

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO

ERALDO KOBAYASHI DOS SANTOS

**Remoção de cistos de *Giardia* spp. e de *Cryptosporidium*
spp. em sistema de tratamento de esgoto sanitário:
quantificação em fases líquida e sólida**

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos - SP

2015

Página intencionalmente deixada em branco.

ERALDO KOBAYASHI DOS SANTOS

Remoção de cistos de *Giardia* spp. e de *Cryptosporidium* spp. em sistema de tratamento de esgoto sanitário: quantificação em fases líquida e sólida.

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 - SP

2015

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

K237r Kobayashi dos Santos, Eraldo
Remoção de cistos de *Giardia* spp e de
Cryptosporidium spp em sistema de tratamento de esgoto
sanitário: quantificação em fases líquida e sólida /
Eraldo Kobayashi dos Santos; orientador Luiz Antônio
Daniel. São Carlos, 2015.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação
em Engenharia Hidráulica e Saneamento e Área de
Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de
Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo,
2015.

1. Tratamento de esgoto. 2. *Giardia* spp.. 3.
Cryptosporidium spp.. 4. UASB. 5. Lodos Ativados. 6.
Remoção de microorganismos patogênicos. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheiro **ERALDO KOBAYASHI DOS SANTOS**.

Título da dissertação: "Remoção de cistos de *Giardia spp.* e de *Cryptosporidium spp.* em sistema de tratamento de esgoto sanitário: quantificação em fases líquida e sólida".

Data da defesa: 25/09/2015

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. **Luiz Antonio Daniel**
(Orientador)
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Prof. Associado **Roque Passos Piveli**
(Escola Politécnica/EP-USP)

Profa. Dra. **Luciana Urbano dos Santos**
(UniAnchieta)

Resultado:

APROVADO

APROVADO

Aprovado

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Profa. Associada **Maria Bernadete A. Varesche Silva**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Associado **Paulo César Lima Segantine**

Página intencionalmente deixada em branco.

Dedicatória

À Amábile, pela compreensão, amor e
companheirismo nesta etapa da vida.

Página intencionalmente deixada em branco.

AGRADECIMENTOS

À Escola de Engenharia de São Carlos pela oportunidade da realização do curso de mestrado.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado no início da pesquisa.

Ao Professor Luiz Antônio Daniel por todo incentivo, compreensão e orientação, além de conselhos e apoio na pesquisa.

À Amábile Batisteti, grande referência de minha vida, por todo amor e paciência nessa longa jornada. Não irei um dia esquecer o quanto te devo por esta vida tão maravilhosa.

À minha família, principalmente a minha mãe, Tereza Kobayashi, que me apoiou incondicionalmente e batalhou diariamente para eu poder realizar meus sonhos.

À Gabriela Palhuzi, minha doutoranda preferida, pelo companheirismo no laboratório aos fins de semana, pela grande ajuda nas ligações e mensagens urgentes para soluções na ETE e por toda compreensão e paciência.

Ao Alcino, pela disponibilidade e rapidez na solução de diversos problemas da ETE, com uma dedicação incrível e uma simpatia inigualável.

À Sá e à Rose, pela simpatia no atendimento às minhas dúvidas, estas sempre corriqueiras.

Ao pessoal do LATAR, Maria Teresa, Kenzo, Gabriel, Fernanda, Priscila, Guilherme e Marcos, que, apesar da minha grande ausência durante todo trabalho na semana, sempre muito atenciosos e amigáveis nas minhas solicitações.

Aos amigos da PcF por toda a diversão ocasionada neste período, momentos de descontração necessários para o bom funcionamento psicológico.

Aos amigos da SABESP, em especial ao Thomas Ballarin e Camila Kauling, por toda ajuda concedida para a conclusão deste trabalho.

E a todos que, direta ou indiretamente, me apoiaram a níveis que ocasionaram o meu estímulo e perseverança para o término deste projeto.

Página intencionalmente deixada em branco.

RESUMO

SANTOS, E. K. (2015). **Remoção de cistos de *Giardia* spp. e de *Cryptosporidium* spp. em sistema de tratamento de esgoto sanitário: quantificação em fases líquida e sólida.** Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. São Carlos – SP.

No atual cenário de saneamento, há uma escassez de estudos na temática de retenção de microrganismos patogênicos em estações de tratamento de esgotos, onde os principais tratamentos se baseiam na remoção de parâmetros físico-químicos. Uma abordagem mais ampla na remoção destes microrganismos em estações de tratamento e sua quantificação no lodo retido é um passo importante para o aumento do debate acerca da eficiência dos atuais tratamentos utilizados na retenção de patógenos, diminuindo assim a contaminação de corpos d'água com posteriores problemáticas no âmbito de saúde pública. Desta forma, a proposta do projeto foi avaliar e quantificar a remoção de cistos de *Giardia* spp., oocistos de *Cryptosporidium* spp. e *Escherichia coli* em sistema de tratamento de esgoto sanitário constituído de tratamento anaeróbio (reator UASB), utilizando dois valores de TDH – 8 horas (Etapa 1) e 12 horas (Etapa 2) - seguido de tratamento em sistema de lodo ativado. O projeto utilizou uma estação de tratamento piloto junto a estação de tratamento da USP São Carlos. Para análises de *E. coli* e coliformes totais foi utilizada a técnica de pour plate e para detecção de cistos e oocistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., a técnica de separação imunomagnética (IMS) e técnica de Reação de Imunofluorescência Direta (RID) foi escolhida como método de detecção e quantificação. Para a remoção no reator UASB, a variação de TDH indicou influência na remoção de parâmetros físico-químicos e na retenção de microrganismos, sendo que a utilização de TDH de 12 horas obteve remoções de 0,21 log para cistos *Giardia* spp. e 0,48 log para oocistos de *Cryptosporidium* spp. Para o Sistema de Lodo ativado, as remoções foram de 0,48 log e 0,15 para ambos os microrganismos, respectivamente, não havendo influência significativa na retenção com a mudança de TDH do reator UASB. Nas análises em fase sólida, foram observados valores altos de contaminação no lodo, tanto para *Giardia* spp., quanto para *Cryptosporidium* spp, onde a inferência de viabilidade dos (oo)cistos detectados estiveram na faixa de 30% a 99% nas amostras analisadas.

Palavras-chave: tratamento de esgoto; *Giardia* spp.; *Cryptosporidium* spp.; UASB; Lodos Ativados; remoção de microrganismos patogênicos;

ABSTRACT

SANTOS, E.K. (2015). **Removal of *Giardia* spp. cysts and *Cryptosporidium* spp. oocysts in wastewater treatment systems: quantification in liquid and solid fases.** Dissertation (M.Sc.) - Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. São Carlos – SP.

Currently, the field of sanitation faces a lack of studies on retention of pathogenic microorganisms in wastewater treatment plants, where main treatments are based on the removal of physical and chemical parameters. A broader approach to the removal of pathogens in wastewater treatment systems and their quantification in retained sludge is an important step to increase the debate around the efficiency of prevailing treatments used to retain those microorganisms and to consequently reduce the contamination of water bodies. The present study was conducted to assess and quantify the removal of *Giardia* spp. cysts, *Cryptosporidium* spp. oocysts and *E. coli* in wastewater treatment systems. For the purpose of this research, the treatment consisted of a UASB reactor using two values of hydraulic retention time (HRT) - 8 hours (phase 1) and 12 hours (phase 2) - followed by an activated sludge system. The project was staged in a pilot wastewater treatment plant coupled to USP Sao Carlos's wastewater treatment system. Pour plate technique was used for analysis of *E.coli* and total coliforms. IMS was used to detect cysts and oocysts of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp.. DFA (direct immunofluorescence assay) method was chosen to detection and quantification. HRT variation for removal in UASB reactor indicated influence in removal of physical and chemical parameters and in retention of microorganisms. The 12 hours use of HRT obtained removals of 0.21 log for *Giardia* spp. cysts and 0.48 log for *Cryptosporidium* spp. oocysts. Activated sludge removals presented 0.48 log and 0.15 log respectively, without significative influence in retention with the HRT's change in UASB reactor. High values of contamination were observed during solid-phase analysis in activated sludge, both for *Giardia* and *Cryptosporidium*. Here, viability of the (oo)cysts detected was around 30% up to 99% of the analyzed samples.

Keywords: wastewater treatment; *Giardia* spp.; *Cryptosporidium* spp.; UASB reactor; activated Sludge; removal of pathogenic microorganisms;

Página intencionalmente deixada em branco.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UM UASB	29
FIGURA 2 - REPRESENTAÇÃO DE UM FLOCO DE BIOMASSA DE LODO ATIVADO	31
FIGURA 3 - FLUXOGRAMA DO SISTEMA DE TRATAMENTO UTILIZADO NO PROJETO.....	40
FIGURA 4- UASB CILÍNDRICO PROJETADO	42
FIGURA 5 - SISTEMA DE LODO ATIVADO	43
FIGURA 6 - PREPARO DAS DILUIÇÕES DECIMAIS	45
FIGURA 7 - PLACA CONTAMINADA COM COLÔNIAS DE <i>E. COLI</i> E COLIFORMES TOTAIS.	45
FIGURA 8 – FLUXOGRAMA DE METODOLOGIAS PARA ANÁLISE DE PROTOZOÁRIOS (<i>GIARDIA SPP.</i> E <i>CRYPSTOSPORIDIUM SPP.</i>)	46
FIGURA 9 – IDENTIFICAÇÃO DE CISTO DE <i>GIARDIA SPP.</i> ;.....	55
FIGURA 10 - AFLUENTE NA ETE USP SÃO CARLOS COM COR NÃO CARACTERÍSTICA DE ESGOTO DOMÉSTICO	58
FIGURA 11 - ESGOTO AFLUENTE À ETE USP SÃO CARLOS COM COR NÃO CARACTERÍSTICA DE ESGOTO DOMÉSTICO	58
FIGURA 12 - DQO MONITORADA NO AFLUENTE DA ETE NO PERÍODO DE PESQUISA (2014 - 2015)	59
FIGURA 13 - CONCENTRAÇÃO DE SÓLIDOS NO ESGOTO BRUTO	60
FIGURA 14 - CONCENTRAÇÃO DE SÓLIDOS TOTAIS FIXOS E VOLÁTEIS EM AMOSTRAS DE ESGOTO BRUTO	61
FIGURA 15 - CONCENTRAÇÃO DE SÓLIDOS SUSPENSOS FIXOS E VOLÁTEIS EM AMOSTRAS DE ESGOTO BRUTO	61
FIGURA 16 - PONTOS DE COLETA DE LODO NO REATOR UASB.	64
FIGURA 17 - CONCENTRAÇÃO DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO DURANTE PERÍODO DE OPERAÇÃO DO SISTEMA DE LODO ATIVADO (2014 - 2015)	68
FIGURA 18 - MONITORAMENTO DE SST E SSV NO TANQUE DE AERAÇÃO.	69
FIGURA 19- QUANTIFICAÇÃO DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> – ETAPA 1	73
FIGURA 20 - QUANTIFICAÇÃO DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> – ETAPA 2	73
FIGURA 21 - QUANTIFICAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS – ETAPA 1	74
FIGURA 22 - QUANTIFICAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS – ETAPA 2	75
FIGURA 23- QUANTIFICAÇÃO DE CISTOS DE <i>GIARDIA SPP.</i> – ETAPA 1	77
FIGURA 24 - QUANTIFICAÇÃO DE CISTOS DE <i>GIARDIA SPP.</i> – ETAPA 2	77
FIGURA 25 - PORCENTAGEM DE VIABILIDADE DE CISTOS DE <i>GIARDIA SPP.</i>	80
FIGURA 26 - QUANTIFICAÇÃO DOS SÓLIDOS TOTAIS PRESENTES EM LODO (REATOR UASB E LODO ATIVADO)...	81
FIGURA 27 - QUANTIFICAÇÃO DE <i>E. COLI</i> E COLIFORMES TOTAIS NO LODO DO REATOR UASB	82

FIGURA 28 - QUANTIFICAÇÃO DE <i>E. COLI</i> E COLIFORMES TOTAIS EM LODO DO SISTEMA DE LODO ATIVADO	83
FIGURA 29 - QUANTIFICAÇÃO DE CISTOS DE <i>GIARDIA</i> SPP. EM LODO (REATOR UASB E LODO ATIVADO)	84
FIGURA 30 - PORCENTAGEM DE VIABILIDADE DE CISTOS DE <i>GIARDIA</i> PRESENTES EM LODO (REATOR UASB E LODO ATIVADO)	85
FIGURA 31 - QUANTIFICAÇÃO DE OOCISTOS DE <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SPP. EM LODO (REATOR UASB E LODO ATIVADO)	85
FIGURA 32 - COMPARATIVO DE REMOÇÃO DE MICRORGANISMOS E PARÂMETROS FÍSICOS EM REATOR UASB ..	88
FIGURA 33 - COMPARATIVO DE REMOÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS E VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS EM SISTEMA DE LODO ATIVADO	90

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - TEMPO MÉDIO DA DETENÇÃO HIDRÁULICA RECOMENDADO PELA NORMA BRASILEIRA NBR 12209:2011 EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA	29
TABELA 2- DEFINIÇÃO DE CARACTERÍSTICAS PARA O REATOR UASB E LODO ATIVADO.....	41
TABELA 3 - TIPO DE AMOSTRA E MÉTODO UTILIZADO ANTERIOR AO IMS.....	46
TABELA 4 - PARÂMETROS EXAMINADOS E METODOLOGIAS CORRESPONDENTES	56
TABELA 5 - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E CONCENTRAÇÃO DE SÓLIDOS DOS ESGOTOS.	62
TABELA 6 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DO ESGOTO BRUTO EM MONITORAMENTO DA ETE USP SÃO CARLOS.....	62
TABELA 7 - ETAPAS DE OPERAÇÃO DO REATOR UASB	63
TABELA 8 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DO EFLUENTE DO REATOR UASB	65
TABELA 9 - CARACTERÍSTICAS DE OPERAÇÃO DO SISTEMA DE LODO ATIVADO.....	67
TABELA 10 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DO EFLUENTE DO SISTEMA DE LODO ATIVADO COM TDH DE 18 HORAS	70
TABELA 11 - RESULTADOS DE <i>E. COLI</i> E COLIFORMES TOTAIS NAS ETAPAS 1 E 2.....	76
TABELA 12 - RESULTADOS DE <i>GIARDIA SPP.</i> E <i>CRYPTOSPORIDIUM SPP.</i>	79
TABELA 13 - CARACTERIZAÇÃO DOS SÓLIDOS TOTAIS PRESENTES EM LODO (REATOR UASB E LODO ATIVADO) ..	81
TABELA 14 - RESULTADOS DE EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS E DE VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS.....	87
TABELA 15 - CORRELAÇÃO DE REMOÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS (BACTÉRIAS) COM A REMOÇÃO DE VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS NO REATOR UASB.....	88
TABELA 16 - CORRELAÇÃO DE REMOÇÃO DE PARASITOS (PROTOZOÁRIOS) COM A REMOÇÃO DE VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS NO REATOR UASB.....	89
TABELA 17 - CORRELAÇÃO DE REMOÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS (BACTÉRIAS) COM A REMOÇÃO DE VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS EM SISTEMA DE LODO ATIVADO	91
TABELA 18 - CORRELAÇÃO DE REMOÇÃO DE PARASITOS (PROTOZOÁRIOS) COM A REMOÇÃO DE VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS EM SISTEMA DE LODO ATIVADO	92

Página intencionalmente deixada em branco.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	21
2.	OBJETIVOS	23
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
3.1.	Tratamento Anaeróbio	23
3.1.2.	Retenção de Biomassa em Sistemas Anaeróbios	25
3.1.3.	Reator Anaeróbio de Manta de Lodo (UASB - Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket) ..	27
3.2	Sistema de Lodo Ativado	30
3.3	Remoção de (oo)cistos em tratamento de esgoto sanitário	35
3.4	Organismos Patogênicos.....	37
4.	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1.	Estação Experimental de Tratamento de Esgoto.....	40
4.2	Análises Microbiológicas.....	44
4.2.1	Exames Bacteriológicos (Coliformes Totais e <i>Escherichia Coli</i>)	44
4.2.2	Exames de Protozoários.....	45
4.2.2.1	Coleta e Procedimentos iniciais.....	47
4.2.2.2	Etapa de Concentração: Tripla Centrifugação	47
4.2.2.3	Etapa de Concentração: Filtração em Membrana	48
4.2.2.4	IMS direto	50
4.2.2.5	Purificação/Separação Imunomagnética – IMS.....	51
4.2.2.6	Dissociação ácida de (Oo)cistos	52
4.2.2.7	Detecção e Identificação.....	53
4.2.2.8	Leitura em Microscópio	54
4.2.2.9	Contagem dos (oo)cistos	55
4.2.2.10	Controle Negativo	56
4.3	Análises Físico-químicas.....	56
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1	Monitoramento Estação de Tratamento de Esgoto Piloto.....	57
5.2	Reator UASB.....	63
5.2.1	Monitoramento	63
5.3	Lodo Ativado	67

5.4	Quantificação de Microrganismos em Fase Líquida.....	72
5.4.1	<i>Escherichia coli</i> e coliformes totais.....	72
5.4.2	<i>Giárdia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp.....	76
5.5	Quantificação de Micro-organismos em Fase Sólida	80
5.5.1	<i>E. coli</i> e Coliformes Totais	81
5.5.2	<i>Giárdia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp.....	83
5.6	Comparação entre Retenção de Micro-organismos e Variáveis Analisadas	86
6.	CONCLUSÕES.....	93
7.	SUGESTÕES.....	94
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

1. INTRODUÇÃO

Com a crescente utilização dos recursos hídricos para abastecimento e despejo de efluentes, há a necessidade de cuidados na manutenção dos corpos d'água visto a escassez e limitações para sua utilização. Assim, com a crescente preocupação em relação ao comprometimento da qualidade dos corpos d'água existentes no mundo, a implementação das estações de tratamento de esgotos (ETEs) foi um dos grandes passos no âmbito da engenharia sanitária para a diminuição de carga de poluentes. As ETEs se tornaram facilitadores na diminuição da carga orgânica oriunda dos esgotos domésticos que, outrora, eram despejados sem prévio condicionamento e tratamento nos corpos hídricos.

Historicamente, nota-se uma evolução nos processos sanitários, onde o acondicionamento inicial dos dejetos a céu aberto fora substituído pelo afastamento dos resíduos dos centros urbanos. Posteriormente, fora introduzido ao processo o tratamento destes detritos. Apesar disso, esta evolução foi deveras lenta e a preocupação à proteção da qualidade dos corpos hídricos e a observação que havia a relação de transmissão de muitas doenças pela água começou apenas no século passado (AZEVEDO NETTO, 1984; GUIMARÃES, CARVALHO e SILVA, 2007).

Diversas barreiras foram testadas a fim de diminuir a incidência de doenças vinculadas a microrganismos de veiculação hídrica. O tratamento e principalmente a desinfecção de água e do esgoto são tratados como grandes favorecedores a esta diminuição, visando combater a disseminação destas doenças, e assim resguardar a população de possíveis enfermidades (MEDEIROS, 2010). Entretanto, tais sistemas nem sempre são eficientes a ponto de impedir completamente a incidência de microrganismos patogênicos, podendo assim ocasionar contaminação da população por contato direto com esta água, sendo registrados de dificuldade na retenção e desinfecção destes microrganismos no sistema de tratamento de água bruta para abastecimento (BASTOS et. al., 2003).

Estas doenças de veiculação hídrica são relatadas ao redor do mundo como uma das maiores causas de morbidez e mortalidade, gerando elevados custos sociais e econômicos, observados, sobretudo, nos países em desenvolvimento. Nestes, estima-se que 94% das doenças diarreicas são ocasionadas pela falta ou precariedade do sistema sanitário,

ocasionando mais de quatro bilhões de casos por ano e sendo responsável por cerca de 30% das mortes de crianças com menos de um ano. A falta de abastecimento de água adequado e de saneamento expõe frequentemente a população que vive em locais sem as devidas seguranças sanitárias ao contato com agentes patogênicos (RAZZOLINI et. al., 2011; WHO, 2006; GUIMARÃES, CARVALHO e SILVA, 2007).

Dentre as doenças responsáveis pelas enfermidades diarreicas podem ser citadas a Giardíase e a Criptosporidíase, causadas respectivamente pelos protozoários *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.* A *Giardia duodenalis* prevalece em 2% a 7% das doenças em países industrializados e de 20% a 60% em países subdesenvolvidos que possuem um sistema de saneamento ainda deficiente. Entretanto, há casos de surtos causados por *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.* em países desenvolvidos como Estados Unidos e Finlândia, enfatizando a dificuldade na retenção destes organismos mesmo em países com alto desenvolvimento, principalmente devido à alta resistência e sobrevivência de (oo)cistos. A maioria das infecções destes microrganismos são assintomáticos e grande parte da população infectada não possui conhecimento de ser o hospedeiro destes protozoários, o que leva a não procura por tratamento e conseqüentemente a constante contaminação ambiental (YODER, 2012; ISSA, AL-SAEED, 2006). Ressalta-se a conseqüente problemática do impacto na saúde pública além da falta de registro e mapeamento epidemiológico.

A diminuição da incidência destes organismos pode ser realizada a partir de uma otimização do tratamento de efluentes domésticos, que além de realizar a degradação da carga orgânica e da conseqüente clarificação do efluente, ainda oferece retenção destes organismos no lodo sedimentado, tornando-se importante barreira de retenção e aumentando o nível de proteção dos mananciais.

Destarte, o presente estudo visa analisar a eficiência de retenção destes organismos em sistemas de tratamento de esgotos (tratamento anaeróbio em reator UASB seguido de lodo ativado) difundidos no Brasil, a partir da variação do tempo de retenção celular e o tempo de detenção hidráulico do sistema.

Para análise microscópica foram focados os estudos nos cistos de *Giardia spp.* e oocistos de *Cryptosporidium spp.*, microrganismos com resistência aos processos de tratamento de

esgoto e alta incidência de contaminação, além de exames de *Escherichia coli*, organismo indicador dos protozoários.

2. OBJETIVOS

- Avaliar e quantificar a remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp., cistos de *Giardia* spp. e *Escherichia coli*, em sistema de tratamento de esgoto sanitário constituído de tratamento anaeróbio (reator UASB) seguido de sistema de lodo ativado.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Tratamento Anaeróbio

O processo anaeróbio vem se tornando um dos mais utilizados para o tratamento de esgoto doméstico. Sua capacidade de adaptação em situações adversas de temperatura e clima e sua competitividade econômica agregam ao sistema vantagens que são amplamente exploradas. Atualmente, o principal sistema de tratamento anaeróbio aplicado no Brasil são as fossas sépticas ou tanques sépticos, que, com tratamento posterior à base de filtros anaeróbios, constituem uma boa eficiência, sendo comumente aplicado em domicílios. Para a utilização em pequenas e médias comunidades, o sistema de lagoa é o mais difundido em relação a modalidades de tratamento anaeróbio (JORDÃO e CONSTANTINO, 2009).

A degradação anaeróbia é impulsionada favoravelmente pela temperatura, destacando sua eficiência especialmente em regiões tropicais e subtropicais (DE BRITO, 2006; ARAUJO, 2014). Este sistema foi apresentado como uma solução largamente utilizada na estabilização de lodo de esgoto doméstico, resíduos sólidos, dejetos de animais e também de culturas agrícolas, sendo que a utilização para o tratamento de efluentes líquidos é relativamente recente (principalmente com a difusão mundial do reator UASB) em comparação a outros tipos de tratamento (JORDÃO e CONSTANTINO, 2009; CHERNICHARO, 1997).

Baseado em uma atividade microbiológica com a ausência de oxigênio, o tratamento anaeróbio pode ser fundamentado em um ecossistema no qual o trabalho cooperativo de

diversos grupos de microrganismos resulta na conversão de matéria orgânica em produtos menos complexos, como metano, gás carbônico, água, gás sulfídrico e amônia, além de novas células bacterianas (CHERNICHARO, 1997).

Possui como primeira etapa a conversão por hidrólise e fermentação de compostos orgânicos complexos em compostos orgânicos simples como ácidos orgânicos, dióxido de carbono e gás hidrogênio (H₂), a partir de bactérias facultativas e anóxicas, grupo denominado de bactérias fermentativas (ARAUJO, 2014; CHERNICHARO, 1997). Em segunda etapa, há a conversão pela metanogênese, que se baseia na conversão do hidrogênio e ácidos orgânicos em metano e dióxido de carbono (WOESE *apud* ARAUJO, 2014).

Assim, apesar da divisão em duas partes do processo de digestão anaeróbia por diversos autores, Van Handeel (1994) entre outros autores demonstram que os processos podem ser exemplificados em quatro etapas:

Hidrólise

Nesta etapa, o material orgânico é convertido em outros compostos de forma dissolvida. Alguns exemplos são as proteínas, carboidratos e gorduras que são convertidas em moléculas menores e mais simples, como aminoácidos, açúcares solúveis e ácidos graxos de longa cadeia de carbono (BRITO, 2006).

As bactérias fermentativas possuem um papel ativo neste processo, sendo as excretoras das exo-enzimas, estas necessárias para a dissolução do material orgânico e abrindo maior possibilidade de absorção (ARAUJO, 2014; VAN HANDEEL & LETTINGA et al., 1994).

Acidogênese

A etapa de acidogênese baseia-se na absorção dos compostos gerados na etapa anterior (hidrólise) pelas bactérias fermentativas, posteriormente excretados como moléculas mais simples, sendo em sua maioria ânions de ácidos orgânicos voláteis, álcoois, ácido lático e compostos minerais. Dado que o primeiro é o principal produto desta excreção, estas bactérias são usualmente denominadas de bactérias fermentativas acidogênicas (ARAUJO, 2014; VAN HANDEEL & LETTINGA et al., 1994).

A grande maioria das bactérias participantes na fermentação acidogênica é anaeróbia obrigatória. Porém, existem em conjunto as bactérias facultativas que podem metabolizar o composto por via oxidativa. Ressalta-se a importância destas bactérias nos sistemas de tratamento de esgoto visto que a eventual presença do oxigênio dissolvido provido pelo esgoto bruto poderia se tornar uma substância tóxica, caso não houvesse a ação das bactérias facultativas (VAN HANDEEL & LETTINGA et al., 1994).

Acetogênese

A acetogênese é a terceira etapa da digestão anaeróbia. As bactérias que realizam este processo (acetogênicas), fazem parte de um grupo intermediário de metabolismo tendo como principal objetivo converter os produtos providos da etapa de acidogênese para substratos apropriados para a metanogênese (próxima etapa), como acetato, hidrogênio e dióxido de carbono (VAN HANDEEL & LETTINGA et al., 1994; ARAUJO,2014).

Metanogênese

Esta etapa é fundamental na degradação anaeróbia da matéria orgânica, visto que, em geral, é a limitante da velocidade do processo de digestão, embora a hidrólise possua um limitante com temperatura menor que 20°C. Ainda assim nesta etapa, bactérias acetotróficas reduzem o ácido acético e bactérias hidrogenotróficas reduzem o dióxido de carbono (compostos providos da etapa de acetogênese), com ambas resultando na produção de metano (VAN HAANDEL & LETTINGA et al., 1994).

As *arqueas* metanogênicas acetotróficas e hidrogenotróficas são extremamente importantes no processo de equilíbrio da digestão anaeróbia. Esta importância se deve pelo consumo de hidrogênio formado nas etapas anteriores, possibilitando assim a ação de bactérias acidogênicas e acetogênicas no processo digestório de forma efetiva.

3.1.2 Retenção de Biomassa em Sistemas Anaeróbios

A retenção de biomassa em reatores anaeróbios pode ser definida como o ponto crucial na manutenção do reator, visto a atividade desta biomassa na degradação da matéria orgânica. Contudo, sua retenção ativa no interior do reator depende da operação e fatores ambientais favoráveis, podendo, em caso de perda biológica, influenciar de maneira negativa o funcionamento do reator (OLIVEIRA NETTO, 2007).

Segundo Chernicharo (1997), as células microbianas se comportam de formas variadas em um reator anaeróbio, possuindo formas, faixas de tamanho e fases de crescimento heterogêneas. Desta forma, há a adaptação dos microrganismos para a melhor situação de características dos flocos para um efeito significativo na sobrevivência dos organismos e na transferência de nutrientes, sendo o resultado final uma consequência positiva na eficiência global do sistema. Isto se deve também à estrutura particular dos microrganismos sendo que a faixa de tamanho, localização de cada célula individual e o meio de crescimento ocasionam a variação de estruturas dos flocos biológicos.

Assim, segundo Chernicharo (1997), a retenção de biomassa se comporta com diferentes mecanismos como descrito a seguir.

Retenção por adesão

A adesão a um meio suporte dos microrganismos é um dos fatores de grande importância para a sua sobrevivência em um sistema adverso como em um reator anaeróbio, superando a instabilidade do ambiente. Ressalta-se que a capacidade adesiva das bactérias, que possuem estruturas em suas superfícies para uma satisfatória adesão, e suas microscópicas dimensões diminuem o efeito do meio no que tange o cisalhamento. Esta forma de retenção de microrganismos é comumente observada em superfícies sólidas como sistemas anaeróbios de leito expandido e fluidificado.

Retenção por floculação

A floculação é comumente usada nas estações de tratamento de esgoto, sendo o objetivo a separação da fase sólida por sedimentação. O fenômeno de floculação se torna importante principalmente para o bom funcionamento de reatores com fluxo ascendente e manta de lodo. Destaca-se que o crescimento bacteriano em flocos é o objetivo para remoção de carga orgânica, mas é de grande importância para um efluente com baixa concentração de sólidos suspensos.

Retenção por granulação

A granulação é o fenômeno normalmente encontrado em reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) – também em filtros anaeróbios de pequena escala – sendo associada à presença de ácidos voláteis e carboidratos oriundos da alta carga dos despejos enviados para tratamento (CHERNICHARO, 1997).

Em teoria, a retenção por granulação em grande parte ocasiona-se devido à velocidade ascensional que proporciona uma pressão constante sobre os microrganismos, resultando em uma adesão entre eles e gerando a formação de grânulos biológicos, com boa capacidade de sedimentação. Estes grânulos possuem uma dimensão sem grande variedade, de forma esférica, com organismos densamente agrupados sendo que a presença de diversos microrganismos é observada.

Retenção intersticial

A retenção intersticial tem como princípio a presença e fixação dos microrganismos nos interstícios de suportes estacionários, tendo como exemplo os reatores anaeróbios de leito fixo. O espaço vazio existente entre o material suporte que serve para o crescimento bacteriano, em contato com outros microrganismos dispersos ocasionam uma ocupação de forma distinta ao ocasionado no material fixo.

3.1.3 Reator Anaeróbio de Manta de Lodo (UASB - Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket)

A evolução do saneamento trouxe uma nova ideia de se tratar efluentes líquidos a partir de tratamento anaeróbio, visto que esta tecnologia era popularmente usada para o lodo. Assim, desenvolveram-se unidades dimensionadas a fim de atribuir condições necessárias para a retenção de biomassa formada com um elevado tempo de residência (JORDÃO e CONSTANTINO, 2009).

Assim, segundo Lettinga et. al. (1980), foi desenvolvido na década de 70 um reator com retenção interna de lodo, com incorporação de separador para o gás e para os sólidos suspensos existentes. Dado reator foi denominado Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket – UASB e, traduzido ao Português, Reator Anaeróbio de Manta de Lodo. Tal reator foi um marco na presença de reatores anaeróbios para tratamento de efluentes líquidos, oferecendo diversas

vantagens, como custo baixo de energia e pouca necessidade de manutenção, além de maior estabilidade no processo (HIRATA et. al. *apud* ROSARIO, 2007). Como desvantagens, podem-se citar a possibilidade de maus odores, a baixa tolerância a cargas tóxicas e a necessidade de pós-tratamento (CHERNICHARO, 1999).

Deste modo, a aplicação do reator anaeróbio em cenário brasileiro se tornou viável devido as suas vantagens e as condições ambientais favoráveis presentes para o seu bom funcionamento.

Funcionamento

Para um funcionamento adequado, uma etapa de pré-tratamento anterior ao reator UASB é necessária a fim de diminuir fatores adversos que atrapalhem sua estabilização e eficiência. Deste modo, o gradeamento e a remoção de areia anteriores ao processo são imprescindíveis. Estes interferentes podem ocasionar entupimento dos orifícios e ramais de distribuição do esgoto (JORDÃO e CONSTANTINO, 2009).

O efluente a ser tratado deve entrar pelo fundo do reator, a fim de passar pela manta de lodo para que haja o contato entre o efluente e o substrato ali presente, garantindo uma mistura e uma diminuição das zonas mortas no leito do lodo (CHERNICHARO, 1997). A segunda etapa é a ascensão do fluxo a fim de percorrer a zona de digestão, onde as etapas anaeróbias deste processo ocasionam a quebra das moléculas de maior tamanho para moléculas de menor complexidade, ocasionando a produção de biogás e geração/crescimento do lodo. Na terceira etapa, o efluente tem como fim a parte superior do reator, sendo que na transição há

a separação trifásica entre sólido, líquido e gás (VAN HANDEEL & LETTINGA et al., 1994). A esquematização do reator UASB e seu funcionamento é representado na figura 1.

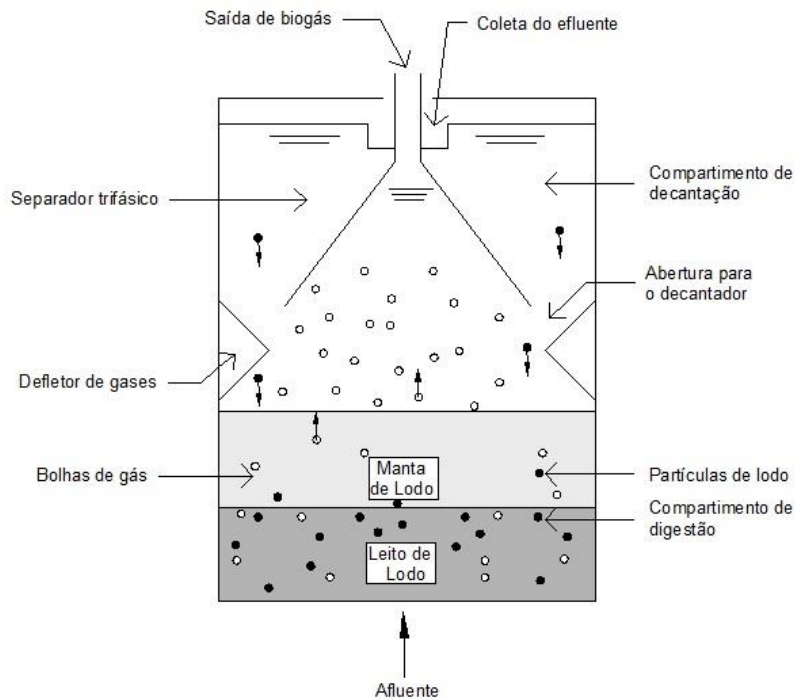


Figura 1 - Representação esquemática de um UASB (adaptado JORDÃO e CONSTANTINO, 2009)

Segundo Jordão e Constantino (2009), o reator UASB é projetado atualmente para remoção de até 70% de DBO e na ordem de 65% de DQO. Normalmente, nos efluentes resultantes a DBO e os sólidos suspensos totais são inferiores a 120 e 80 mg/L, respectivamente, sendo valores para tratamento de esgotos domésticos e altamente influenciáveis pelo tempo de detenção hidráulica.

O tempo de detenção hidráulica, segundo a NBR 12209:2011, varia com a temperatura, como relacionado na Tabela 1.

Tabela 1 - Tempo médio da detenção hidráulica recomendado pela Norma Brasileira NBR 12209:2011 em função da temperatura (ABNT, 2011)

Temperatura (C°)	Tempo médio (horas)
15 a 17	≥ 10
18 a 21	≥ 08
22 a 25	≥ 07
> 25	≥ 06

3.2 Sistema de Lodo Ativado

Segundo definição de Jordão e Constatino (2009), o sistema de lodo ativado tem como base a formação de flocos de microrganismos providos do esgoto bruto, existindo também o crescimento de bactérias específicas, com a utilização de oxigênio dissolvido. No decantador posterior ao tanque de aeração, há a sedimentação e estabilização da biomassa que é, então, recirculado para o início do processo com flocos já formados.

Desta forma, o sistema de lodo ativado depende inteiramente do comportamento biológico existente no tanque de aeração que, de maneira aeróbia, utiliza de sua atividade metabólica para realizar a síntese celular e respiração tendo o resíduo orgânico como substrato. Posteriormente, a biomassa é formada a partir da oxidação da matéria em compostos de menor valor energético (CAMPOS, 2014).

O processo de lodo ativado possui como vantagens a maior eficiência do tratamento, a maior flexibilidade de operação e a menor área ocupada em relação a filtração biológica. No entanto, oferece uma operação mais delicada e uma necessidade de controle completo de laboratório como grandes desvantagens.

Funcionamento

O reator aerado tem como finalidade o fornecimento de oxigênio para os processos aeróbios, sendo que é neste local onde ocorrem as reações bioquímicas de remoção de matéria orgânica e, em determinadas condições, de fósforo e nitrogênio. No decantador secundário ocorre a sedimentação do lodo (biomassa), realizando a clarificação do efluente final e tendo como intuito evitar a perda de biomassa. O material sedimentado então é recirculado ao reator aerado para se manter uma concentração desejada de biomassa, aumentando a eficiência do sistema (VON SPERLING et. al., 2001).

Dada biomassa (Figura 2), segundo o mesmo autor, é constituída de uma matriz gelatinosa, englobando diversos microrganismos como bactérias, protozoários, entre outros, responsáveis pela degradação da matéria orgânica presente no meio. Estes flocos possuem dimensão muito superior ao dos microrganismos o que facilita a sedimentação. O grupo

presente de microrganismos no lodo existente é um dos grandes responsáveis pelo êxito ou falência do tratamento biológico aeróbio (CAMPOS, 2014).

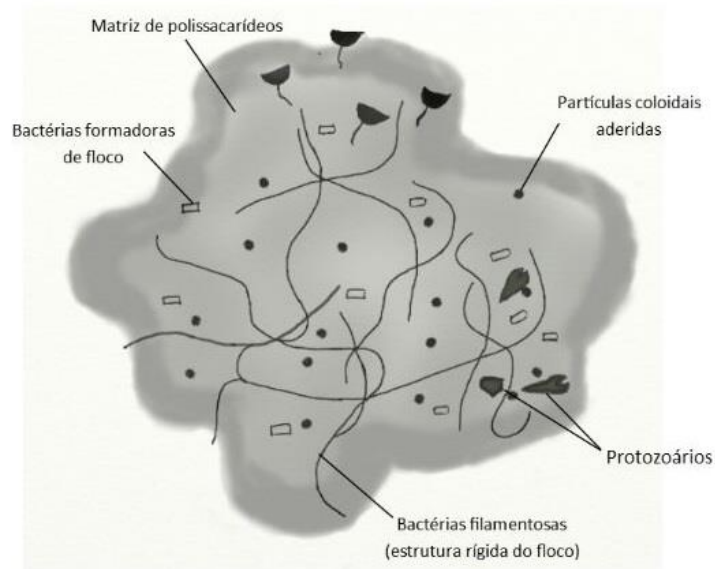


Figura 2 - Representação de um floco de biomassa de lodo ativado (VON SPERLING et. al., 2001)

Segundo CAMPOS (2014), pode-se resumir a atividade de funcionamento em um tanque aerado em três etapas:

- Remoção inicial de sólidos que ocorre junto aos flocos biológicos, a partir da adesão, floculação e aglomeração física, e a degradação da matéria orgânica realizada por processos aeróbios a partir dos microrganismos
- Remoção secundária dos sólidos no qual o restante da matéria orgânica dissolvida é degradado mais lentamente, resultando em produtos de baixa carga energética e crescimento biológico.
- Ocorrência de processos de nitrificação quando o reator é operado de forma contudente, respeitando controles de tempo de resiliência celular, temperatura e concentração de oxigênio dissolvido, entre outros.

Ressalta-se a problemática trazida por VAN HANDEEL e MARAIS (1999) na qual citam a existência da nitrificação principalmente em regiões tropicais nas quais os sistemas estão instalados. Esta é realizada por bactérias nitrificadoras que entrarão em competição por oxigênio com as bactérias que oxidam o material orgânico. Caso não haja a disponibilidade de

oxigênio dissolvido para ambas, poderá resultar em um efluente de pior qualidade, sem a total execução das duas ações (nitrificação e oxidação) por processos desenvolvidos apenas parcialmente. Em pior consequência de uma concentração de oxigênio baixo, poderá haver o desenvolvimento de um lodo filamentoso, dificultando a sedimentação e com posterior descarte do mesmo no efluente final. Caso a nitrificação seja realizada no tanque de aeração e a desnitrificação não ocorra concomitantemente, esta ocorrerá no decantador secundário, local onde há baixíssima concentração de oxigênio dissolvido. Desta forma, bolhas referentes a desnitrificação surgirão no sistema deixando o lodo que, inicialmente estaria sedimentado, em flotação. Este processo resulta na perda de lodo biológico estabilizado do sistema, deixando o efluente final com uma quantidade alta de sólidos sedimentáveis e carga orgânica. Além disso, a perda de lodo sem sua recirculação para o tanque de aeração ocasiona uma perda de eficiência na degradação, visto que a massa existente no tanque possa ser insuficiente para a degradação necessária.

Variantes do Processo

O sistema de lodo ativado possui diversas variantes em dependência de diversos fatores como idade do lodo, fluxo e tratamento precedente. Dado isto, JORDÃO e CONSTANTINO (2009) e VAN HAANDEL e MARAIS (1999) demonstram as variantes do processo, podendo ser divididas pelos seguintes atributos:

- **Idade do Lodo** - Lodo ativado convencional / Aeração Prolongada;
- **Fluxo** – Contínuo / Intermitente;
- **Tratamento do Afluente ao Sistema** – Esgoto Bruto / Decantador Primário / Reator Anaeróbio / Outro Processo de Tratamento;

A classificação da idade do lodo é aplicável em ambos os fluxos descritos anteriormente. Para idades de lodo reduzidas (4 a 10 dias), o uso do lodo ativado convencional como variante do processo é indicado, considerando a relação A/M de 0,25 a 0,50 (kgDBO/kgSSVTA.dia). Para idade de lodo de 18 a 30 dias, já considerada elevada, com faixa de relação A/M de 0,07 a 0,15 (kgDBO/kgSSVTA.dia), é utilizado a variante de Lodo ativado com Aeração Prolongada. Ressalta-se a utilização mais comum da aeração prolongada para

fluxos intermitentes (batelada). Segundo VON SPEARLING et. al (2001), para o uso de reatores anaeróbios anteriores ao sistema de lodo ativado a opção mais convincente é a utilização de aeração prolongada.

Lodo ativado Convencional

A utilização do lodo ativado convencional vem acoplada a utilização de decantadores primários com o intuito de retirar parte da carga orgânica que iria ao processo de degradação ao tanque aerado. Este processo realiza a diminuição do volume do tanque de aeração e de gastos com energia pelo menor fornecimento de oxigênio, visto a menor necessidade de degradação com o decantador primário retendo parcela da matéria que seria degradada. VAN HANDEEL e MARAIS (1999) citam que, usualmente, a idade de lodo é usada entre 4 a 10 dias, tendo a relação de A/M na faixa de 0,25 a 0,5 kgDBO/kgSSVTA.dia, sendo o tempo de detenção hidráulica no reator na ordem de 6 a 8 horas.

Desta forma, a estabilização do lodo é necessária visto o alto teor de matéria orgânica contido na parcela retida no decantador primário, sendo necessário o envio aos digestores primários e secundários para estabilização do lodo.

Lodo ativado Aeração Prolongada

O lodo ativado com aeração prolongada possui como característica a permanência da biomassa existente/gerada no sistema por um período de tempo mais alto, em torno de 18 a 30 dias, que, em caso de manter a carga de DBO do sistema convencional, ocasionará uma disponibilidade de alimento menor aos microrganismos (0,07 a 0,15 kgDBO/kgSSVTA.dia). Com maior biomassa no sistema, o volume necessário também se torna maior e o tempo de detenção hidráulica tende a ficar entre 16 a 24 horas.

Para a sobrevivência, com menor disponibilidade de substrato, as bactérias começam a consumir a matéria orgânica da própria matéria degradável de suas células, convertendo em gás carbônico e água por meio da respiração. Assim, demonstra-se o principal objetivo desta variante de processo que é a estabilização do lodo no próprio reator, sendo que na variante convencional, uma parcela é estabilizada nos digestores, fora dos reatores/decantadores. O oxigênio necessário para esta estabilização deve ser estimado, sendo bastante significativo

nas ações, sendo, muitas vezes, maior que o próprio consumo de oxigênio para a degradação da matéria orgânica existente no meio (VON SPEARLING, 2001).

Ressalta-se que pela necessidade de uma demanda maior de oxigênio dissolvido, o processo de lodo ativado com aeração prolongada há de ter um maior gasto de energia, porém com maior eficiência com relação à remoção de DBO do efluente final, sendo o bom funcionamento do decantador secundário essencial para a eficácia do sistema (CAMPOS, 2014; VAN HANDEEL e MARAIS, 1999).

Utilização de Lodo ativado Pós-Tratamento com Reator Anaeróbio

No período entre 1980 e 2000, o desenvolvimento tecnológico em busca de evolução no sistema de lodo ativado foi reativado com a proposta de utilização deste sistema de pós-tratamento de reator anaeróbio do tipo UASB (CAMPOS, 2014). Neste sistema, é usado o lodo ativado convencional (6 a 10 dias de tempo de retenção de lodo) e, a troca do decantador primário por um reator anaeróbio. O lodo do decantador secundário pode ser retornado ao UASB a fim de ser realizada a digestão e adensamento. Segundo VON SPEARLING (2001), dado retorno é irrisório perto da carga recebida de esgoto bruto, não afetando a operação do reator. Desta forma, não há a necessidade de digestores de lodo pós-tratamento, sendo apenas enviado a um sistema de desidratação, este facilitado pelas ótimas características advindas do sistema.

Assim, o sistema de tratamento de Lodo ativado como pós-tratamento de reator anaeróbio do tipo UASB tem como principais vantagens a diminuição do volume do lodo (cerca de 40 a 50% menor que o sistema de lodo ativado convencional e de 50 a 60% menor que o sistema de lodo ativado com aeração prolongada); a diminuição na demanda por degradação em matéria orgânica no tanque de aeração, visto que cerca de 70% da DBO é removida no reator UASB, sendo enviado um efluente com menor carga orgânica; não há necessidade de decantador primário, sendo este substituído pelo reator UASB; em relação a complexidade, há menor demanda operacional em comparação aos lodo ativado convencional.

Da mesma forma, a utilização de dado sistema tem como principal desvantagem a dificuldade na remoção de nitrogênio e fósforo devido à remoção no reator UASB de grande parte do carbono orgânico, ocasionando uma concentração de carga orgânica do efluente

enviado ao lodo ativado menor que o necessário para a desnitrificação e desfosfatação (VON SPEARLING, 2001).

3.3 Remoção de (oo)cistos em tratamento de esgoto sanitário

O tratamento de esgotos foi um dos fatores mais importantes na diminuição de poluição de corpos d'água, estes afetados por lançamentos *in natura* de carga orgânica. Com a criação das ETEs, o tratamento se tornou essencial para a boa manutenção do meio ambiente com baixo impacto causado pelo despejo de efluentes.

Entretanto, o tratamento tem como principal função a degradação de carga orgânica a partir de processos anaeróbios e aeróbios, sendo a retenção de microrganismos apenas observada junto com a retenção do próprio lodo, em processos físicos. Segundo TAWFIK (2008), a sedimentação é um dos principais fatores que ocasionam a retenção de microrganismos em reatores, principalmente pela ligação existente entre os mesmos aos sólidos em suspensão. Segundo SANTOS (2004), o lodo desta sedimentação contém uma grande parte de biomassa, encontrando-se frequentemente em flocos, compostos, em termos de massa seca, por 95% de bactérias e os 5% restantes por outros microrganismos. A retenção destes flocos reduz consideravelmente o número de microrganismos presente no efluente líquido.

Segundo Tawfik (2008), em reator UASB são removidos de 87,5% a 91,6% dos coliformes termotolerantes e totais, respectivamente. El-Khateeb et. al. (2008) indicaram retenção de 98,6% de *E. coli* em um reator UASB. Silva (2014) demonstra a retenção média de 77,0% de *E. coli* no mesmo sistema. O mesmo autor descreveu que em um reator UASB houve a retenção de 61,54% de cistos de *Giardia* spp. e 47,06% de oocistos de *Cryptosporidium* spp. Segundo Van Handeel (1999), reatores anaeróbios não são projetados com o intuito de retenção de microrganismos, que é consequência da retenção de sólidos, sendo impactado, portanto, pelos tempos de detenção hidráulica, qualidade do efluente e retenção de sólidos. Apesar disto é notado que diversos autores conseguem retenção de *E. coli* acima de 75% para reatores UASB (com diversos tempos de detenção hidráulico). Em relação aos protozoários, os autores indicam uma margem grande, de 50 a 90% para remoção de cistos de *Giardia* spp. e de 20 a 70% em relação à remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp.

Em relação ao sistema de lodo ativado, Slilva (2014) cita remoção média de 97,4% de *E. coli* apenas neste processo de tratamento. Segundo estudos realizados por Carraro (2000), foi constatada a retenção de cerca de 79% de cistos de *Giardia* spp. em sistema de lodo ativado. No mesmo sistema, Bukhari et al. (2007) *apud* SANTOS (2004), citam que a remoção de cistos foi de 26% a 76% em três estações de tratamento analisadas em pesquisa e Cantusio Neto et. al. (2006) citam a remoção de 98,9% de cistos de *Giardia* spp. e de 99,7% de oocistos de *Cryptosporidium* spp.

Segundo Medeiros (2014), em resultados para lodo de sistema de lodo ativado convencional tratando esgoto sanitário foram encontrados 32.916 cistos de *Giardia* spp. por grama de lodo seco e, para o sistema de lodo ativado com aeração prolongada foram encontrados 60.509 cistos. Na mesma pesquisa foram encontrados oocistos em 60% das amostras, com uma média de 1405 oocistos por grama de lodo seco.

Em sistemas de lagoa de estabilização, Sharafi (2012) obteve a retenção de cerca de 99% dos (oo)cistos, com a ressalva de um alto tempo de detenção, mesmo valor encontrado por Nasser (2012). Assim, apesar da retenção de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em lagoas ser amplamente estudada no mundo (SHARAFI, 2012; NASSER, 2012; REINOSO, 2011), são escassos, no Brasil, os estudos em relação a utilização de reator UASB e Lodo ativado tendo como objetivo retenção de protozoários (SANTOS, 2004).

Santos (2004) ainda cita que outro ponto importante é quanto à viabilidade das formas encontradas nos sistemas de tratamento. Segundo a autora, há uma grande consideração que o processo de tratamento de lodo ativado ainda tenha restrições quanto a taxa de remoção de cistos e oocistos, porém, é observado que o sistema parece favorecer a perturbação do meio, o que poderia reduzir o potencial de viabilidade.

Com a retenção destes microrganismos no lodo dos sistemas reator UASB e Lodo Ativado, há uma elevada oportunidade para avaliação de melhores condições para retenção dos mesmos, com a quantificação e qualificação dos microrganismos em efluente líquido e sólido, sendo este o foco do presente estudo.

3.4 Organismos Patogênicos

Dada à necessidade de proteção da saúde pública, a identificação e a contagem de microrganismos nos corpos d'água torna-se essencial. Nesse aspecto, dentre os diversos organismos que podem ser encontrados tanto nos corpos d'água quanto no esgoto sanitário, são foco de pesquisa aqueles com características patogênicas, costumeiramente expelidos juntamente com os excrementos dos homens ou dos animais de sangue quente que estejam infectados ou que sejam portadores de uma doença (JORDÃO e CONSTANTINO, 2009).

A diversidade e a quantidade destes organismos patogênicos no esgoto dependem de diferentes fatores, como o número de indivíduos contaminados em meio à população e a quantidade desses patógenos nos excrementos destes indivíduos (GONÇALVES et al., 2003). De acordo com WHO (2004), foram registradas 1.415 espécies de organismos patogênicos a seres humanos em 2001. Muitos desses organismos estão diretamente ligados a doenças já conhecidas, e uma pequena, mas significativa porcentagem está associada a doenças emergentes.

Escherichia coli e coliformes totais são normalmente utilizadas como indicadores de bactérias, enquanto os colifagos são indicadores da presença de vírus (DANIEL, 2001). As bactérias são organismos do reino monera, procariotas, unicelulares, quimioeterotróficos ou quimioautotróficos, dependendo da espécie, e se reproduzem por divisão binária simples. São, geralmente, os patógenos mais sensíveis à ação de desinfetantes físicos e químicos (GONÇALVES et al., 2003).

Escherichia coli é encontrada nos tratos intestinais e urinários dos seres humanos. Possui forma de bastonete, parede celular Gram-negativa e são anaeróbicas facultativas que fermentam lactose, produzindo ácido e gás. Agem como indicadores de contaminação recente, de origem exclusivamente fecal, e funcionam como bom indicador de bactérias entéricas de origem humana, vírus e microrganismos menos resistentes. Podem sobreviver, no meio ambiente, de 2 a 5 meses em reservatórios de água e, em uma bancada de aço inoxidável seca, sobrevive até 2 meses, facilmente (SOARES, 2007).

A maioria das cepas de *E. coli* é inofensiva e normalmente habita a flora bacteriana gastrointestinal dos seres humanos e dos animais homeotérmicos. Algumas cepas, no

entanto, são patogênicas tanto aos seres humanos quanto a diversos animais, principalmente na juventude, como suínos, bovinos e ovinos (GONÇALVES et al., 2003). Nos animais, a *E. coli*, assim como diversas outras bactérias da família Enterobacteriaceae e do grupo coliforme (*Klebsiella*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* e *Serratia*), podem se apresentar como patógenos oportunistas, causando mastites e infecções do trato urinário. Nos seres humanos, dentre as doenças oportunistas associadas à *E. coli*, incluem-se as infecções do trato urinário e rins (BASTOS et al., 2003).

Os protozoários, por sua vez, são organismos unicelulares, eucariotas, quimioeterotróficos e pertencem ao reino protista. O ciclo de vida dos protozoários relacionados aos esgotos sanitários é composto, basicamente, por duas fases: a primeira, de alimentação e reprodução no trato intestinal do hospedeiro, e uma fase de resistência ou inativo, onde ocorre formação de uma cápsula protetora, o cisto ou oocisto, que permite sua sobrevivência até mesmo fora do hospedeiro.

As três protozooses mais importantes veiculadas pela água são: criptosporidiose, giardíase e amebíase. Estima-se que a amebíase, somente, atinge mais de 400 milhões de pessoas no mundo e a giardíase, 200 milhões (BOUZID et al., 2008 apud MEDEIROS, 2010).

Os protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. destacam-se graças à alta concentração eliminada e baixa dose infectante. Após 1980, estes microrganismos foram classificados como os principais contaminantes associados à veiculação hídrica: no mínimo, 325 surtos epidêmicos associados aos protozoários patogênicos e transmitidos pela água foram reportados no mundo (KARANIS et al., 2007 apud FRANCO, 2012).

A giardíase possui prevalência de 2% a 5% em países industrializados e de 20% a 30% em países em desenvolvimento (WHO, 2004), sendo responsabilizada por distúrbios gastrointestinais, principalmente diarreia e síndromes de má-absorção. O potencial zoonótico da giardíase é reconhecido, mas o papel dos animais ainda é controverso como fonte de infecção da doença para seres humanos, pela dificuldade de distinção de organismos espécie-específica. De acordo com BASTOS et al. (2003), estudos recentes de infecções experimentais oferecem evidências de que este parasita é capaz de albergar em uma multiplicidade de mamíferos silvestres e domésticos. Da mesma forma, a presença deste protozoário já foi

detectada até mesmo em efluentes de esgoto que passaram por tratamento em nível terciário (SANTOS, 2007).

Há um aumento considerável nos registros de surtos de doenças de veiculação hídrica nos EUA, mesmo com medidas e regulamentos mais restritivos (HELLER, 2004). Segundo o mesmo autor, 18,3% dos casos identificados com os agentes responsáveis (cerca de 50%) são atribuídos ao protozoário parasita *Giardia lamblia*. No Brasil, há uma relativa escassez de dados referentes aos surtos existentes. Há uma inexistência em relação a documentação e comprovação sobre a ocorrência de giardíase criptosporidiose por transmissão hídrica no país (FRANCO, 2012).

Segundo Smith (1995) *apud* Heller (2004), há uma relativa demonstração de comprovações por todo o mundo de ocorrências de cistos de *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.* após o tratamento de águas de abastecimento, em diversos sistemas de remoção distintos. Vale ressaltar que mesmo que não tenha indicado incidência de surtos, provavelmente por haver a não identificação da doença e/ou infecção, em razão dos procedimentos de vigilância em prática, a importância do problema é uma realidade.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Estação Experimental de Tratamento de Esgoto

Para a pesquisa, foi utilizada a instalação experimental de tratamento de esgotos, montada na Estação de Tratamento de Esgoto do campus da USP – São Carlos, responsável pelo tratamento de todo esgoto sanitário do Campus, além de uma parcela de contribuição dos bairros adjacentes, totalizando uma vazão média de 600 m³/dia.

A estação possui um gradeamento inicial no qual era recebido o esgoto bruto, para a separação de sólidos grosseiros. Posteriormente, era encaminhado para os desarenadores e, então, para a caixa de remoção de gorduras.

Finalmente, após a etapa preliminar, o esgoto era bombeado ao tanque pulmão que alimentavam o sistema de tratamento experimental foco da pesquisa. Para a pesquisa foi utilizado um Reator UASB em escala piloto, seguidos de um sistema de lodo ativado com decantador secundário (Figura 3).

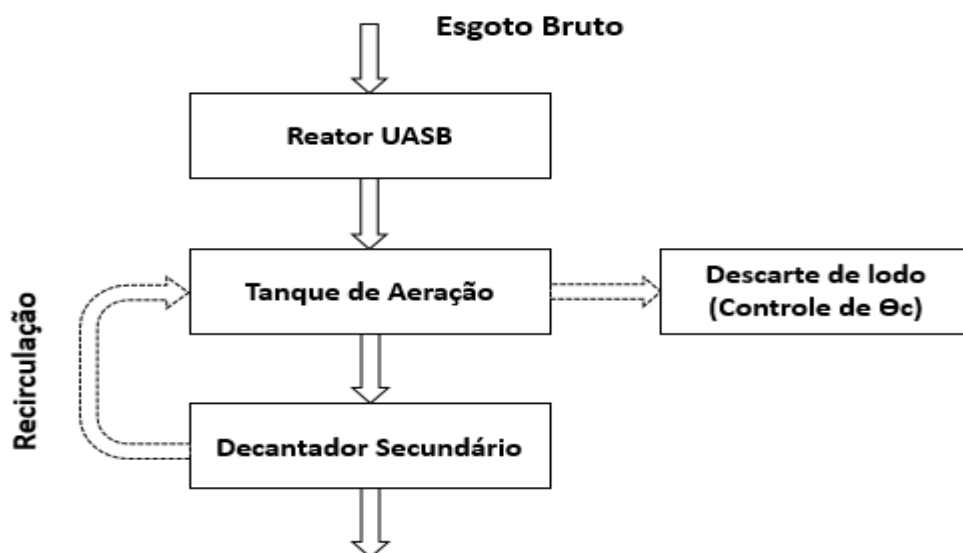


Figura 3 - Fluxograma do sistema de tratamento utilizado no projeto

O projeto utilizou o sistema para avaliação da eficiência de cada etapa com foco principal na remoção de organismos indicadores de contaminação por fezes humanas (*Escherichia coli*) e remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e de cistos de *Giardia* spp. levando em consideração parâmetros físico-químicos em cada etapa de tratamento.

Deste modo, houve uma análise do comportamento do sistema a partir da variação dos tempos de detenção hidráulica do reator UASB. Em paralelo, foi acompanhado o comportamento das características físico-químicas e suas variações.

A pesquisa foi dividida em duas etapas onde foram definidas extremos de condições operacionais (não havendo o propósito de alvitrar e avaliar uma otimização) do conjunto reator UASB e Lodo ativado, tendo como principal foco a avaliação na retenção de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. no sistema. Na Tabela 2 estão apresentadas as condições operacionais dos reatores.

Tabela 2- Definição de características para o Reator UASB e Lodo Ativado

ETAPA	Reator UASB	Lodo Ativado	
	Tempo de Detenção Hidráulica (h)	Tempo de Detenção Hidráulica (h)	Tempo de Retenção Celular (dia)
1	12	18	20
2	8	18	20

- **Reator UASB**

O reator UASB (Figura 4) teve o tempo de detenção hidráulica (Θ_h) ajustado por uma bomba dosadora sendo a alimentação de esgoto proveniente de um reservatório elevado (tanque pulmão). Esta vazão era ajustada para que o Θ_h fosse mantido como estipulado no projeto.

As dimensões do reator UASB em formato cilíndrico são de 3,0 metros de altura útil com 0,8 metros de diâmetro, totalizando um volume de 1,5 m³. Dado reator é objeto de diversas pesquisas da EESC/USP, com uma eficiência esperada em 70% de remoção de carga orgânica (SILVA, 2014).

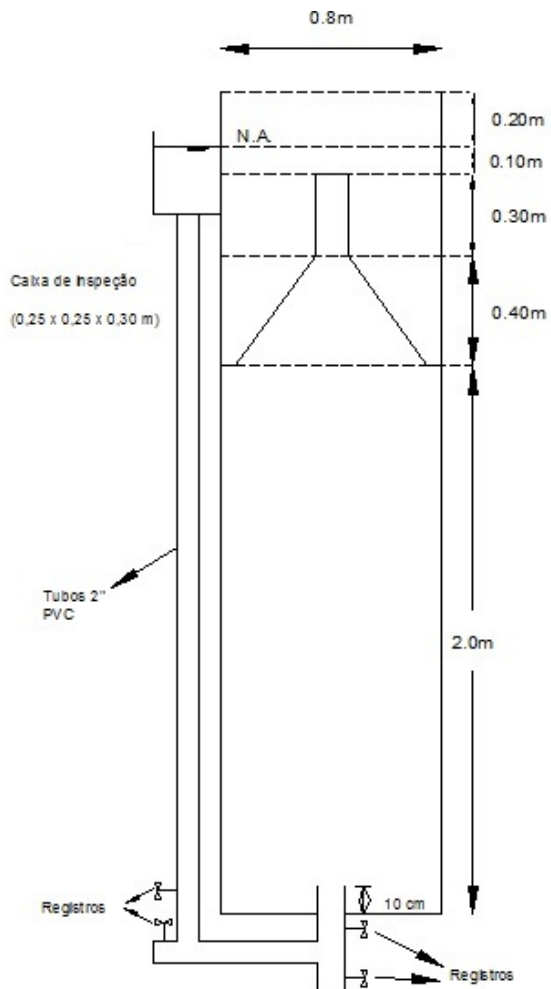


Figura 4- UASB Cilíndrico Projetado (Adaptado SILVA, 2014)

Dado reator funcionou com TDH de 12 horas na 1ª Etapa, com vazão de 125 L/h. Para a 2ª Etapa do Projeto, foi utilizado uma vazão de 187,5 L/h, visto o atendimento ao TDH de 8 horas.

- **Lodo Ativado**

O sistema de lodo ativado (Figura 5) consiste em um tanque de aeração seguido de um decantador secundário. Assim como o reator UASB, sua vazão de entrada era ajustada por uma bomba dosadora sendo proveniente de um tanque pulmão no qual armazenava o efluente do reator UASB. Esta vazão era ajustada para que o Θ_h fosse mantido como estipulado no projeto. A vazão afluyente mínima foi de 65 L/h, atendendo o Θ_h de 18 horas (Etapas 1 e 2).

O tanque de aeração possui as dimensões $0,81 \text{ m}^2$ de área em planta (largura e comprimento iguais) e 1,6 metros de altura útil, totalizando um volume de $1,296 \text{ m}^3$. A

operação do reator foi em escoamento contínuo e a aeração era realizada por um compressor de ar e difusão por membrana.

O decantador secundário possui as dimensões de 0,20 x 0,40 m de lado e altura útil de 1,5 metros, com volume útil totalizado em 1,25 m³. O TDH utilizado era de 2 horas e a taxa de aplicação de 20 m/dia, tendo vazão de recirculação de 25 L/h. Para melhor sedimentação e evitar “curtos-circuitos”, foi adicionado ao decantador um anteparo de 60 cm de profundidade, permitindo uma melhora na distribuição de entrada e melhor sedimentação do lodo.



Figura 5 - Sistema de Lodo Ativado - (1) Tanque de Aeração; (2) Decantador Secundário

Como operação do sistema, a concentração de oxigênio dissolvido foi mantida entre 1,0 e 3,5 mg/L, sendo esta quantidade de ar aplicada suficiente para manter a concentração de oxigênio dissolvido pré-fixada e ao mesmo tempo garantir a mistura no tanque de aeração.

O controle do tempo de retenção celular seria feito no tanque de aeração, sendo o descarte direto do próprio tanque. A programação dos descartes era a realização diária, com dependência ao tempo de retenção celular desejado, como realizado por Silva (2014). Entretanto, devido à perda de sólidos, o descarte foi interrompido para crescimento da biomassa no sistema.

4.2 Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas contemplaram a detecção e contagem de bactérias (*E. coli*) e protozoários (*Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.), ambos pelas metodologias descritas nos próximos tópicos.

Como procedimento preparatório para os ensaios em amostras de lodo (provenientes do Lodo Ativado e UASB), foi adotada a utilização de um meio físico para a liberação dos microrganismos do floco biológico, diminuindo o encapsulamento dos mesmos. Assim, foi utilizado um homogeneizador (“Blender”) na tentativa de determinação mais concisa e próxima à realidade, visto a tentativa de separação dos flocos biológicos, resultando em uma liberação dos microrganismos encapsulados (Adaptado CETESB, 2007).

4.2.1 Exames Bacteriológicos (Coliformes Totais e *Escherichia Coli*)

A técnica utilizada para a quantificação de coliformes totais e *E. coli* foi a de “pour plate” que consiste na utilização do meio Chromocult® Coliform Agar na determinação simultânea da presença de coliformes totais e *E. coli*. Segundo Lorenção (2009), este procedimento é aconselhado devido à dificuldade encontrada na utilização de membranas (normalmente utilizada em amostras de água) devido ao alto teor de sólidos existente nas amostras de efluentes domésticos.

Em precedência, foi empregado o método de diluições decimais devido ao alto número de microrganismos presentes na amostra bruta, o que é demasiado elevado para ser contado diretamente. Assim, este método baseia-se na diluição da amostra em frações de 10, como exemplificado na Figura 6.

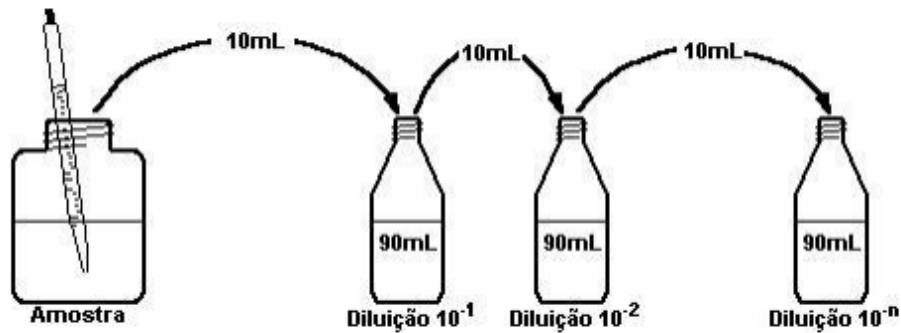


Figura 6 - Preparo das diluições decimais (CETESB, 2007)

Em sequência, eram inoculados 1 mL de amostra em placas de Petri estéril e descartáveis, com posterior adição de 9 mL do meio Chromocult® Coliform Agar com temperatura entre 50°C e 55°C. Foi realizado então a incubação das placas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 ± 1 hora.

Dada técnica possuía como identificação dos microrganismos a coloração apresentada no meio de cultura nas placas de Petri. Para coloração azul-escura/violeta eram identificadas como *E. coli* sendo que, somada as de coloração vermelha, era o quantitativo total de coliformes totais, como demonstrada na figura 7.

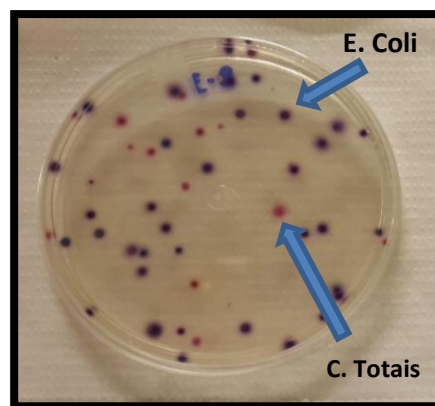


Figura 7 - Placa contaminada com colônias de *E. coli* e coliformes totais.

4.2.2 Exames de Protozoários

Para a detecção e quantificação dos (oo)cistos, as amostras foram submetidas a técnica de separação imunomagnética (IMS) com posterior utilização da técnica de Reação de Imunofluorescência Direta (RID).

A metodologia aplicada na quantificação de cistos de *Giardia* spp. e de oocistos de *Cryptosporidium* spp. foi adaptada para cada condição das amostras examinadas. Isto se deve à quantidade variável de sólidos em suspensão dependente sobretudo do ponto de coleta e, conseqüentemente, das etapas de tratamento pelo qual a amostra coletada já havia passado. Assim, em dependência da quantidade de turbidez da amostra, foram realizados procedimentos preparatórios anteriores à etapa de IMS, a fim de realizar a concentração dos microrganismos, como detalhado na Figura 8.

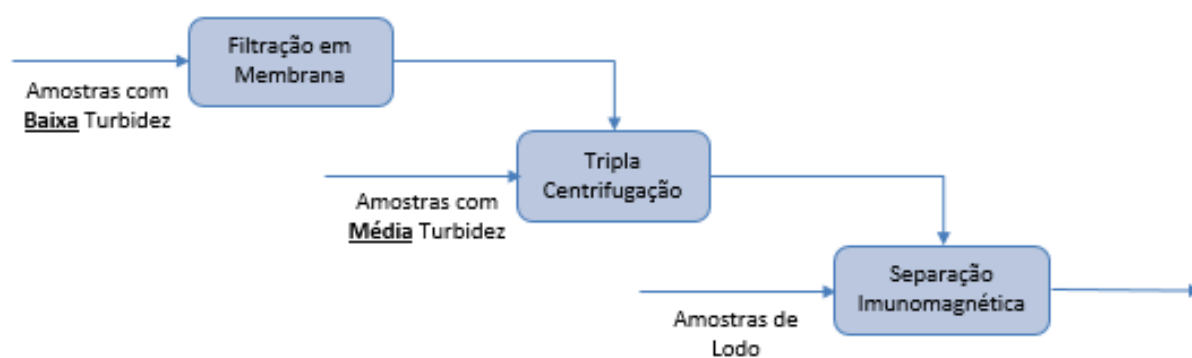


Figura 8 – Fluxograma de Metodologias para Análise de Protozoários (*Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.)

A filtração em membrana foi utilizada para amostras do efluente do sistema de lodo ativado, devido à baixa quantidade de sólidos. A tripla centrifugação foi utilizada para esgoto bruto e efluente do reator UASB, devido à quantidade de sólidos nas amostras. Como a quantidade de sólidos nos lodos (reator UASB e Lodo Ativado) é relativamente alta, a etapa de concentração das amostras não foi utilizada sendo aplicada a técnica de IMS Direto. Na Tabela 3 estão relacionados os procedimentos utilizados na preparação das amostras para exames de protozoários

Tabela 3 - Tipo de amostra e método utilizado anterior ao IMS.

Amostra	Método Utilizado
Efluente Bruto	Centrifugação seguida de IMS
Efluente do reator UASB	Centrifugação seguida de IMS
Efluente do Sistema de Lodo Ativado	Filtração em membrana seguido de IMS
Lodo do reator UASB e de Recirculação	IMS Direto

4.2.2.1 Coleta e Procedimentos iniciais

As amostras foram coletadas em frascos de 1 litro previamente lavados e desinfetados. Todos os instrumentos laboratoriais que tivessem contato direto com as amostras foram enxaguados com solução de eluição – Tween 80 (0,1%; v/v), a fim de evitar a adesão dos (oo)cistos nas paredes de frascos, pipetas e demais instrumentos, ocasionando perdas.

Seguindo orientação do método 1623.1 da EPA, todas análises foram iniciadas, no máximo, em 72 horas após a coleta.

4.2.2.2 Etapa de Concentração: Tripla Centrifugação

O método de tripla centrifugação foi indicado por MEDEIROS (2013), sendo aplicado para concentração e purificação das amostras do esgoto bruto e do efluente do reator UASB, conforme protocolo modificado de ROBERTSON et. al. (2000):

- 150 mL da Amostra foram colocadas em um frasco erlenmeyer, já pré-preparado com a adição de 50 mL de Tween 80 (0,1%), totalizando 200 mL;
- Foi deixado em um agitador magnético por 3 minutos a fim de efetuar a homogeneização;
- Em seguida, o volume foi repassado a tubos de centrifugação de 50 mL de capacidade (4 tubos por amostra);
- Assim, foi iniciada a primeira centrifugação a 1500 x *g* pelo período de 15 minutos;
- O sobrenadante foi retirado, deixando um volume aproximado de 1 mL em cada tubo;
- Este volume foi levado ao vórtex com o propósito de homogeneização do sedimento formado;
- Em seguida, o volume de 1 mL de três tubos foi centralizado em apenas um tubo, totalizando 4 mL e apenas um tubo com sedimento por amostra;
- Os três tubos restantes, vazios, foram lavados com 1,5 mL de água deionizada – duas vezes – sendo este volume também repassado ao tubo de centrifugação que se encontrava com 4 mL;

- Deste modo, após as lavagens, totalizou-se 13 mL sendo completado com água deionizada até o volume final de 15 mL;
- Assim, deu início a segunda centrifugação do tubo com 15 mL, a 1500 x *g* por 15 minutos;
- Seguiu-se com uma nova retirada do sobrenadante, deixando aproximadamente 0,5 mL no tubo;
- Este volume foi levado ao vórtex para homogeneização;
- Com o auxílio de uma pipeta, o volume de 0,5 mL foi transferido para um tubo de micro centrifugação (1,5 mL de capacidade);
- O tubo de centrifugação foi lavado com 0,5 mL de água deionizada, com posterior adição deste volume ao tubo de micro centrifugação, totalizando 1 mL;
- Assim, iniciou-se a terceira centrifugação, a 1500 x *g* por 15 minutos;
- Houve novamente a retirada do sobrenadante, deixando apenas 0,5 mL no tubo de micro centrifugação;
- Dado tubo foi levado ao vórtex e encaminhado a etapa de IMS, descrito na continuação deste procedimento;
- Ressalta-se que há a possibilidade de interrupção do procedimento com a conservação da amostra no tubo de micro centrifugação, podendo ser deixado em “overnight” em geladeira à temperatura de 5 a 10°C sendo que todo processo deve ser concluído em, no máximo, 96 horas após a etapa de concentração

4.2.2.3 Etapa de Concentração: Filtração em Membrana

O método de filtração em membrana foi modificado de FRANCO et. al. (2001) e SANTOS (2007), sendo utilizado para as amostras de baixa turbidez (abaixo de 25 NTU). Este método foi utilizado nesta pesquisa em efluente de lodo ativado.

- Para início do procedimento, membranas de ésteres mistos de celulose (porosidade de 3 μm – 47 mm de diâmetro, Millipore) foram colocadas no suporte de filtração;
- Foram adicionadas algumas gotas de solução de eluição na membrana, a fim de umedecer levemente;
- Foram adicionados aproximadamente 1 litro de amostra de baixa turbidez por bomba de vácuo (Marconi) com fluxo de 4 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ e pressão de 500 mm Hg;
- Ressalta-se que mais de uma membrana foi necessária para a filtração de 1 litro de amostra, sendo que a dosagem era realizada cuidadosamente até colmatar a membrana;
- Quando não era mais possível a filtração, a membrana era transferida para uma placa de Petri pré-preparada com 5 mL solução de eluição;
- Deste modo, outra membrana era colocada no suporte de filtração e o procedimento era reiniciado até que toda a amostra inicial (1 litro) fosse filtrada;
- Destaca-se que, caso a amostra apresente turbidez baixa porém o suficiente para se utilizar mais de 10 membranas para a filtração de 1 litro, é aconselhável a utilização da etapa de concentração por tripla centrifugação;
- Com o fim da filtração e a transição das membranas do suporte do filtro para as placas de Petri, iniciou-se o processo de raspagem;
- Ressalta-se que há a possibilidade de armazenamento das placas de Petri antes do processo de raspagem por até 48 horas, atentando-se à necessidade de manter as placas de Petri fechadas e as membranas umedecidas com solução de eluição;
- A raspagem foi realizada com alça plástica para cada amostra durante 10 minutos, em intervalos intermediários de 3 minutos;
- Após os 3 minutos, a raspagem era interrompida e o volume contido na placa de Petri (5 mL) era transferido para tubo de centrifugação de 50 mL;
- Assim, após a transferência, a membrana era novamente umedecida com 5 mL de solução de eluição, retornando-se ao processo de raspagem por mais 3 minutos;
- Após a realização das 3 raspagens, o tubo de centrifugação totalizava 15 mL;

- A raspagem foi realizada em todas as membranas, sendo que o volume de raspagem de cada foi transferido para um tubo de centrifugação;
- Com a conclusão da etapa de filtração, os tubos de centrifugação foram encaminhados para a centrífuga a 1500 x *g* e por um período de 15 minutos;
- Após a centrifugação, o sobrenadante foi retirado deixando apenas 5 mL restante;
- Este volume foi levado ao vórtex a fim de realizar a homogeneização;
- Adicionou-se ao tubo 10 mL de água destilada, totalizando 15 mL;
- Iniciou-se a terceira centrifugação a 1500 x *g* e 15 minutos;
- Após a segunda centrifugação, foi retirado o sobrenadante e deixou-se apenas 0,5 mL;
- Este volume foi repassado a um tubo de micro centrifugação;
- O tubo de centrifugação foi lavado duas vezes com 0,5 mL de água deionizada e o seu conteúdo transferido também aos tubos de micro centrifugação, totalizando 1,5 mL;
- Assim, iniciou-se a terceira centrifugação a 1500 x *g* e 15 minutos;
- O sobrenadante foi retirado, deixando apenas 0,5 mL no tubo de micro centrifugação;
- Dado tubo foi levado ao vórtex e encaminhado à etapa de IMS, descrito na continuação deste procedimento;
- Ressalta-se que há a possibilidade de interrupção do procedimento com a conservação da amostra no tubo de micro centrifugação, podendo ser deixado em “overnight” em geladeira à temperatura de 5 a 10°C sendo que todo processo deve ser concluído em, no máximo, 96 horas após a etapa de concentração.

4.2.2.4 IMS direto

Este método foi adaptado de McCUIN & CLANCY (2005), sendo utilizado para amostras de lodo dos reatores de Lodo Ativados (lodo de recirculação) e reator UASB.

Este procedimento é uma preparação para o método de IMS. Não caracteriza um processo de concentração, visto a alta quantidade de sólidos presentes nas amostras de lodo.

- Desta forma, foi pesado 1,0 g de amostra (peso úmido) no próprio tubo de Leighton (T_{PL}).
- Completou-se o volume até 10 mL com água deionizada (volume requerido pelo procedimento);
- Foi encaminhado ao procedimento de Purificação – IMS, sendo que, neste caso, o processo de IMS começa a partir da adição das soluções tampão (A e B) do Kit IMS, como descrito no próximo tópico;

4.2.2.5 Purificação/Separação Imunomagnética – IMS

A separação imunomagnética constitui como uma etapa importante na detecção de (oo)cistos. Com esta técnica, é possível concentrar os (oo)cistos de uma maneira que propicie uma leitura com maior limpeza, com o mínimo possível de interferentes. Ressalta-se o funcionamento dos concentradores de partículas que tem como principal função capturar com o ímã os Dynabeads ligados aos protozoários.

- Colocou-se o kit IMS (Invitrogen Dynal AS, Norway) em repouso fora da geladeira a fim de deixá-lo à temperatura ambiente antes de sua utilização;
- Colocou-se a amostra proveniente das etapas anteriores no vórtex, com o intuito de homogeneização;
- Despejou-se a amostra em um tubo de lado plano (T_{PL}) (Dynal® L10 tubes, Invitrogen Dynal AS, Norway);
- Realizaram-se três lavagens no tubo de micro centrifugação com 1,0 mL de água deionizada, adicionando ao T_{PL}, totalizando 3,5 mL;
- Completou-se o T_{PL} com 6,5 mL de água deionizada, totalizando 10 mL;
- Acrescentou-se 1 mL de cada solução tampão (A e B) do kit IMS;

- Foram adicionados, ao T_{PL}, 100 µL de Dynabeads anti-Giardia e 100 µL de Dynabeads anti-Cryptosporidium;
- O T_{PL} foi encaminhado ao misturador de amostras (Dynabeads® Sample Mixer, INTivrogen™ USA) por uma hora, mantendo sua velocidade em 18 rpm;
- Após transcorrido uma hora, levou-se o T_{PL} ao concentrador de partículas magnéticas (DynaL MPC – 1, Invitrogen Dynal AS, Norway), com o lado reto do T_{PL} voltado ao concentrador;
- Efetuou-se rotações de 90° por 2 minutos, mantendo uma média de uma rotação por segundo;
- Inverteu-se o T_{PL} retirando o sobrenadante mantendo o lado plano para cima sem desacoplar do concentrador de partículas.
- Após retirar o sobrenadante, o T_{PL} foi retirado do concentrador e foram efetuadas duas lavagens de 0,5 mL com tampão A com diluição a 10 vezes;
- Coletou-se o volume do T_{PL} com pipeta Pasteur e transferiu-se para tubos de micro centrifugação;
- Estes tubos foram realocados em outro concentrador de partícula (MPC – S, Invitrogen Dynal AS, Norway), com a faixa magnética no local;
- Efetuaram-se rotações de 90° por 1 minuto;
- Em seguida, o sobrenadante foi aspirado e descartado;
- Retirou-se a fita magnética e o volume final foi encaminhado à etapa de dissociação ácida dos (oo)cistos;

4.2.2.6 Dissociação ácida de (Oo)cistos

- Foi adicionado 50 µL de ácido clorídrico (0,1 N) nos tubos de micro centrifugação;
- Os tubos de micro centrifugação foram levados ao vórtex por 10 segundos;
- Os tubos de micro centrifugação foram colocados no concentrador de partículas magnéticas (MPC – S) sem a fita;

- Deixou-se em repouso por 10 minutos, em posição vertical;
- Após decorrido este tempo, cada tubo foi levado ao vórtex para homogeneização;
- Os tubos foram colocados novamente no concentrador de partículas (MPC – S);
- Foi inserida a fita magnética e manteve-se em repouso por, no mínimo, 10 minutos;
- Durante o repouso, foi realizada a preparação da lâmina para leitura, adicionando 5 µL de NaOH (Hidróxido de Sódio) no poço (well) das lâminas, a fim de neutralizar os 50 µL de ácido;
- Após o repouso, foi transferido os 50 µL dos tubos de micro centrifugação para o primeiro poço da lâmina;
- Com isso, foi deixado em repouso para secagem em temperatura ambiente, por 4 horas, a fim de iniciar a etapa de detecção e identificação de (oo)cistos;

4.2.2.7 Detecção e Identificação

Reação de Imunofluorescência Direta (RID)

- Após a secagem das amostras, presentes nos poços (wells) das laminas, foi feita a fixação com metanol absoluto, por 10 minutos;
- Na ausência de luz direta, adicionou-se no centro de cada poço, uma gota do fluido de detecção (Detection Reagent) e uma gota do contra-corante (Counsterstains), ambos presentes no Kit Merifluor;
- Espalhou-se o reagente por todo poço com a ajuda de uma alça plástica;
- A placa foi deixada em câmara escura e úmida, à 37°C, por 30 minutos;
- Após o período, ainda na ausência de luz direta, foi efetuada a lavagem em 3 etapas de 50 µL de solução tampão diluída 20x em cada um dos poços, totalizando uma lavagem de 150 µL;
- Com o auxílio de um papel absorvente, foi removido o excesso das soluções ao redor dos poços;

- Na sequência foram aplicados 50 µL do corante vital DAPI (4', 6 – diamidino -2fenil – indol) (DAPI – Sigma Aldrich®);
- Colocou-se, novamente, em câmara úmida e escura por 10 minutos;
- Após esse período, foi realizada novamente a lavagem com solução tampão diluída 20x em cada um dos poços, novamente com o volume total de 150 µL divididos igualmente em três etapas de lavagem de 50 µL;
- Aplicou-se 10 µL de água ultrapura para evitar a formação de cristais na lâmina;
- Foi retirado o excesso de água ultrapura, inclinando a lamina em 45°, finalizando com uma limpeza com papel absorvente ao redor do poço;
- Adicionou-se uma gota do meio de montagem do Kit Merifluor em cada poço;
- Colocou-se a lamínula sobre o poço, evitando ao máximo a formação de bolhas;

4.2.2.8 Leitura em Microscópio

As amostras foram examinadas em microscópio de epifluorescência (Olympus BX51), com aumento de 300 a 800 vezes. Através da técnica de Imunofluorescência, foi pesquisada a ocorrência de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. confirmando a presença destes por DAPI e inferindo por iodeto de potássio (IP), sendo demonstrado na Figura 9. Destaca-se instrução do método 1623.1 no qual indica a leitura da lâmina em até 7 dias.

Deste modo foram avaliadas a presença de estruturas esféricas de 4 a 6 µm – oocistos; e ovoides de 8 a 18 µm de comprimento por 5 a 15 µm de largura – cisto. A parede mostrou-se fluorescência verde-maçã brilhante, sem poros ou apêndices e apresentando sutura visível do (oo)cisto (exibindo forte fluorescência).

Para o teste com DAPI, o (oo)cisto deverá apresentar uma ou mais das seguintes características (USEPA, 2005): dois a quatro núcleos azul-claros; intensa coloração azul interna; ligeira coloração azul interna (sem núcleos distintos) e uma borda verde. Em caso de

ocorrência das duas primeiras características, o registro foi informado como DAPI + e, no caso de ocorrência da terceira característica, em DAPI -.

Para o teste com IP, os (oo)cistos identificados por imunofluorescência e DAPI serão diferenciados em: IP - (não penetração do reagente iodeto de propídio no (oo)cisto – viável); IP+ (Penetração do reagente no (oo)cisto – não viável);

Ressalta-se que a utilização do IP é apenas para observação geral, não sendo conclusiva a não viabilidade dos cistos. Usa-se essa técnica devido à simplicidade comparada aos testes de infecciosidade *in vivo*, ao seu custo baixo e indicações iniciais que a estrutura do cisto está danificada ou não.

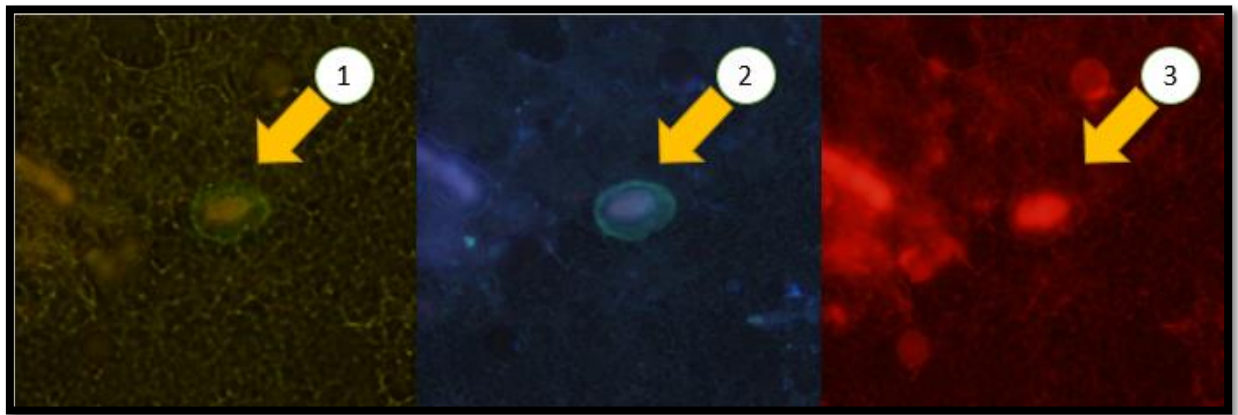


Figura 9 – Identificação de Cisto de *Giardia* spp: (1) Imunofluorescência; (2) Teste de DAPI; (3) Teste de Viabilidade com IP;

4.2.2.9 Contagem dos (oo)cistos

Para a contagem dos (oo)cistos presentes nas amostras foi adotada metodologia (equação 1) proposta por CANTUSIO NETO (2004). Em relação a amostras de lodo, foi adotada a equação 2, conforme modificado por BONATTI (2007).

$$n^{\circ} \text{ de } (oo)\text{cistos} \left(\frac{n^{\circ}}{mL} \right) = \frac{n^{\circ} \text{ de } (oo)\text{cistos detectados} \times 10^6 \times \text{volume total de sedimento (mL)}}{\text{volume de sedimento na lâmina } (\mu\text{L}) \times \text{volume da amostra (mL)}} \quad (I)$$

$$n^{\circ} \text{ de } (oo)\text{cistos} \left(\frac{n^{\circ}}{g \text{ de ST}} \right) = \frac{n^{\circ} \text{ de } (oo)\text{cistos detectados} \times 10^3 \times \text{volume total de sedimento (mL)}}{\text{volume de sedimento na lâmina } (\mu\text{L}) \times \text{massa de amostra (mL)}} \quad (II)$$

4.2.2.10 Controle Negativo

Foram realizados ensaios de controle negativo para avaliar contaminação no decorrer da análise, utilizando amostras de água deionizada em substituição a amostras de esgoto/lodo.

4.3 Análises Físico-químicas

Para a realização das análises físico-químicas foram seguidos os procedimentos descritos em Standard Methods for a Examination of Water and Wastewater (APHA et al, 2009), tendo como local de realização o Laboratório de Tratamento Avançado e Reuso de Água – LATAR, da Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo. Na Tabela 4 estão relacionadas as variáveis analisadas e a respectiva metodologia utilizada.

Tabela 4 - Parâmetros examinados e Metodologias correspondentes (APHA et al, 2009)

Variável	Metodologia
pH	4500 B
Temperatura	2550 B
Turbidez	2130 B
Oxigênio Dissolvido	4500-O G
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	5220 D
Coliformes Totais	9222 B
Escherichia Coli	9222 D
Sólidos Totais (ST)	2540 B
Sólidos Totais Voláteis (STV)	2540 E
Sólidos Totais Fixos (STF)	2540 B
Sólidos Suspensos Totais (SST)	2540 B
Sólidos Suspenso Voláteis (SSV)	2540 E
Sólidos Suspenso Fixos (SSF)	2540

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Monitoramento Estação de Tratamento de Esgoto Piloto

A estação de tratamento de esgoto da USP São Carlos, alvo do presente estudo, recebe esgotos de todo o campus da Universidade, assim como grande parte dos bairros adjacentes, como descrito no tópico anterior. Visto a abrangência e características do esgoto doméstico que seria ali tratado, a instalação do presente projeto piloto foi montada em paralelo ao tratamento principal, compartilhando apenas na utilização do gradeamento primário e caixa de areia.

Desta forma, o efluente da caixa de areia era bombeado ao sistema do projeto, onde era submetido a armazenamento em tanques pulmões com posterior encaminhamento ao reator UASB através de bomba dosadora. Há de ressaltar que a vazão do esgoto na dada estação varia conforme o número de usuários – estudantes, funcionários e visitantes – havendo menor vazão no período de férias escolares.

Assim como Medeiros (2010, 2013) e Silva (2014), autores que utilizaram a mesma estação de tratamento, na presente pesquisa foram observadas em algumas ocasiões, características não usuais em esgoto doméstico como, por exemplo, coloração azul, vermelha e amarela no afluente. Tais propriedades podem ser ocasionadas por lançamento irregular na rede de esgoto, provido de fontes desconhecidas.

Medeiros (2013) cita em seu trabalho resultados de mais de 4000 mg.L^{-1} nas amostras de DQO afluente, ressaltando a presença de afluente desconhecido (Figuras 10 e 11), este com características semelhantes às encontradas no presente projeto quando foi observada DQO máxima de 2000 mg.L^{-1} no afluente, resultado muito além dos encontrados em literatura para esgoto doméstico, descrito como, em média, de 500 mg.L^{-1} (METCALF E EDDY, 2003).



Figura 10 - Afluente na ETE USP São Carlos com cor não característica de esgoto doméstico (MEDEIROS, 2013)



Figura 11 - Esgoto afluente à ETE USP São Carlos com cor não característica de esgoto doméstico

Na Figura 12 está representada a variação de DQO conforme o monitoramento da ETE.

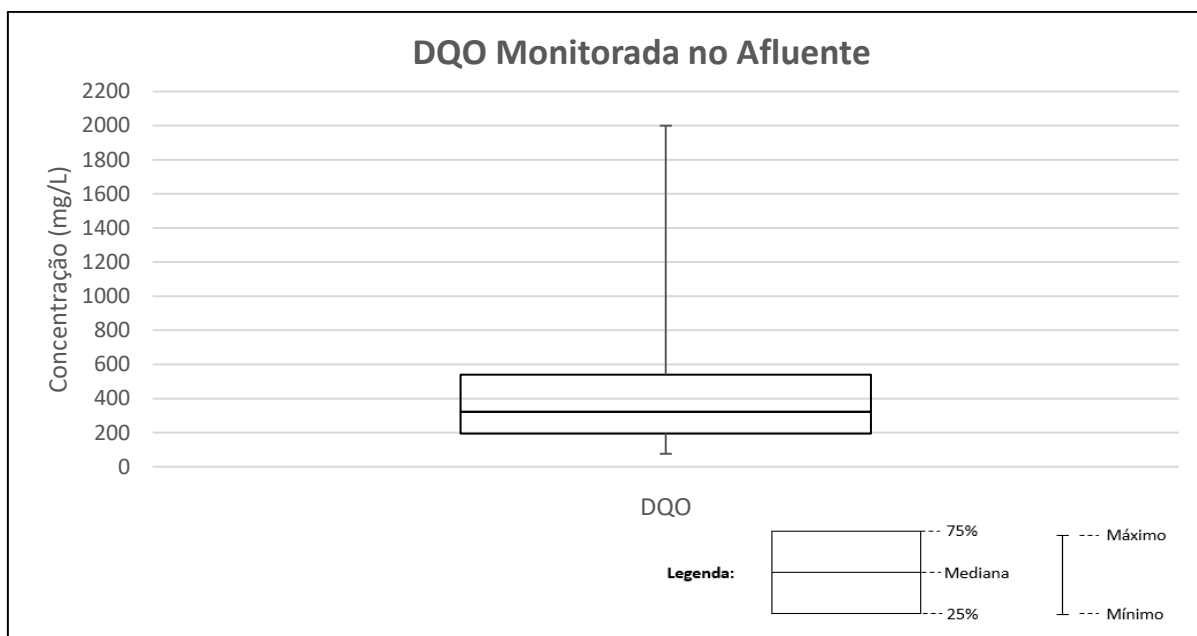


Figura 12 - DQO monitorada no afluente da ETE no período de pesquisa (2014 - 2015)

Pode-se observar que houve máximo de DQO de até 2000 mg/L, com média de 485 mg/L no período monitorado. Destaca-se que há influência nesta variável pela diluição em períodos chuvosos com ligações irregulares de canais de drenagem de água pluvial na rede de coleta de esgoto dos bairros atendidos. Observa-se também que parte da DQO presente no esgoto que chega a ETE é retida no tratamento preliminar e nos tanques pulmões, necessários para a regularidade de vazão afluente às instalações experimentais. Medeiros (2013) observou para o mesmo afluente valores médio e máximo de DQO de 1131 e de 4628 mg/L, respectivamente, sendo valores muito mais altos que os encontrados nesta pesquisa. Com relação a SILVA (2014), autor que também utilizou do mesmo afluente contribuinte, foram observados valores médio e máximo de DQO, respectivamente, de 722 e 1223 mg/L para 5 ensaios realizados. Tais valores se encontram mais próximos ao desta pesquisa visto que houve períodos de concomitância dos ensaios feitos nas duas pesquisas.

Na Figura 13 está representada a variação da concentração de sólidos no esgoto bruto afluente à ETE durante o período de monitoramento.

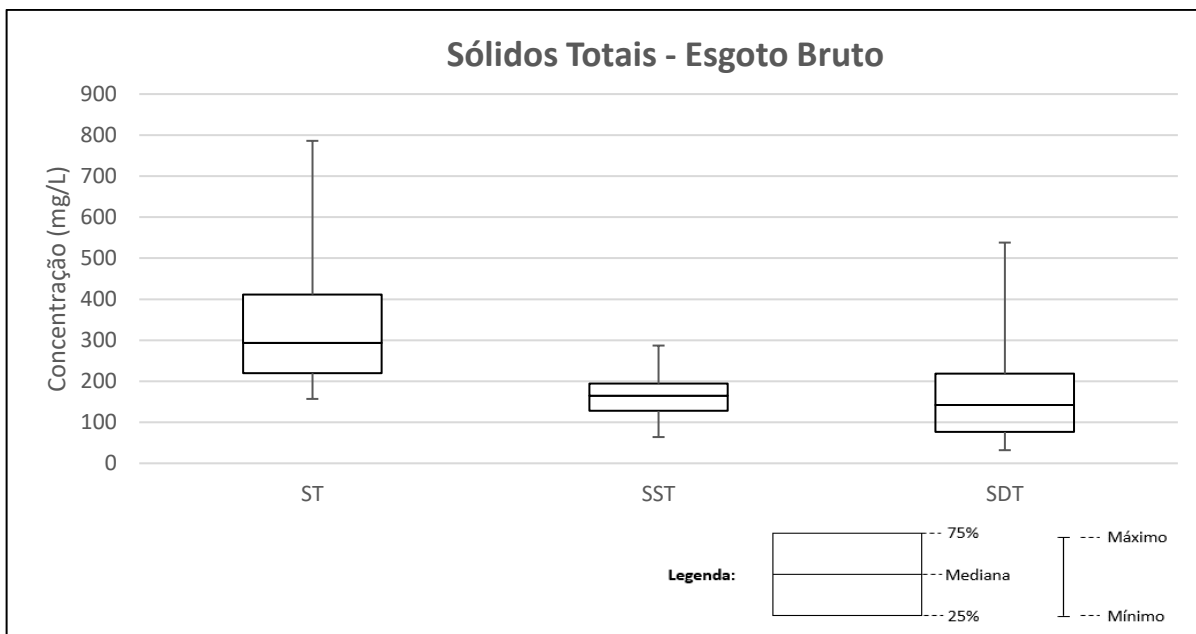


Figura 13 - Concentração de sólidos no esgoto bruto

As concentrações de sólidos totais observadas no esgoto bruto mantiveram-se na faixa normalmente indicada na literatura (MEDEIROS, 2013; METCALF & EDDY, 1991), mantendo maior quantidade de sólidos dissolvidos em relação aos sólidos suspensos, apesar desta relação não ser tão ampla. Resultados das razões SDT/ST foram de, em média, 56% e SST/ST de 44%, caracterizados na literatura como valores de 65% e 35% para ambas as relações respectivamente.

Quanto aos resultados de sólidos totais (Figura 14), foram observadas maiores concentrações de sólidos totais voláteis em relação aos sólidos totais fixos, característica comum de esgoto bruto que contém maior participação de matéria orgânica nos sólidos. Tratando-se de sólidos em suspensão (Figura 15), há uma larga vantagem da presença de sólidos voláteis, caracterizando maior presença de componentes orgânicos em relação a componentes minerais na formação dos sólidos suspensos. Tais resultados podem ser consequência do tratamento primário existente na ETE, reduzindo consideravelmente os sólidos fixos, assim como pressuposto de um esgoto bruto com características tão específicas.

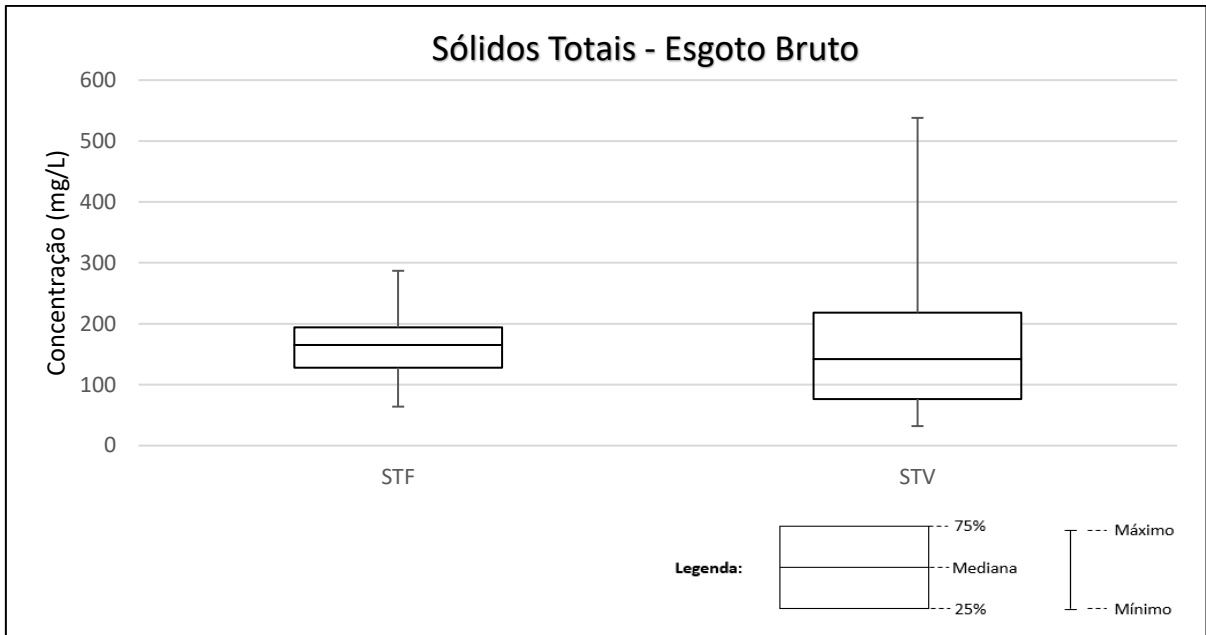


Figura 14 - Concentração de sólidos totais fixos e voláteis em amostras de esgoto bruto

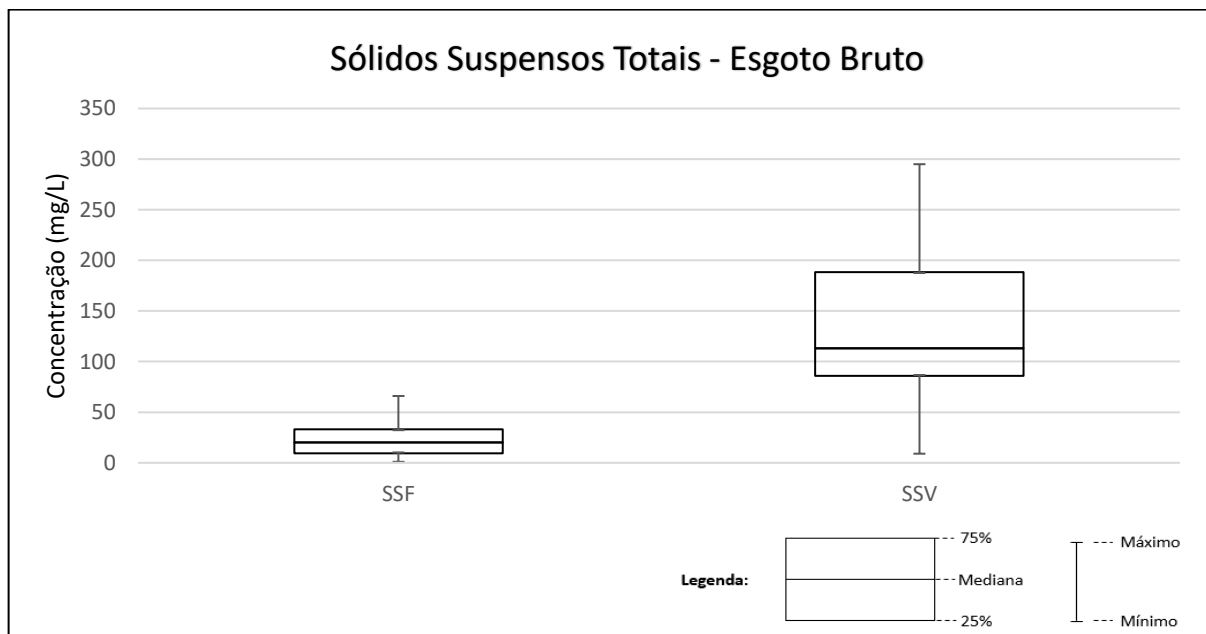


Figura 15 - Concentração de sólidos suspensos fixos e voláteis em amostras de esgoto bruto

A caracterização físico-química e de concentração de sólidos dos esgotos foi descrita por METCALF & EDDY (1991) e classificada em forte, média e fraca, conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Características físico-químicas e concentração de sólidos dos esgotos. Adaptado de METCALF & EDDY, (1991)

Variável	Forte	Média	Fraca
DQO (mg/L)	1000	500	250
Sólidos Totais – ST (mg/L)	1200	720	350
Sólidos Totais Voláteis – STV (mg/L)	800	465	225
Sólidos Totais Fixos – STF (mg/L)	925	665	330
Sólidos em Suspensão Totais – SST (mg/L)	350	220	100
Sólidos em Suspensão Voláteis – SSV (mg/L)	275	165	80
Sólidos em Suspensão Fixos – SSF (mg/L)	75	55	20
Sólidos Dissolvidos Totais – SD (mg/L)	850	500	250

As características físicas e químicas do afluyente da ETE USP São Carlos, de interesse para a presente pesquisa, estão relacionadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Características físicos e químicas do esgoto bruto em monitoramento da ETE USP São Carlos

Variável	Média	Desvio Padrão	<i>Fraca</i>
pH	6,78	± 0,15	-
Temperatura	22,1	± 2,13	-
Turbidez	71	± 27	-
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	485	± 467	<i>250</i>
Sólidos Totais (ST)	358,25	± 145,46	<i>350</i>
Sólidos Totais Voláteis (STV)	162,67	± 110,33	<i>225</i>
Sólidos Totais Fixos (STF)	175,75	± 49,167	<i>330</i>
Sólidos Suspensos Totais (SST)	161,14	± 85,59	<i>100</i>
Sólidos Suspenso Voláteis (SSF)	138,07	± 73,653	<i>80</i>
Sólidos Suspenso Fixos (SSV)	23,07	± 15,224	<i>20</i>
Sólidos Dissolvidos Totais (STD)	190,33	± 120,44	<i>250</i>

Desta forma, a comparação dos resultados obtidos (Tabela 6) com os resultados de literatura (Tabela 5) nota-se que, apesar dos extremos máximos existentes, indica que os valores médios das variáveis são referentes a esgoto fraco, segundo METCALF & EDDY (1991). Entretanto, tais características ainda necessitam de tratamento específico para adequar a qualidade do efluente mediante a degradação da matéria orgânica e a remoção de sólidos suspenso a fim de atender a legislação ambiental vigente.

5.2 Reator UASB

O reator UASB foi operado em duas etapas, com variação em seu tempo de detenção hidráulico, conforme apresentado na Tabela 7.

Tabela 7 - Etapas de operação do reator UASB

	Vazão Afluente UASB	Tempo de Detenção Hidráulica - Θh
ETAPA I	125 L/h	12 horas
ETAPA II	187,5 L/h	8 horas

Tais etapas foram feitas a fim de verificar os efeitos nas características de retenção de sólidos e microrganismos, sem o intuito de verificar uma otimização de sistemas, apenas com fins de comparação. Tais tempos de detenção hidráulico foram determinados por serem os mais comumente usados em escala plena, tendo deste modo um projeto piloto representativo.

5.2.1 Monitoramento do reator UASB

As análises físico-químicas foram realizadas com o intuito de verificar a eficiência do reator e concomitante ao monitoramento do mesmo. O reator UASB se portou de maneira esperada, sendo que na ETAPA I, com maior tempo de detenção hidráulica (12 horas), foram obtidos resultados mais satisfatórios do que a ETAPA II (8 horas de TDH), com maior eficiência

de remoção de matéria orgânica. A manta de lodo era observada através de três pontos de coleta distribuídos ao longo da profundidade do reator (Figura 16), sendo que em todo período da pesquisa não foi necessário o descarte de lodo, visto que a manta de lodo não atingiu o ponto máximo estipulado para fazer o descarte.



Figura 16 - Pontos de coleta de lodo no reator UASB. (1) Ponto mais alto, usado para verificar a altura da manta de lodo. (2) Ponto de coleta intermediária. (3) Ponto de coleta de no fundo do reator.

Os resultados das análises referentes ao monitoramento do reator UASB estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Características físicas e químicas do efluente do reator UASB

Variável	ETAPA 1 – TDH 12 horas			ETAPA 2 – TDH 8 horas		
	Valor Médio	Desvio Padrão	Eficiência Média	Valor Médio	Desvio Padrão	Eficiência Média
pH	6,78	± 0,15	-	6,98	± 0,12	-
Temperatura	24,1	± 2,1	-	22,1	± 2,3	-
Turbidez	35	± 4	52%	42	± 8	41%
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	120	± 24	67%	182	± 93	46%
Sólidos Totais (ST)	290	± 87	50%	232	± 43	30%
Sólidos Totais Voláteis (STV)	113	± 53	51%	122	± 54	24%
Sólidos Totais Fixos (STF)	90	± 22	50%	124	± 26	18%
Sólidos Suspensos Totais (SST)	85	± 68	54%	60	± 32	48%
Sólidos Suspenso Fixos (SSF)	12	± 13	53%	18	± 17	38%
Sólidos Suspenso Voláteis (SSV)	73	± 55	54%	43	± 15	52%
Sólidos Dissolvidos Totais (STD)	198	± 82	45%	154	± 52	44%

Desta forma, é observado que na ETAPA 1 a remoção de DQO e de sólidos foi maior que na ETAPA 2, devido ao maior tempo de detenção hidráulica.

Em relação à DQO, para o TDH de 12 horas, a eficiência média foi de 67%, valor próximo aos 57% encontrado por Medeiros (2013) e superior aos 36% encontrado por Silva (2014), sendo que nestes estudos foram utilizados o mesmo tempo de detenção hidráulica e afluente de mesma origem. De forma empírica, Chernicharo (2007) denota que para o TDH em questão a remoção de DQO resulta em valores de 71% de eficiência, valor este igualmente próximo aos resultados obtidos.

Para o TDH de 8 horas a eficiência na remoção de DQO foi de 46%, valor abaixo do citado por Castro (2010), que demonstra eficiência de 68% em reator UASB operado com TDH de 8,3

horas, de Gonçalves (2001) com eficiência de 66% para TDH de 8 horas e do resultado empírico de Chernicharo (2007) de 67% de eficiência.

Segundo Oliveira e Von Sperling (2005), em estudo de diversas ETEs do Estado de São Paulo e Minas Gerais – Brasil, a remoção média de DQO de reatores UASB é de 72%, considerando este valor como um desempenho razoável, porém conforme esperado para a modalidade.

Com relação a sólidos, a remoção na ETAPA I (TDH de 12 horas) foi, em média, de 50% para sólidos totais com resultados semelhantes para as diversas variações SST e SDT, Medeiros (2013) alcançou a remoção média de SST em 48%, próximo aos resultados obtidos nesta pesquisa.

Comparativamente à remoção de sólidos na ETAPA II (TDH de 8 horas), BUSATO (2004) conseguiu remoção média de 52% de SST, Gonçalves (2001) indica valores de 62% de eficiência em SST e La Iglesia (2004) de 44% de remoção de SST em reator UASB, valores relativamente maiores que os 30% encontrados. O último autor ainda cita a remoção de 76% de sólidos suspensos, também superiores aos 52% encontrados.

A remoção de Turbidez correlacionou positivamente à remoção de sólidos valores de 52% de remoção no reator UASB com TDH de 12 horas e 41% de remoção para operação em TDH de 8 horas demonstram semelhança com a retenção de sólidos, indicando assim uma correlação já preconizada na literatura abrangente.

Foi feita comparação das eficiências de remoção das variáveis físicas e químicas analisadas no reator UASB com TDH de 12 horas com relação a operação com TDH de 8 horas. A ETAPA I correspondeu às expectativas perante a literatura pesquisada com resultados próximos de diversas pesquisas com características de operação semelhantes. Na ETAPA 2 os resultados de eficiência obtidos não foram tão próximos aos citados na literatura especializada, entretanto ainda dentro das faixas citadas por diversos autores. Destaca-se que, apesar do aumento da eficiência ter relação direta com maior tempo de detenção hidráulico, na operação do reator UASB na ETAPA 2 os resultados foram influenciados por algumas anormalidades ocorrentes tais como falhas na bomba dosadora, ocasionando períodos sem regulação de vazão, assim como variações quantitativas não previstas nas características físicas e químicas do afluente, como afluentes coloridos, descritos no tópico

anterior, causando assim possível desestabilização parcial do sistema nesta etapa, influenciando na baixa remoção.

5.3 Lodo Ativado

O sistema de lodo ativado foi operado e monitorado para fins desta pesquisa durante um período de 11 meses, seguindo as especificidades descritas na Tabela 9.

Tabela 9 - Características de operação do sistema de lodo ativado

	Tipo	Vazão	TDH
Lodo Ativado	Aeração Prolongada	65 L/h	18 horas

Durante o período de monitoramento, o reator de lodo ativado apresentou concentração média sólidos suspensos voláteis extremamente baixa, em torno de 118 mg/L, sem aumento significativo dessa concentração ao longo do período de operação. Para ação de recuperação, foram inoculados, inicialmente, lodos estabilizados da Estação de Tratamento de Esgotos de Barueri (ETE Barueri) e, posteriormente em duas etapas, da Estação de Tratamento de Esgotos de Limeira (ETE Limeira), ambas com características de sistemas semelhantes ao estudado.

Com relação à concentração de oxigênio dissolvido no tanque de aeração foi definida a faixa de 1,0 a 3,5 mg/L, valores considerados como favoráveis para a manutenção da mistura completa e para o bom crescimento (CORDI et. al., 2008). Entretanto, em alguns casos a aeração foi elevada a valores maiores, como proposta par melhorar a mistura completa visto a sedimentação de lodo (ocorrida após inoculação do lodo da ETE Barueri). A variação da concentração de oxigênio dissolvido está representada na Figura 17.

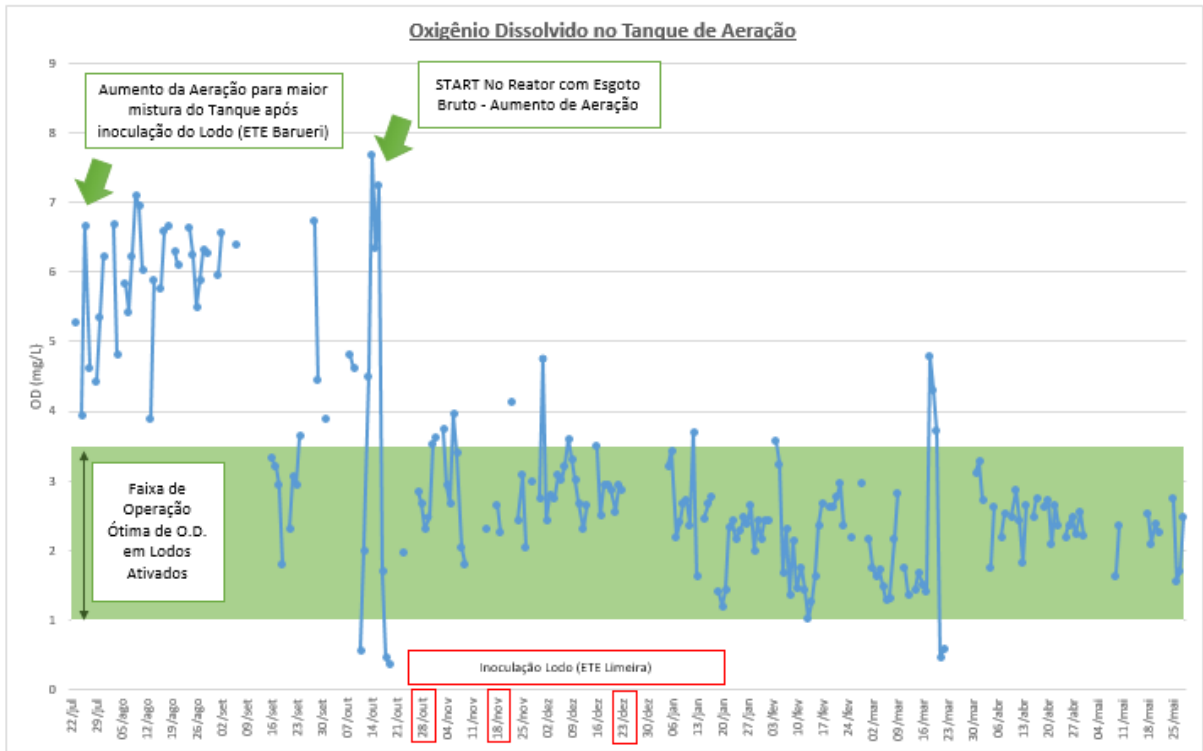


Figura 17 - Concentração de oxigênio dissolvido durante período de operação do sistema de lodo ativado (2014 - 2015)

Nos períodos pós inoculação de ambos os lodos, observou-se a clarificação do tanque de aerção e, com posterior análise, a considerável diminuição da quantidade de sólidos voláteis existentes, mostrando uma perda para o sistema (não eram efetuados descartes) contrariando as expectativas de um crescimento biológico. Após período de dois meses, a quantidade de sólidos voltou aos valores anteriores à inoculação, mostrando uma desestabilização do sistema.

Como descrito nos tópicos anteriores, a concentração média de sólidos no esgoto bruto está na faixa média baixa, tendo características de esgoto fraco segundo definição de Metcalf & Eddy, (1991). Adjunto ao tratamento no reator UASB, este sendo antecedente ao sistema de lodo ativado, acredita-se que a carga orgânica que chega ao tanque de aerção era relativamente pequena, diminuindo a quantidade de carbono e nutrientes necessários para adaptação do lodo inoculado e afetando crescimento biológico. Uma ação realizada para conter tal dificuldade foi a utilização de alimentação de esgoto bruto (sem a antecedência do reator UASB) por pequeno período a fim de aumentar a matéria orgânica no tanque de aerção. Também é válida a citação de diversos problemas como entupimentos de encanamento do sistema e paralização de bombas alimentadoras, o que diminuía o tempo de alimentação do tanque.

Com a última inoculação, o sistema manteve a concentração média de SST em 156 mg/L havendo algumas variações com pico de 355 mg SST/L (Figura 18), sendo valores abaixo do esperado para a operação convencional de tratamento de lodo ativado com aeração prolongada, para o qual é amplamente divulgado na literatura valores de 1500 a 4000 mg SSV/L (CORDI, et al. 2008).

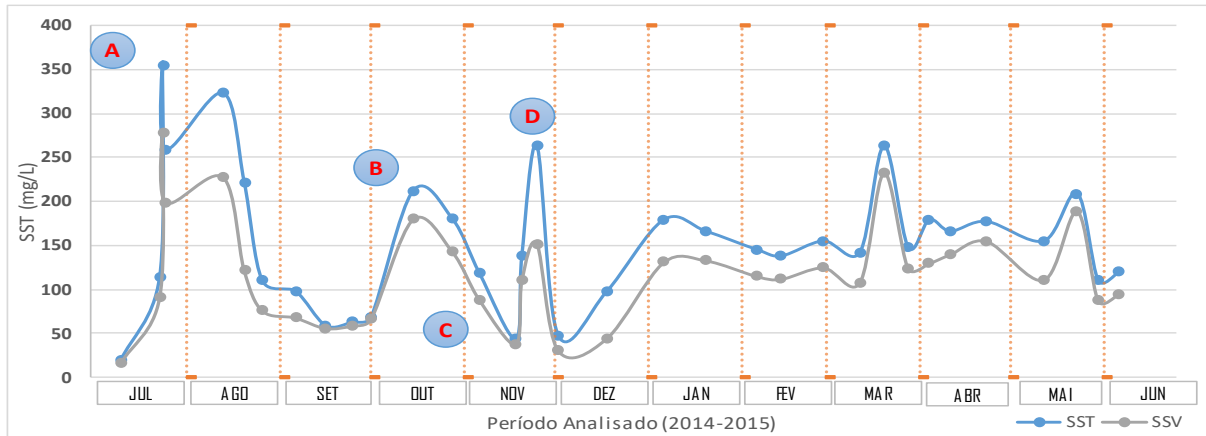


Figura 18 - Monitoramento de SST e SSV no tanque de aeração. Eventos: (A) Inoculação de lodo da ETE Barueri. (B) Direcionamento de esgoto bruto direto ao tanque de aeração. (C) 1ª Inoculação de lodo ETE Limeira. (D) 2ª Inoculação de lodo da ETE Limeira.

Ressalta-se que o comportamento do lodo ativado é dependente da situação biológica, sendo esta influenciada pela carga orgânica afluyente, assim como temperatura, oxigênio dissolvido e demais variáveis físico-químicas. Mesmo contendo uma operação assistida satisfatória, o comportamento biológico, apesar de estimado, é desprovido de controle totalmente preventivo, sendo susceptível a intempéries e variações. Destaca-se também a variação na qualidade do afluyente. Por diversas vezes foi diagnosticado afluyente com características visíveis em desconformidade, como a variação de cores. Isto foi preconizado possivelmente pelo lançamento irregular de produtos na rede de coleta de esgoto, ato sem possível controle por parte da operação da estação. Este recebimento, em cargas altas, ocasiona uma variação em carga química possivelmente não suportado pelo meio biológico, resultando em falha no crescimento e perda de biomassa. Segundo Cordi (2008), quando é realizada a partida do sistema de lodo ativado, compostos de difícil degradação podem influenciar nas atividades biológicas no interior do sistema, ocasionando inclusive a interrupção das ações dos microrganismos. Cita ainda que há necessidade de adaptação do lodo no caso de tratamento de despejos industriais (NAKAMURA *apud* CORDI, 2008).

No entanto, o sistema de lodo ativado obteve resultados expressivos em relação à eficiência de remoção, como destacado na Tabela 10. As amostras foram coletadas na saída do decantador secundário.

Tabela 10 - Características físicas e químicas do efluente do sistema de lodo ativado com TDH de 18 horas

Variável	Tratamento do efluente do reator UASB (ETAPA 1 – 12 horas)			Tratamento do efluente do reator UASB (ETAPA 2 – 8 horas)		
	Valor Médio	Eficiência Média	Eficiência Global	Valor Médio	Eficiência Média	Eficiência Global
pH	6,78	-	-	6,86	-	-
Temperatura (°C)	24	-	-	25	-	-
Turbidez	9,59 ± 4	31%	66%	7 ± 1	66%	79%
Demanda Química de Oxigênio - DQO (mg/L)	66 ± 15	44%	75%	86 ± 25	53%	73%
Sólidos Totais – ST (mg/L)	275 ± 71	5%	33%	225 ± 28	10%	43%
Sólidos Totais Voláteis - STV (mg/L)	116 ± 50	-3%	51%	88 ± 34	28%	45%
Sólidos Totais Fixos – STF (mg/L)	159 ± 33	-77%	11%	122 ± 27	2%	67%
Sólidos Suspensos Totais – SST (mg/L)	83 ± 64	2%	55%	40 ± 17	34%	66%
Sólidos Suspenso Fixos – SSF (mg/L)	20 ± 26	-65%	23%	9 ± 6	47%	67%
Sólidos Suspenso Voláteis – SSV (mg/L)	6237	14%	60%	31 ± 15	28%	66%
Sólidos Dissolvidos Totais – STD (mg/L)	86 ± 42	46%	64%	89 ± 41	45%	62%

Como demonstrado, o sistema de lodo ativado não teve variação em sua operação quanto à vazão e TDH, porém sua eficiência se torna susceptível conforme características do efluente do reator UASB e modificações em relação a operação. Deste modo, convém a análise de duas etapas de funcionamento, concomitantes às etapas variantes do reator UASB que precede seu tratamento.

Em abordagem à DQO, a remoção média para a ETAPA 1 resultou em 44% e para a ETAPA 2 em 53% em referência a somente o sistema de lodo ativado. Entretanto, em análise da eficiência do sistema, o valor encontrado foi de 75% e 73% para a Etapa 1 e Etapa 2. Tais resultados demonstram que, embora o sistema de lodo ativado tenha evidenciado diferentes eficiências, no sistema geral isto não foi observado. A ocorrência deste fato se deve às mudanças de TDH do reator UASB e as consequências em sua eficiência que diminuiu com a mudança de 12 horas para 8 horas. Tal fato aumentou a eficiência do sistema de lodo ativado, influenciando nos valores próximos do sistema geral em relação à remoção de DQO. Deve-se atentar que as ocorrências inesperadas durante a operação do sistema de tratamento tiveram maiores efeitos constatados no período da ETAPA 1, podendo assim ser uma das causadoras na diminuição das eficiências individuais.

Von Sperling (2002) indica que a remoção de DQO em sistema de reator UASB – lodo ativado varia entre 83% a 90%. Medeiros (2013) e Silva (2014), utilizando sistema geral semelhante e afluente de mesma origem, encontraram valores médios de remoção de DQO de 79% e 67%, respectivamente, sendo estes números próximos ao encontrado no estudo nas duas etapas feitas nessa pesquisa. Gaspar (2003), Lamega Neto (2011) e Bento (2005) demonstram remoção entre 59 a 88% utilizando mesmos sistemas, também englobando os valores encontrados neste estudo, demonstrando a similaridade entre a pesquisa e os valores disponíveis na literatura.

Com relação aos sólidos, os valores encontrados foram relativamente baixos com a Etapa 1 demonstrando o Lodo Ativado com eficiência de retenção de ST de 5% para o sistema de Lodo Ativado e de 33% no sistema geral. É válido a atenção para a remoção de sólidos fixos no qual foi pouco efetivo, sendo a principal perda dos sólidos. Nota-se que os STV possuíram valores bem mais altos de remoção em comparação aos STF, o que demonstra que o sistema absorveu grande parte e/ou foi retornado ao processo. Para a Etapa 2 ocorreu remoção média de 10% para o sistema singular de Lodo ativado e de 43% para o Sistema Geral, apresentando

um aumento relativamente pequeno sob a Etapa anterior. Os STV prosseguiram com remoção similar a Etapa 1 e os STF aumentaram consideravelmente.

Oliveira e Von Sperling (2005) indicam uma média de remoção para sistemas de UASB – Lodo Ativado em pesquisa realizada de 67% para SST, enquanto o presente estudo presenciou valores de 55% e 66%. Medeiros (2014) observou maior remoção, de 77% para SST.

Ressaltam-se os valores de eficiência de remoção dos sólidos que, em muitos casos, resultaram em valores negativos, representando uma perda significativa de sólidos do tanque de aeração durante toda a Etapa 1. Asada (2007) descreve que a operação do reator com situações de baixa relação Alimento/Microrganismos (A/M) ocasiona um efeito no crescimento de organismos filamentosos, sendo estes muito competitivos em concentrações baixas de substrato orgânicos, OD ou nutrientes. Tais organismos causam o intumescimento do lodo, ocasionando características ruins de sedimentação. No atual estudo, em diversas ocasiões no decantador secundário houve a flotação de parte do lodo que foi retornado manualmente ao tanque de aeração.

5.4 Quantificação de Microrganismos em Fase Líquida

5.4.1 *Escherichia coli* e coliformes totais

Escherichia coli e coliformes totais foram utilizados como micro-organismos indicadores de contaminação fecal. Nas Figuras 19, 20, 21 e 22 estão representados os resultados obtidos, nas quais constam os valores mínimo e máximo, os percentis de 25 e 75% e a mediana.

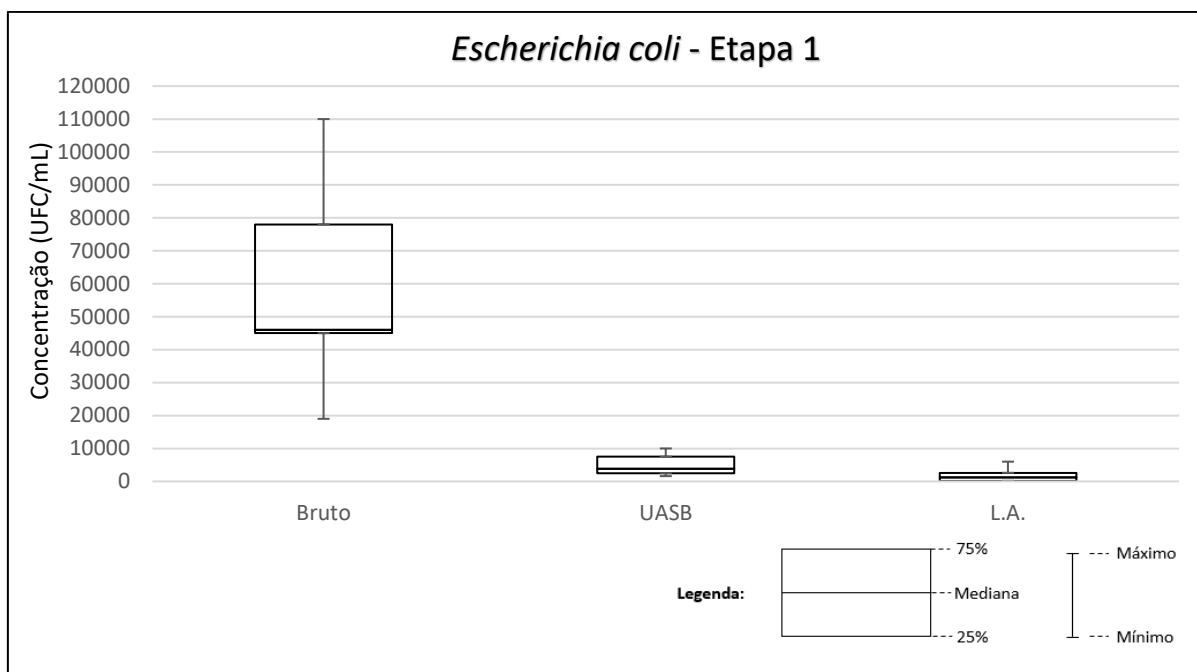


Figura 19- Quantificação de *Escherichia coli* – Etapa 1

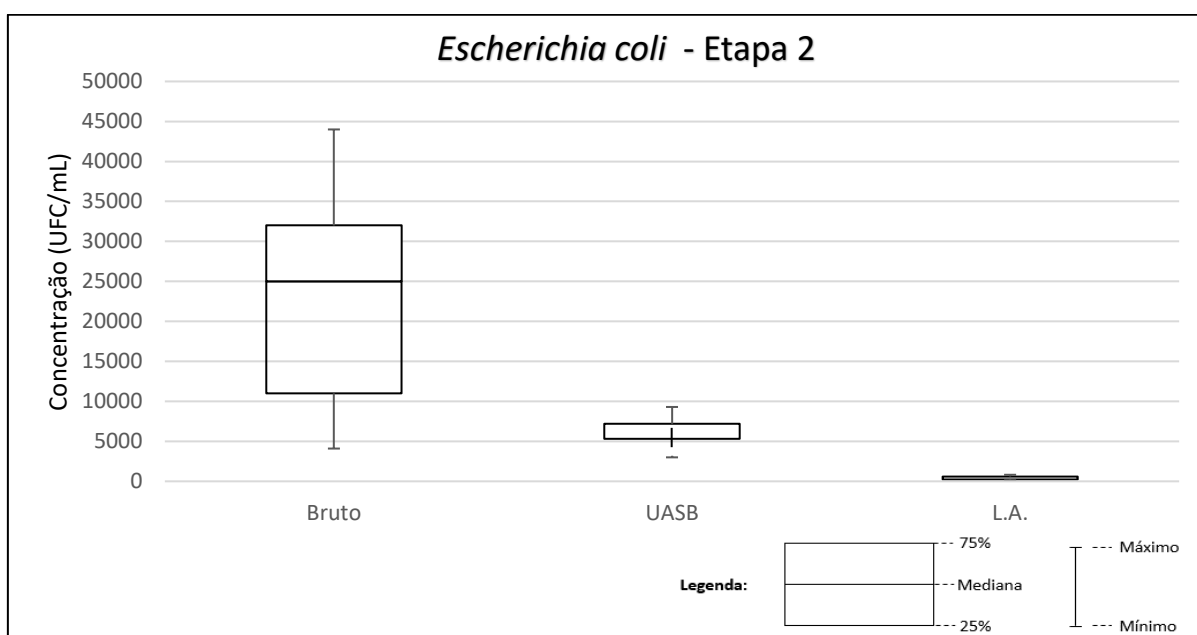


Figura 20 - Quantificação de *Escherichia coli* – Etapa 2

A concentração média de *E. coli* no esgoto bruto da Etapa 1 foi de $5,96 \times 10^4$ UFC/mL, com picos de $1,10 \times 10^5$ UFC/mL, sendo estes valores menores, porém próximos aos encontrados por Silva (2014) em análises do mesmo afluente em outro período. Com relação ao encontrado na Etapa 2, a concentração de micro-organismos no afluente foi menor que o

da Etapa 1, demonstrando a variabilidade da concentração que entra no sistema. Com relação aos valores encontrados na Etapa 1 no efluente do reator UASB e no efluente do lodo ativado, a concentração média foi de $5,08 \times 10^3$ UFC/mL e $2,00 \times 10^3$ UFC/mL respectivamente. A remoção de *E. coli* no reator UASB obteve resultados médios de 89,5% na Etapa 1 e 66,6% na Etapa 2. Silva (2014) indica resultados médios de 76,1% de remoção de *E. coli* no mesmo reator, com TDH de 12 horas. Esta diferença entre etapas pode ser considerada uma das consequências com a relação a alternância de TDH do reator. O sistema de lodo ativado demonstrou remoção de *E. coli* de 62,5% para a Etapa 1 e de 92,5% para a Etapa 2. O sistema geral demonstrou eficiência de remoção de *E. coli* de 95,8% (1,9 log) e 97,5% (1,75 log) nas respectivas Etapas, valores abaixo do encontrado na literatura. Von Sperling (2002) indica remoções de 0,6 a 2,8 log.

Os coliformes totais evidenciaram a tendência de resultados demonstrados pela *E. coli*. O esgoto bruto apresentou valores baixos na ETAPA 1 e valores maiores na ETAPA 2, porém com uma maior amplitude de resultados. Os valores médios de $9,24 \times 10^4$ UFC/mL e de $3,10 \times 10^4$ UFC/mL demonstra esgoto bruto com alta variação de concentração.

Tal fato pode ser explicado pela variação de vazão e correlação ao atendimento da coleta de esgoto no campus da universidade, principal contribuinte. Em épocas não letivas, a carga diminui consideravelmente.

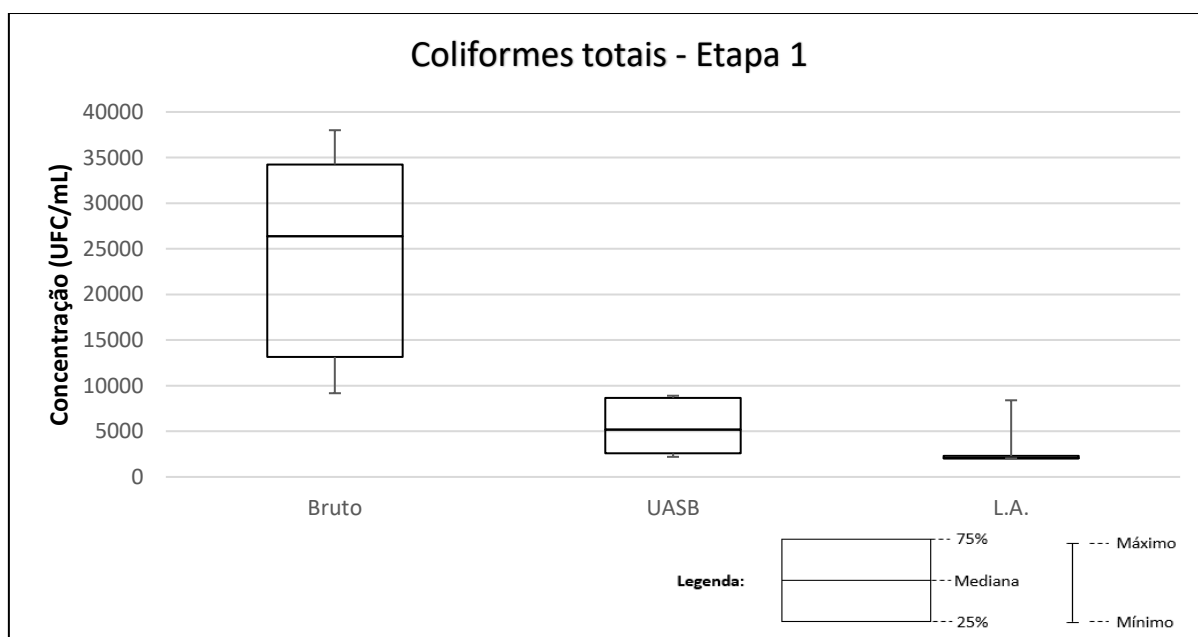


Figura 21 - Quantificação de coliformes totais – Etapa 1

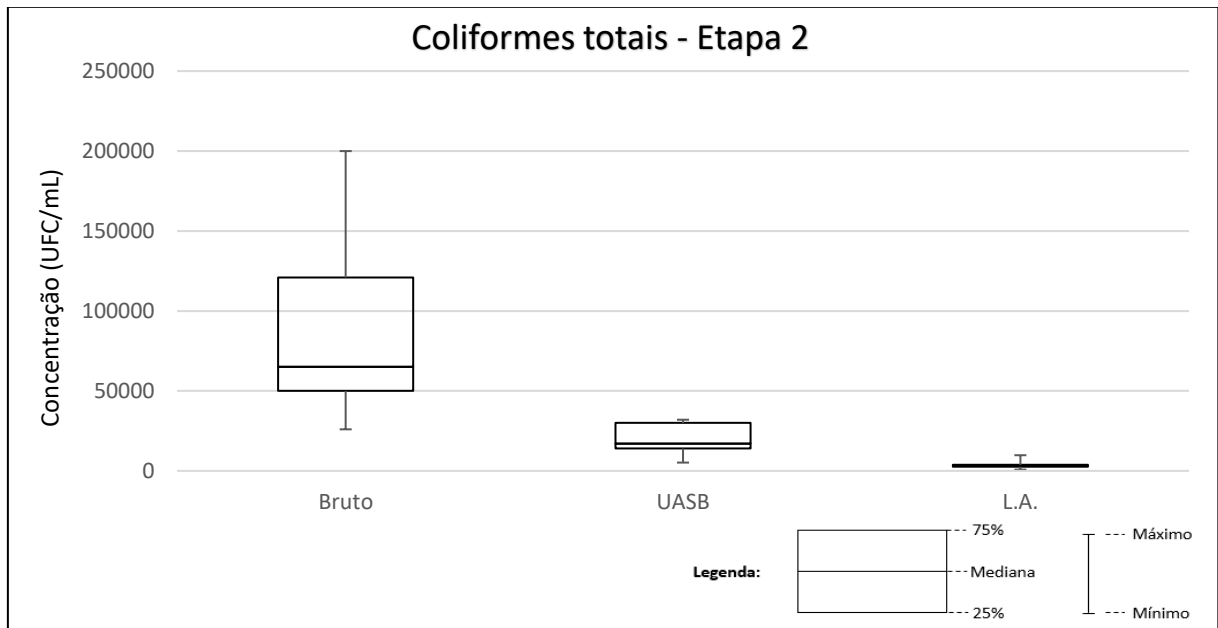


Figura 22 - Quantificação de coliformes totais – Etapa 2

A eficiência de remoção de coliformes totais no reator UASB ficou entre 69,2% e 58%, valores abaixo da remoção de *E. coli*. A remoção no sistema de lodo ativado ficou entre 66,2% e 71,9%, contribuindo para o aumento da eficiência do sistema geral, que foi de 94,4% (1,45 log) e de 91,2 (1,4 log) para a Etapa 1 e Etapa 2, respectivamente.

Na Tabela 11 estão apresentados os resultados referentes a *E. coli* e coliformes totais obtidos nas duas Etapas.

Tabela 11 - Resultados de *E. coli* e coliformes totais nas Etapas 1 e 2

		ETAPA 1		ETAPA 2	
		<i>E. coli</i>	Coliformes totais	<i>E. coli</i>	Coliformes totais
Bruto	Valor Médio (UFC/mL)	$5,96 \times 10^4$	$9,24 \times 10^4$	$2,32 \times 10^4$	$3,10 \times 10^4$
		$\pm 2,75 \times 10^4$	$\pm 5,44 \times 10^4$	$\pm 1,25 \times 10^4$	$\pm 1,44 \times 10^4$
UASB	Valor Médio (UFC/mL)	$5,08 \times 10^3$	$1,96 \times 10^3$	$5,60 \times 10^3$	$6,05 \times 10^3$
		$\pm 2,93 \times 10^3$	$\pm 9,07 \times 10^3$	$\pm 2,12 \times 10^3$	$\pm 2,70 \times 10^3$
	Eficiência de Remoção (%)	89,5	69,2	66,6	58
	Eficiência de Remoção (log)	1,09	0,65	0,53	0,43
Lodo Ativado	Valor Médio (UFC/mL)	$2,00 \times 10^3$	$3,90 \times 10^3$	$3,94 \times 10^2$	$2,28 \times 10^3$
		$\pm 1,83 \times 10^3$	$\pm 2,35 \times 10^3$	$\pm 2,56 \times 10^2$	$\pm 3,06 \times 10^3$
	Eficiência de Remoção (%)	62,5	66,2	92,5	71,9
	Eficiência de Remoção (log)	0,81	0,75	1,22	0,97
	Eficiência Global (%)	95,8	91,2	97,6	94,4
	Eficiência Global (log)	1,75	1,45	1,9	1,4

5.4.2 *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

Foram realizados exames nas amostras líquidas coletadas em três pontos distintos: esgoto bruto, efluente do reator UASB e efluente do sistema de lodo ativado. Tais exames foram realizados na Etapa 1 (Reator UASB com 12 horas de TDH) e na Etapa 2 (Reator UASB com 8 horas de TDH). Ressalta-se que foi constatada presença de cistos de *Giardia* spp. em todas as amostras (100%) e oocistos de *Cryptosporidium* spp. em 53% das amostras líquidas analisadas.

Nas figuras 23 e 24 estão representados os resultados obtidos:

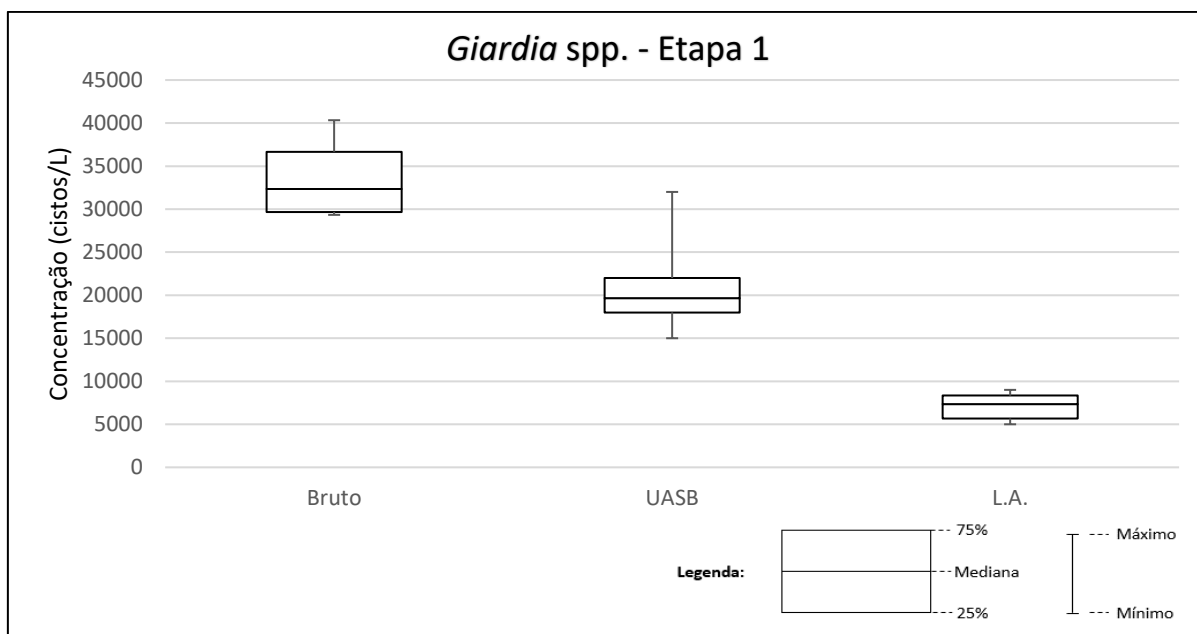


Figura 23- Quantificação de cistos de *Giardia* spp. – Etapa 1

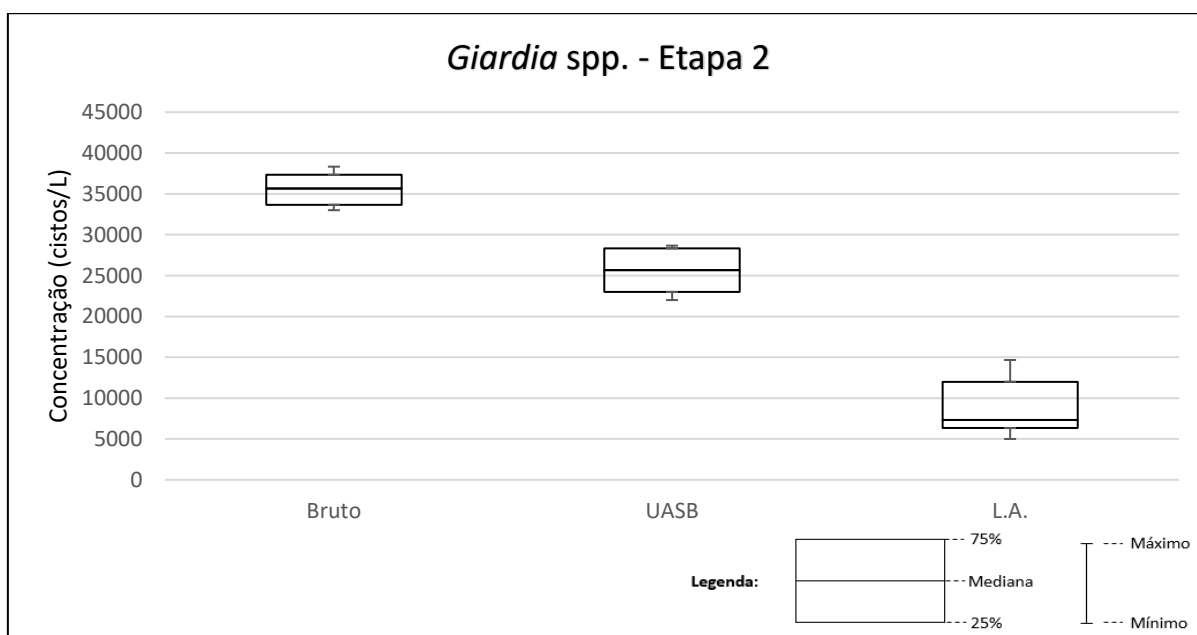


Figura 24 - Quantificação de cistos de *Giardia* spp. – Etapa 2

No período de execução da Etapa 1, no esgoto bruto a média de cistos de *Giardia* spp. foi de 33667 cistos/L com valores máximos de 40333 cistos/L. Na Etapa 2, foi contabilizado no esgoto bruto média de 35600 cistos/L alcançando valores máximos de 38333 cistos/L.

Silva (2014) encontrou valores máximos de 58.000 cistos/L e Medeiros (2013) encontrou valores médios de 70.000 cistos/L, estes superiores aos encontrados nesse estudo.

O número de cistos de *Giardia* spp. por litro de esgoto varia conforme a origem do esgoto e conforme diversas pesquisas esse número varia entre 2700 a 80.000 cistos/L

(PAYMENT, 2001; WESTRELL, 2004; SYKORA, 1991; CARRARO, 1999; ROBERTSON, 2006) e oocistos de *Cryptosporidium* spp. entre 510 a 6000 oocistos/L (MEDEIROS, 2013; CANTUSIO NETO, 2006; PAYMENT, 2001; ROBERTSON, 2006), demonstrando desta forma que a variação quantitativa de oocistos e cistos de protozoários em sistemas de tratamento sanitários depende do nível de infecção da população contribuinte à ETE, o que difere constantemente (IACOVSKI et. al., 2004). Medeiros (2014) ressalva que há uma extrapolação de resultados, dependente do volume de sedimento da lâmina quanto do volume de sedimento total existentes na contagem dos (oo)cistos, conforme Equação (I).

Em relação ao reator UASB, seu efluente apresentou uma média de 21333 cistos/L com máxima de 32000 cistos/L, com uma média de remoção de *Giardia* spp. de 0,21 log na Etapa 1. No período da Etapa 2, a média foi de 25533 cistos/L com máxima de 28667 cistos/L, sendo que a remoção diminuiu para 0,15 log. Estes valores ficaram bem abaixo dos encontrados nas pesquisas de Grøndahl-Rosado (2014) e Medeiros (2013), sendo que o primeiro conseguiu eficiência alta, de 1,39 log em estação de tratamento com sedimentação primária, e o segunda remoção de 0,73 log em reator UASB.

Cryptosporidium spp. foi observado em apenas 20% das amostras analisadas na Etapa 1, com número médio de 200 oocistos/L e em 40% das amostras na Etapa 2, com média de 267 oocistos/L, ambos resultados obtidos de análises do efluente do reator UASB. A eficiência de remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. foi, em média, de 0,48 log para Etapa 1 e de 0,3 para a Etapa 2.

Não foram notadas modificações em relação à concentração de cistos/oocistos com a mudança de TDH do reator UASB, mas houve decréscimo de sua eficiência na remoção no caso de cistos de *Giardia* spp.

Com relação ao *Cryptosporidium* spp., no efluente do sistema de lodo ativado a média foi de 200 oocistos/L na Etapa 1 e na Etapa 2 não foram observados oocistos, sendo que, se presentes, ficaram abaixo do limite de detecção. Para *Giardia* spp., no efluente do sistema de lodo ativado a média foi de 7067 cistos/L na Etapa 1 e de 9067 cistos/L na Etapa 2, com eficiência de remoção de 0,48 log para as duas etapas, valor próximo ao encontrado por Medeiros (2014) de 0,47 log. Grøndahl-Rosado (2014) citam a remoção de cistos de *Giardia*

spp. em tratamento secundário – lodo ativado e sedimentação – de 0,25 e 0,4 log, respectivamente.

No sistema geral a remoção média de cistos de *Giardia* spp. foi de 0,69 e 0,63 log para a Etapa 1 e Etapa 2, respectivamente, inferior à eficiência de 0,91 log obtida por Medeiros (2014). Robertson (2006), em estudo feito em diversas ETEs na Noruega, indica remoção de *Giardia* spp. na faixa de zero a 1,5 log, dependendo do tratamento utilizado. Cardoso (2003) cita que estimativas de remoção de *Giardia* spp. com tratamento primário e secundário se encontram na faixa de 0,4 a 1 log.

Para *Cryptosporidium* spp., Robertson (2006) mostra resultados de remoção de zero a 0,3 log e Cardoso (2003) cita que para a remoção de *Cryptosporidium* spp. a faixa de estimativa se encontra em torno de 0,05 a 1 log. O valor encontrado no presente estudo foi de 0,63 log para a Etapa 1, estando na faixa de remoção esperada.

Na Tabela 12 estão apresentados os resultados referentes a *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. obtidos nas duas Etapas.

Tabela 12 - Resultados de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

		ETAPA 1		ETAPA 2	
		<i>Giardia</i> spp.	<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>Giardia</i> spp.	<i>Cryptosporidium</i> spp.
Bruto	Valor Médio ((oo)cistos/L)	33557 ± 3866	800 ± 560	35600 ± 1833	467 ± 294
	UASB	21333 ± 4533	200 ± 240	25533 ± 2426	267 ± 213
	Eficiência de Remoção (log)	0,21	0,48	0,15	0,3
L. Ativado	Valor Médio ((oo)cistos/L)	7067 ± 1386	200 ± 160	9067 ± 3413	N.D.*
	Eficiência de Remoção (log)	0,48	0,15	0,48	-
Eficiência Global (log)		0,69	0,63	0,63	-

Quanto à viabilidade dos cistos e oocistos, foi observado que, em média, 86% de cistos de *Giardia* spp. efluente do reator UASB apresentaram viabilidade, enquanto no efluente do lodo ativado este número médio era de 66% (Figura 25). Oocistos de *Cryptosporidium* spp. demonstraram viabilidade de 67% no efluente do reator UASB e de 66% no efluente do sistema de lodo ativado. Em comparação a Robertson (2006), os valores são maiores que os encontrados em duas estações de tratamento de esgoto de seu estudo, sendo de 11% e 30% de viabilidade para cistos de *Giardia* spp. e 15% e 50% para viabilidade de oocistos de *Cryptosporidium* spp.

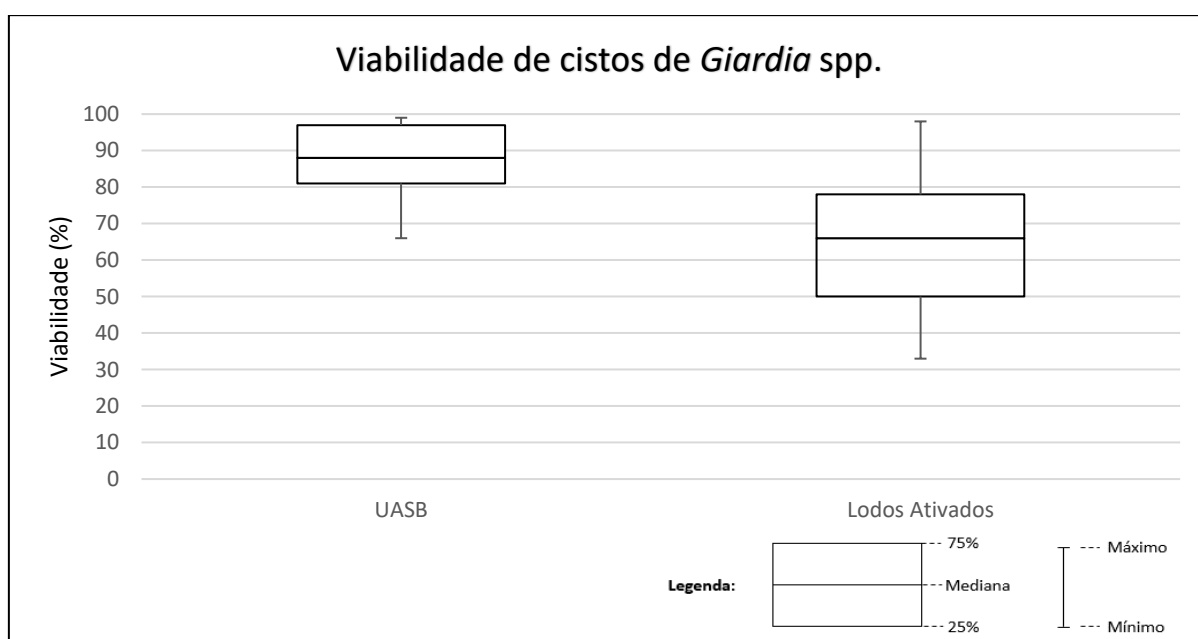


Figura 25 - Porcentagem de viabilidade de cistos de *Giardia* spp.

5.5 Quantificação de Micro-organismos em Fase Sólida

Para a quantificação de micro-organismos em fase sólida, faz-se necessária a caracterização e quantificação do lodo do reator UASB e do sistema de lodo ativado. As amostras foram retiradas de dois pontos específicos do reator UASB os quais contemplam o alcance da manta e, no sistema de lodo ativado, o lodo da linha de retorno.

As concentrações de sólidos totais da fase sólida estão apresentadas na Tabela 13 e representadas na Figura 26.

Tabela 13 - Caracterização dos sólidos totais presentes em lodo (reator UASB e lodo ativado)

	Concentração (g/L)	Valor Máximo (g/L)	Valor Mínimo (g/L)	Teor de Sólidos (m/m)
UASB	47,33	61,67	37,32	4,7%
Lodo Ativado	5,89	20,7	0,3	0,5%

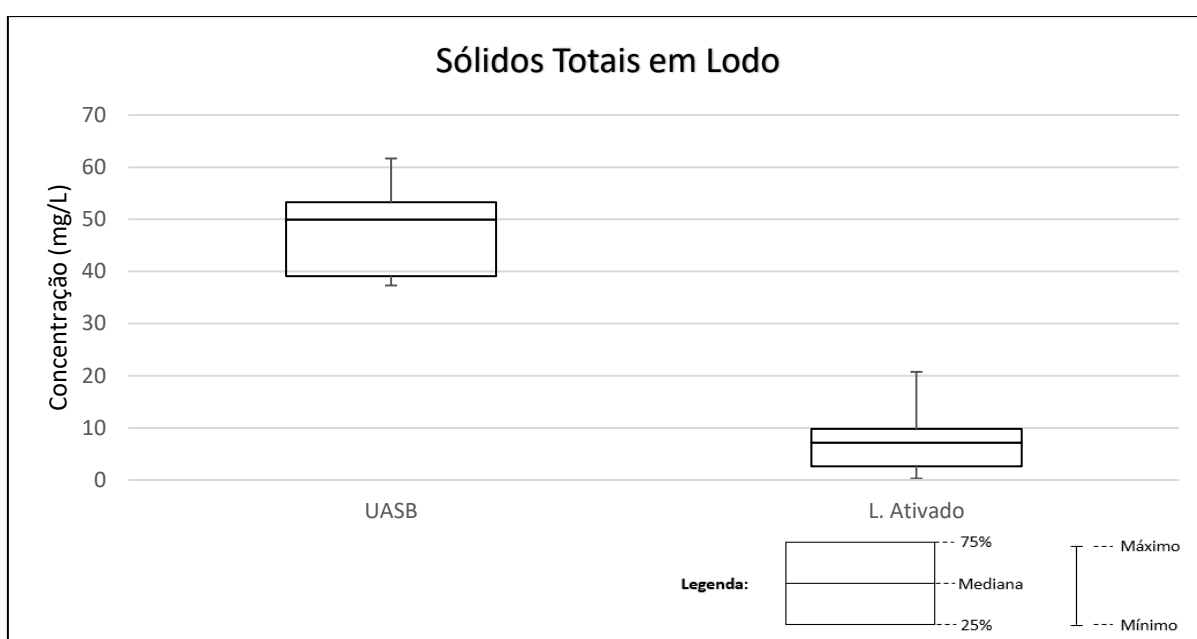


Figura 26 - Quantificação dos sólidos totais presentes em lodo (reator UASB e Lodo Ativado)

O lodo do reator UASB manteve concentração alta durante toda a operação do reator, com pouca variação. O lodo do sistema de lodo ativado teve uma variação menor com valores baixos. Isto se deve má formação de lodo durante o processo, principalmente durante a Etapa 1.

5.5.1 *E. coli* e Coliformes Totais

As concentrações de *E. coli* e coliformes totais em lodos são superiores às encontradas nos efluentes líquidos. Isso se deve à retenção durante todo o processo de tratamento e pouca

realização de descarte. A concentração das bactérias em estudo está representada nas Figuras 27 e 28.

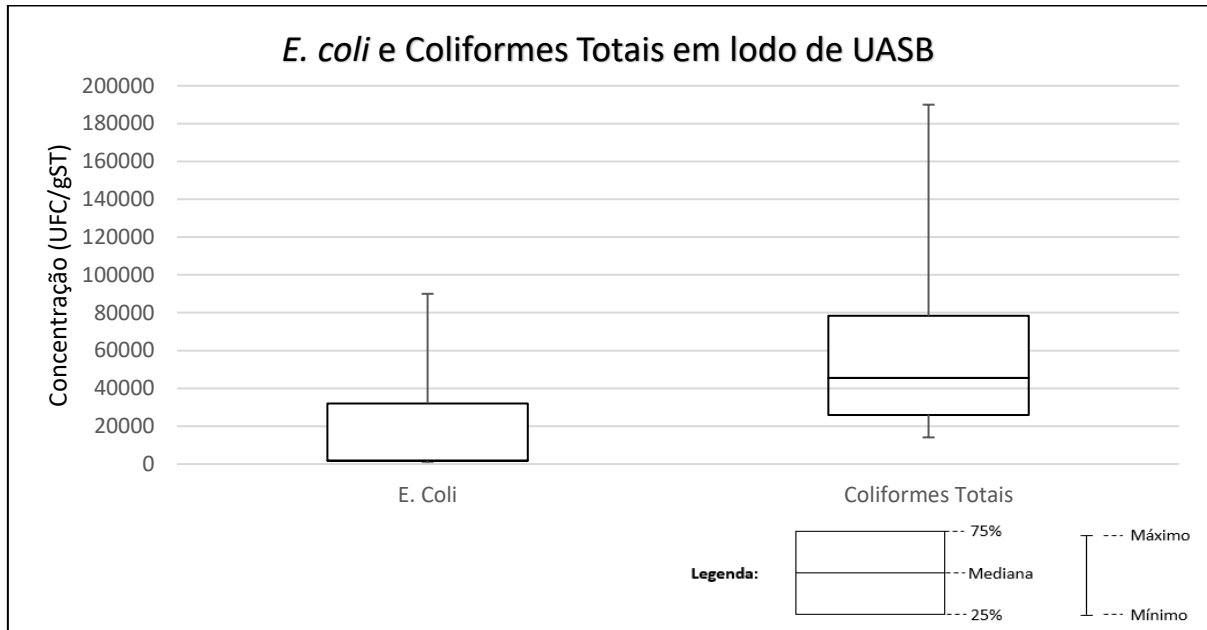


Figura 27 - Quantificação de *E. coli* e coliformes totais no lodo do reator UASB

A concentração média de coliformes no lodo do reator UASB foi de $6,7 \times 10^4$ UFC/gST, com valor máximo na ordem de 10^5 UFC/gST confirmando que há retenção de microrganismos patogênicos no lodo. O mesmo ocorre com *E. coli*, porém em valores menores, com média de 32582 UFC/gST e máxima na ordem de 10^4 UFC/gST. Ressalta-se a alta concentração de sólidos no lodo (47 g/L), o que aumenta a contaminação deste material. Estes dados são consequência do funcionamento e adensamento do lodo na operação do reator UASB.

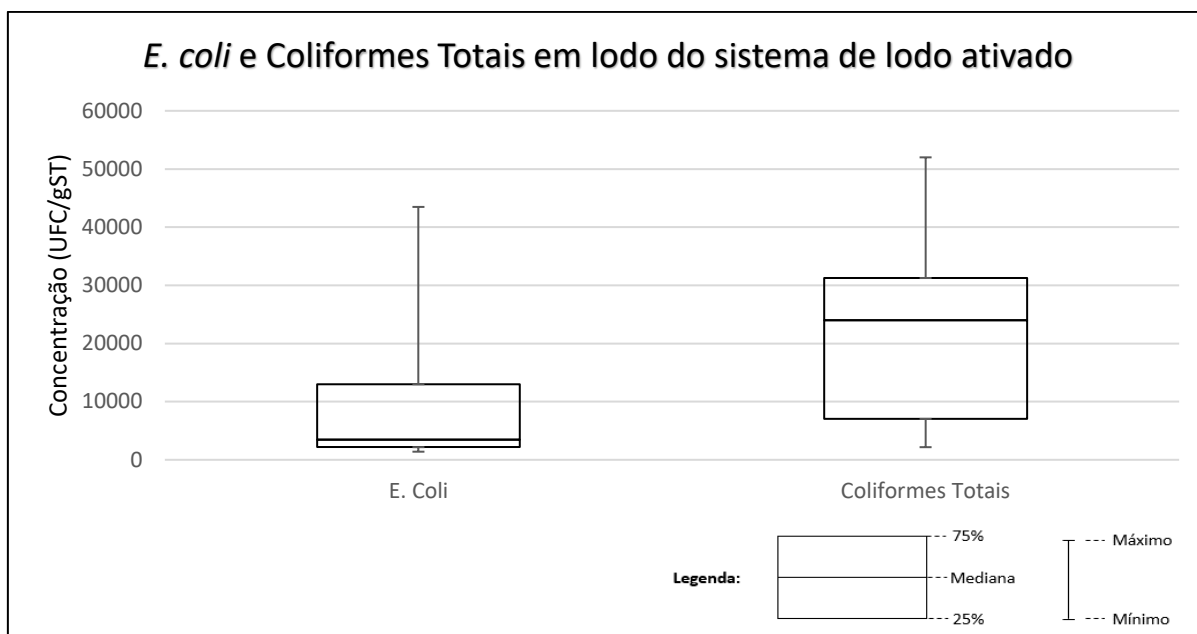


Figura 28 - Quantificação de *E. coli* e coliformes totais em lodo do sistema de lodo ativado

No lodo do sistema de lodo ativado, o número médio de coliformes totais foi de $2,3 \times 10^4$ UFC/gST e o número médio de *E. coli* foi de $1,1 \times 10^4$ UFC/gST com máximos não ultrapassando a ordem de 10^4 UFC/gST para ambos os micro-organismos. Em comparação ao lodo do reator UASB, estes valores foram menores possivelmente devido à perda de sólidos ocorridas durante a operação. Destarte, ressalta-se ainda que nos momentos de problemas com bombas e entupimentos no sistema, o tanque de aeração continuava a funcionar até ser constatado o problema, inclusive com a bomba de recirculação em funcionamento. Tal bomba enviava todo o lodo existente no decantador, em um sistema fechado. Ressalta-se que todas as análises foram todas realizadas em momentos de estabilidade.

5.5.2 *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

Os exames de *Giardia* spp. e de *Cryptosporidium* spp. em lodos foram feitos em 10 amostras, compreendendo os períodos da Etapa 1 e Etapa 2 e os resultados estão representados na Figura 29.

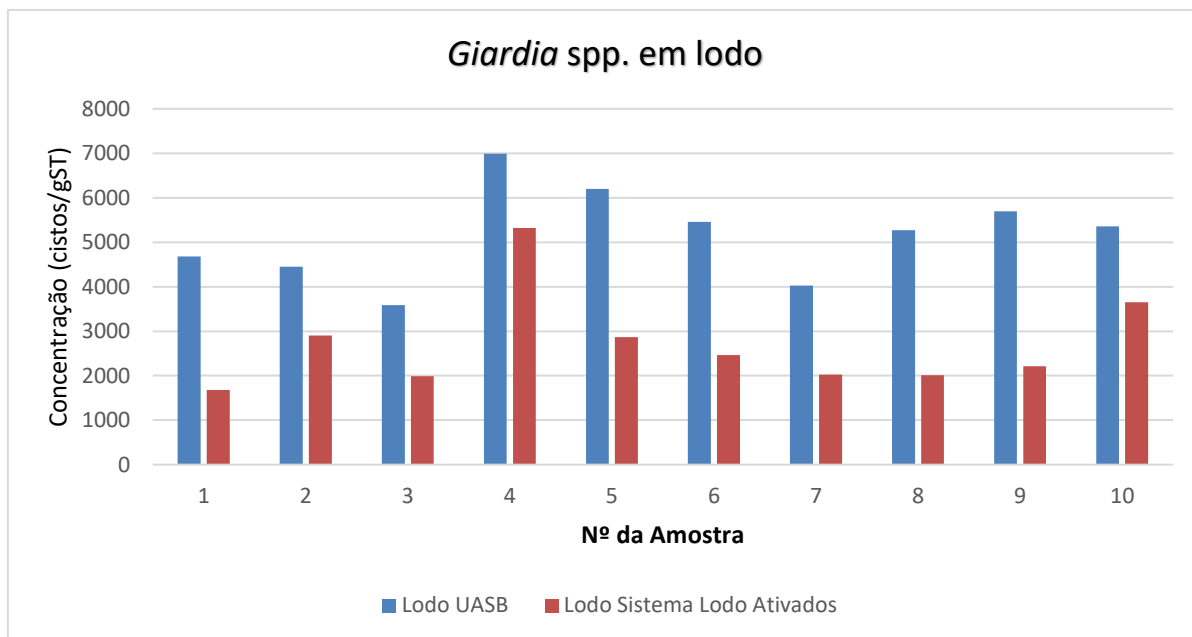


Figura 29 - Quantificação de cistos de *Giardia* spp. em lodo (reator UASB e lodo ativado)

Os cistos de *Giardia* spp. foram detectadas em 100% das amostras (10/10), tanto no lodo do reator UASB como no lodo do sistema de lodo ativado, sendo o valor médio encontrado de $5,1 \times 10^3$ cistos/g ST para o primeiro e de $2,7 \times 10^3$ cistos/g ST para o segundo. Medeiros (2013) encontrou média de $3,3 \times 10^4$ cistos/g ST em sistema de lodo ativado em aeração prolongada e de $6,1 \times 10^4$ cistos/g ST em sistema de lodo ativado convencional, valores bastante superiores ao encontrado no presente estudo. Bonatti (2007) encontrou valores mais próximos ao do presente estudo, com variação de zero a $4,8 \times 10^3$ cistos/g ST para lodo de ETE.

Quanto à viabilidade dos cistos de *Giardia* spp., 87% se apresentavam viáveis no lodo do reator UASB, enquanto no lodo do sistema de lodo ativado 63% dos cistos apresentaram viabilidade (Figura 30). Medeiros (2013) encontrou, em suas amostras, variação de viabilidade de 88% a 100% de cistos de *Giardia* spp.

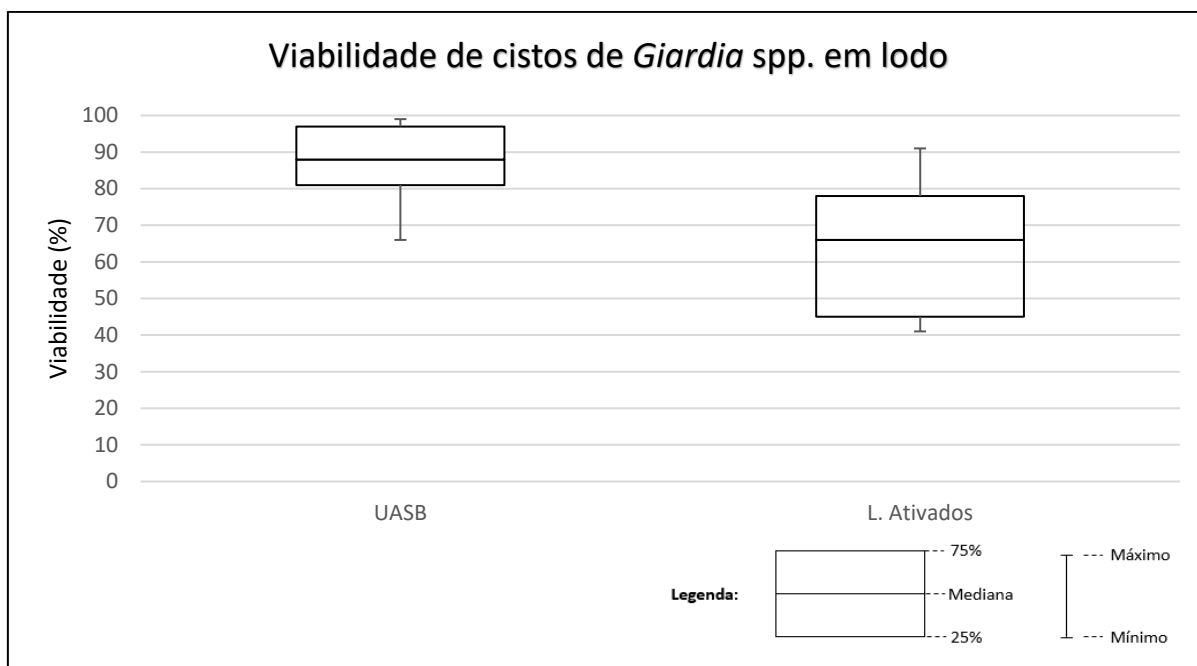


Figura 30 - Porcentagem de viabilidade de cistos de *Giardia* presentes em lodo (reator UASB e lodo ativado)

Em relação aos oocistos de *Cryptosporidium* spp., estes foram observados em 90% (9/10) das amostras de lodo do reator UASB e em 20% (2/10) das amostras de lodo proveniente do sistema de lodo ativado e os resultados estão representados na Figura 31.

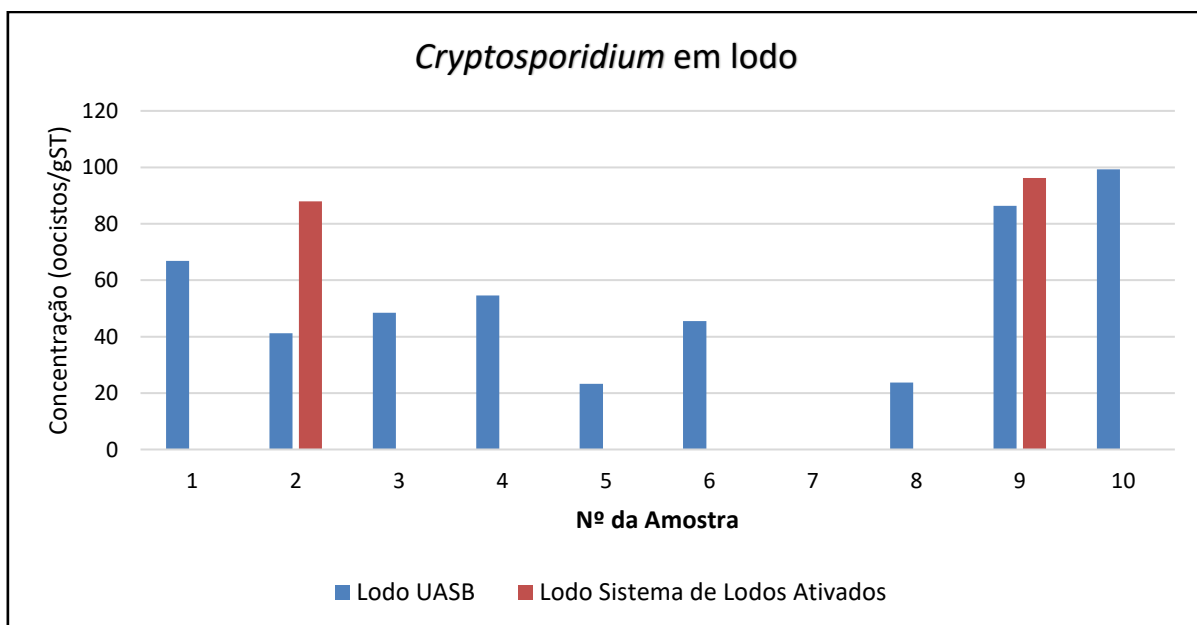


Figura 31 - Quantificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em lodo (reator UASB e lodo ativado)

Com média de 49 cistos/g ST no lodo do reator UASB e de 18 cistos/g ST no Lodo do sistema de lodo ativado, os valores encontrados para oocistos de *Cryptosporidium* spp. ficaram abaixo em comparação com os valores disponíveis na literatura, como descrito por Bonatti (2007) que demonstra resultados entre zero e 600 oocistos/g. Tal diferença é explicada pela diferença das regiões, no que difere a concentração dos organismos presentes em cada efluente.

Entretanto, em pesquisas de Medeiros (2010), Medeiros (2013) e Silva (2014), que utilizaram afluente com a mesma origem do utilizado na presente pesquisa, nota-se uma característica comum que é a baixa incidência de oocistos de *Cryptosporidium* spp., se comparados aos dados da literatura.

A viabilidade dos oocistos de *Cryptosporidium* spp. foi, em média, de 78% no lodo do reator UASB e 100% no lodo do sistema de lodo ativado.

5.6 Comparação entre Retenção de Micro-organismos e Variáveis Analisadas

A correlação da remoção de organismos patogênicos com a remoção de variáveis físicas e químicas, por exemplo, DQO, DBO, sólidos, é amplamente citada na literatura. Este tópico visa abordar a relação entre a remoção de *E. coli* e coliformes totais e a remoção de variáveis físicas e químicas analisadas nas duas Etapas da pesquisa considerando os sistemas individuais de reator UASB e lodo ativado. Como método estatístico, foi utilizada a correlação de Pearson, usado para a medição da correção linear entre duas variáveis. Este coeficiente de correlação assume valores entre -1 e +1, sendo que -1 representa que as variáveis possuem relação negativa perfeita, +1 que as variáveis possuem relação positiva perfeita e quando possui valor 0 (“zero”) representa que as variáveis não possuem correlação. Foram consideradas positivas as correlações que apresentaram coeficiente de correlação $>0,200$ e foram consideradas negativas aquelas com valores $<-0,200$ (BENTO, 2005). Assim, foram efetuadas análises de correlação na eficiência de remoção de variáveis físico-químicas com os microrganismos em estudo. Os resultados estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Resultados de eficiência de remoção de micro-organismos e de variáveis físicas e químicas

	Reator UASB		Lodo Ativado	
	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 1	Etapa 2
<i>Giardia</i> spp.	37%	28%	63%	64%
<i>Cryptosporidium</i> spp.	29%	50%	42%	99%
<i>E. coli</i>	89,5%	66,6%	62,5%	66,2%
Coliformes totais	69,2%	58%	62,5%	66,2%
Turbidez	52%	41%	31%	66%
DQO	67%	46%	44%	53%
ST	50%	30%	5%	10%
STV	51%	24%	-3%	28%
STF	50%	18%	-77%	2%
SST	54%	48%	2%	34%
SSF	53%	38%	-65%	47%
SSV	54%	52%	14%	28%
STD	45%	44%	46%	45%

Os resultados referentes ao reator UASB estão representados na Figura 32.

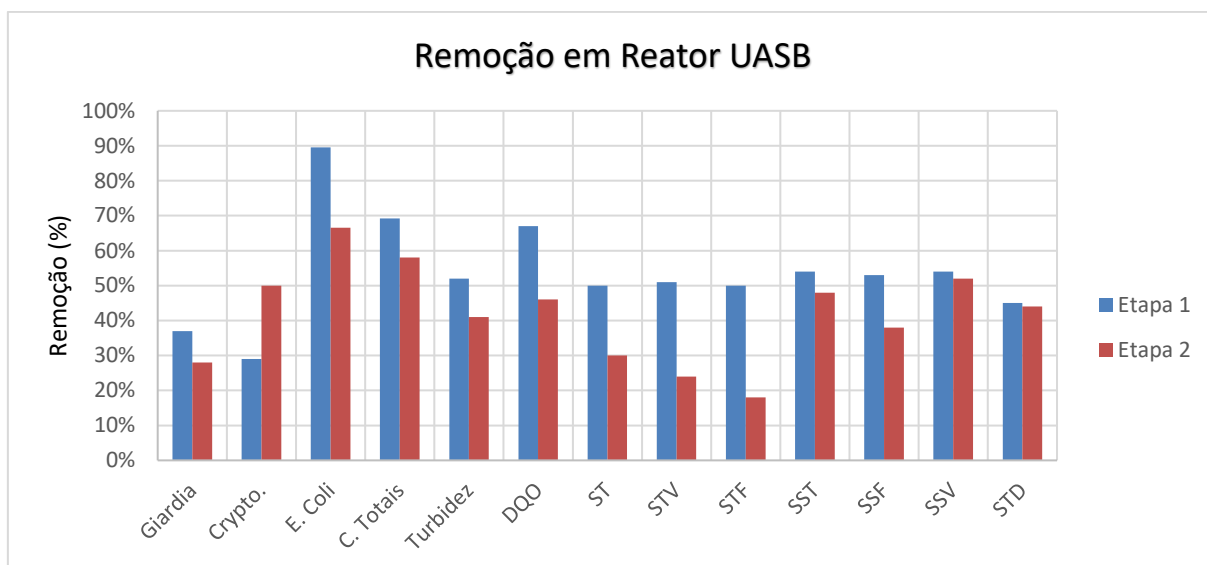


Figura 32 - Comparativo de remoção de microrganismos e parâmetros físicos em reator UASB

Com base nesses resultados foi feita a correlação entre *E. coli* e coliformes totais com as variáveis físico-químicas, conforme apresentado na Tabela 15.

Tabela 15 - Correlação de remoção de micro-organismos (bactérias) com a remoção de variáveis físicas e químicas no reator UASB

Reator UASB	<i>Escherichia coli</i>		Coliformes totais	
	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 1	Etapa 2
DQO	0	0	0	0
Turbidez	+	+	+	+
ST	0	0	0	0
STV	0	0	0	0
STF	0	0	0	0
SST	+	+	+	+
SSF	+	0	+	0
SSV	+	+	+	+

Observa-se na Tabela 15 que os micro-organismos possuem uma correlação positiva de remoção com as variáveis turbidez, SST, SSV e SSF. Estas variáveis, como já descritos em

literatura, abordam, direta e indiretamente, a quantidade de sólidos presentes no efluente no qual os microrganismos em questão estão inseridos ou agregados. A correlação com SST está diretamente relacionada à remoção de SSV, sendo estes micro-organismos parte integrante dos SSV. Quanto à correlação de SSF, esta está também relacionada à remoção de SST, porém não há relação direta com a remoção de *E. coli* e de coliformes totais. Isto é observado pela não correlação em relação à Etapa 2 para os dois micro-organismos, visto que a correlação com SST continua positiva. Dado o menor TDH e a maior facilidade de retenção de sólidos fixos por parte do reator UASB, se pode notar uma maior afinidade dos micro-organismos com a remoção de SSV. Não foram observadas correlações com as demais variáveis.

As correlações de remoção de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. com as variáveis físicas e químicas utilizadas na pesquisa estão apresentadas na Tabela 16.

Tabela 16 - Correlação de remoção de parasitos (protozoários) com a remoção de variáveis físicas e químicas no reator UASB

Reator UASB	<i>Giardia</i> spp.		<i>Cryptosporidium</i> spp.	
	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 1	Etapa 2
<i>E. coli</i>	-	+	0	0
Coliformes totais	-	+	0	0
DQO	0	0	0	0
Turbidez	0	0	0	0
ST	0	+	0	0
STV	-	+	0	0
STF	0	0	0	0
SST	0	0	0	0
SSF	0	0	0	0
SSV	0	+	0	0

Em análise da correlação da remoção de cistos de *Giardia* spp. e de oocistos de *Cryptosporidium* spp. no reator UASB foram observadas diversas distinções em correlações. Para a correlação de remoção de *E. coli* e cistos de *Giardia* spp., há uma correlação negativa na Etapa 1 e uma positiva na Etapa 2. A mesma característica é observada para a variável STV. Entende-se que tal relação demonstra a influência do TDH na remoção de cistos de *Giardia* spp.. A correlação negativa que indica a situação inversa de remoção, pode ser atribuída à diminuição do TDH, que resulta em menor tempo para sedimentação. Devido à maior densidade dos protozoários, há uma maior sedimentação dos mesmos em concomitância com a liberação das bactérias pela menor densidade. Isto explica também a relação com STV nos quais tais organismos se encontram retidos. Isto é invertido a partir do momento de modificação do TDH, onde há uma passagem mais rápida do esgoto pelo reator, não possibilitando a diferença de sedimentação entre os organismos estudados. Aos parâmetros de DQO, Turbidez e demais sólidos, não foram observadas correlações significantes com os (oo)cistos de protozoários.

Não houve correlação de todas as variáveis com os oocistos de *Cryptosporidium* spp..

Os resultados referentes ao Sistema de Lodos Ativados estão representados na Figura 33 e com base nesses resultados foi feita a correlação entre *E. coli* e coliformes totais com as variáveis físico-químicas, conforme apresentado na Tabela 17.

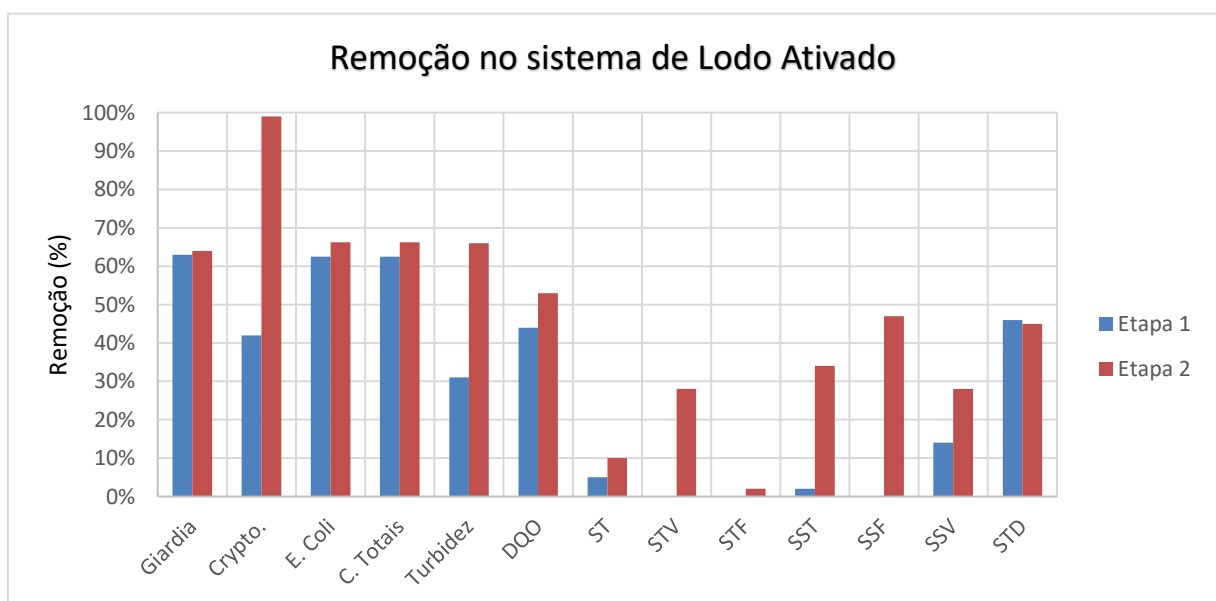


Figura 33 - Comparativo de remoção de micro-organismos e variáveis físicas e químicas em Sistema de lodo ativado

Tabela 17 - Correlação de remoção de micro-organismos (bactérias) com a remoção de variáveis físicas e químicas em sistema de lodo ativado

Lodo ativado	<i>Escherichia coli</i>		Coliformes totais	
	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 1	Etapa 2
DQO	-	-	0	-
Turbidez	-	0	-	0
ST	+	+	+	+
STV	+	0	0	0
STF	-	-	-	-
SST	+	+	+	+
SSF	0	0	0	0
SSV	+	+	+	+

Abordando a correlação de *E. coli* e coliformes totais com a remoção de das variáveis de monitoramento do sistema de lodo ativado, pode-se perceber uma diferença em relação à remoção no reator UASB. As correlações positivas foram com ST e SSV, dado a relação de formação dos mesmos no qual incluem os microrganismos. Nota-se que a correlação de remoção de STV com a de *E. coli* na Etapa 1, fator não observado na Etapa 2 e em ambas etapas para coliformes totais.

Com relação à DQO e turbidez, que apresentaram correlação negativa, muito se deve pelo sistema de recirculação e eliminação de grande parte de STF, no qual é observado também a correlação negativa.

Não foram evidenciadas correlações em relação às demais variáveis.

As correlações de remoção de (oo)cistos de *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.* com as variáveis físicas e químicas utilizadas na pesquisa estão apresentadas na Tabela 18.

Tabela 18 - Correlação de remoção de parasitos (protozoários) com a remoção de variáveis físicas e químicas em sistema de lodo ativado

Lodo ativado	<i>Giardia spp.</i>		<i>Cryptosporidium spp.</i>	
	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 1	Etapa 2
<i>E. coli</i>	0	0	0	0
Coliformes totais	0	0	0	0
DQO	-	0	0	0
Turbidez	-	0	-	0
ST	0	+	0	0
STV	0	+	0	0
STF	-	0	0	0
SST	0	+	0	0
SSF	0	0	0	0
SSV	0	+	0	0

As correlações negativas de remoção dos protozoários com DQO e turbidez na Etapa 1 muito se deve à desestabilização do sistema a partir de cargas tóxicas e não retenção de sólidos fixos. Na Etapa 2, período com melhor estabilidade do sistema de lodo ativado, observa-se correlação na remoção de matéria orgânica (STV e SSV) com a de protozoários. Há de ressaltar que a remoção de *Cryptosporidium spp.* se correlacionou negativamente com a turbidez na Etapa 1 e em todas as demais combinações não houve correlação, visto que em muitos casos mesmos oocistos não foram detectados.

Destaca-se a correlação no sistema entre os protozoários e as bactérias, estas utilizadas como organismos indicadores de contaminação fecal. Tal característica é determinante para posteriores análises de protozoários, porém não dá indícios de quantidade e, muito menos, de eficiência em remoção.

6 CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho permitem concluir que:

➤ A variação de TDH no reator UASB demonstrou influência na remoção de variáveis físico-químicas como DQO, turbidez e sólidos. Com TDH de 12 horas, a eficiência foi maior do que a apresentada em funcionamento com TDH de 8 horas.

➤ A eficiência do reator UASB perante a remoção de microrganismos foi maior no funcionamento com TDH de 12 horas. Neste caso, para a *Giardia* spp. foi observado remoção média de 0,21 log e para *Cryptosporidium* spp. de 0,48 log. A *E. coli* apresentou remoção de 1,09 log e a retenção de coliformes totais teve valor médio de 0,75 log. Com TDH de 8 horas, a remoção foi de 0,15 log e 0,30 log para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. Com relação a *E. coli* e coliformes totais foram observados valores médios de remoção de 1,22 log e 0,97 log, respectivamente.

➤ O sistema de lodo ativado demonstrou uma eficiência de remoção de 0,48 e 0,15 log para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. respectivamente. Em comparação a modificação de TDH do reator UASB, não ocasionou variação significativa na remoção destes protozoários no sistema de lodo ativado.

➤ As variações na remoção de parâmetros físico-químicos no sistema de lodo ativado podem ter sido influenciadas pelas problemáticas encontradas durante toda a operação do sistema. A maior eficiência na Etapa 2 não é conclusiva devido a não representação de um tratamento estabilizado.

➤ Em fase sólida, a *Giardia* spp. foi detectada em 100% das amostras e apresentou valores de $5,1 \times 10^3$ cistos/g ST em lodo do UASB, com viabilidade em 87% dos casos e valores de $2,7 \times 10^3$ cistos/g ST para lodo do sistema de lodo ativado, com viabilidade de 63%. Para *Cryptosporidium* spp., foi detectada presença em 65% das amostras, com valores médios de 49 oocistos/g ST, com 78% de viabilidade, no lodo provido do reator UASB e de 18 oocistos/gST, com 100% de viabilidade, no lodo do sistema de lodo ativado. Isto demonstra o alto índice de contaminação existente no lodo do sistema, necessitando de tratamento adequado para posterior disposição do resíduo.

➤ Os microrganismos analisados possuíram diversas correlações positivas com os sólidos no quesito remoção. Isto demonstra que a remoção de sólidos possui influência na remoção de microrganismos. Entretanto, apesar de diversas correlações positivas, não é válido a conclusão que a remoção de sólidos implicará na remoção de microrganismos na mesma proporção.

➤ Remoções de DQO demonstraram baixa correlação com a remoção de microrganismos, indicando pouca influência na retenção dos mesmos.

7 SUGESTÕES

➤ Estudo mais aprofundado utilizando diversas variações de TDH no reator UASB, observando a relação de modificação do tempo pela retenção de microrganismos.

➤ Realizar a variação do TDH também do sistema de lodo ativado, incluindo a variação da idade do lodo e analisar tanto sua eficiência na remoção, como a quantificação de microrganismos no lodo.

➤ Efetuar a análise de microrganismos utilizando outros métodos, tendo como principal foco a contabilização em amostras sólidas, objetivando um aperfeiçoamento da técnica existente.

➤ Avaliar a retenção de microrganismos em diversos modelos de tratamento de esgotos sanitários.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AJONINA, C. et al. (2012) – **Occurrence of *Cryptosporidium* in wastewater treatment plant in north Germany.** Journal of Toxicology and Environmental Health. Vol. 75. 2012.
- ANDREOLI, C.V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F.; (2001) – **Lodo de Esgotos: tratamento e disposição final.** V.6. Belo Horizonte. UFMG/SANEPAR, 2001.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT (2011) – **NBR 12209: Elaboração de Projetos Hidráulicos-Sanitários de estações de tratamento de esgotos sanitários.** Rio de Janeiro, 2011.
- AZEVEDO NETTO, J.M. (1984) - **Cronologia do abastecimento de água (até 1970)** In: Revista DAE v. 44, n. 137, p.106-111,jun.1984.
- ARAUJO, Thiago Lopes Silva (2014) – **Desempenho de reator anaeróbio híbrido (leito fixo e manta de lodo) tratando esgoto sanitário em escala piloto.** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento – Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 2014.
- BASTOS, R. K. X. et al., (2003). - **Organismos Patogênicos e Efeitos Sobre a Saúde Humana. In: Desinfecção de Efluentes Sanitários.** PROSAB 3. Ricardo Franci Gonçalves (Coordenador).
- BENTO, A.P.; SEZERINO, P.H.; PHILIPPI, L.S.; REGINATTO, V.; LAPOLLI, F.R.; (2005) - **Caracterização da microfauna em estação de tratamento de esgotos do tipo lodo ativado: um instrumento de avaliação e controle do processo.** Eng. Sanit. Ambiental. Vol.10. no 4. Rio de Janeiro. 2005.
- BONNATI, T.R. (2007) – **Ocorrência de cistos de *Giardia* spp., oocistos de *Cryptosporidium* spp. e ovos da família *Ascarididae* em amostras de lodo de esgoto.** 157 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP. 2007
- BOTELHO, Manoel Henrique Campos (2000) – **Uma vida tratando águas, memórias do engenheiro Armando Fonzari Pera / Manoel Henrique Campos Botelho.** São Paulo: Engenho Editora Técnica, 2000. p. 21-25.

- DE BRITO, Moacir Francisco (2006) – **Determinação das frações orgânicas de efluentes de reator UASB**. Dissertação de Mestrado. Escola Politécnica. Universidade de São Paulo. 2006.
- BUHKARI, Z; SMITH, H.V; SYKES, N.; HUMPHREYS, S.W.; PATON, C.A.; GIRDWOOD, R.W.A.; FRICKER C.R. (1997) – **Occurrence of *Cryptosporidium* spp oocysts and *Giardia* spp cysts in sewage influents and effluents from treatment plant in England**. Wat. Sci. Tech. Pergamon. Great Britain. 1997.
- CACCIO, S. M., M. DE GIACOMO, F. A. AULICINO, POZIO, E. (2003) - ***Giardia* cysts in wastewater treatment plants in Italy**. Appl. Environ. Microbiol. 69:3393-3398
- CAMPOS, F. (2014) – **Influência do Recebimento de Lixiviado de Aterro Sanitário sobre o Tratamento de Esgoto em Processo de Lodo Ativado e Reator Integrado de Lodo Ativado com Biofilme em Leito Móvel**. Tese de Doutorado. Escola Politécnica. Universidade de São Paulo, 2014.
- CARDOSO, L., et. Al. (2003) – ***Cryptosporidium* e *Giardia* em Efluentes Biologicamente tratados e desinfetados**. Artigo Técnico. Congresso ABES – Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2003.
- CARRARO, E.; FEA, E.; SALVA, S.; GILLI, G. (2000) - **Impact of wastewater treatment plant on *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts occurring in surface water**. Wat. Sci. Tech. 2000.
- 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**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas – SP. 2004.
- CANTUSIO NETO, R. (2008) – **Estudo de métodos: floculação em carbonato de cálcio e adaptação das técnicas de filtração em membrana e separação imunomagnética para detecção de *Cryptosporidium* e de *Giardia* em amostras hídricas**. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP. 2008
- CETESB (2006) - (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental) - **Contagem de bactérias heterotróficas : método de ensaio**. Norma Técnica L5.201. São Paulo, 2006.

- CETESB (2007) - (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental) - **Coliformes termotolerantes: Determinação em amostras ambientais pela técnica de tubos múltiplos com meio A1 - método de ensaio.** *Norma Técnica L5.406.* São Paulo, 2007.
- CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lemos (1997) – **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: Reatores Anaeróbios.** Volume 5. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – DESA. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 1997.
- CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lemos, Van Haandel, Adrianus, Aisse, Miguel Mansur, Cavalcanti, Paula Frassinetti Feitosa. (1999) - **Introdução In: Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo.** Rio de Janeiro, PROSAB: ABES, Cap. 7, 1999.
- CHERNICHARO, Carlos Augusto de Lemos (2007) – **Reatores Anaeróbios.** Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 2007.
- CORDI, L.; ASSALIN, M.R.; DIEZ, M.C.; DURAN, N. (2008) – **Montagem, Partida e Operação de um Sistema de Lodo ativado para o Tratamento de Efluentes: Parâmetros Físico-Químicos e Biológicos.** Engenharia Ambiental – Espírito Santo do Pinhal, v.5, n.1, p. 097-115, jan/abr 2008.
- DANIEL, L.A. (2001). **Processos de Desinfecção e Desinfetantes Alternativos na Produção de Água Potável.** PROSAB 1. ed. São Carlos, 139 p. Luiz Antônio Daniel (coordenador)
- EI-KHATEEB, M.A.; AI-HERRAWY, A.Z.; KAMEL, M.M.; EI-GOHARY, F.A. (2008) – **Use of wetlands as post-treatment of anaerobically treated effluent.** – Artigo publicado em ScienceDirect, 2008. Water Pollution Control Department, National Research Centre, Tahrir Str. Dokki, Cairo, Egito.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA) (1992) - **Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge under 40CFR part 503.** Office of Water, Office of Science and Technology Sludge Risk Assessment Branch. Washington, p. 147, 1992.
- FANG, H. H. P., LIU, Y. (2001) – **Anaerobic wastewater treatment in sub-tropical regions.** In: *Advances in Water and Wastewater Technology*, Eds Matsuo, T. Hanaki, K., Takizawa S., and Satoh, H., Elsevier, Amsterdam, 2001.

- FRANCO, R. M. B. (1996) – **Infecções Parasitárias em creches: estudo em uma área urbana, com ênfase em *Cryptosporidium parvum* e *Giardia duodenalis***. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas – SP. 1996.
- FRANCO, R. M. B. et al. (2012) - **Avaliação da performance de metodologias de detecção de *Cryptosporidium spp.* e *Giardia spp.* em água destinada ao consumo humano, para o atendimento às demandas da Vigilância em Saúde Ambiental no Brasil**. Epidemiol. Serv. Saúde. 2012, vol.21, n.2, pp. 233-242.
- FOGOLARI, O.; dos REIS, C. Z.; PHILLIPI, L.S.; (2012) – **Determinação de parâmetros cinéticos da inativação térmica de *Escherichia Coli* em lodo de esgoto**. Eng. Sanitária e Ambiental, v.17 n.3, jul/set 2012.
- GONÇALVEZ, F.G.; JORDÃO, E. P.; SOBRINHO, P.A. (2003). **Introdução. In: Desinfecção de Efluentes Sanitários**. PROSAB 3. Ricardo Franci Gonçalves (coordenador).
- GONÇALVES, R.F.; VERONEZ, F.A.; BERNARDES, C.F.; KISSLING, C.M.S.; CASSINI, S.T.A.; (2001) – **Desempenho de um Reator UASB na Digestão de Esgoto Sanitário e Lodo Aeróbio Descartado de Biofiltros Aerados Submersos – Escala 1000 Habitantes**. 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental.
- GRACZYK, T.K. et al. (2008) – **Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in sewage sludge and solid waste landfill leachate and quantitative comparative analysis of sanitization treatments on pathogen inactivation**. Environmental Research. Vol. 106. 2008.
- GRØNDAHL-ROSADO, R.C.; TRYLAND, I.; MYRMEL, M.; AANES, K.J.; ROBERTSON, L.J. (2014) – **Detection of Microbial Pathogens and Indicators in Sewage Effluent and River Water During the Temporary Interruption of a Wastewater Treatment Plant**. Springer Science. Water Qual Expo Health – Noruega – 2014.
- GUIMARÃES, A. J. A.; CARVALHO, D. F.; SILVA, L. D. B. (2007) - **Saneamento básico**. ago. 2007. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAABwH8AG/capitulo1-saneamento-basico>>. Acesso em: 29 jul. 2013.
- HELLER, L. et al. (2004) - **Oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia*: circulação no ambiente e riscos à saúde humana**. Epidemiol. Serv. Saúde. 2004, vol. 13, n.2, pp. 79-92.

- IACOVSKI, R.B.; BARARDI, C.R.M.; SIMÕES, C.M.O. (2004) – **Detection and Enumeration of Cryptosporidium sp. Oocysts in sewage sludge samples from the city of Florianópolis (Brazil) by using Immunomagnetic Separation combined with Indirect Immunofluorescence Assay.** Waste Management and Research, 22, 171-176, 2004.
- ISSA, AL SAEED (2006) – **Frequency of *Giardia lamblia* among children in Dohuk, northern Iraq.** Eastern Mediterranean Health Journal - Department of Microbiology, College of Medicine, University of Dohuk, Iraq. 2006.
- JORDÃO, Eduardo Pacheco; CONSTANTINO, Arruda Pessoa (2009) – **Tratamento de Esgotos Domésticos – 5ª Edição.** Rio de Janeiro: ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2009. 950p.
- LAMEGO NETO, L.G; COSTA, R. H. R. (2011) – **Tratamento de esgoto sanitário em reator híbrido em bateladas sequenciais: eficiência e estabilidade na remoção de matéria orgânica e nutrientes (N,P).** Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, v.16 n.4, 2011.
- LAURINDA, Florencio; AISSE, Miguel Mansur; BASTOS, Rafael Kopschitz Xavier; PIVELLI, Roque Passos (2006) – **Tratamento e Utilização de Esgotos Sanitários – Marcos Conceituais e Regulatórios.** In: PROSAB – Rede Cooperativa de Pesquisa. *Reúso das Águas de Esgoto Sanitário, Inclusive Desenvolvimento de Tecnologias de Tratamento para esse fim.* Recife: ABES, 2006. p. 2.
- LETTINGA, G.; VAN VELSEN A.F.M.; HOBMA, S.W.; de ZEEUW, W.J., KLAPWIJK, A. (1980) – **Use of Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor concept for biological wastewater treatment especially for anaerobic treatment.** Biotechnology and Bioengineer.
- LOURENÇÃO, J.; (2009) – **Avaliação da Resistência de Microrganismos Patogênicos à Desinfecção Sequencial com Ozônio – Radiação Ultravioleta e Cloro – Radiação Ultravioleta.** São Carlos, 2009, 141p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos.
- McCUIN, R. M. & CLANCY, J. L. (2005) - **Methods for the recovery, isolation and detection of Cryptosporidium oocysts in wastewater.** Journal of Microbiological Methods. 63, 73-88, 2005.

- MEDEIROS, Raphael Corrêa (2010) - **Comparação da resistência de protozoários patogênicos – giárdia spp. E cryptosporidium spp. – e de microrganismos indicadores à desinfecção sequencial cloro-irradiação ultravioleta e ozônio-irradiação ultravioleta.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2010.
- MEDEIROS, Raphael Corrêa (2013) – **Avaliação da remoção de Giardia spp. e Cryptosporidium spp. em processos de tratamento de esgoto sanitário.** Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento – Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 2013.
- NASSER, A.M.; VAIZEL-OHAYON, D.; AHARONI, A.; REVHUN, M. (2012) - **Prevalence and fate of Giardia cysts in wastewater treatments plants.** Journal of Applied Microbiology, V. 113, p. 477-484, 2012.
- OLIVEIRA, Gabriela Laila. (2012) – **Processo de Tratamento Biológico e Físico-Químico combinados visando reuso de esgoto sanitário.** Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, 2012.
- OLIVEIRA NETTO, A. P. (2007) - **Reator anaeróbio-aeróbio de leito fixo, com recirculação da fase líquida, aplicado ao tratamento de esgoto sanitário.** Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007
- OLIVEIRA NETTO, A. P. (2011) – **Reator anaeróbio-aeróbio de leito fixo em escala piloto, com recirculação da fase líquida, aplicado ao tratamento de esgoto sanitário.** São Carlos, Tese (Doutorado) – Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. 2011.
- PAULINO, R. C.; CASTRO, E. A. e THOMAZ-SOCCOL, V. (2001) - **Tratamento anaeróbio de esgoto e sua eficiência na redução da viabilidade de ovos de helmintos.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop. [online]. 2001, vol.34, n.5, pp. 421-428. ISSN 0037-8682.
- PASSOS, Thalita Marques (2013) – **Análise comparativa do efeito do ultrassom e ozônio na eliminação de cistos de Giardia spp. provenientes de amostras de esgoto.** Dissertação

de Mestrado. Instituto de Engenharia Biomédica. Universidade Camilo Castelo Branco. 2013.

PAYMENT, P.; PLANTE, R.; CEJKA, P. (2001) – **Removal of indicator bacteria, human enteric viruses, *Giardia* cysts, and *Cryptosporidium* oocysts at a large wastewater primary treatment facility.** Can. J. Microbiol. 47: 188 – 193. NRC Canada. 2001.

RAZZOLINI, M. T. P., WEIR, M. H., MATTE, M. H., MATTE G. R., FERNANDES, L.N., & ROSE, J. B. (2011): **Risk of *Giardia* infection for drinking water and bathing in a peri-urban area in São Paulo, Brazil.** International Journal of Environmental Health Research, 21:3, 222-234

REINOSO, R.; BLANCO, S.; TORRES-VILLAMIZAR, L.A.; BECARES, E. (2011) - **Mechanisms for Parasites Removal in a Waste Stabilisation.** Pond. Microbial Ecology, V.61, p. 684-692, 2011.

ROBERTSON, L.J.; HERMANSEN, L.; GJERDE, B.K.; (2006) – **Occurrence of *Cryptosporidium* Oocysts and *Giardia* Cysts in Sewage in Norway.** Appl. Environ. Microbiol. Vol. 72 n. 8. Agosto 2006

ROCHA, Aristides Almeida (1995) – **Ciências do ambiente, saneamento, saúde pública.** São Paulo: Departamento de Saúde Ambiental. Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo, 1995. 407 p.

ROSARIO, Carlos Gonzalo Alvarez (2007) – **Avaliação da disposição de lodo gerado numa estação de tratamento de água em reator anaeróbio de fluxo ascendente e manto de lodo (UASB).** Dissertação de Mestrado. Escola Politécnica – Universidade de São Paulo, 2007.

SANTOS, L.U.; BONATTI, T.R.; NETO, R.C.; FRANCO, R.M.B.; (2004). **Ocorrência de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* em amostras de lodo ativado em Campinas, SP, Brasil.** Artigo publicado na Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. Vol.46 no.6 São Paulo Nov./Dec. 2004.

SANTOS, Luciana Urbano (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. Tese: Doutorado em Parasitologia – Instituto de Biologia, Universidade de Campinas. 2007.

SHARAFI, K.; FAZLZADEHDAVIL, M.; PIRSAHEB, M.; DERAYAT, J.; HAZRATI, S. (2012) - **The comparison of parasite eggs and protozoan cysts of urban raw wastewater and efficiency of various wastewater treatment systems to remove them.** Elsevier Science Bv, Po Box 211, 1000 AE Amsterdam, Holanda, 2012.

SILVA, Marcos Schaaf Teixeira (2014) – **Remoção de (oo)cistos de protozoários e de estrogeneidade em sistemas combinados de tratamento de esgoto sanitário.** São Carlos: Departamento de Hidráulica e Saneamento. Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, 2014. 154 p.

SOARES, L.V. (2007). **Ozonização de esgoto sanitário: estudo da hidrodinâmica, transferência de massa e inativação de microorganismos indicadores.** Tese (Doutorado na área de Concentração em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2007.

SYKORA, J.L.; SORBER, CA; JAKUBOWSKI, W; CASSON, LW; GAVAGHAN, PD; SHAPIRO, MA; SCHOTT, MJ; (1991) – **Distribution of Giardia cysts in waste-water.** INTERNATIONAL SYMP ON HEALTH-RELATED WATER MICROBIOLOGY – Alemanha – 1991.

TAWFIK, A.; SOBHEY, M.; BADAWEY, M. (2008) - **Treatment of a combined dairy and domestic wastewater in an up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor followed by activated sludge (AS system).** Desalination, 2008.

VAN HAANDEL, A.C. & LETTINGA, G. (1994) - **Tratamento anaeróbico de esgotos: Um manual para regiões de clima quente, Campina Grande** - Paraíba, 240p.

VAN HAANDEL, A. C. V. ; LETTINGA, Gatzke (1994) - **Anaerobic sewage treatment.** 1. ed. Chichester: John Wiley and Sons, 1994. v. 1. 226p

VAN HAANDEL, A. C. V. ; MARAIS, G. V. R. (1999) - **O comportamento do sistema de lodo ativado** . 1. ed. Campina Grande: EpGraf, 1999. v. 1. 486p .

VON SPEARLING, M.; VAN HAANDEL, A.; JORDÃO, E.P.; CAMPOS, José Roberto; CYBIS, Luiz Fernando; AISSE, Miguel Mansur; SOBRINHO, Pedro Alem (2001) – **Pós-tratamento de**

efluente de reatores anaeróbios por lodo ativado. In: Prof. Carlos Augusto Lemos CHERNICHARO. *Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios*. PROSAB, 2001.

VON SPERLING, M. (2002) - **Lodo ativado**. 2a ed. ampliada. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), vol. 4, 2002

WESTRELL, T.; SCHONNING, C.; STENSTROM, T.A.; ASHBOLT, N.J. (2004) – **QMRA (Quantitative Microbial Risk Assessment) and HACCP (hazard analysis and critical control points) for management of pathogens in wastewater and sewage sludge treatment and reuse**. Water Science and Technology, Suécia, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) (2004) - **Emerging Issues in Sater and Infectious Disease – Water, Sanitation and Health**. http://www.who.int/water_sanitation_heath

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) (2006) - **Preventing disease through healthy environments – towards an estimate of the environmental burden of disease**. Executive summary.

YODER, Jonathan S. et. al. (2012) - **Giardiasis Surveillance — United States, 2009–2010** In: Surveillance Summaries, Vol. 61, nº 5. Centers for Disease Control and Prevention – MMWR, 2012.