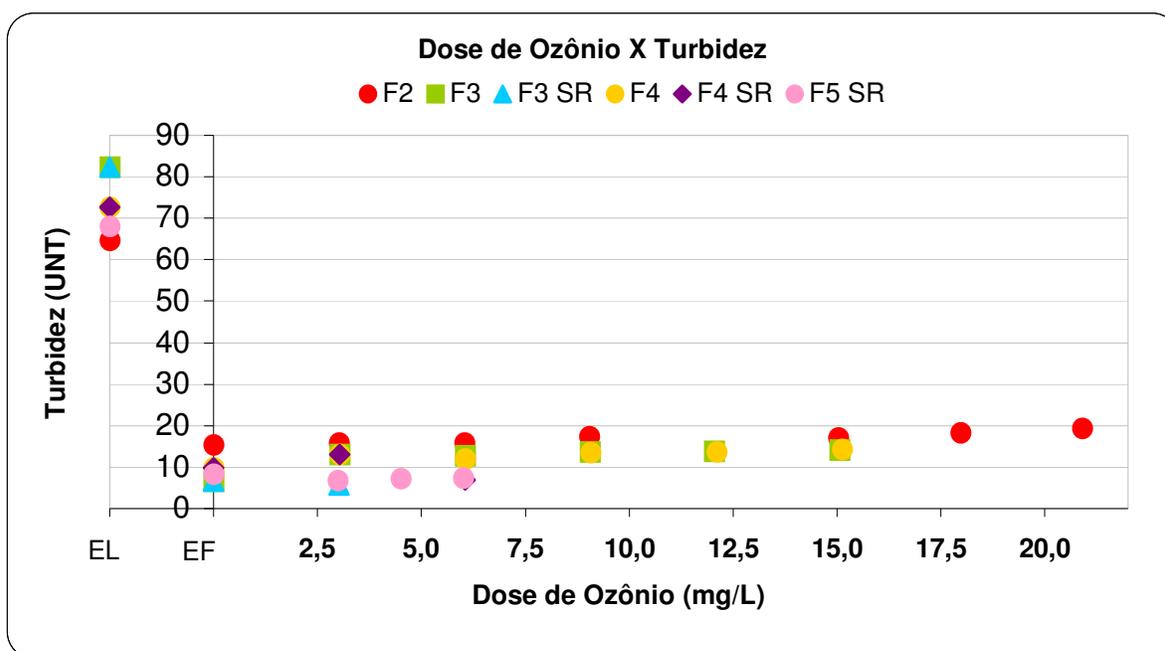


Figura 5.17 Valores de turbidez de 4 coletas do efluente dos filtros de 0,75 e 1,00 m com taxa de aplicação de efluente da lagoa anaeróbia de 200 Lm⁻²dia⁻¹ em cada filtro.

5.2.1.4 RESULTADOS REFERENTES A PROTOZOÁRIOS E LARVAS NEMATÓDEO

As Figuras 5.18, 5.19 e 5.20 ilustram os valores referentes a números de protozoários, larvas nematódeos e também os valores totais de organismos que foram detectados nos efluentes dos filtros de areia (F075 e F100) após o processo de desinfecção com ozônio. Foram analisadas 4 amostras de efluentes desinfetados e a dose de ozônio aplicada nestes variou de 2,5 a 20,0 mgL⁻¹ de O₃. Pela Figura 5.18, observa-se que não houve tendência de distribuição dos valores com o aumento da dose de desinfetante. Em F2, F4, F4SR e F5SR, o número de protozoários por litro não ultrapassou 5, mesmo quando maiores doses foram aplicadas. Em F3 e F3SR, foram encontrados valores superiores que os anteriores, sendo que o número de protozoários no efluente dos filtros de areia também foi maior. Após a desinfecção em F3, o maior número de protozoários foi encontrado com dose de 9 mgL⁻¹ – 15 protozoários por litro.

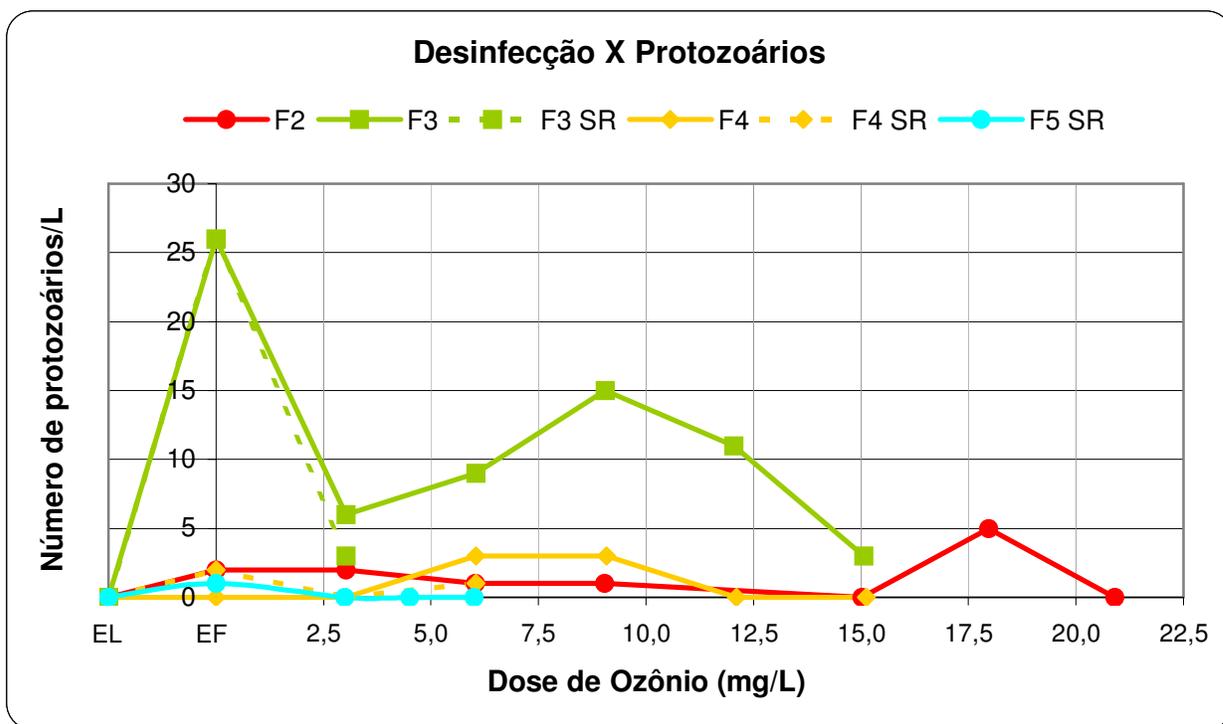


Figura 5.18 Número de protozoários/L em 4 coletas do efluente dos filtros de 0,75 e 1,00 m com taxa de aplicação de efluente da lagoa anaeróbia de 200 Lm⁻²dia⁻¹ em cada filtro.

Na Figura 5.19 estão ilustrados os valores larvas nematódeos que foram encontradas nos processos de desinfecção. Novamente não foi detectado um padrão de distribuição dos valores por litro com o aumento da dose de ozônio. F2, F3, F3SR, F4 e F4SR apresentaram valores máximos com aproximadamente 10 larvas por litro, independente da dose aplicada. F5SR apresentou maiores valores com doses variando entre 2 e 6 mgL⁻¹ de O₃.

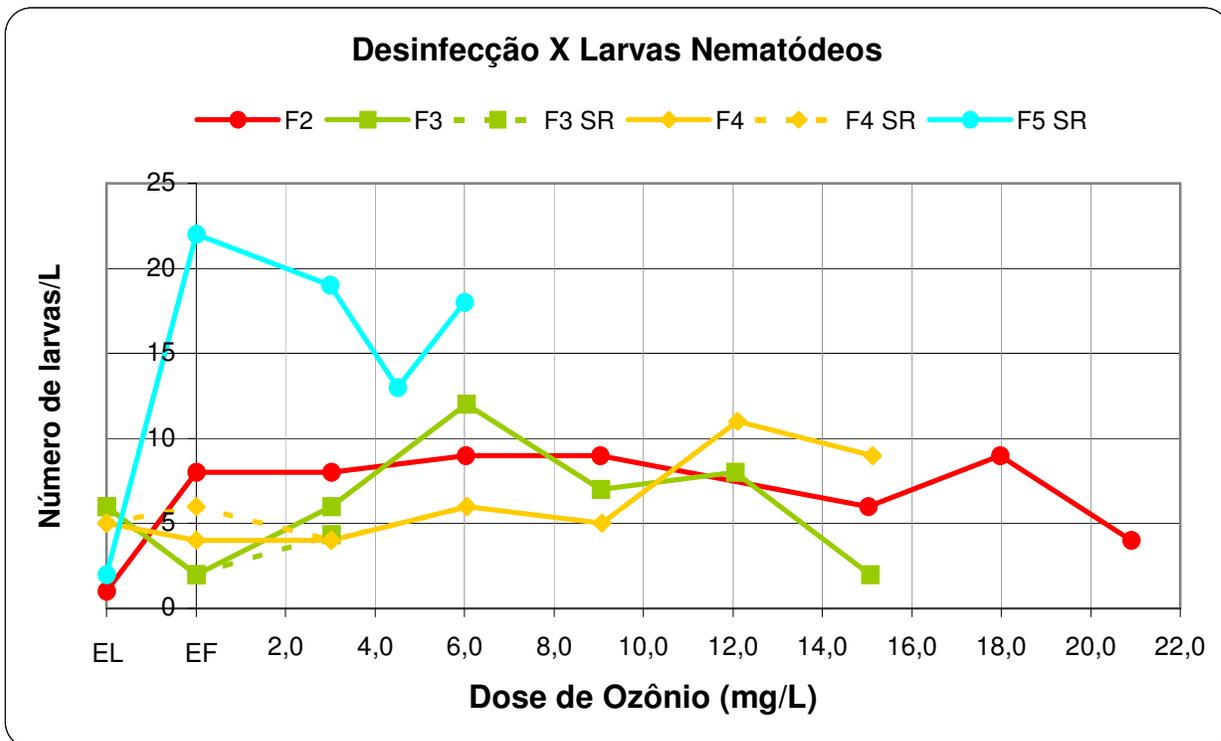


Figura 5.19 Número de larvas nematódeo/L em 4 coletas do efluente dos filtros de 0,75 e 1,00 m com taxa de aplicação de efluente da lagoa anaeróbia de 200 Lm⁻²dia⁻¹ em cada filtro.

Pela Figura 5.20 que corresponde à somatória dos valores de protozoários e larvas nematódeos encontradas nos efluentes desinfetados, observa-se novamente que não houve um padrão de distribuição com o aumento da dose aplicada. No entanto, em processo de desinfecção de efluente da lagoa anaeróbia, que consiste em plano de estudo de outro projeto de mestrado de desenvolvimento paralelo a este, foram feitas algumas análises do efluente sem a coloração das amostras com lugol (este corante,

quando em contato com microrganismos, age como desinfetante). Em uma análise do efluente da lagoa após desinfecção, com a dose de $15,8 \text{ mgL}^{-1}$ de O_3 transferido foi encontrada uma larva nematódeo com seu tecido externo disforme. Em outra amostra, outra larva com movimentos lentos foi encontrada no efluente após aplicação de $23,2 \text{ mgL}^{-1}$ de O_3 e com $14,6 \text{ mgL}^{-1}$ de O_3 outra larva morta. Além destas, com a dose de $7,9 \text{ mgL}^{-1}$ de O_3 analisada sem corar, foi detectado um protozoário morto (ASSIRATI, 2005). Com estes resultados, embora em pequeno número, pode-se considerar que o ozônio agiu como desinfetante das formas vivas presentes no efluente da lagoa anaeróbia e foi capaz de exterminá-las embora suas estruturas ainda puderam ser encontradas quando analisadas em amostras coradas. O O_3 teria atuado como desinfetante, matando as larvas e protozoários. No entanto, seu potencial de oxidação não foi eficiente para que houvesse total desintegração dos organismos, fato que não foi o objetivo do trabalho.

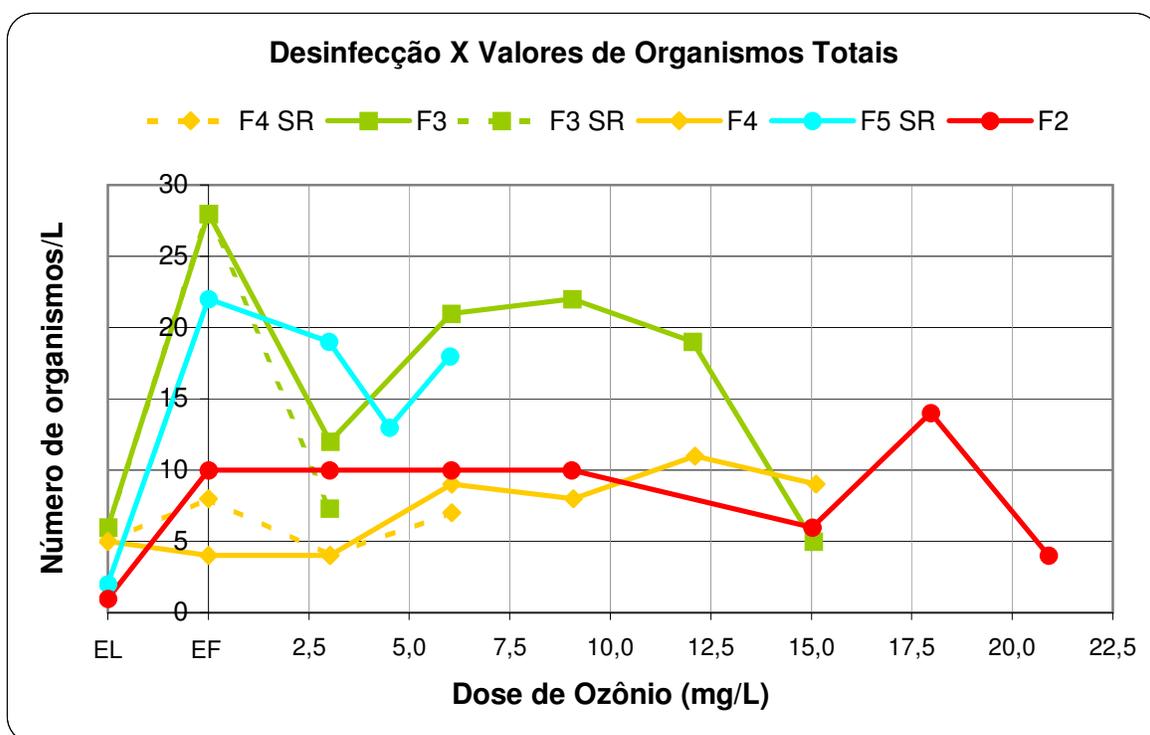


Figura 5.20 Número de organismos/L em 4 coletas do efluente dos filtros de 0,75 e 1,00 m com taxa de aplicação de efluente da lagoa anaeróbia de $200 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ em cada filtro.

ETAPA 5.3

5.3.1 RESULTADOS DA ANÁLISE MICROBIOLÓGICA NOS ESTRATOS DOS LEITOS DE AREIA

Atualmente, o tratamento de esgotos ocorre de forma combinada considerando-se processos físicos, químicos e biológicos. A ação biológica depende da atuação de microrganismos como algas, fungos, bactérias e protozoários e quando presentes nos esgotos, geralmente em lagoas ou tanques de tratamento auxiliam no processo de purificação das águas residuárias tratadas (MAGOSSO & BONACELLA, 1994). Os microrganismos encontrados nos sistemas de tratamento de esgotos, bem como aqueles presentes em processos naturais têm como principal função clarificar o efluente durante o processo de tratamento, pois se alimentam de bactérias remanescentes e de pequenas partículas de sólidos em suspensão que não sedimentaram (VILLEN, 2001). Para MENEZES DE ALMEIDA & RODRIGUES DE MATOS (2003), a presença de protozoários ciliados nas estações de tratamento de esgoto por processos de lodo ativado é um indicativo de boas condições de operação desta, pelo fato destes organismos serem consumidores de bactérias e de partículas sólidas remanescentes do processo de tratamento. Os ciliados também auxiliam na formação do floco do lodo ativado, o que torna mais fácil o processo de sedimentação da matéria orgânica. Este tipo de tratamento é um dos mais eficientes na remoção da matéria orgânica em função da atuação dos microrganismos mantidos pela recirculação do lodo.

Considerando que protozoários heterotróficos fazem parte de uma importante fauna microbiológica no tratamento de esgotos, que estes possuem essencial função predatória de bactérias em ambientes aquáticos e também em lodo de esgoto (CURDS, 1982), podemos inferir que a presença de larvas de nematódeos, protozoários e

rotíferos apresentem importante papel no tratamento biológico que ocorre nos leitos de areia.

As Tabelas 5.3.1 e 5.3.2 representam os dados obtidos no método de riqueza de espécies (BARMFORTH, 1998) após 10 e 20 dias de incubação. Na primeira tabela, os valores totais encontrados para F100, a superfície foi a que apresentou maior número de organismos (78), seguida pelo estrato 50 a 75 cm (58), estrato 75 a 100 cm (55), estrato 25 a 50 cm (14) e estrato 0 a 25 cm (11). Observa-se que não houve um padrão de distribuição com o aumento da profundidade. Os maiores valores foram detectados na superfície de F100 e depois na profundidade de 50 a 100 cm, sendo os protozoários os organismos mais representativos nos valores totais. Esse fato pode estar relacionado à estabilização do sistema nas camadas mais profundas. Quando comparadas com a superfície que também apresentou protozoários em grande número. Os organismos presentes nesta, foram provavelmente àqueles oriundos do efluente da lagoa anaeróbia. Para BELLAMY et al. (1985), a maturidade biológica do leito de areia indica o grau de desenvolvimento microbiológico nas camadas do filtro, ou seja, a eficiência do tratamento irá depender do período em que o mesmo recebe efluente.

A ausência de padrão também foi detectada em F075, pois, o maior número em ordem decrescente foi estrato 0 a 25 cm (13), superfície F075 (11), estrato 50 a 75 cm (4) e estrato 25 a 50 cm (0). A análise da superfície de F050 demonstrou que mesmo após 7 meses sem aplicação, o leito ainda continha uma microfauna existente e foi diferente das outras análises pois foi encontrado somente uma espécie de protozoário. A areia inicial também apresentou protozoários, mas em menor quantidade.

Tabela 5.8 Análise da areia pelo método Riqueza de Espécies (BARMFORTH, 1998) após 10 dias de incubação.

Amostra	Larva de Nematódeo	Protozoário	Rotífero	Ovo	Total
Amostra 1 (Superfície F100)	11	67	10	ND	88
Amostra 2 (Estrato 0 a 25 cm – F100)	4	7	ND	ND	11
Amostra 3 (Estrato 25 a 50 cm – F100)	2	12	ND	ND	14
Amostra 4 (Estrato 50 a 75 cm – F100)	2	56	ND	ND	58
Amostra 5 (Estrato 75 a 100 cm – F100)	1	54	ND	ND	55
Amostra 6 (Superfície F075)	6	3	2	ND	11
Amostra 7 (Estrato 0 a 25 cm – F075)	6	7	ND	ND	13
Amostra 8 (Estrato 25 a 50 cm – F075)	ND	ND	ND	ND	0
Amostra 9 (Estrato 50 a 75 cm – F075)	ND	4	ND	ND	4
Amostra 10 (Topo F050)	ND	75	ND	ND	75
Amostra 11 (Areia Inicial)	ND	5	ND	ND	5

Na Tabela 5.9 que corresponde à riqueza de espécies após 20 dias de incubação, o F100 apresentou maior número total na superfície (51), seguido por estrato 25 a 50 cm (10), estratos 50 a 75 cm e 75 a 100 (6) e por fim estrato 0 a 25 cm (4). Também não foi observado um padrão de distribuição quantitativo em relação à profundidade. O maior número total observado foi na superfície de F100, que pode representar os organismos filtrados, antes presentes na lagoa anaeróbia.

Para F075 a ordem foi superfície (70), estrato 0 a 25 cm (20), estrato 50 a 75 cm (3) e estrato 25 a 50 cm (6). O maior número encontrado na superfície do filtro também pode ter sido devido à aplicação do efluente, que foi aleatória. O efluente da lagoa anaeróbia foi utilizado visando a filtração nos leitos de areia. A análise da superfície de F050 também apresentou organismos, mas nesta segunda verificação observou-se que além dos protozoários estiveram presentes outros organismos como rotíferos. O aumento pode estar relacionado à reabilitação dos protozoários, pois, na primeira análise foram contados somente 5 protozoários e na segunda o número aumentou para 30. Além disso, TONETTI (2004) verificou que no período em que aplicação de efluente nos leitos de areia teve que ser interrompida, houve melhora nas propriedades de tratamento dos filtros pois, houve melhora nos resultados das variáveis coliformes totais e *Escherichia coli*.

Segundo BELLAMY et al. (1985) a maturidade microbiológica dos leitos de areia é a variável mais importante na remoção de protozoários, como cistos de *Giardia* e também de bactérias do grupo coliforme. A maturidade dos filtros ocorre nos leitos de areia em algumas semanas ou meses, dependendo da qualidade do efluente aplicado.

Tabela 5.9 Análise da areia pelo método Riqueza de Espécies (BARMFORTH, 1998) após 20 dias de incubação.

Amostra	Larva de Nematódeo	Protozoário	Rotífero	Ovo	Total
Amostra 1 (Superfície F100)	6	41	4	ND	51
Amostra 2 (Estrato 0 a 25 cm – F100)	4	ND	ND	ND	4
Amostra 3 (Estrato 25 a 50 cm – F100)	2	7	1	ND	10
Amostra 4 (Estrato 50 a 75 cm – F100)	2	4	ND	ND	6
Amostra 5 (Estrato 75 a 100 cm – F100)	2	4	ND	ND	6
Amostra 6 (Superfície F075)	16	42	12	ND	70
Amostra 7 (Estrato 0 a 25 cm – F075)	16	4	ND	ND	20
Amostra 8 (Estrato 25 a 50 cm – F075)	5	1	ND	ND	6
Amostra 9 (Estrato 50 a 75 cm – F075)	3	4	ND	ND	7
Amostra 10 (Superfície F050)	ND	18	2	ND	20
Amostra 11 (Areia Inicial)	ND	30	ND	ND	30

A redução dos valores totais observados na primeira análise em F100 (10 dias de incubação) e em seguida após 20 dias de incubação, pode estar relacionada com a ausência de nutrientes presentes no esgoto, causando a redução do número total. O primeiro estrato de F100 (0 a 25 cm) estaria atuando como primeira barreira física de filtração de nutrientes impedindo desta forma o desenvolvimento dos organismos (Tabela 5.3.3). Vale ressaltar que na areia incubada, foi somente utilizada água destilada para manutenção da umidade do microambiente nas placas de Petri.

Nas amostras de F075 houve aumento dos valores totais e este pode ter ocorrido devido à menor profundidade do leito, não havendo neste caso, estrato correspondente à 0 a 25 cm de F100. A ausência deste facilitaria a penetração dos nutrientes em camadas mais profundas, permitindo o desenvolvimento da microfauna do leito de areia.

A amostra 10 (F050) também teve seu número diminuído, provavelmente pela ausência de nutrientes, visto que este leito ficou por um período de 7 meses sem receber aplicação de qualquer tipo de efluente. Na areia inicial houve aumento, mas foi observada somente uma espécie de protozoários, provavelmente originários do sítio de extração da areia (Tabela 5.10).

Tabela 5.10 Valores totais de organismos em F075 e F100 em 10 e 20 dias de incubação.

Amostra	Valores Totais 10 dias de incubação	Valores Totais 20 dias de incubação
Amostra 1 (Superfície F100)	78	51
Amostra 2 (Estrato 0 a 25 cm – F100)	11	4
Amostra 3 (Estrato 25 a 50 cm – F100)	14	10
Amostra 4 (Estrato 50 a 75 cm – F100)	58	6
Amostra 5 (Estrato 75 a 100 cm – F100)	55	6
Amostra 6 (Superfície F075)	11	70
Amostra 7 (Estrato 0 a 25 cm – F075)	13	20
Amostra 8 (Estrato 25 a 50 cm – F075)	0	6
Amostra 9 (Estrato 50 a 75 cm – F075)	4	7
Amostra 10 (Superfície F050)	75	20
Amostra 11 (Areia Inicial)	5	30

A Figura 5.21 apresenta os valores de coliformes totais e de *Escherichia coli* que foi realizada nas superfícies e nos estratos dos filtros de areia com profundidades de 0,75 e 1,00 m. Em F100 houve decaimento do número de *E coli* com o aumento da profundidade. No entanto, nos estratos 0 a 25 cm e 25 a 50 cm os valores estiveram bastante próximos. Além destes, os valores para 50 a 75 cm e 75 a 100 cm também apresentaram resultados semelhantes. Estes dados conferem com a Análise de Variância de Friedman (Figura 5.2), que dividiu os tratamentos de 4 filtros de areia em somente 2 ou seja, grupo I composto por F025 e F050 e grupo II composto por F075 e F100.

Em relação aos coliformes totais no F100, houve decaimento dos valores com o aumento da profundidade até o estrato 50 a 75 cm. No último estrato (75 a 100 cm) os valores foram maiores e semelhantes àqueles obtidos na análise do estrato 25 a 50 cm.

Os valores de *E coli* em F075 também decresceram com o aumento da profundidade do leito e mais uma vez os estratos variando de 0 a 50 cm apresentaram resultados semelhantes, compatível com os dados estatísticos (Figura 5.2). A última camada (50 a 75 cm) conferiu quantidade menor do que os dois substratos anteriores. Em relação aos coliformes totais, seus valores em 0 a 25 cm, 25 a 50 cm e 50 a 75 cm foram parecidos e somente na superfície de F075, estiveram em maior quantidade, provavelmente devido à maior retenção destes na Schmutzdecke.

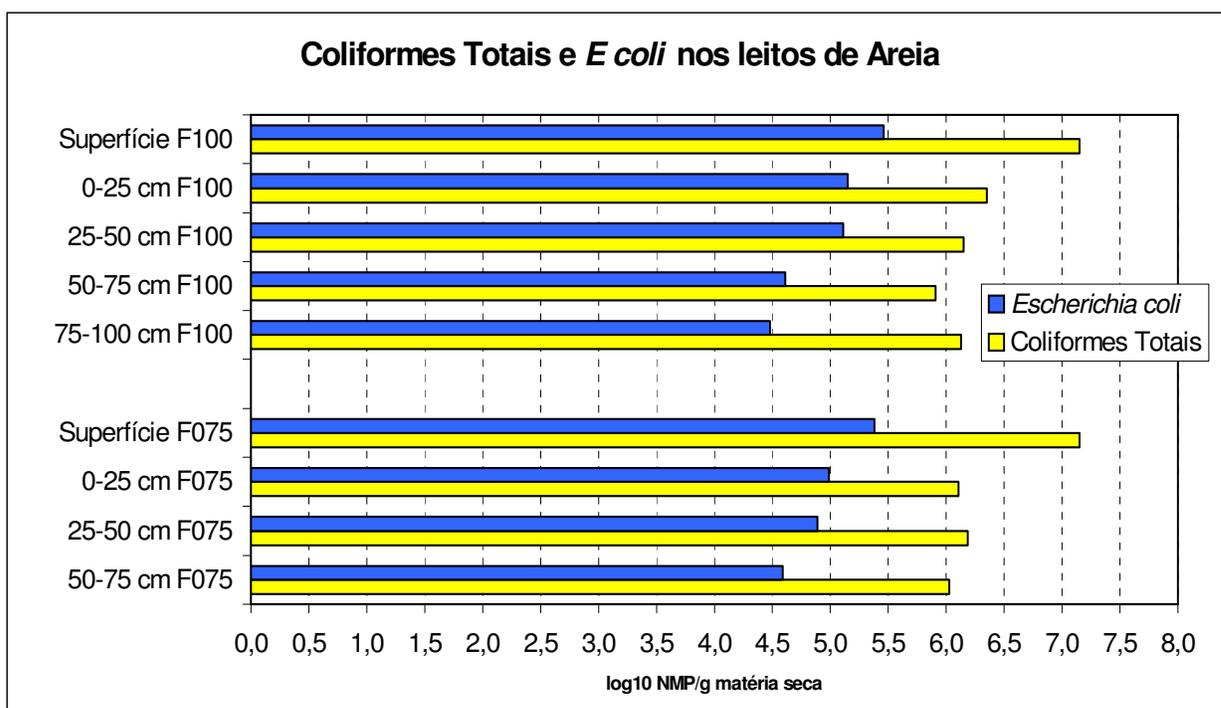


Figura 5.21 Coliformes Totais e *E coli* em NMP nos leitos de areia.

Na Tabela 5.11 estão os valores referentes a coliformes, realizados na superfície dos filtros F100 e F075. Na primeira coleta, os coliformes totais em F100 e em F075 foram de $1,4 \times 10^3$ NMPg⁻¹ de solo seco. Para *E coli* os valores foram de $2,9 \times 10^5$ NMPg⁻¹ em F100 e $2,4 \times 10^5$ NMPg⁻¹ de solo seco em F075. Passados 15 dias, F100 e F075 apresentaram valores de coliformes totais decrescidos. $3,2 \times 10^3$ NMPg⁻¹ de solo seco para F100 e $1,0 \times 10^3$ NMPg⁻¹ de solo seco para F075. Os valores de *E coli* não puderam ser calculados porque nas duas superfícies, seus valores expressos em NMPg⁻¹ de solo úmido foram < 100. Além destas amostras, a superfície de F050 e a areia inicial também apresentaram valores < 100 tanto para coliformes totais quanto para *E coli*.

Tabela 5.11 Valores de Coliformes totais e *E coli* encontrados nos estratos dos filtros de areia.

Estrato de Coleta	Coliformes Totais	<i>Escherichia coli</i>
	NMPg ⁻¹ (solo seco)	NMPg ⁻¹ (solo seco)
Primeira coleta da superfície no F100	$1,43 \times 10^7$	$2,90 \times 10^5$
Primeira coleta da superfície no F075	$1,42 \times 10^7$	$2,44 \times 10^5$
Segunda coleta da superfície em F100 ^A	$3,27 \times 10^3$	<100
Segunda coleta da superfície em F075 ^A	$1,09 \times 10^3$	<100
Coleta da Superfície em F050 ^B	<100	<100
Areia Inicial ^C	<100	<100

^A Realizada 15 dias após a primeira coleta.

^B Sete meses sem receber aplicação de qualquer tipo de efluente.

^C Areia utilizada no preenchimento dos filtros.

6 CONCLUSÕES

- Os filtros de areia podem ser utilizados como sistemas de pós-tratamento de efluentes de filtros anaeróbios, considerando a remoção de organismos patogênicos. Considera-se os filtros com maiores profundidades mais apropriados para esta atividade, devido ao seu maior potencial de retenção de formas infectantes. Deve-se considerar a qualidade final do efluente no que se refere aos organismos, para posteriormente direcionar o efluente para irrigação na agricultura, observando os padrões de qualidade estabelecidos por normas e órgãos responsáveis.
- Os filtros de areia com maiores profundidades (0,75 e 1,00 m) apresentaram maior tempo de permanência do efluente aplicado, resultando em um possível maior tempo de contato do mesmo com o biofilme formado e consequente superior qualidade do efluente final gerado.
- A profundidade do filtro que melhor apresentou resultados foi a de 1,00 m, e está de acordo com o especificado pela NBR 7229 (1993) que sugere 0,60 a 1,10 m.

- A performance de remoção de organismos nos filtros variou com as taxas de aplicação de maneira irregular. A taxa recomendada pela NBR 7229 (1993) de $100 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ apresentou resultados satisfatórios, mas a qualidade do efluente interfere no processo de tratamento nos filtros.
- A limpeza dos filtros deve ser realizada no período em que estes estiverem em repouso. Caso contrário, a performance de remoção de organismos não será otimizada; como observado na taxa de $80 \text{ Lm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ (Figura 5.13)
- A NBR 7229 (1993) recomenda a alternância de uso de um filtro por outro quando houver excessivo retardamento na velocidade de filtração do esgoto. Após 7 meses sem aplicação de efluentes, foram constatados baixos valores de coliformes ($< 100 \text{ NMPg}^{-1}$ de solo) na superfície de F050.
- O tempo de uso de cada filtro de areia irá depender principalmente da qualidade do efluente utilizado. Se houver grande quantidade de material em suspensão, haverá colmatação na superfície; o que irá retardar o processo de tratamento.
- O período de repouso propicia a digestão do material retido no meio filtrante e a remoção dos sólidos da superfície do filtro de areia (NBR 7229, 1993). Houve melhora nas propriedades de tratamento pelos resultados de coliformes totais e *E coli* (TONETTI, 2004) quando estes não receberam efluentes por 1 mês, mas novos estudos são necessários para estabelecimento do tempo exato de repouso.
- O sistema de tratamento de esgotos complementar ao tanque séptico, composto por filtro anaeróbio – filtro de areia e disposto na norma NBR 7229 (1993) apresenta resultados que contribuem para o atendimento legal e também para a proteção do manancial hídrico.

- Os valores médios de turbidez dos efluentes filtrados foram menores do que 40 UNT, valor este que é estipulado pela CONAMA 20 (1986) como o máximo para águas de classe 1. Para classe 2 é considerado 100 UNT.
- Na primeira etapa do projeto, a Análise de Variância de Friedman detectou que não houve diferença no tratamento realizado entre F025 e F050 e também entre F075 e F100, considerando a variável número de helmintos e protozoários.
- Na primeira etapa do projeto, a Análise de Variância de Friedman detectou que não existe diferença no tratamento realizado entre F025, F050 e F075, considerando a variável turbidez. F100 foi o filtro que apresentou melhores resultados na redução dos valores de turbidez.
- Com o aumento das taxas de aplicação, houve aumento dos valores de turbidez ($r_s > 0,50$; $p < 0,01$). No entanto, não houve correlação entre microrganismos e taxas de aplicação e; microrganismos e turbidez.
- Pela análise qualitativa realizada nos efluentes dos 4 filtros de areia, maior variedade de espécies foi encontrada no efluente de F025, seguida por F050, F075 e F100. O leito mais profundo foi o melhor sistema na remoção de organismos.
- Na desinfecção do efluente dos filtros de areia (F075 e F100) houve correlação negativa e significativa ($r_s < - 0,50$; $p < 0,01$). Com o aumento da dose de ozônio, houve diminuição do número de coliformes. Também houve correlação entre coliformes totais x coliformes fecais ($r_s = 0,97$; $p < 0,01$).
- O processo de desinfecção com ozônio para atingir valores de 10^3 NMP/100mL de *E coli* pode ser obtido com a dose de 8 mgL^{-1} , que foi a maior utilizada no

efluente do filtro de areia.

- O processo de desinfecção com ozônio para atingir valores de 10^3 NMP/100mL de coliformes totais pode ser obtido com a dose de 12 mgL^{-1} , que foi a maior dose utilizada no efluente do filtro de areia.
- A desinfecção com ozônio não eliminou protozoários e helmintos presentes nas amostras filtradas em F075 e F100, mas em algumas poucas análises, foram verificadas alterações físicas nas estruturas de larvas e a morte de alguns organismos.
- O método por contagem, empregado na verificação dos organismos no efluente após desinfecção não foi adequado, pois a quantificação não corresponde à eliminação dos mesmos.
- O método mais apropriado ao estudo provavelmente seria(m) àquele(s) relacionando(s) à viabilidade das formas encontradas, pois mesmo considerando que houve a morte dos organismos, estes ainda foram contados na câmara por não haver desintegração total. A viabilidade viria a contribuir com a verificação da eficiência do ozônio como desinfetante.
- A análise de riqueza de espécies dos leitos de areia demonstrou que existe variação entre os diferentes estratos e também de espécies ao longo do filtro. O primeiro estrato de F100 (superfície a 0,25 m) pode funcionar como barreira física inicial para os nutrientes e microrganismos presentes no efluente.
- Após um período de 7 meses sem aplicação de efluente em F050, protozoários foram encontrados na superfície do leito. Esses, irão provavelmente otimizar a formação de um novo biofilme, se efluente for novamente aplicado, pois o número obtido na análise de riqueza de espécies aumentou após 20 dias de incubação.

7 RECOMENDAÇÕES

Baseado nos resultados obtidos neste trabalho; seguem algumas sugestões que podem ser consideradas em novos trabalhos:

- Desenvolver plano de pesquisa relacionado à viabilidade das formas de organismos encontradas nos efluentes analisados;
- Trabalhar com filtros de areia alternados para verificar o tempo de repouso exato dos leitos, para a recuperação das propriedades de depuração do esgoto;
- Analisar os leitos de areia nos seus estratos para estudo da microfauna componente;
- Utilizar testes de viabilidade em organismos encontrados no efluente após desinfecção com ozônio;
- Simular a desinfecção de amostras contendo protozoários e/ou helmintos em concentração conhecida para verificação das doses necessárias para eliminação; e
- Verificar a presença / ausência de organismos nos leitos de areia após período de repouso.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AWWA/APHA/WEF (1995). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19 ed. 1995.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR13969 – *Tanques sépticos – Unidades de tratamento complementar e disposição final dos efluentes líquidos – Projeto, construção e operação*. 60. ABNT – São Paulo, 1997.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 7229 – *Construção e Instalação de Fossas Sépticas e Disposição dos Efluentes Finais*. 37p. 1993.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *Amostragem de Resíduos*. NBR 10007. Rio de Janeiro, 1987. 25 p.

AKIN, E. W. & JAKUBOWSKI. Drinking water transmission of giardiasis in the United States. *Water Sci. Technol.* 18:219-226. 1986.

ASSIRATI, D. M. Desinfecção de efluentes de ETE com ozônio com o objetivo de reúso agrícola. 2005. Campinas, 119 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de

Campinas, Campinas.

AUSLAND, G.; STEVIK, T. K.; HANSSEN, J. F.; KOHLER, J. C. & JENSSEN, P. D. Intermittent filtration of wastewater – removal of fecal coliforms and fecal streptococci. *Water Research*. 36:3507-3516. 2002.

AYRES, M.; AYRES JR, M.; AYRES, D. L. & dos SANTOS, A. S. *Bioestat 3.0 – Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas*. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, Brasília CNPq, 2003. xii, 290p.

AZEVEDO NETTO, J. M. *Tratamento de águas residuárias*. 218. Escolas Profissionais Salesianas, São Paulo, 1969.

BAXBY, D.; BLUNDELL, N. & HART, C. A. The development and performance of a Simple, Sensitive Method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in faeces. *Journal Hyg. Camb*. V.92, p.313-323. 1984.

BAHGAT, M.; DEWEDAR, A. & ZAYED, A. Sand filter used for wastewater treatment: build-up and distribution of microorganisms. *Water Research*. 33(8)1949 – 1955. 1999.

BELLAMY, W. D.; SILVERMAN, G. P.; HENDRICKS, D. W. & LOGSDON, G. S. Removing Giardia Cysts with slow sand filtration. *Journal AWWA*. Vol 77. 52-60. 1985.

BODIK, I.; HERDOVÁ, B. & DRTIL, M. The use of upflow anaerobic filter and AnSBR for wastewater treatment at ambient temperature. *Water Research*. 36:1084-1088. 2002.

BUSH, A. O.; FERNÁNDEZ, J. C.; ESCH, G. W. & SEED, R. Parasitism: The diversity and ecology of animal parasites. Cambridge University Press. 2001.

CAMEL, V. BERMOND, A. The use of ozone and associated oxidation processes in drinking water treatment. *Water Research*, v. 32, n. 11, p. 3208-3222. 1998.

CAMPOS, J. R. et al. Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo. 466. ABES Projeto Prosab, Rio de Janeiro.1999.

CASTRO LIMA, E. de. & STAMFORD, T. L. M. *Cryptosporidium spp.* no ambiente aquático: aspectos relevantes da disseminação e diagnóstico. *Ciência & Saúde Coletiva*, 8(3):791-800. 2003.

CETESB – Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. Norma L5.550, Helmintos e Protozoários Patogênicos: Contagem de Ovos e Cistos em Amostras Ambientais. São Paulo: CETESB, 1989. p.: 1 – 22;

CETESB – Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental, Diretoria de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia – Setor de Treinamento. Vigilância da qualidade da água do ponto de vista microbiológico. In: *Microbiologia Ambiental*. São Paulo, 2000. 156 p.

CHERNICHARO, C. A. L. & MACHADO, R. M. G. Feasibility of UASB/AF system for domestic sewage treatment in developing countries. *Water Sci Technol*. 38(8-9):325-32. 1998.

CHERNICHARO, C. A. L. Reatores anaeróbios (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias). Vol 5. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG. p61. 1997.

CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lemos; DANIEL, Luiz Antônio; SENS, Maurício e CORAUCCI FILHO, Bruno. *Pós-Tratamento de efluentes de reatores anaeróbios por sistemas de desinfecção*. In: CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lemos. *Pós-Tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios*. 1. ed. Belo Horizonte: Segrac, 2001. Cap. 7, p. 430-431.

CHRISTENSEN, B. E. & CHARACKLIS, W. G. 1990. Physical and chemical properties of biofilms. In: Characklis, W. G. and Marshall, K. C. (eds.) *Biofilms*. John Wiley, New York, 93-130.

CONAMA. *Resolução número 20/86*. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente, 1986.

CORAUCCI FILHO, B; ANDRADE NETO, C O de; SOUZA MELO, H N de; SOUZA, H N de; SOUZA, J TT de, NOUR, E. A. A & FEIJÓ DE FIGUEIREDO, R. *Pós-Tratamento de fluentes de reatores anaeróbios por sistemas de aplicação no solo*. In: CHERNICHARO,

Carlos Augusto de Lemos. *Pós-tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios*. 1.ed. Belo Horizonte: Segrac, 2001. Cap. 2, 35-103.

CORAUCCI FILHO, B.; STEFANUTTI, R.; FEIJÓ DE FIGUEIREDO, R.; NATALIN JÚNIOR, O.; PACKER, A. P. C. & BROZELE, S. T. Remoção natural de patógenos no sistema de pós-tratamento por escoamento superficial no solo. In: Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, VI, 2002, Vitória. 5 p. CD-Rom.

CURDS, C. R. The ecology and role of protozoa in aerobic sewage treatment processes. *Annu. Rev. Microbiol.* 36:27-46. 1982.

ESREY, S. A. & HABICHT, J. P. Epidemiologic evidence for health benefits from improved water and sanitation in developing countries. *Epidemiologic reviews.* 8:117-128. 1986.

ESREY, S. A.; POTASH, J. B.; ROBERTS, L & SHIFF, C. Effects of improved water supply and sanitation on ascariasis, diarrhoea, dracunculiasis, hookworm infection, schistosomiasis, and trachoma. *Bulletin of the World Health Organization.* 69 (5): 609-621. 1991.

FARIAS, E. W. C.; GAMBA, R. C. & PELLIZARI, V. H. Detection of *Cryptosporidium* spp. oocysts in raw sewage and creek water in the city of São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology.* 33:41-43. 2002.

FAYER, R.; MORGAN, U. & UPTON, S. J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *International Journal for Parasitology.* 30 (2000) 1305-1322. 2000.

FERRAZ DE CAMPOS, A.. *Aplicação de lodo líquido de esgoto sanitário no solo: Determinação de coliformes totais e fecais*. 2002. 108p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

FLEMMING, H. C. *Biofilms and Environmental Protection*. Water Science and Technology. 27 (7-8): 1-10. 1993.

FRANCO, R. M. B.; ROCHA EBERHARDT, R. & CANTUSIO NETO, R. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia river, Campinas, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*. 43 (2): 109-111. 2001.

GERMIDA, J. J. *Cultural Methods for Soil Microorganisms*. In: CARTER, M. R. (Ed.). *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Canadian Society of Soil Science, 1993. Chap 27., p. 263-275.

GIORDANI, S. & COSTA DOS SANTOS, D. Metodologia de identificação e avaliação de possibilidades de reúso de efluentes domésticos tratados. In: Congresso brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 22, 2003, Joinville. 13 p. CD-Rom.

HALL, J. E. L. *A brief history of drinking water*. Disponível em: <<http://www.wrb.state.ri.us/programs/eo/historydrinkingwater.htm>>. Acesso em 23 de Novembro de 2004.

HAWKEN, P., LOVINS, A. & LOVINS, L. H. *Capitalismo Natural*. In: O Muda, o Serviço e o Fluxo. 4. ed. São Paulo: Cultrix - Amana Key, 2004. Cap. 7, p.123.

HRY, F. J. Environmental sanitation infection and nutritional status of infants in rural St. Lucia, West Indies. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 91:255-264. 1981.

HUNT, N.K. ; MARIÑAS, B.J. "Inactivation of *escherichia coli* with ozone: chemical and inactivation kinetics". *Water Research*, v. 33, n.11, p. 2633-2641. 1999.

HUNT, N. K.; MARIÑAS, B.J. "Kinetics of *Escherichia coli* inactivation with ozone. *Water Research*, v. 31, n. 6, p. 1355-62. 1997.

ISHIZAKI, K.; SAWADAISHI, K; MIURA, K.; SHINRIKI, N. Effect of ozone on plasmid DNA of *Escherichia coli in situ*. *Water Research*, v. 21, n. 7. p. 823-827. 1987.

JORDÃO, E. P. & PESSOA, C. A. Tratamento de esgotos domésticos. 3ª edição. ABES, Rio de Janeiro. 1995.

JOHNSON, D. C.; REYNOLDS, K. A.; GERBA, C. P.; PEPPER, I. L. & ROSE, J. B. Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* in marine waters. *Water Sci Technol.*31:439-42. 1995.

LIMA E COSTA, M. F. F. et al. Water-contact patterns and socioeconomic variables in the epidemiology of schistosomiasis mansoni in an endemic area in Brazil. *Bulletim of the World Health Organization.* 65: 57-66. 1987.

LeCHEVALLIER, M. W.; NORTON, W. D. & LEE, R. G. Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium spp.* in surface water supplies. *Applied and Environmental Microbiology.* 57 (9):2610-2616. 1991.

LETTINGA, G. Sustainable integrated biological wastewater treatment. *Water Sci Technol.* 33 (3):85-978. 1996.

LEVENTHAL, R. & CHEADLE, R. Parasitologia Médica. 4^a edição. Editora Editorial Premier, 1997.

LIÉNARD, A.; GUELLAF, H. & BOUTIN, C. Choice of the sand for sand filters used for secondary treatment of wastewater. *Water Science and Technology.* 44 (2-3) 189-196.2001.

LORCH, H. J.; BENCKISER, G. & OTTOW, J. C. G. *Basic methods for counting microorganisms in soil and water.* In: ALEF, K & NANNIPIER, P. *Methods in applied soil microbiology and biochemistry.* 2. ed. Academic Press, Harcourt Brace & Company, 1998. Chap 4., p. 146-180.

LORCH, H. J.; BENCKISER, G. & OTTOW, J. C. G. *Basic methods for counting microorganisms in soil and water.* In: BAMFORTH, S. S. *Methods in applied soil microbiology and biochemistry.* 2. ed. Academic Press, Harcourt Brace & Company, 1998. Chap.4, p. 146-180.

MAGOSSI, L. R. & BONACELLA, P. H. *Poluição das águas.* Editora Moderna, 1994, São Paulo – SP, 56p.

MARZOCHI, MAURO CÉLIO DE A. Poluição e Enteroparasitoses. Instituto Nacional de

Pesquisas da Amazônia. *Ciência e Cultura*. 29(7):771-778. 1977.

MEAD, P. S. ;SLUTSKER, L; DIETZ, V. *et al.* Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis*. 5:607-27. 1999.

MENEZES DE ALMEIDA, P. R. & RODRIGUES DE MATOS, Z. M. In: Congresso brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 22, 2003, Joinville. 8 p. CD-Rom.

METCALF & EDDY. Wastewater engineering, treatment, disposal and reuse. 1334. 3ª edição. McGraw – Hill, International Editions, Nova Iorque. 1991.

MORAES, D. C. *Vazão da Graminha*. [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <apkanegae@yahoo.com> em 19 fevereiro 2004.

NEVES, D. P. Parasitologia Humana. 10ª edição. São Paulo: Editora Atheneu, 2004.

NOUR, E. A. A.; CORAUCCI FILHO, B; FIGUEIREDO, R. F. de; STEFANUTTI, R. & CAMARGO, S. A. R. de. Estudo Hidrodinâmico de um Filtro Anaeróbio utilizando o bambu como meio suporte. In: Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo – Coletânea de Trabalhos Técnicos. José Roberto Campos (Coordenador). São Paulo. 348p. Projeto Prosab. 2000.

OMS – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Directrices sanitárias sobre el uso de águas residuales em agricultura e aquicultura. *Séries de reportagens técnicas*. 778. OMS, Genebra, 1989.

OMS – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Health guidelines for the use of wastewater in agriculture and aquaculture. Genebra, 1989.

PELL, M. & NYBERG, F. Infiltration of wastewater in a newly started pilot sand-filter system: III Transformation of nitrogen. *Journal of Environmental Quality*. 18, 463-467. 1989.

PIRES, M.S.G. *Avaliação da presença de patógenos no lodo líquido estabilizado de ETE (processo aeróbio) quando aplicado ao solo arenoso-siltoso*. 2003. 138f. Tese de Doutorado (Doutorado em Engenharia Civil) – Faculdade de Engenharia Civil,

Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ROSE, J. B.; DARBIN, H. & GERBA, C. P. Correlations of the protozoa, *Cryptosporidium* and *Giardia*, with water quality variables in a watershed, p. 43(1-6). In Proceedings of the International Conference on Water and Wastewater Microbiology, Newport Beach, Calif., 8-11 February. 1988.

SANCHES, L.; CHERNICHARO, C. A.; VON SPERLING, M. ; MARTINS, H. Avaliação da operação em regime hidráulico transiente de um reator UASB e filtros anaeróbios para o tratamento de esgotos sanitários. In: Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo. Coletânea de trabalhos técnicos. ABES/FINEP;PROSAB;CNPq, 2000. São Carlos, São Paulo.

SMITH, H. V. Detection of parasites in the environment. *Parasitology*. 117, S113-S141. 1988.

SMITH, H. V.; McDIARMID, A.; SMITH, A. L.; HINSON, A. R. & GILMOUR, R. A. An analysis of staining methods for the detection of *Cryptosporidium spp.* oocysts in water related samples. *Parasitology* 99:323-327. 1989.

SPRENT, J. F. Factors influencing transmission. Washington. *World Health Organization*. (Mimeographed Document WHO/ Helminth). 68. 1963.

STEVIK, T. K.; AUSLAND, G.; JENSSEN, P. D. & SIEGRIST, R. L. Removal of *E. coli* during intermittent filtration of wastewater effluent as affected by dosing rate and media type. *Water Res.* 33:2088-98. 1999.

TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F.L.; STENSEL, H.D. Wastewater engineering, treatment and reuse. Metcalf & Eddy, Inc. 4th ed./revised. McGraw-Hill, 2003.

TONETTI, A. *Pós-Tratamento de efluente anaeróbio por filtros de areia*. 2004. 123p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

TONETTI, A.; CORAUCCI FILHO, B.; KANEGAE, A. P. & STEFANUTTI, R. Método Alternativo de Tratamento de Esgotos. *Revista Biotecnologia Ciência e*

Desenvolvimento. 31:109-115, julho/dezembro 2003.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Onsite Wastewater Treatment and Disposal System, Design Manual. Technology Transfer. 392. Cincinnati. 1980.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). "Alternative Disinfectants and oxidants guidance manual". 1999.

VILLEN, R. A. Tratamento Biológico de Efluentes. In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. & SCHMIDELL, W. (Eds.) *Biotecnologia Industrial*. Editora Edgard Blucher, Vol. 3, São Paulo-SP, 2001, 593p., p:513-546.

VON SPERLING, M. *Princípios básicos do tratamento de esgotos*. 1^a ed. Belo Horizonte: UFMG, 1996.

WILLMAN, B. P.; PETERSEN, G. W. & FRITTON, D. D. Renovation of septic tank effluent in sand-clay mixtures. *Journal of environmental Quality*. 10(4) 439-444. 1981.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Health Guidelines for the uses of wastewater in agriculture and aquaculture. Technical Report 778. Geneve: The world bank. 1989.

XU, P et al. Wastewater disinfection by ozone: main parameters for process design. *Water Research*. 36, p. 1043-1055. 2002.

YAVUZ, C. M. & HARRIDAS, A. Transport and fate of microorganisms in porous media: a theoretical investigation. *J. Hydrol*. 72:149-169. 1984.

ZERBINI, A. M & CHERNICHARO, C. A. L. Proposta de consolidação de metodologias para enumeração, identificação e análise de viabilidade de ovos de helmintos em águas residuárias brutas e tratadas. Março 2000. Prosab Edital 2 Tema 2.

9 ANEXO I

Método de BAILENGER (1979) modificado por AYRES & MARA (1996), que deu origem a metodologia atualmente recomendada pela Organização Mundial de Saúde para enumeração de ovos de helmintos em águas residuárias brutas e tratadas, conforme descrito na publicação “Analysis of wastewater for use in agriculture – a laboratory manual for parasitological and bacteriological techniques” AYRES & MARA, 1996 apud ZERBINI & CHERNICHARO (2000).

FUNDAMENTO: As amostras passam pelas seguintes etapas: sedimentação, centrifugação e flutuação. Após sucessivas centrifugações da amostra, com descarte do sobrenadante, o sedimento é tratado com solução aceto-acética (pH 4,5) e éter (ou acetato de etila) para a separação do material gorduroso. Posteriormente, com a adição da solução de sulfato de zinco (densidade 1,18), os ovos flutuam e a contagem é realizada utilizando-se uma câmara de McMaster com observação no microscópio em objetivas de 10x e 40x.

MATERIAIS, EQUIPAMENTOS E REAGENTES: Para a preparação das amostras e enumeração de ovos de helmintos, de acordo com o método de Bailenger modificado, são necessários os seguintes materiais, equipamentos e reagentes (AYRES & MARA, 1996).

- Microscópio óptico
- Centrífuga
- Câmara de McMaster
- Agitador Vortex
- Pipetas de Pasteur
- Pipetas volumétricas
- Bomba de sucção ou sifão
- Solução tampão aceto-acética (pH 4,5)

- Solução de sulfato de zinco (densidade 1,18)
- Solução Triton X-100 ou Tween 80
- Garrações de plástico com tampa de rosca e capacidade para 1 e 10 litros
- Béquer de 1 litro
- Balde de 10 litros
- Éter ou acetato de etila

PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES: São os seguintes os principais procedimentos para preparação das soluções necessárias à enumeração de ovos de helmintos.

- Solução de sulfato de zinco: pesar 33,0 g de $ZnSO_4$ e diluir em 100 mL de água destilada (conferir a densidade utilizando um densímetro).
- Solução tampão aceto-acética (pH 4,5): pesar 5g de acetato de sódio cristalino, misturar em 3,6 mL de ácido acético glacial e completar o volume com água destilada até 1000 mL. Corrigir o pH da solução para 4,5 com os próprios reagentes.
- Solução detergente Triton X-100 ou Tween 80: pipetar 1 mL da solução e adicionar em 1 litro de água de torneira.

PROCEDIMENTOS PARA ENUMERAÇÃO DOS OVOS: De acordo com o método de Bailenger modificado, são adotados os seguintes procedimentos para preparação das amostras e enumeração de ovos e helmintos (AYRES & MARA, 1996 apud ZERBINI & CHERNICHARO, 2000).

- a) Coletar uma amostra de esgoto de volume conhecido (V litros) – usualmente 1 litro para esgoto bruto ou parcialmente tratado e 10 litros para esgoto tratado (ver nota 1);
- b) Deixar a amostra sedimentar em um béquer (esgoto bruto) ou em um balde (esgoto tratado). Usualmente, tem sido adotados tempo de sedimentação de cerca de 1 hora para o esgoto bruto e de 2 horas para o esgoto tratado (ver nota 2);

- c) Remover aproximadamente 90% do sobrenadante usando uma bomba de sucção ou um sifão, garantindo que fique no recipiente um volume de aproximadamente 100 mL para o esgoto bruto e de 1 L para o esgoto tratado. Inclinar o recipiente, caso necessário, tendo o cuidado para não ressuspender o sedimento;
- d) Transferir cuidadosamente o sedimento para os tubos da centrífuga, enxaguando o béquer e/ou o balde com solução Triton (ou Tween). Para qualquer transferência do sedimento de um recipiente para outro, ou de um tubo para outro tubo, enxaguar com solução Triton (ou Tween);
- e) Pesar todos os tubos ajustando-os simetricamente na centrífuga e proceder a centrifugação a 2500 rpm por 15 minutos;
- f) Após a primeira centrifugação, descartar o sobrenadante; transferir todos os sedimentos para um único tubo e centrifugar novamente a 2500 rpm por 15 minutos;
- g) Descartar o sobrenadante e ressuspender o sedimento contido no tubo utilizando um volume equivalente de solução tampão aceto-acética (pH 4,5); para um volume do sedimento igual a 2 mL, adicionar 2 mL da solução tampão. Caso o volume do sedimento seja inferior a 2 mL, adicionar solução tampão até completar um volume de 4 mL. Este volume mínimo de 4 mL visa facilitar o descarte do sobrenadante obtido durante a etapa (i), sem provocar a ressuspensão do sedimento contendo os ovos;
- h) Completar o preenchimento do tubo com a adição de um volume de éter (ou acetato de etila) correspondente a duas vezes o volume do sedimento e homogeneizar a amostra com equipamento tipo vortex;
- i) Centrifugar a 2500 rpm por 15 minutos. Após a centrifugação a amostra apresentará três fases distintas: i) no fundo do tubo se concentrará todo o material não gorduroso e fragmentos pesados, incluindo os ovos de helmintos, larvas e protozoários; ii) uma fase intermediária contendo a solução tampão, que deverá ser clara (transparente); e iii) uma fase superior contendo a gordura e outros materiais, que juntamente com o

éter (ou acetato de etila) formam uma camada tampão espessa e de cor escura;

- j) Descartar todo o sobrenadante com um único movimento firme e rápido, deixando no tubo apenas o sedimento (anotar o volume do sedimento). Caso seja necessário, desprender a camada tampão de cor escura com uma agulha fina, visando facilitar o descarte do sobrenadante;
- k) Adicionar um volume de solução de sulfato de zinco igual a 5 vezes o volume do sedimento (ex: se o volume do sedimento for igual a 1 mL, adicionar 5 mL da solução de sulfato de zinco). Anotar o volume do produto final, sedimento + sulfato de zinco (X mL) e homogeneizar a amostra com equipamento tipo vortex;
- l) Remover, rapidamente, uma alíquota da amostra final com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e transferir para a câmara de McMaster. Deixar a câmara de contagem em repouso por 5 minutos para permitir que os ovos flutuem e atinjam a superfície da grelha de contagem;
- m) Examinar no microscópio em objetivas de 10x ou 40x e contar todos os ovos que estão dentro da grelha (ver nota 3). Para uma melhor precisão na enumeração dos ovos, deve-se fazer a leitura de mais de uma câmara, preferencialmente três, e calcular a média aritmética das contagens obtidas (ver expressão de cálculo)

Notas:

- (1) o método é muito eficiente quando utilizado para esgotos brutos, os quais usualmente apresentam uma elevada concentração de ovos de helmintos. Para esgotos tratados, no entanto, o número de ovos tende a ser muito baixo; nestes casos, o volume da amostra deve ser aumentado pelo menos para 10 litros, objetivando uma melhor recuperação dos ovos. Caso o número de ovos de helmintos no esgoto bruto também seja baixo, deve-se aumentar o volume da amostra de 1 para 5 litros.
- (2) dependendo da altura do recipiente utilizado, o período de sedimentação dos ovos deve ser aumentado. A lei de Stokes' pode ser utilizada para se estimar as taxas de

sedimentação dos ovos de nematodas em águas residuárias, conforme a seguir (taxas usualmente adotadas, para uma temperatura de 20° C):

- *Ascaris lumbricoides*: 20 mm/min
- *Trichuris trichiura*: 16 mm/min
- Ancilostomídeos: 6 mm/min

Para garantir a coleta de todos os ovos, é recomendado que o tempo de sedimentação adotado seja pelo menos o dobro do tempo de sedimentação teórico (calculado de acordo com a lei de Stokes'). A experiência da UFMG tem indicado que tempos de sedimentação ainda maiores favorecem uma maior recuperação dos ovos.

- (3) se a quantidade de ovos contidos dentro da grelha for zero ou muito baixo, deve-se contar os eventuais ovos que poderão estar fora da grelha.

EXPRESSÃO DOS RESULTADOS: O número final de ovos da amostra de esgotos deve ser calculado por meio da seguinte equação.

$$N = \frac{A \times X}{P \times V}$$

onde:

N = número de ovos (nº de ovos/litro)

A = número médio de ovos contados nas câmaras de McMaster (nº de ovos)

X = volume do produto final (mL)

P = volume da câmara de McMaster (para câmara de duas grelhas P = 0,30 mL; para câmara de uma grelha P = 0,15 mL)

V = volume original da amostra (item a – Procedimento Para Enumeração de Ovos).