RAPHAEL CORRÊA MEDEIROS

Comparação da resistência de protozoários patogênicos - *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. – e de microrganismos indicadores à desinfecção seqüencial Cloro-Radiação Ultravioleta e Ozônio-Radiação Ultravioleta.

São Carlos – SP
2010

Comparação da resistência de protozoários patogênicos - *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. – e de microrganismos indicadores à desinfecção sequencial Cloro-Radiação Ultravioleta e Ozônio-Radiação Ultravioleta.

Raphael Corrêa Medeiros

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências (Engenharia Hidráulica e Saneamento).

ORIENTADOR: Prof. Dr. Luiz Antônio Daniel

São Carlos
2010

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

M488c Medeiros, Raphael Corrêa
 Comparação da resistência de protozoários patogênicos
 - *giardia* spp. e *cryptosporidium* spp. - e de
 microrganismos indicadores à desinfecção seqüencial
 cloro-irradiação ultravioleta e ozônio-irradiação
 ultravioleta / Raphael Corrêa Medeiros ; orientador Luiz
 Antônio Daniel. -- São Carlos, 2010.

 Dissertação (Mestrado-Programa de Pós-Graduação e Área
 de Concentração em Engenharia Hidráulica e Saneamento) --
 Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São
 Paulo, 2010.

 1. Desinfecção seqüencial. 2. Sinergismo.
 3. Cloro. 4. Ozônio. 5. Irradiação ultravioleta. 6. Esgoto
 sanitário. 7. Microrganismos indicadores. 8. *Giardia*,
 9. *Cryptosporidium*. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): Engenheiro **RAPHAEL CORRÊA MEDEIROS**

Dissertação defendida e julgada em 30/04/2010 perante a Comissão Julgadora:

Prof. Dr. **LUIZ ANTONIO DANIEL (Orientador)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)

APROVADO

Prof.^a. Dr.^a **REGINA MAURA BUENO FRANCO**
(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)

aprovado

Prof.^a. Dr.^a. **ANN HONOR MOUNTEER**
(Universidade Federal de Viçosa/UFV)

aprovado

Prof. Associado **MARCELO ZAIAT**
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Prof. Associado **GERALDO ROBERTO MARTINS DA COSTA**
Presidente da Comissão da Pós-Graduação da EESC

Dedicatória

À minha família, em especial aos meus pais, Nelson e Eva, minha vózinha Suely, meus irmãos.

Agradecimentos

A Deus e a todos os santos que sempre estiveram ao meu lado.

À Escola de Engenharia de São Carlos e ao Departamento de Hidráulica e Saneamento pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado.

À FAPESP, pelo apoio financeiro para realização desta pesquisa (processo 07/08499-3).

Ao professor Dr. Luiz Antônio Daniel, pelo apoio, sugestões, conselhos e constante orientação no decorrer de todo este trabalho.

Ao professor Dr. Clóvis Wesley O. de Souza, da UFSCar, pelas sugestões e boa vontade em atender-me.

Ao professor Tit. Jurandyr Povinelli, pelas valiosas sugestões.

À professora Dr. Regina Maura Bueno Franco e ao Nilson Branco, do Laboratório de Protozoologia da Unicamp, pela ajuda e sugestões, pelo treinamento na identificação de (oo)cistos de *Giardia* e *Cryptosporidium* e por providenciar os cistos de *Giardia*.

À Luciana Urbano dos Santos (Unicamp), grande agradecimento pelas respostas de alívio e de ajuda aos urgentes emails desesperados.

À professora Dra. Márcia da UFTM (Universidade Federal do Triângulo Mineiro), na obtenção de oocistos de *Cryptosporidium*.

À professora Dra. Ann Honor Mounteer da Universidade Federal de Viçosa (UFV), pela amizade, incentivo.

À professora Isali Dinaísa Lins de Oliveira, pela amizade e confiança.

Às secretárias: Sá e Pavi, pela atenção e ajudas.

À Rose, pelo bom humor e simpatia.

À Luci, técnica do Biotace, sou muito grato, pela hospitalidade e disponibilidade em atender-me nas leituras de absorbância.

À Maria Teresa, técnica do LATAR, pela ajuda principalmente nas análises de nitrogênio no FIA; outros amigos do LATAR, Gabriel, Eraldo, Adriano, Vivian.

Aos técnicos e ao Laboratório de Saneamento – Paulo, Júlio e Juliana, pela ajuda em análises que não puderam ser feitas no LATAR.

Ao Alcino, sempre disponível para ajudas na ETE – USP São Carlos.

Aos “atrasos de vida” do vôlei Caaso, pelos momentos de descontração, pelos campeonatos, lanches depois dos treinos e principalmente pela grande amizade.

À turma de mestrado – Aurélia, Fernanda, Kisner, Cláudio, Zé Luciano, Mélida, Rodrigo, Adriana, Dagoberto - que de uma forma ou de outra, sempre tentou se manter unida, mas sei que foi difícil, ainda mais quando todos queriam terminar o quanto antes suas dissertações.

À Juliana Lourenção e Luci Sartori pelas dicas e apoio.

Eternos agradecimentos à Liana Notari Pasqualini e à Renata de Oliveira Pereira; à grande amizade e ajuda.

Aos Amigos de longas datas e de todos os lugares por onde andei.

À Airina Louise F. Ribas, pela grande amizade.

Aos meus cachorros, que mesmo após muito tempo fora, me receberam com muitos pulos de alegria.

Àqueles que, de uma forma ou de outra, me incentivaram a concluir mais essa etapa da minha vida.

E, sem dúvida alguma, agradeço a minha família, que mesmo longe, sempre me deu suporte para trilhar o meu caminho. “Vim, vi e venci”, novamente.

“Os remos batem nas águas:
têm de ferir, para andar.
As águas vão consentindo -
esse é o destino do mar.”
(Cecília Meireles)

“É a vida que vale, que importa, a vida e nada
mais, o processo, a maneira de descobrir, a
tarefa perpétua e imorredoura. E não a
descoberta em si, absolutamente.”
(Fiodor Dostoiévski)

“Escrever é um modo de ser outro
sem deixar de ser agente mesmo.”
(Fernando Pessoa)

“Só existem dois dias que nada pode ser feito,
um se chama ontem e outro amanhã. Hoje é,
portanto, o dia certo para amar, acreditar, fazer
e principalmente viver.”
(Dalai Lama)

Resumo

MEDEIROS, R.C. (2010). **Comparação da resistência de protozoários patogênicos - *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. – e de microrganismos indicadores à desinfecção sequencial Cloro-Radiação Ultravioleta e Ozônio-Radiação Ultravioleta.** 210p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2010.

Este trabalho teve por objetivo estudar a desinfecção sequencial cloro-irradiação ultravioleta e ozônio-irradiação ultravioleta a fim de avaliar a resistência de microrganismos indicadores de poluição fecal – *E. coli*, coliformes totais e *Clostridium perfringens* – e compará-la à dos protozoários patogênicos: *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.. Houve, primeiramente, monitoramento do reator anaeróbio UASB cujo efluente foi utilizado neste estudo. Foi, então, verificado o comportamento das espécies residuais de cloro no esgoto e conduzido um estudo de parâmetros indicadores (pH, potencial de oxi-redução e condutividade) para o breakpoint. Na desinfecção, foram empregados o cloro, ozônio e irradiação ultravioleta; separados, e sequencialmente. Os ensaios realizados com ozônio promoveram remoção de DQO, sólidos e dos valores de absorvância em 254 nm, diferentemente do cloro. A ordem crescente de resistência à desinfecção foi: *E. coli* < coliformes totais < *C. perfringens* < protozoários. Houve correlação em alguns ensaios entre a bactéria esporulada *C. perfringens* e *Giardia* spp.. O efeito sinérgico, promovido pela desinfecção sequencial, foi evidenciado em alguns experimentos para *C. perfringens* e *Giardia* spp..

Palavras-chave: Desinfecção sequencial, sinergismo, cloro, ozônio, irradiação ultravioleta, esgoto sanitário, microrganismos indicadores, *Giardia*, *Cryptosporidium*.

Abstract

MEDEIROS, R.C. (2010). **Comparison of the resistance of pathogenic protozoa – *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. – and indicators microorganisms to sequential disinfection with Chlorine-Ultraviolet Radiation and Ozone-Ultraviolet Radiation.** 210p. Master's Degree Dissertation – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2010.

The present dissertation reports on the study of the sequential disinfection with chlorine-ultraviolet radiation and ozone-ultraviolet radiation to evaluate the resistance of microorganisms that indicate fecal pollution – *E. coli*, total coliforms and *Clostridium perfringens* – and compare it to the resistance of pathogenic protozoa: *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp.. Firstly, the UASB reactor, whose effluent was utilized in this study, was monitored. Then the behavior of the residual species of chlorine in the sanitary sewage was verified and a study of the indicating parameters (pH, oxi-reduction potential and conductivity) for the breakpoint was conducted. Chlorine, ozone and ultraviolet radiation were used separately and sequentially in the disinfection. Tests performed with ozone promoted removal of COD, solids and absorbance values of 254 nm, differently from chlorine. The order of resistance to disinfection was: *E. coli* < total coliforms < *Clostridium perfringens* < protozoa. There was a correlation in some tests between spore-forming bacterium *Clostridium perfringens* and *Giardia* spp.. The synergic effect caused by the sequential disinfection was observed in some experiments for *C. perfringens* and *Giardia* spp..

Keywords: Sequential disinfection, synergic effect, chlorine, ozone, ultraviolet radiation, sanitary sewage, indicators microorganisms, *Giardia*, *Cryptosporidium*.

Lista de Figuras

Figura 3.1 – Prevalência da Giardíase no Brasil, entre parasitoses gastrointestinais (Adaptado de CIMERMAN; CIMERMAN, 2003).	32
Figura 3.2: Ciclos de transmissão de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. (Adaptado de Hunter e Thompson, 2005).	33
Figura 3.3 – Ciclo da <i>Giardia</i> spp. no homem (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) adaptado por BASTOS et al., 2003).	34
Figura 3.4 - Ciclo biológico do <i>Cryptosporidium</i> spp. (CDC, adaptado por BASTOS et al., 2003)	37
Figura 3.5 – Diagrama esquemático da relação entre a determinação de viabilidade/infectividade (adaptado de DeRegnier et al., 1989)	52
Figura 3.6 – Principais processos de desinfecção de esgoto sanitário (adaptado de GONÇALVES et al., 2003a)	53
Figura 3.7 – Porcentagem de distribuição do ácido hipocloroso e íon hipoclorito na água de acordo com o pH e temperatura (METCALF; EDDY, 2003).	56
Figura 3.8 – Curva típica do Cloro Residual em águas contendo amônia. (CHERNICHARO et al., 2001b).	58
Figura 3.9 – Valores de CT para inativação de cistos de <i>Giardia</i> spp. (USEPA, 1999)	60
Figura 3.10 – Geração de ozônio por descarga corona (ASSIRATI, 2005 adaptado de USEPA, 1999).	61
Figura 3.11 - Mecanismo de decomposição do Ozônio (adaptado de LANGLAIS et al., 1991).	62
Figura 3.12 – Radiação UV no espectro eletromagnético (adaptado de USEPA, 2006).	65
Figura 3.13 - Absorção de luz UV pelo DNA (adaptado de KUZUHARA, 2005).	66
Figura 3.14 - Dimerização em decorrência da luz UV (adaptado de Earth Tech (Canadá) Inc., 2005)	66
Figura 4.1 - Vista parcial da ETE: A: tanque de equalização; B: RAALEX; C: UASB.	71
Figura 4.2 – Vertedor triangular de entrada de esgoto no reator UASB. A : válvula reguladora de vazão; B : marcação da altura de lâmina de esgoto no vertedor.	72

Figura 4.3 – Aparelho “jartest” (Modelo 101) utilizado nos experimentos.	73
Figura 4.4 – Diagrama geral dos ensaios de desinfecção com cloro, ozônio, radiação ultravioleta e de desinfecção sequencial.	75
Figura 4.5 - Detalhe do reator de desinfecção por radiação ultravioleta.	78
Figura 4.6 - Reator de Radiação UV: A – com lâmpadas ligadas; B- lâmpadas desligadas.	79
Figura 4.7 – Localização dos pontos para medição de radiação no reator de UV.	79
Figura 4.8 - Detalhe da unidade de ozonização.	81
Figura 4.9 – Ozonizador e rotâmetro.	83
Figura 4.10 – A: solução de KI + Ozônio; B: solução com coloração amarelo palha; C: solução no final da titulação – incolor.	84
Figura 4.11 – Coluna preenchida com solução de KI durante a calibração do ozonizador.	84
Figura 4.12 – Ilustração de algumas etapas da separação imunomagnética (IMS).	93
Figura 4.13 – A: Jarra de anaerobiose com placas com meio Águar m-CP; B: Jarra de anaerobiose com tubos contendo caldo tioglicolato; I: Envelope para sistema de anaerobiose; II: fita plástica indicadora de anaerobiose.	98
Figura 4.14 – Colônias de <i>C. perfringens</i> : antes e após contato com vapores de hidróxido de amônio.	99
Figura 4.15 – Tubos com caldo tioglicolato: todos positivos, exceto o tubo mais à direita.	99
Figura 4.16 – Tubos com meio de Leite modificado: negativo (esquerda) e positivo (direita).	100
Figura 4.17 – Placa não contaminada (esquerda) e Placa contaminada com coliformes totais e <i>E. coli</i> (direita).	101
Figura 5.1 – Relação da variação AI/AP e remoção de DQO.	107
Figura 5.2 – Relação da variação AI/AP e remoção de SST.	108
Figura 5.3 – Relação da remoção de DQO e da remoção de SST.	108
Figura 5.4 - Variação do CRL, CRC e CRT no tempo com aplicação de 5, 10 e 15 mg.L ⁻¹ de cloro.	111
Figura 5.5 - Comportamento do cloro residual livre e combinado em 10, 30 e 60 minutos e as curvas de breakpoint do esgoto, com relação ao cloro total.	114
Figura 5.6 - Variação do potencial de oxi-redução de acordo com a dose de cloro	116

aplicada e nos tempos de 10, 30 e 60 minutos.	
Figura 5.7 - Variação do pH de acordo com a dose de cloro aplicada e nos tempos de 10, 30 e 60 minutos.	116
Figura 5.8 - Variação da condutividade de acordo com a dose de cloro aplicada e nos tempos de 10, 30 e 60 minutos.	117
Figura 5.9 – Variação do pH nos ensaios com radiação UV.	124
Figura 5.10 – Variação do potencial oxi-redução durante os ensaios com radiação UV.	124
Figura 5.11 – Variação da alcalinidade total nos ensaios com radiação UV.	124
Figura 5.12 – Valores de DQO durante os ensaios com radiação UV.	126
Figura 5.13 – Valores de DQO filtrada durante os ensaios com radiação UV.	126
Figura 5.14 – Concentração de sólidos totais durante os ensaios com radiação UV.	127
Figura 5.15 – Concentração de sólidos suspensos totais durante os ensaios com radiação UV.	128
Figura 5.16 – Concentração de sólidos dissolvidos totais durante os ensaios com radiação UV.	128
Figura 5.17 – Concentração de nitrogênio amoniacal nos ensaios com radiação UV.	130
Figura 5.18 – Valores de absorvância (λ 254 nm) nos ensaios com radiação UV.	131
Figura 5.19 – Correlação entre absorvância 254 nm com DQO e DQO filtrada no esgoto bruto dos ensaios com radiação UV.	132
Figura 5.20 – Correlação entre absorvância 254 nm com DQO e DQO filtrada no esgoto pós-UV1.	132
Figura 5.21 – Correlação entre absorvância 254 nm com DQO e DQO filtrada no esgoto pós-UV2.	132
Figura 5.22 – Correlação entre absorvância 254 nm com sólidos no esgoto bruto dos ensaios com UV.	133
Figura 5.23 – Correlação entre absorvância 254 nm com sólidos no esgoto pós-UV1.	133
Figura 5.24 – Correlação entre absorvância 254 nm com sólidos no esgoto pós-UV2.	134
Figura 5.25 – Inativação de bactérias indicadoras com dose de 2,5 Wh.m ⁻³ de UV.	135
Figura 5.26 – Inativação de bactérias indicadoras com dose de 6,1 Wh.m ⁻³ de UV.	136

Figura 5.27 – Variação de pH do esgoto bruto, clorado, clorado seguido de UV1 e seguido de UV2.	139
Figura 5.28 – Valores de ORP para os ensaios com cloro e cloro seguido de UV.	140
Figura 5.29 – Valores de Alcalinidade nos ensaios com cloro e cloro seguido de radiação UV.	141
Figura 5.30 – Valores de DQO durante ensaios com cloro e cloro seguido de UV.	142
Figura 5.31 – Valores de DQO filtrada durante ensaios com cloro e cloro seguido de radiação UV.	142
Figura 5.32 – Valores de sólidos totais durante os ensaios com cloro e cloro seguido de radiação UV.	143
Figura 5.33 – Valores de sólidos suspensos totais durante os ensaios com cloro e cloro seguido de radiação ultravioleta.	144
Figura 5.34 – Valores de sólidos dissolvidos totais durante os ensaios com cloro e cloro seguido de radiação ultravioleta.	144
Figura 5.35 - Valores de nitrogênio amoniacal durante os ensaios com cloro e cloro seguido de radiação ultravioleta.	146
Figura 5.36 - Valores de absorbância 254 nm nos ensaios com cloro e cloro-UV.	148
Figura 5.37 – Inativação de bactérias indicadoras nos ensaios com cloro.	150
Figura 5.38 – Inativação de bactérias nos ensaios sequenciais cloro – radiação UV1.	152
Figura 5.39 - Inativação de bactérias nos ensaios sequenciais cloro – radiação UV2.	152
Figura 5.40 – Resultado de viabilidade de (oo)cistos com a utilização de iodeto de propídio após desinfecção sequencial (cloro-radiação ultravioleta).	154
Figura 5.41 – Curvas de calibração do gerador de ozônio com respectivas equações matemáticas.	156
Figura 5.42 – Variação de pH nos ensaios com ozônio e ozônio seguido de UV.	158
Figura 5.43 – Variação de ORP nos ensaios com ozônio e ozônio seguido de UV.	158
Figura 5.44 – Variação de Alcalinidade Total nos ensaios com ozônio e ozônio seguido de UV.	159
Figura 5.45 – Variação da DQO durante os ensaios com ozônio e ozônio-UV.	160
Figura 5.46 – Variação da DQO filtrada nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.	161
Figura 5.47 – Variação de sólidos totais nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.	162

Figura 5.48 – Variação dos sólidos suspensos totais nos ensaios com ozônio e ozônio-irradiação UV.	163
Figura 5.49 – Variação dos sólidos dissolvidos totais nos ensaios com ozônio e ozônio-irradiação UV.	163
Figura 5.50 – Variação dos valores de absorvância (254 nm) nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.	165
Figura 5.51 – Melhora da qualidade do efluente com a ozonização. A: esgoto bruto; B: esgoto após ensaio VI; C: esgoto após ensaio VII; D: esgoto após ensaio VIII.	166
Figura 5.52 – Inativação de bactérias nos ensaios apenas com ozônio.	168
Figura 5.53 – Inativação de bactérias na desinfecção sequencial ozônio – irradiação UV1.	169
Figura 5.54 – Inativação de bactérias na desinfecção sequencial ozônio – irradiação UV2.	170
Figura 5.55 – Efeito sinérgico com a desinfecção sequencial ozônio – irradiação UV sobre <i>Clostridium perfringens</i> . Ensaio VI, com ozônio e primeira dose de irradiação ultravioleta. As placas estão na mesma diluição.	171

Lista de Tabelas

Tabela 3.1 – Algumas das principais doenças de veiculação hídrica.	31
Tabela 3.2 - Espécies e principais hospedeiros da <i>Giardia</i> .	34
Tabela 3.3 - Espécies e principais hospedeiros de <i>Cryptosporidium</i> .	36
Tabela 3.4 - Concentração de (oo)cistos de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. encontrada no esgoto doméstico.	39
Tabela 3.5 - Indicadores alternativos de contaminação fecal.	46
Tabela 3.6 - Valores de CT para inativar 99% (2 log) de alguns microrganismos, a 5°C.	55
Tabela 4.1 - Características de cada ensaio de ozônio.	85
Tabela 4.2 – Métodos analíticos empregados para análises físico-químicas.	102
Tabela 5.1 – Médias e desvio padrão dos parâmetros analisados na caracterização do afluente e efluente do reator UASB.	104
Tabela 5.2 – Características de esgoto sanitário.	105
Tabela 5.3 – Remoção de DQO, sólidos e variação de AI/AP no reator UASB.	106
Tabela 5.4 – Correlações entre os parâmetros de monitoramento do reator UASB.	109
Tabela 5.5: Algumas reações principais da digestão anaeróbia (adaptado de CAMPOS, 1999).	109
Tabela 5.6 - Características do esgoto Bruto I e Bruto II no estudo do comportamento do cloro no esgoto, respectivamente para as etapas I e II (Média±DP).	110
Tabela 5.7 - Coeficientes de covariância (R) entre as curvas de cloro residual total nos tempos de 10, 30 e 60 minutos.	115
Tabela 5.8 – Coeficientes de covariâncias (R) entre cloro residual total da análise de breakpoint e os parâmetros pH, ORP e condutividade nos tempos de 10, 30 e 60 minutos.	118
Tabela 5.9 – Valores de NTK, Alcalinidade total, DQO, ST e SST após 60 minutos de tratamento com 10, 20, 50, 80 e 100 mg de cloro.L ⁻¹ .	118
Tabela 5.10 – ANOVA dos métodos de detecção de coliformes totais e <i>E. coli</i> .	119
Tabela 5.11 - Caracterização físico-química e microbiológica de efluentes de reatores UASB.	120
Tabela 5.12 – Ensaio de Recuperação de (oo)cistos de protozoários com IMS do	121

efluente do reator UASB da ETE da USP – São Carlos.	
Tabela 5.13 - Ensaio de Recuperação de (oo)cistos de protozoários sem IMS do efluente do reator UASB da ETE da USP – São Carlos.	121
Tabela 5.14 – Porcentagem de recuperação de (oo)cistos em esgoto sanitário (ROBERTSON et al., 2000).	122
Tabela 5.15 – Recuperação de oocistos em águas residuárias (McCUIN; CLANCY, 2005).	122
Tabela 5.16 – Média ($\pm$ DP) dos valores de pH, ORP e Alcalinidade total nos ensaios com radiação UV.	125
Tabela 5.17 – Média ($\pm$ DP) dos valores de DQO e DQO filtrada nos ensaios com radiação UV.	127
Tabela 5.18 – Comportamento de sólidos durante os ensaios com radiação UV.	129
Tabela 5.19 – Média ($\pm$ DP) dos valores de ST, SST e SDT nos ensaios com radiação UV.	129
Tabela 5.20 - Média ($\pm$ DP) dos valores de nitrogênio amoniacal nos ensaios com radiação UV.	130
Tabela 5.21 - Média ($\pm$ DP) dos valores de absorbância a 254 nm nos ensaios com radiação UV.	131
Tabela 5.22 – Resultado da inativação de bactérias, apenas por radiação ultravioleta.	135
Tabela 5.23 – Resultado da inativação de protozoários, apenas por radiação ultravioleta.	137
Tabela 5.24 – Correlação entre parâmetros físico-químicos e microbiológicos dos ensaios nos quais foi aplicada apenas a radiação ultravioleta.	138
Tabela 5.25 – Média ($\pm$ DP) dos valores de pH, ORP e Alcalinidade total nos ensaios com cloro e cloro seguido de radiação ultravioleta.	141
Tabela 5.26 – Média ($\pm$ DP) dos valores de DQO e DQO filtrada nos ensaios com cloro e cloro-radiação UV.	143
Tabela 5.27 – Variação de sólidos nos ensaios com cloro e cloro seguido de radiação ultravioleta.	145
Tabela 5.28 – Média ($\pm$ DP) dos valores de ST, SST e SDT nos ensaios com cloro e cloro-radiação UV.	146
Tabela 5.29 - Média ($\pm$ DP) dos valores de nitrogênio amoniacal nos ensaios com	147

cloro e cloro-irradiação ultravioleta.	
Tabela 5.30 - Média ($\pm$ DP) dos valores de absorbância a 254 nm nos ensaios com cloro e cloro-irradiação UV.	148
Tabela 5.31 – Resultado da desinfecção de protozoários por cloro e cloro seguido de irradiação ultravioleta.	149
Tabela 5.32 – Resultado da desinfecção de bactérias por cloro e cloro seguido de irradiação ultravioleta.	150
Tabela 5.33 – Sinergismo na desinfecção sequencial Cloro – Irradiação UV.	153
Tabela 5.34 – Produção de ozônio na calibração do gerador de ozônio.	155
Tabela 5.35 – Algumas características dos ensaios com ozônio.	156
Tabela 5.36 – Balanço de massa dos ensaios com ozônio.	157
Tabela 5.37 – Taxa de consumo e CT dos ensaios com ozônio.	157
Tabela 5.38 – Média ($\pm$ DP) dos valores de pH, ORP e Alcalinidade total nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.	160
Tabela 5.39 – Média ($\pm$ DP) dos valores de DQO e DQO filtrada nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.	161
Tabela 5.40 – Variação da remoção de DQO e DQO filtrada nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.	162
Tabela 5.41 – Média ($\pm$ DP) dos valores de ST, SST e SDT nos ensaios com ozônio e ozônio-irradiação UV.	164
Tabela 5.42 – Variação da remoção de sólidos nos ensaios com ozônio e ozônio-irradiação UV.	164
Tabela 5.43 - Média ($\pm$ DP) dos valores de nitrogênio amoniacal nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.	165
Tabela 5.44 - Média ($\pm$ DP) dos valores de absorbância a 254 nm nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.	166
Tabela 5.45 – Resultados da desinfecção de bactérias indicadoras nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.	167
Tabela 5.46 – Resultados da desinfecção de protozoários patogênicos nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.	167
Tabela 5.47 – Sinergismo na desinfecção sequencial Ozônio – Irradiação UV.	172
Tabela A1 – Caracterização física e química do esgoto afluente e efluente ao reator UASB - Avaliações 1 e 2.	196

Tabela A2 – Caracterização física e química do esgoto afluyente e efluente ao reator UASB - Avaliações 3 e 4.	196
Tabela A3 – Caracterização física e química do esgoto afluyente e efluente ao reator UASB - Avaliações 5 e 6.	197
Tabela A4 – Caracterização física e química do esgoto afluyente e efluente ao reator UASB - Avaliações 7 e 8.	197
Tabela A5 – Resultados dos ensaios I e II com aplicação de radiação UV.	198
Tabela A6 – Resultados dos ensaios III e IV com aplicação de radiação UV.	199
Tabela A7 – Resultados dos ensaios V e VI com aplicação de radiação UV.	200
Tabela A8 – Dose aplicada e recebida durante os ensaios com radiação UV.	201
Tabela A9 – Resultados obtidos no ensaio I (Cloro e cloro-radiação ultravioleta).	202
Tabela A10– Resultados obtidos no ensaio II (Cloro e cloro-radiação ultravioleta).	203
Tabela A11– Resultados obtidos no ensaio III (Cloro e cloro-radiação ultravioleta).	204
Tabela A12 – Resultados obtidos no ensaio IV (Cloro e cloro-radiação ultravioleta).	205
Tabela A13 – Resultados obtidos no ensaio V (Cloro e cloro-radiação ultravioleta).	206
Tabela A14 – Resultados obtidos com ozônio no ensaio VI – 11 mg O ₃ .L ⁻¹ ; 10 minutos – e sequencial (ozônio-radiação ultravioleta).	207
Tabela A15 – Resultados obtidos com ozônio no ensaio VII – 11,7 mg O ₃ .L ⁻¹ ; 20 minutos – e sequencial (ozônio-radiação ultravioleta).	208
Tabela A16 – Resultados obtidos com ozônio no ensaio VIII – 16,5 mg O ₃ .L ⁻¹ ; 30 minutos – e sequencial (ozônio-radiação ultravioleta).	209
Tabela A17 – Número de (oo)cistos contabilizados nos wells para inferir viabilidade aos ensaios de desinfecção com cloro, ozônio, UV e sequenciais (Cl-UV e O ₃ -UV).	210

Lista de Abreviaturas e Siglas

Abs: Absorbância em 254nm

ANOVA: Analysis of Variance / análise de variância

AI: Alcalinidade intermediária

AP: Alcalinidade parcial

AT: Alcalinidade total

APHA: American Public Health Association

AWWA: American Water Works Association

CETESB: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

COT: Carbono Orgânico Total

CP: *Clostridium perfringens*

CRC: Cloro residual combinado

CRL: Cloro residual livre

CRT: Cloro residual total

CT: Concentração x tempo de contato

DAPI: 4',6-diamidino-2fenil-indol

DNA: Ácido desoxirribonucleico

DP: Desvio padrão

DQO: Demanda Química de Oxigênio

DQO_{filt}: DQO da amostra filtrada.

EB: Esgoto Bruto

EC: Esgoto clorado

EC-UV1: Esgoto clorado submetido à primeira dose de radiação ultravioleta

EC-UV2: Esgoto clorado submetido à segunda dose de radiação ultravioleta

EO: Esgoto ozonizado

EO-UV1: Esgoto ozonizado submetido à primeira dose de radiação ultravioleta

EO-UV2: Esgoto ozonizado submetido à segunda dose de radiação ultravioleta

EESC: Escola de Engenharia de São Carlos

ETA: Estação de Tratamento de Água

ETE: Estação de Tratamento de Esgoto

FITC: Isotiocianato de fluoresceína

Gl: grau de liberdade

ICR: Information Collection Rule.

IMS: Separação Imunomagnética

KI: Iodeto de potássio

LATAR: Laboratório de Tratamento Avançado e Reúso de Água

MCP: Concentrador de partículas magnéticas

MQ: Média de Quadrados (ANOVA)

Nd: Não detectado

N-NH₃: Nitrogênio Amoniacal

NR: Não realizado

NTK: Nitrogênio Total Kjeldahl

ORP: Potencial de oxi-redução

PCR: Polymerase Chain Reaction

PMA: Propídio monoazida

PMS: Produtos microbianos solúveis

PSA: Pressure Swing Adsorption

RAALEX: Reator anaeróbio-aeróbio de leito expandido

RID: Reação de Imunofluorescência Direta

RNA: Ácido ribonucléico

SdT: Sólidos dissolvidos totais

SQ: Soma de quadrados (ANOVA)

SST: Sólidos suspensos totais

ST: Sólidos totais

TDH: Tempo de detenção hidráulica

uT: Unidade de Turbidez

UASB: Upflow anaerobic sludge blanket/ reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo.

UFC: Unidade formado de colônia.

UFTM: Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Unicamp: Universidade Estadual de Campinas

USEPA: U. S. Environmental Protection Agency

USP: Universidade de São Paulo

UV: Ultravioleta

UV1: Dose de radiação ultravioleta de 2,5 Wh.m⁻³

UV2: Dose de radiação ultravioleta de 6,1 Wh.m⁻³

WEF: Water Environmental Federation

WHO: World Health Organization

Lista de Símbolos

λ : comprimento de onda

$^{\circ}\text{C}$: graus Celsius

a : coeficiente de extinção [cm^{-1}]

A : absorvância a 254 nm, cubeta de 1,0 cm;

A_i : Área de influência do ponto de medição i

D : dosagem [M] [L^{-1}]

D_r : dose recebida por volume [Wh.m^{-3}]

i : número de cistos e oocistos inoculados

I_i : Intensidade de radiação no ponto i [mW.cm^{-2}]

I_m : Intensidade média de radiação

I_o : Intensidade de radiação na superfície do reator [mW.cm^{-2}]

L : espessura da lâmina líquida ou caminho óptico [cm]

M_A : massa aplicada de ozônio [M]

M_{NT} : Massa de ozônio não transferida (offgás) [M]

M_R : massa residual de ozônio [M]

M_T : massa transferida ao meio líquido [M]

n : pontos de medição (1, 2, 3, ...).

N_{tio} : normalidade da solução de tiosulfato de sódio

$[\text{O}_3]_{\text{offgás}}$: concentração de ozônio no offgás [M] [L^{-1}]

$[\text{O}_3]_R$: Concentração de ozônio residual [M] [L^{-1}]

P : produção de ozônio [$\text{g O}_3.\text{h}^{-1}$]

R : número de cistos e oocistos recuperados

T : tempo de contato [T]

V : volume [L]

V_{am} : volume de amostra titulada [L]

V_b : volume de tiosulfato de sódio gasto na titulação do branco [L]

V_{ef} : Volume do efluente ozonizado [L]

V_{KI} : volume de solução de KI adicionada na coluna de ozonização [L]

$V_{\text{offgás}}$: Volume de solução de KI (2%) adicionado no frasco lavador de gás [L]

V_{tio} : Volume de tiosulfato gasto na titulação da amostra [L]

X : número de (oo)cistos por litro

Y : eficiência de recuperação [%]

Sumário

1 – INTRODUÇÃO	27
2 – OBJETIVO	28
3 - REVISÃO DE LITERATURA	29
3.1 - Doenças de Veiculação Hídrica	30
3.2 – <i>Giardia</i> spp.	33
3.3 – <i>Cryptosporidium</i> spp.	36
3.4 - Presença de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. no esgoto e em águas superficiais	38
3.5 – Microrganismos indicadores de contaminação fecal	41
3.5.1 – <u>Microrganismos indicadores para <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp.</u>	43
3.6 - Retenção de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. em ETEs	46
3.7 – Métodos de detecção e identificação para <i>Giardia</i> e <i>Cryptosporidium</i>	49
3.7.1 – <u>Amostragem e Concentração</u>	49
3.7.2 – <u>Purificação e Separação</u>	50
3.7.3 – <u>Avaliação e Identificação</u>	50
3.7.4 – <u>Viabilidade/Infectividade</u>	51
3.8 – Desinfecção de Esgoto Sanitário	52
3.8.1 – <u>Desinfecção Química</u>	54
3.8.2 – <u>Cloro</u>	55
3.8.3 – <u>Ozônio</u>	60
3.8.4 - <u>Radiação Ultravioleta</u>	64
3.8.5 – <u>Tratamentos Sequenciais</u>	64
4 - MATERIAL E MÉTODOS	71
4.1 – Monitoramento do Reator UASB	71
4.2 – Estudo das espécies residuais de cloro no esgoto e parâmetros indicadores	73
4.2.1 – <u>Etapa I - Comportamento das espécies residuais de cloro no esgoto</u>	74
4.2.2 – <u>Etapa II – Análise de Breakpoint e parâmetros indicadores</u>	74
4.3 – Ensaio de Desinfecção	75
4.3.1 – <u>Ensaio com Cloro</u>	76

4.3.2 – <u>Ensaio com Radiação Ultravioleta</u>	77
4.3.3 – <u>Ensaio com Ozônio</u>	81
4.3.3.1 – Curva de Calibração do Ozonizador	82
4.3.3.2 – Ensaio de desinfecção com ozônio	85
4.3.3.3 – Cálculo da produção de ozônio	86
4.3.3.4 – Balanço de massa do ozônio dissolvido na fase líquida	87
4.3.3.5 – Cálculo dos valores de concentração x tempo (CT) para ozônio	89
4.3.4 – <u>Ensaio Sequenciais</u>	90
4.4 – Exames Microbiológicos	90
4.4.1 - <u><i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp.</u>	90
4.4.1.1 – Concentração das amostras	90
4.4.1.2 – Purificação das amostras	91
4.4.1.3 – Dissociação ácida de (oo)cistos	93
4.4.1.4 – Detecção de (oo)cistos	94
4.4.1.5 – Contagem de (oo)cistos	95
4.4.1.6 – Viabilidade de (oo)cistos	96
4.4.1.7 – Experimentos-controle da técnica de detecção	96
4.4.2 - <u><i>Clostridium perfringens</i></u>	97
4.4.3 - <u><i>Escherichia coli</i> e Coliformes Totais</u>	100
4.5 – Análise dos parâmetros físico-químicos	101
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	103
5.1 – Monitoramento do Reator UASB	103
5.2 - Comportamento do cloro no esgoto sanitário	110
5.2.1 - <u>Estudo dos residuais de cloro no esgoto</u>	110
5.2.2 - <u>Breakpoint e parâmetros indicadores</u>	113
5.3 – Ensaio de Desinfecção	119
5.3.1 – <u>Considerações Iniciais</u>	119
5.3.2 – <u>Ensaio com Radiação Ultravioleta</u>	123
5.3.2.1 – pH, ORP e Alcalinidade	123
5.3.2.2 – DQO e DQO filtrada	125
5.3.2.3 – Sólidos Totais, Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Dissolvidos Totais	127
5.3.2.4 – Nitrogênio Amoniacal	129

5.3.2.5 – Absorbância 254 nm	130
5.3.2.6 – Desinfecção com Radiação Ultravioleta	134
5.3.3 – <u>Ensaio com Cloro</u>	134
5.3.3.1 – pH, ORP e Alcalinidade	138
5.3.3.2 – DQO e DQO filtrada	141
5.3.3.3 – Sólidos Totais, Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Dissolvidos Totais	143
5.3.3.4 – Nitrogênio Amoniacal	146
5.3.3.5 – Absorbância a 254 nm	147
5.3.3.6 – Desinfecção apenas com cloro	149
5.3.3.7 – Desinfecção Sequencial: Cloro – Radiação Ultravioleta	151
5.3.4 – <u>Ensaio com Ozônio</u>	155
5.3.4.1 – Curva de Calibração do Gerador de Ozônio	155
5.3.4.2 – Ensaio com ozônio e Balanço de Massa	156
5.3.4.3 – pH, ORP e Alcalinidade Total	158
5.3.4.4 – DQO e DQO filtrada	160
5.3.4.5 – Sólidos Totais, Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Dissolvidos Totais	162
5.3.4.6 – Nitrogênio Amoniacal	165
5.3.4.7 – Absorbância 254 nm	165
5.3.4.8 – Desinfecção apenas com Ozônio	166
5.3.4.9 – Desinfecção Sequencial: Ozônio – Radiação Ultravioleta	169
6 – CONCLUSÕES	173
7 – SUGESTÕES	176
8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	177
9 – APÊNDICE	196

1 – INTRODUÇÃO

Os mananciais estão cada vez mais prejudicados com o descaso em relação à quantidade e qualidade da água, pois se tornaram receptores de águas residuárias domésticas e industriais. Houve assim, um acréscimo da quantidade de organismos patogênicos e o risco de contaminação dos usuários dessas fontes hídricas. Em vista disso, há a presente necessidade de se avaliar a presença de organismos patogênicos relacionados diretamente às doenças de veiculação hídrica.

Em um país ainda carente de políticas públicas para o saneamento, o risco de epidemias adquiridas pelo contato com águas contaminadas é extremamente preocupante. Assim, não só o tratamento de esgoto doméstico é essencial, como também a sua posterior desinfecção, visto a elevada concentração de patógenos até mesmo em efluentes tratados.

A desinfecção de esgoto tem como objetivo primário a inativação de organismos patogênicos a fim de combater a disseminação de doenças de veiculação hídrica, e assim resguardar a população de possíveis enfermidades.

Entre os diversos organismos patogênicos presentes na água, *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. realçam preocupações devido: à baixa dose infectante, sobrevivência em ambientes desfavoráveis, eliminados em grande número por indivíduos doentes e assintomáticos.

A literatura explicita inúmeros relatos e trabalhos sobre surtos de protozooses, principalmente giardíase e criptosporidiose, em águas de abastecimento tratadas e desinfetadas. Isso traz preocupações para a saúde pública no ponto de vista do monitoramento microbiológico, levando a indagar o verdadeiro alcance dos tradicionais indicadores – bactérias do grupo coliforme. Assim, surge também a necessidade de estudar a utilização de outros indicadores para protozoários, como por exemplo, a bactéria formadora de esporos, *Clostridium perfringens*.

2 – OBJETIVO

- Avaliar e comparar a resistência dos microrganismos indicadores e dos protozoários - *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. - aos desinfetantes: cloro, ozônio e radiação ultravioleta.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Monitorar o Reator UASB (Upflow anaerobic sludge blanket), cujo efluente foi utilizado para estudo.
- Avaliar o comportamento de espécies residuais de cloro - cloro residual livre, cloro residual combinado e cloro residual total - no esgoto.
- Estudar o breakpoint do cloro no esgoto sanitário.
- Investigar os parâmetros pH, potencial de oxi-redução (ORP) e condutividade como indicadores de breakpoint.
- Analisar os efeitos das desinfecções individuais (cloro, ozônio e radiação ultravioleta) e sequenciais (cloro – radiação ultravioleta e ozônio – radiação ultravioleta) nos microrganismos estudados.
- Comparar a resistência das bactérias *Clostridium perfringens*, coliformes totais e *Escherichia coli* e dos cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. aos desinfetantes.
- Verificar a ocorrência de sinergismo na desinfecção sequencial.
- Avaliar se a bactéria *C. perfringens* pode ser utilizada como indicador de protozoários.

3 - REVISÃO DE LITERATURA

O lançamento de esgoto *in natura* em corpos d'água é um dos principais problemas de saúde pública e investimentos em reúso de águas residuárias devem fazer parte de metas de gestão de recursos hídricos (ROSE, 2007).

O conceito de barreiras múltiplas envolve desde a proteção dos mananciais (superficiais e subterrâneos) até a otimização dos processos de tratamento de água e de sistemas de distribuição (EDZWALD; KELLEY, 1998). Dessa maneira, a gestão de recursos hídricos precisa ser ampliada até o lançamento de esgotos tratados e desinfetados, pois esgotos não desinfetados quando lançados nos corpos receptores, ou reutilizados, podem representar riscos à saúde pública (ROBERTSON et al., 2000).

Assim sendo, um curso d'água que serve de provedor de água para abastecimento público, também é um receptor de efluentes. No caso de esgoto sanitário, a concentração de microrganismos patogênicos, por ser muito grande, representa risco direto à população, mesmo quando tratado.

A frequência de detecção de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. na água filtrada está relacionada às concentrações de (oo)cistos na água bruta de mananciais (BETANCOURT; ROSE, 2004; LECHEVALIER; NORTON, 1995). Reservatórios protegidos apresentam dez vezes menos oocistos quando comparados àqueles com água poluída. Por conseguinte, um processo eficiente de tratamento de esgoto, com alta remoção e inativação de microrganismos, diminui o aporte de patógenos aos mananciais. (CASTRO-HERMIDA et al., 2008; EDZWALD; KELLEY, 1998).

O reúso de águas provenientes do tratamento de esgoto possui papel significativo no tocante às demandas hídricas de áreas áridas, populosas, seja na irrigação de alimentos, de pasto para a pecuária, chegando, em alguns casos, ao reúso para água potável, vindo a ser uma fonte de contaminação do ambiente (ROBERTSON et al., 2006; RYU et al., 2007). A partir deste fato, constata-se a importância das Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs) e da etapa de desinfecção como mais uma barreira para reduzir a concentração de microrganismos, entre eles, os patogênicos.

3.1 - DOENÇAS DE VEICULAÇÃO HÍDRICA

As principais fontes de contaminação da água, segundo Medema e Schijven (2001) e Rose et al. (1991) são: despejo de esgoto doméstico tratado e não tratado, práticas agrícolas inadequadas de reúso de esgoto, animais silvestres, pecuária intensiva, entre outros. Esses dados são também confirmados pelo relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo (CETESB, 2008).

Os mecanismos de transmissão de doenças veiculadas pela água são bastante variados: desde a ingestão de água e alimentos contaminados; contato com fômites; inalação (aerossóis); contato com água contaminada (banho, por exemplo); até à deficiência na higiene pela insuficiência da quantidade de água (HELLER; PÁDUA, 2006; WHO, 2006).

Há ainda doenças consideradas “emergentes”, que por definição, são as relatadas mais recentemente e cuja epidemiologia, a qual explica as causas e padrões de ocorrência, não foram ainda totalmente elucidadas. O agente patogênico pode ser uma espécie nova ou um organismo já existente, como exemplos: *Cryptosporidium*, *Legionella*, *Campylobacter* (BASTOS et al., 2003).

Alguns dos mais importantes agentes patogênicos presentes na água - tanto em relação ao número de casos já relatados na literatura, quanto em preocupação no contexto de concentração excretada e respectiva dose infectante, estão citados na tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Algumas das principais doenças de veiculação hídrica.

Agente	Doença	Concentração	Dose
		Excretada (por grama de fezes)	Infectante (nº de organismos)
<i>Salmonella typhi</i> ⁽¹⁾	Febre Tifóide	10 ⁶	10 ⁵ – 10 ⁹
<i>Shigella</i> spp. ⁽¹⁾	Disenteria Bacilar	10 ⁶	10 – 100
<i>Vibrio cholerae</i> ⁽¹⁾	Cólera	10 ⁶	10 ⁸
<i>Enterovirus</i> ⁽²⁾	Gastroenterite	10 ⁶	<100
Vírus da Hepatite A ⁽²⁾	Gastroenterite	10 ⁶	<100
<i>Giardia lamblia</i> ⁽³⁾	Giardíase	10 ⁵	< 10
<i>Cryptosporidium</i> sp ⁽³⁾	Criptosporidiose	10 ⁶	< 10
<i>Entamoeba histolytica</i> ⁽³⁾	Amebíase	10 ⁵ -10 ⁷	<100
<i>Ascaris lumbricoides</i> ⁽⁴⁾	Ascaridíase	10 - 10 ⁴	< 10
<i>Ancylostoma duodenale</i> ⁽⁴⁾	Ancilostomose	10 - 100	< 10
<i>Taenia</i> ⁽⁴⁾	Teníase	10 ⁵	< 10

Fonte: BASTOS et al., 2003; HELLER; PÁDUA, 2006; USEPA, 1999; WEF, 1996; WHO, 2006.

⁽¹⁾Bactéria; ⁽²⁾Vírus; ⁽³⁾Protozoário; ⁽⁴⁾Helminto.

De acordo com Bouzid et al. (2008), as três protozooses mais importantes advindas pela água são: criptosporidiose, giardíase e amebíase. Estima-se que só a amebíase atinge mais de 400 milhões de pessoas no mundo e a giardíase, 200 milhões.

Os protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. destacam-se em razão da elevada concentração eliminada e baixa dose infectante (HELLER; PADUA, 2006). A giardíase possui prevalência de 2 a 5% na população de países industrializados e de 20 a 30 % em países em desenvolvimento (WHO, 2006).

No Brasil, como pode ser visualizado na figura (3.1), a giardíase apresenta grande variabilidade na prevalência entre as parasitoses gastrointestinais.

Figura 3.1 – Prevalência da Giardíase no Brasil, entre parasitoses gastrointestinais (Adaptado de CIMERMAN; CIMERMAN, 2003).

Mascarini e Donalísio (2006) encontraram prevalência para *Giardia* spp. de 23,7% em 2002 e 21,4% em 2003; já para *Cryptosporidium* spp.: 15,5% em 2002 e de 3,7% no ano de 2003 em estudo realizado em creches municipais da cidade de Botucatu, SP. Machado et al. (1999) encontraram prevalência de *Giardia* spp. de até 61,1% em crianças de creches de Mirassol, SP.

Na Suécia e Inglaterra mais de 10% dos surtos causados por doenças de veiculação hídrica foram devido a *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp.; nos Estados Unidos, chegam a 20% (KRAMER et al., 2001).

Segundo Payment e Hunter (2001), alguns estudos indicam que doenças gastrointestinais variam de 0,5 a 2,0 episódios/ano/habitante, com variações principalmente devido à idade do indivíduo e a estação do ano.

Os diferentes ciclos de transmissão de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. estão indicados na figura (3.2), onde podem ser observadas as muitas incertezas principalmente na interação entre os ciclos - parte zoonótica de transmissão desses protozoários ao homem.

Figura 3.2: Ciclos de transmissão de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. (Adaptado de Hunter e Thompson, 2005).

⁽¹⁾ Os pontos de interrogação indicam incertezas na interação.

3.2 – GIARDIA SPP.

A *Giardia lamblia* (sinônimos: *G. duodenalis* e *G. intestinalis*) é um protozoário flagelado, descoberto por Antonie van Leeuwenhoek em 1681, em suas próprias fezes. Em 1879, Grassi descobriu a forma cística, e a nomeação atual deste protozoário foi empregada em 1915, como homenagem ao professor Alfred Giard (ADAM, 2001; CIMERMAN; CIMERMAN; 2003, 2004; SAGAYAR, 1997; WOLFE, 1992).

O gênero *Giardia* pertence à família *Hexamitidae*. A análise do RNA ribossômico revelou a *Giardia* spp. como mais primitivo ser eucariótico, devido principalmente à falta de definição de organelas, como o Complexo de Golgi e mitocôndrias (CIMERMAN, CIMERMAN, 2003). Com base na morfologia dos trofozoítos, existem seis espécies de *Giardia* - expostas na tabela 3.2 – sendo que a *Giardia duodenalis* possui ainda sete grupos genéticos ou *Assemblages* (CARVALHO, 2009).

Tabela 3.2 - Espécies e principais hospedeiros da *Giardia*.

Espécies	Principais Hospedeiros
<i>G. duodenalis</i>	Homem e outros primatas, cães, gatos, roedores, outros animais selvagens.
<i>G. agilis</i>	Anfíbios
<i>G. muris</i>	Roedores
<i>G. psittaci</i>	Aves
<i>G. ardeae</i>	Aves
<i>G. microti</i>	Roedores

Fonte: Adaptado de Carvalho (2009) e Monis et al.(2009).

A *Giardia* spp. apresenta-se em duas formas: trofozoíto e cisto. A primeira é a forma ativa, na qual ele se alimenta e se reproduz, tem formato de pêra, com aproximadamente 8 a 18 µm de comprimento e 5 a 15 de largura, e possuem dois núcleos e quatro pares de flagelos. O cisto é uma forma de resistência ou inativa, tem formato oval com aproximadamente de 8 a 12 µm de comprimento, por 7 a 10 µm de largura e uma “parede” de 0,3 a 0,5 µm de espessura, possuindo dois ou quatro núcleos (ADAM, 2001; HERESI et al., 2000; SAGAYAR, 1997; USEPA, 2005; WOLFE, 1992).

A figura (3.3) ilustra o ciclo da *Giardia* spp. no hospedeiro humano.

Figura 3.3 – Ciclo da *Giardia* spp. no homem (Centers for Disease Control and Prevention (CDC), adaptado por BASTOS et al., 2003).

A *Giardia* spp. é ingerida na água e em alimentos contaminados na forma encistada, pois não sobreviveria no ambiente externo ao hospedeiro no estágio vegetativo (trofozoíto). Após ingestão do cisto, ocorre o desencistamento e posterior liberação do trofozoíto no estômago, com o favorecimento do ambiente ácido. No intestino delgado, há a reprodução do trofozoíto por fissão binária. E quando exposto à bile, o trofozoíto se encista no intestino grosso, sendo depois eliminado com as fezes. (ADAM, 2001; BASTOS et al., 2003; HERESI et al., 2000; SAGAYAR, 1997; WOLFE, 1992).

Além disso, os cistos podem ser eliminados por pessoas e animais doentes – sintomáticos – e, também, por assintomáticos. Pode gerar infecções severas com diarreia crônica e má absorção intestinal. O período de incubação varia de uma a duas semanas antes do aparecimento dos sintomas, entre eles: diarreia, náuseas, desconforto abdominal e perda de peso (CIMERMAN; CIMERMAN, 2003; HERESI et al., 2000; WOLFE, 1992).

Para tratamento, existem várias drogas – secnidazol; tinidazol, metronidazol, albendazol, paramomicina - com eficácia de 55 a 97%, apresentando muitas vezes efeitos adversos e contra-indicações, principalmente para pacientes grávidas. Algumas drogas podem acarretar possível teratogenicidade (CIMERMAN; CIMERMAN, 2004; HERESI et al., 2000; WOLFE, 1992).

Os principais fatores de risco sintetizados por Hunter e Thompson (2005) em estudos de caso-controle para giardíase são: uso de água superficial não clorada; contato com esgoto; contato com animais de estimação e animais de fazenda; viagem a locais com alta incidência; recreação em piscinas, lagos, lagoas contaminados; falta de higiene no preparo de alimentos; contato com crianças que ainda usam fraldas; falta de lavar as mãos adequadamente.

É o protozoário que mais está associado a doenças diarreicas no mundo; só em 1981, 28% dos surtos reportados foram de giardíase (ADAM, 2001; WEF, 1996). Seus cistos estão altamente dispersos no ambiente e modelos estatísticos puderam concluir que a densidade do patógeno está ligada a parâmetros de qualidade da água bruta (LECHEVALIER et al., 1991a).

Medema et al. (1997) mencionam que cistos são capazes de sobreviver em condições ambientais desfavoráveis – stress – o que garante maiores chances de atingir novo hospedeiro susceptível. A persistência no ambiente aquático, resistência à desinfecção por cloro e infectividade são características que fazem da *Giardia* spp. um patógeno de alto risco para a saúde pública (MEDEMA; SCHIJVEN, 2001; SAGAYAR, 1997).

3.3 – CRYPTOSPORIDIUM SPP.

O gênero *Cryptosporidium* foi descoberto pelo parasitologista Ernest Edward Tyzzer em 1907 (TZIPORI; WIDMER, 2008). A criptosporidiose foi verificada em humanos apenas em 1976, quando se tornou comum em pacientes com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS), também ocorrendo com maior frequência em outros indivíduos imunocomprometidos, como por exemplo, pacientes transplantados e pacientes recebendo quimioterapia para câncer. (CIMERMAN; CIMERMAN, 2004; FAYER et al., 2000; HUNTER; THOMPSON, 2005).

Sua transmissão por via hídrica foi confirmada somente em 1984. Em 1993, esse protozoário foi responsável pelo maior surto de doença de veiculação hídrica já documentado, quando mais de 400 mil pessoas foram infectadas em Milwaukee, EUA (WHO, 2006).

São reconhecidas 19 espécies de *Cryptosporidium* as quais foram confirmadas por dados moleculares, morfológicos e biológicos, como apresentado na tabela 3.3. Segundo Carvalho (2009) falta uma uniformidade na nomenclatura usada pelos pesquisadores.

Tabela 3.3 - Espécies e principais hospedeiros de *Cryptosporidium*.

Espécies	Principais Hospedeiros
<i>C. muris</i>	Roedores
<i>C. parvum</i>	Gado, animais domésticos, homem.
<i>C. meleagridis</i>	Aves e homem
<i>C. wrairi</i>	Porcos da Guiné
<i>C. felis</i>	Gatos
<i>C. serpentis</i>	Cobras
<i>C. baileyi</i>	Aves domésticas
<i>C. galli</i>	Aves
<i>C. andersoni</i>	Gado
<i>C. canis</i>	Cães
<i>C. molnari</i>	Peixes
<i>C. scophthalmi</i>	Peixes
<i>C. varanii</i>	Lagartos
<i>C. bovis</i>	Gado
<i>C. ryanae</i>	Gado
<i>C. fayeri</i>	Canguru
<i>C. macropodum</i>	Canguru
<i>C. hominis</i>	Homem
<i>C. suis</i>	Porcos

Fonte: Carvalho, 2009; Fayer, 2010.

A maioria dos oocistos possui forma esférica - oval, medindo de 4 a 6 μm de diâmetro; mas varia de acordo com a espécie. Esta é a forma pela qual ocorre a transmissão da doença, de um hospedeiro infectado para um susceptível. As rotas de transmissão são do tipo fecal – oral e podem ser: pessoa-pessoa por contato direto ou indireto; animal-animal; animal-homem; água contaminada; comida contaminada (FAYER et al., 2000).

O ciclo de vida do *Cryptosporidium* spp. é mais complexo se comparado com a *Giardia* spp., pois possui estágios de reprodução assexuada e sexuada para se ter a formação do oocisto, como pode ser visualizado na figura 3.4.

Figura 3.4 - Ciclo biológico do *Cryptosporidium* spp. (CDC, adaptado por BASTOS et al., 2003)

Os oocistos ingeridos liberam esporozoítos no intestino delgado, os quais penetram nas células epiteliais e se transformam em trofozoítos. Após os ciclos assexuado e sexuado de reprodução, são formados dois tipos de oocistos: um de parede espessa (80%) que é liberado no ambiente junto com as fezes; e outro de parede mais fina (20%) que talvez seja o

responsável por casos de auto-infecção (BASTOS et al., 2003; HUNTER; THOMPSON, 2005; SANTOS, 2007).

Muitos surtos de criptosporidiose já foram documentados no mundo. As principais causas detectadas por investigações epidemiológicas foram: fonte hídrica contaminada por esgoto; deficiência no tratamento de água; utilização de água não filtrada (FAYER et al., 2000).

As infecções por *Cryptosporidium* spp. podem ser assintomáticas, ou, até mesmo, enterites severas de difícil controle. Após um período de incubação de sete a dez dias, cerca de 90% dos indivíduos acometidos podem apresentar até 20 episódios diários de diarreia líquida. Outros sintomas são: febre, vômitos, cólica, perda de peso (CIMERMAN; CIMERMAN, 2004; DUPONT et al., 1995).

Com relação ao tratamento dessa doença, inúmeras drogas já foram testadas, entre elas: azitromicina, paramomicina, metronidazol, letrozuril, nitazoxanida; sem apresentarem sucesso na erradicação. (CIMERMAN; CIMERMAN, 2004).

Alguns fatores de risco reportados por Hunter e Thompson (2005) para criptosporidiose se mostraram bastantes similares aos fatores de risco relatados para giardíase.

3.4 - PRESENÇA DE *GIARDIA* SPP. E *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. NO ESGOTO E EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

A concentração de microrganismos patogênicos existente no esgoto pode ser muito grande, o que representa risco direto à população quando lançado em um curso d'água. Com relação aos protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., apresenta-se na tabela 3.4 a concentração de (oo)cistos no esgoto, descritos por diferentes autores.

Tabela 3.4 - Concentração de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. encontrada no esgoto doméstico.

Concentração Média		Referência Bibliográfica
<i>Giardia</i> spp.	<i>Cryptosporidium</i> spp.	
39 / litro	3,7 / litro	Rose et al., 1996
50 a 8386 / litro	22 a 395 / litro	Robertson et al., 2000
4,31 / litro	10,4 / litro	Cardoso et al., 2003
1×10^5 / litro	6×10^4 / litro	Cantusio Neto et al., 2006
2 a 390 / litro	79 a 2469 / litro	Castro-Hermida et al., 2008
25,8 a 82,1 / litro	158 a 239 / litro	Wen et al., 2009

Cistos e oocistos são detectados em águas superficiais devido ao descarte de efluentes domésticos, tratados e não-tratados, águas pluviais provenientes de áreas agrícolas, chegando a mananciais utilizados para balneabilidade, abastecimento, irrigação, dessedentação de animais, vindo a manter o ambiente sempre contaminado (MEDEMA et al., 1997; CARRARO et al., 2000).

São inúmeros os estudos encontrados na literatura sobre a presença de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em águas superficiais, algumas utilizadas como fonte de abastecimento, e também em água tratada. Uma síntese cronológica é descrita a seguir.

LeChevalier et al. (1991a) encontraram cistos de *Giardia* spp. em 81% e oocistos de *Cryptosporidium* spp. em 87% das amostras de água bruta em mananciais que abastecem 66 Estações de Tratamento de Águas (ETA) nos EUA e Canadá. Em alguns locais, as concentrações chegaram a 484 oocistos por litro, e a 242 cistos por litro.

Os autores constataram também, que as maiores concentrações provinham de corpos d'água que recebiam efluentes industriais e domésticos. Em média, bacias hidrográficas menos protegidas possuíam 10 vezes mais (oo)cistos em relação às protegidas; vindo a formar um consenso da necessidade do processo de desinfecção em ETEs.

LeChevalier et al. (1991b) analisaram 82 amostras de água de abastecimento no final do tratamento em ETAs e detectaram *Giardia* spp. em 17,1% (0,29 a 64 cistos em 100 litros) e *Cryptosporidium* spp. em 26.8% (0,13 a 48 oocistos em 100 litros).

Koach et al. (1993) encontraram cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. em 32% e 14%, respectivamente, das amostras de água bruta, em Yukon, Canadá. Os autores apontaram como principais causas: esgoto bruto e também efluente tratado em lagoas

de estabilização em série lançados em águas superficiais utilizadas como mananciais de abastecimento.

Em reservatórios naturais, LeChevallier et al. (1997) encontram concentrações de *Giardia* spp. (0,7 a 107 cistos por 100 litros) e de *Cryptosporidium* spp. (0,7 a 31 oocistos em 100 litros). A causa exata de como esses corpos d'água foram contaminados é incerta. No entanto, os autores acreditam que a contaminação foi proveniente de fezes de animais locais.

Foram encontrados *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em rios de Hong Kong - em determinados locais até 468 cistos por litro e 30 cistos em 10 litros, segundo Bella e Tam (1998), em decorrência, provavelmente, da baixa eficiência da ETE e por contaminação de tanques sépticos instalados ao longo dos rios, onde não se coleta esgoto para tratamento.

Payment et al. (2000) encontraram até 38 cistos de *Giardia* spp. por litro e 15 oocistos de *Cryptosporidium* spp. por litro nas águas da bacia do rio São Lourenço, Canadá, que servem para abastecer uma população de mais de 2 milhões de pessoas – apenas na região de Montreal.

Segundo pesquisa realizada por Medema e Schijven (2001), em dois rios da Holanda, foi encontrada uma concentração variável de 7,5 a 210 cistos de *Giardia* spp. por litro e 0,6 a 13 oocistos de *Cryptosporidium* spp. por litro.

Hashimoto et al. (2002) relatam poluição do rio Sagami, Japão – manancial para abastecimento humano – com cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.. Em uma avaliação de 13 amostras de água bruta, 12 continham *Giardia* spp., com concentração de 4 a 58 cistos em 100 litros; e todas as mesmas amostras apresentavam *Cryptosporidium* spp. (16 a 150 oocistos em 100 litros).

Em águas dos canais de Amsterdam, Schets et al. (2008) encontraram concentrações de até 29 oocistos de *Cryptosporidium* spp. e de até 167 cistos de *Giardia* spp., em amostras de 10 litros.

Keekey e Faulkner (2008) constataram que picos de concentração de (oo)cistos no lago Texoma, EUA, coincidiam com a estação de criação de gado confinado; e episódios sazonais pareciam estar dependentes da contaminação por esgoto tratado ou não, animais silvestres e aves. Os resultados encontrados por esses pesquisadores sugeriram que nenhum dos indicadores de qualidade da água utilizado – *E. coli* e coliformes totais – poderia realmente avaliar o risco de contaminação do lago por protozoários. A turbidez e os sólidos suspensos totais (indicadores físicos), também não mostraram correlação com os protozoários.

No Brasil, casos da presença de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* em águas superficiais já foram relatados por alguns pesquisadores.

Franco et al. (2001) encontraram até 95 cistos de *Giardia* spp. e até 57 oocistos de *Cryptosporidium* spp. em amostras de 500 mL de água bruta do Rio Atibaia, em Campinas, SP.

Farias et al. (2002) detectaram *Cryptosporidium* spp. (até 1400 oocistos por litro) em água do córrego Pirajussara, no município de São Paulo. O córrego apresentou algumas vezes concentração maior quando comparada ao efluente de ETE também estudado.

Bastos et al. (2004) encontraram 2,0 a 140 cistos por litro e de 4,0 a 510 oocistos por litro em mananciais de abastecimento da cidade de Viçosa – MG.

Ao avaliar 10 bacias hidrográficas no Estado de São Paulo, Hachich et al. (2004) detectaram a presença de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. - 27% e 2,5%, respectivamente – em 278 amostras de água. As concentrações variaram de não detectável a 521 cistos por litro para *Giardia* spp. e de não detectável a 20 oocistos por litro de *Cryptosporidium* spp..

Ladeia et al. (2005) encontraram 1,5 cistos de *Giardia* spp. por litro e até 62,5 oocistos de *Cryptosporidium* spp. por litro em mananciais superficiais da cidade de Montes Claros, MG.

Os casos relatados são extremamente preocupantes, tanto do ponto de vista de tratamento e abastecimento de água potável, quanto à degradação e contaminação da bacia hidrográfica na qual se inserem os mananciais.

No Brasil, existe a preocupação quanto a cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. para o tratamento de água para abastecimento – Portaria nº 518/2004 do Ministério da Saúde – sendo recomendados que a água filtrada obtenha turbidez < 0,5 uT em 95% dos dados mensais e nunca superiores a 5,0 uT. A mesma Portaria recomenda pesquisas sobre *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. como meta padrão à ausência de organismos patogênicos.

3.5 – MICRORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL

O uso de bactéria como indicador de qualidade da água data de 1880, quando Von Fritsch descreveu a *Klebsiella pneumoniae* e *rhinoscleromatis* como microrganismos constantemente encontrados em fezes humanas (Ashbolt et al., 2001). Em 1907, Winslow e Walker observaram que *Bacillus coli*, descrito por Escherich em 1885, apresentava origem fecal.

A partir dos avanços - técnicas de detecção, amostragem, instrumentos, métodos de análise - ocorreram aprimoramentos no campo da microbiologia e da epidemiologia que permitiram relacionar a fonte, o agente e as consequências do processo saúde-doença; muito embora, ainda existam casos em que o agente infeccioso não foi reconhecido.

Em vista das inúmeras doenças relacionadas com contaminação hídrica, necessitou-se mensurar a poluição fecal para, assim, poder associá-la a uma magnitude do risco em se contrair uma infecção.

A partir desse momento, foram pesquisados microrganismos que atendessem, entre outras características, às seguintes (BRASIL, 2006; NIEMINSKI et al., 2000; STANDRIDGE, 2008; TALLON et al., 2005):

- Ser exclusivamente de origem fecal;
- Não se reproduzir no ambiente externo ao hospedeiro;
- Ser mais resistente que os organismos patogênicos às etapas de tratamento de água e esgoto, e aos desinfetantes;
- Fácil, rápida e barata detecção;
- Estar em maior número que os patogênicos;
- Não ser patogênico.

Um microrganismo ideal que contenha todas as características pré-relacionadas é praticamente impossível de ser encontrado. Os principais microrganismos utilizados como indicadores de poluição de origem fecal são: coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Clostridium perfringens*, colifagos, contagem de bactérias heterotróficas (ASHBOLT et al., 2001; BASTOS et al., 2003; CARDOSO et al., 2003; HACHICH et al., 2004; NIEMISKI, 2000; SAVACHTCHEVA; OKABE, 2006; WHO, 2006).

As descrições desses principais microrganismos indicadores estão explícitas abaixo (APHA; AWWWA; WEF, 1998; ASHBOLT et al., 2001; BASTOS et al., 2003; BITTON, 1994; BORREGO et al., 1990; BRASIL, 2006; Portaria nº 518/2004; SAVICHTCHEVA; OKABE; 2006; TALLON et al., 2005; WHO, 2006):

- Coliformes Totais: bactérias gram-negativas, não formadoras de esporos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, oxidase-negativos, fermentam lactose (com β -galactosidase) a ácido, aldeído e gás, num período de 24 a 48 horas, a 36 ± 2 °C. A maioria das bactérias desse grupo pertence aos gêneros: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*.

- Coliformes Termotolerantes: subgrupo de coliformes os quais produzem gás e ácido a partir da lactose, a $44,5 \pm 0,2$ °C, num intervalo de tempo de 24 ± 2 h. Possui como principal representante a *Escherichia coli*.
- *Escherichia coli*: coliforme termotolerante que produz indol a partir de triptofano, fermenta a lactose e o manitol, com produção de ácido e gás a $44,5 \pm 0,2$ °C, num intervalo de tempo de 24 ± 2 h. Não hidrolisa a uréia e apresenta atividade das enzimas β -galactosidase e β -glicoronidase. Estudos de caracterização mostraram que 94% de coliformes termotolerantes em fezes humanas são *E. coli*.
- *Enterococcus faecalis*: todas as bactérias do grupo de *Streptococcus faecalis* que se mostram tolerantes às condições adversas de crescimento com: presença de 6,5% de NaCl, pH 9,6, e nas temperaturas de 10° e 45°C.
- *Clostridium perfringens*: bactérias gram-positivas, formados de esporos, não móveis, estritamente anaeróbias, sulfito-redutoras, fermentam lactose, sucrose e inositol com produção de gás. Por formar esporos essa bactéria é bastante resistente às adversidades do meio e também à desinfecção.
- Colifagos: vírus que infectam *E. coli*, via parede celular. São resistentes às adversidades do ambiente, e de certo modo, à desinfecção. As linhagens MS2 e f2 têm mostrado resistência à inativação em ambientes naturais e nos processos de tratamento de esgoto.
- Contagem de bactérias heterotróficas: determinação da densidade de bactérias que são capazes de produzir unidades formadoras de colônias (UFC), na presença de compostos orgânicos contidos em meio de cultura apropriado, a $35,0 \pm 0,5$ °C, em 48 horas.

3.5.1 – Microrganismos indicadores para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* ssp.

Clancy e Hansen (1999) abordaram a confiança dos dados de monitoramento de protozoários - *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* ssp. - para tomada de decisão em relação à saúde pública. Muitas agências reguladoras americanas ainda não se sentem seguras com os dados encontrados, pois os métodos de identificação e infectividade são limitados. Assim, vê-se uma grande dependência de indicadores realmente capazes de atender ao monitoramento de protozoários.

A determinação quantitativa de patógenos, como *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp., demanda tempo, está sujeita a variáveis porcentagens de recuperação, é trabalhosa, requer técnicos treinados. Torna-se um monitoramento ainda mais difícil devido também à pequena concentração de (oo)cistos que possam estar presentes no final do tratamento de água, por exemplo (BORREGO et al., 1990; HACHICH et al., 2004; MAZOUA; CHAUVEHEID, 2005).

Segundo Heller et al. (2007), existe a necessidade de pesquisas em indicadores físicos e microbiológicos para avaliar a eficiência dos processos de tratamento de esgoto quanto à remoção de patógenos.

Hachich et al. (2004) atribuíram a elevada concentração de protozoários encontradas em águas do Estado de São Paulo, principalmente, ao descarte de efluentes domésticos, bruto ou pouco tratado. Os mesmos autores encontraram correlação de *Giardia* spp. com os indicadores de poluição de origem fecal – Coliformes termotolerantes, *Streptococcus faecalis* e *Clostridium perfringens*. Porém, devido a poucas amostras positivas de *Cryptosporidium* spp., a análise estatística não foi realizada para esse microrganismo.

Mazoua e Chauveheid (2005), ao avaliarem a eficiência do tratamento de água para abastecimento, propuseram como indicadores microbiológicos: vírus bacterianos e bactérias esporuladas (aeróbias e *Clostridium perfringens*). Estes microrganismos se mostraram os mais promissores, por apresentarem similaridades com *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. na resistência à desinfecção química.

Alguns dos problemas de se adotar coliformes totais como indicadores de poluição fecal, incluem (BAUDISOVÁ, 1997; CRAUN et al., 1997):

- Algumas espécies dos gêneros *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella* não são lactose-positivas (25-75%).
- Gêneros *Buttiauxella agrestis*, *Serratia fonticola*, *S. odorífera*, *Rhanella aquatis* não são de origem fecal, porém são lactose positivas (produzem ácidos a partir da lactose).

Tallon et al. (2005) encontraram correlação de *Clostridium perfringens* com *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em águas superficiais; mas não em águas contaminadas por esgoto ou água tratada. Relataram ainda a necessidade de maiores entendimentos sobre o ciclo de vida dos microrganismos, sobrevivência, persistência e crescimento em sistemas de abastecimento de água.

Harwood et al. (2005) avaliaram efluentes desinfetados de seis ETEs na intenção de validar o uso de bactérias do grupo coliforme e indicadores alternativos para presença e ausência de patógenos. Todavia, não encontraram correlação entre cloro residual total e as

concentrações de coliformes fecais em efluentes tratados. Os autores depararam em correlações significativas entre indicadores, mas não entre indicadores e patógenos.

A bactéria anaeróbia de origem fecal *Clostridium perfringens*, por formar esporos, é bastante resistente às adversidades do meio, e também à desinfecção. Tem-se procurado, assim, utilizá-la como parâmetro comparativo da inativação de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.. No entanto, estudos realizados por Payment e Franco (1993) e Harwood et al. (2005) foram pouco conclusivos, principalmente com relação à infectividade dos (oo)cistos, o que sugere novas pesquisas sobre indicadores de protozoários.

As condições ambientais imprimem características ecológicas e de sobrevivência endêmicas aos microrganismos patogênicos e indicadores, sendo necessário verificar o espectro de ação de determinado indicador, à medida que apresenta correlação com patogênicos de origem fecal (SAVACHTCHEVA; OKABE, 2006).

Indicadores podem não estar correlacionados com patógenos em uma localidade, mas em outra, sim (PAYMENT; HUNTER, 2001). Podem também ter especificidade: sendo bom indicador para tratamento de esgoto; outro, bom para tratamento de água; monitoramento de manancial etc (SAVACHTCHEVA; OKABE, 2006). Assim, a aplicação de um grupo de indicadores, em conjunto, pode gerar dados mais reais sobre a contaminação fecal e associação com microrganismos patogênicos.

Outros indicadores de contaminação fecal estão sendo pesquisados, alguns ainda incipientes, mas com grande potencial de informação, como pode ser visto na tabela 3.5.

Tabela 3.5 - Indicadores alternativos de contaminação fecal.

Indicador	Características principais
<i>Bacterioides</i> spp.	Bactéria de origem fecal de animais de sangue quente. Pouca sobrevivência e reprodução fora do hospedeiro.
<i>Bifidobacterium</i> spp.	Bactéria de origem fecal de animais de sangue quente. Não formadora de esporos, e todas são catalase-negativas. Pouca sobrevivência e reprodução fora do hospedeiro, em ambientes aeróbios.
<i>Clostridium perfringens</i>	Bactéria de origem fecal de animais de sangue quente. Constantemente presentes em esgoto e ambientes aquáticos. Podem indicar poluição remota. Apresenta correlação com alguns patógenos.
Colifago RNA f-específico	Bem correlacionado a ambientes com contaminação fecal. Possibilidade de se reproduzir no esgoto. Método de análise ainda caro e laborioso.
Bacteriófago de <i>Bacterioides fragilis</i>	Principalmente encontrados em águas poluídas por fezes humanas. Não se reproduzem no ambiente, possuindo também alta sobrevivência no ambiente. Metodologia ainda complexa.
Esteroides fecais – coprostanol.	Presentes em quantidades consideráveis em fezes animais. Indicativo de poluição recente. É degradado em ambiente aeróbio na coluna d'água. Método de análise – cromatografia gasosa – espectrometria de massa. Não há estudos relacionados com presença de patógenos.

Fonte: Adaptado de Savichtcheva e Okade (2006) e Ashbolt et al. (2001).

Standridge (2008) afirma que abandonar um indicador como coliformes totais, que há mais de cem anos é usado, é difícil, e as mudanças demandam tempo e precisam ser inseridas lentamente.

3.6 - RETENÇÃO DE *GIARDIA* SPP. E *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. EM ETES

Muito tem se contemplado quanto ao tratamento de água visando ao abastecimento público, mas ainda são escassos os dados disponíveis sobre a remoção e inativação de

protozoários por meio de tratamento de esgoto (CARDOSO et al., 2003; CARRARO et al., 2000; CHENG et al., 2009; HELLER et al., 2004; ROBERTSON et al., 2000; ROSE et al., 1996; SANTOS et al., 2004; WEN et al., 2009).

Assim, a real remoção e inativação de protozoários patogênicos em cada etapa de tratamento de esgoto, bem como o comportamento desses microrganismos após lançamento no corpo receptor pode expor os riscos e principalmente, os desafios para o reúso à jusante (CARRARO et al., 2000; ROBERTSON et al., 2000), seja para o abastecimento público de água potável, reúso na agricultura ou balneabilidade.

É necessário, ainda, um melhor entendimento dos mecanismos pelos quais os processos de tratamento controlam os patógenos presentes na água e esgoto (BETANCOURT; ROSE, 2004; WHO, 2006), o que só pode ocorrer via integração de estudos que contemplem as fontes de abastecimento de água, o transporte e sobrevivência de parasitas na água, a influência de fatores ambientais e a habilidade de os sistemas de tratamento de água e esgoto reduzirem os riscos de doenças de veiculação hídrica (CASTRO-HERMIDA et al., 2008; FERGUSON et al., 2003; LONIGRO et al., 2006).

Em estudo realizado por Sykora et al. (1991), a remoção de *Giardia* spp. em 11 ETEs que utilizaram tratamento por lodos ativados foi 90 a 100%; os autores ressaltam ainda o risco da acumulação de cistos no lodo final a ser disposto, a necessidade de cloração do efluente e o tratamento do lodo.

Robertson et al. (2000) estimam, através de tratamento de esgoto primário e secundário, a remoção de 60 a 90% para cistos de *Giardia* spp., e de 10 a 90% para oocistos de *Cryptosporidium* spp.. Inúmeros fatores podem afetar a remoção, incluindo propriedades dos próprios microrganismos, o tipo de tratamento e interações entre patógenos e o tratamento.

Carraro et al. (2000) encontram remoção aproximada de 77,5% de oocistos e 74% de cistos em ETE que possuía tratamento terciário. Através da observação dos (oo)cistos por microscopia de fase, a viabilidade presuntiva diminuiu de 69,7 para 45,5% nos cistos de *Giardia* spp. e de 65,6 para 49,5% nos oocistos de *Cryptosporidium* spp..

Medema e Schijven (2001) estimaram uma remoção por tratamento biológico secundário de esgoto doméstico de 75% para *Cryptosporidium* spp. e de 99% para *Giardia* spp..

Em pesquisa realizada por Oliveira e von Sperling (2005) sobre as diversas modalidades de tratamento de 166 ETEs em funcionamento no Brasil, reatores UASB, Lodos Ativados e UASB seguido de pós-tratamento conseguiram respectivamente: 0,6; 2,0 e 2,8 log

de remoção de coliformes fecais. No entanto, o efluente tratado continha ainda até $9,7 \times 10^6$ organismos / 100 mL. Isso remete mais uma vez, ser imprescindível a pesquisa com protozoários e a desinfecção de efluentes após tratamento.

Robertson et al. (2006) relataram remoções de 85 e 95% para cistos de *Giardia* spp. e de 50% para *Cryptosporidium* spp., em duas ETEs que dispunham de tratamento mecânico e químico. Porém, na ETE com apenas tratamento preliminar, nenhuma remoção de ambos protozoários foi verificada. Neste estudo em especial, os autores avaliaram a infectividade dos protozoários em amostras afluentes às ETEs, encontrando de 11 a 30% cistos de *Giardia* spp. e de 15 a 50% de oocistos de *Cryptosporidium* spp. infectivos.

Cantusio Neto et al. (2006) depararam com remoção de 98,9% de cistos de *Giardia* spp. e de 99,7% de oocistos de *Cryptosporidium* spp. devido ao tratamento por lodos ativados.

Wen et al. (2009) encontraram 2,41 log de remoção para *Cryptosporidium* spp. e 2,49 log para *Giardia* spp. em tratamento por Lodos Ativados em escala de bancada. Segundo os autores, a remoção desses protozoários é devida principalmente à fixação ao lodo ativado em suspensão que posteriormente é sedimentado no decantador.

Cheng et al. (2009) constataram remoções de 64 a 99% de *Cryptosporidium* spp. e 98 a 100% de *Giardia* spp. em ETEs. Os mesmos autores afirmam que avaliar o comportamento microbiológico de (oo)cistos permite o entendimento do grau de estabilização do efluente tratado após as diferentes etapas de tratamento de esgoto, e alertam para a infectividade dos (oo)cistos encontrados nos efluentes finais pesquisados.

Reatores UASB que, de acordo com Chernicharo (1997), apresentam baixo custo, simplicidade operacional e baixa produção de sólidos, são cada vez mais freqüentes como alternativas de tratamento de águas residuárias no Brasil. Chernicharo et al. (2001a) relatam que existem poucas referências bibliográficas que abordam a remoção ou inativação de microrganismos patogênicos, entre eles, *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., por reator UASB.

Os processos de tratamento de esgoto foram sendo aprimorados para remoção de matéria orgânica; depois para nutrientes, em especial nitrogênio e fósforo. Porém, apresentam-se, em geral, insuficientes na retenção e inativação de organismos patogênicos e indicadores (GONÇALVES et al., 2003a). Além disso, a questão da infectividade de cistos e oocistos pré e pós-tratamento é muito pouco explorada.

3.7 – MÉTODOS DE DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO PARA *GIARDIA* E *CRYPTOSPORIDIUM*

O procedimento com o emprego de anticorpos fluorescentes especificado no ICR (Information Collection Rule) dos Estados Unidos foi o primeiro método padrão para análise de *Giardia* em água (HSU; HUANG, 2007). Nos vários artigos pesquisados, o método 1623 da USEPA de 2005 é o mais seguido, entretanto, com modificações.

A maioria dos métodos encontrados na literatura são apropriados para análise em água, vindo a ocorrer problemas de recuperação de (oo)cistos desses protozoários quando aplicados para esgoto (Robertson et al., 2000), em razão da composição variada de compostos orgânicos e inorgânicos, além de uma rica variedade de microrganismos presentes no esgoto (SANTOS et al., 2008). Ainda não existe método específico para águas residuárias (McCuin e Clancy, 2005), no entanto os métodos utilizados para água podem ser modificados, ou adaptados, com sucesso para águas residuárias (FERRARI et al., 2006).

De modo geral, o método para identificar e detectar cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. consiste de três etapas (APHA; AWWA; WEF, 2005):

- Coleta e concentração da amostra.
- Purificação ou separação dos (oo)cistos de outros fragmentos e partículas presentes na amostra.
- Identificação e avaliação dos (oo)cistos

3.7.1 – Amostragem e Concentração

O volume de amostra a ser analisado depende basicamente da concentração esperada de (oo)cistos. No caso do esgoto, McCuin e Clancy (2005) não encontraram diferença estatística quando analisaram volumes de 250, 500 e 1000 mL. Robertson et al. (2000) efetuaram avaliações de recuperação com amostras de esgoto com volume de 50 a 100 mL com boa porcentagem de recuperação (>80%, em alguns casos).

Para a concentração da amostra, os métodos mais utilizados são:

- Floculação: o acréscimo de carbonato de cálcio produz um precipitado denso e estável que, posteriormente, é dissolvido com ácido sulfâmico (VESEY et al., 1993). No entanto, a presença de material particulado interfere na leitura por imunofluorescência

(SARTORI, 2007). Além disso, este método pode reduzir a infectividade dos (oo)cistos (APHA; AWWA; WEF, 2005).

- Centrifugação: é um método simples, fácil, e boa opção para pequenos volumes de amostra. O tempo e a velocidade de centrifugação podem ser variáveis (FRANÇA, 2007; ROBERTSON et al., 2000).
- Filtração: pode ser através de filtros de cartucho de polipropileno, membranas de acetato de celulose ou de policarbonato, de diferentes tamanhos e porosidades (SARTORI, 2007). A grande quantidade de partículas no esgoto dificulta a filtração em membrana, porém, este método serve, ainda, para esgoto tratado (SANTOS et al., 2008).

3.7.2 – Purificação e Separação

Esta etapa é usada para isolar organismos-alvo de partículas interferentes na detecção. Pode ser realizada por:

- Flutuação: vários produtos químicos são utilizados para promover diferentes gradientes de densidade, o mais utilizado é solução saturada de sacarose.
- Separação por Imunomagnética (IMS): a utilização de anticorpos monoclonais específicos e de alta afinidade ligados à superfície de esferas magnetizadas permite a captura de (oo)cistos. Um ímã é usado para separar os organismos, associados às esferas, de outros fragmentos e partículas. Depois, há uma etapa de dissociação, térmica ou ácida, que permite separar os (oo)cistos das esferas. É um método eficiente, porém de alto custo (FRANÇA, 2007; HSU; HUANG, 2007; SARTORI, 2007).
- Clarificação com éter: uma segunda centrifugação é proposta com adição de éter, previamente, em banho de gelo (SANTOS et al., 2004).

3.7.3 – Avaliação e Identificação

Para a etapa de avaliação e identificação, têm-se os seguintes métodos:

- RID (reação de Imunofluorescência Direta): utiliza anticorpos monoclonais marcado com corante fluorogênico FITC (isotiocianato de fluoresceína) que agem diretamente contra antígenos de cistos e oocistos, com leitura por microscopia de

imunofluorescência (FRANÇA, 2007). Esta técnica, embora onerosa, pode aumentar a eficiência de recuperação de (oo)cistos em até 12 vezes (SANTOS et al., 2008).

- PCR (Polymerase Chain Reaction): detecção de quantidade de DNA e/ou RNA. Variadas avaliações por PCR se utilizam de diferentes ácidos nucléicos. Novas espécies e sub-espécies de *Giardia* e *Cryptosporidium* estão surgindo por avanços nessa técnica de identificação (APHA; AWWA; WEF, 2005).

3.7.4 – Viabilidade/Infectividade

Os seguintes métodos são descritos na literatura:

- Excitação (Desencistamento) *in vitro* – os (oo)cistos são forçados a se excistarem ao serem expostos a meio de cultura específico.
- Inclusão/Exclusão de corantes fluorogênicos – corantes como DAPI (4',6-diamidino-2fenil-indol) e o iodeto de propídio (PI) são os mais utilizados. O iodeto de propídio não consegue atravessar a bicamada lipídica da parede do (oo)cisto intacta por ser uma molécula grande. A inclusão ocorre quando a parede não está intacta, podendo ser visualizada com fluorescência vermelha com excitação em comprimento de onda de 550 nm (APHA; AWWA; WEF, 2005). O DAPI favorece a visualização do núcleo dos protozoários (SANTOS, 2007).

O termo viabilidade é indicativo de atividade metabólica e/ou da integridade da parede do (oo)cisto, sendo designada para o método de corantes (SANTOS et al., 2008). Não obstante, alguns (oo)cistos que mostrem atividade metabólica podem não ser infectivos, o que, conseqüentemente, superestimaria a infectividade (LABATIUK et al., 1991; SANTOS et al., 2008; USEPA, 1998).

O conceito de infectividade é a capacidade que o parasito possui em completar o seu ciclo de vida em hospedeiro susceptível, com a produção e eliminação de novas formas de resistência nas fezes (FRANÇA, 2007). Os seguintes métodos são utilizados para avaliar a infectividade:

- Cultivo Celular: técnica *in vivo*, utilizada apenas para *Cryptosporidium*. É menos trabalhosa que a infectividade *in vivo* com animais. Porém, tem mostrado alta variabilidade de resultados (APHA; AWWA; WEF, 2005; SANTOS et al., 2008).
- Infectividade animal: baseia-se na inoculação de cistos e oocistos em animais de laboratório (SANTOS, 2007). Este método pode ser sensível e capaz de mensurar de

1,5 a 2,0 log de inativação a mais que os métodos com uso de corantes e excitação *in vitro* (LABATIUK et al., 1991; USEPA, 1998).

A relação geral entre os métodos com corantes fluorogênicos, excitação, verificação morfológica e infectividade animal pode ser representada pela figura 3.5.

Figura 3.5 – Diagrama esquemático da relação entre a determinação de viabilidade/infectividade (adaptado de DeRegnier et al., 1989)

Mais recentemente, BRESCIA et al. (2009) propuseram o uso de propídio monoazida (PMA) com técnica de PCR para determinar viabilidade e genótipo de oocistos de *Cryptosporidium*. O PMA é um corante vital que penetra oocistos mortos ou aqueles que possuem a parede do oocisto injuriada. Neste corante há um grupamento azida o qual se fixa aos ácidos nucléicos formando um complexo estável que não se difunde para fora dos oocistos. Ao mesmo tempo, o PMA deixa o DNA de oocistos inativos indetectável para posteriores análises de PCR. Por ser um método novo, ainda requer mais estudos e validação.

3.8 – DESINFECCÃO DE ESGOTO SANITÁRIO

Apesar de ocorrer uma diminuição do número de organismos naturalmente, por fatores como: salinidade, temperatura, predação e idade dos organismos, esse decaimento natural nem sempre é suficiente para prevenir um risco potencial de infecção por organismos

patogênicos, havendo, conseqüentemente, a necessidade da desinfecção (SINCERO; SINCERO, 2003; WEF, 1996).

Além disso, o tratamento convencional de águas residuárias, na ausência de desinfecção, não fornece remoção e controle de patógeno com eficiência compatível com o padrão microbiológico de água de reúso e contato público (WEF, 1996).

Santos et al. (2004) encontraram alta concentração de (oo)cistos em esgoto mesmo após tratamento por lodos ativados: 4×10^5 cistos de *Giardia* spp. por litro e $1,8 \times 10^4$ oocistos de *Cryptosporidium* spp. por litro.

Lonigro et al. (2006) quantificaram $1,83 \times 10^3$ cistos de *Giardia* spp. por litro e $5,52 \times 10^1$ oocistos *Cryptosporidium* spp. por litro em esgoto após tratamento com lodos ativados e sedimentação.

Os principais processos de desinfecção de esgotos sanitários – naturais e artificiais – são mostrados na figura 3.6.

Figura 3.6 – Principais processos de desinfecção de esgoto sanitário (adaptado de GONÇALVES et al., 2003a).

Nos processos naturais há agentes químicos e físicos naturalmente presentes (pH, temperatura, radiação solar, oxigênio dissolvido), além da ação de predação e competição entre os microrganismos. Entre os processos físicos, o mais utilizado é a radiação ultravioleta, tanto por radiação solar, como por reatores que se utilizam de lâmpadas germicidas especiais.

A filtração terciária e membranas filtrantes são processos nos quais há retenção física de patógenos (GONÇALVES et al., 2003a).

As razões para desinfecção de águas residuárias são: proteção da saúde pública, ao servir de barreira contra organismos patogênicos; reduzir o risco de transmissão de doenças; objetivar e garantir reúsos da água (WEF, 1996).

Neste trabalho, só foi abordada a desinfecção química por cloro e ozônio e a desinfecção física por radiação ultravioleta.

3.8.1 – Desinfecção Química

Os agentes químicos desinfetantes mais utilizados são: cloro (gás), hipocloritos de sódio e cálcio, dióxido de cloro, cloraminas e ozônio.

Esses agentes químicos também possuem outras funções (USEPA, 1999):

- Oxidação de ferro e manganês;
- Manter residual na rede de abastecimento de água;
- Remover cor, odor e gosto;
- Aumentar pela pré-oxidação a eficiência da coagulação e filtração.

A diminuição da concentração de organismos patogênicos também depende de fatores relacionados aos desinfetantes: espectro de ação, modo de ação na célula, poder de penetração na célula, tempo de contato, concentração, pH, temperatura. Outras características, da qualidade da água a ser desinfetada, afetam o processo, dentre elas: turbidez e carbono orgânico total. (DANIEL, 2001; GONÇALVES et al., 2003a; WEF, 1996).

Segundo Metcalf e Eddy (2003) são cinco os principais mecanismos de desinfecção: (1) dano à parede celular, (2) alteração da permeabilidade da célula, (3) alteração do colóide natural do protoplasma, (4) alteração do DNA e do RNA dos organismos e (5) inibição da atividade enzimática.

De acordo com a tabela 3.6, valores da relação – concentração de desinfetante e o tempo de contato (CT) - apresentam diferenças discrepantes com relação ao microrganismo a ser inativado.

Tabela 3.6 - Valores de CT para inativar 99% (2 log) de alguns microrganismos, a 5° C.

Agente	Cloro (pH 6-7)	Cloraminas (pH 8-9)	Dióxido de Cloro (pH 6-7)	Ozônio (pH 6-7)
<i>E.coli</i>	0,034 - 0,05	95 - 180	0,4 - 0,75	0,02
Poliovírus	1,1 – 2,5	768 - 3740	0,2 - 6,7	0,1 - 0,2
<i>Giardia muris</i> (cistos)	30 – 630	1400	7,2 - 18,5	1,8 - 2,0
<i>Giardia lamblia</i> (cistos)	47 - 220	1470	26	0,5 - 0,7
Rotavírus	3 - 6	428 - 643	0,2 – 2,1	0,006 – 0,06
<i>Cryptosporidium</i> spp. ^{1,2}	7200	7200	60 - 80	2,4 - 10

Fonte: Finch et al. (1993); Korich et al. (1990); Langlais et al. (1991), Rice et al. (1982); USEPA (1999).

¹ Temperatura de 25°C. ² oocistos.

Um desinfetante ou processo de desinfecção deve apresentar idealmente as seguintes características (LAPOLLI et al., 2003):

- Não ser tóxico para o homem ou qualquer outro animal;
- Ser tóxicos a organismos-alvo em baixas concentrações;
- Ser suficientemente solúvel em água;
- Ser eficaz nas temperaturas e pH encontrados no meio líquido;
- Ser de custo razoável em relação aos volumes de água ou efluente a desinfetar;
- Não apresentar elevado risco aos operadores;
- Permitir fácil medida e controle de sua concentração.

Sabe-se que não existe nenhum desinfetante que apresente todas essas características simultaneamente. Devido à susceptibilidade dos microrganismos patogênicos ser muito variada, a seleção de um desinfetante é difícil. Mas, em se tratando de efluentes sanitários, alternativas ao cloro são bem vindas, principalmente com relação à formação de subprodutos e residual tóxico à biota aquática. Estudos com ozônio e radiação ultravioleta são os mais freqüentes (GONÇALVES et al., 2003b; WEF, 1996).

3.8.2 – Cloro

O cloro é um gás amarelo esverdeado com cheiro extremamente irritante e penetrante. Ele irrita as vias respiratórias em concentrações da ordem de 3 ppm de ar e chega a ser fatal na concentração de 1000 ppm de ar (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

O cloro é o desinfetante mais utilizado mundialmente para tratamento de água e águas residuárias; age, principalmente, na membrana plasmática da célula, modificando sua permeabilidade, promovendo a precipitação de proteínas, hidrólise e ruptura da célula (METCALF; EDDY, 2003; VENKOBACHAR et al., 1977; WEF, 1996). Além disso, é empregado como oxidante para remoção de odor, sabor, ferro, manganês (SNOEYINK; JENKINS, 1980; WHO, 2006).

A reação do cloro gasoso na água ocorre da seguinte maneira:

O ácido hipocloroso ($HClO$) pode dissociar-se, formando o íon hipoclorito (ClO^-).

Este equilíbrio é dependente do pH, como pode ser visto na figura (3.7). Tanto o ácido hipocloroso quanto o íon hipoclorito possuem ação desinfetante e oxidante, porém o ácido hipocloroso é mais eficiente que o íon hipoclorito na destruição dos microrganismos em geral.

Figura 3.7 – Porcentagem de distribuição do ácido hipocloroso e íon hipoclorito na água de acordo com o pH e temperatura (METCALF; EDDY, 2003).

Cloro disponível é a medida do poder de oxidação de um composto de cloro, expresso em termos de cloro elementar. O cloro presente na água, na forma de ácido hipocloroso e de

íon hipoclorito, é denominado cloro residual livre. Quando a água contém amônia ou compostos amoniacais, o ácido hipocloroso reage com estes compostos formando cloraminas.

De acordo com Deborde e Von Gunten (2008), três tipos de reações dos compostos orgânicos com o ácido hipocloroso podem ser descritas:

- Reação de oxidação;
- Reação de adição em ligações duplas;
- Substituição eletrofílica em sítios nucleofílicos.

Dessas, apenas a última é suficientemente rápida para ser significativa. O cloro é muito seletivo para compostos orgânicos e sua reatividade é limitada a sítios específicos da molécula orgânica, como grupamentos amina.

As seguintes reações do cloro com a amônia presente no esgoto são praticamente instantâneas em pH próximo à neutralidade:

As equações (3.1), (3.2) e (3.3) são dependentes de pH, temperatura, tempo de contato, razão cloro/nitrogênio, e competem simultaneamente por cloro livre. Elas estão relacionadas com o fenômeno do “breakpoint”, descoberto por Griffin em 1939 quando realizou estudo de controle de odor e gosto em águas (WHITE, 1972).

Este fenômeno ocorre após uma dose suficiente de cloro ser adicionada a fim de oxidar a amônia e de reagir com todas as substâncias oxidáveis pelo cloro, para assim, restar cloro residual livre – como pode ser evidenciado na figura (3.8) (WEF, 1996; METCALF; EDDY, 2003).

Figura 3.8 – Curva típica do Cloro Residual em águas contendo amônia. (CHERNICHARO et al., 2001b).

As reações com compostos nitrogenados e a formação de subprodutos sendo dependentes do pH podem afetar a dose disponível de cloro residual livre apta à desinfecção (DEBORDE; VON GUNTEN, 2008). Apesar de as cloraminas terem potencial de desinfecção, há necessidade de um tempo de contato maior para se obter a mesma eficiência que o cloro residual livre (SAWYER et al., 2003; BEDNER et al., 2004).

Os diferentes métodos de determinação das espécies de cloro podem ser prejudicados por inúmeros interferentes (APHA; AWWA; WEF, 1998). As reações em batelada, a fim de se encontrar a dose requerida de cloro para chegar ao breakpoint, consomem tempo e não podem ser aplicadas em um controle “on-line” (Yu, 2004). Por essa razão, parâmetros facilmente mensuráveis como pH, potencial de oxi-redução (ORP) e condutividade precisam ser testados, na intenção de indicar a ocorrência de “breakpoint”, e em um acompanhamento progressivo, evitar super ou subdosagens de cloro (YU et al., 2008; BERGENDAHL; STEVENS, 2005).

O cloro apresenta como desvantagens o fato de ser um gás venenoso e corrosivo, quando há presença de umidade, e, portanto, requer manejo cuidadoso. Além disso, pode haver problemas de odor e gosto. Por apresentar alto poder oxidante, reage com inúmeros compostos – orgânicos e inorgânicos – o que pode acarretar a formação de subprodutos, como trihalometanos, ácidos haloacéticos e halocetonas (AISSE et al., 2003; DANIEL, 2001; HUA; RECKHOW, 2008; RICHTER, 1991; WEF, 1996).

Os subprodutos da desinfecção podem causar efeitos maléficos à saúde humana; por exemplo, os trihalometanos são admitidamente carcinogênicos e mutagênicos (NIKOLAOU et al., 2004; HUA; RECKHOW, 2008).

Os principais fatores que influem no aparecimento de subprodutos da cloração na água são: o tempo de contato, temperatura, pH, presença de bromatos, dosagem e tipo de cloro. A forma mais eficiente de se evitar a formação destes subprodutos é a redução de seus precursores, especialmente a matéria orgânica na água a ser tratada (METCALF; EDDY, 2003; ZARPELON; RODRIGUES, 2008).

Existe ainda a preocupação quanto ao lançamento de efluentes com subprodutos da cloração nos corpos receptores, devido à toxicidade à vida aquática, uso da água para posterior abastecimento público; e pode haver acúmulo de haloorgânicos no solo e lençol subterrâneo na irrigação de culturas (JORDÃO; PESSOA, 2005).

A inativação de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. por cloro é descrita em diversos trabalhos na literatura. Alguns pontos importantes estão reunidos a seguir:

- RICE et al. (1982) encontraram, em trabalho conduzido por excitação *in vitro*, grande resistência, precisando de CT de 75 mg.mim.L⁻¹ para 2 log de remoção de cistos de *Giardia* spp. em pH 7,0 (5°C). Os mesmos autores ressaltam a importância de pH baixo para melhor inativação..
- Haas e Heller (1990) relataram, por estudos de infecção *in vivo*, a inativação mais rápida de cistos de *Giardia* spp. a pH 7,0 em baixas temperaturas (2,5 e 5,0 °C) quando comparado a pH 6,0 e 8,0.
- Korich et al. (1990) conseguiram, em trabalho conduzido a 25°C e com infectividade realizada por ensaios *in vivo*, excitação *in vitro* e viabilidade através de corantes vitais, 2 log de inativação de *Cryptosporidium* spp. somente após 90 minutos e com 80 mg.L⁻¹ de cloro, o que acarretou um valor de CT igual a 7200 mg.min.L⁻¹.
- Valores de CT para inativação de cistos de *Giardia* spp. se mostram maiores a temperaturas baixas e pH elevado (USEPA, 1999). Os valores mostrados na figura (3.9) são baseados em ensaios de infectividade realizados *in vivo* e excitação.

Figura 3.9 – Valores de CT para inativação de cistos de *Giardia* spp. (USEPA, 1999)

- Corona-Vazquez et al. (2002), através de ensaios de infectividade *in vivo* e excitação *in vitro*, precisaram, em pH 6,0, de valores de CT de 4000 mg.min.L⁻¹ (20°C) e de aproximadamente 20000 mg.min.L⁻¹ (1°C) para conseguir 2 log de inativação de oocistos de *Cryptosporidium* spp .

3.8.3 – Ozônio

Em 1785, Van Marum percebeu um odor após uma descarga elétrica. Schonbein em 1840 mostrou que este odor era proveniente de um gás, o qual nomeou de ozônio (Grego-*Ozein*, cheiro). Em 1857 Siemens construiu o primeiro aparelho para produzir ozônio por descarga elétrica (DIAPER, 1975).

O ozônio foi primeiramente utilizado para desinfetar água de abastecimento, no final do século 19, na cidade holandesa de Oudshoorn (DIAPER, 1975). Em 2003, existiam mais de 1000 instalações de ozônio no mundo utilizadas para fins de desinfecção (METCALF; EDDY, 2003).

Este gás é produzido de forma natural a partir de reações fotoquímicas na estratosfera terrestre, e pode ser obtido artificialmente por meio de descargas elétricas (METCALF; EDDY, 2003; SOARES, 2007).

A técnica mais eficiente e utilizada para geração de ozônio é a descarga corona, a qual consiste na passagem de gás contendo oxigênio através de dois eletrodos separados por um dielétrico, onde há aplicação de alta tensão (DIAPER, 1975; SOARES, 2007) – figura (3.10).

Figura 3.10 – Geração de ozônio por descarga corona (ASSIRATI, 2005 adaptado de USEPA, 1999).

Esta alta energia dissocia uma molécula de oxigênio em seus átomos constituintes, que se reestrutura com uma molécula de oxigênio, formando uma molécula de ozônio, através das reações (3.4) e (3.5) (METCALF; EDDY, 2003; SOARES, 2007; USEPA, 1999).

O ozônio por se caracterizar como forte agente oxidante, é aplicado no controle de odor e oxidação química. Possui rápida ação desinfetante - elevada eficiência na inativação de patógenos por destruição da parede celular e danos aos constituintes dos ácidos nucleicos - além de apresentar baixa toxicidade no efluente (LANGLAIS et al., 1991; LAPOLLI et al., 2003; METCALF; EDDY, 2003; WEF, 1996; WHO, 2006).

O entendimento da inativação de microrganismos pelo ozônio se dá a partir do seu comportamento em solução aquosa (WEF, 1996).

De acordo com Langlais et al. (1991), a decomposição do ozônio se processa em três fases distintas: iniciação, propagação ou promoção e inibição (figura 3.11).

Figura 3.11 - Mecanismo de decomposição do Ozônio (adaptado de LANGLAIS et al., 1991).

- A primeira fase começa a partir da reação entre o ozônio molecular e um iniciador para formar o íon superóxido (O_2^-). Este íon, ao reagir com o ozônio, promove uma cadeia de reações de decomposição do mesmo. Outras substâncias podem agir como iniciadores: compostos inorgânicos (íons hidroxila [OH^-], íons hidroperóxido [HO_2^-], alguns cátions), compostos orgânicos (substâncias húmicas, ácido fórmico), radiação ultravioleta.
- Na segunda etapa, a presença de moléculas orgânicas e inorgânicas, chamadas promotoras - capazes de regenerar os íons O_2^- a partir do radical livre hidroxil ($^*\text{OH}$) - dão continuidade à decomposição do ozônio. O processo de decomposição será mantido enquanto houver concentrações elevadas de substâncias promotoras na solução. Alguns promotores são: ácido fórmico, ácidos húmicos, alcoóis primários, fosfatos.
- No entanto, há inibidores, os quais são capazes de consumir radicais hidroxil, não permitindo assim, a regeneração dos íons (O_2^-); vindo a ocasionar a inibição de toda a cadeia de reação de radicais livres. Como exemplos de inibidores têm-se: íons carbonato, íons bicarbonato, alcoóis terciários.

A decomposição do ozônio é influenciada pelo pH, temperatura, radiação ultravioleta, concentração de ozônio, e a presença de inibidores (seqüestradores). As reações de decomposição do ozônio, em solução aquosa, seguem dois mecanismos principais: 1)

Oxidação direta do próprio ozônio molecular e 2) Oxidação indireta por radicais da decomposição do ozônio (LANGLAIS et al., 1991; USEPA, 1999; WEF, 1996).

Esses dois mecanismos de oxidação competem por substratos – compostos a serem oxidados. A oxidação direta é relativamente lenta comparada à indireta; mas, a concentração de ozônio se mantém elevada. Com relação à oxidação indireta, ela é mais rápida; porém, a concentração de radicais hidroxil, em condições normais de ozonização, é baixa (WEF, 1996).

As vantagens desse desinfetante são: menor dependência do pH, pouco tempo de contato, reduz concomitantemente a cor, odor, turbidez e absorvância UV-254 nm na água residuária. Porém, a desinfecção pode ser prejudicada pela temperatura, presença de sólidos suspensos, carbono orgânico total (COT), demanda química de oxigênio (DQO). Sua aplicação seria mais apropriada em esgoto com bom nível de tratamento, como efluentes terciários já nitrificados ou filtrados, com baixa concentração de matéria orgânica, visando a reduzir a demanda de ozônio (JORDÃO; PESSOA, 2005; LANGLAIS et al., 1991; WEF, 1996; XU et al., 2002).

O ozônio na presença de precursores orgânicos, amônia, íon bromato, entre outros, é capaz de formar inúmeros subprodutos, entre eles: ácido pirúvico, bromofórmio, ácido dibromoacético, formaldeído, acetaldeído (METCALF; EDDY, 2003; USEPA, 1999).

A ação desinfetante do ozônio pode ser evidenciada em alguns trabalhos sobre inativação de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.:

- Para temperatura de 5°C, Wickramanayake et al. (1984) utilizaram CT de 0,53 mg.min.L⁻¹ para a inativação de 2 log de cistos de *Giardia* spp., utilizando técnica de excitação. Para o mesmo CT e temperatura, USEPA (1999) encontrou valores aproximadamente 1,3 mg.min.L⁻¹. Finch et al. (1993) precisaram de CT de 0,65 mg.min.L⁻¹ para a mesma eficiência, porém a uma temperatura de 22°C, seguido de ensaios de infectividade *in vivo*.
- Em estudo realizado por Korich et al. (1990) foi encontrado CT de aproximadamente 5 mg.min.L⁻¹ para 2 log de inativação de *Cryptosporidium* spp., a partir do uso da porcentagem de excitação *in vitro* como parâmetro de infectividade.
- Labatiuk et al. (1991) detectaram até 3 log de remoção de infectividade de cistos de *Giardia* spp. com CT de 0,5 mg.min.L⁻¹, em condição de pH 6,7 e 22°C de temperatura. Os pesquisadores utilizaram corantes vitais, excitação *in vitro* e ensaios *in vivo*.

- Corona-Vasquez et al. (2002) precisaram de um CT mínimo de 2 mig.min.L⁻¹ para alcançar 2 log de inativação de *Cryptosporidium* spp., em pH 7,0 e a 20°C de temperatura. A inativação, neste caso, também foi mensurada por excitação *in vitro*.

3.8.4 - Radiação Ultravioleta

A ação bactericida da luz solar foi descoberta por Downes e Blunt em 1877. A partir de então, se tornaram cada vez mais freqüentes estudos sobre os efeitos da radiação em bactéria (KOLLER, 1952). O desenvolvimento de lâmpadas de mercúrio como fontes artificiais de luz UV aconteceu em 1901 e a primeira aplicação para desinfecção de água de abastecimento foi em Marselha, França, em 1910. Em 1929, Gates encontrou ligação entre a desinfecção por luz UV com a absorção da mesma por ácidos nucleicos (USEPA, 2006).

Com a descoberta dos subprodutos da cloração, a desinfecção por UV se tornou mais popular. Em 2005 já existiam mais de 400 instalações de tratamento de água no mundo que se utilizam da radiação UV como desinfetante (SOMMER et al., 2008; USEPA, 2006).

A luz UV está dentro de uma região do espectro eletromagnético, entre o Raio-X e a luz visível (figura 3.12). O espectro da UV é dividido em 4 faixas:

- UV – vácuo: que corresponde entre os comprimentos de onda de 100 e 200 nm;
- UV-C: entre 200 e 280 nm;
- UV-B: entre 280-315 nm e a
- UV-A: de 315-400nm.

O intervalo onde a ação desinfetante é mais potente está entre 245-285 nm (USEPA, 1999, 2006).

Figura 3.12 – Radiação UV no espectro eletromagnético (adaptado de USEPA, 2006).

Mais comumente, a luz UV é gerada ao se aplicar uma voltagem em uma mistura de gases, resultando em uma descarga de fótons. O gás mercúrio é mais utilizado, pois emite radiação na faixa germicida. Outros gases, como o xenônio (Xe), cloreto de xenônio (XeCl), também são capazes de emitir luz no intervalo germicida (METCALF; EDDY, 2003; USEPA, 2006).

As lâmpadas podem ser de baixa ou média pressão – que corresponderia à concentração de átomos de mercúrio, diretamente relacionada à pressão de vapor de mercúrio dentro da lâmpada. Nas de baixa pressão, o mercúrio em temperatura moderada (40 °C) produz praticamente luz UV em 253,7 nm (monocromático). Nas lâmpadas de média pressão, o vapor de mercúrio em temperaturas altas (600-900 °C) produz luz UV de espectro bem largo (policromático) (SOMMER et al., 2008; USEPA, 2006).

A transmissão da radiação na água é afetada pela presença de sais dissolvidos ou matéria orgânica. O quartzo possui transmissão entre 80-90% da radiação, em comprimento de onda entre 200-260 nm, por isso, em muitos casos reveste as lâmpadas germicidas. No tocante à reflexão, o alumínio é um dos melhores refletores, de 60-90%, além de ser facilmente moldado, leve e resistente à corrosão, o que faz com que seja utilizado em muitos reatores (KOLLER, 1952).

O mecanismo da desinfecção por luz UV se baseia em alterações no DNA e RNA dos microrganismos. Como pode ser visto na figura (3.13), o DNA absorve radiação em comprimento de onda, em especial, entre 240 e 280 nm (GONÇALVES et al., 2003b; USEPA, 1999, 2006; WEF, 1996).

Figura 3.13 - Absorção de luz UV pelo DNA (adaptado de KUZUHARA, 2005).

A energia absorvida pelos ácidos nucleicos rompe as ligações não saturadas, provocando a dimerização de bases nitrogenadas pirimídicas adjacentes citosina e timina, no DNA (figura 3.14), e de uracila e citosina no RNA (CARON, 2006).

Figura 3.14 - Dimerização em decorrência da luz UV (adaptado de Earth Tech (Canadá) Inc., 2005)

Em decorrência da dimerização, a replicação dos ácidos nucleicos se torna mais difícil. Ainda mais, caso ocorra replicação, células mutantes incapazes de replicar podem ser produzidas (GONÇALVES et al., 2003b; USEPA, 1996, 2006).

Em alguns casos, pode ocorrer a recuperação dos organismos patogênicos após a irradiação, o que depende, basicamente, da espécie e da lesão sofrida (CHERNICHARO et al., 2001b; DANIEL, 1989). São dois os mecanismos de recuperação dos microrganismos irradiados com luz UV (CHERNICHARO et al., 2001b; DANIEL, 1989; GONÇALVES et al., 2003b; USEPA, 2006):

- Fotorreativação: reversão das alterações produzidas pela radiação UV. Este fenômeno ocorre com a participação de enzimas, onde os dímeros de pirimidinas são monomerizados *in situ*. Para isso, faz-se necessária radiação de comprimento de onda de 300 a 500 nm. A significância desse processo irá depender, principalmente, da dose inicial de radiação usada na desinfecção. Em doses elevadas, a quantidade de dímeros pode ser maior que a capacidade de recuperação do microrganismo.
- Recuperação no escuro: por esse mecanismo, promove-se a substituição dos nucleotídeos lesados pela radiação UV através da remoção da parte lesada e mais uma sequência de nucleotídeos adjacentes, com posterior ressíntese da sequência original de nucleotídeos.

A radiação ultravioleta é importante alternativa ao cloro, pois não gera subprodutos tóxicos e gosto na água, e quando comparada ao ozônio, tem pouca exigência de manutenção e a operação é simples. É cada vez mais utilizada para desinfetar água de abastecimento, efluentes domésticos e industriais (GONÇALVES et al., 2003b; KOLLER, 1952; METCALF; EDDY, 2003).

A radiação UV possui a vantagem, no tratamento de esgoto, de não deixar residual e a sua eficiência não é afetada por pH e temperatura (HIJNEN et al., 2006; JORDÃO; PESSOA, 2005). Todavia, alguns constituintes presentes no esgoto podem impactar negativamente a desinfecção por luz UV (CARON, 2006; KOLLER, 1952; METCALF; EDDY, 2003; GONÇALVES et al., 2003b):

- Materiais húmicos, ferro, manganês: são fortes absorvedores de radiação UV.
- Sólidos Suspensos Totais (SST): absorvem radiação UV e podem proteger microrganismos patogênicos.
- Alcalinidade: pode afetar a solubilidade de alguns metais que podem absorver luz UV.
- Dureza: pode levar à precipitação de carbonatos nos tubos de quartzo.

Pesquisas recentes estão continuamente mudando as perspectivas de inativação de determinados microrganismos. No caso da *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., estudos de infectividade mostraram que a radiação UV, aplicada em doses relativamente baixas (5 a 15

mJ/cm²), se apresenta bastante eficiente em inativá-los (METCALF; EDDY, 2003). Alguns estudos sobre esses protozoários são comentados a seguir:

- Belosevic et al. (2001) sugeriram que *Cryptosporidium* spp. eram mais susceptíveis à inativação por radiação UV (média pressão) que cistos de *Giardia* spp. Os pesquisadores não encontraram reativação para *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em doses maiores que 60 mJ.cm⁻²; porém, cistos de *Giardia* spp., quando submetidos a doses inferiores a 25 mJ.cm⁻², apresentaram reativação. Os resultados desse estudo vieram de ensaios *ex vivo* (verificação de (oo)cistos nas fezes dos animais) e *in vivo* de infectividade.
- Oguma et al. (2001) encontraram reparação de dímeros de pirimidina, induzidos por radiação UV (doses de 0,72 e 1,44 mJ.cm⁻²), em DNA de *Cryptosporidium* spp. após exposição à radiação fluorescente (comprimento de onda próximo a 360 nm).
- Linden et al. (2002), utilizando ensaios *in vivo* de infectividade, encontraram 2,6 log de inativação de *Giardia* spp. em água com dose de apenas 5 mJ.cm⁻², e alcançaram mais de 4 log de remoção com dose de 10 mJ.cm⁻². Os pesquisadores não encontraram recuperação dos cistos quando submetidos à dose de 16 e 40 mJ.cm⁻².
- Modifi et al. (2002) verificaram mais de 2 log de inativação de cistos de *Giardia* spp. em dose de UV de até 3 mJ.cm⁻², utilizando ensaios de infectividade *in vivo*.
- Campbell e Wallis (2002) constataram que dose de 10 mJ.cm⁻² é capaz de inativar aproximadamente 99% (2 log) de cistos de *Giardia* spp., com utilização de ensaio *in vivo*.
- Bukhari et al. (2004) encontraram com dose de 4 mJ.cm⁻², 4 log de inativação de oocistos de *Cryptosporidium* spp..
- USEPA (2006) preconiza para 3 log de inativação de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em água de abastecimento, doses de 12 e 11 mJ.cm⁻², respectivamente.
- Cantusio Neto et al. (2006) observaram a presença de infectividade de cistos de *Giardia* spp. desinfetados com dose de 25-30 mJ.cm⁻² em 33% dos animais submetidos a ensaio *in vivo*.
- Li et al. (2008) encontraram trofozoítos de *Giardia* spp. infectivos em ensaios *in vivo*, quando submetidos à dose de 1 mJ.cm⁻². Evidências de sobrevivência e reativação a doses de 20 e 40 mJ.cm⁻² foram ambíguas e inconclusivas estatisticamente; enquanto que para 100 mJ.cm⁻², não houve reativação, nem sobrevivência dos trofozoítos.

3.8.5 – Tratamentos Seqüenciais

O processo onde dois ou mais desinfetantes produzem efeito sinérgico por aplicação simultânea ou seqüencial é conhecida pela USEPA (1999) como desinfecção interativa. Worley e William¹, Alleman et al.² (1988 apud USEPA, 1999) apresentaram trabalhos relatando a eficiência de desinfecção combinada na inativação de microrganismos patogênicos.

O sinergismo ocorre quando a aplicação combinada de desinfetantes promove inativação de microrganismo maior que a soma das inativações dos mesmos desinfetantes aplicados separadamente (SOUZA, 2006; USEPA, 1999).

Segundo Souza (2006) a aplicação dos desinfetantes combinados pode ser das seguintes formas:

- Seqüencial: quando um desinfetante é aplicação após outro, em seqüência, havendo, assim, um desinfetante primário e outro secundário.
- Simultânea: onde dois ou mais desinfetantes são aplicados simultaneamente, por exemplo, em um tanque de mistura.

Algumas razões para crescente interesse por estes processos são (USEPA, 1999):

- Uso de menores concentrações de desinfetantes e conseqüentemente podendo diminuir a formação de subprodutos de desinfecção.
- Controle na formação de biofilmes no sistema de distribuição.
- Alcance de elevados níveis de inativação de microrganismos patogênicos, inclusive os mais resistente, como os protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

Pesquisas recentes vêm ressaltar a maior efetividade na aplicação da desinfecção seqüencial:

- Finch et al. (2000) utilizaram as conjugações: O₃/ClO₂; O₃/Monocloramina; Cl₂/Monocloramina; ClO₂/Cl₂; ClO₂/Monocloramina; O₃/Cl₂ e observaram até 2 unidades logarítmicas de remoção para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. atribuídas apenas à ação sinérgica dos desinfetantes. Verificaram também uma alta dependência em relação ao pH e à temperatura.

¹WORLEY, S.D.; WILLIAMS, D.E. (1988). Disinfecting water with a mixture of free chlorine and organic b-halimine. **Journal of American Water Works Association**. Vol.80, n.1, p.6.

²ALLEMAN, J.E. et al. (1988). Comparative evaluation of alternative halogen-based disinfection strategies. **Conference proceedings, Industrial Waste Conference**, forty-second edition.

- Ryu et al. (2007) analisaram efluentes terciários de 7 ETEs, nos quais cistos estavam presentes em 16% das 77 amostras em concentrações que variavam de 0,46 a 211 cistos em 100 litros. Dentre as 7 ETEs, 4 efetuavam desinfecção apenas com cloro e 3 ETEs, com cloro seguido de radiação UV. Concluíram que só as estações com desinfecção combinada (Cl_2 / UV) alcançaram a meta de risco aceitável anual para infecção por *Giardia* spp. – uma infecção para cada dez mil habitantes.
- Caretti e Lubello (2003) encontraram efeitos sinérgicos no uso de ácido peracético seguido de radiação UV na inativação de coliformes totais, coliformes fecais, estreptococos fecais, *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa* em esgoto sanitário.
- Driedger et al. (2000) e Corona-Vasquez et al. (2002) evidenciaram efeitos sinérgicos com a aplicação de ozônio seguida de cloro livre na inativação de *Cryptosporidium* spp. com ensaios de infectividade *in vivo* e excistação *in vitro*.
- Cho et al. (2006) conseguiram efeitos sinérgicos para inativação de esporos de *Bacillus subtilis* de 0,5 log de inativação (cloro livre – dióxido de cloro); 1,5 log de inativação (ozônio – cloro livre) e de até 2,9 log de inativação (dióxido de cloro – cloro livre).

Ainda são incipientes os estudos de desinfecção sinérgica para efluentes sanitários, sendo encontrados na literatura muitos trabalhos sobre água de abastecimento.

A radiação ultravioleta tem ação física, atingindo principalmente o DNA. Já o ozônio e o cloro são fortes oxidantes, que destroem parcial ou totalmente a parede celular, levando à lise das células. Por consequência o tratamento seqüencial químico-físico, é de grande valia, à medida que pode abranger um espectro maior de microrganismos patogênicos e maior eficiência de inativação, com o sinergismo das ações desinfetantes.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no período de fevereiro de 2009 a janeiro de 2010 e possui três partes principais.

- Monitoramento do reator UASB.
- Estudo das espécies residuais de cloro no esgoto e parâmetros indicadores.
- Ensaio de desinfecção:
 - Individuais: Cloro, Radiação Ultravioleta e Ozônio
 - Sequenciais: Cloro - UV e Ozônio - UV

4.1 – MONITORAMENTO DO REATOR UASB

A ETE do Campus da USP - São Carlos possui tratamento preliminar composto de gradeamento, caixa de remoção de areia e gordura. Após essa etapa, o esgoto segue para um tanque de equalização, e, assim, é distribuído para um reator anaeróbio-aeróbio de leito expandido (RAALEX) e para um reator UASB (figura 4.1).

Figura 4.1 - Vista parcial da ETE: A: tanque de equalização; B: RAALEX; C: UASB.

O reator UASB possui base 2m x 2m, altura útil de 4,7 metros, e volume útil de 18,8 m³. Há um sistema de distribuição de afluente fixado no fundo do reator, constituído de quatro saídas direcionadas para baixo, o que promove uma boa distribuição do esgoto, aprimorando a transferência de massa e a hidrodinâmica do reator (PASSIG, 2005).

O tempo de detenção hidráulica (TDH) foi fixado em 19 horas, mediante ajuste de vazão pela válvula de entrada de esgoto, no intuito de assegurar uma lâmina 4,0 cm sobre o vertedor triangular de esgoto afluente – advindo do tanque de equalização (figura 4.2).

Figura 4.2 – Vertedor triangular de entrada de esgoto no reator UASB. **A:** válvula reguladora de vazão; **B:** marcação da altura de lâmina de esgoto no vertedor.

Ao todo, realizaram-se oito avaliações no ano de 2009, entre os meses de abril e julho. Os seguintes parâmetros foram analisados, no afluente e efluente do reator UASB: temperatura, pH, alcalinidade parcial e total, DQO, DQO da amostra filtrada, sólidos totais (ST) e sólidos suspensos totais (SST). Não foi realizada análise microbiológica nesta etapa de monitoramento.

As coletas foram feitas entre 8 e 9 horas da manhã e as análises eram realizadas durante a semana, sempre observando o prazo máximo de preservação das amostras, de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA; AWWA; WEF, 1998).

4.2 – ESTUDO DAS ESPÉCIES RESIDUAIS DE CLORO NO ESGOTO E PARÂMETROS INDICADORES

Esta parte da pesquisa foi desenvolvida em duas etapas nos meses de janeiro e fevereiro de 2009, sendo utilizadas amostras de esgoto sanitário do vertedor de entrada do reator UASB; portanto, após somente ao tratamento preliminar e ao tanque de equalização.

As amostras de esgoto foram coletadas e os ensaios foram feitos em batelada e em duplicata, no mesmo dia, para cada uma das etapas. As concentrações da solução de hipoclorito de sódio adicionadas ao esgoto foram calibradas pelo método DPD colorimétrico, com a finalidade de produzir doses de cloro conhecidas. A partir de uma solução concentrada de hipoclorito de sódio (NaOCl) de 1000 mg.L^{-1} , era adicionado o volume necessário para se atingir a concentração desejada para os testes, conforme a equação (4.1).

$$C_{\text{soluçãoNaOCl}} \times V_{\text{soluçãoNaOCl}} = C_{\text{Desejada}} \times V_{\text{Esgoto}} \quad (4.1)$$

$C_{\text{Solução NaOCl}}$: 1000 mg.L^{-1}

$V_{\text{soluçãoNaOCl}}$: volume a ser adicionado da solução concentrada de NaOCl.

C_{Desejada} : concentração de cloro desejada para teste.

V_{Esgoto} : volume de esgoto a ser desinfetado (1,5 L)

Os ensaios das duas etapas foram efetuados em béqueres de vidro de borossilicato de 2 litros de capacidade. O volume de amostra utilizado foi de 1,5 L, o qual era colocado em aparelho “jartest”, com rotação ajustada em 100 rpm, o que correspondeu a um gradiente de velocidade médio de aproximadamente 100 s^{-1} (figura 4.3).

Figura 4.3 – Aparelho “jartest” (Modelo 101) utilizado nos experimentos.

Por cloro residual livre (CRL), entende-se: HOCl, OCl⁻, Cl₂. Cloro residual combinado (CRC): NH₂Cl, NHCl₂ e NCl₃. A soma dessas espécies residuais de cloro é o cloro residual total (CRT). O estudo não teve intenção de avaliar esses diferentes compostos nitrogenados clorados separadamente.

As análises de cloro residual livre e total foram feitas pelo método DPD colorimétrico utilizando o espectrofotômetro DR 2010 (Hach, programa 88, comprimento de onda de 530 nm). A amostra utilizada como “branco” para zerar o aparelho foi o próprio esgoto.

Neste método, a uma alíquota de 10 mL de amostra eram acrescentados os reagentes específicos para leitura de cloro residual livre e total, e completava-se com água desionizada para 25 mL. Os reagentes utilizados foram: DPD Total Chlorine Reagent – CAT. 14064-99 e DPD Reativo para Cloro Livre – CAT. 14070-99 (Permachem®Reagentes, Hach).

No final de cada ensaio, utilizou-se solução de metabissulfito de sódio (Na₂S₂O₅) a 3%, na proporção de 0,1 mL para cada 100 mL de amostra (SOUZA, 2006), para remover o cloro residual livre e combinado de acordo com a equação (4.2) (LOURENÇÃO, 2009):

4.2.1 – Etapa I - Comportamento das espécies residuais de cloro no esgoto

Nos ensaios da Etapa I, o esgoto sanitário foi clorado com hipoclorito de sódio (NaOCl), nas concentrações de 5, 10 e 15 mg Cl₂.L⁻¹. Eram retiradas duas alíquotas de 10 mL para avaliar o comportamento das espécies de cloro nos tempos: 1, 5, 10, 15, 20, 30 minutos. Foi realizada análise também no tempo de 75 minutos para as duas concentrações mais altas. No esgoto a ser clorado, foram caracterizados: pH, temperatura, sólidos totais (ST), sólidos suspensos totais (SST), DQO e alcalinidade.

4.2.2 – Etapa II – Análise de Breakpoint e parâmetros indicadores

Em vista de se atingir o breakpoint, utilizaram-se as concentrações: 10, 20, 50, 80 e 100 mg Cl₂.L⁻¹, conseguidas a partir de solução concentrada de NaOCl (equação 4.1). As

espécies de cloro – CRT, CRL e CRC – acrescidas dos parâmetros pH, potencial de oxidação-redução (ORP) e condutividade foram analisados nos tempos de 10, 30 e 60 minutos.

Para as espécies de cloro foi utilizado o método DPD colorimétrico, conforme descrito anteriormente. Os eletrodos para medição de pH, ORP e condutividade ficavam continuamente em contato com o esgoto durante os ensaios, e, somente nos tempos específicos, seus valores eram anotados.

Para o afluente e efluente de todos os ensaios da etapa II foram caracterizados: pH, temperatura, ORP, alcalinidade, nitrogênio total Kjeldhal (NTK), ST, SST e DQO.

As análises de NTK foram realizadas no Laboratório de Saneamento, enquanto todas as outras, no Laboratório de Tratamento Avançado e Reúso de Água (LATAR); ambos situados na Escola de Engenharia da USP em São Carlos – SP.

4.3 – ENSAIOS DE DESINFECÇÃO

Evitou-se realizar os ensaios nas segundas-feiras, visto que durante o fim de semana, com diminuição de vazão, eram freqüentes os entupimentos na tubulação que conduzia o esgoto ao reator UASB, ou a ocorrência, ainda, de pouca vazão. Além disso, os ajustes de vazão a fim de manter o TDH em 19 horas, algumas vezes ocasionavam grande aporte de sólidos suspensos na saída do reator UASB. Uma visão geral de como se transcorriam os ensaios de desinfecção é dada pela figura 4.4.

Figura 4.4 – Diagrama geral dos ensaios de desinfecção com cloro, ozônio, radiação ultravioleta e de desinfecção seqüencial.

Era realizada coleta de esgoto efluente do reator UASB. Parte do volume era encaminhada para os ensaios de desinfecção com cloro ou ozônio. Retirava-se alíquota intermediária (esgoto cloro ou ozonizado) e o restante seguia para o reator de radiação ultravioleta: desinfecção sequencial. A outra parte do volume de esgoto efluente do reator UASB era direcionada diretamente ao reator de ultravioleta: esgoto desinfetado apenas com UV.

Os cistos de *Giardia* spp. foram adquiridos junto ao Laboratório de Protozoologia da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp); enquanto que os oocistos de *Cryptosporidium* spp., na Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).

4.3.1 – Ensaio com Cloro

Previamente aos ensaios, foram realizadas as seguintes operações:

- As palhetas do aparelho “jartest” eram desinfetadas com solução de hipoclorito de sódio e álcool.
- Os béqueres de dois litros utilizados eram desinfetados por radiação UV e enxaguados com solução Tween 80 (0,1%).
- Os galões de coleta de efluente eram desinfetados com solução de hipoclorito de sódio e depois também enxaguados com solução Tween 80 (0,1%).

A solução Tween 80 (0,1%) foi utilizada com a finalidade de não permitir que os (oo)cistos dos protozoários ficassem aderidos em frascos, galões, e qualquer outro aparato que viesse a entrar em contato com o esgoto e pudesse prejudicar o exame microbiológico da *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp..

Coletava-se o esgoto na ETE no período da manhã e seguia-se direto para os ensaios no LATAR, os quais foram realizados em aparelho “jartest”, submetidos a gradiente de velocidade de 100 s^{-1} .

Foram realizados ensaios com: 10 mg.L^{-1} de cloro em 10 minutos; 10 mg.L^{-1} de cloro em 20 minutos e 20 mg.L^{-1} de cloro em 10 minutos.

Primeiramente, quantificava-se a concentração da solução de NaOCl a ser usada nos ensaios, pois há um decaimento dessa concentração com o tempo. Em 1,5 L de água desionizada, adicionava-se 0,5 mL de solução de NaOCl concentrada (4 a 6 %). Após 1 minuto, sob agitação, verificava-se a concentração de cloro livre, pelo método DPD

colorimétrico. (Neste caso, uma amostra de água desionizada era usada como “branco” para zerar o espectrofotômetro). Depois, verificava-se o volume necessário de solução concentrada de NaOCl a ser adicionado nos ensaios de esgoto. Utilizava-se, a partir desse momento, uma amostra de esgoto como “branco” para zerar o espectrofotômetro.

Os ensaios decorreram da seguinte forma:

- Em cada béquer, de um conjunto de quatro unidades, eram adicionados 1,5 litros de esgoto. E em um quinto béquer, adicionava-se 1 litro de esgoto (para servir de amostra controle). Todos eram posteriormente alocados no aparelho “jartest”.
- Depois, inoculavam-se aproximadamente 10^4 cistos de *Giardia* spp. por litro. e 10^4 oocistos de *Cryptosporidium* spp. por litro nos cinco béqueres.
- Adicionava-se solução hipoclorito de sódio nos quatro béqueres de 1,5 L de esgoto e ligava-se o aparelho “jartest” para o tempo de teste estipulado previamente.
- Retiravam-se duas alíquotas de 10 ml para realizar o teste de cloro residual livre e cloro residual total.
- Separavam-se 600 mL (amostra de esgoto clorado) e o restante – 5,4 L – eram encaminhados para desinfecção sequencial com radiação ultravioleta.
- Adicionava-se solução de metabissulfito de sódio (3%) para cessar a reação do cloro na amostra de esgoto clorado a ser analisada.
- O volume de 5,4 L foi o necessário para se ter uma lâmina inicial de 3 cm no reator de radiação UV.
- Retiravam-se alíquotas do esgoto bruto e clorado para leitura de absorbância a 254 nm, em espectrofotômetro DR 4000 (Hach).

As amostras, controle e clorada, dos ensaios eram armazenadas em frascos para posteriores exames microbiológicos e análises físico-químicas.

4.3.2 – Ensaio com Radiação Ultravioleta

Os ensaios foram realizados em unidade de bancada, em batelada, representada na figura 4.5.

Figura 4.5 - Detalhe do reator de desinfecção por radiação ultravioleta.

O reator possuía base de aço inox com dimensões de 40 cm x 45 cm e 10 cm de altura. Nela se aclopava uma cúpula refletora de alumínio com 39,7 cm x 44,7 cm e 10 cm de altura, onde havia seis lâmpadas germicidas de 15 W e de baixa pressão de vapor de mercúrio igualmente espaçadas, as quais se situavam emersas – sem contato com meio líquido. Os ensaios tiveram seguimento conforme descrito a seguir:

- Antes de cada ensaio, era constatado visualmente se todas as lâmpadas estavam ligadas, cobrindo-se as lâmpadas com placa de vidro comum de 5 mm de espessura.
- Depois, ligavam-se as lâmpadas por 10 minutos para desinfetar a câmara de UV.
- Adicionava-se solução Tween 80 (0,1%), a qual era espalhada no fundo e nas laterais do reator.
- Colocava-se o efluente a ser desinfetado (5,4 litros) – perfazendo 3 cm de lâmina de esgoto.

- A partir das leituras de absorvância a 254 nm do efluentes a serem tratados, estipularam-se os tempos necessários para aplicação das doses de 2,5 e 5,0 Wh/m³.
- O efluente era misturado por quatro agitadores magnéticos, com espaçamento equidistante (figuras 4.6 e 4.7).
- Por fim, retiravam-se alíquotas de 600 mL após cada dose de UV ter sido aplicada.

Figura 4.6: Reator de Radiação UV: A – com lâmpadas ligadas; B- lâmpadas desligadas

Anteriormente aos ensaios com UV, houve a avaliação da intensidade média de radiação no interior do reator por radiometria. Para isso, nove pontos foram estipulados para medição de radiação em comprimento de onda de 254 nm (figura 4.6).

Figura 4.7 – Localização dos pontos para medição de radiação no reator de UV.

Com o valor de intensidade de radiação em cada um dos pontos, determinou-se a intensidade média ponderada de radiação emitida pelas lâmpadas (I_0), a partir da equação (4.3):

$$I_0 = \frac{\sum_{i=1}^n I_i \cdot A_i}{\sum_{i=1}^n A_i} \quad (4.3)$$

I_0 : Intensidade de radiação na superfície do reator ($\text{mW} \cdot \text{cm}^{-2}$)

I_i : Intensidade de radiação no ponto i ($\text{mW} \cdot \text{cm}^{-2}$)

A_i : Área de influência do ponto de medição i ($a \times a$)

n : pontos de medição (1, 2, 3, ...).

Segundo Lourenção (2009), como a intensidade de radiação emitida pelas lâmpadas decai com o tempo, há necessidade periódica de se calcular I_0 . Para este trabalho, devido ao pouco número de ensaios de desinfecção e como a concretização dos mesmos foi realizada em um período curto de tempo, o valor de I_0 só foi calculado uma única vez (anterior a todos os ensaios).

Uma vez obtidos os valores de I_0 e de absorbância a 254 nm (antes de cada ensaio com ultravioleta), pôde-se calcular a Intensidade média de radiação (I_m), através da equação (4.4):

$$I_m = \frac{I_0}{a \cdot L} [1 - \exp(-a \cdot L)] \quad (4.4)$$

A : absorbância a 254 nm, cubeta de 1,0 cm;

L : espessura da lâmina líquida ou caminho óptico (cm)

a : coeficiente de extinção (cm^{-1})

$$a = A \cdot \ln(10) = 2,303A$$

Com o valor de I_m , pode-se determinar a dose recebida por volume através da equação (4.5).

$$D_r = \frac{I_m \cdot t}{L} 0,2778 \quad (4.5)$$

I_m : intensidade média de radiação no reator

D_r : dose recebida por volume ($Wh.m^{-3}$)

0,2778: fator de conversão de mW para W, s para h e cm para m.

O tempo de contato foi estimado a partir das doses recebidas, de acordo com a equação (4.5). Foram utilizadas duas doses: 2,5 e 5 $Wh.m^{-3}$, com lâmina de esgoto de 3 cm.

Após os ensaios com radiação UV, eram retiradas alíquotas pertinentes para os exames microbiológicos e dos parâmetros físico-químicos. No caso de seqüência da cloração, eram analisados o cloro residual livre e total, e a amostra recebia adição de solução de metabissulfito de sódio (3%) para remoção desses residuais.

O restante do efluente, não utilizado, era mantido por mais 5 minutos para desinfecção antes do descarte e lavagem do reator de UV para novo ensaio.

4.3.3 – Ensaio com Ozônio

A unidade experimental de ozonização em escala piloto, figura 4.8, está situada na ETE da USP – São Carlos, sendo a mesma que foi utilizada nos trabalhos de Soares (2007) e Lourenção (2009). É constituída por: gerador de ozônio (Eaglesat®), gerador de oxigênio pelo processo PSA (Pressure Swing Adsorption), coluna de ozonização, frascos lavadores de gás para recolhimento de espuma e captura de ozônio que não reagir no processo.

Figura 4.8 - Detalhe da unidade de ozonização.

Na base da coluna de ozonização havia: um registro de agulha para controle da vazão de gás, um registro de esfera (conectado ao dreno de esvaziamento da coluna) e um difusor poroso para gerar as bolhas ascensionais de ozônio. Na parte superior havia um registro de esfera para entrada de água para lavagem da coluna.

Antes dos ensaios de desinfecção o gerador de ozônio foi calibrado, variando a vazão de gás e a tensão do equipamento. Depois foram construídas curvas de calibração, as quais relacionavam a vazão de gás com a produção de ozônio pelo gerador de ozônio (g O₃/h).

4.3.3.1 – Curva de Calibração do Ozonizador

O método iodométrico foi utilizado para calibração do aparelho gerador de ozônio, de acordo com APHA, AWWA e WEF (1998). Ele se baseia na medição indireta de ozônio pela reação (equação 4.6), na qual ocorre oxidação do iodeto de uma solução de iodeto de potássio (KI) (DIAPER, 1975).

Para isso, a solução de KI (2%) foi preparada e mantida em câmara fria para maturar por, no mínimo, 48 horas. O procedimento empregado na calibração seguiu conforme Soares (2007) e Lourenção (2009).

- O gerador de ozônio permaneceu ligado antes dos ensaios por 10 minutos para estabilização do aparelho.
- A coluna foi lavada três vezes com água para, assim, se iniciar os ensaios.
- A coluna de ozônio era preenchida com 4,4 litros de solução de KI (2%). Na parte de cima da coluna havia uma saída para gás, onde foi acoplada uma mangueira de silicone que fazia a ligação coluna de ozonização – frasco lavador, este contendo 400 mL de solução de KI (2%) para capturar o off-gás.
- Acionava-se então o botão “oxigênio”, para gerar oxigênio, e abria-se o registro na coluna de ozonização. Com a verificação de formação de bolhas no frasco lavador, ajustava-se o rotâmetro para a vazão necessária: 1, 2, 3 e 4 L.min⁻¹ (figura 4.9).

Figura 4.9 – Ozonizador e rotâmetro.

- Seleccionavam-se as tensões de 40%, 60% e 80%.
- Caso necessário, aumentava-se a pressão do compressor para envio de mais oxigênio.
- Acionava-se o botão “ozônio” e cinco minutos eram cronometrados.
- Após esse tempo, o gerador de ozônio era desligado e alíquotas de 200 mL eram retiradas da coluna de ozônio e do frasco lavador.
- Acidificava-se a amostra com 4 mL de ácido sulfúrico (1N) e titulava-se com tiosulfato de sódio (0,025N) até a solução apresentar coloração amarelo palha. Então, eram adicionados 2 mL de solução de amido como indicador, prosseguindo com a titulação até que a solução se tornava incolor, como pode ser visualizado na figura 4.10.

Figura 4.10 – A: solução de KI + Ozônio; B: solução com coloração amarelo palha; C: solução no final da titulação – incolor.

- Depois, a solução de KI da coluna de ozonização era descartada e, em seguida, procedia-se à lavagem da coluna de ozonização com água (3 vezes) para dar início a um novo ensaio.

Com um béquer, a solução de KI era colocada na coluna pela parte superior da mesma. E a retirada de solução ozonizada se dava por uma torneira que distava 50 cm da base da coluna de ozonização (figura 4.11).

Legenda:

I: Frasco lavador.

II: Torneira para retirada de amostra.

III: Coluna com solução de KI antes da ozonização.

IV: Coluna com solução de KI após a ozonização.

Figura 4.11 – Coluna preenchida com solução de KI durante a calibração do ozonizador.

4.3.3.2 – Ensaio de desinfecção com ozônio

Primeiramente, o efluente do reator UASB foi direcionado, por gravidade, para uma caixa d'água (350 L) onde foi armazenado. A caixa d'água foi previamente lavada com água; para, só assim, receber o efluente do UASB.

Decorridos 30 minutos de decantação, foi dado início aos ensaios, sendo utilizado o mesmo esgoto para os três testes realizados. Antes dos ensaios, o gerador de ozônio permaneceu ligado por 10 minutos para estabilização do aparelho.

O esgoto proveniente da caixa d'água foi bombeado para a coluna de ozonização. Quando metade da coluna havia sido preenchida com esgoto, retiravam-se 2 litros para armazenamento (amostra controle).

Em outra alíquota, de 500 mL, foram inoculados 10^4 cistos de *Giardia* spp. e 10^4 oocistos *Cryptosporidium* spp. a serem transferidos para a coluna de ozônio pela parte superior da mesma. O recipiente foi enxaguado duas vezes com volume de 300-500 mL de esgoto e repassado para a coluna de ozonização. Só assim, a coluna era preenchida até a marca de 15 ou 10 litros.

O procedimento para os ensaios foi realizado como na curva de ozonização. No entanto, o frasco lavador continha 600 mL de solução de KI (2%).

Ajustaram-se o rotâmetro e a tensão de acordo com a tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Características de cada ensaio de ozônio.

	Ensaio VI	Ensaio VII	Ensaio VIII
Volume de esgoto	10 litros	10 litros	15 litros
Tempo de contato	10 minutos	20 minutos	30 minutos
Tensão aplicada	80%	60%	80%
Vazão de gás	1 L.min ⁻¹	1,5 L.min ⁻¹	0,5 L.min ⁻¹

Quando da realização do ensaio VIII, a pressão do compressor se mostrou muito elevada devido à altura da coluna de esgoto. Por essa razão, optou-se utilizar para os ensaios VI e VII, o volume de 10 litros.

Passado o tempo estipulado de ensaio, o gerador de ozônio foi desligado. Retiravam-se as alíquotas para quantificação de ozônio.

- A alíquota do frasco lavador (off-gás) foi submetida ao método iodométrico, conforme descrito previamente.

- Para a amostra da coluna de ozônio foi utilizado o método colorimétrico (kit Ozono HR AV), para espectrofotometria. Com o programa 456, do próprio espectrofotômetro DR 2800 (Hach), fez-se leitura de ozônio em meio líquido, na faixa de 0 a 1,5 mg.L⁻¹. O método iodométrico poderia ter sido empregado; todavia, a acurácia desse procedimento é comprometida devido à concentração de ozônio no meio líquido ser normalmente pequena (DIAPER, 1975).

Depois de decorrido o tempo estipulado, coletou-se aproximadamente 6 litros de efluente ozonizado em galões previamente enxaguados com solução Tween 80 (0,1%) para posteriores ensaios sequenciais com radiação ultravioleta.

A amostra composta de 6 litros de esgoto não ozonizado (amostra controle) - 2 litros retirados em cada teste - também foi encaminhada para ensaio com radiação UV.

Os exames microbiológicos, com efluentes ozonizados e da desinfecção sequencial, foram feitos um dia após os testes devido à condição climática desfavorável (muita chuva) após os testes de ozônio, o que atrasou a realização dos ensaios sequenciais de O₃ - UV.

4.3.3.3 – Cálculo da produção de ozônio

A produção de ozônio foi estimada pela equação (4.7):

$$P = \frac{N_{\text{tio}} \times (V_{\text{tio}} - V_{\text{b}}) \times V_{\text{KI}} \times 1440}{V_{\text{am}} \times T} \quad (4.7)$$

P: produção de ozônio (g O₃.h⁻¹)

N_{tio}: normalidade da solução de tiosulfato de sódio

V_{tio}: volume de tiosulfato de sódio gasto na titulação (mL)

V_b: volume de tiosulfato de sódio gasto na titulação do branco (mL)

V_{KI}: volume de solução de KI adicionada na coluna de ozonização (L)

V_{am}: volume de amostra titulada (mL)

T: tempo de contato (min)

1440: fator de conversão

A produção total de ozônio é dada pela soma do ozônio na coluna de ozonização e do off-gás no frasco lavador. A dosagem de ozônio está diretamente relacionada à produção através da equação (4.8).

$$D = \frac{PxTx1000}{Vx60} \quad (4.8)$$

D: dosagem de ozônio (mg.L⁻¹)

P: produção de ozônio (g O₃.h⁻¹)

T: tempo de contato (min)

V: volume ozonizado (L)

O branco era constituído de amostra de 200 mL de solução KI (2%) não ozonizado, a qual era acidificada com 10 mL de ácido sulfúrico (1N) e, em seqüência, adicionavam-se 2 mL de solução de amido. A amostra de coloração azulada era titulada com tiosulfato de sódio (0,025N) até ficar incolor – esse procedimento foi feito em duplicata, conforme Soares (2007). Tinha-se então o volume do branco (V_b) da equação (4.7).

A padronização da solução de tiosulfato de sódio foi realizada com solução de dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇), de acordo com APHA, AWWA e WEF (1998), como se segue: em 80 mL de água destilada era adicionado 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, 1 grama de KI e 10 mL de solução de K₂Cr₂O₇ (0,025N). Adicionou-se amido e a titulação com tiosulfato de sódio foi feita em triplicata.

4.3.3.4 – Balanço de massa do ozônio dissolvido na fase líquida

O balanço de massa do ozônio possibilita quantificar a massa ou concentração do ozônio que foi transferido e consumido durante o ensaio e associar esses resultados à eficiência de inativação de microrganismos indicadores (SOARES, 2007).

Durante o ensaio, uma massa de ozônio é aplicada no efluente presente na coluna de ozonização. Esta massa pode ser calculada conforme equação (4.9):

$$M_A = D \times V \quad (4.9)$$

M_A : massa aplicada de ozônio (mg)

D : dosagem (mg.L^{-1})

V : volume de efluente sendo ozonizado (L)

No entanto, a massa total de ozônio aplicada divide-se em: massa transferida para o meio líquido (M_T) e massa não transferida (M_{NT}), sendo esta última, quantificada no off-gás. Ambas podem ser calculadas pelas equações (4.10) e (4.11).

$$M_{NT} = \frac{N_{tio} \times (V_{tio} - V_b) \times V_{offgás} \times 24.000}{V_{am}} \quad (4.10)$$

M_{NT} : Massa de ozônio não transferida (offgás) (mg)

N_{tio} : Normalidade do tiosulfato de sódio

V_{tio} : Volume de tiosulfato gasto na titulação da amostra (mL)

V_b : Volume de tiosulfato gasto na titulação do branco (mL)

$V_{offgás}$: Volume de solução de KI (2%) adicionado no frasco lavador de gás (L)

V_{am} : Volume de amostra de KI (2%) titulada (mL)

$$M_T = M_A - M_{NT} \quad (4.11)$$

M_T : massa transferida ao meio líquido (mg)

M_A : massa total de ozônio aplicada (mg)

M_{NT} : massa de ozônio não transferida – offgás (mg)

A massa de ozônio transferida ao meio líquido (M_T) pode ainda ser dividida em: massa residual (M_R) e massa consumida (M_C). A massa residual pode ser calculada conforme equação (4.12). A massa consumida seria a diferença entre a massa transferida e a massa residual (equação 4.13).

$$M_R = [O_3]_R \times V_{ef} \quad (4.12)$$

M_R : massa residual (mg)

$[O_3]_R$: Concentração de ozônio residual (mg.L^{-1})

V_{ef} : Volume do efluente ozonizado (L)

$$M_C \text{ (mg)} = M_T \text{ (mg)} - M_R \text{ (mg)} \quad (4.13)$$

Assim, a concentração de ozônio consumido $[O_3]_C$ pode ser estimada pela equação (4.14):

$$[O_3]_C = D - ([O_3]_R + [O_3]_{\text{offgás}}) \quad (4.14)$$

D: dosagem de ozônio aplicada (mg.L^{-1})

$[O_3]_R$: concentração de ozônio residual (mg.L^{-1})

$[O_3]_{\text{offgás}}$: concentração de ozônio no offgás (mg.L^{-1}) {razão entre a massa de ozônio no offgás (M_{nt}) e o volume de esgoto ozonizado (L)}

4.3.3.5 – Cálculo dos valores de concentração x tempo (CT) para ozônio

Foi utilizada para o cálculo do produto CT a equação (4.15) desenvolvida por Wu e Doan (2005):

$$CT = \int_0^t C dt \quad (4.15)$$

C: concentração de ozônio dissolvido (residual) (mg.L^{-1})

t: tempo de contato (min)

No entanto, como a concentração de ozônio residual é muito pequena, foi utilizada a taxa de consumo de ozônio – massa de ozônio consumida dividida pelo tempo de contato. Além disso, foi suposta que a vazão aplicada de ozônio permaneceu constante durante os ensaios (SOARES, 2007).

Para representar os cálculos dos valores de CT, tem-se o exemplo a seguir:

Concentração de ozônio consumido: $10,57 \text{ mg.L}^{-1}$;

Tempo de contato: 10 minutos;

Taxa de consumo de ozônio: $10,57/10 = 1,057 \text{ mg/L.min}$

Aplicando a equação (4.15):

$$CT = \int_0^t Ctdt = \int_0^{10} 1,057tdt = 1,057 \times \frac{t^2}{2} = 1,057 \times \frac{100}{2} = 53 \text{ mg.min/L}$$

4.3.4 – Ensaios Seqüenciais

Nos ensaios seqüenciais, após os ensaios com ozônio e cloro, o efluente era coletado e encaminhado à unidade de desinfecção por radiação UV, para serem avaliados os efeitos sinérgicos dos desinfetantes na inativação dos microrganismos indicadores e dos protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp..

Para os ensaios seqüenciais de cloro-radiação ultravioleta analisaram-se o cloro residual livre e total. Em razão do ozônio não deixar residual na massa líquida, para os ensaios ozônio-radiação ultravioleta, a medição de residual não foi necessária.

4.4 – EXAMES MICROBIOLÓGICOS

4.4.1 - *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

O exame microbiológico da *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. consistiu das seguintes fases: concentração da amostra por centrifugação, purificação por separação imunomagnética (IMS), dissociação ácida de (oo)cistos, detecção por reação de imunofluorescência direta (RID), contagem e teste de viabilidade por corantes vitais.

4.4.1.1 – Concentração das amostras

A concentração da amostra foi adaptada de McCuin e Clancy (2005) e Robertson et al. (2000). A metodologia de concentração foi realizada da seguinte forma:

- Em 75 mL de amostra do efluente em erlenmeyer adicionou-se 25 mL de solução Tween 80 a 0,1%, seguida de agitação, com agitador magnético, por aproximadamente 3 minutos.
- O volume foi, então, dividido em dois tubos de centrifuga de 50 mL, previamente enxaguados com solução Tween 80 (0,1%).
- Centrifugou-se (Centrífuga 5810, Eppendorf) a 1500g por 15 minutos e, após centrifugação, o sobrenadante foi retirado, deixando em cada tubo um volume de 10 mL.
- Em seguida, os tubos foram levados ao vórtex e o volume dos dois tubos de centrifuga foi reunido em apenas um dos tubos.
- O outro tubo – vazio - foi lavado duas vezes com 5 mL de água desionizada, sendo o volume de lavagem também reunido ao primeiro tubo.
- Procedeu-se à segunda centrifugação – a 1500g por 15 minutos. O sobrenadante foi retirado e reservado um volume de 5 mL com sedimento para a etapa de purificação. Vale ressaltar que não foram ultrapassados 500 µL de sedimento.
- Este volume de 5 ml foi novamente levado ao vórtex e deixado em repouso, sob refrigeração, “overnight”.

4.4.1.2 – Purificação das amostras

A purificação das amostras foi realizada por separação imunomagnética (IMS). Para efetua-la, foi seguido o procedimento descrito a seguir:

- O Kit de IMS (Invitrogen Dynal AS, Norway) era retirado da geladeira para ficar à temperatura ambiente.
- O volume da etapa anterior foi passado no vórtex e despejado em um tubo de lado plano (T_{LP}) (Dynal® L10 tubes CAT n°740.03, Invitrogen Dynal AS, Norway), previamente enxaguado com solução Tween 80 (0,1%).
- Procedeu-se, por conseguinte, uma dupla lavagem no tubo de centrifuga com 2,5 mL de água desionizada, sendo o volume das lavagens repassado ao T_{LP}.
- Foram acrescentados: 1 mL de cada um dos dois tampões presentes no Kit de IMS; 100µL dynabeads anti-*Giardia* e 100µL anti-*Cryptosporidium*, de acordo com o protocolo do fabricante (Dynal CG – Combo anti-*Cryptosporidium* & *Giardia*).

- Os T_{LP} foram encaminhados ao misturador de amostras (Dynabeads® Sample Mixer, Invitrogen™ USA) por uma hora a uma velocidade de 18 rpm em temperatura ambiente (figura 4.12a).
- Depois de transcorrido o tempo, os T_{LP} foram levados ao concentrador de partículas magnéticas (Dynal MPC – 1, Cat. nº 120.01D; Invitrogen Dynal AS, Norway), onde foram feitas rotações de 90° por 2 minutos; sendo aplicada, em média, uma rotação por segundo. Este procedimento tem o intuito de capturar os dynabeads, ligados aos protozoários, pelo ímã (figura 4.12, b e c)
- O tubo foi então invertido, para descarte do sobrenadante, mantendo o lado plano voltado para cima.
- Em seguida, o T_{LP} era desacoplado do MPC-1 e foram realizadas duas lavagens de 0,5 mL com tampão do próprio kit diluído a 10 vezes. A segunda lavagem foi realizada, no mínimo, um minuto após a primeira.
- Os volumes de cada tubo foram coletados por pipetas Pasteur e transferidos para tubos de microcentrífuga.
- Os tubos de microcentrífuga eram colocados em outro concentrador de partículas (MPC – S, Cat. nº120.20D, Invitrogen Dynal AS, Norway), já com a faixa magnética no local. Em seguida, eram agitados por 1 minuto fazendo um ângulo de 180° (figura 4.12d).
- O sobrenadante era aspirado e descartado. Após esta ação, a fita magnética do concentrador de partículas era retirada, para a realização da dissociação ácida dos (oo)cistos.

Figura 4.12 – Ilustração de algumas etapas da separação imunomagnética (IMS).

4.4.1.3 – Dissociação ácida de (oo)cistos

A dissociação foi realizada em duas etapas a fim de se aumentar a porcentagem de recuperação de (oo)cistos. Na primeira etapa eram adicionados 50 μL de ácido clorídrico (0,1 N) e na segunda etapa 25 μL . Cada etapa consistiu em:

- Após a adição de ácido, os tubos de microcentrifuga foram agitados em vórtex por 10 segundos, tendo-se o cuidado de o material não atingir a tampa, e colocados no concentrador de partículas magnéticas (MPC – S) sem a fita magnética.
- Decorridos 10 minutos em repouso, na posição vertical e em temperatura ambiente, levou-se ao vórtex novamente por 10 segundos.
- Os tubos de microcentrifuga voltavam para o concentrador de partículas (MPC – S), no qual era inserida a fita magnética, mantendo-os em repouso por, no mínimo, 10 segundos.

Ocorria, assim, a preparação das lâminas: adicionavam-se 7,5 μL de hidróxido de sódio (1 N) nos poços (wells) – cuja finalidade era neutralizar os 75 μL de ácido (50 + 25 μL

das duas etapas de dissociação), e depois se transferia o sobrenadante dos tubos de microcentrífuga para os poços das lâminas (figura 4.12e).

Ao final, foram utilizados 75 µL nas duas etapas de dissociação ácida, ao invés de 100 µL preconizados no método 1623 (USEPA, 2005).

Uma parte do trabalho – amostras dos ensaios de desinfecção com ozônio - teve de ser realizada sem que houvesse a etapa de separação imunomagnética. Neste caso, depois de as amostras terem sido concentradas, como descrito anteriormente (item 4.4.1.1) e deixadas em repouso “overnight”, alíquotas de 100µL de sedimento foram diretamente transferidas para os poços das lâminas. A detecção, contagem e exame de viabilidade de (oo)cistos ocorreram como se segue.

4.4.1.4 – Detecção de (oo)cistos

A detecção de (oo)cistos foi feita pela técnica de reação de Imunofluorescência Direta (RID) e se processava da seguinte forma:

- Após a purificação das amostras, estas foram examinadas segundo a reação de Imunofluorescência Direta. Previamente à utilização, o kit Merifluor (Meridien Bioscience Diagnostics, Cincinnati, Ohio) com os reagentes para a RID era mantido à temperatura ambiente e as lâminas eram identificadas.
- Deixavam-se as lâminas com amostras secarem em temperatura ambiente.
- Depois eram adicionados 10 a 50 µL de metanol absoluto a cada poço e deixava-se secar por 10 minutos.
- Após este tempo, havia a aplicação de 1 gota do reagente (fluido de detecção anti-*Cryptosporidium* e anti-*Giardia*) e 1 gota do contra-corante, ambos presentes no kit Merifluor. A seguir, as lâminas foram incubadas em câmara úmida e escura, durante 1 hora, à temperatura ambiente.
- Depois, as lâminas eram inclinadas, com a borda do lado mais longo para baixo, em papel toalha e cada poço foi lavado com água desionizada.
- Em seguida, 50 µL de uma solução DAPI (4',6-diamidino-2fenil-indol) (DAPI - Sigma®), de diluição 1:4000, foram aplicados em cada poço e as lâminas deixadas à temperatura ambiente durante no mínimo 30 minutos.
- Procedeu-se, então, a lavagem da lâmina, inclinada com a borda do lado mais longo para baixo, em papel toalha.

- Acrescentou-se de 30 a 50 µL de solução de iodeto de propídio (PI) (Sigma-Aldrich, USA) em cada poço da lâmina, deixando em repouso por, no mínimo, 15 minutos. As lâminas foram novamente lavadas para retirar o excesso de PI.
- Por fim, adicionou-se uma gota do meio de montagem, também presente no kit Merifluor, em cada poço e colocada a lamínula, para, finalmente, proceder à leitura das lâminas.

As amostras foram examinadas em microscópio de imunofluorescência (Olympus BX51) sob aumento de 400X a 800 X para pesquisar a ocorrência de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* através da RID, confirmando-se a presença destes por DAPI e verificando a viabilidade por PI.

Para a RID, era avaliada: a presença de estruturas esféricas de 4 a 6 µm – oocisto; e ovóides de 8 a 18 µm de comprimento por 5 a 15 µm de largura – cisto. Concomitantemente, a parede do (oo)cisto devia mostrar fluorescência verde-maçã brilhante, sem poros ou apêndices e apresentando sutura, para oocistos, ou axonema, para cistos, visível (exibindo forte fluorescência).

Para o Teste com DAPI, o (oo)cisto deveria apresentar uma ou mais das seguintes características (USEPA, 2005):

- a) dois a quatro núcleos azul-claros;
- b) intensa coloração azul interna;
- c) ligeira coloração azul interna (sem núcleos distintos) e uma borda verde.

(a) e (b) são registrados como DAPI + e (c) como DAPI -.

Para o teste com PI, os (oo)cistos identificados por RID e DAPI eram diferenciados em:

- PI-: não penetração do reagente iodeto de propídio no (oo)cisto – viável.
- PI+: penetração do reagente no (oo)cisto – não viável.

4.4.1.5 – Contagem de (oo)cistos

A contagem de (oo)cistos teve como referência a equação (4.16) (CANTUSIO NETO, 2004):

$$X = \frac{n^{\circ}(\text{oo})\text{cistos} \times 10^6}{\text{vol.sed}(\mu\text{L})\text{poço}} \times \frac{\text{vol.sed}(\text{mL})\text{obtido}}{\text{vol.amostra}(\text{mL})} \quad (4.16)$$

X: número de (oo)cistos por litro

Vol.sed: volume de sedimento

10^6 : fator de conversão de unidades

Vale ainda ressaltar que todo o well foi verificado quanto à detecção, confirmação e inferência de viabilidade aos (oo)cistos.

4.4.1.6 – Viabilidade de (oo)cistos

Para o estudo da desinfecção do esgoto foi imprescindível inferir a viabilidade dos protozoários, através do emprego do método de corantes vitais.

Este método é uma técnica de microscopia fluorescente usada na diferenciação de microrganismos vivos, mortos e esporulados. Na coloração diferencial foi utilizado o iodeto de propídio (PI). O reagente responsável pela emissão de fluorescência vermelha ($\lambda = 510$ a 550 nm) penetra apenas nos microrganismos com membrana danificada (células mortas). Este reagente foi o escolhido por ser mencionado em muitos artigos internacionais a respeito de viabilidade de *Giardia* e *Cryptosporidium* (BETANCOURT et al., 2003; CAMPBELL et al., 1992; MEDEMA et al., 1997; OLVERA et al., 2008; ROBERTSON et al., 2000).

4.4.1.7 – Experimentos-controle da técnica de detecção

Foram realizados o experimento controle-negativo para analisar quaisquer contaminações que pudessem vir a ocorrer durante o seguimento das diversas etapas empregadas para a detecção de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.. Este tipo de experimento-controle se deu após o experimento de controle-positivo.

O experimento controle-positivo teve a finalidade de avaliar a sensibilidade de recuperação de (oo)cistos das duas metodologias utilizadas. Para isso, amostras de 75 mL de esgoto foram contaminadas com uma suspensão de concentração conhecida de (oo)cistos provenientes do “controle positivo” do kit Merifluor, e processadas de acordo com as duas metodologias: com e sem separação imunomagnética.

Porém, previamente, houve contagens de (oo)cistos presentes em 5 μ L do “controle positivo” em 3 poços de lâmina de imunofluorescência. A partir dessas contagens, um número

médio de 424 cistos e 590 oocistos foram adicionados nas amostras de esgoto para o teste de recuperação quando da utilização de IMS; e 72 cistos e 578 oocistos foram acrescentados no teste sem IMS.

Também foram quantificados (oo)cistos já presentes na amostra de esgoto utilizada para o ensaio de recuperação. Esses (oo)cistos intrínsecos à amostra foram posteriormente subtraídos do montante encontrado nas amostras inoculadas.

Após a enumeração de cistos e oocistos nas amostras, a eficiência de recuperação de ambas metodologias pôde ser calculada pela equação (4.17) (SANTOS, 2007):

$$Y = \frac{r}{i} \times 100 \quad (4.17)$$

Y: eficiência de recuperação

R: número de cistos e oocistos recuperados

i: número de cistos e oocistos inoculados

Houve pequena agregação, principalmente de oocistos, no controle positivo utilizado para mensurar a eficiência de recuperação dos métodos; porém, a contagem dos mesmos não foi prejudicada.

4.4.2 - *Clostridium perfringens*

A metodologia para quantificação de *Clostridium perfringens* foi seguida de acordo com o método L5.403 (CETESB, 2004). Esse método utiliza a técnica de membrana filtrante.

Primeiramente, a amostra em diluições decimais foi aquecida em banho-maria a $60 \pm 0,5$ °C durante 15 minutos, para eliminar organismos não esporulados e formas vegetativas. A amostra foi depois imediatamente resfriada em banho de gelo.

Em seguida, procedeu-se à filtração de 100 mL de água da amostra, através de uma membrana estéril de nitrato de celulose com 0,45 µm de porosidade (Sartorius Stedim Biotech GmbH, Germany).

A membrana foi então transferida para uma placa de Petri estéril descartável contendo meio de cultura seletivo e diferencial Águar m-CP (Oxoid Ltda, England). Em seguida, as

placas eram viradas para baixo e incubadas em jarras de anaerobiose (Permutation, Brasil; Gas Pak® System, BBL), por 24 horas a $44,5 \pm 0,2$ °C (figura 4.12a).

A manutenção da atmosfera em anaerobiose foi conseguida com a inserção de um envelope de sistema anaeróbio (BD BBL™ GasPak™ Plus, ref. 271040; Becton, Dickinson and Company, USA). A fim de verificar anaerobiose, foi inserida uma fita plástica indicadora (BD BBL™, ref. 271051, Becton, Dickinson and Company, USA) a qual passava da coloração azul para incolor, confirmando a condição de anaerobiose.

Figura 4.13 – A: Jarra de anaerobiose com placas com meio Águar m-CP; B: Jarra de anaerobiose com tubos contendo caldo tioglicolato; I: Envelope para sistema de anaerobiose; II: fita plástica indicadora de anaerobiose.

Colônias típicas apresentam coloração amarelo palha, e, a partir do contato com vapores de hidróxido de amônio, adquirem coloração rosa escuro ou roxa – são colônias presuntivas de *C. perfringens*, como pode ser visto na figura 4.14.

Figura 4.14 – Colônias de *C. perfringens*: antes e após contato com vapores de hidróxido de amônio.

Com a finalidade de confirmar as colônias de *C. perfringens*, são selecionadas 10 colônias típicas do ensaio presuntivo. Cada colônia era, então, inoculada, com o auxílio de uma agulha de inoculação, em tubo contendo caldo tioglicolato (CM 0173, Oxoid Ltda, England) e incubada a $35 \pm 0,5$ °C durante 24 horas (figuras 4.13b e 4.15).

No início dos ensaios foram utilizadas 10 colônias, mas optou-se, por questão de trabalho e de tempo, selecionar apenas cinco. Nos ensaios realizados, todas as colônias selecionadas no meio Águar m-CP se mostraram positivas também no caldo tioglicolato.

Figura 4.15 – Tubos com caldo tioglicolato: todos positivos, exceto o tubo mais à direita.

Dos tubos positivos com caldo tioglicolato foi retirado 1 mL e inoculado em tubos contendo meio de leite com ferro modificado. Para esse meio de cultura, foram utilizados:

- 100 gramas de Leite em Pó Molico (desnatado) Instantâneo (Nestlé®);
- 1 grama de sulfato de ferro heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- 1000 mL de água desionizada

O modo de preparo foi seguido conforme o método L5.403 (CETESB, 2004). Os tubos foram incubados a $44,5 \pm 0,2$ °C durante 2 horas.

A leitura do teste confirmativo foi efetuada com tubos positivos que apresentaram produção de fermentação turbulenta no meio de leite com ferro modificado, com formação de coágulos (figura 4.16). O resultado foi lido como nº de colônias confirmadas como *C. perfringens* em 100 mL.

Figura 4.16 – Tubos com meio de Leite modificado: negativo (esquerda) e positivo (direita).

4.4.3 - *Escherichia coli* e Coliformes Totais

Para a quantificação de *E. coli* e coliformes totais foi utilizada a técnica de “pour plate”.

Colocava-se 1 mL de amostra (a partir de diluições decimais) em placa de Petri estéril. Logo a seguir, acrescentavam-se 9 mL do meio Chromocult® Coliform Agar (Merk Cat.No.1.10426) ainda líquido na temperatura de 50 a 55 °C. As placas eram, então, incubadas a 36 ± 1 °C por 24 ± 1 hora.

Por esta técnica, as colônias que apresentam coloração azul-escuro/violeta são identificadas como *E. coli*, e as que apresentam coloração salmão/vermelha, somadas às

colônias de *E. coli*, são identificadas como coliformes totais (figura 4.17). O resultado foi lido como Unidade Formadora de Colônia (UFC) por mL.

Esta metodologia foi empregada seguindo sugestão de Lorenção (2009), em razão de o aporte de sólidos na membrana dificultar a identificação das colônias.

Figura 4.17 – Placa não contaminada (esquerda) e Placa contaminada com coliformes totais e *E. coli* (direita).

4.5 – ANÁLISE DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

As análises dos parâmetros físico-químicos seguiram o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA; AWWA; WEF, 1998). Na tabela (4.2) estão apresentados os métodos analíticos empregados e os equipamentos utilizados.

Tabela 4.2 – Métodos analíticos empregados para análises físico-químicas.

Variável	Método e Equipamentos
Absorbância em comprimento de onda de 254nm	Espectrofotômetro DR 4000
Alcalinidade Parcial	Titulação potenciométrica com ácido sulfúrico até pH 5,75 (Método 2320B)
Alcalinidade Total	Titulação potenciométrica com ácido sulfúrico até pH 4,3 (Método 2320B)
Cloro residual livre e total	Método DPD colorimétrico (4500 G)
Condutividade	Condutivímetro - Digimed
DQO e DQO da amostra filtrada	Método colorimétrico em refluxo fechado (5220 D)
Amostra filtrada para DQO	Filtração em membrana de nitrato de celulose com porosidade de 1,2 µm
Nitrogênio amoniacal	Análise por Injeção em Fluxo (FIA). Espectrofotômetro Femton 600S; comprimento de onda 659 nm. (4500 NH ₃)
Nitrogênio Total Kjeldhal	Método Macro-Kjeldhal (4500)
ORP	mV meter – Denver Instrument
Ozônio residual	Método iodométrico e método colorimétrico (4500 B)
pH	Método Potenciométrico. pH meter - Denver Instrument
Sólidos Totais	Método Gravimétrico (2540 B)
Sólidos Suspensos Totais	Método Gravimétrico – filtração em membrana (1,2 µm) (2540 B)
Temperatura	Termômetro de mercúrio

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados serão apresentados na seguinte ordem:

- Monitoramento do reator UASB
- Comportamento do cloro no esgoto sanitário
 - Estudo dos residuais de cloro no esgoto
 - Breakpoint e parâmetros indicadores
- Ensaios de desinfecção
 - Considerações Iniciais
 - Ensaios com Radiação Ultravioleta
 - Ensaios com Cloro
 - Cloro-Radiação Ultravioleta
 - Ensaios com Ozônio
 - Ozônio-Radiação Ultravioleta

5.1 – MONITORAMENTO DO REATOR UASB

Foram realizadas oito caracterizações do esgoto afluente e efluente ao Reator UASB, como podem ser vistas no apêndice A (tabelas A1 a A4).

O parâmetro AI/AP explicita a razão entre a alcalinidade intermediária e a alcalinidade parcial. Esse parâmetro é importante, pois expressa a alcalinidade proveniente dos ácidos orgânicos voláteis - alcalinidade intermediária - e a alcalinidade devida a bicarbonatos - alcalinidade parcial. Entende-se neste trabalho por alcalinidade intermediária: a diferença entre a alcalinidade total e a parcial.

Os sólidos dissolvidos totais foram calculados a partir da diferença entre os sólidos totais e os sólidos suspensos totais.

Quanto à remoção, os valores negativos expressam, para determinado parâmetro, valores maiores no efluente com relação ao afluente do reator.

A DQO da amostra filtrada foi incluída no estudo com o intuito de avaliar o parâmetro DQO sem a interferência de sólidos suspensos. Sendo assim, a DQO foi subdividida em: DQO dissolvida (filtrada) e DQO particulada, cuja soma destas parcelas representam a DQO total.

Os valores nulos para a alcalinidade total e parcial e razão AI/AP, ocorridos na segunda avaliação (apêndice – tabela A1), são consequência do pH no efluente do reator UASB (4,03). No dia da coleta do afluente e efluente, suspeita-se que foi lançado resíduo químico na rede de coleta de esgoto do campus, em razão do odor bastante forte na ETE. Devido a esse resultado díspar, esta avaliação foi descartada da discussão.

As médias dos parâmetros e respectivo desvio padrão das sete avaliações encontram-se na tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Média e desvio padrão dos parâmetros analisados na caracterização do afluente e efluente do reator UASB (etapa de monitoramento).

Parâmetros	Média ($\pm$ DP)	
	Afluente	Efluente
T ($^{\circ}$ C)	20,8 ($\pm$ 1,5)	20,1 ($\pm$ 1,7)
pH	6,91 ($\pm$ 0,30)	7,03 ($\pm$ 0,25)
AT (mg CaCO ₃ /L)	177,3 ($\pm$ 76,8)	241,4 ($\pm$ 40,5)
AP (mg CaCO ₃ /L)	97,7 ($\pm$ 51,1)	142,9 ($\pm$ 28,8)
AI/AP	0,89 ($\pm$ 0,39)	0,70 ($\pm$ 0,10)
DQO (mg/L)	829 ($\pm$ 651)	335 ($\pm$ 52)
DQO filtrada (mg/L)	446 ($\pm$ 535)	246 ($\pm$ 42)
DQO particulada (mg/L)	383 ($\pm$ 498)	88 ($\pm$ 20)
ST (mg/L)	693 ($\pm$ 481)	398 ($\pm$ 130)
SST (mg/L)	281 ($\pm$ 291)	59 ($\pm$ 20)
SDT (mg/L)	412 ($\pm$ 343)	340 ($\pm$ 140)

Notas: T: temperatura; AT: alcalinidade total; AP: alcalinidade parcial; AI: alcalinidade intermediária; DP: desvio padrão; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais.

Na tabela 5.2, estão apresentados alguns valores típicos da composição de esgoto sanitário não tratado (METCALF; EDDY, 2003).

Tabela 5.2 – Características de esgoto sanitário.

Parâmetros	Esgoto Sanitário		
	Fraco	Médio	Forte
DQO (mg/L)	250	430	800
ST (mg/L)	390	720	1230
SST (mg/L)	120	210	400
SDT (mg/L)	270	500	860

Notas: ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais.

Ao se comparar os resultados das tabelas 5.1 e 5.2, verifica-se que em termos de DQO o afluente ao reator UASB tem característica de esgoto “forte”; as concentrações de sólidos totais e sólidos dissolvidos totais se apresentam entre “fraco” e “médio”; e com relação aos sólidos suspensos totais, estes possuem característica de “médio” a “forte”. Entretanto, deve-se relatar que o esgoto afluente ao reator UASB já havia passado pelo tratamento preliminar, onde ocorre retirada de sólidos principalmente de sólidos suspensos.

Em vista disso, o esgoto afluente ao reator UASB estudado tem características de “médio” para sólidos e de “forte” para a DQO, segundo classificação de Metcalf e Eddy (2003). Essas características corroboram com as encontradas por Passig (2005). Segundo este mesmo autor, isto decorre provavelmente o fato de a rede coletora receber contribuições dos laboratórios e restaurante da universidade, do comércio e indústrias (área próxima ao Campus).

Os valores de pH nas avaliações se mantiveram próximos à neutralidade, com pequenas variações do afluente para o efluente, dentro da faixa de crescimento ótimo para bactérias produtoras de metano (6,6 a 7,4) (CHERNICHARO, 1997; GRADY Jr et al., 1999).

A temperatura manteve-se praticamente constante, na faixa mesofílica (20 – 45 °C). Com isso, mantém-se a termodinâmica de várias reações também estável, como por exemplo, o grau de dissociação de diversos compostos, evitando mudanças químicas bruscas no reator. Além do mais, neste intervalo de temperatura, predominam alguns gêneros de bactérias formadoras de metano (CHERNICHARO, 1997; GRADY et al., 1999).

A alcalinidade total não expressa a capacidade de tamponamento do sistema, visto que parte dela – alcalinidade intermediária - se remete à alcalinidade proveniente de ácidos orgânicos voláteis. Estes ácidos, em concentrações elevadas, podem acidificar o reator, com conseqüente queda da remoção de matéria orgânica (DQO) e da geração de gás metano (CHERNICHARO, 1997; GRADY Jr et al., 1999).

Assim, a fração dita parcial pode ser mais adequada para analisar reatores UASB; por isso, a importância dos valores de AI/AP. Na literatura, valores de AI/AP no efluente menores ou iguais a 0,30 podem indicar um bom funcionamento do reator UASB, porém há possibilidade de o processo manter a estabilidade para valores diferentes a 0,3 (CHERNICHARO, 1997). Entretanto, nos dados obtidos, nenhum dos resultados aproximou-se desse valor; sendo que o mais próximo foi de 0,46 para o afluente da avaliação 7 e 0,59 para o efluente da avaliação 6.

As remoções de DQO, DQO filtrada, DQO particulada, sólidos totais, sólidos suspensos totais e sólidos dissolvidos totais e a variação da razão AI/AP (diferença do afluente em relação ao efluente) estão apresentados na tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Remoção de DQO, sólidos e variação de AI/AP no reator UASB.

Avaliação	DQO	DQO _{filt}	Remoção (%)				Variação AI/AP
			DQO _{part}	ST	SST	SDT	
1	56	48	71	-14	82	-58	0,40
3	19	29	-29	-8	39	-25	-0,09
4	76	-53	93	63	91	-32	0,45
5	82	85	53	78	79	77	0,87
6	18	-29	55	10	70	-11	0,08
7	40	-3	69	32	67	2	-0,17
8	-1	-65	63	13	37	3	-0,24
Média (±DP)	41(± 31)	2(±55)	54(±39)	25(±35)	66(±21)	-6(±42)	-

Notas: AP: alcalinidade parcial; AI: alcalinidade intermediária; DQO_{filt}: DQO filtrada; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; DP: desvio padrão.

A remoção de sólidos suspensos no reator UASB foi de até 91%, com o efluente tendo, em média, menos de 60 mg.L⁻¹. Chernicharo (1997) encontrou como resultados operacionais de quatro reatores, a faixa de concentração de 20 e 100 mg.L⁻¹. A DQO apresentou remoção média de 41% e, de mesma forma, no intervalo de eficiência de remoção de DQO de cinco reatores: 40 a 75% (CHERNICHARO, 1997).

Mesmo assim, o reator UASB não manteve constante a remoção de todos os parâmetros, como se pode notar através dos elevados valores de desvio padrão. No entanto, esta eficiência variável pode estar relacionada à grande variabilidade das características do esgoto afluente.

Com exceção das avaliações 3 e 5, verificou-se remoção mais acentuada da DQO particulada, que de acordo com Aquino (2003), é a mais fácil de ser removida, em relação à DQO filtrada.

Observa-se também que nas avaliações 4, 6, 7 e 8 a DQO filtrada no efluente foi maior que no afluente. Nas avaliações 7 e 8, um possível aumento da concentração de ácidos orgânicos voláteis do sistema pôde implicar o resultado da variação de AI/AP negativa. Nas avaliações 4 e 6, a variação AI/AP foi positiva, o que vem sugerir que o aumento da DQO filtrada no efluente pode ser devido, não tanto a compostos intermediários como os ácidos orgânicos voláteis, mas a produtos microbianos solúveis (PMS) (AQUINO, 2003; GRADY Jr et al., 1999).

Os PMS seriam compostos orgânicos dissolvidos que causam DQO, surgindo no efluente, sem constar originalmente no afluente. Seriam resultantes principalmente da fase de respiração endógena, concomitantemente, em reatores operados com elevados tempos de retenção celular (TRC) (AQUINO, 2003; GRADY Jr et al., 1999).

As principais correlações encontradas entre os parâmetros analisados podem ser visualizadas nas figuras (5.1 a 5.3).

Figura 5.1 – Relação da variação AI/AP e remoção de DQO.

Figura 5.2 – Relação da variação AI/AP e remoção de SST.

Figura 5.3 – Relação da remoção de DQO e da remoção de SST.

Todas as correlações entre os parâmetros monitorados, inclusive aquelas que apresentaram R^2 inferior a 0,5, estão apresentadas na tabela 5.4.

Tabela 5.4 – Correlações entre os parâmetros de monitoramento do reator UASB.

	DQO	DQO_{filt}	DQO_{part}	ST	SST	SDT
DQO	-	-	-	-	-	-
DQO_{filt}	0,2421	-	-	-	-	-
DQO_{part}	0,1681	0,1177	-	-	-	-
ST	0,468	0,0055	0,1854	-	-	-
SST	0,7275	0,0484	0,4407	0,2525	-	-
SDT	0,0541	0,1218	0,0005	0,4726	0,001	-
AI/AP	0,783	0,3474	0,0809	0,3668	0,5598	0,136

Notas: AP: alcalinidade parcial; AI: alcalinidade intermediária; DQO_{filt}: DQO filtrada; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais.

Além de a razão – AI/AP - ser um parâmetro de controle para a operação de reatores anaeróbios, no caso estudado, mostrou-se também relacionada à remoção de material orgânico e de sólidos suspensos.

Para essa discussão, algumas reações do processo anaeróbio são mostradas na tabela 5.5.

Tabela 5.5: Algumas reações principais da digestão anaeróbia (adaptado de CAMPOS, 1999).

Processo	Equação
Propionato a acetato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + \text{HCO}_3^- + 3\text{H}_2$
Butirato a acetato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$
Etanol a acetato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$
Lactato a acetato	$\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$
Acetato a metano	$\text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{CH}_4$
Bicarbonato a acetato	$4\text{HCO}_3^- + 9\text{H}_2 \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + 8\text{H}_2\text{O}$
Bicarbonato a metano	$\text{HCO}_3^- + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$

Verificam-se íons bicarbonato (HCO_3^-) em quase todas as reações expostas na tabela 5.5, ora sendo gerados, ora sendo consumidos nos processos bioquímicos. Ao mesmo tempo, pode-se associar qual fase da digestão anaeróbia é mais eminente no reator e, por conseguinte, relacionar à remoção de matéria orgânica.

É importante ressaltar que estudos de transferência de energia são por si só mais complexos devido a inúmeros produtos intermediários e finais em concentrações mais baixas, também estarem presentes na digestão anaeróbia (CAMPOS, 1999).

5.2 - COMPORTAMENTO DO CLORO NO ESGOTO SANITÁRIO

O objetivo desta etapa foi avaliar as reações do cloro com a matéria orgânica do esgoto. As amostras de esgoto utilizadas em cada uma das etapas têm suas características expostas na tabela 5.6.

Tabela 5.6 - Características do esgoto Bruto I e Bruto II no estudo do comportamento do cloro no esgoto sanitário, respectivamente para as etapas I e II (Média $\pm$ DP).

Parâmetro	Unidade	Bruto I	Bruto II
Temperatura	°C	24	23
pH	-	6,76	6,5
ORP	mV	NR	44
Condutividade	$\mu\text{S.cm}^{-1}$	NR	440
DQO ¹	mg.L^{-1}	130 ± 5	264 ± 7
Alcalinidade ²	$\text{mg CaCO}_3.\text{L}^{-1}$	40 ± 1	78 ± 2
NTK ²	mg.L^{-1}	NR	34 ± 1
ST ²	mg.L^{-1}	213 ± 57	318 ± 3
SST ²	mg.L^{-1}	79 ± 10	78 ± 10

Notas: DP: desvio padrão; ORP: potencial de oxi-redução; NTK: nitrogênio total Kjeldahl; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; NR: não realizado.

¹ Foram realizadas três repetições na análise.

² Foram realizadas duas repetições na análise.

5.2.1 - Estudo dos residuais de cloro no esgoto

As variações das espécies de cloro no tempo estão apresentadas na figura 5.4.

Primeiramente, deve-se salientar que não houve a medição de cloro, para o tempo de controle de 75 minutos, quando da concentração de 5 mg.L^{-1} . O cloro residual combinado (CRC) foi calculado a partir da diferença entre os valores de cloro residual total (CRT) e cloro residual livre (CRL).

Observam-se grandes variações no decorrer do tempo, principalmente para as duas menores concentrações e um aumento da concentração de cloro combinado à medida que se eleva a concentração aplicada de cloro, para todos os tempos estudados.

Figura 5.4 - Variação do CRL, CRC e CRT no tempo com aplicação de 5, 10 e 15 mg.L⁻¹ de cloro.

Durante a cloração, o nitrogênio amoniacal reage com o cloro livre, modificando-se em cloro combinado, com a geração de cloraminas orgânicas e inorgânicas. O cloro, por ser um forte oxidante, reage ainda com muito compostos presentes no esgoto bruto, o que levou a uma variação das espécies de cloro residual livre e combinado.

Nos tempos de 5, 10 e 20 minutos, houve valores maiores de cloro livre para a concentração de 10 mg.L⁻¹ quando comparada com a concentração de 15 mg.L⁻¹. No tempo de 15 minutos, ocorreu maior valor de cloro livre para a concentração de 5 mg.L⁻¹ que em relação a 10 mg.L⁻¹.

Hanssen et al. (2000) relatam que com o passar do tempo as tricloraminas são a forma mais importante de cloro residual. Os mesmos autores encontraram variabilidade na quantidade de CRL e CRC com o tempo nas concentrações de 6,5 e 13,6 mg.L⁻¹. Porém, em valores absolutos, essa variabilidade foi muito pequena. Talvez até mesmo pela qualidade do efluente que foi utilizado pelos autores: DQO de 20 a 30 mg.L⁻¹ e nitrogênio amoniacal de 8 a 20 mg N-NH₃.L⁻¹.

Tree et al. (2003) obtiveram em seus experimentos cloro residual total variável nas amostragens em 5 e 30 minutos e, por conseguinte, grande eficiência de desinfecção para alguns indicadores fecais nos primeiros minutos e depois baixa ou nenhuma inativação no decorrer do tempo. Sugeriram ainda, que parte da variação poderia ser resultado da interferência de componentes do esgoto com reagentes do método DPD.

Bedner et al. (2004) evidenciaram a transferência de cloro para macromoléculas de cloraminas orgânicas – caracterizadas com baixo poder de desinfecção – a partir de cloraminas inorgânicas como, por exemplo, monocloraminas. Conyers e Scully (1997) propuseram que cloraminas orgânicas e monocloraminas respondem da mesma maneira nos métodos convencionais, quando da quantificação de CRC.

Haas e Heller (1990), Oslon e Stewart (1990) e Tree et al. (2003) citam que curvas bifásicas de inativação estão relacionadas à população remanescente e indivíduos agregados mais resistentes e sítios de não ativação celular e formação de cloraminas. Em decorrência de uma ação desinfetante mais contundente do cloro residual livre em relação ao cloro residual combinado, pode-se conseguir uma eficiência de desinfecção maior em concentrações menores, e até mesmo propor explicação às “caudas” e aos “patamares” na cinética de desinfecção de microrganismos.

Souza (2006) verificou, em água com cor baixa, menor eficiência de inativação de *E. coli* para aplicações de 4 e 5 mg.L⁻¹ de cloro, no tempo de 20 minutos, quando comparada aos tempos de 10 e 15 minutos. E ao pesquisar a inativação do mesmo microrganismo em água

com cor elevada, constatou inativação menor no tempo de 20 minutos, quando comparada aos tempos de 10 e 15 minutos, na aplicação de 3 mg.L^{-1} de cloro.

Sartori (2007) encontrou maior eficiência na inativação de *Clostridium perfringens* e *Giardia* spp. no tempo de 15 minutos, quando aplicados 10 mg.L^{-1} de cloro em esgoto sanitário, em comparação ao tempo de 20 minutos.

Existe ainda a dificuldade da previsão do comportamento do cloro em meio aquoso. Um agravante no caso do esgoto sanitário é a presença de inúmeros compostos orgânicos que em contato com o cloro formam subprodutos. As reações são complexas devido à diversidade de grupos funcionais que podem ser atacados pelo cloro, vindo a possuir cinéticas de formação e decomposição diferentes. Até mesmo a formação inicial de monocloramias influencia esta cinética, além do pH, tempo de reação e cloro residual livre (HUA; RECKHOW, 2008; FERREIRA FILHO; SAKAGUTI, 2008; NIKOLAOU et al., 2004).

5.2.2 - Breakpoint e parâmetros indicadores

Em dados da literatura - White (1972); Metcalf e Eddy (2003) - os exemplos gráficos de breakpoint de águas residuárias são realizados com medições pontuais de 60 ou 120 minutos de ensaio. Neste trabalho, seriam utilizados apenas os dados pontuais em 60 minutos para se fazer a curva de breakpoint; porém, devido a variações das espécies residuais de cloro na etapa anterior, optou-se por realizar também as medições intermediárias nos tempos 10 e 30 minutos. A figura 5.5 representa o comportamento do CRC, CRL e as curvas de breakpoint em consideração ao cloro residual total.

Em doses baixas, o cloro reage com a amônia e forma cloramias. Há, em decorrência, um aumento de cloramias com aumento da dose de cloro. Depois, há um decréscimo de cloramias devido à conversão em tricloramina, óxido nitroso (N_2O) e nitrogênio (N_2). O cloro livre se mantém em valores baixos até esse momento. Após isso – breakpoint – há acréscimos sucessivos de cloro livre e decréscimos de cloro residual combinado à medida que se aplicam maiores concentrações de cloro.

Figura 5.5 - Comportamento do cloro residual livre e combinado em 10, 30 e 60 minutos e as curvas de breakpoint do esgoto, com relação ao cloro total.

O breakpoint ocorreu na concentração de 80 mg.L⁻¹ de cloro aplicado, estando relacionado à grande quantidade de nitrogênio orgânico e amoniacal, e DQO no esgoto bruto.

A medição em 10 minutos evidencia um aumento da concentração de cloro residual combinado mesmo após o breakpoint, diferentemente dos tempos de 30 e 60 minutos.

A presença de nitrogênio orgânico, entre outros compostos, pode alterar o formato da curva de breakpoint, não acontecendo um “vale” tão acentuado. Nota-se ainda, que mesmo após o breakpoint (aplicação de 100 mg.L⁻¹), o cloro residual combinado se mantém em concentração elevada, devido, principalmente, a dicloraminas e tricloraminas (METCALF; EDDY, 2003).

Observa-se, no tempo de 30 minutos, concentração de cloro residual livre maior na dose de 10 mg.L⁻¹ quando comparado com as doses de 20 e 50 mg.L⁻¹.

As análises de covariância entre as curvas de cloro residual total nos tempos de 10, 30 e 60 minutos estão expressas na tabela 5.7.

Tabela 5.7 - Coeficientes de covariância (R) entre as curvas de cloro residual total nos tempos de 10, 30 e 60 minutos.

	30 minutos	60 minutos
10 minutos	0,9481	0,9968
60 minutos	0,9481	-

Com esses resultados, pode-se verificar que o ponto de breakpoint foi independente do tempo, e dependente apenas da concentração de cloro aplicada.

No intuito de se constatar alguma alteração que pudesse servir como indicativa do breakpoint, foram monitorados continuamente os parâmetros ORP, pH e condutividade, como pode ser visto nas figuras 5.6, 5.7 e 5.8, respectivamente.

Figura 5.6 - Variação do potencial de oxi-redução de acordo com a dose de cloro aplicada e nos tempos de 10, 30 e 60 minutos.

As reações do cloro com a amônia são reações de oxi-redução e diferentes residuais de cloro apresentaram diferentes ORPs (YU; CHENG, 2003). Os resultados obtidos não seguiram os encontrados por Eilbeck (1984), Yu e Cheng (2003), Yu (2004), Kim et al. (2006).

Deborde e Von Gunten (2008) relatam que a mensuração de ORP pode ser afetada por compostos orgânicos, entre eles, compostos contendo enxofre. Além disso, ORP é uma mensuração não específica; portanto, os resultados de todos os pares redox podem interagir no valor de ORP, que não sejam constituintes do desinfetante. Os resultados apresentaram covariância negativa acima de 0,78 com os residuais de cloro total (tabela 5.8).

Figura 5.7 - Variação do pH de acordo com a dose de cloro aplicada e nos tempos de 10, 30 e 60 minutos.

A variação de pH tendo o mesmo comportamento das curvas de cloro residual total também foi descrita por Eilbeck (1984), Yu e Cheng (2003), Yu (2004), Kim et al. (2006). Segundo esses autores, o pH inicialmente aumenta pela própria reação da solução de NaOCl com a água gerando íons hidroxila, equação (5.1). No entanto, há reação da amônia com ácido hipocloroso e liberação de íons H^+ , como pode ser visto na equação (5.2), mas em menor concentração, pois somente 70% da amônia serão oxidados a monocloramina e íons hidrogênio (White, 1999).

A oxidação da monocloramina possui uma relação molar de 1: 1,5 de H^+ produzido, conforme a equação (5.3). No entanto, há consumo de 0,5 mol de HOCl e conseqüente produção de 1,0 mol de H^+ .

Então, há diminuição do pH, formando o vale característico da curva – breakpoint – na concentração de 80 mg.L^{-1} de cloro aplicado.

Na oxidação da monocloramina há produção de íons cloreto (equação 5.3). Por essa razão, observa-se um aumento acentuado da condutividade na dosagem de 50 para 80 mg.L^{-1} de cloro (concentração para ocorrência do breakpoint), como mostra a figura 5.8.

Figura 5.8 - Variação da condutividade de acordo com a dose de cloro aplicada e nos tempos de 10, 30 e 60 minutos.

Os gráficos representativos da curva de ORP dos trabalhos de Eilbeck (1984), Yu e Cheng (2003), Yu (2004), Kim et al. (2006) são semelhantes aos gráficos de condutividade obtidos neste trabalho.

Na tabela 5.8 são apresentadas as covariâncias obtidas entre as curvas de breakpoint e os parâmetros sugeridos como indicadores em seus respectivos tempos de análise.

Tabela 5.8 – Coeficientes de covariâncias (R) entre cloro residual total da análise de breakpoint e os parâmetros pH, ORP e condutividade nos tempos de 10, 30 e 60 minutos.

Parâmetros	Cloro Residual Total (Breakpoint)		
	10 minutos	30 minutos	60 minutos
pH	0,8984	0,7880	0,8195
ORP	-0,9212	-0,7832	-0,7927
Condutividade	0,2580	0,5499	0,2831

Nota: ORP: potencial de oxi-redução.

O pH e o potencial de oxi-redução apresentaram valores altos e próximos de coeficientes de correlação, o que não pôde ser constatado para o parâmetro condutividade.

Alcalinidade, DQO, ST, SST e NTK foram quantificados apenas no tempo de 60 minutos e seus valores estão apresentados na tabela 5.9.

Tabela 5.9 – Valores de NTK, Alcalinidade total, DQO, ST e SST após 60 minutos de tratamento com 10, 20, 50, 80 e 100 mg de cloro.L⁻¹.

Dose de Cloro (mg.L ⁻¹)	NTK (mg.L ⁻¹)	Alc. Total (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	DQO (mg.L ⁻¹)	ST (mg.L ⁻¹)	SST (mg.L ⁻¹)
Bruto	34	78	255 ± 13	318 ± 2	80 ± 2
10	32	71 ± 1	270 ± 6	446 ± 30	65 ± 0
20	30	62 ± 4	230 ± 4	466 ± 0	60 ± 0
50	25	56 ± 4	241 ± 2	673 ± 15	60 ± 1
80	20	54 ± 2	240 ± 4	1275 ± 27	65 ± 6
100	18	43 ± 2	236 ± 3	1706 ± 56	67 ± 2

Notas: NTK: nitrogênio total Kjeldahl; Alc. Total: alcalinidade total; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais. Bruto: esgoto sem aplicação de cloro.

Observa-se perda de alcalinidade e diminuição dos valores de NTK à medida que se eleva a concentração de cloro aplicada. A DQO e os SST se mantiveram praticamente constantes. Os ST apresentaram aumento, principalmente na fração de sólidos dissolvidos, o

que pode ser devido à adição de hipoclorito de sódio para a reação de breakpoint e metabissulfito de sódio na descloração.

5.3 – ENSAIOS DE DESINFECÇÃO

5.3.1 – Considerações Iniciais

A quantificação de coliformes totais e *E.coli* pode ser feita pelo método da membrana filtrante. Entretanto, os sólidos em suspensão no esgoto dificultam a filtração da amostra e a interpretação dos resultados. Realizou-se uma comparação entre os métodos da membrana filtrante e “pour plate” para detecção de coliformes totais e *E. coli*. O resultado da análise estatística, utilizando sete repetições e nível de 5% de significância, pode ser conferido na tabela 5.10.

Tabela 5.10 – ANOVA dos métodos de detecção de coliformes totais e *E. coli*.

		Método		Média	Variância		
<i>E. Coli</i>		Membrana Filtrante		43,86	23,81		
		Pour Plate		47,29	9,24		
ANOVA	Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
	Entre grupos	41,14285714	1	41,14286	2,4899	0,1406	9,33
	Dentro dos grupos	198,2857143	12	16,52381			
	Total	239,4285714	13				
		Método		Média	Variância		
Coliformes Totais		Membrana Filtrante		117,29	31,90		
		Pour Plate		117,71	17,57		
ANOVA	Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
	Entre grupos	0,642857143	1	0,642857	0,0260	0,8746	4,75
	Dentro dos grupos	296,8571429	12	24,7381			
	Total	297,5	13				

Notas: ANOVA: análise de variância; SQ: soma dos quadrados; gl: grau de liberdade; MQ; média dos quadrados.

A partir dessa análise, tem-se que as médias dos métodos são estatisticamente iguais. Optou-se pelo método “pour plate”, em razão de não se ter problemas com sólidos em suspensão presentes no esgoto e por apresentar uma menor variabilidade (valor de variância) nas contagens de bactérias em comparação com o método da membrana filtrante.

Foram realizadas duas caracterizações físico-químicas e microbiológicas no efluente do reator UASB da ETE USP - São Carlos e uma no efluente do reator UASB da ETE Monjolinho – São Carlos. Os resultados dessas avaliações estão compilados na tabela 5.11.

Tabela 5.11 - Caracterização físico-química e microbiológica de efluentes de reatores UASB.

Parâmetros	ETE USP		ETE Monjolinho
	(14/08/2009)	(02/09/2009)	(02/09/2009)
Temperatura (°C)	22	23	22
pH	6,54	6,54	6,88
AT (mg CaCO ₃ /L)	161 (± 1) ¹	215	280
AP (mg CaCO ₃ /L)	62 (± 1)	92 (± 4)	200
AI/AP	1,60	1,34	0,40
DQO (mg/L)	398 (± 4)	555 (± 11)	331
ST (mg/L)	307 (± 44)	454	685 (± 72)
SST (mg/L)	85 (± 3)	83 (± 4)	161 (± 1)
SDT (mg/L)	222 (± 43)	417 (± 68)	525 (± 73)
Coliformes Totais (UFC/mL)	2,5. 10 ⁵	2,7. 10 ⁵	3,2. 10 ⁵
<i>E. coli</i> (UFC/mL)	3,3. 10 ³	3,5. 10 ⁴	5,8. 10 ⁴
<i>C. perfringens</i> (UFC/100 mL)	2. 10 ⁴	5. 10 ⁴	1. 10 ⁵
<i>Giardia</i> spp. (cistos/L)	1,8. 10 ³	2,1. 10 ³	7,1. 10 ²
<i>Cryptosporidium</i> spp. (oocistos/L)	4,3. 10 ²	2,7. 10 ²	8,9. 10 ¹

Notas: AT: alcalinidade total; AP: alcalinidade parcial; AI: alcalinidade intermediária; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; ¹Média (± desvio padrão); UFC: unidade formadora de colônia.

Em se tratando de comparações, a razão AI/AP foi de três a quatro vezes menor na ETE Monjolinho, indicando estabilidade no reator UASB. Na ETE da USP – São Carlos, destaca-se a boa eficiência na retenção de SST, cujo efluente apresentou concentrações menores que 100 mg.L⁻¹. Quanto à questão microbiológica, os valores das duas avaliações na ETE da USP se mostraram bem próximos. A concentração de *Clostridium perfringens* na ETE Monjolinho foi de 2,5 a 3 vezes maior; porém, para os (oo)cistos dos protozoários, no efluente do reator UASB da ETE da USP, a concentração foi aproximadamente de 3 a 5 vezes maior.

O resultado das recuperações de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. pelos dois métodos - com utilização de separação imunomagnética (IMS) e sem o

emprego de IMS - está reunido nas tabelas 5.12 e 5.13. Para a realização desta avaliação foi utilizado efluente do reator UASB da ETE USP – São Carlos.

Tabela 5.12 – Ensaio de Recuperação de (oo)cistos de protozoários com IMS do efluente do reator UASB da ETE da USP – São Carlos.

Protozoário	Nº (oo)cistos Inoculados	Nº (oo)cistos Recuperados	Recuperação (%)	Recuperação Média (± DP)
<i>Giardia</i> spp.	424	81	19,1	53,1 (± 29,7 %)
	424	315	74,3	
	424	279	65,8	
<i>Cryptosporidium</i> spp.	590	91	15,4	21,0 (± 4,9%)
	590	146	24,7	
	590	135	22,9	

Nota: DP: desvio padrão

Tabela 5.13 - Ensaio de Recuperação de (oo)cistos de protozoários sem IMS do efluente do reator UASB da ETE da USP – São Carlos.

Protozoário	Nº (oo)cistos Inoculados	Nº (oo)cistos Recuperados	Recuperação (%)	Recuperação Média (± DP)
<i>Giardia</i> spp.	72	32	44,4	57,4 (± 22,4 %)
	72	60	83,3	
	72	32	44,4	
<i>Cryptosporidium</i> spp.	578	16	2,8	3,5 (± 1,1%)
	578	28	4,8	
	578	16	2,8	

Nota: DP: desvio padrão

Na literatura, a recuperação de (oo)cistos é muito dependente do método empregado e das características do efluente analisado. Realizou-se o levantamento de dados a respeito de recuperação de (oo)cistos na utilização de esgoto sanitário, apresentado a seguir:

Robertson et al. (2000) mostraram que, de modo geral, a recuperação de cistos e oocisto é maior quando não se utiliza etapa de purificação; e o aumento da turbidez afeta negativamente no desempenho do método. Fazendo uso apenas de centrifugação de 50 mL de amostra, esses pesquisadores obtiveram os resultados para afluente e efluente de ETE apresentados na tabela 5.14.

Tabela 5.14 – Porcentagem de recuperação de (oo)cistos em esgoto sanitário (ROBERTSON et al., 2000).

	<i>Giardia</i> spp.		<i>Cryptosporidium</i> spp.	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
Quantidade Inoculada	120 cistos/L		120 oocistos/L	
(%)Recuperação: Média ($\pm$ DP)	79 ($\pm$ 32)	81 ($\pm$ 27)	81 ($\pm$ 21)	89 ($\pm$ 10)
Intervalo da Recuperação (%)	3 a 97	15 a 99	32 a 98	25 a 99
Quantidade Inoculada	5000 cistos/L		5000 oocistos/L	
(%)Recuperação: Média ($\pm$ DP)	85 ($\pm$ 30)	78 ($\pm$ 17)	85 ($\pm$ 18)	89 ($\pm$ 15)
Intervalo da Recuperação (%)	11 a 99	38 a 87	41 a 98	54 a 99

Nota: DP: desvio padrão.

Medema e Schijven (2001) obtiveram taxas de recuperação de 0,36% para *Cryptosporidium* e de 10% para *Giardia* ao utilizarem filtração em membrana seguida de centrifugação.

Betancourt et al. (2003) empregaram o Método 1623 da USEPA – que preconiza a filtração, centrifugação e IMS. As taxas de recuperação foram, em média, 32% para *Cryptosporidium* (intervalo de 1 a 84 %); e para *Giardia*, 27% (intervalo de 1 a 68%).

Santos et al. (2004) realizaram apenas centrifugação. No entanto, foi utilizado processo de clarificação com éter, obtendo recuperação de 54,4% para cistos de *Giardia* e 9,6% para oocistos de *Cryptosporidium*. De outra maneira, fazendo purificação por flutuação em sacarose, a recuperação foi de 10,5 % para *Giardia* e de 3,2 % para *Cryptosporidium*.

McCuin e Clancy (2005) estudaram a recuperação de oocistos de *Cryptosporidium*. Em esgoto bruto e efluente primário a etapa de concentração foi somente por centrifugação, seguida de IMS. Para efluente secundário e terciário, anterior à etapa de centrifugação, houve filtração em membrana. Os dados estão reunidos na tabela 5.15.

Tabela 5.15 – Recuperação de oocistos em águas residuárias (McCUIN; CLANCY, 2005).

Tipo de Efluente	(%)Recuperação: Média ($\pm$ DP)	Intervalo da Recuperação
Bruto	33,0 ($\pm$ 21,1)	2,7 a 79,9
Primário	42,7 ($\pm$ 28,3)	10,9 a 107
Secundário	53,0 ($\pm$ 19,2)	21,9 a 75,2
Terciário	67,8 ($\pm$ 4,4)	NR

Notas: DP: desvio padrão; NR: não relatado.

Cantusio Neto et al. (2006), ao realizarem concentração por centrifugação, obtiveram para afluente de ETE recuperação de 124,0 % para *Giardia* e 65,8 % para *Cryptosporidium*. Em efluente da mesma ETE, mas utilizando filtração em membrana, seguida de centrifugação,

conseguiram porcentagem de recuperação de 58,8 % para *Giardia* e de 26,6 % para *Cryptosporidium*. Em ambos os métodos não foi realizada a separação imunomagnética.

França (2007) obteve para concentração por centrifugação, acompanhada de clarificação com éter, recuperação próxima de 90,8 ($\pm 35,0$ %) para *Giardia* e de 56,2 ($\pm 34,6\%$) para *Cryptosporidium*.

Nos ensaios de desinfecção com radiação ultravioleta, a dose recebida na segunda etapa da desinfecção foi corrigida. Ao se retirar a amostra intermediária de 600 mL de esgoto após a primeira etapa de desinfecção ($2,5 \text{ Wh.m}^{-3}$), a lâmina de esgoto no reator de radiação UV diminui de 3 cm - inicialmente estabelecido - para aproximadamente 2,7 cm. Seguindo os princípios da lei de Lambert – Beer, com a diminuição do caminho óptico, a dose recebida de radiação aumenta. Conseqüentemente, a dose da segunda etapa da desinfecção foi retificada de 5,0 para $6,1 \text{ Wh.m}^{-3}$.

5.3.2 – Ensaios com Radiação Ultravioleta

Foram realizados seis ensaios com a primeira dose de radiação UV – $2,5 \text{ Wh.m}^{-3}$. Em quatro desses ensaios, o efluente continuou retido no reator o tempo necessário para que a segunda dose – $6,1 \text{ Wh.m}^{-3}$ – também fosse aplicada. Os dados físico-químicos e microbiológicos estão compilados no apêndice (tabelas A5 a A7).

Também constam no apêndice os dados de dose de radiação aplicada e recebida durante os ensaios com radiação ultravioleta (tabela A8).

5.3.2.1 – pH, ORP e Alcalinidade

A variação do pH, potencial oxi-redução e alcalinidade total durante os ensaios com radiação ultravioleta pode ser visualizada nas figuras 5.9 a 5.11, respectivamente.

Figura 5.9 – Variação do pH nos ensaios com radiação UV.

Figura 5.10 – Variação do potencial oxi-redução durante os ensaios com radiação UV.

Figura 5.11 – Variação da alcalinidade total nos ensaios com radiação UV.

O pH se manteve, praticamente, estável durante os ensaios I, IV e V. No entanto, verificou-se em todos os ensaios um pequeno acréscimo com a aplicação das doses de 2,5 e 6,1 Wh.m⁻³, talvez não sendo significativo em razão da precisão do equipamento (aproximadamente 95%).

A radiação UV se mostrou com papel oxidativo ao elevar os valores de ORP nos ensaios I, II, III e VI. Mas, nos ensaios IV e V, o processo se tornou redutor com a aplicação da primeira dose de UV; e, em seguida, um pouco mais oxidativo, com a segunda dose de radiação.

Exceto nos ensaios IV e V, a alcalinidade total não apresentou grandes variações a partir do emprego da radiação UV. Nos dois ensaios citados não houve analogia, com diminuição da alcalinidade no ensaio IV e aumento do mesmo parâmetro para o ensaio V à medida que o efluente era exposto à radiação UV.

Os valores médios de pH, ORP e alcalinidade total dos ensaios realizados com radiação ultravioleta estão expressos na tabela 5.16.

Tabela 5.16 – Média ($\pm$ DP) dos valores de pH, ORP e Alcalinidade total nos ensaios com radiação UV.

	EB (n=6)	UV1 (n=6)	UV2 (n=4)
pH	6,84 ($\pm$ 0,22)	7,06 ($\pm$ 0,22)	7,18 ($\pm$ 0,19)
ORP (mV)	-298,5 ($\pm$ 100)	-245,2 ($\pm$ 81)	-239,5 ($\pm$ 93,1)
AT (mg/L)	219 ($\pm$ 32)	227 ($\pm$ 37)	213 ($\pm$ 42)

Notas: EB: esgoto bruto; UV1: esgoto submetido à primeira dose de UV; UV2: esgoto submetido à segunda dose de UV; n: número de repetições; ORP: potencial de oxi-redução; AT: alcalinidade total; DP: desvio padrão.

5.3.2.2 – DQO e DQO filtrada

Os valores de DQO e DQO filtrada estão reunidos nas figuras 5.12 e 5.13.

Figura 5.12 – Valores de DQO durante os ensaios com radiação UV.

Figura 5.13 – Valores de DQO filtrada durante os ensaios com radiação UV.

A remoção máxima da DQO pela radiação ultravioleta pela primeira dose foi de 16,5% no primeiro ensaio, seguida de remoção de 5,3, 3,3 e 2,0 % para os ensaios III, VI e V, respectivamente. Todavia, este parâmetro aumentou nos ensaios II (5%) e IV (1,3 %).

Para a DQO filtrada, a remoção variou de 1,3 a 6,5 %, nos ensaios I, II e III e nos ensaios IV, V e VI, o acréscimo na parte dissolvida da DQO foi de até 21% (no último ensaio).

Ao se analisar a resposta da segunda dose de radiação UV, houve aumento da DQO e DQO filtrada nos ensaios I, IV e V em relação à DQO e DQO filtrada resultante após a primeira dose de UV. Com exceção do ensaio VI, no qual a DQO foi removida em 6%, nos outros ensaios ocorreu aumento de até 13,4% (DQO filtrada – ensaio IV).

Este perfil não uniforme dos valores de DQO foi também relatado por Monaco (2006) como coerente em razão da composição heterogênea do esgoto sanitário.

As médias dos valores de DQO e DQO filtrada encontradas nos ensaios com radiação UV estão apresentadas na tabela 5.17.

Tabela 5.17 – Média ($\pm$ DP) dos valores de DQO e DQO filtrada nos ensaios com radiação UV.

	EB (n=6)	UV1 (n=6)	UV2 (n=4)
DQO (mg/L)	462 ($\pm$ 140)	445 ($\pm$ 137)	383 ($\pm$ 114)
DQO filtrada (mg/L)	206 ($\pm$ 95)	204 ($\pm$ 88)	177 ($\pm$ 88)

Notas: EB: esgoto bruto; UV1: esgoto submetido à primeira dose de UV; UV2: esgoto submetido à segunda dose de UV; n: número de repetições; DP: desvio padrão.

5.3.2.3 – Sólidos Totais, Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Dissolvidos Totais

A variabilidade das concentrações de ST, SST e SDT é mostrada nas figuras 5.14, 5.15 e 5.16, respectivamente.

Figura 5.14 – Concentração de sólidos totais durante os ensaios com radiação UV.

Figura 5.15 – Concentração de sólidos suspensos totais durante os ensaios com radiação UV.

Figura 5.16 – Concentração de sólidos dissolvidos totais durante os ensaios com radiação UV.

Os sólidos apresentam grande importância à desinfecção, pois podem proteger microrganismos patogênicos e também absorver radiação ultravioleta. Houve variação considerável na concentração de sólidos durante os ensaios, como pode ser visualizado na tabela 5.18.

Nota-se que a dose de $2,5 \text{ Wh.m}^{-3}$ de radiação UV levou a um acréscimo nos ensaios I, II e IV de ST, SST e SDT de até: 51,6; 14,4 e 64,4 %, respectivamente. Ocorreu remoção de sólidos de até: 10,8 % (ST); 24,4% (SST) e 5,9% (SDT).

No tocante à aplicação da dose de $6,1 \text{ Wh.m}^{-3}$ de radiação UV, o acréscimo de sólidos foi de no máximo 3%. Não obstante, a remoção chegou a 36,2 %, 22 % e 39,5% para ST, SST e SDT, respectivamente.

Tabela 5.18 – Comportamento de sólidos durante os ensaios com radiação UV.

Ensaio	Dose de UV	*Variação de Sólidos (%)		
		ST	SST	SDT
I	UV1	-51,6	-14,4	-64,4
	UV2	36,2	22,0	39,5
II	UV1	-16,2	-12,0	-18,2
III	UV1	10,8	22,5	5,9
IV	UV1	-10,8	-7,7	-11,5
	UV2	7,2	5,1	7,7
V	UV1	5,2	17,0	1,8
	UV2	0	1,1	-0,3
VI	UV1	10,8	24,4	4,8
	UV2	-1,3	-3,0	-0,7

Notas: UV1: dose de 2,5 Wh.m⁻³; UV2: dose de 6,1 Wh.m⁻³; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais.*Variação em relação ao esgoto bruto: valores negativos – acréscimo; valores positivos – remoção.

As concentrações médias dos sólidos nos ensaios com radiação ultravioleta estão expostas na tabela 5.19.

Tabela 5.19 – Média (± DP) dos valores de ST, SST e SDT nos ensaios com radiação UV.

	EB (n=6)	UV1 (n=6)	UV2 (n=4)
ST (mg/L)	514 (± 92)	550 (± 107)	448 (± 57)
SST (mg/L)	138 (± 44)	130 (± 44)	97 (± 5)
SDT (mg/L)	376 (± 64)	421 (± 86)	351 (± 62)

Notas: EB: esgoto bruto; UV1: esgoto submetido à primeira dose de UV; UV2: esgoto submetido à segunda dose de UV; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; n: número de repetições; DP: desvio padrão.

5.3.2.4 – Nitrogênio Amoniacal

As concentrações de nitrogênio amoniacal após a aplicação de radiação ultravioleta durante os ensaios estão apresentadas na figura 5.17 e a média dos valores na tabela 5.20.

Figura 5.17 – Concentração de nitrogênio amoniacal nos ensaios com radiação UV.

Tabela 5.20 - Média ($\pm$ DP) dos valores de nitrogênio amoniacal nos ensaios com radiação UV.

	EB (n=6)	UV1 (n=6)	UV2 (n=4)
Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	50 ($\pm$ 14)	56 ($\pm$ 12)	48 ($\pm$ 10)

Notas: EB: esgoto bruto; UV1: esgoto submetido à primeira dose de UV; UV2: esgoto submetido à segunda dose de UV; n: número de repetições; DP: desvio padrão.

Grande variação das concentrações aconteceu nos ensaios I e II, com a primeira dose de radiação UV, onde foi verificado acréscimo de nitrogênio amoniacal de até 80 %. Pode ser que o equipamento estivesse impreciso, pois os valores de nitrogênio amoniacal (tabela 5.20) se apresentam muito elevados quando comparados aos valores de nitrogênio total Kjeldahl da tabela 5.6.

5.3.2.5 – Absorbância 254 nm

Os valores de absorbância em 254 nm observados durante os ensaios com radiação ultravioleta estão apresentados na figura 5.18.

Figura 5.18 – Valores de absorbância (λ 254 nm) nos ensaios com radiação UV.

A maior variação dos valores de absorbância ocorreu durante o ensaio I, com a aplicação da primeira dose de UV (aumento de 9,6 %). No restante dos ensaios, as doses de UV aumentaram (até 2,7 %) e diminuíram (até 3,7 %) a absorbância em comprimento de onda de 254 nm.

A média dos valores de absorbância encontrada durante os ensaios com radiação ultravioleta pode ser visualizada na tabela 5.21.

Tabela 5.21 - Média ($\pm$ DP) dos valores de absorbância a 254 nm nos ensaios com radiação UV.

	EB (n=6)	UV1 (n=6)	UV2 (n=4)
Absorbância 254 nm	0,806 ($\pm$ 0,13)	0,825 ($\pm$ 0,13)	0,745 ($\pm$ 0,09)

Notas: EB: esgoto bruto; UV1: esgoto submetido à primeira dose de UV; UV2: esgoto submetido à segunda dose de UV; n: número de repetições; DP: desvio padrão.

Os valores de absorbância estiveram correlacionados a DQO e DQO filtrada, tanto para o esgoto bruto, quanto para o esgoto pós-UV1 e pós-UV2. As equações matemáticas e os valores de R^2 estão expostos nas figuras 5.19, 5.20 e 5.21.

A absorbância do esgoto bruto e após primeira e segunda dose de radiação UV também esteve correlacionada à concentração de sólidos, principalmente sólidos suspensos totais e sólidos totais (figuras 5.22; 5.23 e 5.24).

Figura 5.19 – Correlação entre absorbância 254 nm com DQO e DQO filtrada no esgoto bruto dos ensaios com radiação UV.

Figura 5.20 – Correlação entre absorbância 254 nm com DQO e DQO filtrada no esgoto pós-UV1.

Figura 5.21 – Correlação entre absorbância 254 nm com DQO e DQO filtrada no esgoto pós-UV2.

Figura 5.22 – Correlação entre absorbância 254 nm com sólidos no esgoto bruto dos ensaios com UV.

Figura 5.23 – Correlação entre absorbância 254 nm com sólidos no esgoto pós-UV1.

Figura 5.24 – Correlação entre absorvância 254 nm com sólidos no esgoto pós-UV2.

De acordo com Silva (2007), a absorvância 254 nm pode ser entendida com a “demanda” de radiação UV pelo esgoto, exercida principalmente pela presença de compostos orgânicos e inorgânicos específicos. Esta afirmação ratifica a alta correlação encontrada entre a absorvância e os valores de DQO.

5.3.2.6 – Desinfecção com Radiação Ultravioleta

A tabela 5.22 reúne os resultados obtidos na desinfecção de bactérias indicadoras (coliformes totais, *E. coli*, *Clostridium perfringens*) nos ensaios realizados com aplicação de radiação UV. Para quantificar a inativação, quando o número de organismos ficou abaixo do limite de detecção, foi suposta para os cálculos a ocorrência de uma unidade formadora de colônia (UFC).

Tabela 5.22 – Resultado da inativação de bactérias, apenas por radiação ultravioleta.

Ensaio	Tipo de Efluente	Coliformes Totais		<i>E. coli</i>		<i>C. perfringens</i>	
		N/No	Inativação	N/No	Inativação	N/No	Inativação
Ensaio I	UV1	1×10^{-3}	3,0	$2,5 \times 10^{-4}$	3,60	$4,8 \times 10^{-3}$	2,32
	UV2	2×10^{-5}	4,70	< ld	>4,60	$9,5 \times 10^{-3}$	2,02
Ensaio II	UV1	$2,1 \times 10^{-5}$	4,67	< ld	>4,30	$1,4 \times 10^{-2}$	1,84
Ensaio III	UV1	$6,8 \times 10^{-4}$	3,17	$1,9 \times 10^{-4}$	3,73	$3,2 \times 10^{-2}$	1,49
Ensaio IV	UV1	$3,2 \times 10^{-4}$	3,50	< ld	>4,36	$5,7 \times 10^{-2}$	1,24
	UV2	$3,0 \times 10^{-5}$	4,52	< ld	>4,36	$9,5 \times 10^{-3}$	2,02
Ensaio V	UV1	$8,8 \times 10^{-4}$	3,06	$6,7 \times 10^{-4}$	3,18	$1,9 \times 10^{-2}$	1,73
	UV2	< ld	> 4,40	< ld	>3,48	$1,5 \times 10^{-2}$	1,83
Ensaio VI	UV1	$2,4 \times 10^{-4}$	3,62	$6,3 \times 10^{-5}$	4,20	$1,3 \times 10^{-1}$	0,90
	UV2	<ld	>4,70	<ld	>4,20	$5,1 \times 10^{-2}$	1,30

Notas: UV1: esgoto pós-UV1; UV2: esgoto pós-UV2; No: nº de microrganismos no esgoto bruto de cada ensaio; N: nº de microrganismos após desinfecção; Inativação: $-\log(N/No)$; ld: limite de detecção.

As figuras 5.25 e 5.26 referem-se à tabela 5.22 e mostram a inativação das bactérias indicadoras com a aplicação da dose de UV de $2,5 \text{ Wh.m}^{-3}$ e $6,1 \text{ Wh.m}^{-3}$, respectivamente, nos ensaios realizados.

Figura 5.25 – Inativação de bactérias indicadoras com dose de $2,5 \text{ Wh.m}^{-3}$ de UV.

Pode-se perceber que *E. coli* foi o microrganismo mais inativado com a primeira dose de UV ($2,5 \text{ Wh.m}^{-3}$), chegando a ter inativação acima de 4,0 unidades logarítmicas; e nos

ensaios II e IV, 100% inativado. Os coliformes totais apresentaram inativação acima de 3,0 log e a bactéria formadora de esporos – *Clostridium perfringens* – se mostrou a mais resistente, com inativação máxima de 2,32 log (ensaio I).

Figura 5.26 – Inativação de bactérias indicadoras com dose de 6,1 Wh.m⁻³ de UV.

O emprego da segunda dose de radiação UV proporcionou inativação completa da *E.coli* nos quatro ensaios e de coliformes totais nos ensaios V e VI, levando a acréscimos na inativação de até 1,7 unidades logarítmicas, em relação à primeira dose.

Clostridium perfringens novamente se mostrou resistente, tendo a segunda dose de radiação UV implicado inativação em no máximo 0,78 log a mais que a primeira dose, no ensaio IV.

Os dados encontrados se assemelham com a inativação constatada por Bilotta (2000), Coletti (2003), Monaco (2006), Lourenção (2009), inclusive com relação à resistência da bactéria *Clostridium perfringens* à radiação ultravioleta.

Dias (2001) encontrou para as mesmas doses, 1 a 2 log de remoção a mais para coliformes totais e fecais. Sartori (2007) verificou, para *C. perfringens*, remoção entre 1,22 a 1,52 log para doses próximas a 2,5 Wh.m⁻³, e até 2 log para dose próxima a 6,1 Wh.m⁻³.

Os resultados da desinfecção com emprego da radiação UV para os protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. foram reunidos na tabela 5.23.

Tabela 5.23 – Resultado da inativação de protozoários, apenas por radiação ultravioleta.

Ensaio	Tipo de Efluente	<i>Giardia</i> spp.		<i>Cryptosporidium</i> spp.	
		N/No	Inativação	N/No	Inativação
EnsaioII	UV1	$9,6 \times 10^{-1}$	0,016	nd	nd
Ensaio IV	UV1	1	0	nd	nd
	UV2	$7,8 \times 10^{-1}$	0,11	nd	nd
EnsaioV	UV1	$7,1 \times 10^{-1}$	0,15	nd	nd
	UV2	$8,1 \times 10^{-1}$	0,09	nd	nd
Ensaio VI	UV1	1,12	-0,05	$6,7 \times 10^{-1}$	0,18
	UV2	$9,8 \times 10^{-1}$	0,008	nd	nd

Notas: UV1: esgoto pós-UV1; UV2: esgoto pós-UV2; N: porcentagem de (oo)cistos viáveis em determinado tipo de efluente; No: porcentagem de (oo)cistos viáveis no esgoto bruto; Inativação: $-\log (N/No)$; nd: não detectada a presença de oocisto.

Os resultados da inativação dos protozoários podem ter sido prejudicados pela recuperação do método decorrente de o esgoto utilizado nos ensaios apresentar características físico-químicas bastante discrepantes. O valor negativo encontrado no ensaio VI pode ter sido ocasionado pela pouca sensibilidade do método com iodeto de propídio, para inferir viabilidade dos (oo)cistos.

Nos ensaios onde foi verificada a presença desses patógenos, nota-se grande resistência às duas doses de radiação utilizadas. Foi encontrada diminuição da viabilidade de no máximo 0,15 e 0,18 unidades logarítmicas para *Giardia* e *Cryptosporidium*, respectivamente; ambos os casos, com a aplicação de $2,5 \text{ Wh.m}^{-3}$ de radiação UV. Sartori (2007) relata inativação de 0,30 a 0,35 log para doses próximas a $2,5 \text{ Wh.m}^{-3}$.

Correlações entre parâmetros microbiológicos e físico-químicos, onde R^2 foi maior que 0,5, podem ser observadas na tabela 5.24.

Tabela 5.24 – Correlação entre parâmetros físico-químicos e microbiológicos dos ensaios nos quais foi aplicada apenas a radiação ultravioleta.

Esgoto Bruto ¹		Esgoto pós UV1 ²		Efluente pós UV2 ²	
Parâmetros	Correlação	Parâmetros	Correlação	Parâmetros	Correlação
<i>E. coli</i> /CT	0,8461	CT/DQO	0,5084	CP/ <i>Giardia</i>	0,9974 ³
<i>E. coli</i> /ORP	0,5364	CT/ N-NH ₃	0,5126	CP/SDT	0,6335
CP/Abs 254	0,5798	<i>E.coli</i> /DQO	0,5084	CT/SDT	0,8058
CP/N-NH ₃	0,6352	CP/DQO _{filt}	0,7978	CT/SST	0,9143
CP/SDT	0,7905	CP/ <i>Giardia</i>	0,5808	CT/ST	0,8228
CP/ST	0,8957				
CP/DQO _{filt}	0,5689				
CP/DQO	0,6025				

Notas: ¹Parâmetros microbiológicos: concentração de microrganismos; ²Parâmetros físico-químicos – remoção; parâmetros microbiológicos – (N/No). ³ Correlação com apenas três dados. CP: *Clostridium perfringens*; CT: coliformes totais; ORP: potencial de oxi-redução; Abs: absorvância 254 nm; SDT: sólidos dissolvidos totais; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; DQO_{filt}: DQO filtrada; N-NH₃: nitrogênio amoniacal.

5.3.3 – Ensaios com Cloro

Ao todo foram realizados cinco ensaios de desinfecção com cloro e sequencial (cloro – radiação ultravioleta) apresentados no apêndice (tabela A9 a A13), com as características físico-químicas e microbiológicas de cada um deles.

O ensaio III, para melhor discussão de resultados, foi dividido em: Ensaio IIIa – cloração com 10 mg.L⁻¹ e tempo de contado de 20 minutos; Ensaio IIIb – cloração com 20 mg.L⁻¹ e tempo de contato de 10 minutos.

5.3.3.1 – pH, ORP e Alcalinidade

Os resultados da variação de pH durante os ensaios de cloro e cloro-radiação ultravioleta podem ser visualizados na figura 5.27.

Figura 5.27 – Variação de pH do esgoto bruto, clorado, clorado seguido de UV1 e seguido de UV2.

Com relação apenas ao esgoto bruto (EB) e esgoto clorado (EC), notam-se os seguintes aspectos:

- Nos ensaios I e II com aplicação de 10 mg.L^{-1} de cloro e tempo de contato de 10 minutos, ocorreu queda do pH no primeiro e aumento de pH no segundo ensaio.
- Nos ensaios IIIa e IV, com o aumento do tempo de contato para 20 minutos, o cloro mostrou uma tendência de aumentar o pH.
- Nos ensaios IIIb e V, ao aumentar da dosagem de cloro para 20 mg.L^{-1} , por 10 minutos, ocorreu diminuição do valor de pH.

Conforme mostrado na figura (5.7), o pH aumenta em consequência da formação de NaOH com a adição de NaOCl, e, à medida que a monocloramina vai sendo oxidada a partir de sucessivos acréscimos de NaOCl, o pH diminui até chegar ao breakpoint. Pode ser que as diferentes concentrações de nitrogênio amoniacal presentes no esgoto bruto nos ensaios fizeram com que as curvas de breakpoint fossem também desiguais. Assim, algumas doses de cloro aplicadas nos ensaios podem ter ficado mais próximas do breakpoint que outras, ocasionando aumento ou diminuição do pH.

Ao analisar o esgoto clorado com os efluentes após a desinfecção sequencial (EC-UV1 e EC-UV2), verifica-se um aumento do pH em todos os ensaios. Nos ensaios I, IV e V, onde a segunda dose de UV foi aplicada, o aumento do pH parece ter sido ocasionado principalmente pela primeira dose de UV.

No tocante ao potencial de oxi-redução (ORP), a figura 5.28 mostra o comportamento desse parâmetro durante os ensaios.

Figura 5.28 – Valores de ORP para os ensaios com cloro e cloro seguido de UV.

O esgoto bruto apresentou valores negativos de ORP indicando um meio redutor, característica de um reator anaeróbico.

À medida que o cloro – composto oxidante - foi acrescentado nos ensaios, os valores de ORP aumentaram, evidenciando um processo de oxidação. Com o esgoto clorado submetido à primeira dose de radiação UV, o processo se tornou mais oxidado, exceto no ensaio V, onde o valor de ORP ficou mais negativo. Após a segunda dose de radiação UV, o processo de mostrou ainda mais oxidado, principalmente no ensaio IV, onde se atingiu valor positivo de ORP.

Os valores de alcalinidade total dos ensaios com cloro e cloro-radiação ultravioleta podem ser visualizados na figura 5.29.

Figura 5.29 – Valores de Alcalinidade nos ensaios com cloro e cloro seguido de radiação UV.

Os ensaios I, IV e V possuem a mesma dosagem e tempo de contato que os ensaios II, IIIa e IIIb, respectivamente. Todavia, a tendência de redução ou aumento dos valores de alcalinidade entre eles não foi análoga. A variação dos valores de pH não se mostraram semelhante à variação dos valores de alcalinidade total. Muito provavelmente, outros parâmetros físicos e/ou químicos devem estar associados a esta variabilidade da alcalinidade.

Na tabela 5.25 estão expostos os valores de média e desvio padrão para pH, ORP e alcalinidade total nos ensaios com cloro e sequencial (cloro-radiação ultravioleta).

Tabela 5.25 – Média ($\pm$ DP) dos valores de pH, ORP e Alcalinidade total nos ensaios com cloro e cloro seguido de radiação ultravioleta.

	EB (n=5)	EC (n=6)	EC-UV1 (n=6)	EC-UV2 (n=3)
pH	6,85 ($\pm$ 0,24)	6,75 ($\pm$ 0,29)	6,96 ($\pm$ 0,25)	7,22 ($\pm$ 0,22)
ORP (mV)	-311,8 ($\pm$ 105,7)	-193,8 ($\pm$ 37,8)	-176,8 ($\pm$ 31,5)	-98,3 ($\pm$ 96,5)
AT (mg/L)	227 ($\pm$ 28)	224 ($\pm$ 30)	229 ($\pm$ 27)	227 ($\pm$ 42)

Notas: EB: esgoto bruto, sem cloro; EC: esgoto clorado; EC-UV1: esgoto clorado submetido à primeira dose de UV; EC-UV2: esgoto clorado submetido à segunda dose de UV; n: número de repetições; ORP: potencial de oxidação-redução; AT: alcalinidade total; DP: desvio padrão.

5.3.3.2 – DQO e DQO filtrada

Os valores encontrados para a DQO e DQO filtrada durante os ensaios com cloro e cloro seguido de radiação UV estão apresentados nas figuras 5.30 e 5.31, respectivamente.

Figura 5.30 – Valores de DQO durante ensaios com cloro e cloro seguido de UV.

Figura 5.31 – Valores de DQO filtrada durante ensaios com cloro e cloro seguido de radiação UV.

Nota-se que a cloração aumentou a DQO e a DQO filtrada em praticamente todos os ensaios, com exceção do ensaio IIIa para DQO e do ensaio I, para DQO filtrada. Os valores médios estão apresentados na tabela 5.26. Como exposto também por Lourenção (2009), isso se deve principalmente à interferência de íons cloreto na análise de DQO, advindos do próprio esgoto e da solução de hipoclorito de sódio utilizada nos ensaios de desinfecção.

Tabela 5.26 – Média ($\pm$ DP) dos valores de DQO e DQO filtrada nos ensaios com cloro e cloro-irradiação UV.

	EB (n=5)	EC (n=6)	EC-UV1 (n=6)	EC-UV2 (n=3)
DQO (mg/L)	506 ($\pm$ 98)	527 ($\pm$ 100)	516 ($\pm$ 73)	202 ($\pm$ 26)
DQO filtrada (mg/L)	239 ($\pm$ 54)	248 ($\pm$ 50)	244 ($\pm$ 51)	469 ($\pm$ 91)

Notas: EB: esgoto bruto, sem cloro; EC: esgoto clorado; EC-UV1: esgoto clorado submetido à primeira dose de UV; EC-UV2: esgoto clorado submetido à segunda dose de UV; n: número de repetições; DP: desvio padrão.

5.3.3.3 – Sólidos Totais, Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Dissolvidos Totais

A eficiência da desinfecção com cloro e UV pode ser afetada com a presença de sólidos, pois microrganismos patogênicos podem se associar a partículas, dificultando a difusão do cloro e a penetração da luz ultravioleta. Ao mesmo tempo, os sólidos suspensos podem absorver radiação UV e por consequência, limitar sua ação desinfetante (METCALF; EDDY, 2003).

As figuras 5.32, 5.33 e 5.34 mostram como os valores de ST, SST e SDT variaram nos ensaios com cloro e cloro seguido de radiação ultravioleta.

Figura 5.32 – Valores de sólidos totais durante os ensaios com cloro e cloro seguido de radiação UV.

Figura 5.33 – Valores de sólidos suspensos totais durante os ensaios com cloro e cloro seguido de radiação ultravioleta.

Figura 5.34 – Valores de sólidos dissolvidos totais durante os ensaios com cloro e cloro seguido de radiação ultravioleta.

A cloração provocou aumento na concentração de sólidos totais em todos os ensaios, semelhante aos resultados encontrados por Lourenção (2009). Nota-se ainda que esse aumento ocorreu na parte dissolvida; pois em exceção do ensaio I, houve remoção de sólidos suspensos no esgoto clorado.

A partir da aplicação da primeira dose de radiação UV houve um decréscimo da concentração de ST, com exceção do ensaio V. Com relação aos SST, a concentração diminuiu nos ensaios II, IIIa e IIIb, mas aumentou nos outros três ensaios realizados. Quanto

aos SDT, exceto o ensaio IV, a primeira dose aplicada de UV seqüencialmente ao cloro proporcionou remoção desses sólidos. Na tabela 5.27 está apresentada a variação dos sólidos nos diferentes efluentes para os ensaios com cloro.

Tabela 5.27 – Variação de sólidos nos ensaios com cloro e cloro seguido de radiação ultravioleta.

Ensaio	Efluente	Variação (%)*		
		ST	SST	SDT
I	EC	-51,4	-32,4	-57,9
	EC-UV1	22,1	-5,4	30
	EC-UV2	-45,7	-114,8	-15,7
II	EC	-37,6	16,4	-64,6
	EC-UV1	4,1	7,8	3,1
IIIa	EC	-31,7	31,5	-58,3
	EC-UV1	18,8	2,2	21,8
IIIb	EC	-71,4	30,5	-114,3
	EC-UV1	28,9	10,1	31,5
IV	EC	-18	2,2	-22,5
	EC-UV1	-2,4	-1,1	-2,6
	EC-UV2	-8,1	-25,6	-5,0
V	EC	-40,3	2,7	-52,7
	EC-UV1	2,7	-16,5	6,3
	EC-UV2	5,3	21,3	1,6

Notas: EC: esgoto clorado; EC-UV1: esgoto clorado submetido à primeira dose de UV; EC-UV2: esgoto clorado submetido à segunda dose de UV; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais. *variação: negativa – aumento de sólidos; positiva – remoção de sólidos.

Os incrementos da concentração de sólidos com a cloração foi de até 71% para ST (ensaio IIIb) e de 114% para SDT, no mesmo ensaio. Entretanto, os sólidos suspensos tiveram remoção de até 31,5 %, no ensaio IIIa.

Na tabela 5.28 estão apresentados os valores médios dos sólidos no decorrer dos ensaios.

Tabela 5.28 – Média ($\pm$ DP) dos valores de ST, SST e SDT nos ensaios com cloro e cloro-radiação UV.

	EB (n=5)	EC (n=6)	EC-UV1 (n=6)	EC-UV2 (n=3)
ST (mg/L)	532 ($\pm$ 90)	792 ($\pm$ 206)	678 ($\pm$ 108)	681 ($\pm$ 56)
SST (mg/L)	139 ($\pm$ 49)	129 ($\pm$ 25)	129 ($\pm$ 22)	182 ($\pm$ 131)
SDT (mg/L)	392 ($\pm$ 56)	663 ($\pm$ 196)	549 ($\pm$ 112)	499 ($\pm$ 75)

Notas: EB: esgoto bruto, sem cloro; EC: esgoto clorado; EC-UV1: esgoto clorado submetido à primeira dose de UV; EC-UV2: esgoto clorado submetido à segunda dose de UV; n: número de repetições; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; DP: desvio padrão.

5.3.3.4 – Nitrogênio Amoniacal

A concentração de nitrogênio amoniacal presente no esgoto interage diretamente com o cloro, levando à formação de compostos combinados como mono, di e tricloraminas, os quais possuem poder desinfetante menor que o ácido hipocloroso. É a chamada demanda de cloro, que precisa ser satisfeita a fim de sobrar cloro residual livre para desinfecção.

Os valores de nitrogênio amoniacal analisados durante os ensaios com cloro e sequenciais (cloro-radiação ultravioleta) estão apresentados na figura 5.35.

Figura 5.35 - Valores de nitrogênio amoniacal durante os ensaios com cloro e cloro seguido de radiação ultravioleta.

Com a adição de cloro, ocorreu decréscimo dos valores de nitrogênio amoniacal nos ensaios, possivelmente em razão da ação do cloro, com formação de cloraminas, exceto no ensaio II.

A ação da primeira dose de radiação UV, quando aplicada após cloração com 10 mg.L⁻¹ e 10 minutos (ensaios I e II) aumentou os valores de nitrogênio amoniacal. Com a mesma dosagem, porém com 20 minutos de tempo de contato - ensaios, IIIa e IV - o efeito da radiação aumentou e diminuiu o nitrogênio amoniacal nos ensaios, respectivamente. Na dosagem de 20 mg.L⁻¹ em 10 minutos – ensaios IIIb e V – o parâmetro avaliado voltou a decrescer.

A segunda dose de radiação UV aumentou os valores de nitrogênio amoniacal nos ensaios I e IV; entretanto, no ensaio V, o valor diminuiu. Como já relatado, pode ser que o equipamento estivesse impreciso, pois os valores de nitrogênio amoniacal (tabela 5.29) se apresentam muito elevados quando comparados aos valores de nitrogênio total Kjeldahl da tabela 5.6.

Na tabela 5.29, são apresentados os valores médios de nitrogênio amoniacal referentes aos ensaios com cloro.

Tabela 5.29 - Média ($\pm$ DP) dos valores de nitrogênio amoniacal nos ensaios com cloro e cloro – radiação ultravioleta.

	EB (n=5)	EC (n=6)	EC-UV1 (n=6)	EC-UV2 (n=3)
Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	52,6 ($\pm$ 13)	55,7 ($\pm$ 12)	59 ($\pm$ 11)	56,3 ($\pm$ 4)

Notas: EB: esgoto bruto, sem cloro; EC: esgoto clorado; EC-UV1: esgoto clorado submetido à primeira dose de UV; EC-UV2: esgoto clorado submetido à segunda dose de UV; n: número de repetições; DP: desvio padrão.

5.3.3.5 – Absorbância a 254 nm

A dose aplicada de radiação ultravioleta depende diretamente da absorbância a 254nm. Os valores da absorbância nos ensaios com cloro estão apresentados na figura 5.36.

Figura 5.36 - Valores de absorbância 254 nm nos ensaios com cloro e cloro-UV.

Os valores médios de absorbância 254 nm estão apresentados na tabela 5.30.

Tabela 5.30 - Média ($\pm$ DP) dos valores de absorbância a 254 nm nos ensaios com cloro e cloro-irradiação UV.

	EB (n=5)	EC (n=6)	EC-UV1 (n=6)	EC-UV2 (n=3)
Absorbância 254 nm	0,840 ($\pm$ 0,12)	0,858 ($\pm$ 0,10)	0,844 ($\pm$ 0,10)	0,785 ($\pm$ 0,04)

Notas: EB: esgoto bruto, sem cloro; EC: esgoto clorado; EC-UV1: esgoto clorado submetido à primeira dose de UV; EC-UV2: esgoto clorado submetido à segunda dose de UV; n: número de repetições; DP: desvio padrão.

Os valores típicos de absorbância 254 nm (trajeto óptico de 1 cm) para esgoto sanitário, adaptado de Metcalf e Eddy (2003), são:

- Efluente primário: 1,27 a 0,691
- Efluente secundário: 0,806 a 0,345
- Efluente secundário nitrificado: 0,576 a 0,230
- Efluente secundário filtrado: 0,576 a 0,230
- Efluente secundário pós-microfiltração: 0,230 a 0,0921
- Efluente de osmose reversa: 0,115 a 0,023

O esgoto utilizado nos ensaios se situou em valores típicos de efluente primário. A cloração e as doses sequenciais de radiação UV não seguiram uma tendência entre os ensaios, em aumentar ou diminuir a absorbância.

Em comparação com a concentração de sólidos, os valores de absorbância se correlacionaram apenas com os sólidos suspensos totais, e mesmo assim, somente para o esgoto bruto ($R^2 = 0,883$) e esgoto clorado ($R^2 = 834$). Nas amostras de esgoto clorado após primeira e segunda dose de UV, não houve correlação com sólidos suspensos. As concentrações de sólidos totais e dissolvidos totais não se correlacionaram com nenhum valor de absorbância nas amostras de esgoto nos ensaios.

5.3.3.6 – Desinfecção apenas com cloro

O resultado da desinfecção dos protozoários e bactérias estudados está reunido nas tabelas 5.31 e 5.32, respectivamente.

Tabela 5.31 – Resultado da desinfecção de protozoários por cloro e cloro seguido de radiação ultravioleta.

Ensaio [C ; T]	Tipo de Efluente	<i>Giardia</i> spp.		<i>Cryptosporidium</i> spp.	
		N/No	Inativação	N/No	Inativação
II [10;10]	EC	$8,2 \times 10^{-1}$	0,09	nd	nd
	EC-UV1	$5,8 \times 10^{-1}$	0,23	nd	nd
IIIb [20;10]	EC	1	0	1	0
	EC-UV1	$9,8 \times 10^{-1}$	0,01	$5,3 \times 10^{-1}$	0,27
IV [10;20]	EC	1	0	nd	nd
	EC-UV1	$8,2 \times 10^{-1}$	0,09	nd	nd
	EC-UV2	$7,9 \times 10^{-1}$	0,10	nd	nd
V [20;10]	EC	$6,9 \times 10^{-1}$	0,16	1	0
	EC-UV1	$6,7 \times 10^{-1}$	0,18	$5,3 \times 10^{-1}$	0,27
	EC-UV2	$7,3 \times 10^{-1}$	0,13	nd	nd

Notas: EC: esgoto clorado; EC-UV1: esgoto clorado submetido à primeira dose de UV; EC-UV2: esgoto clorado submetido à segunda dose de UV; [C;T]: [concentração aplicada de cloro; tempo de contato]; N: porcentagem de (oo)cistos viáveis em determinado tipo de efluente; No: porcentagem de (oo)cistos viáveis no esgoto bruto; Inativação: $-\log(N/No)$; nd: não detectada a presença de oocisto.

Tabela 5.32 – Resultado da desinfecção de bactérias por cloro e cloro seguido de radiação ultravioleta.

Ensaio [C ; T]	Tipo de Efluente	Coliformes Totais		<i>E. coli</i>		<i>C. perfringens</i>	
		N/No	Inativação	N/No	Inativação	N/No	Inativação
I [10;10]	EC	2×10^{-4}	3,70	< ld	>4,60	$9,5 \times 10^{-1}$	0,02
	EC-UV1	< ld	>5,70	< ld	>4,60	$3,3 \times 10^{-2}$	1,48
	EC-UV2	2×10^{-6}	5,70	< ld	>4,60	$3,3 \times 10^{-2}$	1,48
II [10;10]	EC	5×10^{-5}	4,30	< ld	>4,30	$2,9 \times 10^{-1}$	0,54
	EC-UV1	< ld	>5,15	< ld	>4,30	$1,1 \times 10^{-2}$	1,94
IIIa [10;20]	EC	< ld	>4,95	< ld	>4,43	$5,8 \times 10^{-1}$	0,24
	EC-UV1	< ld	>4,95	< ld	>4,43	$4,8 \times 10^{-2}$	1,32
IIIb [20;10]	EC	< ld	>4,95	< ld	>4,43	2×10^{-1}	0,70
	EC-UV1	< ld	>4,95	< ld	>4,43	$1,8 \times 10^{-3}$	2,74
IV [10;20]	EC	$1,4 \times 10^{-3}$	2,9	< ld	>4,36	$9,5 \times 10^{-2}$	1,02
	EC-UV1	$2,4 \times 10^{-4}$	3,6	< ld	>4,36	$4,8 \times 10^{-3}$	2,32
	EC-UV2	$1,5 \times 10^{-5}$	4,8	< ld	>4,36	$4,8 \times 10^{-3}$	2,32
V [20;10]	EC	< ld	> 4,40	< ld	>3,48	$6,7 \times 10^{-2}$	1,18
	EC-UV1	< ld	> 4,40	< ld	>3,48	$3,7 \times 10^{-4}$	3,43
	EC-UV2	< ld	> 4,40	< ld	>3,48	< ld	>4,43

Notas: EC: esgoto clorado; EC-UV1: esgoto clorado submetido à primeira dose de UV; EC-UV2: esgoto clorado submetido à segunda dose de UV; [C;T]: [concentração aplicada de cloro; tempo de contato]; N: número de microrganismos em determinado tipo de efluente; No: número de microrganismos no esgoto bruto; Inativação: $-\log (N/No)$; <ld: menor que o limite de detecção. Quando abaixo do limite de detecção, a inativação foi calculada supondo a visualização de uma UFC.

A figura 5.37 se refere à tabela 5.32 e congrega os dados da inativação apenas com cloro para as bactérias indicadoras.

Figura 5.37 – Inativação de bactérias indicadoras nos ensaios com cloro.

Do mesmo modo que na desinfecção apenas com radiação UV, os coliformes totais e a *E.coli* são os microrganismos menos resistentes quando comparados ao *Clostridium perfringens*. Com o cloro foi obtido 100% de eficiência na inativação da *E. coli* em todos os ensaios; entretanto, para os coliformes totais, apenas nos ensaios IIIa, IIIb e V. Sartori (2007) também encontrou até 5 log de remoção para *E. coli* e coliformes totais em ensaios com mesmo CT. No ensaio IV, os coliformes totais foram menos inativados, em 2,9 unidades logarítmicas.

Em contrapartida, a bactéria formadora de esporos - *Clostridium perfringens* - se mostrou muito resistente ao cloro. Somente quando aplicados valores de CT de 200 mg.min.L⁻¹, obteve-se acima de 1 log de inativação (ensaios IV e V); mesmo assim, no ensaio III, no qual o mesmo valor de CT também foi empregado, não se obteve igual eficiência. Isso pode ter ocorrido devido a características do esgoto, em vista de maiores residuais de cloro livre e total nos ensaios IV e V, se comparados ao ensaio III.

Sartori (2007) relatou inativação máxima de 1,4 log com CT de 150 mg.min.L⁻¹. Lourenção (2009) descreveu a necessidade de CT de 954 mg.min.L⁻¹ para inativar 1,26 log de *C. perfringens*.

Com relação aos protozoários, o cloro foi pouco eficaz, para *Giardia* spp., no máximo 0,16 log de inativação foi alcançado (ensaio V), valor baixo ao encontrado por Sartori (2007) para o mesmo CT aplicado, 0,44 log de inativação. Não houve inativação de *Cryptosporidium* spp. nos ensaios IIIb e V.

Houve correlação linear entre *Clostridium perfringens* e *Giardia* spp. no ensaio II, com R² igual a 0,897. No ensaio IV, a correlação foi com tendência logarítmica com R² igual a 0,853. Os outros microrganismos têm as correlações dificultadas pela total inativação, como é o caso da *E. coli* e de coliformes totais; ou, por causa da não detecção no decorrer dos ensaios, fato ocorrido para *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp.

5.3.3.7 – Desinfecção Seqüencial: Cloro – Radiação Ultravioleta

A inativação seqüencial promovida pela ação do cloro – radiação UV1 (2,5 Wh.m⁻³) pode ser visualizada na figura 5.38.

Figura 5.38 – Inativação de bactérias nos ensaios sequenciais cloro – radiação UV1.

A *E. coli*, inativada abaixo do limite de detecção com a aplicação apenas do cloro, manteve a mesma inativação (100 %) nos ensaios sequenciais. Os coliformes totais foram 100% inativados, com exceção do ensaio IV, onde se conseguiu 3,6 log de inativação.

Quanto ao *Clostridium perfringens*, em todos os ensaios sequenciais foi obtido aumento na inativação, chegando até 3,43 log no ensaio V.

Os protozoários patogênicos também apresentaram maior inativação quando em comparação aos ensaios com cloro. Para a *Giardia* spp. alcançou-se até 0,23 log de inativação e para o *Cryptosporidium* spp., 0,27 log. A figura 5.39 explicita a ação da dose de radiação de $6,1 \text{ Wh.m}^{-3}$ (UV2), sequencialmente ao cloro.

Figura 5.39 - Inativação de bactérias nos ensaios sequenciais cloro – radiação UV2.

A segunda dose de UV na sequência do cloro proporcionou ainda mais a inativação de coliformes totais. Os ensaios I e IV mantiveram a mesma inativação de *Clostridium perfringens* promovida pela primeira dose de UV; mas, no ensaio V, esta bactéria foi 100 % inativada, acima de 4,43 log. Com a figura 5.39, nota-se a importância da dose de cloro em relação ao tempo de contato. Apesar de possuírem o mesmo CT – 200 mg.min.L⁻¹ – o ensaio V constata uma inativação maior que o ensaio IV.

Os resultados de inativação para bactérias indicadoras de contaminação fecal por desinfecção sequencial cloro – radiação UV se situam próximos aos relatados por Lourenção (2009). No entanto, para *C. perfringens*, a mesma autora relata a necessidade de CT maiores de cloro ou dose sequencial de 10 Wh.m⁻³ de radiação UV para 100% de inativação desse microrganismo.

Com a segunda dose de UV sequencial, a *Giardia* spp. obteve inativação maior no ensaio IV; porém no ensaio V, a inativação foi menor, quando comparada à desinfecção sequencial com a primeira dose de radiação UV.

O sinergismo só ocorre ao haver maior inativação no ensaio sequencial em relação à soma de inativação na aplicação dos desinfetantes separadamente. A tabela 5.33 apresenta em quais ensaios ocorreu sinergismo.

Tabela 5.33 – Sinergismo na desinfecção sequencial Cloro – Radiação UV.

Microrganismo	Ensaio	Desinfecção Sequencial	Σ Inativação individual	Inativação Sequencial	Sinergismo
<i>C. perfringens</i>	IIIb	Cloro – UV1	2,19	2,74	0,55
<i>C. perfringens</i>	IV	Cloro – UV1	2,26	2,32	0,06
<i>C. perfringens</i>	V	Cloro – UV1	2,91	3,43	0,52
<i>C. perfringens</i>	V	Cloro – UV2	3,01	4,43	1,42
<i>Giardia</i> spp.	II	Cloro – UV1	0,11	0,23	0,12
<i>Giardia</i> spp.	IV	Cloro – UV1	0	0,09	0,09

Notas: UV1: 2,5 Wh/m³; UV2: 6,1 Wh/m³; Valores de inativação e sinergismo são dados em log.

O sinergismo ocorreu principalmente para os microrganismos mais resistentes – *Clostridium perfringens* e *Giardia* spp. As bactérias *E. coli* e coliformes totais foram muitas vezes totalmente inativadas com a aplicação de somente um dos desinfetantes utilizados.

A figura 5.40 mostra a ação da desinfecção sequencial cloro-UV na viabilidade de (oo)cistos de protozoários.

Figura 5.40 – Resultado de viabilidade de (oo)cistos com a utilização de iodeto de propídio após desinfecção seqüencial (cloro-irradiação ultravioleta).

5.3.4 – Ensaios com Ozônio

5.3.4.1 – Curva de Calibração do Gerador de Ozônio

Os valores de produção de ozônio ($\text{g O}_3 \cdot \text{h}^{-1}$) estão reunidos na tabela 5.34.

Tabela 5.34 – Produção de ozônio na calibração do gerador de ozônio.

Tensão Aplicada	Vazão (L/h)¹	Produção (g O₃/h)²
40%	0	0
	60	0,05
	108	0,09
	180	0,19
	240	0,19
60%	0	0
	60	0,30
	108	0,35
	180	0,52
	240	0,57
80%	0	0
	60	0,63
	108	0,87
	180	1,12
	240	1,08

Notas: ¹ Vazão de gás na saída do gerador (mistura de oxigênio e ozônio) em litros por hora; ² Produção de ozônio em gramas por hora.

Foram ajustadas curvas (equações) relacionando as vazões de gás e as respectivas produções de ozônio (figura 5.41). Essas relações só são válidas para as condições experimentais semelhantes às dos ensaios.

Figura 5.41 – Curvas de calibração do gerador de ozônio com respectivas equações matemáticas.

5.3.4.2 – Ensaios com ozônio e Balanço de Massa

Foram realizados três ensaios com ozônio – VI, VII e VIII - seguidos de ensaios sequenciais com duas doses de radiação ultravioleta de 2,5 e 6,1 W.h.m⁻³. Utilizou-se para os ensaios o mesmo esgoto, proveniente do reator UASB e pré-decantado por 30 minutos.

As características dos ensaios de desinfecção com uso de ozônio estão apresentadas na tabela 5.35.

Tabela 5.35 – Algumas características dos ensaios com ozônio.

Variável	Ensaios		
	VI	VII	VIII
Volume de esgoto (L)	10	10	15
Tempo de contato (min)	10	20	30
Tensão (%)	80	60	80
Vazão de gás (L/h)	60	90	30
Produção de O_3 (g/L)	0,66	0,35	0,49
Dosagem (mg/L)	11	11,7	16,5

O resultado do balanço de massa referente ao ozônio encontra-se na tabela 5.36.

Tabela 5.36 – Balanço de massa dos ensaios com ozônio.

Variável	Ensaio		
	VI	VII	VIII
Produção de O ₃ (g/L)	0,66	0,35	0,49
Dosagem (mg/L)	11	11,7	16,5
M _A (mg)	110	117	247,5
M _T (mg)	105,7	76,9	247,5
M _{off-gás} (mg)	4,3	40,1	0
M _R (mg)	0	0	0
M _C (mg)	105,7	76,9	247,5
[O ₃] _{off-gás} (mg/L)	0,43	4,01	0
[O ₃] _R (mg/L)	0	0	0
[O ₃] _C (mg/L)	10,57	7,69	16,5

Notas: M_A: massa total de ozônio aplicada; M_T: massa transferida ao meio líquido; M_{off-gás}: massa do off-gás – não transferida; M_R: massa residual; M_C: massa consumida; [O₃]_{off-gás}: concentração de ozônio referente ao off-gás; [O₃]_R: concentração de ozônio residual; [O₃]_C: concentração de ozônio consumida.

Os valores de CT utilizados nos ensaios, calculados com os dados das tabelas 5.35 e 5.36, estão apresentados na tabela 5.37.

Tabela 5.37 – Taxa de consumo e CT dos ensaios com ozônio.

	Ensaio		
	VI	VII	VIII
Tempo de contato (min)	10	20	30
[O ₃] _C (mg/L)	10,57	7,69	16,5
Taxa de consumo de O ₃ (mg/L.min)	1,06	0,38	0,55
CT (mg.mim/L)	53	76	248

Notas: [O₃]_C: concentração de ozônio consumida; CT: concentração x tempo de contato.

As características físico-químicas e microbiológicas dos ensaios com ozônio - VI, VII e VIII – e sequenciais (ozônio-radiação ultravioleta) estão apresentadas no apêndice (tabela A14 a A16).

5.3.4.3 – pH, ORP e Alcalinidade Total

O comportamento do pH, potencial de oxi-redução e da alcalinidade total durante os ensaios com ozônio e ozônio seguido de radiação UV podem ser visualizados nas figuras 5.42, 5.43 e 5.44, respectivamente.

Figura 5.42 – Variação de pH nos ensaios com ozônio e ozônio seguido de UV.

Figura 5.43 – Variação de ORP nos ensaios com ozônio e ozônio seguido de UV.

Figura 5.44 – Variação de Alcalinidade Total nos ensaios com ozônio e ozônio seguido de UV.

Houve aumento de pH com a aplicação de ozônio nos três ensaios, se mantendo acima de 7,0. Isso pode ser devido ao *stripping* de gás carbônico, como informado por Lourenção (2009). Langlais et al. (1991) relatam que o pH pode afetar a decomposição do ozônio. No entanto, estudos não revelam efeitos quanto à desinfecção atribuídos à variação de pH (USEPA, 1999). O aumento de pH e a redução de alcalinidade também foi descrita por Soares (2007).

A alcalinidade diminuiu um pouco, mas se manteve elevada (em torno de 170 mg.L⁻¹). Bilotta (2000) afirma que a quantificação de alcalinidade é importante para avaliar o mecanismo de ação do ozônio no processo de desinfecção; e concentrações altas podem vir a inibir o mecanismo indireto, em favorecimento ao mecanismo direto. No mecanismo direto, segundo Dias (2001), há prevalência do ozônio na forma de ozônio molecular, sendo esta a forma mais eficiente na desinfecção.

Com os valores de pH encontrados e a alcalinidade verificada nos ensaios, dois processos diferentes podem estar ocorrendo, como comentado por Gadotti (2003): há disponibilidade maior de ozônio para reações diretas, as quais são seletivas e ocorrem menos oxidações induzidas pela radical hidroxila.

Os valores de ORP aumentaram com a aplicação de ozônio o que condiz com processo oxidativo. As médias dos valores para estas três variáveis – pH, ORP e alcalinidade total – estão apresentadas na tabela 5.38.

Tabela 5.38 – Média ($\pm$ DP) dos valores de pH, ORP e Alcalinidade total nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.

	EB (n=1)	EO (n=3)	EO-UV1 (n=3)	EO-UV2 (n=3)
pH	6,78	7,99 ($\pm$ 0,37)	8,15 ($\pm$ 0,29)	8,16 ($\pm$ 0,31)
ORP (mV)	-232	-120,4 ($\pm$ 56,2)	-111,7 ($\pm$ 42,6)	-97,3 ($\pm$ 25,6)
AT (mg/L)	179	172 ($\pm$ 2,6)	173 ($\pm$ 3,1)	171 ($\pm$ 2,6)

Notas: EB: esgoto bruto, sem ozônio; EO: esgoto ozonizado; EO-UV1: esgoto ozonizado submetido à primeira dose de UV; EO-UV2: esgoto ozonizado submetido à segunda dose de UV; ORP: potencial oxi-redução; AT: alcalinidade total; n: número de repetições; DP: desvio padrão.

5.3.4.4 – DQO e DQO filtrada

A DQO e DQO da amostra filtrada dos ensaios com ozônio e sequenciais (ozônio-radiação ultravioleta) estão apresentadas nas figuras 5.45 e 5.46.

Figura 5.45 – Variação da DQO durante os ensaios com ozônio e ozônio-UV.

Figura 5.46 – Variação da DQO filtrada nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.

A diminuição dos valores de DQO revela que parte da massa de ozônio transferida para o esgoto foi consumida na oxidação de matéria orgânica, o que diminui a eficiência da desinfecção (BILOTTA, 2000).

As médias dos valores de DQO e DQO filtrada estão apresentadas na tabela 5.39.

Tabela 5.39 – Média ($\pm$ DP) dos valores de DQO e DQO filtrada nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.

	EB (n=1)	EO (n=3)	EO-UV1 (n=3)	EO-UV2 (n=3)
DQO (mg/L)	239	160($\pm$ 34)	158 ($\pm$ 30)	158 ($\pm$ 37)
DQO filtrada (mg/L)	38	65 ($\pm$ 4)	70 ($\pm$ 12)	61 ($\pm$ 6)

Notas: EB: esgoto bruto, sem ozônio; EO: esgoto ozonizado; EO-UV1: esgoto ozonizado submetido à primeira dose de UV; EO-UV2: esgoto ozonizado submetido à segunda dose de UV; n: número de repetições; DP: desvio padrão.

A ocorrência de remoção de DQO pela ozonização e, ao mesmo tempo, aumento da DQO filtrada, revela que a remoção foi principalmente da parte particulada da DQO. Parte da DQO pode ter sido removida junto com a espuma presente após o borbulhamento de gás na coluna de ozonização, devido ao *stripping* de gases orgânicos (LOURENÇÃO, 2009; SOARES, 2007).

Remoções de DQO são relatadas por: Gadotti (2003) - até 50% e Lourenção (2009) - até 60%. Os valores de remoção de DQO e DQO filtrada estão apresentados na tabela 5.40.

Tabela 5.40 – Variação da remoção de DQO e DQO filtrada nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.

Ensaio	Tipo de Efluente	Remoção (%)	
		DQO	DQO filtrada
VI	EO	33	-60
	EO-UV1	36	-50
	EO-UV2	32	-58
VII	EO	47	-79
	EO-UV1	45	-110
	EO-UV2	50	-47
VIII	EO	19	-74
	EO-UV1	21	-95
	EO-UV2	19	-76

Notas: EO: esgoto ozonizado; EO-UV1: esgoto ozonizado após a primeira dose de radiação UV; EO-UV2: esgoto ozonizado após a segunda dose de radiação UV.

Nota-se que os efluentes que receberam as doses de radiação UV aplicadas sequencialmente ao ozônio não obtiveram remoção de DQO maior que os efluentes somente ozonizados. Com relação à DQO filtrada, houve aumento em todos os ensaios.

5.3.4.5 – Sólidos Totais, Sólidos Suspensos Totais e Sólidos Dissolvidos Totais

Pode-se notar como variou a concentração de sólidos ao aplicar ozônio e ozônio seguido de radiação ultravioleta nas figuras 5.47 a 5.49.

Figura 5.47 – Variação de sólidos totais nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.

Figura 5.48 – Variação dos sólidos suspensos totais nos ensaios com ozônio e ozônio-irradiação UV.

Figura 5.49 – Variação dos sólidos dissolvidos totais nos ensaios com ozônio e ozônio-irradiação UV.

Observam-se remoções de sólidos totais nos três ensaios. Com aplicação de ozônio, houve até 53% de remoção. Gadotti (2003) encontrou até 16% e Lourenção (2009), até 35%. Parte da remoção pode ser devido à espuma formada na coluna de ozonização (LOURENÇÃO, 2009). A primeira dose de UV contribuiu ainda mais na remoção nos ensaios I e III, duplicando os valores. Entretanto, a segunda dose de UV provocou poucos incrementos de remoção neste parâmetro.

De acordo com Bilotta (2000), a quantidade de sólidos suspensos totais no efluente pode limitar a ação desinfetante do ozônio ao formar agregados partícula-microrganismo. Houve remoção significativa de SST de até 82% com a ozonização, valores superiores aos encontrados por Gadotti (2003). As doses sequenciais de radiação UV reforçaram ainda mais a remoção de SST.

Os sólidos dissolvidos também foram removidos, principalmente após as doses sequenciais de radiação UV; com exceção do ensaio VII, onde somente a ozonização conseguiu remover 40 % dos SDT.

A média dos valores e os dados de remoção de sólidos estão expostos nas tabelas 5.41 e 5.42, respectivamente.

Tabela 5.41 – Média ($\pm$ DP) dos valores de ST, SST e SDT nos ensaios com ozônio e ozônio-radiação UV.

	EB (n=1)	EO (n=3)	EO-UV1 (n=3)	EO-UV2 (n=3)
ST (mg/L)	425	304($\pm$ 91)	259($\pm$ 45)	287($\pm$ 65)
SST (mg/L)	131	49($\pm$ 25)	48($\pm$ 19)	33($\pm$ 14)
SDT (mg/L)	294	255($\pm$ 68)	211($\pm$ 34)	254($\pm$ 74)

Notas: EB: esgoto bruto, sem ozônio; EO: esgoto ozonizado; EO-UV1: esgoto ozonizado submetido à primeira dose de UV; EO-UV2: esgoto ozonizado submetido à segunda dose de UV; n: número de repetições; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; DP: desvio padrão.

Tabela 5.42 – Variação da remoção de sólidos nos ensaios com ozônio e ozônio-radiação UV.

Ensaio	Tipo de Efluente	Remoção de Sólidos (%)		
		ST	SST	SDT
VI	EO	19	60	1
	EO-UV1	40	53	34
	EO-UV2	48	73	37
VII	EO	53	82	40
	EO-UV1	49	80	36
	EO-UV2	17	86	-13
VIII	EO	13	45	-1
	EO-UV1	28	57	15
	EO-UV2	32	65	17

5.3.4.6 – Nitrogênio Amoniacal

As concentrações de nitrogênio amoniacal se mantiveram praticamente constantes entre os ensaios, como pode ser constatado na tabela 5.43.

Gadotti (2003) relata remoção deste parâmetro em torno de 14%, vindo a concluir que parte do ozônio foi também consumida para oxidar o nitrogênio amoniacal.

Tabela 5.43 - Média ($\pm$ DP) dos valores de nitrogênio amoniacal nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.

	EB (n=1)	EO (n=3)	EO-UV1 (n=3)	EO-UV2 (n=3)
Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	34	34	34($\pm$ 1)	35($\pm$ 1,5)

Notas: EB: esgoto bruto, sem ozônio; EO: esgoto ozonizado; EO-UV1: esgoto ozonizado submetido à primeira dose de UV; EO-UV2: esgoto ozonizado submetido à segunda dose de UV; n: número de repetições; DP: desvio padrão.

5.3.4.7 – Absorbância 254 nm

Os valores de absorbância 254 nm, de fundamental importância para a desinfecção sequencial com radiação UV, podem ser conferidos na figura 5.50. Os valores médios encontram-se na tabela 5.44.

Figura 5.50 – Variação dos valores de absorbância (254 nm) nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.

Tabela 5.44 - Média ($\pm$ DP) dos valores de absorvância a 254 nm nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.

	EB (n=1)	EO (n=3)	EO-UV1 (n=3)	EO-UV2 (n=3)
Absorvância 254 nm	0,636	0,410($\pm$ 0,08)	0,430 ($\pm$ 0,08)	0,426 ($\pm$ 0,08)

Notas: EB: esgoto bruto, sem ozônio; EO: esgoto ozonizado; EO-UV1: esgoto ozonizado submetido à primeira dose de UV; EO-UV2: esgoto ozonizado submetido à segunda dose de UV; n: número de repetições; DP: desvio padrão.

A ozonização ocasionou a diminuição de 26 a 50 % da absorvância. Muitos compostos que absorvem radiação em comprimentos de onda próximos a 254 nm, como material orgânico dissolvido, são oxidados pelo ozônio, reduzindo a absorvância (LANGLAIS et al., 1991), como pode ser visualizado na figura 5.51. Entretanto, as doses sequenciais de radiação UV aumentaram ligeiramente esses valores.

Figura 5.51 – Melhora da qualidade do efluente com a ozonização. A: esgoto bruto; B: esgoto após ensaio VI; C: esgoto após ensaio VII; D: esgoto após ensaio VIII.

5.3.4.8 – Desinfecção apenas com Ozônio

Os resultados da desinfecção com ozônio e sequencial (ozônio seguido de radiação ultravioleta) estão apresentados nas tabelas 5.45 e 5.46.

Tabela 5.45 – Resultados da desinfecção de bactérias indicadoras nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.

Ensaio [C ; T]	Tipo de Efluente	Coliformes Totais		<i>E. coli</i>		<i>C. perfringens</i>	
		N/No	Inativação	N/No	Inativação	N/No	Inativação
Ensaio VI [11;10]	EO	$9,6 \times 10^{-4}$	3,01	<ld	>4,20	$2,1 \times 10^{-1}$	0,67
	EO-UV1	2×10^{-5}	4,67	<ld	>4,20	1×10^{-2}	1,99
	EO-UV2	2×10^{-5}	4,67	<ld	>4,20	<ld	>3,90
Ensaio VII [11,7;20]	EO	<ld	>4,70	<ld	>4,20	$8,9 \times 10^{-2}$	1,05
	EO-UV1	<ld	>4,70	<ld	>4,20	$1,3 \times 10^{-2}$	1,90
	EO-UV2	<ld	>4,70	<ld	>4,20	<ld	>3,90
Ensaio VIII [16,5 ;30]	EO	$2,8 \times 10^{-3}$	2,55	$1,3 \times 10^{-4}$	3,90	$3,2 \times 10^{-1}$	0,50
	EO-UV1	4×10^{-5}	4,40	<ld	>4,20	$5,1 \times 10^{-2}$	1,30
	EO-UV2	<ld	>4,70	<ld	>4,20	$2,5 \times 10^{-2}$	1,60

Notas: EO: esgoto ozonizado; EO-UV1: esgoto ozonizado submetido à primeira dose de UV; EO-UV2: esgoto ozonizado submetido à segunda dose de UV; [C;T]: [concentração aplicada de ozônio; tempo de contato]; N: número de microrganismos em determinado tipo de efluente; No: número de microrganismos no esgoto bruto; Inativação: $-\log (N/No)$; <ld: menor que o limite de detecção. Quando abaixo do limite de detecção, a inativação foi calculada supondo a visualização de uma UFC.

Tabela 5.46 – Resultados da desinfecção de protozoários patogênicos nos ensaios com ozônio e ozônio-UV.

Ensaio [C ; T]	Tipo de Efluente	<i>Giardia spp.</i>		<i>Cryptosporidium spp.</i>	
		N/No	Inativação	N/No	Inativação
Ensaio VI [11;10]	EO	$8,8 \times 10^{-1}$	0,06	nd	nd
	EO-UV1	1,3	-0,12	1,3	-0,12
	EO-UV2	$8,8 \times 10^{-1}$	0,06	$6,7 \times 10^{-1}$	0,18
Ensaio VII [11,7;20]	EO	1,75	-0,24	$6,7 \times 10^{-1}$	0,18
	EO-UV1	1,40	-0,15	$6,7 \times 10^{-1}$	0,18
	EO-UV2	nd	nd	nd	nd
Ensaio VIII [16,5 ;30]	EO	nd	nd	nd	nd
	EO-UV1	1,58	-0,20	1,3	-0,12
	EO-UV2	1,75	-0,24	1,3	-0,12

Notas: EO: esgoto ozonizado; EO-UV1: esgoto ozonizado submetido à primeira dose de UV; EO-UV2: esgoto ozonizado submetido à segunda dose de UV; [C;T]: [concentração aplicada de ozônio; tempo de contato]; N: porcentagem de (oo)cistos viáveis em determinado tipo de efluente; No: porcentagem de (oo)cistos viáveis no esgoto bruto; Inativação: $-\log (N/No)$; nd: não detectada a presença de (oo)cisto.

Para efeito de comparação e melhor visualizar a inativação ocasionada apenas pelo ozônio nas bactérias indicadoras de contaminação fecal, tem-se a figura 5.52. Os ensaios são apresentados com a concentração de ozônio consumido; o tempo de contato e o CT.

Figura 5.52 – Inativação de bactérias nos ensaios realizados apenas com ozônio.

Nos ensaios VI e VII, a inativação das bactérias em estudo foi diretamente proporcional ao CT aplicado. Ocorreram 100 % de inativação de *E. coli* em ambos ensaios; para coliformes totais, apenas no ensaio VII. Em consideração ao *C. perfringens*, esse microrganismo mostrou grande resistência, sendo necessário CT de 76 mg.min.L⁻¹ para se obter 1 log de remoção.

No tocante ao ensaio VIII, apesar de aplicado valor de CT de 248 mg.min.L⁻¹, foi o ensaio com os piores resultados de inativação para as três bactérias estudadas. No entanto, segundo Soares (2007), os resultados dependem também da vazão de ozônio aplicada e altura da coluna de esgoto, que possuem implicação direta na velocidade das bolhas de ozônio e o tempo de contato das bolhas com o meio líquido. Além disso, foi o ensaio com menores remoções de DQO, sólidos e absorvância, o que possivelmente, afetou o desempenho da desinfecção.

Sartori (2004) precisou de CT de 180 mg.min.L⁻¹ e acima de 100 mg.min.L⁻¹ de ozônio para obter 3 log de inativação para *E. coli* e 2 log de inativação para *C. perfringens*, respectivamente.

Soares (2007), utilizando CT de 52 mg.min.L⁻¹, conseguiu 2,0 e 1,0 log de remoção para *E. coli* e *C. perfringens*, respectivamente. Ao aumentar o CT para 74 mg.min.L⁻¹, as inativações foram de 2,5 log para *E. coli* e 0,4 log para *C. perfringens*. O mesmo autor relata ainda que a inativação máxima de 2,0 log para *C. perfringens* somente foi possível com aplicação de 148 mg.min.L⁻¹.

Lourenção (2009) encontrou, para CT próximos aos deste trabalho, inativação menor para coliformes totais, *E. coli* e *C. perfringens*, respectivamente: CT de 55 mg.min.L⁻¹ (0,75; 0,23 e 0,25 log); CT de 76 mg.min.L⁻¹ (2,1; 2,6 e 0,78 log); CT de 211 mg.min.L⁻¹ (1,1; 2,6; 0,0 log).

Em alusão aos protozoários, foi utilizado o método de concentração por centrifugação não seguida de separação imunomagnética. Este método obteve boa recuperação para *Giardia* spp., mas baixa para *Cryptosporidium* spp. Os resultados para avaliação da viabilidade desses protozoários foram prejudicados pelo pequeno número de (oo)cistos encontrados, talvez em decorrência do arraste de (oo)cistos para a superfície do líquido dentro da coluna de ozonização com formação de espuma.

A máxima inativação de *Giardia* spp. foi de 0,06 log, no ensaio VI. Em um único ensaio, VII, *Cryptosporidium* spp. foi detectado no efluente ozonizado, obtendo inativação de 0,18 log (tabela 5.46).

5.3.4.9 – Desinfecção Sequencial: Ozônio – Radiação Ultravioleta

A inativação dos microrganismos indicadores devido à desinfecção sequencial ozônio – radiação UV1 (2,5 Wh.m⁻³) é apresentada na figura 5.53.

Figura 5.53 – Inativação de bactérias na desinfecção sequencial ozônio – radiação UV1.

Foram obtidos eficiência de 100% de inativação de *E. coli* nos três ensaios, e de coliformes totais no ensaio VII. De modo geral, foram conseguidos mais de 4 log de remoção para coliformes totais e *E. coli*.

A desinfecção sequencial com a dose de $2,5 \text{ Wh.m}^{-3}$ elevou a inativação de *Clostridium perfringens* para quase 2 log de remoção – nos ensaios VI e VII. No ensaio VIII, a inativação dessa bactéria esporulada alcançou 1,3 log de remoção.

Resultados descritos por Lourenção (2009) com aplicação de CT de: 53, 76 e 211 mg.min.L^{-1} e dose sequencial de radiação UV de $3,0 \text{ Wh.m}^{-3}$, se assemelham com os encontrados neste estudo.

Os resultados para *Giardia* mostram que na desinfecção sequencial com a primeira dose de radiação UV, esse protozoário apresentou-se mais viável quando comparado aos resultados do efluente bruto, por isso, resultados negativos na inativação. Para *Cryptosporidium*, esse fato também pode ser notado, exceto no ensaio VII, onde houve 0,18 log de inativação (tabela 5.46).

Os valores de inativação com a aplicação de $6,1 \text{ Wh.m}^{-3}$ de radiação ultravioleta após o ozônio podem ser visualizados na figura 5.54.

Figura 5.54 – Inativação de bactérias na desinfecção sequencial ozônio – radiação UV2.

A dose de $6,1 \text{ Wh.m}^{-3}$ de radiação ultravioleta promoveu 100% de inativação de coliformes totais e *E.coli* em todos os ensaios e ainda de *Clostridium perfringens* nos ensaios VI e VII. No ensaio VIII, a bactéria esporulada teve um acréscimo na inativação, passando de 1,3 log ($\text{O}_3\text{-UV1}$) para 1,6 log.

Como exemplo da ação da desinfecção sequencial sobre *Clostridium perfringens*, é exposta a figura 5.55.

Figura 5.55 – Efeito sinérgico com a desinfecção sequencial ozônio – radiação UV sobre *Clostridium perfringens*. Ensaio VI, com ozônio e primeira dose de radiação ultravioleta. As placas estão na mesma diluição.

Lourenção (2009), utilizando dose sequencial de radiação ultravioleta de 5 Wh.m^{-3} após CT de desinfecção com ozônio próximo aos deste estudo, obteve acima de 4 log de inativação para coliformes totais e *E. coli*; e até 2,4 log de inativação de *C. perfringens*.

Fazendo menção aos protozoários, a inativação de *Giardia* foi de 0,06 log no ensaio VI; porém, como relatado anteriormente, a porcentagem de microrganismos viáveis foi maior que em relação ao esgoto bruto – ensaio VIII. Com relação à *Cryptosporidium*, a segunda dose de radiação UV na sequência do ozônio provocou inativação de 0,18 log no ensaio VI; e como exposto para *Giardia*, apresentou valor negativo no ensaio VIII.

O efeito sinérgico da desinfecção sequencial do ozônio seguido de radiação ultravioleta pode ser constatado na tabela 5.47.

Tabela 5.47 – Sinergismo na desinfecção seqüencial Ozônio – Radiação UV.

Microrganismo	Ensaio	Desinfecção Seqüencial	Σ Inativação individual	Inativação Seqüencial	Sinergismo
<i>C. perfringens</i>	VI	O ₃ – UV1	1,57	1,99	0,42
<i>C. perfringens</i>	VI	O ₃ – UV2	1,97	>3,90	>1,93
<i>C. perfringens</i>	VII	O ₃ – UV2	2,35	>3,90	>1,55

Notas: UV1: 2,5 Wh.m⁻³; UV2: 6,1 Wh.m⁻³; Valores de inativação e sinergismo são dados em log.

Pode ser observado sinergismo bastante significativo na desinfecção do ozônio com a radiação ultravioleta para *Clostridium perfringens*, em destaque, a dose de 6,1 Wh.m⁻³.

A verificação de sinergismo para coliformes totais e *E. coli* não pôde ser aferida porque a desinfecção apenas com ozônio ou somente com radiação ultravioleta resultou em inativação desses microrganismos a concentrações abaixo do limite de detecção.

Para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., o cálculo do sinergismo foi prejudicado principalmente em razão dos valores negativos da inativação da desinfecção somente com ozônio e da desinfecção seqüencial. Isso se deve ao baixo números de (oo)cistos contabilizados ou não encontrados (tabela A17).

6 – CONCLUSÕES

Com base nos resultados deste trabalho pode-se concluir que:

- A variabilidade da razão entre a alcalinidade intermediária e alcalinidade parcial no monitoramento do reator UASB esteve correlacionada à remoção de DQO e SST.
- A remoção de sólidos suspensos no reator UASB foi de até 91%, com o efluente tendo, em média, menos de 60 mg.L⁻¹. A remoção de DQO foi, em média, de 41%. No entanto, a eficiência do reator UASB foi variável o que pode estar relacionada à grande variabilidade das características do esgoto afluente.
- Houve grandes variações do cloro residual livre e combinado no esgoto, no decorrer do tempo, principalmente para as duas menores concentrações (5 e 10 mg de cloro por litro). À medida que se elevou a concentração aplicada de cloro ocorreu um aumento da concentração de cloro combinado para todos os tempos estudados.
- No esgoto utilizado, o ponto de breakpoint só foi atingido com a aplicação de 80 mg.L⁻¹ de cloro, estando relacionado à grande quantidade de nitrogênio orgânico, nitrogênio amoniacal e DQO. Além disso, as curvas de breakpoint mostraram independência do tempo e dependentes apenas da concentração de cloro aplicada.
- O estudo de indicadores, como pH, ORP e condutividade são de grande valia para uma avaliação on-line, facilitando a operação de cloração em uma ETE.

- Nas análises microbiológicas do esgoto após tratamento anaeróbio por reator UASB na ETE da USP – São Carlos e na ETE Monjolinho, foram encontradas concentrações significativas de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.. Como os exames realizados não são conclusivos quanto à espécie, o grau de contaminação da população de São Carlos por esses protozoários patogênicos não pôde ser avaliado.
- A utilização da separação imunomagnética (IMS) foi de grande valia somente na recuperação de oocistos de *Cryptosporidium* spp.. A recuperação de *Giardia* spp., utilizando ou não o IMS, foi praticamente a mesma.
- Nos ensaios de desinfecção com o emprego somente da radiação ultravioleta, os valores de absorbância estiveram mais correlacionados com a DQO, DQO da amostra filtrada e concentração de sólidos suspensos totais. Houve também várias correlações entre parâmetros físico-químicos e microbiológicos, no esgoto bruto, e após a desinfecção com as duas doses de radiação UV aplicadas.
- Nos ensaios nos quais foi utilizado o cloro, a bactéria esporulada *C. perfringes* foi bastante resistente à desinfecção quando comparada aos outros microrganismos indicadores (*E. coli* e coliformes totais); mas não, quanto à *Giardia* spp. e ao *Cryptosporidium* spp..
- Nos ensaios onde apenas o ozônio foi usado, notou-se novamente a resistência do *C. perfringens* à desinfecção, bem como dos protozoários estudados. No entanto, a avaliação da viabilidade de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. não pôde ser realizada em alguns casos devido à ausência de (oo)cistos na leitura das lâminas.
- A utilização do ozônio promoveu melhora da qualidade do efluente com remoção de DQO, sólidos e absorbância 254 nm, o que implica menores tempos de desinfecção sequencial com radiação UV e conseqüente economia de energia.
- Observou-se a seguinte ordem crescente de resistência à desinfecção por radiação UV, cloro e ozônio: *E. coli* < Coliformes Totais < *Clostridium perfringens* < protozoários.

- No tocante à desinfecção seqüencial, foi verificado efeito sinérgico nos microrganismos mais resistentes – *C. perfringens* e *Giardia* spp. – na aplicação do cloro seguido de radiação ultravioleta. Na desinfecção do ozônio seguido de radiação ultravioleta, o sinergismo foi encontrado somente para *C. perfringens*.
- O sinergismo não pôde ser calculado para *E. coli* e coliformes totais pois se mostraram pouco resistentes ao emprego de um só desinfetante, antes mesmo da desinfecção seqüencial.
- O baixo número de (oo)cistos e até mesmo ausência destes nas lâminas de leitura não permitiu uma avaliação mais contundente a respeito das desinfecções seqüenciais utilizadas e de possível efeito sinérgico para os protozoários estudados. Isso pode ser devido à baixa recuperação de oocistos e também a pouca sensibilidade do iodeto de propídio para inferir viabilidade.
- *C. perfringens* esteve correlacionado à *Giardia* spp. em alguns ensaios de desinfecção, fato que não pôde ser constatado para *E. coli* e coliformes totais em razão da baixa resistência desses microrganismos às doses desinfetantes utilizadas neste trabalho.

7 – SUGESTÕES

- Estudos mais aprofundados com relação à distribuição das espécies residuais de cloro no esgoto, principalmente devido aos inúmeros compostos que podem reagir com cloro.
- Realizar ensaios de desinfecção seqüencial com outras dosagens de cloro e ozônio e doses de radiação ultravioleta para avaliar a resistência da *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp..
- Avaliar a remoção e infectividade de protozoários nas diferentes etapas de tratamento de esgoto.
- Avaliar a formação de subprodutos de desinfecção após desinfecção seqüencial.
- Utilizar outros desinfetantes químicos, como ácido peracético, peróxido de hidrogênio, dióxido de cloro, entre outros, na desinfecção seqüencial com radiação ultravioleta.
- Realizar análise econômica da desinfecção seqüencial.

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, R.D. (2001). Biology of *Giardia lamblia*. **Clinical microbiology Reviews**. Vol.14, nº 3, p. 447–475.

AISSE, M.M.; FILHO, B.C.; NETO, C.O.A.; JURGENSEN, D.; LAPOLLI, F.R.; MELO, H.N.S.; PIVELI, R.P.; LUCCA, S.J. (2003). Cloração e Descloração. In: **Desinfecção de Efluentes Sanitários**. PROSAB 3. Ricardo Franci Gonçalves (coord), p. 113-168.

APHA, AWWA, WEF (1998). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20th edition.

APHA, AWWA, WEF (2005). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21st edition.

AQUINO, S.F. (2003). Caracterização de DQO efluente de sistemas de tratamento biológico. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. Vol.8, n.3, p.135-144.

ASHBOLT, N.J.; GRABOW, W.O.K.; SNOZZI, M. (2001). Indicators of microbial water quality. In: **Water Quality: Guidelines, Standards and Health**. Edited by Lorna Fewtrell and Jamie Bartram. World Health Organization. IWA Publishing. p. 289-316.

ASSIRATI, D.M. (2005). **Desinfecção de efluentes de ETE com ozônio para uso agrícola**. 152p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, Campinas.

BASTOS, R.K.X.; BEVILACQUA, P.D.; KELLER, R. (2003). Organismos Patogênicos e Efeitos sobre a Saúde Humana. In: **Desinfecção de Efluentes Sanitários**. PROSAB 3. Ricardo Franci Gonçalves (coord.), p. 27-88.

BASTOS, R.K.X.; HELLER, L.; VIEIRA, M.B.C.M.; BRITO, L.L.A.; BEVILACQUA, P.D.; NASCIMENTO, L.E. (2004). *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts dynamics in Southeast Brazil. Occurance in surface water and removal in water treatment processes. **Water Science and Technology**. Vol. 14, n.2, p.15-22.

BAUDISOVÁ, D. (1997). Evaluation of *Escherichia coli* as the main indicator of faecal pollution. **Water Science Technology**. Vol. 35, nº 11-12, p. 333-336.

BEDNER, M.; MACCREHAN, W.A.; HELZ, G.R. (2004). Production of macromolecular chloramines by chlorine-transfer reactions. **Environmental Science & Technology**. Vol. 38, n. 6, p. 1753-1758.

BELLA, S.W.; TAM, T.Y. (1998). *Giardia* and *Cryptosporidium* in sewage-contaminated river waters. **Water Research**. Vol. 32, n.9, p. 2860-2864.

BELOSEVIC, M.; CRAIK, S.A.; STAFFORD, J.L.; NEUMANN, N.F.; KRUTHOF, J.; SMITH, D.W. (2001). Studies on the resistance/reactivation of *Giardia muris* cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts exposed to medium-pressure ultraviolet radiation. **FEMS Microbiology Letters**. Vol.204, p. 197-203.

BERGENDAHL, J.A.; STEVENS, L. (2005). Oxidation Reduction Potential as a measure of disinfection effectiveness for chlorination of wastewater. **Environmental Progress**. Vol. 24, n. 2, p. 214-222.

BETANCOURT, W.Q.; GENNACCARO, A.L.; SCOTT, T.M.; ROSE, J.B. (2003). Assessment of methods for detection of infectious *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in reclaimed effluents. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol.69, n.9, p. 5380-5388.

BETANCOURT, W.Q.; ROSE, J.B. (2004). Drinking water treatment process for removal of *Cryptosporidium* and *Giardia*. **Veterinary Parasitology**. Vol. 126, p.219-234.

BILLOTA, P. (2000). **Estudo comparativo da ação do ozônio e radiação ultravioleta na desinfecção de esgoto sanitário**. 130p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos.

BITTON, G. (1994). **Wastewater Microbiology**. Ed. Wiley-Liss. 478p.

BORREGO, J.J.; CÓRNAX, R.; MORINIGO, M.A. (1990). Coliphages as an indicator of faecal pollution in water. Their survival and productive infectivity in natural aquatic environments. **Water Research**. Vol.24, nº1. p.111-116.

BOUZID, M.; STEVERDING, D.; TYLER, K.M. (2008). Detection and surveillance of waterborne protozoan parasites. **Current Opinion in Biotechnology**. 19: 1-5.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE (2006). **Boas práticas no abastecimento de água: procedimentos para a minimização de riscos à saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 252 p.

BRESCIA, C.C.; GRIFFIN, S.M.; WARE, M.W.; VARUGHESE, E.A.; EGOROV, A.I.; VILLEGAS, E.N. (2009). Crypto PMA-PCR: A Molecular-Based Technique for Genotyping Viable *Cryptosporidium* Oocysts Using Propidium Monoazide to Prevent the Amplification of DNA from Non-Viable Oocysts. **Applied and Environmental Microbiology**. Published online ahead of print on 11 September. Doi: 10.1128/AEM.00540-09. 48p.

BUKHARI, Z.; ABRAMS, F.; LECHEVALLIER, M. (2004). Using ultraviolet light for disinfection of finished water. **Water Science and Technology**. Vol.50, n.1, p.173-178.

CAMPBELL, A.T.; ROBERTSON, L.; SMITH, H. (1992). Viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts: correlation of *in vitro* excystation with inclusion or exclusion of fluorogenic vital dyes. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 58, n.11, p. 3488-3493.

CAMPBELL, A.T.; WALLIS, P. (2002). The effect of UV irradiation on human-derived *Giardia lamblia* cysts. **Water Research**. Vol.36, p.963-969.

CAMPOS, J.R. (Coord.) (1999). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. Rio de Janeiro: ABES - PROSAB. 464p.

CANTUSIO NETO, R. (2004). **Ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. em diferentes pontos do processo de tratamento de água, em Campinas, São Paulo, Brasil**. 89p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

CANTUSIO NETO, R.; SANTOS, L.U.; FRANCO, R.M.B. (2006). Evaluation of activated sludge treatment and the efficiency of the disinfection of *Giardia* species cysts and *Cryptosporidium* oocysts by UV at a sludge treatment plant in Campinas, south-east Brazil. **Water Science and Technology**. Vol.53, n.3, p.89-94.

CARDOSO, L.S.; CARLI, G.A.; de LUCA, S.J.(2003). *Cryptosporidium* e *Giardia* em efluentes biologicamente tratados e desinfetados. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. Vol. 8, n.4, p.285-290.

CARETTI, C.; LUBELLO, C. (2003). Wastewater disinfection with PAA and UV combined treatment: a pilot plant study. **Water Research**. Vol. 37, p.2365-2371.

CARON, E. (2006). **Évaluation de l'impact des microparticules sur la désinfection aux ultraviolets de spores de bactéries sporulantes aérobies**. 135p. Mémoire. École Polytechnique de Montréal, Canada.

CARRARO, E.; FEA, E.; SALVA, S.; GILL, G. (2000). Impact of a wastewater treatment plant on *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts occurring in a surface water. **Water Science and Technology**. Vol. 41, n. 7, p.31-37.

CARVALHO, T.T.R. (2009). Estado Atual do conhecimento de *Cryptosporidium* e *Giardia*. **Revista de Patologia Tropical**. Vol. 38, n.1, p.1-16.

CASTRO-HERMIDA, J.A.; PRESSEDO, I.G.; ALMEIDA, A.; WARLETA, M.G.; COSTA, J.M.C.; MEZO, M. (2008). Contribution of treated wastewater to the contamination of recreational river áreas with *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis*. **Water Research**. Vol. 42, p.3528-3538.

CETESB (2004). **Método de ensaio L5.403. *Clostridium perfringens*** – Determinação em amostras de água pela técnica de membrana filtrante (método de ensaio). 23p.

CETESB (2008). **Qualidade das águas interiores no Estado de São Paulo 2007**. São Paulo. 537p. Série relatórios.

CHANG, J.C.H.; OSSOFF, S. F.; LOBE, D.C.; DORFMAN, M.H.; DUMAIS, C.M.; QUALLS, R.G.; JOHNSON, J.K. (1985). UV Inactivation of Pathogenic and Indicator Microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol.49, nº6, p.1361-1365.

CHAURET, C.; SPRINGTHORPE, S.; SATTAR, S. (1999). Fate of *Cryptosporidium* oocysts, *Giardia* cysts, and microbial indicators during wastewater treatment and anaerobic sludge digestion. **Canada Journal of Microbiology**. Vol.45, p.257–262.

CHENG, H.W.; LUCY, F.E.; GRACZYK, T.K.; BROADERS, M.A.; TAMANG, L.; CONNOLLY, M. (2009). Fate of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocysts and *Giardia duodenalis* cysts during secondary wastewater treatments. **Parasitology Research**. Vol. 105, p.689-696.

CHERNICHARO, C.A.L. (1997). **Reatores Anaeróbios. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias** vol.5. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG. 246 p.

CHERNICHARO, C.A.L.; VAN HAANDEL, A.C.; FORESTI, E.; CYBIS, L.F. (2001a). Introdução. In: **Pós-Tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios**. PROSAB 2. Carlos Augusto Lemos Chernicharo (coord.). p.19-34.

CHERNICHARO, C.A.L.; DANIEL, L.A.; SENS, M.; CORAUCCI FILHO, B. (2001b). Pós-tratamento de efluentes anaeróbios por sistemas de desinfecção. In: **Pós-Tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios**. PROSAB 2. Carlos Augusto Lemos Chernicharo (coord.) 66p.

CHO, M.; KIM, J.H.; YOON, J. (2006). Investigating synergism during sequential inactivation of *Bacillus subtilis* spores with several disinfectants. **Water Research**. Vol.40, p.2911-2920.

CIMERMAN, S; CIMERMAN, B. (2003). Giardíase. In: **Medicina Tropical**. Sérgio Cimerman e Benjamin Cimerman (Org.). 1ª edição. Editora Atheneu, v.1, p.41-48.

CIMERMAN, S; CIMERMAN, B. (2004). Parasitoses Intestinais. In: **Condutas em Infectologia**. Sérgio Cimerman e Benjamin Cimerman (org.). 1ª edição. Editora Atheneu, v.1, p.329-342.

CLANCY, J.L.; HANSEN, J. (1999). Uses of protozoan monitoring data. **Journal of American Water Works Association**. 91:5. p.51-65.

COLETTI, F.J. (2003). **Inativação de microorganismos indicadores presentes em efluentes secundário de esgoto sanitário com radiação ultravioleta**. 239p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo.

CONYERS, B.; SCULLY JR, F.E. (1997). Chloramines V: Products and Implications on the chlorination of Lysine in Municipal Wastewaters. **Environmental Science & Technology**. Vol. 31, n.6, p. 1680-1685.

CORONA-VAZQUEZ, B.; SAMUELSON, A.; RENNECKER, J.L.; MARINAS, B.J. (2002). Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts with ozone and free chlorine. **Water Research**. Vol.36, p. 4053-4063.

CRAUN, G.F.; BERGER, P.S.; CALDERON, R.L. (1997). Coliform bacteria and waterborne disease outbreaks. **Journal of American Water Works Association**. 89:3, p.96-104.

DANIEL, L.A. (1989). **Desinfecção de efluentes de esgoto sanitário pré-decantado empregando radiação ultravioleta**. 124p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo.

DANIEL, L.A. (Coord.) (2001). **Processos de Desinfecção e Desinfetantes Alternativos na Produção de Água Potável**. PROSAB. 1. ed. São Carlos, 139p.

DEBORDE, M.; VON GUNTEN, U. (2008). Reaction of chlorine with organic and inorganic compounds during water treatment – Kinetics and mechanisms: A critical review. **Water Research**. Vol. 42, p. 13-51.

DEREGNIER, D.P.; COLE, L.; SCHUPP, D. G.; ERLANDSEN, S.L. (1989). Viability of Giardia cysts suspended in lake, river and tap water. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 55; n.5; p.1223-1229.

DIAPER, E.W.J. (1975). Disinfection of water and wastewater using ozone. In: **Disinfection Water and Wastewater**. J. Donald Johnson. By American Arbor Science Publishers. Inc. p.211-231.

DIAS, V.D. (2001). **Radiação Ultravioleta e ozônio aplicados como métodos alternativos de desinfecção de efluentes secundários de esgoto sanitário**. 150p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A.D.B. (2005). **Métodos e Técnicas de Tratamento de Água**. 2ª ed. São Carlos, RIMA. Vol. 1 e 2.

DRIEDGER, A.M.; RENNECKER, J.L.; MARINAS, B.J. (2000). Sequential inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts with ozone and free chlorine. **Water Research**. Vol.34, n.14, p.3591-3597.

DUPONT, H.L.; CHAPPELL, C.L.; STERLING, C.R.; OKHUYSEN, P.C.; ROSE, J.B.; JAKUBOWSKI, W. (1995). The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. **The New England Journal of Medicine**. Vol.332, n.13, p.855-859.

EARTH TECH (CANADA) INC (2005). **Chlorine and Alternative Disinfectants Guidance Manual**. Manitoba Water Stewardship - Office of Drinking Water. Winnipeg, Canada. 117 p.

EDZWALD, J.K.; KELLEY, M.B. (1998). Control of *Cryptosporidium*: from reservoirs to clarifiers to filters. **Water Science and Technology**. Vol. 37, n.2, p.1-8.

EILBECK, W.J. (1984). Redox control in breakpoint chlorination of ammonia and metal ammine complexes. **Water Research**. Vol. 18, n.1, p.21-24.

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

FAYER, R. (2010). Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. **Experimental Parasitology**. Vol.124, p. 90-97.

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

FERGUSON, C.; ALTAVILLA, N.; ASHBOLT, N.J.; DEERE, D.A. (2003). Prioritizing watershed pathogen research. **Journal of American Water Works Association**. Vol. 95, n.2, p.92-102.

FERRARI, B.C.; STONER, K.; BERGQUIST. (2006). Applying fluorescence based technology to the recovery and isolation of *Cryptosporidium* and *Giardia* from industrial wastewater streams. **Water Research**. Vol. 40, p.541-548.

FERREIRA FILHO, S.S.; SAKAGUTI, M. (2008). Comportamento cinético do cloro livre em meio aquoso e formação de subprodutos da desinfecção. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. Vol. 13, n.2, p.198-206.

FINCH, G.R.; BLACK, E.K.; LABATIUK, C.W.; GYÜREK, L.; BELOSEVIC, M. (1993). Comparison of *Giardia lamblia* and *Giardia muris* Cyst Inactivation by Ozone. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 59, nº11, p.3674-3680.

FINCH, G.R.; LIYANAGE, L.R.J.; GYÜREK, L.; BRADBURY, J.S.; BELOSEVIC, M. (2000). **Synergistic Effects of Multiple Disinfectants**. AWWA Research Foundation and American Water Works Association. 50 p.

FRANÇA, R.B. (2007). *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp. e ovos de helmintos em esgoto hospitalar: destruição e análise de dano estrutural dos protozoários após o processo fotoeletroquímico. 159p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

FRANCO, R.M.B.; ROCHA-EBERHARDT, R.; CANTUSIO NETO, R. (2001). Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia river, Campinas, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. Vol. 43, n.2, p.109-111.

GADOTTI, R.F. (2003). **Pós-tratamento de efluente de reator anaeróbio compartimentado por oxidação com ozônio precedendo biofiltro aerado submerso**. 180p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

GONÇALVES, R.F.; JORDÃO, E.P.; SOBRINHO, P.A. (2003a). Introdução. In: **Desinfecção de Efluentes Sanitários**. PROSAB 3. Ricardo Franci Gonçalves (coord), p.1-26.

GONÇAVES, R.F.; FILHO, B.C.; CHERNICHARO, C.A.L.; LAPOLLI, F.R.; AISSE, M.M.; PIVELI, R.P. (2003b). Desinfecção por Radiação Ultravioleta. In: **Desinfecção de Efluentes Sanitários**. PROSAB 3. Ricardo Franci Gonçalves (coord.), p. 209-275.

GRADY Jr, C.P.L.; DAIGGER, G.T.; LIM, H.C. (1999). **Biological Wastewater Treatment**. Second Edition, Revised and Expanded. Marcel Dekker, New York. 1076p.

HAAS, C.N.; HELLER, B. (1990). Kinetics of inactivation of *Giardia lamblia* by free chlorine. **Water Research**. Vol. 24, n.2, p.233-238.

HACHICH, E.M.; SATO, M.I.Z.; GALVANI, A.T.; MENEGON, J.R.N.; MUCCI, J.L.N. (2004). *Giardia* and *Cryptosporidium* in source water of São Paulo State, Brazil. **Water Science and Technology**. Vol. 50, nº1, p.239-245.

HARWOOD, V.J.; LEVINE, A.D.; SCOTT, T.M.; CHIVUCULA, V.; LUKASIK, J.; FARRAH, S.R.; ROSE, J.B. (2005). Validity of the indicator organism paradigm for pathogen reduction in reclaimed water and public health protection. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 71, nº6, p. 3163-3170.

HASHIMOTO, A.; KUNIKANE, S.; HIRATA, T. (2002). Prevalence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in the drinking water supply in Japan. **Water Research**. Vol.36, p.519–526.

HASSEN, A.; HEYOUNI, A.; SHAYEB, H.; CHERIF, M.; BOUDABOUS, A. (2000). Inactivation of indicator bacteria in wastewater by chlorine – a kinetics study. **Bioresource Technology**. Vol. 72, p. 85-93.

HELLER, L.; BASTOS, R.K.X.; VIEIRA, M.B.C.M.; BEVILACQUA, P.D.; BRITO, L.L.A.; MOTA, S.M.M.; OLIVEIRA, A.A.; MACHADO, P.M.; SALVADOR, D.P.; CARDOSO, A.B. (2004). Oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia*: circulação no ambiente e riscos à saúde humana. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. Vol. 13 (2), p.79-92.

HELLER, L.; PÁDUA, V.L. (organizadores) (2006). **Abastecimento de água para consumo humano**. Editora UFMG. Belo Horizonte – MG. 859 p.

HELLER, L.; VIEIRA, M.B.C.M.; BRITO, L.L.A.; SALVADOR, D.P. (2007). Association between the concentration of protozoa and surrogates in effluents of the slow sand filtration for water treatment. **Brazilian Journal of Microbiology**. Vol. 38, p.337-345.

HERESI, G.P.; MURPHY, J.R.; CLEARY, T.G. (2000). Giardiasis. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases**. Vol.11, n.3, p. 189-195

HIJNEN, W.A.M.; BEERENDONK, E.F.; MEDEMA, G.J. (2006). Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review. **Water Research**. Vol.40, p. 3-22.

HRUDEY, S.E.; HRUDEY, E.J. (2004). **Safe Drinking Water: Lessons from Recent Outbreaks in Affluent Nations**. IWA Publishing. UK. 486 p.

HSU, B.; HUANG, C. (2007). IMS Method performance analyses for *Giardia* in water under differing conditions. **Environmental Monitoring Assessment**. Vol. 137, p.129-134.

HUA, G.; RECKHOW, D.A. (2008). DBP formation during chlorination and chloramination: effect of reaction time, pH, dosage, and temperature. **Journal of American Water Works Association**. Vol.100, n.8, p.82-95.

HUNTER, P.R.; THOMPSON, R.C.A. (2005). The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. **International Journal of Parasitology**. Vol.35, p.1181–1190.

JOLLEY, R.L.; JOHNSON, J.D. (1990). Water Chlorination: the challenge. In: **Water Chlorination: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects**. Vol.6. Lewis Publishers, Inc. Jolley, R.L.; Condie, L.W.; Johnson, J.D.; Katz, S.; Mattice, J.S.; Minear, R.A.; Jacobs, V.A. p. 21-27.

JORDÃO, E.P.; PESSOA, C.A. (2005). **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 4. ed. Rio de Janeiro, p.932.

KEELEY, A.; FAULKNER, B.R. (2008). Influence of land use and watershed characteristics on protozoa contamination in a potential drinking water resources reservoir. **Water Research**, doi:10.1016/j.watres.2008.02.028.

KIM, H.; KWON, S.; HAN, S.; YU, M.; GONG, S.; COLOSIMO, M.F. (2006). New process control strategy for wastewater chlorination and dechlorination using ORP/pH. **Water Science & Technology**. Vol. 53, n. 4-5, p. 431-438.

KOACH, P.D.; OLSON, M.E.; WHITLEY, G.; WALLIS, P.M. (1993). Waterborne *Giardia* Cysts and *Cryptosporidium* Oocysts in the Yukon, Canada. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol.59, nº1, p.67-73.

KOLLER, L.R. (1952). **Ultraviolet Radiation**. New York. John Wiley & Sons, Inc. London. Chapman & Hall, Ltd. 270 p.

KORICH, D.G.; MEAD, J.R.; MADORE, M.S.; SINCLAIR, N.A.; STERLING, C.R. (1990). Effects of Ozone, Chlorine Dioxide, Chlorine and Monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocysts viability. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol.56, n.5, p.1423-1428.

KRAMER, M.H.; QUADE, G.; HARTEMANN, P.; EXNER, M. (2001). Waterborne diseases in Europe 1986-96. **Journal American Water Works Association**. 93:1. p.48-53.

KUZUHARA, F.S.R. (2005). **Desinfecção de esgoto sanitário tratado em sistema de lagoas de estabilização por meio de radiação ultravioleta**. 188p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo.

LABATIUK, C.W.; SCHAEFER III, F.W.; FINCH, G.R.; BELOSEVIC, M. (1991). Comparison of animal infectivity, excystation, and fluorogenic dye as measures of *Giardia muris* cyst inactivation by ozone. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 57, n.11, p.3187-3192.

LADEIA, M.M.; HELLER, L.; VIEIRA, M.B.C.M. (2005). Pesquisa de (oo)cistos de protozoários em amostras de águas de mananciais superficiais de Montes Claros/MG. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 23. 9p. Campo Grande In: **Anais...**, Campo Grande, 2005.

LANGLAIS, B.; RECKHOW, D.A.; BRINK, D.R. (1991). **Ozone in water tretment: application and engineering**. Michigan: Lewis Publishers, 298 p.

LAPOLLI, F.R.; SANTOS, L.F.; HASSENMER, M.E.N.; AISSE, M.M.; PIVELI, R. P. (2003). Desinfecção de Efluentes Sanitários por Meio da Ozonização. In: **Desinfecção de Efluentes Sanitários**. PROSAB 3. Ricardo Franci Gonçalves (coord), p.169-208.

LECHEVALLIER, M.W.; NORTON, W.D.; LEE, G.R. (1991a). Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in Surface Water Supplies. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol.57, nº9, p.2610–2616.

LECHEVALLIER, M.W.; NORTON, W. D.; LEE, G.R. (1991b). *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in Filtered Drinking Water Supplies. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol.57, nº9, p.2617–2621.

LECHEVALLIER, M.W.; NORTON, W.D. (1995). *Giardia* and *Cryptosporidium* in raw and finished water. **Journal of American Water Works Association**. September, p.54-68.

LECHEVALLIER, M.W.; NORTON, W.D.; ATHERHOLT, T.B. (1997). Protozoa in open reservoirs. **Journal of American Water Works Association**. Vol. 89, n.9, p.84-89.

LI, D.; CRIAK, S.A.; SMITH, D.W.; BELOSEVIC, M. (2008). Survival of *Giardia lamblia* trophozoites after exposure to UV light. **Federal of European Microbiological Societies Microbiological Letter**. 278. p. 56-61.

LINDEN, L.G.; SHIN, G.A.M.; FAUBERT, C.; CAIRNS, W.; SOBSEY, M.D. (2002). UV disinfection of *Giardia lamblia* cysts in water. **Environemtal Science and Technology**. Vol. 36. p.2519-2522.

LONIGRO, A.; POLLICE, A.; SPINELLI, R.; BERRILLI, F.; DI CAVE, D.; D’ORAZI, C.; CAVALLO, P.; BRANDONÍSIO, O.(2006). *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in membrane-filtered municipal wastewater used for irrigation. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 72, n.12, p.7916-7918.

LOURENÇÃO, J. (2009). **Avaliação da resistência de microrganismos patogênicos à desinfecção sequencial com Ozônio-radiação ultravioleta e Cloro-radiação ultravioleta**. 140p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos.

MACHADO, E.C.L. (2006). **Ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em águas superficiais na região metropolitana de Recife – PE**. 141p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Pernambuco. Recife – PE.

MACHADO, R.C.; MARCARI, E.L.; CRISTANTE, S.F.V.; CARARETO, C.M.A. (1999). Giardíase e helmintíases em crianças de creches e escolas de 1º e 2º graus (públicas e privadas) da cidade de Mirassol (SP, Brasil). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Vol. 32, n.6, p.697-704.

MASCARINI, L.M.; DONALÍSIO, M.R. (2006). Giardíase e criptosporidiose em crianças institucionalizadas em creches no Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Vol.39, n.6, p.577-579.

McCUIN, R. M., CLANCY, J. L. (2005). Methods for the recovery, isolation and detection of *Cryptosporidium* oocysts in wastewater. **Journal of Microbiological Methods**. V. 63, p.73-88.

MEDEMA, G.J.; BAHAR, M., SCHETS, F.M. (1997). Survival of *Cryptosporidium parvum*, *Escherichia Coli*, *Faecal enterococci* and *Clostridium perfringens* in river water: influence of temperature and autochthonous microorganisms. **Water Science and Technology**. Vol. 35, n.11-12, p.249-252.

MEDEMA, G.J.; SCHETS, F.M.; TEUNIS, P.F.M.; HAVELAAR, A.H. (1998). Sedimentation of Free and Attached *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in Water. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol.64, nº11, p.4460-4466.

MEDEMA, G.J.; SCHIJVEN, J.F. (2001). Modelling the Sewage Discharge and Dispersion of *Cryptosporidium* and *Giardia* in Surface Water. **Water Research**. Vol.35, nº18, p.4307-4316.

METCALF; EDDY, I.N.C. (2003). Disinfection Processes. In: **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4ª ed..New York, McGraw – Hill Inc. p.1217-1343.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (2004). Normas e Padrão de potabilidade das águas destinadas ao consumo humano. **PORTARIA Nº518**. Brasília, Brasil.

MODIFI, A.A.; MEYER, E.A.; WALLIS, P.M.; CHOU, C.I.; MEYER, B.P.; RAMALINGAM, S.; COFFEY, B.M. (2002). The effect of UV light on the inactivation of *Giardia lamblia* and *Giardia muris* cysts as determined by animal infectivity assay (P-2951-01). **Water Research**. Vol. 36, p.2098-2108.

MONACO, P.B. (2006). **Inativação de indicadores patogênicos em sistemas combinados de tratamento e pré-desinfecção de esgoto sanitário**. 136p. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo.

MONIS, P.T.; CACCIO, S.M.; THOMPSON, R.C.A. (2009). Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. **Trends in Parasitology**. Vol. 25, n.2, p.93-100.

MORRIS, R.D.; NAUMOVA, E.N.; LEVIN, R. and MUNASINGHE, R.L. (1996). Temporal variation in drinking water turbidity and diagnosed gastroenteritis in Milwaukee. **American Journal of Public Health**. 86, 237-239.

MOZOUA, S.; CHAUVEHEID, E. (2005). Aerobic spore-forming bacteria for assessing quality of drinking water produced from surface water. **Water Research**. Vol. 39, p. 5186-5198.

NIEMINSKI, E.C.; BELLAMY, W.D.; MOSS, L.R. (2000). Using surrogates to improve plant performance. **Journal American Water Works Association**. 92:3, p.67-78.

NIKOLAOU, A.D; LEKKAS, T.D.; GOLFINOPOULOS, S.K. (2004). Kinetics of the formation and decomposition of chlorination by-products in surface waters. **Chemical Engineering Journal**, vol. 100, p. 139-148.

OGUMA, K.; KATAYAMA, H.; MITANI, H.; MORITA, T.H.; OHGAKI, S. (2001). Determination of Pyrimidine Dimers in *Escherichia coli* and *Cryptosporidium parvum* during UV light inactivation, photoreactivation, and dark repair. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol.67, n.10, p.4630-4637.

OLIVEIRA, S.M.A; VON SPERLING, M. (2005). Avaliação de 166 ETEs em operação no país, compreendendo diversas tecnologias. Parte I – análise de desempenho. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. Vol.10, n.4, p.347-357.

OLVERA, M.; EGUÍA, A.; RODRIGUEZ, O.; CHONG, E.; PILLAI, S.D.; ILANGO VAN, K. (2008). Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water using ultrasonic treatment. **Bioresource Technology**. Vol.99, p.2046-2049.

OSLON, B.H.; STEWART, M. (1990). Factors that change bacterial resistance to disinfection. In: **Water Chlorination: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects**. Vol.6. Lewis Publishers, Inc. Jolley, R.L.; Condie, L.W.; Johnson, J.D.; Katz, S.; Mattice, J.S.; Minear, R.A.; Jacobs, V.A. p. 885-904.

PASSIG, F.H. (2005). **Reator anaeróbio híbrido para tratamento de esgoto sanitário**. 151p. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo.

PAYMENT, P.; FRANCO, E. (1993). *Clostridium perfringens* and Somatic Coliphages as Indicators of the Efficiency of Drinking Water Treatment for Viruses and Protozoan Cysts. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 59, n°8, p. 2418-2424.

PAYMENT, P.; BERTE, A.; PRÉVOST, M.; MÉNARD, B.; BARBEU, B. (2000). Occurrence of pathogenic microorganisms in the Saint Lawrence River (Canada) and comparison of health risks for populations using it as their source of drinking water. **Canada Journal of Microbiology** (46), p.565–576.

PAYMENT, P.; HUNTER, P.R. (2001). Endemic and epidemic infectious intestinal disease and its relationship to drinking water. In: **Water Quality: Guidelines, Standards and Health**. Edited by Lorna Fewtrell and Jamie Bartram. World Health Organization. IWA Publishing. p. 61-88.

RICE, E.W.; HOFF, J.C.; SCHAEFER, F.W. III. (1982). Inactivation of *Giardia* Cysts by Chlorine. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 43, n°1, p.250-251.

RICHTER, C. A., AZEVEDO NETTO, J. M. **Tratamento de água: tecnologia atualizada**. São Paulo: Edgard Blücher LTDA, 1991.

ROBERTSON, L.J.; PATON, C.A.; CAMPBELL, A.T.; SMITH, P.G.; JACKSON, M.H.; GILMOUR, R.A.; BLACK, S.E.; STEVENSON, D.A., SMITH, H.V. (2000). *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts at sewage treatment works in Scotland, UK. **Water Research**. Vol. 34, n.8, p.2310-2322.

ROBERTSON, L.J.; HERMANSEN, L.; GJERDE, B.K. (2006). Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in Sewage in Norway. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol.72, n°8, p.5297–5303.

ROSE, J.B.; HAAS, C.N.; REGLI, S. (1991). Risk Assessment and Control of Waterborne Giardiasis. **American Journal of Public Health**. Vol. 81, n°6, p.709-713.

ROSE, J.B., DICKSON, L.J.; FARRAH, S.R.; CARNAHAN, R.P. (1996). Removal of pathogenic and indicator microorganisms by a full-scale water reclamation facility. **Water Research**. Vol. 30, n.11, p.2785-2797.

ROSE, J.B. (2007). Water reclamation, reuse and public health. **Water Science & Technology**. Vol.55, n°1-2, p.275–282.

RYU, H.; MENA, K.D.; ABBASZADEGAN, M. (2007). Assessment of the risk of infection by *Cryptosporidium* and *Giardia* in non-potable reclaimed water. **Water Science & Technology**. Vol.55, nº1-2, p.283–290.

SAGAYAR, M.I.T.L. (1997). *Giardia lamblia*. In: **Parasitologia Humana**. 9.ed. Ed. Atheneu. David Pereira Neves, Alan Lane de Melo, Odair Genaro, Pedro Marcos Linardi. p.124-132.

SANTOS, L.U. (2007). **Ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. em uma Estação de Tratamento de Esgoto: avaliação das eficiências do processo de lodo ativado na remoção e de desinfecção por luz ultravioleta na inativação desses patógenos**. 132p. Tese (Doutorado). Instituto de Biologia – Universidade Estadual de Campinas – Unicamp – SP.

SANTOS, L.U.; BONATTI, T.R.; CANTUSIO NETO, R.; FRANCO, R.M.B. (2004). Occurance of *Giardia* Cysts and *Cryptosporidium* Oocysts In Activated Sludge Samples In Campinas, SP, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. 46(6): 309-313.

SANTOS, L.U.; CANTUSIO NETO, R.; FRANCO, R.M.B. (2008). Protozoários patogênicos de veiculação hídrica: as metodologias de detecção em amostras de esgoto e a eficiência dos tratamentos de remoção e desinfecção. **Higiene Alimentar**. Edição Temática. Vol. 22. p.22-28.

SARTORI, L. (2004). **Adequação da qualidade microbiológica de efluentes de tratamento secundário de esgoto sanitário pela aplicação dos desinfetantes, ozônio, permanganato de potássio e ácido peracético**. 200p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo.

SARTORI, L. (2007). Relatório de Pesquisa de Pós-Doutorado. **Avaliação da presença de microrganismos patogênicos no rio Monjolinho (SP) e a resistência aos desinfetantes combinados ozônio-radiação ultravioleta, ácido peracético-radiação ultravioleta e cloro-radiação ultravioleta**. p. 71.

SAVICHTCHEVA, O.; OKABE, S. (2006). Alternative indicators of fecal pollution: Relations with pathogens and conventional indicators, current methodologies for direct pathogen monitoring and future application perspectives. **Water Research**. Vol. 40, p. 2463-2476.

SAWYER, C.N.; McCARTY, P.L.; PARKIN, G.F. (2003). **Chemistry for Environmental Engineering and Science**. 5th Edition. 752p.

SCHETS, F.M.; VAN WIJNEN, J.H.; SCHIJVEN, J.F.; SCHOON, H.; DE RODA HUSMAN, A.M. (2008). Monitoring of waterborne pathogens in surface waters in Amsterdam, The Netherlands, and the potential health risk associated with exposure to *Cryptosporidium* and *Giardia* in these waters. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol.74, n.7, p.2069-2078.

SINCERO, A.P. & SINCERO, G. A. (2003). **Physical – Chemical Treatment of Water and Wastewater**. IWA Publishing. CRC Press, Londres.

SILVA, S.S. (2007). **Aplicação de radiação UV para desinfecção de efluente da associação de reator UASB e biofiltro aerado submerso**. 149 p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo.

SNOEYINK, V.L.; JENKINS, D. (1980). **Water Chemistry**. John Wiley & Sons, New York. p. 463.

SOARES, L.V. (2007). **Ozonização de esgoto sanitário: estudo da hidrodinâmica, transferência de massa e inativação de microrganismos indicadores**. 249p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo.

SOMMER, R.; CABAJ, A.; HIRSCHMANN, G.; HAIDER, T. (2008). Disinfection of drinking water by UV irradiation: basic principles – specific requirements – international implementations. **Ozone: Science and Engineering**. Vol.30. p.43-48.

SOUSA, J. B. (2000). **Desinfecção de águas com cor e turbidez elevada: comparação técnica de processos alternativos ao cloro empregando radiação ultravioleta e ácido peracético**. 148p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos.

STANDRIDGE, J. (2008). E. coli as a public health indicator of drinking water quality. **Journal of American Water Works Association**. 100:2, p. 65-75.

SYKORA, J.L.; SORBER, C.A.; JAKUBOWSKI, W.; CASSON, L.W.; GAVAGHAN, P.D.; SHAPIRO, M.A.; SCHOTT, M.J. (1991). Distribution of *Giardia* cysts in Wastewater. **Water Science & Technology**. Vol. 24, nº2, p.187-192.

TALLON, P.; MAGAJNA, B.; LOFRANCO, C.; LEUNG, K.T. (2005). Microbial Indicators of Faecal contamination in water: a current perspective. **Water, Air and Soil Pollution**. 166: 139-166.

TREE, J.A.; ADAMS, M.R.; LEES, D.N. (2003). Chlorination of indicator bacteria and viruses in primary sewage effluent. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 69, n.4, p. 2038-2043.

TZIPORI, S.; WIDMER, G. (2008). A hundred-year retrospective on cryptosporidiosis. **Trends in Parasitology**. Vol.24, n.4, p.184-189.

USEPA – U.S. Environmental Protection Agency (1996). **Ultraviolet Light Disinfection Technology in Drinking Water Application – An Overview**. EPA 811-R-96-002. Office of Ground Water and Drinking Water.

USEPA – U.S. Environmental Protection Agency (1998). **Giardia: Human Health Criteria Document**. August. EPA-823-R-002.

USEPA – U. S. Environmental Protection Agency (1999). **Alternative disinfectants and oxidants guidance manual**. New York, USA.

USEPA - U. S. Environmental Protection Agency (2005). **Method 1623: Cryptosporidium and Giardia in water by filtration/ IMS/FA**. December. EPA 815-R-05-002.

USEPA – U.S. Environmental Protection Agency (2006). **Ultraviolet Disinfection Guidance Manual for the final long term 2 enhanced surface water treatment rule**. November. EPA 815-R-06-007.

VENKOBACHAR, C.; IYENGAR, L; RAO, A.V.S. (1977). Mechanism of disinfection: effect of chlorine on cell membrane functions. **Water Research**. Vol.11, p. 727-729.

VESEY, G.; SLADE, J.S.; BYRNE, M.; SHEPHERD, H.; FRICKER, C.R. (1993). A new method for the concentration of *Cryptosporidium* oocysts from water. **Journal Applied Bacteriology**. Vol.75, p.82-86.

WANG, L.; HU, H.; WANG, C. (2007). Effect of ammonia nitrogen and dissolved organic matter fractions on the genotoxicity of wastewater effluent during chlorine disinfection. **Environmental Science & Technology**. Vol. 41.n.1; p. 160-165.

WEF - WATER ENVIRONMENT FEDERATION (1996). **Wasterwater Disinfection: Manual of Praticce**.

WEN, Q.; TUTUKA, C.; KEEGAN, A., JIN, B. (2009). Fate of pathogenic microorganisms

and indicators in secondary activated sludge wastewater treatment plants. **Journal of Environmental Management**. Vol. 90, p.1442-1447.

WHITE, G.C. (1972). **Handbook of Chlorination**. Van Nostrand Reinhold Company Inc, 744p.

WHITE, G.C. (1999). **Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants**. 4th edition, John Wiley & Sons Inc. New York.

WHO (2004). **Water Treatment and Pathogen Control**. LeChevallier, M.W. & Au, K.K. IWA Publishing.

WHO (2006). **WHO: Guidelines for drinking water quality**. Vol1. Recommendations. Edited by: Geneva. World Health Organization, 2006.

WICKRAMANAYAKE, G.B.; RUBIN, A.J.; SPROUL, O.J. (1984). Inactivation of *Giardia lamblia* Cysts with Ozone. **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 48, n°3, p.671-672.

WOLFE, M.S. (1992). Giardiasis. **Clinical Microbiology Reviews**. Vol.5, n°1, p.93–100.

WU, J.; DOAN, H. (2005). Disinfection of recycled red-meat-processing wastewater by ozone. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. Vol. 80, p.828-833.

XIAO, L.; FAYER, R.; RYAN, U.; UPTON, S.J. (2004). *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent **Advances and Implications for Public Health**. Clinical Microbiology Reviews. Vol. 17, n.1, p.72-97.

XU, P.; JANEX, M.L.; SAVOYE, P.; COCKX, A.; LAZAROVA, V. (2002). Wastewater disinfection by ozone: main parameters for process design. **Water Research**. Vol. 36, p.1043-1055.

YU, R.F.; CHENG, W.P. (2003). Determination of chlorine demand in water and wastewater chlorination by oxidation-reduction potencial. **Water Science & Technology: Water Supply**. Vol. 3, n. 1-2, p. 313-320.

YU, R.F (2004). Feed-forward dose control of wastewater chlorination using on-line pH and ORP titration. **Chemosphere**. Vol. 56, p.973-980.

YU, R.F.; CHEN, H.W.; CHENG, W.P.; SHEN, Y.C. (2008). Dynamic control of disinfection for wastewater reuse applying ORP/pH monitoring and artificial neural networks. **Resources, Conservation & Recycling**. Vol. 52, p. 1015-1021.

ZARPELON, A., RODRIGUES, E. M. **Os trihalometanos na água de consumo humano**. Sanare: Revista técnica da Sanepar. Disponível em: <<http://www.sanepar.com.br/sanepar/sanare/v17/TRIHALOMETANOS.htm>>. Acesso em: 18 out 2008.

9 – APÊNDICE

Tabela A1 – Caracterização física e química do esgoto afluente e efluente ao reator UASB - Avaliações 1 e 2.

Parâmetros	Avaliação 1		Avaliação 2	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
T (°C)	22	21	24	24
pH	6,50	6,52	6,97	4,03
AT (mg CaCO ₃ /L)	127	210	222	0
AP (mg CaCO ₃ /L)	59	120	129	0
AI/AP	1,15	0,75	0,72	0
DQO (mg/L)	566	249	821	409
DQO filtrada (mg/L)	365	191	454	354
DQO particulada (mg/L)	201	58	367	55
ST (mg/L)	585	664	946	652
SST (mg/L)	186	33	214	21
SDT (mg/L)	399	631	732	631

Notas: T: temperatura; AT: alcalinidade total; AP: alcalinidade parcial; AI: alcalinidade intermediária; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais.

Tabela A2 – Caracterização física e química do esgoto afluente e efluente ao reator UASB - Avaliações 3 e 4.

Parâmetros	Avaliação 3		Avaliação 4	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
T (°C)	22	21	22	22
pH	7,39	7,20	6,70	7,08
AT (mg CaCO ₃ /L)	329	264	141	272
AP (mg CaCO ₃ /L)	205	156	64	155
AI/AP	0,60	0,69	1,20	0,75
DQO (mg/L)	433	352	1705	417
DQO filtrada (mg/L)	356	253	203	311
DQO particulada (mg/L)	77	99	1502	106
ST (mg/L)	388	419	1169	431
SST (mg/L)	102	62	901	78
SDT (mg/L)	286	357	268	353

Notas: T: temperatura; AT: alcalinidade total; AP: alcalinidade parcial; AI: alcalinidade intermediária; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais.

Tabela A3 – Caracterização física e química do esgoto afluyente e efluente ao reator UASB - Avaliações 5 e 6.

Parâmetros	Avaliação 5		Avaliação 6	
	Afluyente	Efluente	Afluyente	Efluente
T (°C)	18	17	21	21
pH	6,75	7,15	6,90	7,26
AT (mg CaCO ₃ /L)	226	282	142	265
AP (mg CaCO ₃ /L)	90	172	85	167
AI/AP	1,51	0,64	0,67	0,59
DQO (mg/L)	1845	341	422	345
DQO filtrada (mg/L)	1646	247	184	238
DQO particulada (mg/L)	199	94	238	107
ST (mg/L)	1565	349	392	352
SST (mg/L)	386	82	103	31
SDT (mg/L)	1179	267	289	321

Notas: T: temperatura; AT: alcalinidade total; AP: alcalinidade parcial; AI: alcalinidade intermediária; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais.

Tabela A4 – Caracterização física e química do esgoto afluyente e efluente ao reator UASB - Avaliações 7 e 8.

Parâmetros	Avaliação 7		Avaliação 8	
	Afluyente	Efluente	Afluyente	Efluente
T (°C)	21	20	20	19
pH	7,19	7,09	6,92	6,88
AT (mg CaCO ₃ /L)	168	226	108	171
AP (mg CaCO ₃ /L)	115	139	66	91
AI/AP	0,46	0,63	0,64	0,88
DQO (mg/L)	490	292	341	346
DQO filtrada (mg/L)	195	201	172	284
DQO particulada (mg/L)	295	91	169	62
ST (mg/L)	422	288	330	286
SST (mg/L)	193	63	98	62
SDT (mg/L)	229	225	232	224

Notas: T: temperatura; AT: alcalinidade total; AP: alcalinidade parcial; AI: alcalinidade intermediária; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais.

Tabela A5 – Resultados dos ensaios I e II com aplicação de radiação UV.

Parâmetros	Ensaio I			Ensaio II	
	EB ₁	UV1	UV2	EB ₂	UV1
Temperatura (°C)	24			21	
pH	6,86	6,88	6,94	6,71	6,97
ORP (mV)	-378	-360,4	-349,6	-390,8	-252
AT (mg CaCO ₃ /L)	182	183	182	258	256
DQO (mg/L)	542	453	467	585	615
DQO _{filt} (mg/L)	239	230	236	305	301
ST (mg/L)	434	658	420	550	639
SST (mg/L)	111	127	99	183	205
SDT (mg/L)	323	531	321	367	434
N-NH ₃ (mg/L)	39	55	47	40	72
Abs 254 nm	0,759	0,832	0,828	0,996	0,999
Coliformes Totais (UFC/mL)	5 x 10 ⁵	5 x 10 ²	10 ¹	1,4 x 10 ⁵	3
<i>E. coli</i> (UFC/mL)	4 x 10 ⁴	10 ¹	<1	2 x 10 ⁴	<1
<i>C. perfringens</i> (UFC/100 mL)	2,1 x 10 ⁴	1 x 10 ²	2 x 10 ²	2,8 x 10 ⁴	4 x 10 ²
<i>Giardia</i> spp. (% viável)	nd	nd	nd	55	53
<i>Cryptosporidium</i> spp. (%viável)	nd	nd	nd	nd	nd

Notas: EB: esgoto efluente do reator UASB; UV1: esgoto desinfetado com 2,5 Wh.m⁻³; UV2: esgoto desinfetado com 6,1 Wh.m⁻³; AT: alcalinidade total; ORP: potencial de oxi-redução; DQO_{filt}: DQO filtrada; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; N-NH₃: Nitrogênio amoniacal; Abs 254nm: absorvância em comprimento de onda 254nm; UFC: unidade formadora de colônia; nd: não detectada a presença de (oo)cisto.

Tabela A6 – Resultados dos ensaios III e IV com aplicação de radiação UV.

Parâmetros	Ensaio III		Ensaio IV		
	EB ₃	UV1	EB ₄	UV1	UV2
Temperatura (°C)	21				
pH	6,52	6,84	7,16	7,23	7,23
ORP (mV)	-393,6	-207	-226	-317	-279,8
AT (mg CaCO ₃ /L)	237	237	237	236	221
DQO (mg/L)	599	567	384	389	403
DQO _{filt} (mg/L)	279	261	173	179	203
ST (mg/L)	675	602	500	554	514
SST (mg/L)	200	155	91	98	93
SDT (mg/L)	475	447	409	456	421
N-NH ₃ (mg/L)	69	63	55	55	53
Abs 254 nm	0,929	0,937	0,718	0,715	0,711
Coliformes Totais (UFC/mL)	9 x 10 ⁴	6,1 x 10 ¹	6,6 x 10 ⁴	2,1 x 10 ¹	2
<i>E. coli</i> (UFC/mL)	2,7x10 ⁴	5	2,3 x 10 ⁴	<1	<1
<i>C. perfringens</i> (UFC/100 mL)	5 x 10 ⁴	1,6 x 10 ³	2,1 x 10 ⁴	1,2 x 10 ³	2 x 10 ²
<i>Giardia</i> spp. (% viável)	nd	nd	67	67	52
<i>Cryptosporidium</i> spp. (% viável)	nd	nd	100	nd	nd

Notas: EB: esgoto efluente do reator UASB; UV1: esgoto desinfetado com 2,5 Wh.m⁻³; UV2: esgoto desinfetado com 6,1 Wh.m⁻³; AT: alcalinidade total; ORP: potencial de oxi-redução; DQO_{filt}: DQO filtrada; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; N-NH₃: Nitrogênio amoniacal; Abs 254nm: absorvância em comprimento de onda 254nm; UFC: unidade formadora de colônia; nd: não detectada a presença de (oo)cisto.

Tabela A7– Resultados dos ensaios V e VI com aplicação de radiação UV.

Parâmetros	Ensaio V			Ensaio VI		
	EB ₅	UV1	UV2	EB ₆	UV1	UV2
Temperatura (°C)						
pH	6,99	7,03	7,14	6,78	7,4	7,39
ORP (mV)	-170,4	-187	-186	-232	-147,9	-142,6
AT (mg CaCO ₃ /L)	221	267	270	179	180	179
DQO (mg/L)	420	413	444	239	231	217
DQO _{filt} (mg/L)	200	208	222	38	46	46
ST (mg/L)	499	473	473	425	379	384
SST (mg/L)	112	93	92	131	99	102
SDT (mg/L)	387	380	381	294	280	282
N-NH ₃ (mg/L)	60	57	57	34	35	34
Abs 254 nm	0,799	0,812	0,813	0,636	0,653	0,629
Coliformes Totais (UFC/mL)	2,5 x 10 ⁴	2,2 x 10 ¹	<1	5 x 10 ⁴	1,2 x 10 ¹	<1
<i>E. coli</i> (UFC/mL)	3 x 10 ³	2	<1	1,6 x 10 ⁴	1	<1
<i>C. perfringens</i> (UFC/100 mL)	2,2 x 10 ⁴	5 x 10 ²	4 x 10 ²	7,9 x 10 ³	1 x 10 ³	4 x 10 ²
<i>Giardia</i> spp. (% viável)	75	53	61	57	64	56
<i>Cryptosporidium</i> spp. (% viável)	nd	nd	33	75	50	nd

Notas: EB: esgoto efluente do reator UASB; UV1: esgoto desinfetado com 2,5 Wh.m⁻³; UV2: esgoto desinfetado com 6,1 Wh.m⁻³; AT: alcalinidade total; ORP: potencial de oxi-redução; DQO_{filt}: DQO filtrada; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; N-NH₃: Nitrogênio amoniacal; Abs 254nm: absorvância em comprimento de onda 254nm; UFC: unidade formadora de colônia; nd: não detectada a presença de (oo)cisto.

Tabela A8 – Dose aplicada e recebida durante os ensaios com radiação UV.

Ensaio	Abs 254 nm	Lâmina (cm)	Im	Tempo (s)	D _A	D _{AV}	D _R	D _{RV}
I	0,759	3,0	0,637	42	142,33	13,18	26,8	2,5
	0,759	2,7	0,646	84	282,24	29,04	59,3	6,1
II	0,996	3,0	0,488	55	185,97	17,22	26,8	2,5
III	0,929	3,0	0,523	52	173,57	16,07	27,2	2,5
IV	0,718	3,0	0,673	40	134,87	12,49	26,9	2,5
	0,718	2,7	0,747	80	268,80	27,66	59,5	6,1
V	0,799	3,0	0,606	45	149,64	13,86	27,3	2,5
	0,799	2,7	0,661	90	302,40	31,11	60,4	6,1
VI	0,636	3,0	0,755	36	120,12	11,12	27,2	2,5
	0,636	2,7	0,813	72	241,92	24,89	60,0	6,1

Notas: Abs: absorvância; D_R: dose recebida (mWs/cm²); D_{RV}: dose recebida por volume (Wh/m³); Im: intensidade média de radiação ultravioleta (mW/cm²); D_A: dose aplicada (mWs/cm²); D_{AV}: dose aplicada por volume (Wh/m³).

Tabela A9 – Resultados obtidos no ensaio I (Cloro e cloro - radiação ultravioleta)

Ensaio I [10 mg Cloro /L; 10 minutos]				
Parâmetros	EB	EC	EC-UV1	EC-UV2
Temperatura (°C)	24			
pH	6,86	6,62	6,97	7,02
ORP (mV)	-378	-187,5	-148	-146,7
AT (mg CaCO ₃ /L)	182	183	181	179
DQO (mg/L)	542	572	551	567
DQO _{filt} (mg/L)	239	232	230	220
ST (mg/L)	434	657	512	746
SST (mg/L)	111	147	155	333
SDT (mg/L)	323	510	357	413
N-NH ₃ (mg/L)	39	33	44	59
Abs 254 nm	0,759	0,903	0,839	0,814
CRL (mg/L)		1,91		
CRT (mg/L)		2,9		
Coliformes Totais (UFC/mL)	5 x 10 ⁵	5 x 10 ²	<1	1
<i>E. coli</i> (UFC/mL)	4 x 10 ⁴	<1	<1	<1
<i>C. perfringens</i> (UFC/100 mL)	2,1 x 10 ⁴	2 x 10 ⁴	7 x 10 ²	7 x 10 ²

Notas: EB: esgoto efluente do reator UASB; EC: esgoto clorado; EC-UV1: desinfecção sequencial – cloro seguido de UV1 (2,5 Wh.m⁻³); EC-UV2: desinfecção sequencial – cloro seguido de UV2 (6,1 Wh.m⁻³); AT: alcalinidade total; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; N-NH₃: Nitrogênio amoniacal; Abs 254nm: absorvância em comprimento de onda 254nm; CRL: cloro residual livre; CRT: cloro residual total; ORP: potencial de oxi-redução.

Não foram visualizados (oo)cistos de *Giardia* e *Cryptosporidium*.

Tabela A10 – Resultados obtidos no ensaio II (Cloro e cloro - radiação ultravioleta)

Ensaio II [10 mg Cloro /L; 10 minutos]			
Parâmetros	EB	EC	EC-UV1
Temperatura (°C)			
pH	6,71	6,77	6,87
ORP (mV)	-390,8	-238,8	-206
AT (mg CaCO ₃ /L)	258	246	252
DQO (mg/L)	585	637	612
DQO _{filt} (mg/L)	305	306	317
ST (mg/L)	550	757	726
SST (mg/L)	183	153	141
SDT (mg/L)	367	604	585
N-NH ₃ (mg/L)	40	69	77
Abs 254 nm	0,996	0,997	1,014
CRL (mg/L)		1,02	0,14
CRT (mg/L)		1,56	0,17
Coliformes Totais (UFC/mL)	1,4 x 10 ⁵	7	<1
<i>E. coli</i> (UFC/mL)	2 x 10 ⁴	<1	<1
<i>C. perfringens</i> (UFC/100 mL)	2,8 x 10 ⁴	8 x 10 ³	3,2 x 10 ²
<i>Giardia</i> spp. (% viável)	55	45	32

Notas: EB: esgoto efluente do reator UASB; EC: esgoto clorado; EC-UV1: desinfecção seqüencial – cloro seguido de UV1(2,5 Wh.m⁻³); AT: alcalinidade total; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; N-NH₃: Nitrogênio amoniacal; Abs 254nm: absorvância em comprimento de onda 254nm; CRL: cloro residual livre; CRT: cloro residual total; ORP: potencial de oxi-redução.

Não foi visualizado oocisto de *Cryptosporidium*.

Tabela A11 – Resultados obtidos no ensaio III (Cloro e cloro - radiação ultravioleta)

Ensaio III [10 mg Cloro /L; 20 minutos e 20 mg Cloro /L; 10 minutos]					
Parâmetros	EB	EC [10;20]	EC [10;20] UV1	EC [20;10]	EC [20;10] UV1
Temperatura (°C)	21				
pH	6,52	6,58	6,76	6,44	6,67
ORP (mV)	-393,6	-239,3	-220,6	-186,4	-181,1
AT (mg CaCO ₃ /L)	237	220	227	195	226
DQO (mg/L)	599	511	534	615	541
DQO _{filt} (mg/L)	279	279	272	287	267
ST (mg/L)	675	889	722	1157	822
SST (mg/L)	200	137	134	139	125
SDT (mg/L)	475	752	588	1018	697
N-NH ₃ (mg/L)	69	58	63	62	61
Abs 254 nm	0,929	0,829	0,853	0,908	0,869
CRL (mg/L)		0,07		4,42	0,04
CRT (mg/L)		0,16		4,5	0,1
Coliformes Totais (UFC/mL)	9 x 10 ⁴	<1	<1	<1	<1
<i>E. coli</i> (UFC/mL)	2,7x10 ⁴	<1	<1	<1	<1
<i>C. perfringens</i> (UFC/100 mL)	5 x 10 ⁴	2,9 x 10 ⁴	2,4 x 10 ³	1 x 10 ⁴	9 x 10 ¹
<i>Giardia</i> spp. (% viável)	nd	nd	nd	49	48
<i>Cryptosporidium</i> spp. (% viável)	nd	nd	nd	75	40

Notas: EB: esgoto efluente do reator UASB; EC [10;20]: esgoto clorado com 10mg.L⁻¹ por 20 minutos; EC [20;10]: esgoto clorado com 20mg.L⁻¹ por 10 minutos; EC [10;20]-UV1: desinfecção sequencial – esgoto clorado com 10mg.L⁻¹ por 20 minutos seguido de UV1(2,5 Wh.m⁻³); EC [20;10]-UV1: desinfecção sequencial – esgoto clorado com 20mg.L⁻¹ por 10 minutos seguido de UV1(2,5 Wh.m⁻³); AT: alcalinidade total; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; N-NH₃: Nitrogênio amoniacal; Abs 254nm: absorvância em comprimento de onda 254nm; CRL: cloro residual livre; CRT: cloro residual total; ORP: potencial de oxi-redução; nd: não detectada a presença de (oo)cisto.

Tabela A12 – Resultados obtidos no ensaio IV (Cloro e cloro - radiação ultravioleta).

Ensaio IV [10 mg Cloro /L; 20 minutos]				
Parâmetros	EB	EC	EC-UV1	EC-UV2
Temperatura (°C)				
pH	7,16	7,27	7,39	7,47
ORP (mV)	-226	-155,6	-143,1	12,8
AT (mg CaCO ₃ /L)	237	237	234	245
DQO (mg/L)	384	386	416	388
DQO _{filt} (mg/L)	173	180	175	172
ST (mg/L)	500	590	604	653
SST (mg/L)	91	89	90	113
SDT (mg/L)	409	501	514	540
N-NH ₃ (mg/L)	55	53	51	58
Abs 254 nm	0,718	0,741	0,702	0,737
CRL (mg/L)		0,39		0,18
CRT (mg/L)		2,53		1,05
Coliformes Totais (UFC/mL)	6,6 x 10 ⁴	9 x 10 ¹	1,6 x 10 ¹	1
<i>E. coli</i> (UFC/mL)	2,3 x 10 ⁴	<1	<1	<1
<i>C. perfringens</i> (UFC/100 mL)	2,1 x 10 ⁴	2 x 10 ³	1 x 10 ²	1 x 10 ²
<i>Giardia</i> spp. (% viável)	67	67	55	53
<i>Cryptosporidium</i> spp. (% viável)	100	nd	nd	nd

Notas: EB: esgoto effluente do reator UASB; EC: esgoto clorado; EC-UV1: desinfecção seqüencial – cloro seguido de UV1(2,5 Wh.m⁻³); EC-UV2: desinfecção seqüencial – cloro seguido de UV2 (6,1 Wh.m⁻³); AT: alcalinidade total; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; N-NH₃: Nitrogênio amoniacal; Abs 254nm: absorbância em comprimento de onda 254nm; CRL: cloro residual livre; CRT: cloro residual total; ORP: potencial de oxi-redução; nd: não detectada a presença de (oo)cisto.

Tabela A13 – Resultados obtidos no ensaio V (Cloro e cloro - radiação ultravioleta).

Ensaio V [20mg de Cloro /L; 10 minutos]				
Parâmetros	EB	EC	EC-UV1	EC-UV2
Temperatura (°C)				
pH	6,99	6,84	7,09	7,17
ORP (mV)	-170,4	-154,9	-162	-161
AT (mg CaCO ₃ /L)	221	261	256	257
DQO (mg/L)	420	439	444	451
DQO _{filt} (mg/L)	200	203	204	215
ST (mg/L)	499	700	681	645
SST (mg/L)	112	109	127	100
SDT (mg/L)	387	591	554	545
N-NH ₃ (mg/L)	60	59	58	51
Abs 254 nm	0,799	0,772	0,787	0,805
CRL (mg/L)		1,8	0,35	0,57
CRT (mg/L)		6,64	5,5	5,34
Coliformes Totais (UFC/mL)	2,5 x 10 ⁴	<1	<1	<1
<i>E. coli</i> (UFC/mL)	3 x 10 ³	<1	<1	<1
<i>C. perfringens</i> (UFC/100 mL)	2,2 x 10 ⁴	1,8 x 10 ³	10 ¹	<1
<i>Giardia</i> spp. (% viável)	75	52	50	55
<i>Cryptosporidium</i> spp. (% viável)	nd	75	40	nd

Notas: EB: esgoto effluente do reator UASB; EC: esgoto clorado; EC-UV1: desinfecção sequencial – cloro seguido de UV1(2,5 Wh.m⁻³); EC-UV2: desinfecção sequencial – cloro seguido de UV2 (6,1 Wh.m⁻³); AT: alcalinidade total; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; N-NH₃: Nitrogênio amoniacal; Abs 254nm: absorvância em comprimento de onda 254nm; CRL: cloro residual livre; CRT: cloro residual total; ORP: potencial de oxi-redução; nd: não detectada a presença de (oo)cisto.

Tabela A14 – Resultados obtidos com ozônio no ensaio VI – 11 mg O₃.L⁻¹; 10 minutos - e sequencial (ozônio-irradiação ultravioleta).

Variável	EB	EO	EO-UV1	EO-UV2
Temperatura (°C)	20			
pH	6,78	8,04	8,29	8,29
ORP (mV)	-232	-183	-160,1	-122,6
Alcalinidade Total (mg CaCO ₃ /L)	179	170	172	172
DQO (mg/L)	239	161	152	162
DQO filtrada (mg/L)	38	61	57	60
ST (mg/L)	425	345	257	222
SST (mg/L)	131	53	62	36
SDT (mg/L)	294	292	195	186
N-NH ₃ (mg/L)	34	34	34	34
Abs 254 nm	0,636	0,443	0,438	0,439
[O ₃] _R (mg O ₃ /L)		0,0		
[O ₃] _{off-gás} (mg O ₃ /L)		0,43		
C* (mg O ₃ /L)		10,57		
Coliformes Totais (UFC/mL)	5 x 10 ⁴	4,8 x 10 ⁴	1	1
<i>E. coli</i> (UFC/mL)	1,6 x 10 ⁴	<1	<1	<1
<i>Clostridium perfringens</i> (UFC/100 mL)	7,9 x 10 ³	1,7 x 10 ³	8 x 10 ¹	<1
<i>Giardia</i> spp. (% viável)	57	50	75	50
<i>Cryptosporidium</i> spp. (% viável)	75	nd	100	50

Notas: EB: esgoto efluente do reator UASB; EO: esgoto ozonizado; EO-UV1: desinfecção sequencial – ozônio seguido de UV1; EO-UV2: desinfecção sequencial – ozônio seguido de UV2; ORP: potencial de oxi-redução; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; N-NH₃: Nitrogênio amoniacal; Abs 254nm: absorvância em comprimento de onda 254nm; [O₃]_R: concentração de ozônio residual; [O₃]_{off-gás}: concentração de ozônio no off-gás; C*: concentração de ozônio consumida; UFC: unidade formadora de colônia; nd: não detectada a presença de oocisto.

Tabela A15 – Resultados obtidos com ozônio no ensaio VII – 11,7 mg O₃.L⁻¹; 20 minutos – e sequencial (ozônio-radiação ultravioleta).

Variável	EB	EO	EO-UV1	EO-UV2
Temperatura (°C)	20			
pH	6,78	8,33	8,34	8,38
ORP (mV)	-232	-103,9	-95,3	-97,7
Alcalinidade Total (mg CaCO ₃ /L)	179	171	170	168
DQO (mg/L)	239	126	131	119
DQO filtrada (mg/L)	38	68	80	56
ST (mg/L)	425	200	215	351
SST (mg/L)	131	23	26	18
SDT (mg/L)	294	177	189	333
N-NH ₃ (mg/L)	34	34	35	35
Abs 254 nm	0,636	0,319	0,344	0,336
[O ₃] _R (mg O ₃ /L)		0,0		
[O ₃] _{off-gás} (mg O ₃ /L)		4,01		
C (mgO ₃ /L)		7,69		
Coliformes Totais (UFC/mL)	5 x 10 ⁴	<1	<1	<1
<i>E. coli</i> (UFC/mL)	1,6 x 10 ⁴	<1	<1	<1
<i>Clostridium perfringens</i> (UFC/ 100 mL)	7,9 x 10 ³	7 x 10 ²	1 x 10 ²	<1
<i>Giardia</i> spp. (% viável)	57	100	80	nd
<i>Cryptosporidium</i> spp. (% viável)	75	50	50	nd

Notas: EB: esgoto efluente do reator UASB; EO: esgoto ozonizado; EO-UV1: desinfecção sequencial – ozônio seguido de UV1; EO-UV2: desinfecção sequencial – ozônio seguido de UV2; ORP: potencial de oxi-redução; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; N-NH₃: Nitrogênio amoniacal; Abs 254nm: absorvância em comprimento de onda 254nm; [O₃]_R: concentração de ozônio residual; [O₃]_{off-gás}: concentração de ozônio no off-gás; C*: concentração de ozônio consumida; UFC: unidade formadora de colônia; nd: não detectada a presença de (oo)cisto.

Tabela A16 – Resultados obtidos com ozônio no ensaio VIII – 16,5 mg O₃.L⁻¹; 30 minutos – e sequencial (ozônio-irradiação ultravioleta).

Variável	EB	EO	EO-UV1	EO-UV2
Temperatura (°C)	20			
pH	6,78	7,59	7,82	7,8
ORP (mV)	-232	-74,3	-79,7	-71,5
Alcalinidade Total (mg CaCO ₃ /L)	179	175	176	173
DQO (mg/L)	239	194	190	193
DQO filtrada (mg/L)	38	66	74	67
ST (mg/L)	425	368	306	289
SST (mg/L)	131	72	56	46
SDT (mg/L)	294	296	250	243
N-NH ₃ (mg/L)	34	34	36	37
Abs 254 nm	0,636	0,469	0,509	0,504
[O ₃] _R (mg O ₃ /L)		0,0		
[O ₃] _{off-gás} (mg O ₃ /L)		0,0		
C (mgO ₃ /L)		16,5		
Coliformes Totais (UFC/mL)	5 x 10 ⁴	1,4 x 10 ²	2	<1
<i>E. coli</i> (UFC/mL)	1,6 x 10 ⁴	2	<1	<1
<i>Clostridium perfringens</i> (UFC/ 100 mL)	7,9 x 10 ³	2,5 x 10 ³	4 x 10 ²	2 x 10 ²
<i>Giardia</i> spp. (% viável)	57	nd	90	100
<i>Cryptosporidium</i> spp. (% viável)	75	nd	100	100

Notas: EB: esgoto efluente do reator UASB; EO: esgoto ozonizado; EO-UV1: desinfecção sequencial – ozônio seguido de UV1; EO-UV2: desinfecção sequencial – ozônio seguido de UV2; ORP: potencial de oxi-redução; ST: sólidos totais; SST: sólidos suspensos totais; SDT: sólidos dissolvidos totais; N-NH₃: Nitrogênio amoniacal; Abs 254nm: absorvância em comprimento de onda 254nm; [O₃]_R: concentração de ozônio residual; [O₃]_{off-gás}: concentração de ozônio no off-gás; C*: concentração de ozônio consumida; UFC: unidade formadora de colônia; nd: não detectada a presença de (oo)cisto.

Tabela A17 – Número de (oo)cistos contabilizados nos wells para inferir viabilidade aos ensaios de desinfecção com cloro, ozônio, UV e sequenciais (Cl-UV e O₃-UV).

Ensaio	Amostra	<i>Giardia</i> spp.			<i>Cryptosporidium</i> spp.		
		PI -	PI +	% Viável	PI -	PI +	% Viável
II	EB	41	33	55			
	EC	37	45	45			
	EB-UV1	31	66	32			
	UV1	19	17	53			
III	EC[20;10]	105	110	49	3	1	75
	EC[20;10]-UV1	141	155	48	6	9	40
IV	EB	6	3	67			
	EC	4	2	67			
	EC-UV1	21	17	55			
	EC-UV2	8	7	53			
	UV1	12	8	67			
	UV2	30	28	52			
V	EB	6	2	75			
	EC	67	61	52	6	2	75
	EC-UV1	9	9	50	2	3	40
	EC-UV2	11	9	55			
	UV1	20	18	53	1	2	33
	UV2	34	22	61			
VI	EB	52	39	57	3	1	75
VII	UV1	64	36	64	1	1	50
VIII*	UV2	42	33	56		1	0
VI	EO	3	3	50			
	EO-UV1	6	2	75	1		100
	EO-UV2	6	6	50	2	2	50
VII	EO	3		100	1	1	50
	EO-UV1	4	1	80	1	1	50
	EO-UV2						
VIII	EO				3		100
	EO-UV1	9	1	90	2		100
	EO-UV2	1		100	2		100

Notas: EB: esgoto efluente do reator UASB; EC: esgoto clorado; EC-UV1: desinfecção sequencial – cloro seguido de UV1(2,5 Wh.m⁻³); EC-UV2: desinfecção sequencial – cloro seguido de UV2 (6,1 Wh.m⁻³); EC [20;10]: esgoto clorado com 20mg.L⁻¹ por 10 minutos; EC [20;10]-UV1: desinfecção sequencial – esgoto clorado com 20mg.L⁻¹ por 10 minutos seguido de UV1(2,5 Wh.m⁻³); EO: esgoto ozonizado; EO-UV1: desinfecção sequencial – ozônio seguido de UV1; EO-UV2: desinfecção sequencial – ozônio seguido de UV2; UV1: esgoto desinfetado com 2,5 Wh.m⁻³; UV2: esgoto desinfetado com 6,1 Wh.m⁻³; PI-: negativo ao iodeto de propídio (viável); PI+: positivo ao iodeto de propídio (não viável); %Viável: (PI⁻ / (PI⁻ + PI⁺)); *Amostra de esgoto efluente do reator UASB e após desinfecção com doses de radiação ultravioleta comuns aos tratamentos VI, VII e VIII.