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

BÁRBARA LUÍZA SOUZA FREITAS

**Filtros lentos em escala domiciliar como alternativa de tratamento
de águas com risco microbiológico em comunidades isoladas**

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2017

BÁRBARA LUÍZA SOUZA FREITAS

**Filtros lentos em escala domiciliar como alternativa de tratamento
de águas com risco microbiológico em comunidades isoladas**

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lyda Patricia Sabogal Paz

São Carlos

2017

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.

F866f Freitas, Bárbara Luíza Souza
Filtros lentos em escala domiciliar como
alternativa de tratamento de águas com risco
microbiológico em comunidades isoladas / Bárbara Luíza
Souza Freitas; orientadora Lyda Patrícia Sabogal Paz.
São Carlos, 2017.

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,
2017.

1. filtros lentos. 2. comunidades isoladas. 3.
risco microbiológico. 4. coagulantes naturais. 5.
desinfetantes alternativos. 6. tratamento de água. I.
Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheira **BÁRBARA LUIZA SOUZA FREITAS**.

Título da dissertação: "Filtros lentos em escala domiciliar como alternativa de tratamento de águas com alto risco microbiológico em comunidades isoladas".

Data da defesa: 28/06/2017.

Comissão Julgadora:

Resultado:

Profa. Dra. **Lyda Patrícia Sabogal Paz**
(Orientadora)
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Aprovada

Profa. Associada **Eny Maria Vieira**
(Instituto de Química de São Carlos/IQSC)

Aprovada

Profa. Dra. **Darilelli Cristina Granado Romero**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP- Presidente Prudente)

Aprovada

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 **Luis Fernando Costa Alberto**

Dedico à minha avó Mirtes e minha mãe Nelma
por todo amor incondicional

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todos os momentos de luz e conforto. O meu caminho com o senhor é repleto de alegrias.

À minha avó Mirtes e à minha mãe Nelma por todo amor incondicional durante todos os anos da minha vida.

Meus agradecimentos à professora e orientadora Lyda por todo aprendizado, pela disponibilidade do início ao fim desta pesquisa e por despertar em mim o melhor que eu tenho a oferecer como pesquisadora.

Ao quarteto que esteve presente durante a graduação em Uberaba e o mestrado em São Carlos. Andreza, Jéssica e Larissa, trilhar o caminho ao lado de vocês foi uma tarefa bem mais fácil.

À Paula por todas as palavras de conforto, pelo amor, pela amizade e, principalmente, pelo seu companheirismo na reta final e crucial desta pesquisa.

Ao Rony e à Hermione por terem as ronronadas que acalmam o meu coração.

À minha prima Anna, pela presença em todos os momentos da minha vida.

Agradeço, em especial, ao Ulisses e ao Paulo, fiéis escudeiros na operação dos filtros lentos, por toda amizade, companheirismo e ajuda. Esta conquista também é de vocês.

Aos amigos do LATAR, Arroz, Aline, Huguinho, Plets, Thadeu, Day, Gabi, Ju, Ana, Sayuri, Kamila, Nathalie, Liri, Pri, Amanda, Fernando, Rodrigo e Hyago pelos momentos de descontração.

À Dayane por toda paciência em me ensinar as técnicas de protozoário.

A técnica do LATAR Maria Teresa pela ajuda nas análises e pela amizade.

A Flávia Estrada pela ajuda na análise de difração de raio-x.

Aos amigos que conquistei em São Carlos, Letícia, Will, Derik e Bah. Obrigada pelas risadas.

Agradeço aos professores Luiz Daniel e Marco Reali, por cederem o LATAR para a realização desta pesquisa.

À Escola de Engenharia de São Carlos e ao Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento por proporcionarem condições para o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa concedida.

A FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo financiamento do projeto intitulado “Biofiltros em Areia Operados em Fluxo Contínuo e em Fluxo Intermitente – Desafios na Construção, Operação e Manutenção” (Processo FAPESP nº 2014/12712-8).

A CAQI (Central de Análises Químicas Instrumentais) do Instituto de Química de São Carlos (USP) pela disponibilidade nas análises de microscopia eletrônica de varredura, difração de raio-x e espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier.

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”

Simone de Beauvoir

RESUMO

FREITAS, B. L. S. (2017). **Filtros lentos em escala domiciliar como alternativa de tratamento de águas com alto risco microbiológico em comunidades isoladas.** Dissertação (Mestrado). 206f. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

O objetivo deste trabalho foi aperfeiçoar o filtro lento em escala domiciliar (FLD) à realidade das comunidades isoladas brasileiras com o uso conjunto de pré-tratamento e pós-tratamento acessíveis. As espécies cactáceas *Opuntia cochenillifera* e *Opuntia ficus indica* foram avaliadas em ensaios de tratabilidade como coagulantes naturais em pó. A melhor condição para remoção de turbidez e cor aparente foi com 30 mg.L⁻¹ de *O. cochenillifera* em pH sem a necessidade de correção ($\pm 6,8$). O pré-tratamento adaptado às comunidades isoladas utilizando o coagulante natural apresentou valores compatíveis de turbidez ($7,83 \pm 2,32$ uT) para inserção aos filtros. Os FLDs em fluxo contínuo (taxa de filtração de 1,22 m³/m².dia) e em fluxo intermitente (taxa de filtração máxima de 2,79 m³/m².dia) demonstraram redução da turbidez, da cor aparente, dos coliformes totais e da *Escherichia coli* e produziram água filtrada com ausência de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. O FLD em fluxo contínuo teve a maior eficiência em relação à turbidez ($\pm 81,2\%$); enquanto que o FLD operado em fluxo intermitente apresentou melhores eficiências para a remoção da cor aparente (48,4%), dos coliformes totais ($2,60\log \pm 0,99$) e da *E. coli* ($2,86\log \pm 0,79$). Os principais microrganismos atuantes na *schmutzdecke* dos FLDs foram ciliados (como, por exemplo, a *Vorticella* sp.), nematódeos e rotíferos. A esponja-vegetal (*Luffa cylindrica*) e o quiabo (*Hibiscus esculentus*) foram ponderados como desinfetantes alternativos para o pós-tratamento aos FLDs. As sementes da *L. cylindrica* e o fruto da *H. esculentus* foram avaliados através do preparo do extrato e as folhas da *L. cylindrica* através do preparo em pó. A melhor condição para inativação de *E. coli* foi com 1 g.L⁻¹ do extrato de *H. esculentus* em pH sem a necessidade de correção ($\pm 6,8$) durante um tempo de contato de 30 min. Essa condição forneceu $1,12\log (\pm 0,16)$ para a inativação de *E. coli*, contudo não afetou a viabilidade dos (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. Em ensaios toxicológicos com *Chironomus xanthus*, a água filtrada não apresentou toxicidade.

Palavras-chave: filtros lentos, comunidades isoladas, risco microbiológico, coagulantes naturais, desinfetantes alternativos, tratamento de água.

ABSTRACT

FREITAS, B. L. S. (2017). **Household-scale slow sand filter as an alternative for water treatment with high microbiological risk in isolated communities**. Dissertação (Mestrado). 206f. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017,

The aim of this study was to improve the household-scale slow sand filter (HSSF) to the reality of isolated Brazilian communities with combined use of pre-treatment and post-treatment approachable. Cacti species *Opuntia cochenillifera* e *Opuntia ficus indica* were evaluated in Jar tests as powder natural coagulants. The best condition for turbidity and apparent color removal was with 30 mg.L⁻¹ of *O. cochenillifera* at pH without correction ($\pm 6,8$). Pre-treatment adapted to isolated communities using natural coagulant showed compatible turbidity values (7.83 ± 2.32 uT) for insertion into the filters. The HSSFs with continuous (filtration rate of 1,22 m³/m².day) and intermittent operation (maximum filtration rate of 2,79 m³/m².day) demonstrated reductions in turbidity, apparent color, total coliforms and *Escherichia coli* and produced filtered water without *Giardia* spp. cysts and *Cryptosporidium* spp. oocysts. The HSSF in continuous operation had the highest turbidity efficiency ($\pm 81.2\%$); while the HSSF in intermittent operation had showed better efficiencies for the apparent color (48,4%), total coliforms ($2,60\log \pm 0,99$) and *E. coli* ($2,86\log \pm 0,79$). The main microorganisms active in the *schmutzdecke* were ciliates (for example, *Vorticella* spp.) nematodes and rotifers. *Luffa cylindrica* and *Hibiscus esculentus* were evaluated as alternative disinfectant for post-treatment to HSSF. *L. cylindrica* seed and *H. esculentus* fruit were tested as extract and *L. cylindrica* leave was tested powder. The best condition for *E. coli* inactivation was with 1 g.L⁻¹ of *H. esculentus* extract at pH without correction ($\pm 6,8$) during 30 min. This condition provided $1,12\log (\pm 0,16)$ for *E. coli* inactivation, however did not affect *Giardia* spp. cysts and *Cryptosporidium* spp. oocysts viability. In toxicological tests with *Chironomus xanthus*, the filtered water showed no toxicity.

Keywords: slow filter, isolated communities, microbiological risk, natural coagulants, alternative disinfectants, water treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Microscopia eletrônica de varredura de <i>Escherichia coli</i> (LIU et al, 2017)	32
Figura 2 – Microscopia eletrônica de varredura dos (A) cistos de <i>Giardia</i> spp. e (B) oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. (FAGNANI, 2010)	35
Figura 3 - Componentes do filtro lento em escala domiciliar (CAWST, 2010)	38
Figura 4 – Zonas dos filtros lentos em escala domiciliar (CAWST, 2010)	40
Figura 5 - Tipos de alimentação de traçador em ensaios de estímulo-resposta (LEVENSPIEL, 2000).	46
Figura 6 - Resultados dos ensaios em traçador conduzidos em FLD de plástico por Elliot et al (2008).	47
Figura 7 - Ensaios de traçador reproduzidos por Young-Rojanschi e Madramootoo (2015).	48
Figura 8 - Análise visual de anomalias em curvas DTR com perturbação do tipo pulso. Adaptado de Levenspiel (2000)	49
Figura 9 – Modelos ideais: A – Modelo de dispersão axial e B - Modelo de tanques-em-série (PEGORARO, 2011).	50
Figura 10 - Microscopia eletrônica de transmissão dos flocos produzidos pelos experimentos de coagulação com <i>Opuntia</i> spp. em dosagem de 28,4 mg/L (turbidez inicial = 250 uT e pH ~ 8,5). Adaptado de Miller et al (2008).	53
Figura 11 – Porcentagem de inativação de coliformes totais e termotolerantes utilizando o extrato do fruto da <i>L. cylindrica</i> e o extrato das sementes da <i>L. cylindrica</i> , respectivamente, durante o tempo contato de uma hora (SHAHEED et al, 2009).	57
Figura 12 – Fração de ácidos graxos presentes no extrato do quiabo com casca, sem casca e liofilizado (adaptado de CARVALHO et al, 2011)	58
Figura 13 – Viabilidade celular dos microrganismos quando utilizado extrato do quiabo in natura por 30 minutos (adaptado de CARVALHO et al, 2011).	59
Figura 14 – Representação esquemática do ciclo de vida do Chironomidae (CAVALCANTI, 2010)	60
Figura 15 - Componentes da estrutura do filtro lento em escala domiciliar	62
Figura 16 - Procedimentos para preparação dos materiais filtrantes.....	64
Figura 17 - Disposição dos materiais filtrantes no interior do filtro. Cotas em centímetros. ..	65
Figura 18 - Sistemas de alimentação dos filtros lentos em escala domiciliar	66
Figura 19 - Detalhes do filtro de laboratório em acrílico (FLA)	68
Figura 20 - Montagem dos filtros de laboratório de acrílico (FLA)	68
Figura 21 - Sistemas de alimentação dos filtros de laboratório em acrílico	69
Figura 22 - Detalhes do misturador mecânico.....	72
Figura 23 - Detalhes do equipamento Jarteste.....	73
Figura 24 - Procedimentos para preparação do coagulante natural em pó	81
Figura 25 - Reservatório adaptado para execução do pré-tratamento	89
Figura 26 - Unidade adaptada para retenção dos flocos não sedimentados	89
Figura 27 - Interligação dos reservatórios elevado e apoiado	90
Figura 28 - Problemas relacionados à FCCa em 15L de amostra filtrada	93
Figura 29 - Procedimentos para avaliação dos microrganismos atuantes na camada biológica	94
Figura 30 - Preparação do <i>Hibiscus esculentus</i> como desinfetante alternativo	96
Figura 31 - Preparação da folha da <i>Luffa cylindrica</i> como desinfetante alternativo	97
Figura 32 - Preparação das sementes da <i>Luffa cylindrica</i> como desinfetante alternativo.....	98
Figura 33 - Procedimentos iniciais para o ensaio de desinfecção	99
Figura 34 - Curvas granulométricas para a areia fina e grossa de construção civil	103
Figura 35 – Oocisto de <i>Cryptosporidium</i> spp. e cisto de <i>Giardia</i> spp., respectivamente, nos quatro filtros de identificação: A) FITC, B) DAPI, C) IP e D) DIC (aumento de 400x).	109
Figura 36 – Curvas DTR (distribuição do tempo de residência), em triplicata, para os filtros de laboratório em acrílico em fluxo contínuo, sendo a) injeção tipo pulso e b) injeção tipo degrau.	110

Figura 37 – Curva E (distribuição do tempo de residência adimensional), em triplicata, para os filtros de laboratório em acrílico em fluxo contínuo, sendo a) injeção tipo pulso e b) injeção tipo degrau.	111
Figura 38 – Modelos hidrodinâmicos com base em extremos de idealidade de escoamento para o filtro de laboratório em acrílico em fluxo contínuo com injeção tipo pulso.	112
Figura 39 - Modelos hidrodinâmicos com base em extremos de idealidade de escoamento para o filtro de laboratório em acrílico em fluxo contínuo com injeção tipo degrau.	113
Figura 40 – Curva C (distribuição do tempo de residência) e curva E (distribuição do tempo de residência adimensional), em triplicata, para o filtro lento em escala domiciliar em fluxo contínuo.	114
Figura 41 - Modelos hidrodinâmicos com base em extremos de idealidade de escoamento para o filtro lento em escala domiciliar em fluxo contínuo com injeção tipo degrau.	114
Figura 42 – Curva da concentração do traçador em função do volume de vazios com a injeção tipo pulso invertido (A) e degrau invertido (B) e curva da fração de saída do traçador com a injeção tipo pulso invertido (C) e degrau invertido (D) para os FLAs em fluxo intermitente.	115
Figura 43 – Curva da concentração de traçador em função do volume de vazios (A) e curva da fração de saída do traçador em função do volume de vazios (B) para o FLD em fluxo intermitente com a injeção tipo degrau invertido.	116
Figura 44 - Determinação dos sólidos totais, voláteis e fixos para a <i>O. cochenillifera</i> e <i>O. ficus indica</i>	118
Figura 45 – Análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier para a <i>O. cochenillifera</i> e <i>O. ficus indica</i>	119
Figura 46 – Difrátograma de Raio-X para a <i>O. cochenillifera</i> e <i>O. ficus indica</i>	120
Figura 47 – Diagramas de coagulação para remoção de turbidez: dosagem de <i>O. cochenillifera</i> entre 5 e 50 mg/L, mistura rápida de $GMr = 335\ s^{-1}$ e $TMr = 1\ min$, mistura lenta de $GMI = 30\ s^{-1}$ e $TMI = 30\ min$, e sedimentação de (a) $Vs = 1,0\ cm/min$, (b) $Vs = 0,5\ cm/min$ e (c) $Vs = 0,25\ cm/min$	123
Figura 48 – Diagramas de coagulação para remoção de cor aparente: dosagem de <i>O. cochenillifera</i> entre 5 e 50 mg/L, mistura rápida de $GMr = 335\ s^{-1}$ e $TMr = 1\ min$, mistura lenta de $GMI = 30\ s^{-1}$ e $TMI = 30\ min$, e sedimentação de (a) $Vs = 1,0\ cm/min$, (b) $Vs = 0,5\ cm/min$ e (c) $Vs = 0,25\ cm/min$	124
Figura 49 – Diagramas de coagulação para remoção de turbidez: dosagem de <i>O. ficus indica</i> entre 5 e 50 mg/L, mistura rápida de $GMr = 335\ s^{-1}$ e $TMr = 1\ min$, mistura lenta de $GMI = 30\ s^{-1}$ e $TMI = 30\ min$, e sedimentação de (a) $Vs = 1,0\ cm/min$, (b) $Vs = 0,5\ cm/min$ e (c) $Vs = 0,25\ cm/min$	125
Figura 50 – Diagramas de coagulação para remoção de cor aparente: dosagem de <i>O. ficus indica</i> entre 5 e 50 mg/L, mistura rápida de $GMr = 335\ s^{-1}$ e $TMr = 1\ min$, mistura lenta de $GMI = 30\ s^{-1}$ e $TMI = 30\ min$, e sedimentação de (a) $Vs = 1,0\ cm/min$, (b) $Vs = 0,5\ cm/min$ e (c) $Vs = 0,25\ cm/min$	126
Figura 51 - Floco alongado e filamentoso formado no ensaio de tratabilidade com <i>O. cochenillifera</i> : dosagem de 30 mg/L, pH próximo à 6,8, $GMr = 335\ s^{-1}$, $TMr = 1\ min$, $GMI = 30\ s^{-1}$ e $TMI = 30\ min$	127
Figura 52 - Turbidez e cor aparente remanescentes nas seguintes condições: dosagem de <i>O. cochenillifera</i> = 30 mg/L, mistura rápida com GMr entre 200 e $430\ s^{-1}$ e $TMr = 60\ s$, mistura lenta com $GMI = 30\ s^{-1}$ e $TMI = 30\ min$, e sedimentação com $Vs = 1,0; 0,5\ e\ 0,25\ cm/min$ e $Ts = 7, 14\ e\ 28\ min$	128
Figura 53 - Turbidez e cor aparente remanescentes nas seguintes condições: dosagem de <i>O. cochenillifera</i> = 30 mg/L, mistura rápida com $GMr = 335\ s^{-1}$ e TMr entre 20 e 60 s, mistura lenta com $GMI = 30\ s^{-1}$ e $TMI = 30\ min$, e sedimentação com $Vs = 1,0; 0,5\ e\ 0,25\ cm/min$ e $Ts = 7, 14\ e\ 28\ min$	128
Figura 54 - Turbidez e cor aparente remanescentes nas seguintes condições: dosagem de <i>O. cochenillifera</i> = 30 mg/L, mistura rápida com $GMr = 250\ s^{-1}$ e $TMr = 60\ s$, mistura lenta com GMI entre 20 e $40\ s^{-1}$ e $TMI = 30\ min$, e sedimentação com $Vs = 1,0; 0,5\ e\ 0,25\ cm/min$ e $Ts = 7, 14\ e\ 28\ min$	129

Figura 55 - Turbidez e cor aparente remanescentes nas seguintes condições: dosagem de <i>O. cochenillifera</i> = 30 mg/L, mistura rápida com $GMr = 250\text{ s}^{-1}$ e $TMr = 60\text{ s}$, mistura lenta com $GMI = 25\text{ s}^{-1}$ e TMI entre 5 e 45 min, e sedimentação com $Vs = 1,0; 0,5\text{ e }0,25\text{ cm/min}$ e $Ts = 7, 14\text{ e }28\text{ min}$.	129
Figura 56 – Desempenho do ensaio de tratabilidade com o kit filtros de laboratório em acrílico em fluxo contínuo ($1,22\text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e intermitente (taxa máxima de $3,68\text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação à cor aparente, ao pH e ao potencial zeta. Condições do ensaio de tratabilidade: <i>O. cochenillifera</i> = 30 mg/L, pH = 6,8, $GMr = 250\text{ s}^{-1}$, $TMr = 60\text{ s}$, $GMI = 25\text{ s}^{-1}$, TMI = 20 min, $Vs = 0,25\text{ cm/min}$.	132
Figura 57 - Desempenho do ensaio de tratabilidade com o kit filtros de laboratório em acrílico em fluxo contínuo ($1,22\text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação à <i>Escherichia coli</i> e às formas de carbono total e inorgânico. Condições do ensaio de tratabilidade: <i>O. cochenillifera</i> = 30 mg/L, pH = 6,8, $GMr = 250\text{ s}^{-1}$, $TMr = 60\text{ s}$, $GMI = 25\text{ s}^{-1}$, TMI = 20 min, $Vs = 0,25\text{ cm/min}$.	134
Figura 58 - Desempenho do ensaio de tratabilidade com o kit filtros de laboratório em acrílico em fluxo intermitente (taxa máxima de $3,68\text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação à <i>Escherichia coli</i> e às formas de carbono total e inorgânico. Condições do ensaio de tratabilidade: <i>O. cochenillifera</i> = 30 mg/L, pH = 6,8, $GMr = 250\text{ s}^{-1}$, $TMr = 60\text{ s}$, $GMI = 25\text{ s}^{-1}$, TMI = 20 min, $Vs = 0,25\text{ cm/min}$.	135
Figura 59 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> para a remoção de turbidez.	142
Figura 60 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação a cor aparente.	143
Figura 61 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação a cor verdadeira.	144
Figura 62 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação à temperatura.	144
Figura 63 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação à condutividade elétrica.	145
Figura 64 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação ao pH.	146
Figura 65 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação à alcalinidade total.	146
Figura 66 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação à alcalinidade parcial.	147
Figura 67 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação ao potencial zeta.	147
Figura 68 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação à absorvância 254 nm.	148
Figura 69 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação ao carbono total.	148
Figura 70 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação ao carbono inorgânico.	149
Figura 71 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação ao carbono orgânico total.	149
Figura 72 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação aos coliformes totais.	150
Figura 73 - Desempenho do pré-tratamento com <i>O. cochenillifera</i> em relação à <i>Escherichia coli</i> .	150
Figura 74 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22\text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79\text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) para a remoção de turbidez.	152
Figura 75 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22\text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79\text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) para a remoção de turbidez, com enfoque nas águas filtradas.	153

Figura 76 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) para a remoção de cor aparente.	155
Figura 77 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) para a remoção de cor verdadeira.....	156
Figura 78 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) em relação à temperatura.	156
Figura 79 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) em relação à condutividade elétrica.	157
Figura 80 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) em relação ao pH.	157
Figura 81 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) em relação à alcalinidade total.....	158
Figura 82 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) em relação à alcalinidade parcial.....	158
Figura 83 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) em relação ao potencial zeta.....	159
Figura 84 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) em relação à absorvância 254 nm.....	159
Figura 85 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) em relação ao carbono total.....	160
Figura 86 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) em relação ao carbono inorgânico total.....	160
Figura 87 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) em relação ao carbono orgânico total.....	161
Figura 88 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) para a remoção de coliformes totais.....	162
Figura 89 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) para a remoção de coliformes totais, com enfoque nas águas filtradas.	162
Figura 90 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) para a remoção de Escherichia coli.....	163
Figura 91 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) para a remoção de Escherichia coli, com enfoque nas águas filtradas.	164
Figura 92 – Microrganismos atuantes no schmutzdecke do filtro lento em escala domiciliar intermitente no 53º dia de operação.	166
Figura 93 - Microrganismos atuantes no schmutzdecke do filtro lento em escala domiciliar contínuo no 59º dia de operação.	168
Figura 94 - Microrganismos atuantes no schmutzdecke do filtro lento em escala domiciliar intermitente no 75º dia de operação.	169
Figura 95 - Microrganismos atuantes no schmutzdecke do filtro lento em escala domiciliar contínuo no 75º dia de operação.	169

Figura 96 – Fotomicrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da manta feltro antes da operação dos filtros em um aumento de 100x, 500x, 1000x e 3000x.	170
Figura 97 – Fotomicrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da manta feltro posicionada no FLD contínuo em um aumento de 100x, 500x, 1000x e 3000x.	171
Figura 98 – Fotomicrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da manta feltro posicionada no FLD intermitente em um aumento de 100x, 500x, 1000x e 3000x.	172
Figura 99 - Determinação dos sólidos totais, voláteis e fixos para os extratos da semente de <i>L. cylindrica</i> e do fruto da <i>H. esculentus</i>	174
Figura 100 - Determinação dos sólidos totais, voláteis e fixos para o desinfetante em pó extraído das folhas da <i>L. cylindrica</i>	175
Figura 101 – Inativação de <i>E. coli</i> em log utilizando como desinfetante alternativo o extrato do fruto de <i>H. esculentus</i> , sendo em A) pH 4,86 ($\pm 0,15$), B) pH 6,78 ($\pm 0,10$), C) pH 9,94 ($\pm 0,08$)	177
Figura 102 – Inativação de <i>E. coli</i> em log utilizando como desinfetante alternativo o extrato das sementes de <i>L. cylindrica</i> (1 g/L e pH 7,34 $\pm$ 0,05).	178
Figura 103 – Inativação de <i>E. coli</i> em log utilizando como desinfetante alternativo o pó das folhas da <i>L. cylindrica</i> , sendo em: A) pH 2,73 ($\pm 0,02$), B) pH 7,33 ($\pm 0,14$), C) 9,71 ($\pm 0,05$)	179
Figura 104 – Ensaios utilizando larvas do inseto <i>Chironomus xanthus</i> para avaliar a toxicidade da água bruta, clarificada e filtrada	185

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atividade de coagulação utilizando diferentes modos de preparo da <i>Opuntia</i> spp. em água turva com pH próximo a 9,8 (MILLER et al, 2008).	52
Tabela 2 - Tubulações, conexões e acessórios utilizados na construção do FLD.	63
Tabela 3 - Seleção do meio filtrante e da camada suporte.....	64
Tabela 4 - Definição de variáveis para a caracterização do escoamento	78
Tabela 5 - Modelos hidrodinâmicos baseados em escoamento ideal de mistura perfeita ou escoamento pistonado ideal	79
Tabela 6 - Frequência de monitoramento dos parâmetros de qualidade da água	91
Tabela 7 - Definição das dosagens para cada um dos desinfetantes alternativos.....	99
Tabela 8 - Ensaios de desinfecção em diferentes condições para um dos desinfetantes alternativos	100
Tabela 9 - Consumo de água e turbidez das águas da primeira e da última lavagem.....	102
Tabela 10 – Caracterização físico-química da água do poço da EESC/USP	104
Tabela 11 - Turbidez obtida após a adição de caulinita.....	105
Tabela 12 - Cor verdadeira e cor aparente obtidas após a adição de ácido húmico (0,003 g. L ⁻¹)	105
Tabela 13 – Características da água de estudo mediante homogeneização no Jarteste ...	106
Tabela 14 – Valores dos parâmetros que influenciaram o gradiente de velocidade.	106
Tabela 15 – Características da água de estudo com agitação por misturador mecanizado	107
Tabela 16 – Preparo da água de estudo com <i>Escherichia coli</i>	107
Tabela 17 - Resultado da contagem em triplicata das suspensões de <i>Giardia</i> spp. (5 µL) e <i>Cryptosporidium</i> spp. (15 µL) para posterior inoculo.	108
Tabela 18 – Otimização do tempo de incubação do DAPI (4'6'-diamidino-2-phenylindol) para melhor visualização dos núcleos nos cistos de <i>Giardia</i> spp.	109
Tabela 19 – Resultado do controle analítico do método de concentração de FCCa utilizando as suspensões de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp.....	137
Tabela 20 – Resultado do controle analítico do método de concentração de FCCa utilizando o kit EasySeed®.	138
Tabela 21 – Desempenho dos filtros de laboratório em acrílico em fluxo contínuo e em fluxo intermitente em relação aos (oo)cistos de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp.	140
Tabela 22 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m ³ /m ² .dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m ³ /m ² .dia) em relação aos parâmetros físico-químicos	154
Tabela 23 - Resultado da contagem em triplicata das suspensões de <i>Giardia</i> spp. (5 µL) da UNICAMP e de <i>Cryptosporidium</i> spp. (15 µL) da Waterborne para posterior inoculo.....	165
Tabela 24 – Análises microbiológicas e físico-químicas para os pontos selecionados dos três desinfetantes alternativos	180
Tabela 25 - Resultado da contagem em triplicata das suspensões de <i>Giardia</i> spp. (5 µL) da UNICAMP e <i>Cryptosporidium</i> spp. (5 µL) da UNESP para posterior inoculo.....	182
Tabela 26 – Desinfecção de (oo)cistos de protozoários com extrato do fruto de <i>H. esculentus</i> a 1 g/L por 30 min.	183

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFC – água filtrada do FLD contínuo

AFIC – água filtrada do FLD intermitente (composta)

AFIPP – água filtrada do FLD intermitente (pontual)

ANOVA - Análise de variância (Analysis of variance)

CAWST – Centre for Affordable Water and Sanitation Technology

CSTR – continuous stirred tank reactor

CU – coeficiente de uniformidade

DAPI – 4'6'-diamidino-2-phenylindol

DIC – contraste interferencial diferencial

DTR – distribuição do tempo de residência

FCCa – floculação em carbonato de cálcio

FITC – isotiocianato de fluoresceína

FLA – filtro de laboratório de acrílico

FLD – filtro lento em escala domiciliar

GMI – gradiente de mistura lenta

GMr – gradiente de mistura rápida

IP – iodeto de propídio

MDI – índice de dispersão de Morril

MEV – microscopia eletrônica de varredura

NMP – número mais provável

OMS – Organização Mundial da Saúde

ONG – organização não governamental

PFR – plug flow reactor

RID – reação de imunofluorescência direta

RIP – ribosome-inactivating proteins

SODIS – desinfecção solar

SVT – sólidos voláteis totais

TMI – tempo de mistura lenta

TMr – tempo de mistura rápida

USEPA – United States Environmental Protection Agency

Vs – velocidade de sedimentação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	25
2 OBJETIVOS.....	28
2.1 OBJETIVO GERAL	28
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	29
3.1 ABASTECIMENTO DE ÁGUA COM RISCO MICROBIOLÓGICO EM COMUNIDADES ISOLADAS	29
3.1.1 Microrganismos indicadores de risco microbiológico.....	30
3.2 FILTRO LENTO EM ESCALA DOMICILIAR	38
3.2.1 Concepção do filtro lento em escala domiciliar	38
3.2.2 Operação em fluxo intermitente e contínuo.....	40
3.2.3 Experiências com o filtro lento em escala domiciliar	41
3.3 CARACTERIZAÇÃO DO ESCOAMENTO EM FILTROS	45
3.4 COAGULANTES NATURAIS	50
3.4.1 Opuntia spp.	51
3.5 ENSAIOS DE TRATABILIDADE.....	54
3.6 DESINFETANTES ALTERNATIVOS	55
3.5.1 Luffa cylindrica	55
3.5.2 Hibiscus esculentus	57
3.7 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS.....	59
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	62
4.1 CONSTRUÇÃO DO FILTRO LENTO EM ESCALA DOMICILIAR.....	62
4.1.1 Montagem dos filtros lentos em escala domiciliar	62
4.1.2 Preparação do material filtrante	63
4.1.3 Montagem das camadas filtrantes e suporte.....	65
4.1.4 Montagem dos sistemas de alimentação contínuo e intermitente	66
4.2 CONSTRUÇÃO DO FILTRO DE LABORATÓRIO EM ACRÍLICO	67
4.2.1 Montagem dos filtros de laboratório em acrílico	67
4.2.2 Montagem dos sistemas contínuo e intermitente	69
4.3 PREPARAÇÃO DA ÁGUA DE ESTUDO COM ALTO RISCO MICROBIOLÓGICO	70
4.3.1 Captação, armazenamento e caracterização da água do poço.....	70
4.3.2 Preparo da água de estudo com caulinita e ácido húmico	71
4.3.3 Preparo da água de estudo com caulinita, ácido húmico e Escherichia coli	73
4.3.4 Preparo da água de estudo com caulinita, ácido húmico, Escherichia coli e (oo)cistos de Giardia spp. e Cryptosporidium spp.	74
4.4 CARACTERIZAÇÃO DO ESCOAMENTO	77
4.4.1 Caracterização do escoamento em sistemas com escoamento contínuo	77
4.4.2 Caracterização do escoamento em sistemas com escoamento intermitente.....	79

4.5 ENSAIOS DE TRATABILIDADE	80
4.5.1 Preparação dos coagulantes naturais	80
4.5.2 Caracterização dos coagulantes naturais.....	81
4.5.2 Diagramas de coagulação.....	81
4.6 ESTUDO DO DESEMPENHO DOS FILTROS DE LABORATÓRIO EM ACRÍLICO ...	82
4.6.1 Estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente com água de estudo com caulinita e ácido húmico	82
4.6.2 Estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente com água de estudo com <i>Escherichia coli</i>	83
4.6.3 Estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente com água de estudo com (oo)cistos de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp.....	84
4.7 OPERAÇÃO DOS FILTROS LENTOS EM ESCALA DOMICILIAR EM FLUXO CONTÍNUO E INTERMITENTE	88
4.7.1 Adaptação do pré-tratamento à escala domiciliar.....	88
4.7.2 Alimentação dos filtros em fluxo contínuo e intermitente	90
4.7.3 Coleta e análise da qualidade físico-química e microbiológica das amostras de água	91
4.7.4 Manutenção dos FLDs	93
4.8 ENSAIOS DE DESINFECÇÃO	95
4.8.1 Preparação dos desinfetantes alternativos.....	96
4.8.2 Estudo do desempenho em laboratório.....	98
4.9 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS AGUDOS	101
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	101
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	102
5.1 CONSTRUÇÃO DO FILTRO LENTO EM ESCALA DOMICILIAR.....	102
5.1.1 Consumo de água para lavagem dos materiais filtrantes	102
5.1.2 Distribuição granulométrica.....	103
5.2 PREPARAÇÃO DA ÁGUA DE ESTUDO COM ALTO RISCO MICROBIOLÓGICO ..	104
5.2.1 Preparo da água de estudo sem risco microbiológico	104
5.2.2 Preparo da água de estudo com <i>Escherichia coli</i>	107
5.2.3 Preparo da água de estudo com (oo)cistos de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp.	108
5.3 CARACTERIZAÇÃO DO ESCOAMENTO NOS FILTROS	110
5.3.1 Caracterização do escoamento em sistemas com escoamento contínuo.....	110
5.3.2 Caracterização do escoamento em sistemas com escoamento intermitente.....	115
5.4 ENSAIOS DE TRATABILIDADE	117
5.4.1 Preparação e caracterização dos coagulantes naturais	117
5.4.2 Diagramas de coagulação utilizando <i>Opuntia ficus indica</i> e <i>Opuntia cochenillifera</i>	121
5.4.3 Otimização dos parâmetros de mistura	128
5.5 ESTUDO DO DESEMPENHO DOS FILTROS DE LABORATÓRIO EM ACRÍLICO .	130

5.5.1 Estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente com água de estudo sem risco microbiológico	131
5.5.2 Estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente com água de estudo e <i>Escherichia coli</i>	133
5.5.3 Estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente com água de estudo e protozoários	135
5.6 ESTUDO DO DESEMPENHO DOS FILTROS LENTOS EM ESCALA DOMICILIAR	141
5.6.1 Desempenho do pré-tratamento	141
5.6.2 Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo e em fluxo intermitente	151
5.6.3 Manutenção dos filtros lentos em escala domiciliar	166
5.7 ENSAIOS DE DESINFECÇÃO	173
5.7.1 Preparação e caracterização dos desinfetantes alternativos	173
5.7.2 Estudo do desempenho para inativação de <i>Escherichia coli</i>	176
5.7.3 Estudo do desempenho para inativação de (oo)cistos de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp.	181
5.8 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS	185
6 CONCLUSÕES	187
7 RECOMENDAÇÕES	188
REFERÊNCIAS	189
ANEXOS	205

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O acesso à água potável é um direito humano e componente básico para proteção da saúde e manutenção da qualidade de vida. No entanto, em 1990, apenas 76% da população mundial tinha acesso à água com qualidade. Depois de melhorias em relação à proteção dos mananciais, ao tratamento e distribuição de água potável e à coleta e tratamento de esgoto sanitário, esse número aumentou de 76% para 91% em 2015. Apesar dos resultados alcançados serem promissores, a ausência de abastecimento com água potável ainda é uma realidade para aproximadamente 663 milhões de pessoas no mundo (WHO, 2015).

A população sem acesso à água potável está concentrada, principalmente, em países subdesenvolvidos e ou em desenvolvimento da África, Ásia e América Latina. Além dessa desigualdade em relação à condição socioeconômica, a Organização Mundial da Saúde (OMS) também relatou a desigualdade de acesso entre as zonas urbanas e rurais dentro de um mesmo país (WHO, 2015).

O Brasil é um país com condições de desigualdade em relação ao acesso à água potável, devido, principalmente, a suas diferenças econômicas, sociais e regionais. Por exemplo, no país, aproximadamente 4 milhões de pessoas não tem acesso ao abastecimento com água potável, sendo 91% residentes em zonas rurais (WHO, 2015). Essa desigualdade também é observada nos municípios com baixa densidade demográfica (até 20000 habitantes), em que apenas 67,9% da água consumida pela população apresenta condições de potabilidade; enquanto que nos municípios com maior densidade, essa porcentagem chega a até 98,5% (IBGE, 2002).

Essas comunidades isoladas e carentes de água potável nem sempre apresentam condições sociais, econômicas e culturais adequadas para manter e operar uma estação convencional de tratamento de água. Por isso, a população acaba sendo obrigada a utilizar outras fontes de abastecimento como poços (protegidos ou não), chafarizes, carros-pipa e cisterna. Entretanto, o uso dessas fontes alternativas sem o devido tratamento pode fornecer água imprópria para consumo e causar diversas doenças de veiculação hídrica (HELLER, PÁDUA, 2006).

Soluções descentralizadas e em nível domiciliar são as tecnologias de tratamento mais adequadas para essas comunidades isoladas (WHO, 2012). O filtro lento em escala domiciliar (FLD) é um exemplo de tecnologia descentralizada que pode ser totalmente adaptada à condição da comunidade a ser beneficiada. Esta tecnologia simples, de fácil implantação e operação e de baixo custo, foi amplamente distribuída a países subdesenvolvidos por organizações não governamentais (ONGs) e apresentou resultados promissores em relação aos parâmetros de qualidade da água (ELLIOTT *et al*, 2008; JENKINS, TIWARI, DARBY, 2011; YOUNG-ROJANSHCHI, MADRAMOOTOO, 2014).

Apesar das diversas vantagens, o FLD apresenta uma limitação em relação à qualidade da água afluente. O excesso de material em suspensão na água pode criar condições ambientais adversas para a camada biológica presente acima da camada filtrante, principalmente para os protozoários parasitas de bactérias, comprometendo a qualidade microbiológica da água filtrada (LLOYD, 1996). Além disso, o excesso de material em suspensão na água gera a obstrução dos vazios intergranulares gerando a diminuição da duração da carreira de filtração e aumento da frequência da limpeza do filtro (DI BERNARDO, SABOGAL PAZ, 2008).

Por isso, caso a fonte alternativa utilizada para o abastecimento tenha valores de turbidez maiores de 10 uT, o filtro pode não fornecer água com qualidade potável e isto pode inviabilizar a transferência da tecnologia às comunidades isoladas. Para contornar esse problema, torna-se necessário um pré-tratamento com coagulante para redução da turbidez antes da filtração.

O uso de coagulantes químicos a base de sais de ferro e alumínio é uma prática comum em estações de tratamento convencionais. Apesar de eficientes, os coagulantes químicos têm custos elevados e produzem grandes volumes de lodo não biodegradável com dificuldade de disposição no ambiente (MCTIGUE, CORNWELL, 2009). Essas desvantagens tornam o processo de clarificação da água inviável às comunidades isoladas. Para contornar esse problema, os coagulantes químicos podem ser substituídos por coagulantes naturais à base de plantas (CHOY *et al*, 2013).

A seleção do melhor coagulante natural para a comunidade a ser beneficiada deve estar atrelada à sua disponibilidade na região. Por exemplo, as espécies cactáceas da *Opuntia* spp. apresentam propriedades coagulantes com remoção significativa de parâmetros físico-químicos e microbiológicos (MILLER *et al*, 2008; SHILPA *et al*, 2012) e estão em abundância em várias regiões do mundo. No Brasil, a *Opuntia ficus indica* e *Opuntia cochenillifera* são duas espécies cactáceas que estão em abundância no território nacional (IPA, 2006). Se essas espécies apresentarem eficiência significativa tanto quanto o *Opuntia* spp., o pré-tratamento para o FLD será simples, de baixo custo e totalmente adaptável às condições das comunidades isoladas brasileiras.

Outro inconveniente do FLD é em relação ao tempo que a tecnologia requer para a formação e manutenção da camada biológica, também chamada de *schmutzdecke*. Segundo CAWST (2010) e Carvalho e Sabogal Paz (2013), o tempo médio para o amadurecimento da camada biológica é de 30 dias. Durante esse período, o filtro não opera na condição mais favorável e produz água filtrada com qualidade inferior. Por isso, principalmente durante esse período, a desinfecção da água filtrada é imprescindível para inativação dos microrganismos antes do consumo.

Semelhante aos coagulantes naturais, os desinfetantes adaptados alternativos são necessários. Espécies como a *Luffa cylindrica* (esponja-vegetal) e o *Hibiscus esculentus* (quiabo) apresentaram efeitos inibitórios em uma gama de microrganismos patogênicos, tais como: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus opacus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* e *Xanthobacter* Py2 (OYETAYO, OYETAYO, AJEWOLE, 2007; SHAHEED *et al*, 2009; CARVALHO *et al*, 2011). Apesar dos resultados serem promissores, ainda são escassos os estudos com estes desinfetantes em diferentes condições de pH, dosagem e tempo de contato. Caso essas lacunas sejam superadas, o pós-tratamento com desinfetantes alternativos também será totalmente adaptado às condições das comunidades isoladas brasileiras.

Baseado nisto, a presente pesquisa visa analisar o desempenho de filtros lentos em escala domiciliar como alternativa para o tratamento de água em comunidades isoladas brasileiras utilizando pré-tratamento e pós-tratamento acessíveis. O desenvolvimento desta tecnologia dará subsídio para transferência e para o tratamento de água em comunidades carentes de recursos e saneamento básico.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o desempenho do filtro lento em escala domiciliar (FLD) como alternativa de tratamento em comunidades isoladas do país, com o uso conjunto de pré-tratamento e pós-tratamento acessíveis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Identificar e testar técnicas para a construção de dois FLDs adaptados às comunidades isoladas brasileiras;
- II. Caracterizar o escoamento do FLD quando operado em fluxo contínuo e intermitente;
- III. Estudar o desempenho dos cactos *Opuntia ficus indica* e *Opuntia cochenillifera* como coagulantes naturais em laboratório;
- IV. Estudar a eficiência dos filtros quando o pré-tratamento (coagulantes naturais) foi empregado em unidades em escala domiciliar operando em fluxo contínuo e intermitente;
- V. Avaliar a *Luffa cylindrica* e o *Hibiscus esculentus* como desinfetantes alternativos, em laboratório;
- VI. Avaliar a qualidade da água com ensaios toxicológicos utilizando larvas do inseto *Chironomus xanthus*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ABASTECIMENTO DE ÁGUA COM RISCO MICROBIOLÓGICO EM COMUNIDADES ISOLADAS

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, em 2015, cerca de 2,4 bilhões de pessoas não possuíam condições adequadas de saneamento e 663 milhões não tinham acesso ao abastecimento com água potável. Essa carência de saneamento é uma realidade da África e Ásia, entretanto também atinge 106 milhões de pessoas na América Latina (WHO, 2015), principalmente em comunidades isoladas como as populações de baixa renda, pequenas cidades, zonas rurais e periferias de centros urbanos.

Por exemplo, no Brasil, em 2015, 4 milhões de pessoas não tinham acesso à água potável, sendo 3,7 milhões localizados em zonas rurais (WHO, 2015). Essa alta porcentagem é associada à dificuldade de implantação e gestão de sistemas convencionais de tratamento em áreas distribuídas espacialmente. Por serem soluções coletivas, as estações de tratamento convencionais requerem redes de distribuição que são inviáveis financeiramente às zonas rurais. Nesses casos, a população é obrigada a utilizar fontes alternativas para o abastecimento de água.

O uso de fontes alternativas para o abastecimento criam condições de risco para a transmissão endêmica de agentes patogênicos como, por exemplo, bactérias entéricas e (oo)cistos de protozoários. A veiculação destes patógenos contribuem para a morte de 842 mil pessoas a cada ano no mundo, sendo 58% das mortes causadas por diarreia (WHO, 2014). Essa situação é ainda mais preocupante em comunidades isoladas em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento com carência de serviços básicos de saúde.

Para essas comunidades isoladas, a OMS recomenda o uso de tecnologias de tratamento de água descentralizadas (WHO, 2012). Esse tipo de tecnologia permite que o usuário trate água a nível doméstico, garantindo assim a segurança da sua própria água potável (SOBSEY *et al*, 2008). Uma dessas tecnologias é o filtro lento em escala domiciliar (FLD), uma adaptação do filtro lento convencional que é eficiente, de fácil implantação, operação e manutenção e de baixo custo. O uso do FLD reduziu em até 54% os casos de diarreia infantil, esses resultados indicam que uma criança bebendo água de uma fonte alternativa sem o tratamento tem um risco 2,2 vezes maior de ter diarreia do que uma que utiliza água produzida pelo FLD (TIWARI *et al*, 2009).

O FLD pode ser uma tecnologia acessível às comunidades isoladas brasileiras carentes de água potável; entretanto, ainda são necessários estudos para preencher algumas lacunas em relação à construção, operação e manutenção, visando tornar a tecnologia segura e adaptada à realidade brasileira.

Para garantir a potabilidade, a água produzida por essa tecnologia deve estar em conformidade com o padrão brasileiro vigente. A Portaria do Ministério da Saúde 2914 (2011) apresenta definições e valores máximos permissíveis para as variáveis de qualidade da água, além de critérios de amostragem. Essa portaria recomenda a ausência de microrganismos indicadores de contaminação como *Escherichia coli* e os (oo)cistos de *Giardia* e *Cryptosporidium*. A turbidez desempenha papel de proteção sobre estes microrganismos, por isso, como complemento ao padrão microbiológico de potabilidade, também deve ser atendido o padrão de turbidez, ficando com valores $\leq 1,0$ uT após a filtração lenta e 0,5 uT após a desinfecção.

3.1.1 Microrganismos indicadores de risco microbiológico

3.1.1.1 Coliformes totais

As bactérias coliformes totais incluem uma ampla gama de bacilos aeróbios e anaeróbios facultativos, Gram-negativos, não formadores de esporos, que se desenvolvem na presença de concentrações relativamente elevadas de sais biliares e agentes tensoativos. Essas bactérias fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a $35,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ em 24-48h. Como parte da fermentação da lactose, os coliformes totais também produzem a enzima β -galactosidase (WHO, 2017).

As bactérias do grupo coliformes totais incluem as espécies que podem sobreviver tanto em esgoto como em águas naturais. Algumas podem ser excretadas nas fezes de seres humanos e animais de sangue quente, mas muitas são heterotróficas e capazes de se multiplicar em ambientes como a água e o solo (WHO, 2017). Por isso, os coliformes totais não são adequados como indicadores de contaminação fecal, pois a sua presença não está relacionada apenas às fezes.

Apesar de não serem indicadores de contaminação fecal, os coliformes totais podem ser usados como complemento para a avaliação da limpeza e integridade dos sistemas de distribuição. A Portaria do Ministério da Saúde 2914 (2011) preconiza a ausência de coliformes totais nos sistemas de distribuição e isto pode ser facilmente alcançado pelos processos de desinfecção das estações de tratamento, devido à sua sensibilidade com os desinfetantes comumente utilizados. A presença de coliformes totais após a desinfecção indica que o tratamento foi inadequado, dessa forma, outras mudanças devem ser tomadas para evitar a proliferação das bactérias.

Os métodos utilizados para a contagem de coliformes totais são divididos em métodos convencionais (Técnica de Tubos Múltiplos e Técnica de Membrana Filtrante) e métodos rápidos (Colilert® e o Colitag®). Estes métodos são padronizados pelo “*Standards methods*

for the examination of water and wastewater” (APHA, AWWA, WEF, 2012). Entretanto, há diversos outros que também são padronizados pela *United States Environmental Protection Agency* (USEPA).

A Técnica de Tubos Múltiplos analisa a capacidade dos coliformes em fermentar a lactose, produzindo turvação e gás, devido ao crescimento das colônias (COVERT *et al*, 1989; ECKNER, 1998). As análises de coliformes são feitas em dois testes, o primeiro presuntivo e o segundo confirmativo. Para a contagem presuntiva dos coliformes totais, é utilizado o Caldo Lauril Sulfato Triptose como meio de cultivo em tubos de Durhan. O crescimento após 48 horas com produção de gás indica positividade no teste (APHA, AWWA, WEF, 2012). Em seguida, é feito o teste confirmativo com Caldo Verde Bile Brilhante como meio de cultivo. Esse meio tem em sua formulação sais biliares, que inibem o crescimento de microrganismos gram-positivos, e a lactose, que é utilizada como substrato para a produção de gás pelos coliformes. A positividade neste teste também é indicada pelo crescimento após 48 horas com produção gás no tubo de Durhan (APHA, AWWA, WEF, 2012). Por ser demorado (96 horas para os testes presuntivo e confirmativo), este método pode não impedir o consumo da água antes que os resultados sejam obtidos (WHO, 2017).

Pelo número de tubos positivos nos testes confirmativos, é possível determinar o Número Mais Provável (NMP) dos organismos em 100 mL de amostra. Esse NMP é determinado por cálculo de probabilidade, tendo como base tabelas estatísticas padronizadas como a Tabela de Hoskins.

A Técnica de Membrana Filtrante é outro método convencional para análise de coliformes totais. Nesta técnica, a amostra é filtrada através de membranas filtrantes quadriculadas de acetato de celulose com porosidade de 0,45 μ m (APHA, AWWA, WEF, 2012). Essa porosidade permite a passagem de líquidos retraindo os coliformes totais com dimensões maiores que o tamanho do poro. Após a retenção dos microrganismos, a membrana é transferida para a superfície das placas de Petri contendo o meio de cultura de escolha, como por exemplo, o meio padronizado pela USEPA Chromocult® *Coliform Agar* (MERCK, 2005). Após a incubação a 37°C por 24 horas, as colônias com coloração rosa são enumeradas em função dos coliformes. Isso acontece devido à presença do substrato Salmão- β -D-galactosidase que é degradado a β -D-galactosidase, resultando em uma coloração vermelho salmão para as bactérias coliformes totais (APHA, AWWA, WEF, 2012; MERCK, 2005).

A partir da década de 70, os métodos rápidos começaram a surgir visando simplificar o trabalho requerido pelos métodos convencionais (OLSTADT *et al*, 2007). Os métodos rápidos como as técnicas Colilert® e Colitag® são baseadas em substratos definidos que modificam determinadas enzimas específicas da bactéria alvo, levando a uma alteração na cor do meio, essa condição melhora a qualidade analítica devido ao aumento da

especificidade e sensibilidade (APHA, AWWA, WEF, 2012). Uma vantagem do Colitag® em relação ao Colilert®, é a presença da solução tampão de óxido de N-trimetilanimina que se transforma em trimetilanimina para neutralização do pH baixo, esse composto ajuda na recuperação de células injuriadas pelo cloro (OLSTADT *et al*, 2007).

O substrato cromogênico para detecção de coliformes totais nos métodos rápidos é o orto-nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo. Esse substrato é hidrolisado pela enzima típica dos coliformes totais (β-galactosidase) a orto-nitrofenol resultando na alteração da cor do meio de incolor para amarelo (IDEXX, 2002).

A análise quantitativa pode ser realizada em tubos Durhan, como o Método de Tubos Múltiplos, ou em cartela Quanti-Tray® (APHA, AWWA, WEF, 2012). Nessas cartelas são contabilizados os poços com coloração amarela e, com a tabela de probabilidade, é determinado o Número Mais Provável de organismos na amostra de 100 mL.

Os métodos rápidos diminuem o tempo de manipulação do experimento, pois o substrato já vem previamente pesado para amostras de 100mL. Entretanto, caso seja uma análise rotineira, os métodos rápidos podem ser mais caros que a Técnica de Membranas Filtrantes utilizando Chromocult®, por exemplo, devido ao uso das cartelas Quanti-Tray®.

3.1.1.2 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* (Figura 1) é uma bactéria que fermenta lactose e manitol a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ em 24h, por isso é classificada como uma bactéria coliforme termotolerante junto com outras espécies como a *Citrobacter*, a *Klebsiella* e a *Enterobacter*. O que diferencia a *E. coli* dos outros coliformes termotolerantes é a sua capacidade de produzir indol a partir de triptofano e a sua atividade enzimática de β-glucoronidase (WHO, 2017).

Figura 1 - Microscopia eletrônica de varredura de *Escherichia coli* (LIU *et al*, 2017)

A *E. coli* está presente em grande número na flora intestinal normal de seres humanos e animais de sangue quente, onde geralmente não causa dano. Entretanto, algumas cepas como a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli*

enteropatogênica (EPEC) e *E. coli* enteroagregativa (EAEC) podem ser altamente versáteis e frequentemente letais devido aos quadros de diarreia aguda e crônica, cólicas abdominais, vômito, náuseas e geração de infecções no trato urinário (WHO, 2017).

Quando excretadas, as fezes dos seres humanos e animais de sangue quente podem conter valores de até 10^8 bactérias *E. coli* a cada grama (GELDREICH, 1996). Por isso, é fácil encontrar essa bactéria em mananciais onde houve contaminação fecal recente e, inevitavelmente, também encontrar as estirpes patogênicas EHEC, ETEC, EPEC e EAEC (WHO, 2017). Ao utilizar esse manancial contaminado diretamente para consumo humano ou lavagem de alimentos, as estirpes patogênicas são transmitidas pela via fecal-oral causando danos à saúde. Uma forma comumente utilizada para reduzir esses patógenos é através do tratamento adequado nas estações de tratamento de água e esgoto.

A bactéria *E. coli* é utilizada como indicador de contaminação fecal, devido à sua representatividade em grande número nas fezes e ao seu fácil isolamento com técnicas de detecção simples em laboratório. Ao ser utilizado como indicador de contaminação fecal, a ausência da bactéria indica a ausência de outros microrganismos. Entretanto, nessa afirmação há controvérsias, principalmente após a desinfecção em estações de tratamento. A bactéria *E. coli* é mais sensível aos desinfetantes comumente utilizados em estações de tratamento do que os vírus entéricos e os (oo)cistos de protozoários, por exemplo (WHO, 2017). Dessa forma, a sua ausência não, necessariamente, indica ausência dos microrganismos mais resistentes e, conseqüentemente, não remete a uma água com qualidade microbiológica e segura.

Mesmo com essa desvantagem, a *E. coli* ainda é utilizada como microrganismo indicador devido à sua facilidade laboratorial; entretanto amostragens frequentes de outros microrganismos como cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. também devem ser realizados quando o manancial apresentar valores superiores a 1000 *E. coli* /100mL (BRASIL, 2011).

Os métodos utilizados para a contagem de *E. coli* são os mesmos para coliformes totais (Técnica de Tubos Múltiplos, Técnica de Membrana Filtrante, Colilert® e Colitag®). O que diferencia uma análise da outra é o meio de cultivo ou o substrato utilizado.

Na Técnica de Tubos Múltiplos é utilizado o meio de cultivo Caldo nos tubos Durhan (APHA, AWWA, WEF, 2012). Após a incubação a 45°C por 24 horas, é possível evidenciar a presença de *E. coli* devido à capacidade de fermentar lactose com produção de gás à temperaturas mais elevadas. A análise quantitativa também pode ser feita por tabelas de probabilidade que relacionam a presença com o Número Mais Provável.

Na Técnica de Membranas Filtrantes, o meio de cultivo Chromocult® Coliform Agar, além do substrato Salmão-β-D-galactosidase para identificação de coliformes, também tem em sua composição o substrato X-glucuronido. Ao entrar em contato com a enzima β-

glucoronidase da *E. coli*, o substrato X-glucuronido é degradado e as colônias positivas assumem a coloração azul-escuro a violeta (MERCK, 2017). Dessa forma, em uma mesma placa de Petri podem ser contabilizadas as colônias de coliformes totais e *E. coli*.

Os métodos rápidos (Colilert® e Colitag®) têm em sua composição também o substrato fluorogênico (4-metilumbeliferil- β -D-glucoronídeo). Ao entrar em contato com a enzima β -glucoronidase da *E. coli*, o substrato é degradado liberando o 4-metilumbeliferona. Esse composto quando submetido à luz ultravioleta (365-366 nm) apresenta fluorescência (IDEXX, 2002).

3.1.1.3 Cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.

Segundo Lujan e Svard (2011), o gênero *Giardia* pertence ao Filo Metamonada, Classe Treponadea, Ordem Giardiida e Família Hexamitidae.

O Gênero *Cryptosporidium* pertence ao Filo Apicomplexa (CACCIÒ, WIDMER, 2014), que compreende parasitas eucarióticos que possuem complexo apical e, geralmente, tem a presença de apicoplasto. Até recentemente (2016), o *Cryptosporidium* era classificado como um parasita da Subclasse Coccidia. No entanto, algumas particularidades em seu ciclo de vida levantaram a hipótese de que o parasito era um “elo perdido” entre as gregarinas mais primitivas e os coccídios (RYAN *et al*, 2016). As principais particularidades estão relacionadas à ausência de apicoplasto, como os colpodelídeos e as gregarinas, parasitas também pertencentes ao Filo Apicomplexa (LIM, MCFADDEN, 2010), diferentes genomas do plastídio e mitocôndria (ZHU, KEITHLY, PHILIPPE, 2000) e diferentes características de motilidade e invasão (WETZEL *et al*, 2005).

Após extensos estudos com dados microscópios, moleculares, genômicos e bioquímicos, o Gênero *Cryptosporidium* foi transferido da Classe Coccidiomorphea e Subclasse Coccidia para a Classe Gregarinomorphea e Subclasse Cryptogregarina (CAVALIER-SMITH, 2014; RYAN *et al*, 2016). O Gênero *Cryptosporidium* é atualmente o único membro da Cryptogregarina e é descrito como parasitas epicelulares que possuem uma organela semelhante à gregarina, mas com ausência de apicoplasto (CAVALIER-SMITH, 2014; RYAN *et al*, 2016).

Giardia spp. e *Cryptosporidium* spp. são protozoários parasitas presentes no intestino delgado e estômago de vertebrados (FLETCHER *et al*, 2012; CHECKLEY *et al*, 2015). Os parasitos têm um estágio infeccioso ambientalmente resistente (cisto ou oocisto) que inicia a infecção logo após a ingestão (THOMPSON, ASH, 2016). A diarreia é o principal sintoma das infecções causadas por cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp; entretanto, alguns casos podem ser assintomáticos. Na forma cística, os cistos de *Giardia* spp. (Figura 2a) tem dimensões que variam de 8 a 18 μ m de comprimento por 5 a 15 μ m de largura, já os

oocistos de *Cryptosporidium* spp. (Figura 2b) tem estruturas esféricas que variam de 4 a 6 μm (USEPA, 2012).

Figura 2 – Microscopia eletrônica de varredura dos (A) cistos de *Giardia* spp. e (B) oocistos de *Cryptosporidium* spp. (FAGNANI, 2010)

A alta taxa de excreção de (oo)cistos por hospedeiros infectados e as baixas doses infecciosas, já causaram surtos ao redor do mundo. Em 2003, um surto de criptosporidiose causou infecção a 403 mil pessoas em Milwaukee, nos Estados Unidos (MACKENZIE *et al*, 1994). Um ano depois, em 2004, um surto de giardiose resultou em 2500 casos em Bergen na Noruega (MORCH *et al*, 2009). Em 2007, também nos Estados Unidos, 63% da população abastecida por um poço de água subterrânea em desconformidade com a legislação adquiriram giardiose (DALY *et al*, 2010). Em 2012, um surto de criptosporidiose foi registrado com os residentes de um condomínio em Seul na Coreia do Sul, a água distribuída para os moradores estava contaminada com esgoto do tanque séptico do condomínio (CHO *et al*, 2013).

Na Europa, os surtos têm sido documentados no Reino Unido, Irlanda, França, Alemanha, Itália, Grécia e Espanha (SEMENZA; NICHOLS, 2007; BALDURSSON; KARANIS, 2011; CHALMERS, 2014; GUZMAN-HERRADOR *et al*, 2015). No Brasil, a ocorrência destes parasitos foi observada em mananciais do Rio Grande do Sul, São Paulo e Minas Gerais (HACHICH *et al*, 2000; PÁDUA, 2009; FRANCO; BRANCO; LEAL, 2012; FREGONESI *et al*, 2012); entretanto ainda não há relatos sobre surtos de giardiose e criptosporidiose em território brasileiro.

Franco (2007) relata que a ausência de surtos no Brasil está ligada à falta de dados devidamente documentados e às lacunas existentes nas pesquisas científicas sobre o assunto. A complexidade em relação à documentação dos surtos dos parasitos *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. se inicia pela dificuldade envolvida na sua detecção. Franco, Branco e Leal (2012) relatam que as metodologias comumente utilizadas para detecção ainda estão sujeitas a grande variabilidade e baixa reprodutibilidade, possuem respostas demoradas,

exigem pessoal qualificado para suas realizações e ainda são caras quando comparadas a outros parâmetros de qualidade da água.

Existem métodos padronizados que buscam aumentar a confiabilidade dos ensaios de detecção de protozoários como, por exemplo, o Método 1623.1 da USEPA (2012). Este método é validado e inclui as etapas de concentração, purificação e visualização das amostras com protozoários.

A etapa de concentração visa concentrar os organismos-alvo na amostra a um volume reduzido. Essa primeira etapa pode ser feita utilizando os *kits* Environcheck® e Filta-Max® padronizados no Método 1623.1 (USEPA, 2012). Entretanto, esses *kits* são de alto custo, importados, apresentam influência em amostra com turbidez elevada e requerem pessoal especializado (FRANCO; BRANCO; LEAL, 2012). Existem outros dois métodos de concentração mais simples e econômicos, que também podem ser utilizados para etapa de concentração, sendo eles a floculação em carbonato de cálcio (FCCa) elaborado por Vesey *et al* (1993), adaptado por Giglio (2015) e a filtração em membranas de ésteres mistos desenvolvida por Franco, Eberhardt e Cantusio Neto (2001).

A principal vantagem do método de FCCa, além do baixo custo, é a aplicabilidade em amostras com elevado valor de turbidez. Entretanto, uma limitação é que este método pode dificultar a visualização dos (oo)cistos em microscopia de fluorescência, devido ao contato direto dos protozoários com os ácidos inseridos no método e à ampla variação do valor de pH. Esses resultados podem retornar valores falso-positivos ou falso-negativos e podem interferir na viabilidade dos patógenos, comprometendo possíveis ensaios de infectividade (FRANCO; BRANCO; LEAL, 2012). O método de filtração em membrana de ésteres mistos com porosidade nominal de 3 µm e 47 mm de diâmetro apresenta como vantagens, além do baixo custo, a facilidade laboratorial e a manutenção da morfologia dos oocistos (FRANCO; BRANCO; LEAL, 2012). Entretanto, a maior limitação é que este método pode ser inviável em amostras com alto valor de turbidez, devido ao elevado número de membranas para o processamento de toda a amostra.

A segunda etapa para detecção dos protozoários é a purificação da amostra concentrada. Essa etapa elimina partículas interferentes na detecção dos organismos-alvo (MEDEIROS, 2010). Alguns métodos de purificação comumente empregados são a flutuação, separação imunomagnética e a clarificação com éter.

A terceira etapa é a identificação dos (oo)cistos de protozoários a partir da reação de imunofluorescência direta (RID). Nesta reação são utilizados anticorpos monoclonais marcados com corante fluorogênio FITC (isotiocianato de fluoresceína), que agem diretamente contra antígenos dos (oo)cistos. O Método 1623.1 valida quatro *kits* com anticorpos monoclonais para identificação, sendo eles: 1) *MeriFluor*® da *Meridian Bioscience*;

2) *Aqua-Glo™* da *Waterborne*; 3) *Crypt-a-Glo™* da *Waterborne* e *Giardi-a-Glo™* da *Waterborne*; e 4) *EasyStain™ C&G* da *Biomerieux Company*.

Mesmo seguindo todas as diretrizes do Método 1623.1, é inevitável que organismos com tamanhos semelhantes aos (oo)cistos, como as leveduras e algas, também sejam corados na etapa de identificação. O corante fluorogênico vital DAPI (4',6'-diamidino-2-phenylindol) vem sendo uma opção para evitar os organismos falso-positivos. Sua adição causa a coloração azul-claro nos núcleos dos (oo)cistos e facilita a análise confirmatória dos protozoários (GRIMASON *et al*, 1994). Além do DAPI, o Método 1623.1 requer a análise complementar em microscopia DIC (microscopia de contraste interferencial diferencial) para identificação das estruturas internas dos patógenos.

Em estações de tratamento, os (oo)cistos podem ser removidos no filtro, entretanto os oocistos têm capacidade de compreensibilidade que pode facilitar a sua passagem pelo leite. O que demonstra mais uma vez a necessidade de desinfecção. A desinfecção de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. também é outro problema em estações convencionais de tratamento de água, devido às características morfológicas dos (oo)cistos que fornecem alta resistência à desinfecção com cloro (KORICH *et al*, 1990). Neste contexto, novas pesquisas sobre métodos de desinfecção alternativos ao cloro devem ser ponderadas como, por exemplo, o uso do ozônio e radiação UV.

A eficiência da desinfecção de oocistos de protozoários pode ser avaliada através de três métodos (MEDEIROS, 2010), sendo eles: excitação (desencistamento), *in vitro*, inclusão/exclusão de corantes fluorogênicos como o corante vital IP (iodeto de propídio) e avaliação do dano na parede celular dos protozoários conforme a técnica de visualização por RID. Em todos os métodos são avaliados a viabilidade e infectividade dos (oo)cistos após o processo de desinfecção. A viabilidade está relacionada à atividade metabólica ou integridade da parede celular dos (oo)cistos (SANTOS; CANTUSIO NETO; FRANCO, 2008) e a infectividade define a capacidade do parasito completar seu ciclo de vida, produzindo e eliminando novos (oo)cistos nas fezes do hospedeiro (FRANCA, 2007).

A capacidade de gerar resultados rápidos em relação à viabilidade dos (oo)cistos é a principal vantagem dos corantes fluorogênicos; este fato traz grande importância para fins regulatórios e epidemiológicos (KORICH *et al*, 1990). Este teste de viabilidade se baseia na permeabilidade da bicamada lipídica da parede do (oo)cisto em que o corante IP só consegue atravessá-la caso esteja danificada. O efeito pode ser visualizado com fluorescência vermelha com excitação em comprimento de onda de 500 nm (APHA; AWWA; WEF, 2012).

3.2 FILTRO LENTO EM ESCALA DOMICILIAR

O filtro lento em escala domiciliar (FLD) ou também chamado biofiltro de areia foi desenvolvido por David Manz da Universidade de Calgary (Canadá) na década de 1990. O intuito do autor foi desenvolver um filtro eficiente, barato e em pequena escala para o tratamento de água em comunidades desfavorecidas em países em desenvolvimento. O desenvolvimento do FLD se baseou na concepção do filtro lento convencional com algumas adaptações. Essas mudanças ocasionaram em melhorias importantes como, por exemplo, a utilização do filtro conforme a necessidade do usuário (fluxo intermitente) e a possibilidade de limpeza sem necessidade de remoção e substituição da areia do filtro (MANZ, 2004).

Por também ter como mecanismo a filtração lenta, os FLDs apresentam limitações semelhantes aos filtros lentos convencionais na remoção de sólidos e compostos orgânicos. Entretanto, estas desvantagens são facilmente superadas com a utilização de pré-tratamento com coagulantes químicos ou naturais para redução da turbidez de entrada nos filtros.

3.2.1 Concepção do filtro lento em escala domiciliar

A Figura 3 apresenta os componentes tradicionais do FLD e suas respectivas funções. Esse modelo foi divulgado pela organização canadense *Centre for Affordable Water and Sanitation Technology – CAWST* no manual “*Biosand Filter Manual, Design, Construction, Installation, Operation and Maintenance*” desenvolvido em 2010.

Como visto na Figura 3, o filtro lento em escala domiciliar é uma adaptação do filtro lento convencional com uma estrutura simples, relativamente leve e reduzida em escala. Essas mudanças permitem que o FLD seja facilmente transportado às comunidades beneficiadas sem a necessidade de construção no local; este fato viabiliza a transferência da tecnologia em comunidades com escassez de recursos e mão de obra.

A granulometria da areia utilizada na filtração lenta é geralmente muito fina quando comparada à empregada na filtração rápida (DI BERNARDO, SABOGAL PAZ, 2008). Essa granulometria fina ocasiona em uma retenção de sólidos suspensos e microrganismos superficialmente no topo da camada filtrante. Di Bernardo *et al* (1999) recomenda, para filtros lentos convencionais, tamanhos efetivos de partículas (D_{10}) entre 0,20 e 0,25 mm e o coeficiente de uniformidade (CU) entre 2 e 5. Para os FLDs, CAWST (2010) recomenda valores menores tanto para o D_{10} (0,15 a 0,20 mm) quanto para CU (1,5 e 2,5). Essa modificação na distribuição e tamanho das partículas proposta para os FLDs resulta em menos penetração de impurezas e aumento na duração da carreira de filtração.

No início da operação, a camada filtrante de areia dos filtros lentos retém partículas maiores que seus vazios intergranulares, predominando assim a ação física de coar. À medida que ocorre a filtração, mais partículas ficam retidas e cada vez mais os espaços vazios no topo do meio filtrante se tornam menores. Essa redução começa a reter, além de partículas, também microrganismos. Os microrganismos retidos e a presença de oxigênio (causada pela lâmina d'água acima da camada de areia) permitem a formação de uma camada biológica aeróbia (*schmutzdecke*) no topo da superfície da areia.

A camada filtrante de areia tem eficiência de remoção de patógenos de 30-70%, a simples presença dessa camada biológica aumenta a eficiência para até 99% (CAWST, 2010). Isto acontece porque na camada biológica também há remoção dos microrganismos pelas diferentes competições microbianas como predação e absorção. Por esse motivo, a atividade biológica é considerada a ação mais importante dos filtros lentos exercendo um papel importante na eficiência da tecnologia.

Apesar dessa vantagem, o amadurecimento da biocamada pode demorar até 30 dias (CAWST, 2010; CARVALHO, SABOGAL PAZ, 2013), dependendo das características do efluente, do meio filtrante e dos parâmetros de operação. Esse “período de amadurecimento” é definido por Sanchez (1996) como o tempo necessário para que o efluente do filtro lento tenha uma condição estável em relação a algum parâmetro de qualidade.

CAWST (2010) considera o valor de turbidez do efluente como o parâmetro que avalia o amadurecimento da camada biológica. Como o padrão de potabilidade de alguns países é de 5 uT, CAWST (2010) recomenda valores máximos de turbidez na entrada do FLD de 50 uT. No Brasil, o padrão do Ministério da Saúde nº 2914 (2011) para a potabilidade é mais restritivo (1 uT), por isso é adequado trabalhar com valores afluentes menores para não

sobrecarregar o filtro. Para solucionar esse problema, pode ser utilizada água afluyente com valores máximos de turbidez de 10 uT tolerando picos de 50 uT por curtos períodos de tempo.

Com o tempo, os materiais particulados vão se acumulando no topo da camada filtrante e começam a reduzir a taxa através do filtro. Ao utilizar água afluyente com valores altos de turbidez, esse processo de colmatção da areia é acelerado, diminuindo ainda mais duração da carreira de filtração. Quando o fluxo de água na saída do filtro tiver abaixo da demanda básica requerida pelo usuário, o filtro deverá ser limpo.

A limpeza de filtros lentos convencionais é feita em três etapas: drenagem, raspagem e reinício. A operação do filtro é interrompida para drenagem da água. Em seguida, são removidos cerca de 5 cm da superfície da camada de areia através do processo conhecido como raspagem. A operação normal do filtro é retomada, mas a capacidade de remoção de bactérias é reduzida (MANZ, 2004; DI BERNARDO, SABOGAL PAZ, 2008).

Os filtros lentos em escala domiciliar foram adaptados para que a limpeza fosse *in situ*. O procedimento consiste em agitar a superfície da areia para que os materiais que estejam bloqueando o fluxo sejam desprendidos e coletados. Segundo Manz (2004), essa atividade não afeta a capacidade de remoção de microrganismos do filtro e permite recuperar a taxa de filtração após a limpeza. Esse fato facilita o tratamento com águas com alto risco microbiológico.

3.2.2 Operação em fluxo intermitente e contínuo

O filtro lento em escala domiciliar distribuído por CAWST (2010) pode ser dividido em cinco zonas compartimentadas com diferentes funcionalidades (Figura 4).

Figura 4 – Zonas dos filtros lentos em escala domiciliar (CAWST, 2010)

O FLD construído por Manz (2004) e amplamente difundido por CAWST (2010) foi projetado para ser utilizado conforme a demanda de uma residência. A operação em fluxo intermitente é conseguida por uma modificação feita na extremidade de saída do filtro que mantém um nível mínimo d'água constante. O filtro lento convencional não tem esse artifício e precisa ser operado em fluxo contínuo, pois caso o fluxo seja reduzido ou interrompido, a transferência de oxigênio é afetada interferindo diretamente na eficiência de remoção de patógenos feita pela camada biológica.

Na operação em fluxo intermitente, o FLD é alimentado pelo usuário com cerca de 20L de água (AHAMMED; DAVRA, 2011), dependendo do volume de vazios integranulares. Devido à elevada carga hidráulica, a água é empurrada através do difusor para o topo da camada filtrante. O nível d'água no filtro desce à medida que ocorre o escoamento pelo meio filtrante e, conseqüentemente, a taxa de escoamento também vai diminuindo ao longo do tempo. Em um dado momento, a água finalmente para de fluir, isso acontece quando o nível d'água for da mesma altura que a extremidade do tubo de saída. Esse fenômeno causa o chamado período de pausa, tempo necessário para que os processos físico-químicos e microbiológicos atuantes no *schmutzdecke* tratem a água. Segundo CAWST (2010), a água a ser tratada deve ficar em repouso por um período de 1 a 48 h nos poros do meio filtrante entre cada operação de batelada.

A configuração do FLD em fluxo intermitente reduz a dependência de energia elétrica e facilita a construção em comunidades isoladas onde a operação contínua, requerida pelo filtro lento convencional, é muita das vezes impraticável. Entretanto, a variação diária de carga causada pela alimentação intermitente pode afetar a composição e eficiência da camada biológica.

Como solução, os FLDs também podem ser operados em fluxo contínuo (YOUNG-ROJANSCHI, MADRAMOOTOO, 2014). Nesse caso, a alimentação é por gravidade utilizando caixa d'água, por exemplo, ou por bombeamento diretamente para o filtro. Apesar de não afetar a camada biológica com variações drásticas no nível d'água; o FLD em fluxo contínuo requer maior espaço na residência e apresenta uma complexidade operacional aos usuários. Essas desvantagens podem inviabilizar a transferência da tecnologia em comunidades isoladas com escassez de recursos.

3.2.3 Experiências com o filtro lento em escala domiciliar

O filtro lento em escala domiciliar é uma tecnologia de tratamento relativamente nova quando comparadas às comumente utilizadas. Os estudos se iniciaram com Manz (2004) e foram continuadas por diversos autores, tais como: Earwaker (2006), Stauber (2007), Elliott *et al* (2008), Vanderzwaag (2008), Stauber *et al* (2009), CAWST (2010), Baig *et al* (2011),

Elliott *et al* (2011), Jenkins, Tiwari e Darby (2011), Kennedy, Hernandez e Morse (2012), Lynn (2013), Hwang *et al* (2014), Young-Rojanschi e Madramootoo (2014), Arnold (2015), Elliott *et al* (2015), Fadaei (2015), Mahaffy (2015), Young-Rojanschi e Madramootoo (2015) e Wang *et al* (2016).

A organização canadense CAWST (2010) estima que cerca de 500 mil filtros lentos em escala domiciliar foram distribuídos ao redor do mundo por organizações não governamentais (ONGs). Essa distribuição foi principalmente em países subdesenvolvidos carentes em água potável como Etiópia (EARWAKER, 2006), República Dominicana (STAUBER *et al*, 2009), Nicarágua e Camboja (CAWST, 2010).

Depois de distribuídos, muitos filtros foram inutilizados devido à falta de manutenção, à baixa eficiência quando operado em condições desfavoráveis e à problemas na estrutura do filtro. Em consequência disso, diversos trabalhos científicos foram desenvolvidos para melhoria da tecnologia, contudo, ainda existem aspectos que requerem de mais pesquisas para que a tecnologia seja cada vez mais acessível, eficiente e segura às comunidades isoladas.

Em 2010, a organização canadense CAWST publicou o manual *“Biosand Filter Manual, Design, Construction, Installation, Operation and Maintenance”* visando auxiliar às comunidades em relação à construção, operação, manutenção e eficiência dos filtros lentos em escala domiciliar. Uma parte do capítulo 5 do manual é em relação ao passo a passo do preparo dos materiais filtrantes utilizados nos FLDs. Neste capítulo estão incluídas as etapas de limpeza, secagem e peneiramento de cada um dos materiais. Os principais pontos de destaque são a seleção de materiais facilmente encontrados na comunidade a ser beneficiada e a limpeza adequada para o bom funcionamento do filtro. Este contato da tecnologia com a população faz com que a aceitação seja facilitada e evite o abandono.

Os filtros distribuídos às comunidades de Nicarágua apresentaram rachaduras e vazamentos na estrutura de concreto, esse fato fez com que 90% dos filtros fossem abandonados pela população (VANDERZWAGG, 2008). Em decorrência disso, alguns estudos como os de Elliot *et al* (2008), Jenking, Tiwari, Darby (2011) e Mahaffy (2015) começaram a utilizar os FLDs com estrutura de plástico.

Mahaffy (2015) avaliou se os FLDs com estrutura de plástico iriam manter a integridade e desempenho depois de submetidos a distúrbios que poderiam acontecer normalmente em uma residência. Os distúrbios avaliados foram em relação ao transporte do filtro, às colisões laterais e às colisões devido à alimentação intermitente. A estrutura externa dos FLDs de plástico se manteve íntegra, mas os distúrbios causaram uma compactação da camada de areia e um aumento taxa de fluxo máxima; e isso ocasionou em picos de turbidez no efluente. Mesmo com os possíveis efeitos, os FLDs com estrutura de plástico são atraentes por terem

menos risco de rachaduras e vazamentos, sem contar que o custo é baixo e a construção é simples.

Muitos filtros distribuídos às comunidades da Etiópia e República Dominicana foram abandonados devido a problemas operacionais (EARWAKER, 2006; STAUBER *et al*, 2009). Essas comunidades nem sempre realizavam a manutenção da forma correta e isso afetava diretamente a eficiência da tecnologia. O desenvolvimento do manual proposto por CAWST (2010) consegue suprir algumas lacunas em relação a esses problemas; contudo, é recomendado um acompanhamento da população durante vários anos para garantir que a operação seja adequada.

Uma alternativa simples e de baixo custo para aumentar a eficiência do FLD e facilitar a manutenção pode ser feita acoplando uma manta no topo da camada filtrante de areia (MAGALHÃES, SABOGAL PAZ, 2013). A manta não tecida de feltro é facilmente encontrada em lojas de aviamento no Brasil e pode ser uma alternativa atraente. Ao acoplar a manta no FLD, ela reterá parte das impurezas encaminhadas ao meio filtrante e, conseqüentemente, aumentará a duração da carreira de filtração. Dessa forma, a comunidade beneficiada terá água de qualidade sem a necessidade de manutenção durante um tempo maior. Após a colmatação do filtro, a manta pode ser facilmente lavada com água para retirada das impurezas e ser novamente retornada para dar reinício à operação.

Outro inconveniente dos FLDs é em relação ao tempo que a tecnologia requer para formação e manutenção da camada biológica. Segundo CAWST (2010) e Carvalho e Sabogal Paz (2013), o tempo médio para o amadurecimento da camada biológica é de 30 dias. Durante esse período, o filtro não opera na condição mais favorável e produz água filtrada com qualidade inferior. Esse período confere um risco à comunidade beneficiada e pode inviabilizar a transferência da tecnologia. Vale ressaltar que esse problema se repetirá a cada manutenção; contudo, o tempo esperado será menor do que à condição inicial de formação, devido à permanência dos microrganismos atuantes ocasionadas pela limpeza *in situ*.

A introdução de matéria orgânica a partir de produtos naturais (plantas, por exemplo) na água afluyente ao filtro, pode ser uma alternativa para acelerar o tempo de amadurecimento da camada biológica (GREBREMICHAEL *et al*, 2005; MILLER *et al*, 2008). Essa concepção aumenta a quantidade de nutrientes e favorece o restabelecimento da camada biológica. No entanto, ainda são necessários estudos focados nessa hipótese para confirmação do resultado. Caso seja eficiente, a adaptação pode reduzir o tempo em que o usuário tem que esperar para ter água potável e, conseqüentemente, pode reduzir a chance de rejeição da tecnologia.

O tipo de operação (contínuo ou intermitente) também tem grande influência na eficiência do tratamento com FLDs e isto pode afetar diretamente na aceitação da tecnologia. Alguns trabalhos como os de Elliott *et al* (2008), Jenkins, Tiwari e Darby (2011) e Young-

Rojanschi e Madramootoo (2014) mostram diferentes combinações dos parâmetros de operação e suas respectivas análises microbiológicas e físico-químicas.

Elliot *et al* (2008) operou dois FLDs em fluxo intermitente com o objetivo de analisar a influência do volume diário de água filtrada nas eficiências de remoção de microrganismos. Um dos filtros era alimentado uma única vez com 20L e o outro filtro era alimentado duas vezes com 20L por vez em períodos de pausa de ± 12 h entre as alimentações. O aumento no número de alimentações e, conseqüente, volume filtrado, ocasionou em uma redução na remoção de *E. coli* ($2,68 \pm 0,37$ log *versus* $2,55 \pm 0,33$ log). Os autores indicam que a diferença entre os períodos de pausa dos FLDs (± 24 h e ± 12 h) pode ser a causa da redução, tanto em relação à atuação dos microrganismos do *schmutzdecke*, quanto à filtração propriamente dita na camada filtrante.

Jenkins, Tiwari e Darby (2011) operaram um FLD em fluxo intermitente e analisaram a influência dos períodos de pausa entre as alimentações na eficiência de remoção de parâmetros microbiológicos e físico-químicos. O FLD era alimentado duas vezes, a primeira amostra de água filtrada era coletada após um longo período de pausa (± 16 h) e a segunda amostra era coletada após um curto período de pausa (± 5 h). Semelhante aos resultados obtidos por Elliott *et al* (2008), neste caso também houve uma redução das eficiências para o período menor tanto para coliformes ($1,65 \pm 0,56$ log *versus* $1,60 \pm 0,41$ log) quanto para turbidez ($95,4 \pm 2,6\%$ *versus* $89,5 \pm 6,2\%$).

Young-Rojanschi e Madramootoo (2014) analisaram a remoção de parâmetros de qualidade da água, como turbidez e *Escherichia coli*, em dois FLDs, sendo um com operação contínua e outro com operação intermitente. Para fins comparativos, o volume de água filtrada por dia era o mesmo entre as operações. Os resultados se mostraram promissores às operações contínuas, atingindo remoções de turbidez de 96% *versus* 87% e logs de inativação de *E.coli* de $3,71 \log_{10}$ *versus* $1,67 \log_{10}$. Entretanto, a alimentação do sistema contínuo foi por bombeamento, o que torna a tecnologia inviável tecnicamente e financeiramente às comunidades isoladas. Estudos focados no desenvolvimento e no aperfeiçoamento de sistemas simples de alimentação devem ser ponderados.

Palmateer *et al* (1999) avaliou a redução de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp em filtros em escala domiciliar operando em fluxo intermitente. Os (oo)cistos dos protozoários eram inoculados diariamente nos 16L da água de alimentação do filtro, os volumes do inóculo correspondiam a 10^6 oocistos de *Cryptosporidium* spp. e 10^5 cistos de *Giardia* spp. As amostras foram concentradas pelo método de filtração em membrana e contadas com auxílio da reação de imunofluorescência direta do kit Merifluor®. As remoções médias foram de $3,8 \log_{10}$ para oocistos e $>5 \log_{10}$ para os cistos; apesar de promissoras, ainda há lacunas quanto à remoção de protozoários em filtros em fluxo contínuo.

O desempenho dos FLDs também foi avaliado em função da temperatura que, inevitavelmente, varia em função da localização global, elevação, estação e hora do dia. Fadaei (2015) não obteve diferenças significativas na eficiência de remoção de coliformes totais e *E. coli* entre a primavera e o verão; isso é explicado devido à pequena amplitude térmica do Irã, país em que os ensaios foram realizados. Como complemento, Arnold (2015) avaliou o efeito da temperatura em laboratório, variando de 4 a 30°C. A eficiência de remoção de coliformes totais e *E. coli* foi maior em temperaturas elevadas do que em temperaturas mais frias. No entanto, ao longo do tempo, quando mantidos os FLDs a temperaturas frias constantes durante períodos prolongados, os filtros mostraram capacidade de adaptação até atingirem porcentagens de remoção próximas às dos filtros mantidos a temperaturas mais quentes. A compreensão do desempenho dos FLDs em função da temperatura ajudará a antecipar como a capacidade de remoção de patógenos pode ser afetada pela mudança do clima.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DO ESCOAMENTO EM FILTROS

A caracterização do escoamento nos filtros lentos em escala domiciliar é primordial para entender como se dá o fluxo de água no meio filtrante e, também, para definir o tempo certo de coleta, visando avaliar a eficiência. A determinação do escoamento pode dar subsídio a mudanças nos parâmetros de operação que, por consequência, trazem melhorias significativas nos processos físico-químicos e microbiológicos que ocorrem dentro do filtro (ELLITOT *et al*, 2008; BRADLEY, 2011).

De acordo com Levenspiel (2000), dois modelos de escoamento são utilizados para representar reatores ideais: reator com escoamento pistonado (*Plug Flow Reactor* – PFR) e o reator com escoamento de mistura completa (*Continuous Stirred Tank Reactor* – CSTR). Esses modelos ideais apresentam equacionamentos matemáticos simplificados, o que torna a modelagem menos complexa.

No modelo pistonado, o fluido atravessa o reator sem haver a mistura do recém-alimentado com o já existente no reator, ou seja, cada elemento deixa o reator na sequência que entrou sem ocorrer mistura longitudinal. O modelo de mistura completa considera que todas as partículas que entram no tanque são uniformemente e instantaneamente misturadas, assim, a concentração de qualquer componente é a mesma em todos os pontos do reator (LEVENSPIEL, 2000).

Em condições reais, o regime de escoamento se comporta entre estes dois extremos ideais, resultado da perda de eficiência causada pela formação de zonas de recirculação, zonas-mortas, caminhos preferenciais e curtos-circuitos. Por isso, quando um fluido atravessa um tanque nem todas as partículas gastam o mesmo tempo para percorrê-lo. A distribuição

temporal das partículas que escoam pelo reator é chamada de distribuição do tempo de residência (DTR) (LEVENSPIEL, 2000; PEGORARO, 2011).

Para a determinação da curva DTR do reator são utilizados traçadores não reativos em ensaios de estímulo-resposta. Diversas substâncias são consideradas traçadoras, as mais utilizadas na determinação da DTR são os corantes e as soluções salinas (PEGORARO, 2011). O cloreto de sódio (NaCl) é uma alternativa para obtenção dessas curvas, exatamente por ter baixo custo e ter medidas indiretas com sondas de condutividade.

A técnica de estímulo-resposta consiste em injetar uma concentração conhecida de traçador na entrada do sistema e acompanhar a concentração na saída. A introdução do traçador no reator pode ser feita através de diferentes tipos de alimentação, seja ela em degrau, pulso, periódica ou aleatória (LEVENSPIEL, 2000), como mostrado na Figura 5.

Figura 5 - Tipos de alimentação de traçador em ensaios de estímulo-resposta (LEVENSPIEL, 2000).

Ensaio com perturbações do tipo pulso apresentam como desvantagem o efeito de cauda em curvas DTR (JIMENEZ *et al*, 1988). Em ensaios hidrodinâmicos, a situação é detectada em longos decaimentos da curva resposta, que estão relacionados às características do traçador e não do escoamento. Segundo Fogler (2004), as perturbações do tipo degrau apresentam mais desvantagens quando comparadas às do tipo pulso, principalmente em relação à manutenção constante da concentração de traçador na entrada e à grande quantidade de traçador utilizada no ensaio, o que pode ser um problema econômico em caso de traçadores onerosos. Em contrapartida não há problemas com difusão do traçador ao longo do ensaio.

A construção das DTRs experimentais dá margem para estudos comparativos do modelo real com os ideais. Um modo prático de interpretar as curvas DTRs é através do Índice de Dispersão de Morril (MDI), dado pela razão entre os tempos em que 90% e 10% do traçador deixam o reator (Equação 1). Valores próximos a 1 indicam PFR, entretanto se o MDI for menor que 2 o reator já é considerado um reator pistonado eficiente e valores próximos a 22 indicam CSTR (TCHOBANOGLIOUS; BURTON; STENSEL, 2003).

$$MDI = \frac{t(M_{90\%})}{t(M_{10\%})}$$

Equação 1

Em que: MDI é o índice de dispersão de Morril, $t(M_{90\%})$ e $t(M_{10\%})$ são os tempos em que 90% e 10% do traçador deixam o reator, respectivamente.

Os modelos baseados em extremos de idealidade (mistura completa e escoamento pistonado) não podem ser aplicados aos filtros não contínuos, como é o caso do FLD em fluxo intermitente, devido a sua independência com o tempo. Entretanto, o MDI pode ser modificado para calcular a eficiência volumétrica de acordo com Tchobanoglous, Burton e Stensel (2003). Essa modificação relaciona a concentração do traçador com o número de volumes do filtro (volume acumulado/volume do filtro) e não com o tempo. Dessa forma, o mMDI pode ser calculado baseado nos volumes em que 90% e 10% da massa do traçador deixam o tempo, como mostrado na Equação 2.

$$mMDI = \frac{t(M_{90\%})}{t(M_{10\%})} \cdot \frac{Q(t)}{Q(t)} = \frac{V(M_{90\%})}{V(M_{10\%})} \quad \text{Equação 2}$$

Em que: mMDI é o índice de dispersão de Morril modificado; $t(M_{90\%})$ e $t(M_{10\%})$ são os tempos em que 90% e 10% do traçador deixam o reator, respectivamente; $Q(t)$ é uma função que representa a vazão de saída do reator em um respectivo tempo; $V(M_{90\%})$ e $V(M_{10\%})$ são os volumes em que 90% e 10% do traçador deixam o reator, respectivamente.

Elliot *et al* (2008) calcularam o mMDI para um FLD em fluxo intermitente utilizando a metodologia proposta por Tchobanoglous, Burton e Stensel (2003). Neste estudo, as duas primeiras alimentações foram com o traçador (NaCl) e as duas últimas com água deionizada, como mostra a Figura 6. O mMDI calculado para este ensaio foi igual a 1,3, valor que indica um comportamento próximo ao ideal pistonado.

Figura 6 - Resultados dos ensaios em traçador conduzidos em FLD de plástica por Elliot *et al* (2008).

Young-Rojanschi e Madramootoo (2015) caracterizaram o escoamento do FLD em fluxo intermitente, a partir da mesma metodologia proposta por Tchobanoglous, Burton e

Stensel (2003). Entretanto, Young-Rojanschi e Madramootoo (2015), simularam um ensaio estímulo-resposta com alimentação em degrau invertido, sendo a primeira perturbação com o traçador (NaCl) e as seguintes com água deionizada, como mostra a linha pontilhada da Figura 7.

Figura 7 - Ensaios de traçador reproduzidos por Young-Rojanschi e Madramootoo (2015)

A linha tracejada mostra que 49% do volume acumulado do traçador tinha saído do filtro no final da segunda alimentação, 96% no final da terceira e os 4% finais saíram do filtro na quarta alimentação. Esses resultados remetem a um valor de mMDI igual a 1,8, realidade ainda próxima a idealidade pistonada. Outra análise importante de Young-Rojanschi e Madramootoo (2015) foi em relação ao atraso da saída do traçador. Os primeiros 0,4L de água que saíram do filtro durante a segunda alimentação não continham traçador, isto aconteceu devido à água presente nos outros compartimentos do filtro (0,02L no tubo de saída, 0,28L no pedregulho da camada suporte e 0,1L no suporte dos piezômetros e sensor de oxigênio dissolvido). Isto indica que uma parcela da alimentação sempre ficará retida no filtro.

Outro modo de interpretar as curvas DTR é através da análise visual do comportamento da curva. As anomalias de escoamento podem ser observadas facilmente e o seu resultado pode fornecer informações de extrema relevância para a análise do sistema. Por exemplo, quando o pico principal da curva ocorrer antes do tempo de detenção hidráulica teórico, pode ser indicativo de reator com zonas mortas ou caminhos preferenciais. Outras anomalias estão expostas na Figura 8.

Figura 8 - Análise visual de anomalias em curvas DTR com perturbação do tipo pulso. Adaptado de Levenspiel (2000)

A variação entre o tempo teórico e o tempo médio de residência da curva DTR analisada visualmente (Figura 5) pode ser calculada em relação à variância (Equação 3). Quanto maior o valor da variância, maior a dispersão da distribuição, ou seja, para PFR $\sigma^2 = 0$ e para CSTR $\sigma^2 = \bar{t}^2$ (FOGLER, 2002).

$$\sigma^2 \cong \frac{\sum t_i^2 \cdot C_i \cdot \Delta t_i}{\sum C_i \cdot \Delta t_i} - \bar{t}^2 \quad \text{Equação 3}$$

Em que: σ é a variância, t_i é o tempo infinitesimal, $\bar{t}$ é o tempo de detenção hidráulica médio obtido, a partir da curva DTR, e C_i é a concentração pontual.

Outro método para avaliar a proximidade do escoamento nos FLDs em relação aos extremos de idealidade (PFR e CSTR) é utilizando modelagem matemática. Para os casos em que o escoamento tende ao pistonado, como o caso dos FLDs reportados por Elliot *et al* (2008) e Young-Rojanschi e Madramootoo (2015), Levenspiel (2000) recomenda utilizar modelos matemáticos como os de dispersão axial e de tanques em série.

O modelo de dispersão axial considera desprezível a dispersão longitudinal. Neste modelo, o traçador é injetado na forma de pulso ideal e se espalha axialmente à medida que passa através do reator. O grupo adimensional que caracteriza o espalhamento no reator é o Lu/D (produto entre o comprimento e a velocidade média sobre o coeficiente de dispersão)

(LEVENSPIEL, 2000). Como visto na Figura 9, se D tender a zero, a dispersão é desprezível, logo, escoamento pistonado; se D tender ao infinito, há grande dispersão, logo, escoamento com mistura perfeita.

O modelo de tanques-em-série considera que o reator se comporta como N tanques de mistura perfeita em série, assim, quanto maior o número de tanques, mais próximo do escoamento pistonado.

Figura 9 – Modelos ideais: A – Modelo de dispersão axial e B - Modelo de tanques-em-série (PEGORARO, 2011).

3.4 COAGULANTES NATURAIS

Como dito anteriormente, a turbidez é um ponto importante para o funcionamento dos filtros lentos em escala domiciliar. Caso a água utilizada para alimentação tenha valores de turbidez acima do recomendado, CAWST (2010) aconselha a utilização de um pré-tratamento da água antes da inserção aos filtros. A clarificação da água pode ser feita utilizando coagulantes (químicos ou naturais) associados a um processo de separação (sedimentação ou flotação).

Os coagulantes utilizados em estações de tratamento de água são, predominantemente, sais inorgânicos de ferro e alumínio como, por exemplo, cloreto férrico (FeCl_3) e sulfato de alumínio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$). Apesar de eficientes, os coagulantes químicos apresentam algumas desvantagens associadas à sua utilização, tais como: ineficiência em baixas temperaturas (HAAROFF, CLEASBY, 1988); forte ligação entre o desenvolvimento da doença de Alzheimer em humanos com o consumo de água após o tratamento com coagulante a base de alumínio (FLATEN, 2001); custos relativamente elevados; produção de grandes volumes de lodo não biodegradável; e mudança significativa no pH da água tratada.

Essas desvantagens relacionadas ao uso de coagulantes químicos inviabilizam o processo de clarificação da água em comunidades isoladas, pois a eficiência do pré-tratamento nessas comunidades carentes está atrelada à simplicidade, à disponibilidade de recursos e ao baixo custo. Para contornar tal situação, os coagulantes químicos comumente utilizados podem ser substituídos por coagulantes naturais à base de plantas. O uso destes coagulantes naturais tem como principais vantagens a biodegradabilidade dos resíduos com facilidade de disposição no ambiente e o baixo custo, especialmente se a planta a partir da qual o coagulante for extraído tiver grande disponibilidade em comunidades isoladas (YIN *et al*, 2010).

Yin (2010) e Choy *et al* (2015) listam uma série de espécies que têm propriedades coagulantes em sua composição, tais como: *Coccinia indica*, *Hibiscus esculentus*, *Luffa cylindrica*, *Arachis hypogaea*, *Cicer arietinum*, *Dolichos biflorus*, *Glycine max*, *Guar hum*, *Lablab purpureus*, *Phaseolus angularis*, *Phaseolus mungo*, *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, *Vigna unguiculata*, *Moringa oleífera*, *Strychnos potatorum*, *Prosopis juliflora*, *Jahropa curcas*, e espécies cactáceas da *Latifaria* spp. e *Opuntia* spp.

3.4.1 *Opuntia* spp.

As espécies cactáceas da *Opuntia* spp. têm diversos cladódios distribuídos ao longo da planta. Estes cladódios são ramos de caules modificados com espessura variando em função da espécie, da idade da planta e da água e nutrientes recebidos durante o crescimento (SUDZUKI *et al*, 1993).

Segundo Pimienta (1990) e Granados e Castaneda (1996), a epiderme dos cladódios da *Opuntia* spp. é composta por duas camadas. A camada externa é o clorênquima que tem a presença de clorofila e a parte interna é o parênquima que tem como função a armazenagem de água. Entre as duas camadas há células mucilaginosas que armazenam mucilagem. Esta mucilagem contém basicamente ácido poligalacturônico (muito semelhante à estrutura da pectina) e resíduos de alguns açúcares como D-galactose, D-xilose, L-arabinose e L-ramnose (MCGARVIE, PAROLIS, 1979). Quando dissolvida em água, essa mucilagem forma soluções viscosas que podem atuar como coagulante natural na clarificação da água (SEPÚLVEDA *et al*, 2007).

A extração da mucilagem dos cladódios é uma prática simples e pode ser feita por aquecimento, por solventes ou por soluções aquosas (SEPÚLVEDA *et al*, 2007; MILLER *et al*, 2008; SHILPA *et al*, 2012; TORRES, CARPINTEYRO-URBAN, VACA, 2012). Apesar de simples, a eficiência da mucilagem extraída como coagulante varia em função do modo de extração e da parte do vegetal em que está sendo utilizada. Miller *et al* (2008) avaliou diversas

condições quanto à presença ou ausência de atividade de coagulação, sendo mais de 80% a atividade foi reportada como “presente” e menos de 30% foi “ausente”.

Tabela 1 - Atividade de coagulação utilizando diferentes modos de preparo da *Opuntia* spp. em água turva com pH próximo a 9,8 (MILLER *et al*, 2008).

Forma de preparo da <i>Opuntia</i> spp.	Atividade coagulante
Cladódio <i>in natura</i>	
Cladódio inteiro (base)	Presente
Cladódio inteiro (topo)	Presente
Pele	Ausente
Parte externa sem pele	Presente
Parte externa com pele	Presente
Parte interna	Presente
Cladódio inteiro macerado	Ausente
Cladódio desidratado	
Seco a 80°C	Presente
Seco a 120°C	Ausente

Como mencionado, as células mucilaginosas que produzem mucilagem estão presentes entre as duas camadas da epiderme, isso explica a ausência de atividade coagulante quando utilizada somente a pele do cladódio. O cladódio após maceração ou aquecimento acima de 100°C também perde a sua eficiência como agente coagulante; isso acontece porque os processos físicos quebram as células e liberam componentes que impedem a coagulação (MILLER *et al*, 2008). As outras condições apresentaram atividade coagulante e podem ser utilizadas sem maiores esforços para clarificação da água em comunidades isoladas.

Outro ponto importante analisado por Miller *et al* (2008) foi em relação ao mecanismo de coagulante predominante para *Opuntia* spp. Estes autores suportam a hipótese de que o mecanismo é a adsorção e formação de pontes, devido aos três principais pontos levantados: i) valores de potencial zeta permaneciam negativos e relativamente constantes após a coagulação, excluindo a possibilidade de neutralização de cargas; ii) o aumento da dosagem do coagulante não, necessariamente, ocasionava em um aumento na eficiência do remoção, excluindo a relação estequiométrica necessária para o mecanismo de varredura; e iii) a força iônica ocasionada pelos íons naturalmente existentes na *Opuntia* spp. não proporcionava a compressão da dupla camada.

A hipótese dos autores de que o mecanismo de coagulação é a adsorção e formação de pontes é confirmada pela análise dos flocos formados utilizando as imagens de

microscopia eletrônica de transmissão (Figura 10) reportadas por Miller *et al* (2008). Nestes flocos, as partículas de caulinita estão ligadas a um material tipo polímero e não estão em contato diretamente entre si. É provável que os eletrólitos presentes na mucilagem dos cladódios, principalmente os cátions divalentes, sejam os responsáveis pela adsorção das partículas (MILLER *et al*, 2008).

Figura 10 - Microscopia eletrônica de transmissão dos flocos produzidos pelos experimentos de coagulação com *Opuntia* spp. em dosagem de 28,4 mg/L (turbidez inicial = 250 uT e pH ~ 8,5).

Adaptado de Miller *et al* (2008).

Legenda: Flocos da *Opuntia* spp. A - Imagem com dimensões de 52,5µm x 36,75µm e B – Imagem com dimensões de 75µm x 52,5µm.

Os cactos *Opuntia ficus indica* e *Opuntia cochenillifera*, tradicionalmente utilizados na culinária e alimentação de rebanhos (CHIAICCHIO; MESQUITA; SANTOS, 2006; GAVA; LOPES, 2012), podem ser atrativos como pré-tratamento de água em comunidades isoladas brasileiras. Apesar de serem espécies cactáceas da *Opuntia* spp., é esperado que cada um tenha um desempenho para a clarificação. O desempenho de cada espécie como coagulante natural pode ser ponderado em função do teor de sólidos voláteis totais, das espectrometrias de infravermelho e dos difractogramas de raio-x.

Segundo Torres, Carpinteyro-Urban e Vaca (2012) e Bustillos, Carpinteyro-Urban e Orozco (2013), o teor de sólidos voláteis totais (SVT) está relacionado à quantidade de compostos orgânicos presente em cada espécie, isto indica que a espécie com o maior teor de SVT tem maior probabilidade de atividade coagulante. Este resultado obtido pelo SVT é confirmado com a presença do ácido poligacturônico, composto orgânico responsável pela coagulação, na espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier. Como complemento, os difractogramas de raio-x indicam a presença de estruturas cristalinas que podem favorecer ou interferir no processo de coagulação. Esses resultados obtidos nas análises preliminares podem ser confirmados e otimizados em ensaios de tratabilidade.

Uma vez otimizada, a aplicação destes cactos pode ser uma solução prática, econômica e apropriada para o pré-tratamento aos FLDs em comunidades isoladas

brasileiras. Outra vantagem além da clarificação é que os cactos *Opuntia* spp. introduzem matéria orgânica à água promovendo a atividade microbiológica (GHEBREMICHAEL *et al*, 2005; MILLER *et al*, 2008), esse fato pode acelerar o amadurecimento do *schmutzdecke* nos FLDs e pode diminuir as chances de rejeição da tecnologia em comunidades isoladas.

3.5 ENSAIOS DE TRATABILIDADE

O pré-tratamento com coagulante natural pode ser simulado em escala de laboratório pelos ensaios de tratabilidade no equipamento Jarrest®. Os resultados obtidos pelos ensaios permitem encontrar as condições ótimas de operação para cada tipo de coagulante. Se reproduzidas essas condições em escala real, o tratamento pode ser simplificado e eficiente.

O Jarrest® é um equipamento de reatores estáticos constituído por 6 jarros, paletas ou pás de agitação, motor com rotação controlada e controles com visor digital para ajuste da rotação das paletas (DI BERNARDO, DANTAS, VOLTAN, 2011), capaz de reproduzir, com suas limitações, processos e operações unitárias do tratamento de água como: mistura rápida, mistura lenta, sedimentação e filtração (se utilizado o *kit* de filtros de laboratório).

Para analisar os resultados em Jarrest® com *kit* de filtros de laboratório são feitos diagramas de coagulação dos parâmetros monitorados (turbidez e cor verdadeira remanescentes, por exemplo). A construção desses diagramas é em função da dosagem do coagulante (eixo das ordenadas) e do pH de coagulação (eixo das abcissas). As eficiências de remoção dos parâmetros são inseridas no interior do diagrama para que sejam traçadas curvas de isoefficiência. Feito isso, é fácil delimitar a condição (dosagem *versus* pH de coagulação) com a melhor eficiência.

Alguns estudos com ensaios de tratabilidade utilizando a *Opuntia* spp. como coagulante natural foram reportados por Miller *et al* (2008), Gebresamuel e Grebe-Mariam (2012), Shilpa *et al* (2012), Torres, Carpinteyro-Urban e Vaca (2012) e Bustillos, Carpinteyro-Urban e Orozco (2013).

Miller *et al* (2008) testaram o cacto *Opuntia* spp. após a desidratação dos cladódios a 80°C em ensaios de tratabilidade. Os resultados foram promissores para a clarificação da água de consumo, atingindo remoções de turbidez de até 92% com dosagens de 20 mg.L⁻¹ em intervalos de pH de 6,9 a 10,2. As condições ótimas de mistura foram em gradiente de mistura rápida de 335 rpm durante 1 min e gradiente de mistura lenta de 35 rpm durante 45 min.

Shilpa *et al* (2012) realizaram ensaios de tratabilidade com água do lago Kukarahalli (Mysore, Índia) utilizando a *Opuntia* spp. após a desidratação dos cladódios a 80°C como coagulante natural. As remoções de turbidez foram de até 89% com dosagens de 20 mg.L⁻¹ em pH de 9,0, realidade próxima à de Miller *et al* (2008). As condições de mistura foram em

gradiente de mistura rápida de 100 rpm por 1 min, seguidos por 10 min de mistura lenta em gradiente de 30 rpm e por 20 min de sedimentação.

Bustillos, Carpinteyro-Urban e Orozco (2013) realizaram ensaios de tratabilidade com efluente industrial, utilizando o extrato dos cladódios inteiros da *Opuntia* spp. após a fervura como coagulante natural. As condições ótimas de mistura foram em gradiente de mistura rápida de 100 rpm durante 3 min, gradiente de mistura lenta de 20 rpm por 15 min e por 20 min de sedimentação. Os resultados não foram tão significativos quanto aos de Miller *et al* (2008) e Shilpa *et al* (2012); entretanto atingiu remoções de turbidez de até 41% com dosagens 150 mg.L⁻¹ em pH de 5,50, valores aceitáveis tendo em vista a qualidade do efluente industrial.

3.6 DESINFETANTES ALTERNATIVOS

A desinfecção do efluente dos filtros é primordial, principalmente durante o tempo necessário para a formação da camada biológica (CAWST, 2010). Os riscos associados ao uso de desinfetantes tradicionais como, por exemplo, na geração de subprodutos têm motivado pesquisas focadas em desinfetantes alternativos de fácil acesso. Propriedades antimicrobianas foram relatadas em muitos extratos de plantas, tais como a esponja-vegetal *Luffa cylindrica* e o quiabo *Abelmoschus esculentus* (*Hibiscus esculentus*). A disponibilidade e o modo de preparo simples podem tornar a esponja-vegetal e o quiabo atrativos como pós-tratamento aos FLDs em comunidades isoladas brasileiras.

3.5.1 *Luffa cylindrica*

No Brasil, a esponja-vegetal (*Luffa cylindrica*) é facilmente encontrada em supermercados e armazéns. O seu cultivo é simples e pode ser realizado sem grandes esforços nos quintais das residências (MARQUELLI, SILVA, LOPES, 2013). O uso mais comum é como esponja natural para fins de higiene pessoal; mas há estudos que relatam que a *L. cylindrica* tem também potencial como desinfetante alternativo (OYETAYO, OYETAYO, AJEWOLE, 2007; SHAHEED *et al*, 2009).

O potencial da *L. cylindrica* como desinfetante alternativo se iniciou pelo estudo de Stirpe (2004). Este autor constatou a presença de um importante grupo antimicrobiano conhecido por proteínas inativadoras de ribossomos (RIP – do inglês *ribosome-inactivating proteins*) na composição da planta. Essas RIPs são proteínas vegetais que danificam enzimaticamente ribossomos de uma maneira catalítica, causando efeitos alérgicos, citotóxicos e antivirais em uma gama de microrganismos (STIRPE, 2004).

Segundo Stirpe (2004), essas RIPs podem ser detectadas em praticamente todas as partes da planta, como as raízes, o caule, as folhas, as flores, os frutos e as sementes. A avaliação do potencial de desinfecção de partes da *L. cylindrica* foi realizada, até o momento, por dois principais estudos. O primeiro foi feito por Oyetayo, Oyetayo e Ajewole (2007), em que estes autores avaliaram a atividade antimicrobiana das folhas e das sementes a partir de extrações a base de metanol, clorofórmio e etanol. O segundo estudo foi realizado por Shaheed *et al* (2009) que avaliaram a atividade antimicrobiana do fruto e das sementes a partir de extrações aquosas.

No estudo realizado por Oyetayo, Oyetayo e Ajewole (2007), os extratos das folhas e das sementes mostraram um efeito inibitório a uma concentração de 200 mg.mL⁻¹ em relação aos quatro microrganismos patogênicos testados (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhi*). Além das RIPs, foram rastreadas outras possíveis substâncias que poderiam causar a inibição dos microrganismos como as saponinas e os alcaloides, compostos que inibem o crescimento microbiano devido à sua interferência na divisão celular (NOBLE, 1990). Apesar de promissor, ainda há lacunas quanto à atuação dos extratos das sementes e das folhas da *L. cylindrica* extraídos a base de solventes, principalmente em diferentes condições de dosagem, pH e tempo de contato.

No estudo realizado por Shaheed *et al* (2009) foram avaliados o potencial de desinfecção do fruto e das sementes. O foco deste estudo foi utilizar um método de preparo simples e de baixo custo passíveis de serem aplicados em comunidades isoladas. Neste contexto, os autores consideraram apenas extratos aquosos (sem técnicas de extração à base de álcool) para inativação de coliformes totais e coliformes termotolerantes em amostras de águas de mananciais superficiais.

Ambas as formas de preparo obtidas por Shaheed *et al* (2009) obtiveram correlação entre a dosagem do desinfetante e a inativação de coliformes totais e termotolerantes (Figura 11). A maior inativação foi em concentração de 200 g.L⁻¹ (48%) e 333 g.L⁻¹ (87%) para o fruto e para as sementes, respectivamente.

Como observado na Figura 11, o desempenho utilizando a semente foi maior que a com o fruto, isto sugere uma maior concentração de componentes antimicrobianos nas sementes, tais como saponinas. Entretanto, mesmo havendo a presença de atividade antimicrobiana, a eficiência de desinfecção do extrato da semente foi insuficiente (<1log) para utilização em águas de consumo em larga escala. Estudos mais aprofundados utilizando outros componentes da esponja devem ser ponderados como, por exemplo, a preparação dos desinfetantes alternativos a partir das folhas com modos de preparo simples e fáceis de serem executados em comunidades isoladas.

Figura 11 – Porcentagem de inativação de coliformes totais e termotolerantes utilizando o extrato do fruto da *L. cylindrica* e o extrato das sementes da *L. cylindrica*, respectivamente, durante o tempo contato de uma hora (SHAHEED *et al*, 2009).

3.5.2 *Hibiscus esculentus*

No Brasil, o quiabo (*Hibiscus esculentus*) é facilmente encontrado em supermercados. Tradicionalmente, o quiabo é utilizado para fins alimentícios, mas há diversos estudos que mostram o seu potencial como coagulante natural (SRINIVASA, MISHRA, 2008; ANASTASAKIS *et al*, 2009; ANI *et al*, 2012; THAKUR, CHOUBEY, 2014; FAHMI *et al*, 2014).

Estudos realizados por Lengsfeld *et al* (2004) e Lengsfeld, Faller e Hensel (2007) também constataram, respectivamente, a capacidade do quiabo de inibir a adesão da bactéria *Helicobacter pylori* à mucosa gástrica humana *in situ* e de inibir a adesão da bactéria *Campylobacter jejuni* ao epitélio intestinal de frangos *in vitro*. A suposição dos autores é que essa propriedade de anti-adesão está relacionada ao desenvolvimento de uma estrutura tridimensional composta por glicoproteínas e compostos de açúcares altamente ácidos que estão presentes no extrato do quiabo.

Devido à constatação da propriedade de anti-adesão causada pelo quiabo, recentemente, algumas pesquisas, como as de Carvalho *et al* (2011) e Choy *et al* (2015), começaram a analisar o quiabo também como um possível desinfetante alternativo para a inativação de diversos microrganismos.

Carvalho *et al* (2011) analisou a proporção dos compostos de açúcares altamente ácidos (palmítico, linoleico e esteárico) presentes no extrato do fruto do quiabo e, também, as possíveis alterações quando extraídas as cascas ou quando os frutos são liofilizados (Figura 12).

Figura 12 – Fração de ácidos graxos presentes no extrato do quiabo com casca, sem casca e liofilizado (adaptado de CARVALHO *et al*, 2011)

O extrato do quiabo sem casca teve um aumento na fração dos ácidos palmítico, linoleico e esteárico quando comparados aos resultados obtidos pelo extrato do quiabo com casca. Segundo Carvalho *et al* (2011), provavelmente os ácidos graxos presentes na casca não são nenhum dos três açúcares altamente ácidos, assim, ao extrair a casca a proporção dos açúcares de interesse aumenta em relação à totalidade.

O extrato do quiabo com casca também foi comparado ao extrato após o processo de liofilização. O extrato com casca tinha em maior proporção o ácido palmítico, seguido pelo esteárico e por fim o linoleico; entretanto, ao liofilizar o extrato, a proporção entre os ácidos foi alterada. Carvalho *et al* (2011) suportam a hipótese de que o processo liofilização desnatura os açúcares altamente ácidos, alterando assim a sua fração no extrato. Essa mudança pode inviabilizar tanto o processo de anti-adesão do extrato quanto o seu potencial como desinfetante. Por isso, o preparo do extrato após a liofilização foi descartado pelos autores.

Carvalho *et al* (2011) permaneceram com a avaliação do extrato do quiabo com e sem casca na inativação de *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium* spp., *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus opacus*, *Xanthobacter Py2*, *Escherichia coli* e *Pseudomona aeruginosa*. Neste estudo, a viabilidade celular foi estimada por microscopia de fluorescência e análise de imagem. Apesar dos modos de preparo serem diferentes, os autores não observaram diferenças significativas nas propriedades antibacterianas entre o extrato do quiabo com casca e sem casca. Neste contexto, os ensaios seguintes foram realizados somente com a extração aquosa obtida a partir dos frutos com cascas.

No ensaio seguinte, Carvalho *et al* (2011) avaliaram a inativação dos microrganismos em diferentes dosagens do extrato do quiabo com casca durante um tempo de contato de 30 minutos. Como mostrado na Figura 13, o extrato apresentou propriedades antibacterianas contra todos os organismos testados, exceto para as células de *R. erythropolis* que só teve redução de 3,5%. A *E. coli* teve redução de até 46,8% em dosagens de 97,7 mg.mL⁻¹, mas o

microrganismos mais suscetível foi a *P. aeruginosa* que praticamente foi inibido na dosagem de 97,7 mg.mL⁻¹.

Figura 13 – Viabilidade celular dos microrganismos quando utilizado extrato do quiabo *in natura* por 30 minutos (adaptado de CARVALHO *et al*, 2011).

Apesar dos resultados de inativação de *E. coli* não serem satisfatórios (0,37log), o potencial do quiabo não deve ser descartado e sim ponderado em diferentes condições de dosagem, pH e tempo de contato. Principalmente, pelo fato desta planta ter em sua composição uma fração lipídica (ácido palmítico, esteárico e linoleico) que teve propriedades antibacterianas anteriormente estudadas.

3.7 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS

Os resultados das análises físico-químicas da água clarificada podem ser compatíveis com as recomendações de operação do filtro (CAWST, 2010); entretanto, o efeito dos possíveis compostos tóxicos presentes nos coagulantes naturais não será observado se não forem realizados ensaios toxicológicos. A presença desses compostos tóxicos pode aumentar o tempo de amadurecimento da camada biológica e inviabilizar ainda mais a transferência dos FLDs às comunidades isoladas.

Os testes toxicológicos, também chamados de bioensaios, são realizados através da comparação experimental entre o efeito causado por uma substância de interesse (como, por exemplo, os coagulantes naturais) com o efeito causado por uma substância controle, em um organismo-teste (DORNFELD, 2006).

O tempo de exposição da substância de interesse pode causar efeitos agudos ou crônicos no organismo-teste. A exposição aguda ocorre quando a concentração letal do composto tóxico é liberada em um único evento e o efeito, expresso em mortalidade ou

sobrevivência, é observado em um curto período de tempo. A exposição crônica ocorre quando o composto tóxico é liberado em eventos periodicamente repetidos, em concentrações subletais, e o efeito, expresso em mudanças no desenvolvimento, crescimento e reprodução, é observado por um longo período de tempo (DORNFELD, 2006; COSTA *et al*, 2008; MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

Os resultados dos bioensaios agudos são expressos em CL_{50} e CE_{50} , já os bioensaios crônicos são em CENO e CEO. O CL_{50} é a concentração letal média que causa mortalidade de 50% dos organismos no tempo de exposição de 24 a 96h. O CE_{50} é a concentração efetiva média que causa um efeito agudo (imobilidade, por exemplo) a 50% dos organismos no tempo de exposição de 24 a 48h. O CENO é a concentração de efeito não observado, maior concentração de agente tóxico que causa efeito adverso estatisticamente significativo nos organismos no tempo de exposição de 7 dias. O CEO é a concentração de efeito observado, menor concentração de agente tóxico que causa efeito adverso estatisticamente significativo nos organismos no tempo de exposição de 7 dias. Os valores numéricos encontrados têm uma relação inversa à toxicidade, ou seja, menores valores indicam maiores toxicidades (COSTA *et al*, 2008).

A espécie de quironomídeo que vem sendo utilizada como organismo-teste em bioensaios de toxicidade é o *Chironomus xanthus* (DORNFELD, 2006; ALMEIDA, 2007; SOTERO-SANTOS; ROCHA; POVINELLI, 2007; RODGHER; ESPÍNDOLA; LOMBARDI, 2010; NOVELLI, 2010; CAMPAGNA *et al*, 2013; HIGASHI, 2016). Este quironomídeo tem ciclo de vida que dura em média 13 dias (12-15 dias) e possui quatro estágios: ovo, larva (de primeiro, segundo, terceiro e quarto instar), pupa e adultos (CAVALCANTI, 2010).

Figura 14 – Representação esquemática do ciclo de vida do Chironomidae (CAVALCANTI, 2010)

A larva do *C. xanthus* utilizada como organismo-teste nos bioensaios apresenta como principais vantagens a sua facilidade de obtenção em grande quantidade e ao baixo custo de

produção e manutenção quando comparado, por exemplo, ao protocolo estabelecido pela NBR 12713 (2009) para *Daphnia* spp.

Higashi (2016) iniciou o estudo sobre a toxicidade dos sistemas com filtros lentos em escala domiciliar construídos pelo grupo de pesquisa da professora Dr^a Lyda Patrícia Sabogal Paz. Neste estudo, foram analisadas as toxicidades agudas da água do poço da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da Universidade de São Paulo (USP) e da água em contato com o PVC do corpo do filtro, utilizando *Chironomus xanthus* como organismo-teste. Segundo Higashi (2016), os bioensaios com a água do poço da EESC/USP e com a água em contato com o corpo do FLD não apresentaram toxicidade ao organismo testado. Entretanto, o ensaio com o efluente do FLD causou certa mortalidade no controle da espécie *C. xanthus*, que foi classificada como não significativa de acordo com a classificação proposta por Barbosa (2000) e Dornfeld (2002). Apesar dos resultados alcançados pela autora, ainda há lacunas quanto aos possíveis riscos agudos e crônicos associados ao uso dos coagulantes naturais e desinfetantes alternativos como pré-tratamento e pós-tratamento aos FLDs. Esses resultados darão subsídio para a transferência da tecnologia na produção de água potável e segura.

4 MATERIAL E MÉTODOS

As atividades foram desenvolvidas em três laboratórios distintos da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo – EESC/USP, sendo eles: i) Tratamento Avançado e Reuso de Águas – LATAR (para ensaios físico-químicos e microbiológicos); ii) Pilotos (para montagem e operação dos FLDs); e iii) Biologia Geral (para ensaios toxicológicos com a espécie *Chinoromus xanthus*).

4.1 CONSTRUÇÃO DO FILTRO LENTO EM ESCALA DOMICILIAR

A construção do FLD foi baseada em CAWST (2010), diferindo quanto ao material usado nos componentes da unidade. CAWST (2010) utiliza o FLD de concreto, contudo a transferência dessa tecnologia para comunidades isoladas apresenta alta complexidade quanto à montagem, limpeza, manutenção, transporte e acessibilidade de peças comerciais. Como o projeto almejou simplificar a tecnologia, a estrutura do FLD foi construída em PVC.

4.1.1 Montagem dos filtros lentos em escala domiciliar

A estrutura do FLD foi dividida em corpo do filtro, saída e tampa. O corpo do filtro acomoda os materiais filtrantes e recebe a água bruta. A saída d'água transporta a água filtrada desde a saída da caixa sifonada até o usuário do filtro. A tampa acima do filtro evita a entrada de agentes externos. Dois filtros foram montados e construídos com a mesma estrutura. A Figura 155 apresenta o FLD construído com os seus componentes de destaque.

Figura 15 - Componentes da estrutura do filtro lento em escala domiciliar

Legenda: A – Corpo e saída do filtro; B – Leitura do nível d'água pelo piezômetro; C – Espigão para evitar a formação de sifão; D – Tampa do filtro.

A Tabela 2 apresenta as tubulações, conexões e acessórios utilizados na construção de cada FLD.

Tabela 2 - Tubulações, conexões e acessórios utilizados na construção do FLD.

Unidade do FLD	Item	Número	Unidade
Corpo	Tubulação de esgoto DN250	97	cm
	Caixa sifonada 250x50	1	Unidade
	Anel de vedação 50mm	1	Unidade
Saída	Tubo DN20	3	cm
	Tubo DN75	5	cm
	Tubo DN40	77	cm
	Redução excêntrica 75x50	1	Unidade
	Anel de vedação 50mm	1	Unidade
	Bucha de redução longa 50x40	2	Unidades
	Anel de vedação 40mm	2	Unidades
	Joelho 90° DN40	3	Unidades
	CAP DN75	1	Unidade
	Anel de vedação 75mm	1	Unidade
	Adaptador soldável para caixa d'água 20mm	1	Unidade
	Anel de vedação para caixa d'água 20mm	1	Unidade
	Luva soldável com rosca 20x1/2	1	Unidade
	Registro de esfera 20mm	1	Unidade
Tampa	Tampa de caixa sifonada 250x50	1	Unidade

4.1.2 Preparação do material filtrante

Os materiais filtrantes dos FLDs foram preparados por três procedimentos simples: lavagem, secagem e peneiramento. Os materiais foram lavados com água subterrânea extraída do poço localizado na EESC/USP. O material a ser lavado era colocado em um balde para agitação manual por cerca de 1 minuto. Após a lavagem, esperava-se cerca de 30 segundos para decantação e em seguida o balde era esvaziado. O procedimento manual se repetiu até a água de lavagem ficar com valores ± 15 uT (visualmente limpa). Os pedregulhos grosso e fino foram desinfetados com hipoclorito de sódio a 0,5% por 48h. Os volumes utilizados nesta etapa foram contabilizados para posterior discussão.

Depois de lavados, os materiais foram expostos ao sol para retirada de umidade. Ao finalizar a secagem, os materiais filtrantes foram peneirados com o uso de peneiras comumente encontradas em comunidades isoladas (peneiras de fubá, arroz, café, feijão e tela

de galinheiro), segundo Tabela 3. Depois de realizados os três procedimentos, os materiais foram estocados em sacos plásticos para evitar contaminação e serem utilizados posteriormente.

Tabela 3 - Seleção do meio filtrante e da camada suporte.

Tipo de camada	Material filtrante	Tipo de peneira	Tamanho da abertura (mm)	Material de descarte
Meio filtrante	Areia fina	Fubá	1,5 x 1,5	Areia de tamanho superior à abertura da peneira
		Arroz	3 x 7	Areia de tamanho superior à abertura da peneira
	Areia grossa	Fubá	1,5 x 1,5	Areia de tamanho inferior à abertura da peneira
		Arroz	3 x 7	Areia de tamanho inferior à abertura da peneira
Camada suporte	Pedregulho fino	Café	5 x 12	Pedrisco de tamanho superior à abertura da peneira
		Feijão	5 x 8	Pedrisco de tamanho inferior à abertura da peneira
	Pedregulho grosso	Tela de galinheiro	11,5 x 11,5	Brita de tamanho superior à abertura da peneira
		Café	5 x 12	Brita de tamanho inferior à abertura da peneira

A Figura 16 apresenta os procedimentos para a preparação dos meios filtrantes.

Figura 16 - Procedimentos para preparação dos materiais filtrantes

Legenda: A – Água da primeira lavagem; B – Água da última lavagem (visualmente limpa); C – Exposição da areia fina ao sol para secagem; D – Peneiramento do pedregulho com tela de galinheiro e peneira de café.

Após preparadas as areias fina e grossa, amostras de 700g foram submetidas ao ensaio granulométrico, segundo metodologia indicada na NBR 11799 (1990), no Laboratório de Pilotos. A areia foi colocada em uma estufa com temperatura de aproximadamente 100°C durante 3 horas. Após a secagem, cerca de 500g foram inseridas em um conjunto de peneiras montadas em ordem crescente de abertura sobre o agitador (marca Solotest®). As peneiras utilizadas foram da série americana ASTM entre os números 18 e 200, com aberturas correspondentes entre 1,0 mm e 0,075 mm, respectivamente. O agitador foi ligado por 15 minutos a uma frequência de 5 Hz. A massa retida em cada peneira foi devidamente pesada para construção da curva granulométrica.

A análise da curva granulométrica permitiu encontrar o D_{10} , D_{60} e o coeficiente de uniformidade – CU da amostra. Os resultados avaliam a compatibilidade do meio filtrante com as recomendações de CAWST (2010) e Jenkins, Tiwari e Darby (2011).

4.1.3 Montagem das camadas filtrantes e suporte

Depois de concluídas as etapas de construção dos FLDs, os materiais filtrantes foram introduzidos no corpo do filtro. A Figura 17 apresenta, de forma ilustrativa, a configuração e disposição dos materiais no FLD.

Figura 17 - Disposição dos materiais filtrantes no interior do filtro. Cotas em centímetros.

Quando inseridos o pedregulho grosso, o pedregulho fino e a areia grossa, tomou-se cuidado para que houvesse distribuição homogênea do material. Este procedimento faz com que a camada tenha superfície plana e, conseqüentemente, não interfira na espessura da

camada subsequente. Para a introdução da areia fina, o filtro teve que estar previamente preenchido com água do poço da EESC/USP visando impedir a formação de bolsões de ar ao longo do meio filtrante. Além dos materiais filtrantes, foi colocada uma manta filtrante não tecida (feltro) posicionada acima da camada de areia fina.

4.1.4 Montagem dos sistemas de alimentação contínuo e intermitente

Depois de introduzidos os materiais filtrantes nos FLDs, os sistemas de alimentação foram montados para que um filtro fosse operado em fluxo contínuo e o outro em fluxo intermitente. Para fins de comparação, ambos têm a capacidade de produzir o mesmo volume de água filtrada (60 L/dia) – demanda básica prevista por uma residência. Os sistemas de alimentação estão expostos na Figura 18.

Figura 18 - Sistemas de alimentação dos filtros lentos em escala domiciliar

Legenda: A – FLDs em fluxo contínuo e em fluxo intermitente, B – Alimentação do FLD contínuo indicada pela seta vermelha, C – Torneira boia de bebedouro para controle do nível em fluxo contínuo e D – Boia de filtro de barro para controle do nível em fluxo intermitente.

A operação em fluxo contínuo foi alimentada por uma caixa d'água de 100 L posicionada a 1,10 m do piso. A água clarificada foi encaminhada até o FLD por uma mangueira escura para evitar a entrada de luminosidade e a formação de biofilme. Nessa operação, o nível d'água e a taxa de filtração foram constantes. O nível d'água foi controlado

por uma torneira boia de bebedouro, de modo que a lâmina d'água fosse constante em ± 5 cm e a taxa de filtração foi controlada em $1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$ pelo registro tipo agulha na saída do FLD.

A operação em fluxo intermitente, a água clarificada foi encaminhada, manualmente, ao filtro. O volume por alimentação foi de $\pm 15 \text{ L}$, valor correspondente à água presente na coluna acima do meio filtrante e nas regiões das tubulações de saída somado ao volume de água entre os grãos dos materiais filtrantes. Quando o FLD é alimentado, o nível d'água e a taxa de filtração ($2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) são controlados por uma boia de filtro de barro, ao passar do tempo o balde é esvaziado ocasionando o decaimento do nível até a taxa de filtração tender a zero.

4.2 CONSTRUÇÃO DO FILTRO DE LABORATÓRIO EM ACRÍLICO

Os filtros de laboratório em acrílico (FLA) foram construídos baseados nos FLDs em fluxo contínuo e intermitente. Esta etapa facilita a execução dos ensaios preliminares e dá subsídio para análise das diferenças entre as escalas dos filtros.

4.2.1 Montagem dos filtros de laboratório em acrílico

Como visto na Figura 19, os FLAs possuem o corpo em acrílico com 19 mm de diâmetro interno e 40 cm de altura, o meio filtrante é sustentado por uma malha metálica e a saída é feita por um espigão de latão.

A construção dos FLAs foi dividida em duas etapas: montagem do sistema de saída e introdução dos materiais filtrantes (Figura 20). O sistema de saída foi feito por uma mangueira de silicone 6x4 acoplada a um tê de plástico. Na saída paralela ao tê foi montado um sistema para evitar o sifonamento, já a saída perpendicular foi disposta para retirada de água filtrada.

Depois de montado o sistema de saída, foram introduzidos os materiais filtrantes. Primeiramente, os filtros foram preenchidos com 3 cm de areia grossa e 12 cm de areia fina previamente lavados conforme item 4.1.2, essa proporção entre as espessuras deu sustentação ao meio filtrante. Em seguida, foi colocada uma manta de feltro no topo da camada filtrante com 19 mm de diâmetro. No final do processo, a altura do tê teve que ser ajustada, de modo que o nível mínimo de água no filtro fosse de ± 5 cm. A disposição dos materiais filtrantes (areia grossa, areia fina e manta de feltro) e nível d'água do FLA simulam às do FLD.

Figura 19 - Detalhes do filtro de laboratório em acrílico (FLA)

Legenda: A - Filtro de laboratório em acrílico; B - Saída do filtro; C - Malha metálica como suporte do meio filtrante.

Figura 20 - Montagem dos filtros de laboratório de acrílico (FLA)

Legenda: A – Filtro de laboratório com o meio filtrante; B – Detalhes do meio filtrante: 3 cm de areia grossa e 12 cm de areia fina; C – Adaptação com mangueira flexível no nível d'água; D – Manta feltro no topo da camada filtrante.

A mangueira na saída do filtro foi desconectada e com o uso de uma proveta graduada, foram medidos 24 mL de água, esse volume corresponde à lâmina d'água dada pelo nível mínimo (± 15 mL) somado ao volume de água entre os grãos de areia (± 9 mL). O volume medido é o volume por alimentação nos ensaios em fluxo intermitente.

A retirada da água supracitada causou a formação de bolsões de ar, para estratificar novamente o leito, foi feita uma retrolavagem. Esse processo de retrolavagem foi realizado com uma seringa plástica utilizando 60 mL de água do poço, o processo se repetiu enquanto ainda existissem bolsões de ar. Após executar todas as etapas, o filtro estava pronto para os ensaios seguintes.

4.2.2 Montagem dos sistemas contínuo e intermitente

Depois de construídos seis FLAs, os sistemas de alimentação foram montados para que três filtros fossem operados em fluxo contínuo e três em fluxo intermitente (Figura 21). Na operação contínua, o FLA foi alimentado pelo jarro do Jarteste e na operação intermitente, a água clarificada foi encaminhada, manualmente, à cada FLA.

Figura 21 - Sistemas de alimentação dos filtros de laboratório em acrílico

Legenda: A – Alimentação contínua utilizando os jarros do Jarteste; B – Alimentação intermitente utilizando provetas; C – Detalhes do fluxo contínuo: nível d'água e taxa de filtração constante; D – Detalhes do fluxo intermitente: nível d'água e taxa variável

Na operação contínua, assim como no FLD, o nível d'água e a taxa de filtração foram constantes. O nível d'água foi mantido em ± 13 cm e a taxa de filtração adotada foi igual à

aplicada nos filtros ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$). Essa taxa remete a uma vazão de $41,7 \text{ mL/min}$ (60 L/dia) nos FLDs e $0,25 \text{ mL/min}$ nos FLAs.

Para o controle da taxa de filtração, o jarro era preenchido com água clarificada até a marcação de 2 L e o registro de entrada ao FLA era aberto. Com o uso de uma proveta graduada, era medido o volume coletado por 20 minutos. Caso o volume fosse diferente a 5 mL , era necessário regular o registro e efetuar uma nova medição. A cada medição era preciso preencher novamente o jarro até a marcação de 2 L , mantendo a carga hidráulica constante. Após definida a abertura correta dos registros, o FLA estava pronto para os ensaios futuros.

Na operação intermitente, 24 mL de água clarificada eram encaminhados manualmente ao FLA a cada alimentação. No início da operação a taxa máxima era de $3,86 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$ ($0,80 \text{ mL/min}$), ao passar do tempo o nível d'água decaía até a taxa de filtração tender a zero.

4.3 PREPARAÇÃO DA ÁGUA DE ESTUDO COM ALTO RISCO MICROBIOLÓGICO

Para determinar o desempenho do filtro, foi utilizada água de estudo que simulava mananciais com elevada turbidez e risco microbiológico. A água de estudo foi uma mistura de $\pm 200 \text{ L}$ de água do poço da EESC/USP com caulinita (Fluka-Sigma Aldrich®) e ácido húmico (Sigma Aldrich®) visando obter, respectivamente, turbidez de $\pm 100 \text{ uT}$ e cor verdadeira de $\pm 30 \text{ uH}$. Em seguida foi acrescentada a cultura de *Escherichia coli* (adquirida na Fundação André Tosello – Campinas/SP) à mistura permitindo obter concentração de $\pm 1 \times 10^3 \text{ NMP/100mL}$. Por fim, foram adicionados os (oo)cistos de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. (adquiridos da empresa Waterborne – EUA (Anexo A) e da UNICAMP, respectivamente) à mistura visando obter valores de $\pm 5 \times 10^2$ (oo)cistos/L, respectivamente.

O preparo da água de estudo foi feito em três etapas: a primeira apenas com a inserção de caulinita e ácido húmico, a segunda etapa com a inserção de *E. coli* e a terceira com os (oo)cistos de protozoários. A forma com que os procedimentos foram realizados estão descritos nos itens que seguem.

4.3.1 Captação, armazenamento e caracterização da água do poço

Cerca de 200 L de água do poço da EESC/USP foram captadas e armazenadas. O acondicionamento foi feito em um reservatório previamente lavado e desinfetado com hipoclorito de sódio. O reservatório possui tampa para impedir a ação de agentes externos e uma bomba de aquário submersível ALEAS® (modelo HM-5063) para evitar que os sólidos fiquem depositados no fundo do reservatório.

A caracterização da água do poço foi em função do pH, alcalinidade total, condutividade elétrica, cor aparente e verdadeira, turbidez, temperatura e dureza. Os métodos analíticos adotados foram de APHA, AWWA, WEF (2012).

4.3.2 Preparo da água de estudo com caulinita e ácido húmico

4.3.2.1 Determinação da concentração de caulinita

Um ensaio foi realizado para determinar a relação de massa de caulinita por volume de água do poço para que a turbidez desejada (± 100 uT) fosse atingida. Primeiramente, nove massas de caulinita foram pesadas em balança analítica e adicionadas aos jarros de 2L do aparelho de Jarteste. As concentrações de caulinitas testadas foram de 0,1; 0,16; 0,19; 0,20; 0,21; 0,22; 0,24; 0,26 e 0,28 g.L⁻¹.

Os ensaios da água do poço com caulinita foram mantidos sob agitação a 200 rpm durante 30 minutos, no Jarteste. Após este período, foi realizada a leitura dos valores de turbidez das misturas em cada jarro. Todas as concentrações de caulinita foram testadas em triplicata.

4.3.3.2 Determinação da concentração de ácido húmico

Semelhante a caulinita, foi realizado um ensaio para determinar a relação de massa de ácido húmico por volume de água do poço para que a cor verdadeira desejada (± 30 uH) fosse atingida. Neste caso, foi preparada uma solução mãe de ácido húmico com concentração de 1g.L⁻¹ e os valores de cor aparente e verdadeira foram medidos. Para obter a cor verdadeira desejada, foram feitas diluições da solução mãe utilizando água do poço. Os ensaios foram feitos em triplicata.

4.3.3.3 Preparo da água de estudo mediante homogeneização no misturador mecânico

Em função da pequena quantidade de água produzida no equipamento Jarteste, o preparo da água de estudo foi transferido para um reservatório de 200L previamente lavado e desinfetado com hipoclorito de sódio. Neste caso, a homogeneização era feita por um misturador mecânico (Figura 22), sendo o controle da rotação das hélices feito por um inversor de frequência.

Figura 22 - Detalhes do misturador mecânico

Legenda: A – Reservatório de 200L acoplado ao misturador mecânico; B – Inversor de frequência; C – Hélice com inclinação de 45°.

O parâmetro de comparação entre a homogeneização no Jarteste e com misturador mecânico é o gradiente de velocidade e não a rotação do equipamento, pois, como mostra a Equação 4, o cálculo do gradiente leva em consideração, além da rotação, o formato das pás e a proporção das medidas da câmara em que o agitador está funcionando.

$$Gr^2 = \frac{K_{tb} \cdot \mu \cdot V}{\rho_a \cdot Nr^3 \cdot D_{tb}^5} \quad \text{Equação 4}$$

Em que: Gr é o gradiente de velocidade (s^{-1}); K_{tb} é o coeficiente que depende do tipo de hélice e do número de Reynolds; μ é a viscosidade absoluta (Ns/m^2), V é o volume (m^3), ρ_a é a massa específica (kg/m^3), Nr^3 é a rotação do rotor (rps), D_{tb} é o diâmetro do rotor (m).

Como pode ser visto nas Figuras 22 e 23, o misturador mecânico apresenta diâmetro e formato das pás diferente das do Jarteste, o que interfere diretamente no gradiente de velocidade. Além disso, os jarros do Jarteste e o reservatório de 200L têm proporções diferentes, outro interferente para o cálculo do gradiente.

Figura 23 - Detalhes do equipamento Jarteste

Legenda: A – Jarro acoplado ao equipamento Jarteste; B – Paletas planas; C – Controlador de rotação.

Dessa forma, foi encontrada uma nova rotação do misturador mecânico para que o gradiente de velocidade fosse o mesmo do Jarteste e, conseqüentemente, produzisse água com a mesma qualidade. Encontrada essa rotação, o ensaio foi mantido sob agitação durante 30 minutos. Após este período, foi realizada a leitura dos valores de turbidez, cor verdadeira e aparente e comparadas às encontradas quando a mistura foi realizada no Jarteste.

4.3.3 Preparo da água de estudo com caulinita, ácido húmico e *Escherichia coli*

A inserção de *Escherichia coli* à água de estudo foi feita diretamente no reservatório de 200L ainda sob agitação. O volume acrescentado de *E. coli* variou em função da concentração da cultura. Maiores detalhes sobre a cultura e os procedimentos de cultivo estão no item 4.3.3.1.

Diversas diluições da cultura foram feitas em frascos previamente autoclavados com as soluções padrões de dihidrogeno fosfato de potássio e cloreto de magnésio. As amostras diluídas foram quantificadas pela técnica de filtração em membranas usando o meio *Chromocult® Coliform Agar* (Merck KGaA), seguindo os procedimentos de APHA, AWWA, WEF (2012). A partir do resultado foi determinado o volume da cultura de *E. coli* que deveria ser adicionado à água, de modo que ela sempre tivesse concentração de $\pm 1 \times 10^3$

NMP/100mL. Determinado o volume, o preparo da água era mantido sob agitação durante 30 minutos.

4.3.3.1 Cultura de *Escherichia coli*

Nesta pesquisa foram utilizadas as linhagens liofilizadas de *Escherichia coli* fornecidas pela Fundação André Tosello (Campinas/SP). O protocolo de ativação das linhagens seguiu as recomendações da carta de envio do laboratório responsável. A fim de evitar contaminações e mutações espontâneas devido aos procedimentos de repique, as células de *E. coli* foram conservadas em solução de glicerol a baixas temperaturas (-8°C). O armazenamento foi feito em tubos de eppendorf de 1,5 mL.

Inicialmente, o meio de cultura era preparado diluindo 6,25g de meio nutriente (70122 *Nutrient Broth* N°1 da *Sigma-Aldrich*®) em 250 mL de água deionizada. A solução era homogeneizada e autoclavada a 121°C por 15 minutos, seguindo recomendações do fabricante. Em seguida, as células que foram previamente conservadas eram introduzidas no meio de cultura para incubação. A solução era novamente homogeneizada e levada à estufa a 36°C durante 24 horas. Após o tempo determinado, a cultura de *E. coli* era armazenada em geladeira. A incubação das células de *E. coli* era realizada conforme a periodicidade dos ensaios, considerando o prazo máximo de 15 dias de validade.

4.3.4 Preparo da água de estudo com caulinita, ácido húmico, *Escherichia coli* e (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

A fim de evitar possíveis perdas de (oo)cistos nos reservatórios e mangueiras, a inserção de (oo)cistos de protozoários foi feita diretamente nos jarros do jarteste (para os ensaios com FLAs) ou diretamente nas zonas estacionárias dos FLDs. O volume inoculado variou em função do número de (oo)cistos nas suspensões, de modo que a mistura sempre tivesse valores de $\pm 5 \times 10^2$ (oo)cistos/L para *Giardia* spp. e para *Cryptosporidium* spp. Maiores detalhes sobre a contagem do inóculo estão no item 4.3.4.1.

4.3.4.1 Inóculo de (oo)cistos de protozoários

Os protozoários foram retirados de duas suspensões comerciais: (i) suspensão purificada de cistos de *Giardia* spp. adquirida na Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), e (ii) suspensão de oocistos de *Cryptosporidium parvum* adquiridos na empresa Waterborne (New Orleans – LA, EUA). Para determinar a concentração de (oo)cistos em cada uma das suspensões, foram seguidos os passos descritos abaixo.

1. As suspensões de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium parvum* foram retiradas da geladeira e mantidas em temperatura ambiente;
2. As suspensões eram homogeneizadas durante 2 minutos em vórtex e pipetadas vigorosamente por 20 vezes. O procedimento se repetiu por três vezes;
3. Duas ponteiras eram enxaguadas com a solução eluente *Tween* 80 a 0,1% previamente preparada;
4. Três alíquotas de 5 µL de *Giardia* spp. e três alíquotas de 15 µL de *Cryptosporidium parvum* foram transferidas para três poços em duas lâminas, sendo o poço central inutilizado. Três poços foram montados para que a contagem dos (oo)cistos fosse em triplicata;
5. As alíquotas eram mantidas em repouso e em temperatura ambiente em *overnight* para que secassem;
6. O *kit* Merifluor® foi retirado da geladeira e mantido em temperatura ambiente;
7. Duas placas de *Petri* foram envolvidas em papel alumínio para simular uma câmara escura. Dentro das placas foi colocado um pequeno pedaço de papel para umedecer a câmara;
8. As lâminas foram transferidas para as placas de *Petri* e, para fixar a amostra, foram adicionados 10 µL de metanol anidro 99,8% *Sigma-Aldrich*® sobre cada poço. Aguardou-se o tempo de 10 minutos para secagem das alíquotas;
9. Na ausência de luz, foram adicionadas uma gota do reagente de detecção (frasco de tampa azul) e uma gota do contra corante (frasco de tampa verde) do *kit* Merifluor® em cada poço. As placas de *Petri* eram fechadas e incubadas por 30 minutos a 37°C;
10. A solução de lavagem do *kit* Merifluor® era preparada em uma proporção de 1:20 com água ultrapura (Milli-Q);
11. As lâminas eram retiradas das placas de *Petri* e, ainda na ausência de luz, cada poço era lavado três vezes com 50 µL da solução tampão do *kit*. A lavagem era feita em uma inclinação de $\pm 30^\circ$ para que o líquido escorresse pela lâmina, o excesso era retirado com papel absorvente;
12. As lâminas eram retornadas às placas de *Petri* para que fossem adicionadas duas gotas de *Fluoroshield*™ with *DAPI* (Sigma -F6057) em cada poço. As placas eram novamente fechadas e mantidas por 15 minutos para fixação do produto;
13. As lâminas eram retiradas das placas de *Petri* e, ainda na ausência de luz, cada poço era lavado duas vezes com 50 µL de HBSS (*Hank's Balanced Salt Solution* da *Sigma-Aldrich*® H9269). O excesso da lavagem era retirado com papel absorvente;
14. Decorrido o tempo estipulado, era adicionado 20 µL de iodeto de propídio da *Sigma-Aldrich*® P4170. Esse volume era proporcional à quantidade de suspensão inoculada

- em cada poço que, neste caso, era de 5µL de *Giardia* spp. e 15µL de *Cryptosporidium* spp. As placas eram novamente fechadas e mantidas por 5 minutos;
15. A mesma lavagem do item 13 foi repetida para o iodeto de propídio.
 16. Em seguida, em cada poço foi feita uma lavagem com 50 µL de água ultrapura (Milli-Q);
 17. As lâminas eram novamente colocadas nas placas de *Petri* e, em cada poço, era adicionado uma gota do meio de montagem (frasco da tampa cinza) do *kit* Merifluor®. Em seguida, uma lamínula era colocada, com cautela, sobre cada poço e selada com o selante *CoverSlip*.

Depois de montadas, as lâminas podiam ser lidas em um prazo de até sete dias, conforme recomendações do Método 1623.1 da USEPA (2012). As amostras foram analisadas em microscópio de imunofluorescência utilizando o equipamento Olympus® BX51, sob aumento de 400x. A identificação dos (oo)cistos era feita através da reação de imunofluorescência direta (RID), a contagem de protozoários, as análises confirmatórias com DAPI e a estimativa da viabilidade por IP.

De acordo com USEPA (2012), a contagem dos protozoários era feita quando os (oo)cistos apresentassem fluorescência verde-maça brilhante, sem poros ou apêndices e apresentassem sutura, para oocistos, ou axonema, para cistos, visível, exibindo forte fluorescência. Aliado a isto, o tamanho dos organismos também era uma análise confirmatória, sendo estruturas esféricas de 4 a 6 µm analisadas como oocisto e ovóides de 8 a 18 µm de comprimento por 5 a 15 µm de largura analisadas como cisto.

Os testes com DAPI confirmavam se o organismo fluorescente era um (oo)cisto quando ele apresentava uma ou mais das seguintes características: a) dois a quatro núcleos azul-claros; b) intensa coloração azul interna; e c) ligeira coloração azul interna, sem núcleos distintos e uma borda verde. As características a) e b) se referem ao DAPI positivo (+) e a característica c) se refere ao DAPI negativo (-).

Os (oo)cistos identificados por RID e confirmados por DAPI eram diferenciados em função dos testes com IP. Se houvesse penetração do reagente iodeto de propídio os (oo)cistos eram classificados como não viáveis, se não houvesse penetração eram classificados como viáveis.

4.3.4.2 Otimização do corante fluorogênico vital DAPI

A metodologia descrita no item 4.3.4.1 foi modificada devido à dificuldade relatada em visualizar os núcleos corados dos (oo)cistos de protozoários. Quando aplicadas duas gotas do corante fluorogênico vital DAPI sob a lâmina e deixadas agir por 15 minutos, os (oo)cistos

eram totalmente corados e este fato dificultava a visualização dos núcleos. Neste contexto, foi variado o tempo de incubação do DAPI entre 5, 10 e 15 minutos para que houvesse uma melhor visualização dos núcleos. A melhor condição para visualização foi utilizada nos ensaios subsequentes.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DO ESCOAMENTO

Os escoamentos foram caracterizados, em triplicata, dos FLDs e dos FLAs. Em cada um dos filtros foram feitos ensaios com vazão constante (fluxo contínuo) e com vazão variável (fluxo intermitente). A solução salina de cloreto de sódio foi utilizada como traçador. Para a construção das curvas de concentração do traçador ao longo do tempo ($C \times t$) foi usada uma sonda de condutividade (com interface *Go!Link*) na saída dos filtros. A sonda foi calibrada utilizando água do poço da EESC/USP (concentração de NaCl próximo a zero) e solução de 100 mg/L de sal. No processamento de dados foram utilizados os *softwares Excel®* e *Origin 8.6®*.

4.4.1 Caracterização do escoamento em sistemas com escoamento contínuo

A caracterização do escoamento nos FLAs com vazão constante foi realizada com a injeção do traçador (NaCl) em tipo degrau e pulso. A perturbação em degrau simula a entrada da água de estudo com caulinita, ácido húmico e *Escherichia coli* ao sistema, já a perturbação em pulso simula a inserção dos (oo)cistos de protozoários ao tratamento.

Perturbações do tipo degrau têm como característica a injeção do traçador de forma constante durante todo o ensaio. Neste caso, a alimentação com o jarro do Jarteste era preparada com 2L de solução de NaCl a uma concentração de 100 mg/L. O ensaio se encerrava quando a concentração de saída era próxima a de entrada (± 100 mg/L).

Perturbações do tipo pulso têm como característica a injeção do traçador de forma pontual durante o ensaio. Neste caso, foi inserido 1 mL de uma solução concentrada de NaCl (± 5 g/L) na superfície da coluna d'água por meio de uma micropipeta automática. A concentração do pulso promove uma concentração no FLA de ± 100 mg/L – característica semelhante à perturbação tipo degrau. Após a inserção do pulso, o sistema era alimentado somente com água do poço da EESC/USP. O ensaio se encerrava quando a concentração de saída era próxima à concentração de NaCl na água do poço (valor próximo a zero).

A caracterização do escoamento no FLD com vazão constante foi realizada somente com a injeção do traçador em tipo degrau. O ensaio foi semelhante ao realizado no FLA, diferindo apenas no tipo do reservatório de alimentação, no FLA era feito pelo jarro do jarteste

e no FLD por uma caixa d'água com capacidade de 100 L. Neste caso, a alimentação também era feita com uma solução de 100 mg/L de NaCl.

O tratamento dos dados coletados se dá pela construção da curva de distribuição do tempo de residência (DTR). A partir desta curva, é possível coletar informações sobre o tempo de detenção hidráulica e averiguar se os sistemas estão se comportando como os extremos de idealidade de escoamento (mistura completa e escoamento pistonado).

Em ensaios do tipo degrau, é necessário normalizar os dados de concentração de NaCl na saída do filtro e tempo ($F = C/C_{\text{máx}}$) e diferenciar a curva F para resultar na curva DTR. Já em ensaios tipo pulso, a curva DTR é construída somente pelas concentrações em função do tempo. O tratamento dos dados é dado pelas equações descritas na Tabela 4.

Tabela 4 - Definição de variáveis para a caracterização do escoamento

Variável	Sigla	Definição
Distribuição do tempo de residência (DTR)	$E(t)$	$\frac{dF(t)}{dt}$
Tempo de residência médio	$\overline{\theta}_h$	$\frac{\int_0^\infty t \cdot E(t) dt}{\int_0^\infty E(t) dt}$
Tempo de residência adimensional	θ	$\frac{t}{\overline{\theta}_h}$
DTR em função do tempo de residência adimensional	E_θ	$E(t) \cdot \overline{\theta}_h$
Variância na curva DTR	σ^2	$\int_0^\infty (t - \overline{\theta}_h)^2 \cdot E(t) dt$
Variância adimensional na curva DTR	σ_θ^2	$\frac{\sigma^2}{(\overline{\theta}_h)^2}$

Legenda: F é a concentração unitária, C é a concentração, t é o tempo (LEVENSPIEL, 2000).

A partir das definições das curvas DTR, foram aplicados os modelos hidrodinâmicos baseados na idealidade conforme a Tabela 5.

Tabela 5 - Modelos hidrodinâmicos baseados em escoamento ideal de mistura perfeita ou escoamento pistonado ideal

Modelo	Parâmetro	Equação
N-CSTR em série	$N = \frac{1}{\sigma_\theta^2} = \frac{(\bar{\theta}_h)^2}{\sigma^2}$	$E_\theta = \frac{N(N-1)!}{(N-1)!} \exp(-N\theta)$
Pequena dispersão	$\frac{D}{uL} = \frac{\sigma_\theta^2}{2}$	$E_\theta = \frac{1}{2\sqrt{\pi\left(\frac{D}{uL}\right)}} \exp\left[-\frac{(1-\theta)^2}{4\left(\frac{D}{uL}\right)}\right]$
Grande dispersão	$\sigma_\theta^2 = 2\left(\frac{D}{uL}\right) + 8\left(\frac{D}{uL}\right)^2$	$E_\theta = \frac{1}{2\sqrt{\pi\left(\frac{D}{uL}\right)}} \exp\left[-\frac{(1-\theta)^2}{4\theta\left(\frac{D}{uL}\right)}\right]$

Legenda: N é o número de reatores de mistura completa em série, D/uL é o número de dispersão, σ_θ^2 é a variância adimensional na curva DTR, $\bar{\theta}_h$ é o tempo médio de residência, θ é o tempo de residência adimensional (LEVENSPIEL, 2000).

A análise da qualidade do ajuste dos modelos matemáticos aos dados obtidos experimentalmente foi verificada a partir da análise do coeficiente de determinação (R^2).

4.4.2 Caracterização do escoamento em sistemas com escoamento intermitente

A caracterização do escoamento nos FLAs com vazão variável foi realizada com a injeção do traçador (NaCl) em tipo degrau e pulso, seguindo proposta indicada por Young-Rojanschi e Madramootoo (2015).

A perturbação em tipo degrau foi realizada na primeira alimentação do FLA. Nesta alimentação foram inseridos 24 mL da solução de 100 mg/L de NaCl, volume correspondente ao volume de alimentação do FLA em fluxo intermitente. Após a primeira perturbação, o FLA era alimentado somente com água do poço até que a concentração de NaCl na saída fosse próxima a zero.

A perturbação em tipo pulso foi realizada na primeira alimentação do FLA com 1 mL da solução concentrada de NaCl (± 5 g/L) na superfície da coluna d'água por meio de uma micropipeta automática. Semelhante à perturbação em degrau, após a primeira alimentação, o FLA era alimentado somente com água do poço até a concentração de sal tender a zero.

A caracterização do escoamento no BFA com vazão variável foi realizada somente com a injeção do traçador em tipo degrau. O ensaio foi semelhante ao realizado no FLA, diferindo apenas no volume de alimentação, no FLA era de 24 mL e no FLD de 15 L. Neste caso, a alimentação também foi realizada com uma solução de 100 mg/L de NaCl.

Além dos dados de concentração do traçador coletados ao longo do tempo pela sonda de condutividade, também foram medidos com uma proveta os volumes de água filtrada ao longo do tempo nos FLAs e no FLD. A variação nos volumes caracteriza os sistemas com

vazão variável. Tanto a concentração do traçador quanto o volume de vazios (volume acumulado/volume do filtro) variam em função do tempo. Essa relação torna possível a construção de uma curva relacionando a concentração do traçador em função do volume de vazios ($C \times V$). A análise da curva $C \times V$ indica se os sistemas têm ou podem ter escoamento próximo à idealidade pistonada.

4.5 ENSAIOS DE TRATABILIDADE

Os ensaios de tratabilidade foram realizados em Jarreste, conforme metodologia de Di Bernardo, Dantas e Voltan (2011). Neste sistema foram simulados, em escala de bancada, os processos e operações de coagulação, floculação e decantação.

4.5.1 Preparação dos coagulantes naturais

Os coagulantes naturais (*Opuntia ficus indica* e *Opuntia cochenillifera*) foram coletados na região de São Carlos/SP e foram testados em pó. O pré-preparo consiste, primeiramente, na retirada dos cladódios e espinhos dos cactos para em seguida serem lavados em água corrente e cortados em pedaços de ± 1 cm.

O preparo do pó seguiu o indicado por Miller *et al* (2008) e Shilpa *et al* (2012). Nesta etapa $\pm 0,5$ kg de cladódios pré-preparados eram colocados em estufa a 60°C por 24h. O material seco era triturado no processador de alimentos e peneirado em peneira de $300\ \mu\text{m}$, o material retirado era descartado. O pó resultante foi testado como coagulante natural com dosagens de 5 a 50 mg/L nos jarros do jarreste. Os sólidos totais e voláteis foram quantificados para estimar a quantidade de cacto efetivamente dosado. Maiores detalhes sobre os procedimentos de preparo do coagulante em pó estão apresentados na Figura 24.

Figura 24 - Procedimentos para preparação do coagulante natural em pó

Legenda: A – *O. cochenillifera* após a colheita; B – Retirada dos cladódios; C – Cacto cortado em pedaço de ± 1 cm; D – Após 24hrs em estufa a 60°C; E – Peneiramento em peneira de 300 μ m; F – *O. cochenillifera* em pó.

4.5.2 Caracterização dos coagulantes naturais

Os coagulantes naturais (*O. cochenillifera* e *O. ficus indica*) foram caracterizados em função das análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e difratometria de raio-X. As análises permitem determinar os grupos funcionais e as estruturas cristalinas em cada espécie. Esses resultados auxiliam a explicação dos ensaios de tratabilidade.

A espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier foi realizada no Instituto de Química de São Carlos (IQSC – USP) com o equipamento IRAffinity-1 (marca Shimadzu). A difratometria de raio-X foi realizada em um difratômetro D8 Advance da Bruker do IQSC. As análises foram realizadas utilizando a emissão da linha K α do Cu (cobre), $\lambda = 1,540 \text{ \AA}$, em um intervalo de 2θ de 4° a 60° com um passo de 0,02°. Os difractogramas foram analisados pelo banco de dados do software X'Pert HighScore.

4.5.2 Diagramas de coagulação

Nos ensaios de tratabilidade foram pré-fixados os parâmetros de coagulação, floculação e sedimentação para a construção do diagrama de coagulação. Como ponto de

partida foi considerado: i) gradiente de mistura rápida de 335 s^{-1} com tempo de 1,0 min; ii) gradiente de mistura lenta de 30 s^{-1} com tempos de 30 min; iii) velocidade de sedimentação de 1,0, 0,50 e 0,25 cm/min – conforme resultados obtidos por Diaz *et al* (1999), Miller *et al* (2008), Torres, Carpinteyro-Urban e Vaca (2012) e Bustillos, Carpinteyro-Urban e Orozco (2013).

Os diagramas de coagulação foram construídos em função da remoção de turbidez e cor aparente. Com os diagramas, condições ótimas de dosagem e pH de coagulação foram definidas. Para as mudanças de pH foram utilizados alcalinizante (NaOH) ou acidificante (H_2SO_4).

Posteriormente, os parâmetros de mistura foram otimizados com verificação da influência da velocidade de sedimentação. Nestes ensaios foram testados cinco gradientes de mistura rápida (200, 250, 335, 380 e 430 s^{-1}), cinco tempos de mistura rápida, (60, 50, 40, 30 e 20 segundos), cinco gradientes de mistura lenta (20, 25, 30, 35 e 40 s^{-1}) e seis tempos de mistura lenta (5, 10, 20, 30, 40 e 45 minutos).

4.6 ESTUDO DO DESEMPENHO DOS FILTROS DE LABORATÓRIO EM ACRÍLICO

O estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente foi dividido em três etapas: i) água de estudo somente com características físico-químicas (caulinita e ácido húmico); ii) água de estudo com características físico-químicas e *Escherichia coli*; iii) água de estudo com características físico-químicas e (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. Em todas as etapas foram realizados ensaios de tratabilidade com o “ponto ótimo” de dosagem de coagulante *versus* pH e com os parâmetros otimizados. As taxas de filtração foram compatíveis com os FLDs, sendo a operação contínua com taxa constante de $1,22\text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$ e em operação intermitente com taxa decrescente iniciando em $\pm 3,86\text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$.

4.6.1 Estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente com água de estudo com caulinita e ácido húmico

Para esta etapa foram realizados dois ensaios de tratabilidade em jarreste, em cada ensaio eram retirados seis litros de água clarificada, totalizando doze litros. Esse volume era suficiente para alimentação dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente.

Seis litros de água clarificada foram distribuídos em três jarros do Jarreste, sendo que cada FLA em fluxo contínuo era alimentado por um jarro. Durante toda a alimentação, as pás do Jarreste estavam em rotação mínima ($\pm 15\text{ rpm}$) para simular a bomba submersível existente no reservatório que alimenta o FLD contínuo. As águas filtradas foram coletadas a cada 60 minutos durante 360 minutos (6 h), sendo cada amostra referente à sua hora em

questão. Por exemplo, a água filtrada no tempo de 60 minutos, teve água coletada de 0 a 60 minutos. Como a vazão de água filtrada dos FLAs em fluxo contínuo era baixa (0,25 mL/min), cada amostra composta (15 mL) só tinha volume suficiente para ser analisada em função da cor aparente, pH e potencial zeta.

Os outros seis litros de água clarificada foram destinados às alimentações dos FLAs em fluxo intermitente. Durante todo o ensaio, a água clarificada foi mantida sob agitação magnética evitando assim que as partículas se decantassem. Os FLAs em fluxo intermitente foram alimentados cinco vezes consecutivas. O volume de cada alimentação era medido em uma proveta (24 mL) e inseridos nos FLAs a cada 30 minutos, aproximadamente. As águas filtradas também foram compostas referentes a cada alimentação. Semelhante à operação contínua, a qualidade da água filtrada foi ponderada apenas em função da cor aparente, pH e potencial zeta.

4.6.2 Estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente com água de estudo com *Escherichia coli*

Os ensaios com os FLAs em fluxo contínuo e intermitente foram repetidos com a inserção de *E. coli* na água com caulinita e ácido húmico. Neste caso foi monitorada a qualidade da água bruta, clarificada e filtrada, além do lodo retido no jarro do jarteste.

Inicialmente, houve a distribuição da água bruta com *E. coli* nos seis jarros do jarteste. Em seguida, foi realizado um ensaio de tratabilidade para a produção de seis litros de água clarificada. Os seis litros de água clarificada foram homogeneizados e distribuídos em três jarros para início do ensaio de filtração em fluxo contínuo. Durante toda a alimentação, as pás do Jarteste estavam em rotação mínima (± 15 rpm) para simular a bomba submersível existente no reservatório que alimenta o FLD contínuo. Os seis litros de lodo retidos nos jarros foram homogeneizados dois a dois para a produção de apenas 3 amostras compostas.

Como a vazão de água filtrada dos FLAs em fluxo contínuo era baixa (0,25 mL/min), optou-se por coletar as águas filtradas a cada dia durante três dias consecutivos. Ao final de cada dia, o volume filtrado (± 900 mL) era suficiente para análise dos parâmetros físico-químicos (carbono total e carbono inorgânico) e contagem das células de *E. coli*. Além das águas filtradas, as águas clarificadas para alimentação dos FLAs em fluxo contínuo foram analisadas diariamente considerando todos os parâmetros citados.

Outro ensaio de tratabilidade foi realizado como descrito anteriormente para as alimentações dos três FLDs em fluxo intermitente. Nesta etapa, as seis amostras de água bruta, as três amostras de água clarificada e as três amostras de lodo também foram quantificadas em função dos parâmetros físico-químicos e contagem das células de *E. coli*. Os FLDs em fluxo intermitente foram alimentados durante dois dias, sendo seis alimentações

diárias e um período de pausa de ± 14 horas. As doze amostras de água de cada filtro foram ponderadas em função apenas da contagem de *E. coli* devido ao baixo volume de água produzida por amostra (± 24 mL).

4.6.3 Estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente com água de estudo com (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

Antes de dar início aos ensaios, as suspensões de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. foram quantificadas conforme o item 4.3.4.1. O volume inoculado de (oo)cistos em cada lâmina foi de 5 e 15 μ L, respectivamente. A contagem dos protozoários foi realizada em triplicata poço a poço utilizando os filtros FITC (isotiocianato de fluoresceína), DAPI (4',6-diamino-2fenil-indol), IP (iodeto de propídio) e DIC (contraste interferencial diferencial) conforme as recomendações do Método 1623.1 (USEPA, 2012). A média das alíquotas foi a quantidade de (oo)cistos/L inoculados.

Os (oo)cistos contabilizados foram inoculados, primeiramente, na matriz de água filtrada dos FLAs em fluxo contínuo. Essa amostra de água foi resultado do ensaio de tratabilidade com a água de estudo com caulinita e ácido húmico. As amostras de água do FLA em fluxo contínuo foram concentradas pelo Método de Floculação em Carbonato de Cálcio (FCCa) explicado no item 4.6.3.1. Para confirmar a viabilidade do método de FCCa foi realizado dois testes de qualidade analítica, o primeiro com as suspensões de (oo)cistos visando treinamento operacional e o segundo com o *kit EasySeed®* (item 4.6.3.2).

4.6.3.1 Controle de qualidade analítica do método de concentração (FCCa) com as suspensões

O método de detecção por Floculação em Carbonato de Cálcio (FCCa) foi primeiramente desenvolvido por Vesey *et al* (1993), modificado por Feng *et al* (2011) e adaptado por Giglio (2015). A metodologia utilizada está descrita a seguir:

1. As suspensões de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium parvum* foram retiradas da geladeira e mantidas em temperatura ambiente;
2. As suspensões eram homogeneizadas durante 2 minutos em vórtex e pipetadas vigorosamente por 20 vezes. O procedimento se repetiu por três vezes;
3. Duas ponteiras eram enxaguadas com a solução eluente *Tween* 80 a 0,1% previamente preparada;
4. Em um balão volumétrico era medido um litro da água em que os (oo)cistos de protozoários seriam inoculados;

5. Em um béquer era colocado cerca de 500 mL da água filtrada e, em seguida, era inoculado 5 µL da suspensão de *Giardia* spp. e 15 µL da suspensão de *Cryptosporidium parvum* (valores correspondentes a $\pm 5 \times 10^2$ (oo)cistos/L). Ao final, era colocado o restante da água de estudo (± 500 mL);
6. Uma barra magnética umedecida com *Tween* 80 a 0,1% era colocada no béquer. A amostra era homogeneizada em agitador magnético por 20 minutos;
7. Ainda sob agitação, eram adicionados 10 mL de cloreto de cálcio (CaCl_2) a 1M e 10 mL de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) a 1 M. A mistura era mantida por 10 minutos;
8. Ainda sob agitação, era adicionado hidróxido de sódio (NaOH) a 5M até elevar o pH a 10. A amostra era mantida por 10 minutos;
9. O agitador era desligado e o béquer era tampado com um vidro relógio;
10. A amostra era mantida em repouso e em temperatura ambiente em *overnight*, conforme descrito por Feng *et al.* (2011);
11. No dia seguinte, removia-se o sobrenadante por sifonamento até a marcação de 100 mL do béquer. O sifonamento foi feito utilizando uma mangueira de silicone previamente umedecida com *Tween* 80 a 0,1%;
12. O agitador era ligado e a amostra era homogeneizada por 10 minutos;
13. Ainda sob agitação, era adicionado 20 mL de ácido sulfâmico a 10%. A amostra era mantida por 10 minutos;
14. O agitador era desligado e a amostra era transferida para três tubos de centrífuga (50 mL) previamente umedecidos com *Tween* 80 a 0,1%;
15. O béquer e a barra magnética eram lavados com *Tween* 80 a 0,1%, as amostras dos enxagues também eram transferidas aos tubos de centrífuga;
16. Depois de completados os volumes, os tubos eram devidamente posicionados na centrífuga. A centrifugação se manteve por 20 minutos a uma força centrífuga de 1500xg, conforme descrito em Giglio (2015);
17. Após a centrifugação, o sobrenadante era removido, por uma pipeta plástica, até a marcação de 1 mL;
18. O conteúdo dos tubos era transferido para um tubo único. Os tubos também foram enxaguados e completados até 50 mL com *Tween* 80 a 0,1%;
19. O tubo foi posicionado na centrífuga. A centrifugação se manteve por 20 minutos a uma força de 1500xg;
20. Após a centrifugação, o sobrenadante era removido até a marcação de 5 mL;
21. O pH da amostra era corrigido a 7,0 utilizando *Phosphate Buffered Saline – PBS*, pH 7,4 da *Sigma-Aldrich®* (P3813). Nessa etapa, tomou-se o cuidado para que o *pellet* da amostra não fosse perturbado;

22. O tubo era novamente posicionado na centrífuga. A centrifugação se manteve por 10 minutos a uma força de 1500xg;
23. Após a centrifugação, o sobrenadante era removido até a marcação de 1 mL;
24. Após seguir todos os passos descritos, a amostra estava pronta para realizar os procedimentos necessários à preparação das lâminas visualizadas em microscopia;
25. Após a contagem do número de (oo)cistos, foi estimada a porcentagem de recuperação do método (Equação 5).

$$R = \frac{C \cdot FM}{P_{\text{inoc}}} \cdot 100\% \quad \text{Equação 5}$$

Em que: R é a porcentagem de recuperação do método (%), C é a contagem de (oo)cistos, FM é o fator de multiplicação e P_{inoc} é o número de protozoários inoculados.

Segundo recomendações do Método 1623.1, o protocolo selecionado para avaliar protozoários deverá ter uma média de recuperação entre 8 – 100% para cistos de *Giardia* spp. e de 32 – 100% para oocistos de *Cryptosporidium* spp e o desvio padrão relativo à média em porcentagem (coeficiente de variação) deverá ser menor do que 97 e 46% para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., respectivamente.

4.6.3.2 Controle de qualidade analítica do método de concentração (FCCa) com o kit EasySeed®

A suspensão comercial EasySeed® têm em sua composição $99 \pm 1,5$ cistos e $99 \pm 1,4$ oocistos (Anexo B). A inoculação dos (oo)cistos de protozoários nas amostras de água filtrada do FLA em fluxo contínuo seguiu as recomendações contidas no produto comercial e estão nos itens a seguir.

1. 2 mL de solução de Tween 20 a 0,05% foram adicionados no tubo que continha a suspensão comercial EasySeed®;
2. A solução foi homogeneizada durante 20 segundos no equipamento vórtex;
3. Em um balão volumétrico era medido um litro da água de estudo em que os (oo)cistos de protozoários seriam inoculados;
4. Em um béquer era colocado cerca de 500 mL da água filtrada e, em seguida, era despejado o conteúdo do tubo com a suspensão comercial EasySeed®. Ao final, era colocado o restante da água de estudo (± 500 mL);
5. Em seguida, eram adicionados 3 mL de água ultrapura (Milli-Q) no tubo para lavagem e retirada de possíveis (oo)cistos aderidos;

6. A solução era novamente homogeneizada durante 20 segundos no equipamento vórtex e despejada no béquer contendo a amostra;
7. As etapas 5 e 6 foram repetidas mais uma vez.

Como dito, as etapas de concentração pelo Método de FCCa, preparo da lâmina e, finalmente, leitura e contagem dos (oo)cistos foram realizadas utilizando, primeiramente, água filtrada dos FLAs em fluxo contínuo. Para que fosse estimado o desempenho do método, foram realizados quatro ensaios com a suspensão comercial *EasySeed®* e um branco. A média de recuperação e o desvio relativo à média em porcentagem foram comparados com os valores estabelecidos pela USEPA (2012).

4.6.3.3 Desempenho dos filtros de laboratório em fluxo contínuo e em fluxo intermitente

Confirmada a qualidade analítica do método de concentração por FCCa, os FLAs em fluxo contínuo e intermitente foram avaliados em função da remoção de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

Para que o número de (oo)cistos/L se mantivesse nos jarros do jarteste, a quantidade inoculada de protozoários dobrou de 5 e 15 µL para 10 e 30 µL de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., respectivamente. Os protozoários foram inoculados de forma pontual diretamente em cada jarro com auxílio de uma micropipeta. Vale lembrar que os jarros, as mangueiras e os recipientes de coleta eram sempre umedecidos com *Tween* 80 a 0,1% a fim de evitar a aderência dos (oo)cistos de protozoários.

Para o primeiro ensaio, seis litros de água clarificada foram produzidos no ensaio de tratabilidade e armazenados em três erlenmeyers de 2L previamente umedecidos com *Tween* 80 a 0,1%. As amostras foram homogeneizadas e distribuídas entre os três jarros do jarteste, para que cada jarro alimentasse um FLA em fluxo contínuo. Para o segundo ensaio, três litros de água clarificada foram produzidos em três jarros no ensaio de tratabilidade. As amostras foram homogeneizadas a cada alimentação nos FLAs em fluxo intermitente.

As águas filtradas foram coletadas por três béqueres de 1L posicionados na saída de cada filtro. Os ensaios de filtração duraram aproximadamente 100 horas, iniciando na segunda às 12hrs e terminando na sexta às 17hrs. Em seguida as amostras foram concentradas pelo método de FCCa e dispostas em lâminas para leitura em FITC, DAPI, IP e DIC. A quantidade de (oo)cistos na saída dos filtros foram quantificadas para análise da remoção de protozoários nos FLAs em fluxo contínuo e intermitente. Para evitar possíveis perdas de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., nenhuma análise de qualidade da água foi realizada nestes ensaios, apenas a quantificação dos protozoários na entrada e saída do processo.

4.7 OPERAÇÃO DOS FILTROS LENTOS EM ESCALA DOMICILIAR EM FLUXO CONTÍNUO E INTERMITENTE

O pré-tratamento com o coagulante natural e a operação dos FLDs em fluxo contínuo e intermitente foram adaptados às comunidades isoladas tomando como subsídio os resultados determinados em escala de laboratório utilizando Jarreste e os FLAs.

4.7.1 Adaptação do pré-tratamento à escala domiciliar

A utilização do equipamento Jarreste em comunidades isoladas é inviável devido ao alto custo e à complexidade de operação. Diante dessa realidade, os resultados obtidos nos ensaios de tratabilidade foram adaptados a uma única “unidade” capaz de produzir volume de água clarificada suficiente para a demanda básica de consumo de um filtro (60 L/dia). Como foram operados dois filtros, a demanda diária total passou a ser 120 L.

A unidade utilizada para produção de água clarificada é a mesma utilizada para a produção de água bruta (Figura 22); entretanto, nesta etapa, foi adicionado um registro no reservatório de 200L (Figura 25). Esse registro simula o compartimento de saída do jarreste e permite a retirada da água clarificada sem perturbar o lodo decantado.

Após a preparação da água bruta (item 4.3), o coagulante natural em pó era adicionado à água ainda sob agitação. Assim como a preparação da água bruta, as misturas rápida e lenta também foram realizadas por um misturador mecânico (Figura 22); entretanto, nesta etapa, houve a necessidade de mudança da rotação devido à limitação do misturador. Essa mudança afetou diretamente nos gradientes de mistura rápida e lenta e, conseqüentemente, na eficiência dos ensaios de tratabilidade. Para suprir a deficiência relatada, o tempo de decantação foi adaptado à $\pm 24h$ – tempo suficiente para obter água clarificada com turbidez < 10 uT. Nessa unidade, a água clarificada foi retirada pelo registro e o “volume morto” juntamente com o lodo foi descartado.

Figura 25 - Reservatório adaptado para execução do pré-tratamento

Figura 26 - Unidade adaptada para retenção dos flocos não sedimentados

Legenda: A – Transferência da água clarificada do reservatório de 200L para a bombona de 50, B – Bombona de 50 L com o pano de prato na tampa, C – Bomba submersível

A água clarificada foi encaminhada à uma bombona de 50L posicionada ao lado do reservatório de 200L. Como mostra a Figura 26, a tampa da bombona de 50L foi substituída por um pano de prato comumente encontrado em comunidades isoladas. Esse sistema foi montado para que os flocos em suspensão ficassem retidos no pano e evitassem ir para os filtros, diminuindo as respectivas carreiras de filtração. No interior da bombona de 50L havia uma bomba submersível que encaminhava a água clarificada por uma mangueira cristal até o reservatório elevado.

4.7.2 Alimentação dos filtros em fluxo contínuo e intermitente

O reservatório elevado que recebia a água clarificada era interligado a um reservatório apoiado por um extravasor (seta pontilhada) e o apoiado era interligado ao elevado por uma bomba submersível (seta tracejada). Essa configuração (Figura 27) permitia a homogeneização da água no sistema e evitava a decantação das partículas.

Figura 27 - Interligação dos reservatórios elevado e apoiado

Legenda: Seta pontilhada) escoamento do reservatório elevado para o apoiado. Seta tracejada) escoamento do reservatório apoiado para o elevado.

Os reservatórios supriam a demanda diária de água clarificada dos dois filtros. O FLD em fluxo contínuo era alimentado constantemente pelo reservatório elevado. Enquanto o FLD em fluxo intermitente era alimentado manualmente quatro vezes ao dia (15L/vez) com períodos de pausa sucessivos de ± 4 h, aproximadamente, às 8h, 12h, 16h e 20h. As alimentações do FLD em fluxo intermitente eram retiradas do reservatório elevado por uma bombona de 20L previamente limpa e desinfetada com hipoclorito de sódio. As águas filtradas eram encaminhadas a uma canaleta para descarte.

4.7.3 Coleta e análise da qualidade físico-química e microbiológica das amostras de água

As amostras de água bruta, clarificada e filtrada foram coletadas em frascos de plásticos (± 500 mL) e analisadas em função de diversos parâmetros expostos na Tabela 6 durante toda a operação dos FLDs em fluxo contínuo e intermitente. Para as análises foram seguidas as recomendações descritas em APHA, AWWA, WEF (2012).

A água filtrada do FLD em fluxo contínuo foi analisada de forma pontual ao meio dia. As águas filtradas no FLD em fluxo intermitente foram analisadas de duas formas: i) água filtrada coletada as 8h da manhã referente ao período de pausa de ± 12 h (20h do dia anterior até 8h do dia seguinte), e ii) amostra composta com as águas filtradas as 12h, 16h e 20h, referentes aos períodos de pausa de ± 4 h. Os parâmetros de qualidade da água filtrada foram comparados às exigências da Portaria do Ministério da Saúde nº 2914 (2011) para avaliar o desempenho dos FLDs em fluxo contínuo e intermitente.

Tabela 6 - Frequência de monitoramento dos parâmetros de qualidade da água

Parâmetro	Unidade	Água bruta	Água clarificada	Água filtrada		
				Intermitente		Contínuo
				Período de pausa	Composta	
pH	-	Diária	Diária	Diária	Diária	Diária
Turbidez	uT	Diária	Diária	Diária	Diária	Diária
Cor aparente	uH	Diária	Diária	Diária	Diária	Diária
Condutividade elétrica	$\mu\text{S}/\text{cm}^2$	Diária	Diária	Diária	Diária	Diária
Alcalinidade parcial	mgCaCO_3/L	Diária	Diária	Diária	Diária	Diária
Alcalinidade total	mgCaCO_3/L	Diária	Diária	Diária	Diária	Diária
Absorbância $\lambda 254\text{nm}$	-	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal
Cor verdadeira	uH	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal
Potencial zeta	mV	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal
Carbono total	mgC/L	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal
Carbono inorgânico	mgC/L	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal
Coliformes totais	UFC/100mL	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal
<i>Escherichia coli</i>	UFC/100mL	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal

A inserção dos (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. ocorreu de forma pontual nos FLDs às 8h da manhã. Nesta etapa, foi utilizada uma nova suspensão de oocistos inativados de *Cryptosporidium* spp. adquiridos na empresa Waterborne (New Orleans – LA, EUA). A concentração de oocistos nessa nova suspensão era aproximadamente três vezes maior que a antiga, semelhante à concentração da suspensão de *Giardia* spp ($5 \mu\text{L} \approx 500$ (oo)cistos).

Para manter a quantidade de ± 500 (oo)cistos/L, o volume inoculado de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. foi relativo ao volume de cada um dos filtros. O FLD operando em fluxo contínuo tem um volume total de ± 20 L, o que remete ao volume de inoculo de $100\mu\text{L}$. O FLD operando em fluxo intermitente logo após a alimentação tem um volume total de ± 35 L, o que remete ao volume de inoculo de $175\mu\text{L}$.

Apenas seis análises foram realizadas às águas filtradas. Essa quantificação aconteceu nos últimos dias de operação dos filtros em fluxo contínuo e intermitente, para que a camada biológica já estivesse constituída e facilitasse a remoção dos (oo)cistos.

A primeira análise foi com 30L de água filtrada, sendo 15L do FLD contínuo e 15L do FLD intermitente. A coleta foi feita em caixas organizadoras de plástico (Figura 28a) previamente umedecidas com *Tween* 80 a 0,1%. Esse teste visou a análise de toda amostra de alimentação do FLD intermitente e, para fins de comparação, o volume coletado foi equivalente no FLD em fluxo contínuo. Entretanto, os horários de coleta foram diferentes em cada um dos filtros devido às suas diferentes taxas de filtração. No FLD em fluxo intermitente a coleta se iniciou ± 12 h e durou até ± 15 h, já a coleta do FLD em fluxo contínuo foi de ± 12 h até ± 18 h.

Alguns problemas inviabilizaram a contagem dos (oo)cistos nesta primeira análise, tais como: i) possível aderência dos (oo)cistos no recipiente de plástico; ii) a concentração das amostras gerou um *pellet* de $\pm 7,5$ mL (Figura 28b); iii) o *pellet* era denso e inviabilizava o contato dos reagentes do *kit* Merifluor® e montagem das lâminas (Figura 28c). Devido a esses problemas relatados, a coleta das águas filtradas para análise dos (oo)cistos de protozoários teve que ser modificada.

As outras cinco quantificações de (oo)cistos de protozoários nas águas filtradas foram realizadas em béqueres de vidro de 1L. Entretanto, o procedimento laboratorial com 15 béqueres para cada FLD era totalmente inviável. Por isso, optou-se por coletar apenas três amostras pontuais de 1L ao longo de cada operação.

Para fins de comparação, foram analisados os volumes referentes à primeira, a intermediária e a última amostra de cada filtro. A coleta do FLD em fluxo contínuo durou em torno de 6 horas (12h até as 18h), por isso foi coletado e analisado o volume de água filtrada às 12h, 15h e 18h. A coleta do FLD em fluxo intermitente durou em torno de 4 horas (12h até as 15h), como a taxa de filtração era decrescente, foi coletado e analisado o volume de água filtrada às 12h, 13:30 e 15h.

Figura 28 - Problemas relacionados à FCCa em 15L de amostra filtrada

Legenda: A – Caixa organizadora de plástico utilizada para coleta; B – *Pellet* da água filtrada do FLD em fluxo intermitente e em fluxo contínuo, respectivamente; C – Problemas na montagem das lâminas

4.7.4 Manutenção dos FLDs

A manutenção dos FLDs foi realizada quando a taxa de filtração apresentava decaimento significativo em relação ao valor inicial ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$ no FLD em fluxo contínuo e $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$ no FLD em fluxo intermitente). Quando atingida a carreira de filtração, três procedimentos simples de manutenção foram realizados, sendo eles: i) raspagem da manta para avaliação dos principais microrganismos atuantes no *schmutzdecke*, ii) limpeza da manta com a água do poço da EESC/USP e iii) drenagem das impurezas com auxílio de um pano. Optou-se por não realizar a descompactação manual da camada de areia para preservar a camada biológica formada no topo da areia.

4.7.4.1 Avaliação dos principais microrganismos atuantes no *schmutzdecke*

Uma das etapas de manutenção dos FLDs consistia na limpeza da manta feltro que ficava posicionada no topo da camada filtrante (Figura 29a). Com muita cautela, a manta era retirada do filtro e, com auxílio de uma espátula, a camada biológica formada era “raspada” e armazenada em um béquer para que as partículas sedimentassem. Esse processo se repetiu diversas vezes visando o maior aproveitamento da camada biológica. Em seguida, a manta

era limpa com água do poço da EESC/USP e retornada ao filtro para que se iniciasse novamente a operação.

Duas avaliações da camada biológica foram feitas em cada um dos FLDs, sendo a primeira quando houve um significativo decaimento da taxa de filtração e a segunda no final da operação dos filtros.

Inicialmente, foi preparado o ágar (RM 026 da Himedia®) a 4% para preservar a camada biológica e fixar os microrganismos. A solução foi incubada a 121°C durante 15 minutos em tubos de vidros e em seguida preservados em geladeira. Em função da periodicidade dos ensaios, os tubos eram retirados na geladeira e aquecidos em forno micro-ondas para transformação do estado sólido para líquido.

Para o preparo da lâmina, foram adicionados, por uma pipeta *Pasteur*, ± 1 mL da solução de ágar líquida. Com cautela, o ágar era distribuído sob a lâmina para que formasse uma camada de 1,5x1,5cm (tamanho aproximado de uma lamínula). O tempo necessário para que a solução secasse foi aguardado. Com o auxílio de outra pipeta *Pasteur*, ± 1 mL do sedimento retirado da manta feltro eram adicionados sob a camada de ágar e, em seguida, uma lamínula era colocada sob o sedimento. Após aproximadamente 30 minutos, a lâmina estava seca e pronta para a leitura em microscópio (Figura 29b).

Figura 29 - Procedimentos para avaliação dos microrganismos atuantes na camada biológica

Legenda: A – Manta feltro após a operação dos filtros; B – Lâmina para a avaliação dos principais microrganismos atuantes no *schmutzdecke*.

Os microrganismos foram analisados utilizando o equipamento Olympus® BX51 em campo claro. Diversas imagens com aumento de 100x, 200x e 400x foram obtidas para posterior identificação dos microrganismos atuantes em cada uma das amostras. A identificação e predominância dos principais microrganismos foram ponderados em função do tempo e do tipo de operação dos FLDs.

A identificação dos organismos foi realizada pela Dra. Sandra Yamashiro do Laboratório de Protozoologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, especificamente inserida no grupo de pesquisa da Profa. Regina Maura Bueno Franco.

4.7.4.2 Avaliação da estrutura física da manta feltro

As mantas de feltro posicionadas no topo da camada filtrante nos FLDs em fluxo contínuo e intermitente foram analisadas em função das fotomicrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV). A avaliação foi feita com as mantas antes e depois da operação dos FLDs. Vale ressaltar que a análise após a operação foi realizada depois da raspagem e retirada da camada biológica. As fotomicrografias de MEV foram obtidas com aumento de 100x, 500x, 1000x e 3000x para analisar a estrutura física e a colmatção da manta em detrimento das impurezas da água clarificada.

As fotomicrografias de MEV foram obtidas na Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos (CAQI/IQSC/USP) em um equipamento ZEISS LEO 440 (*Cambridge, England*) com detector OXFORD (model 7060), operando com feixe de elétrons de 20kV, corrente de 2,82A e I probe de 200pA. As amostras foram recobertas com 6nm de ouro em um metalizador Coating System BAL-TEC MED 020 (BAL-TEC, Liechtenstein) e mantidas em dessecador até o momento de análise. As condições de metalização foram: pressão na câmara igual a $2,00 \times 10^{-2}$ mbar; corrente de 60mA e taxa de deposição de 0,60nm/s.

4.8 ENSAIOS DE DESINFECÇÃO

Para testar o potencial de desinfecção das três formas de desinfetantes alternativos (duas da *Luffa cylindrica* e uma do *Hibiscus esculentus*), escolheu-se como indicador a inativação de *Escherichia coli*. Além desse parâmetro, foram ponderados os valores de turbidez, cor aparente, cor verdadeira, temperatura, carbono total e carbono inorgânico, os quais seguiram procedimentos indicados em APHA, AWWA, WEF (2012). O desinfetante com a maior inativação de *Escherichia coli* foi testado com relação à inativação de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., que foram quantificados pelo método de concentração de FCCa desenvolvido por Vesey *et al* (1993), modificado por Feng *et al* (2011) e adaptado por Giglio (2015).

4.8.1 Preparação dos desinfetantes alternativos

O quiabo (*Hibiscus esculentus*) foi coletado na região de São Carlos/SP e o extrato do fruto foi testado como desinfetante alternativo, conforme descrito por Carvalho *et al* (2011). Os frutos foram lavados com água corrente, cortados em rodelas de $\pm 0,5\text{cm}$ e imersos em água destilada por 12h. O extrato do polissacarídeo foi separado dos sólidos por peneiramento e os sólidos retidos descartados. Maiores detalhes sobre os procedimentos de preparo do desinfetante alternativo estão na Figura 30.

O extrato do fruto do *Hibiscus esculentus* foi armazenado em geladeira. Na preparação do extrato, os sólidos totais e voláteis foram quantificados para estimar a quantidade de *Hibiscus esculentus* presente no líquido que foi efetivamente dosado.

Figura 30 - Preparação do *Hibiscus esculentus* como desinfetante alternativo

Legenda: A – *Hibiscus esculentus* após a colheita; B – Retirada das extremidades; C – Fruto cortado em pedaços de $\pm 0,5\text{cm}$; D – Imersos em água destilada por 24h e E – Separação do extrato de polissacarídeos por peneiramento.

A bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) foi coletada em uma região de São Carlos/SP e o extrato das sementes e o pó das folhas foram testados como desinfetantes alternativos.

As folhas da bucha vegetal permaneceram em estufa a 60°C por 24h. O material seco foi triturado em um processador de alimentos e peneirado com peneira de 300 µm, o material retido foi descartado. O pó resultante foi testado como desinfetante alternativo. Os sólidos totais e voláteis foram quantificados para estimar a quantidade de *Luffa cylindrica* dosada. Maiores detalhes sobre os procedimentos de preparo do desinfetante alternativo estão na Figura 31.

Figura 31 - Preparação da folha da *Luffa cylindrica* como desinfetante alternativo

Legenda: A – Folhas da *Luffa cylindrica* após a colheita; B – Após 24h em estufa a 60°C; C – Peneiramento em peneira de 300µm; D – Folhas da *Luffa cylindrica* em pó.

As sementes foram retiradas da *Luffa cylindrica* seca, trituradas em um processador de alimentos e, em seguida, fervidas em 1L de água destilada por 10 minutos. A suspensão resultante foi filtrada em filtro de papel usado para coar café. O clarificado obtido foi armazenado em geladeira e testado como desinfetante alternativo. Os sólidos totais e voláteis foram quantificados para estimar a quantidade de *Luffa cylindrica* dosada. Maiores detalhes sobre os procedimentos de preparo do desinfetante alternativo estão apresentados na Figura 32.

Figura 32 - Preparação das sementes da *Luffa cylindrica* como desinfetante alternativo

Legenda: A – *Luffa cylindrica* após a colheita; B – Retirada das sementes; C – Sementes trituradas em um processador de alimentos; D – Solução fervida por 10 minutos.

4.8.2 Estudo do desempenho em laboratório

Os ensaios de desinfecção foram realizados em erlenmeyers de 500 mL com amostras de 250 mL. A água de estudo para os ensaios foi uma mistura de água do poço da EESC/USP, com as soluções alcalinizantes ou acidificantes necessários para corrigir o pH ao volume desejado e a cultura de *Escherichia coli* visando obter quantidade de $\pm 1 \times 10^3$ NMP/100mL.

Inicialmente, um volume de 50 μ L da cultura de *E. coli* foi transferido para um béquer contendo 2L de água destilada. Essa mistura foi mantida sob agitação magnética por 30 minutos. Após a mistura, 2,5 mL da solução foi transferido para cada erlenmeyer, visando obter quantidade de $\pm 1 \times 10^3$ UFC/100mL em cada frasco. Os ensaios foram feitos em triplicata como exposto na Figura 33. Após esse pré-preparo, os jarros estavam prontos para o início do ensaio de desinfecção.

Figura 33 - Procedimentos iniciais para o ensaio de desinfecção

As definições das dosagens basearam-se em três itens: i) elevação da cor aparente da água tratada, por reconhecer a possibilidade de sua rejeição pela população; ii) resultados encontrados por Shaheed *et al* (2009); e iii) baixa produção do extrato das sementes da bucha vegetal, devido à sua pequena quantidade em cada fruto. Seguindo essas diretrizes, foram definidas as dosagens de 1, 25 e 50 g/L para o extrato do quiabo; 100, 250 e 1000 mg/L para o pó das folhas; e 1 g/L para o extrato das sementes. Algumas informações sobre os desinfetantes alternativos estão expostas na Tabela 7.

Tabela 7 - Definição das dosagens para cada um dos desinfetantes alternativos

Desinfetante	Modo de preparo	Concentração do desinfetante (g/L)	Volume dosado (mL)	Massa dosada (g)
<i>Hibiscus esculentus</i>	Extrato do fruto	500	0,50	-
			12,5	
			25,0	
<i>Luffa cylindrica</i>	Pó das folhas	-	-	0,10
				0,25
				1,00
	Extrato das sementes	200	1,25	-

A mistura foi mantida sob agitação na incubadora refrigerada (*Shaker*) com rotação em torno de 60 rpm com temperatura constante a 25°C. Após a homogeneização, o tempo de

contato era contabilizado. O extrato do quiabo e o pó das folhas da bucha vegetal foram testados em três tempos de contato (5, 30 e 60 minutos) e o extrato das sementes em dois tempos (5 e 60 minutos). A ausência do tempo de 30 minutos nos ensaios com as sementes foi devido à baixa produção do extrato do desinfetante.

A Tabela 8 mostra as diferentes combinações de dosagem, pH e tempo de contato para cada um dos desinfetantes. Para melhor exemplificar, foram feitos ensaios com o extrato do fruto do *Hibiscus esculentus* em pH ± 4 , com dosagem de 1 g/L durante o tempo de contato de 5, 30 e 60 minutos. O ensaio seguinte se manteve com dosagem de 1 g/L, entretanto com mudança de pH para próximo de 7, durante os mesmos tempos de contato de 5, 30 e 60 minutos. Essa sequência se manteve para todos os ensaios.

Tabela 8 - Ensaios de desinfecção em diferentes condições para um dos desinfetantes alternativos

Desinfetante	Modo de preparo	Dosagens (g/L)	pH	Tempos de contato (min)
<i>Hibiscus esculentus</i>	Extrato do fruto	1	± 4	5
		25	± 7	30
		50	± 10	60
<i>Luffa cylindrica</i>	Pó das folhas	0,10	± 4	5
		0,25	± 7	30
		1,00	± 10	60
	Extrato das sementes	1	± 7	5
				60

Após os ensaios de desinfecção, os valores de turbidez, cor aparente, cor verdadeira, temperatura, pH, carbono total, carbono inorgânico e *Escherichia coli*, foram ponderados segundo procedimentos indicados em APHA, AWWA, WEF (2012). O melhor resultado em relação ao tipo de extrato, dosagem, pH e tempo de contato foi testado em relação à inativação de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

O potencial de inativação de (oo)cistos de protozoários foi avaliado, em triplicata, em béquers de 1L. Esse volume para análise de desinfecção foi alterado de 250 mL para 1L devido ao método de qualidade de FCCa. Após a concentração e o preparo das lâminas, os protozoários eram contados, em triplicata, poço a poço utilizando os filtros FITC, DAPI, IP e DIC conforme as recomendações do Método 1623.1 (USEPA, 2012). Entretanto, a prioridade dessa etapa foi analisar a viabilidade dos (oo)cistos após a desinfecção utilizando o iodeto de propídio.

4.9 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS AGUDOS

Ensaio toxicológico utilizando organismos-testes (larvas do inseto *Chironomus xanthus*) foram realizados a fim de garantir a segurança das águas bruta, clarificada e filtrada. Os ensaios avaliaram os possíveis efeitos agudos ocasionados pelo PVC do corpo do filtro e o uso do coagulante natural utilizado como pré-tratamento ao FLD.

As criações das larvas de *Chironomus xanthus* foram realizadas conforme métodos de manutenção de Fonseca (1997). As condições do ensaio foram iguais às de cultivo, com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 22-26°C. O procedimento adotado com a espécie foi o estabelecido por Strixino e Strixino (1982) e Fonseca (1997).

Os ensaios agudos atenderam as indicações de Novelli (2010). Neste caso, foram montadas quatro réplicas em recipientes de polipropileno não tóxicos, sendo três com a solução teste (referente à água a ser avaliada) e uma com a solução controle (branco) de água destilada. Em cada recipiente foram adicionados 200mL da solução referente e 6 larvas de IV instar. As larvas foram alimentadas com 30 mL de solução contendo 1,0L de água destilada e 5g de ração para peixe triturada (tipo *Tetramin*®) de acordo com o procedimento de Dornfeld (2006). As réplicas foram mantidas sem aeração por 96h, desde o início do teste.

Este procedimento foi realizado utilizando como solução teste a água bruta, a água clarificada após o uso do coagulante natural (*Opuntia cochenillifera*) e as águas nas saídas dos filtros contínuo e intermitente. Os resultados dos bioensaios agudos foram expressos em CL_{50} e CE_{50} para averiguar a existência de alguma toxicidade ao longo do tratamento.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após a obtenção dos resultados, foram aplicados testes de hipótese F pelo quadro ANOVA para avaliar se a diferença entre os parâmetros avaliados é significativa ao nível de 5% de significância. Estas análises estatísticas foram avaliadas com auxílio da função ANOVA com fator único do software Excel®.

A função do teste no Excel® fornecia valores de F calculado e F tabelado. Caso o F calculado fosse maior que F tabelado, era rejeitada a hipótese de que as médias das amostras eram iguais, portanto, havia evidências de que as amostras eram diferentes em um nível de significância de 5%. Essa análise estatística foi aplicada a diversos itens ao longo do presente estudo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CONSTRUÇÃO DO FILTRO LENTO EM ESCALA DOMICILIAR

Dois filtros lentos em escala domiciliar operados em fluxo contínuo e intermitente foram construídos de maneira rápida e relativamente simples. Estima-se que para a montagem dos filtros (tampa, corpo do filtro e tubo de saída) bem como os sistemas de alimentação foram gastos cerca de um dia utilizando o trabalho de três pessoas.

A facilidade para aquisição das peças e materiais também foi outro ponto de destaque dos filtros lentos em escala domiciliar. Os materiais utilizados eram facilmente encontrados em estabelecimentos de materiais de construção e materiais hidráulico-sanitários. Este ponto de destaque facilita tanto a construção quanto a reposição das peças que eventualmente sejam danificadas ao longo da operação dos filtros.

5.1.1 Consumo de água para lavagem dos materiais filtrantes

O consumo de água para a lavagem dos materiais filtrantes foi outro ponto analisado no trabalho. Este item visou avaliar a dificuldade que a população enfrentaria caso fosse necessário preparar os materiais filtrantes no local, principalmente se a região apresentasse escassez de recurso hídrico. Os resultados desta etapa estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Consumo de água e turbidez das águas da primeira e da última lavagem

Material	Consumo de água por kg de material (L/kg)	Turbidez (uT)	
		Água da primeira lavagem	Água da última lavagem
Areia fina	50	2012	17
Areia grossa	20	988	10
Pedregulho fino*	8	25	6
Pedregulho grosso	14	54	7

* O pedregulho fino foi comprado em loja de aquário e estava previamente limpo.

Em cada filtro foram utilizados, em massa seca, aproximadamente 42 kg de areia fina, 4 kg de areia grossa, 4 kg de pedregulho fino e 5 kg de pedregulho grosso, o que levou a um consumo total de água, por filtro, de 2282 L. Deste total consumido, 2100 L foram usados exclusivamente para a lavagem da areia fina, representando 92% do consumo.

O consumo de quase 2300 L de água pode ser considerado um problema para a transferência da tecnologia em comunidades carentes em relação à disponibilidade do recurso

hídrico. Para contornar este problema, os materiais filtrantes podem ser previamente preparados por órgãos competentes e distribuídos à população beneficiada. Este fato além de economizar recurso hídrico, também fornece material filtrante com um rigor de limpeza necessário à operação dos filtros.

5.1.2 Distribuição granulométrica

Os ensaios granulométricos das areias fina e grossa de construção civil foram realizados para garantir que os materiais filtrantes, previamente limpos e peneirados, estavam de acordo com as recomendações de CAWST (2010) para a filtração lenta. Estes ensaios seguiram os procedimentos da NBR 11799 (1990) para a construção das curvas de distribuição granulométrica expostas na Figura 34.

Figura 34 - Curvas granulométricas para a areia fina e grossa de construção civil

A análise das curvas granulométricas permitiu determinar o D_{10} e o D_{60} correspondentes às aberturas das peneiras em que 10% e 60% da massa das areias passavam. Os valores de D_{10} determinados pelas curvas granulométricas das areias fina e grossa de construção civil foram iguais a 0,15mm e 0,18mm, respectivamente. Esses

resultados estão dentro do intervalo (0,15 a 0,20 mm) recomendado por CAWST (2010) para filtros lentos em escala domiciliar (FLD).

O grau de uniformidade do material filtrante representado pelo coeficiente de uniformidade (CU) pode ser estimado pela relação entre os diâmetros determinados na curva granulométrica ($CU = D_{60}/D_{10}$). Os coeficientes calculados para as areias com granulometria fina e grossa foram iguais a 1,68 e 2,64, respectivamente. A uniformidade da areia fina está dentro do intervalo recomendado por CAWST (2010) para o meio filtrante de FLDs (1,5 a 2,5) e não existe recomendação para a areia grossa, contudo, a desuniformidade do leito é importante para evitar a penetração das impurezas por ação de profundidade (DI BERNARDO, SABOGAL PAZ, 2008).

Neste contexto, os materiais de fácil acesso originados da construção civil (areia fina e grossa) são considerados atrativos como meios filtrantes em filtros lentos em escala domiciliar e podem ser uma alternativa em locais com escassez de recursos como as comunidades isoladas. Por isso, neste estudo, foram utilizados os materiais de construção civil como meio filtrante nos dois filtros lentos em escala domiciliar.

5.2 PREPARAÇÃO DA ÁGUA DE ESTUDO COM ALTO RISCO MICROBIOLÓGICO

5.2.1 Preparo da água de estudo sem risco microbiológico

A Tabela 10 apresenta os resultados obtidos na caracterização físico e química da água do poço da EESC/USP.

Tabela 10 – Caracterização físico-química da água do poço da EESC/USP

Variáveis	Valor	Unidade
pH	6,18	-
Temperatura	23	°C
Turbidez	0,72	uT
Cor aparente	0,0	uH
Condutividade elétrica	50,4	$\mu\text{S.cm}^{-1}$

Os resultados obtidos para determinar a relação de massa de caulinita por volume de água do poço para que a turbidez desejada (± 100 uT) fosse atingida estão na Tabela 11.

Tabela 11 - Turbidez obtida após a adição de caulinita

Concentração de caulinita (g.L ⁻¹)	Análise da turbidez nas réplicas (uT)			Média da turbidez ± desvio padrão (uT)
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	
0,10	54,6	45,9	44,8	48,4 ± 4,38
0,16	67,0	65,6	64,0	65,5 ± 1,23
0,19	84,8	79,9	59,4	74,7 ± 11,0
0,20	106	81,6	94,8	94,1 ± 9,97
0,21	112	88,5	112	104 ± 11,1
0,22	110	94,6	113	106 ± 8,06
0,24	155	139	120	138 ± 14,3
0,26	186	137	127	150 ± 25,8
0,28	194	159	155	169 ± 17,5

A concentração de caulinita de 0,20 g.L⁻¹ foi selecionada para preparar a água de estudo, uma vez que proporciona valores de turbidez próximas às desejadas (± 100 uT).

Semelhante à caulinita, ensaios foram realizados para determinar a relação de massa de ácido húmico por volume de água do poço para que a cor verdadeira desejada (± 30 uH) fosse atingida. Neste caso, uma solução mãe de ácido húmico foi preparada com concentração de $\pm 1,0$ g.L⁻¹. Os valores medidos de cor aparente e verdadeira da solução mãe foram de 126 e 123 uH, respectivamente. Como a solução tinha valores de cor acima do desejado, diluições foram necessárias em 1,0 L de água do poço. A diluição de 3 mL da solução mãe em 1,0 L de água do poço (0,003 g.L⁻¹) teve os resultados mais próximos de cor verdadeira (30 uH). Detalhes sobre a diluição estão na Tabela 12.

Tabela 12 - Cor verdadeira e cor aparente obtidas após a adição de ácido húmico (0,003 g. L⁻¹)

Parâmetro	Cor (uH)			Média ± desvio padrão (uH)
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	
Cor verdadeira	29,4	31,7	26,0	29,0 ± 2,86
Cor aparente	33,9	38,6	32,6	35,0 ± 3,16

5.2.1.1 Preparo da água de estudo mediante homogeneização em jarreste

Os resultados obtidos no preparo da água de estudo sob agitação de 200 rpm por 30 minutos no Jarreste estão na Tabela 13.

Tabela 13 – Características da água de estudo mediante homogeneização no Jarteste

Parâmetro	Valores			Média	Desvio padrão
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3		
Cor verdadeira (uH)	29,2	34,2	30,2	31,2	2,83
Cor aparente (uH)	138	127	131	132	5,57
Turbidez (uT)	111	105	95,1	103,7	8,03

A água de estudo preparada somente com caulinita atingiu valor de turbidez de $94,1 \pm 9,97$ uT (Tabela 3). Ao adicionar o ácido húmico à mistura, a turbidez aumentou para $103,7 \pm 8,03$ uT. Mesmo com esse incremento relacionado à influência sinérgica dos dois reagentes, os valores de turbidez e cor verdadeira ainda foram próximos aos desejados (± 100 uT e ± 30 uH, respectivamente).

5.2.1.2 Preparo da água de estudo mediante homogeneização em agitador mecanizado

Em função da pequena quantidade de água produzida no equipamento Jarteste (12 litros, sendo 2 L por jarro), o preparo da água de estudo foi transferido para um reservatório de 200 L sob homogeneização de um misturador mecânico. A rotação do misturador foi calculada (Equação 4) de modo que o gradiente de velocidade fosse o mesmo do Jarteste e, consequentemente, produzisse água com a mesma qualidade.

A Tabela 14 apresenta os valores utilizados para calcular a rotação do misturador. O gradiente de velocidade foi o mesmo aplicado no Jarteste (335 s^{-1}), o coeficiente da hélice extraído de Di Bernardo, Dantas e Voltan (2011), a viscosidade absoluta e massa específica da água em 25°C foi adotado da literatura, o volume do reservatório e o diâmetro do rotor foram medidos.

Tabela 14 – Valores dos parâmetros que influenciaram o gradiente de velocidade.

Parâmetro	Variável	Valor	Unidade
Gradiente de velocidade	Gr	335	s^{-1}
Coeficiente do tipo de hélice	K_{tb}	1,10	-
Viscosidade absoluta da água	μ	$8,94 \cdot 10^{-4}$	Ns/m^2
Volume	V	0,200	m^3
Massa específica da água	ρ_a	997,1	kg/m^3
Diâmetro do rotor	D_{tb}	0,125	M

Com a Equação 1, a rotação do misturador calculada foi de 8,35 rps, o que equivale a aproximadamente 500 rpm. Essa rotação foi aplicada por 30 min no reservatório para mistura

de caulinita e ácido húmico à água do poço. Após este período, foi realizada a leitura dos valores de turbidez, cor verdadeira e aparente.

Tabela 15 – Características da água de estudo com agitação por misturador mecanizado

Parâmetro	Valores			Média	Desvio padrão
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3		
Cor verdadeira (uH)	24,3	23,8	22,7	23,6	0,82
Cor aparente (uH)	141	143	130	138	7,00
Turbidez (uT)	107	93,8	92,0	97,6	8,19

Os resultados apresentados na Tabela 15 mostram que a água de estudo preparada no misturador mecânico permaneceu com os valores de turbidez e cor verdadeira próximos aos desejados, assim como a água preparada no Jarteste. Dessa forma, a homogeneização mecânica foi selecionada para a produção da água de estudo.

5.2.2 Preparo da água de estudo com *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* era adicionada na água de estudo diretamente no reservatório de 200 L ainda sob agitação de 500 rpm. O volume acrescentado de *E. coli* era determinado em função da concentração de cada cultura reativada. Ao longo da pesquisa foram utilizadas sete culturas de *E. coli* e o volume inoculado de cada uma, para que a água de estudo sempre tivesse concentração de $\pm 1 \times 10^3$ NMP/100mL, está na Tabela 16.

Tabela 16 – Preparo da água de estudo com *Escherichia coli*

Cultura	Volume (µL)	Diluição (µL:L)	Concentração (UFC/100 mL)
1	50	50 : 10	2100
2	100	100 : 10	1400
3	50	50 : 10	2000
4	30	30 : 10	1600
5	50	50 : 20	3400
6	50	50 : 30	1600
7	50	50 : 30	750

5.2.3 Preparo da água de estudo com (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

A contagem dos (oo)cistos foi realizada, em triplicata, poço a poço. Nas alíquotas de 15 µL da suspensão da Waterborne e 5 µL da suspensão da UNICAMP, encontrou-se em média 726 (± 38) oocistos e 436 (± 171) cistos, como mostra a Tabela 17. Como o número de (oo)cistos estava próximo ao desejado, foram inoculados os mesmos volumes nos ensaios subsequentes. Pelos resultados da Tabela 17, aproximadamente 61% dos cistos e 57% dos oocistos foram corados pelo IP.

Tabela 17 - Resultado da contagem em triplicata das suspensões de *Giardia* spp. (5 µL) e *Cryptosporidium* spp. (15 µL) para posterior inoculo.

Suspensões	Poço da lâmina	Alíquota (µL)	Contagem de (oo)cistos	
			Corados	Não Corados
<i>Giardia</i> spp. ¹	1	5	407	226
	2		186	143
	3		206	141
	Média de <i>Giardia</i> spp. ± DP		266 ± 122 ± 46	170 ± 49 ± 29
	± CV (%)		436 ± 171 ± 39	
<i>Cryptosporidium</i> spp. ²	1	15	399	371
	2		373	328
	3		466	241
	Média de <i>Cryptosporidium</i> spp. ± DP ± CV (%)		413 ± 48 ± 12	313 ± 66 ± 21
			726 ± 38 ± 5	

¹ adquirida da UNICAMP, ² adquirida da Waterborne – EUA; CV: coeficiente de variação; DP: desvio padrão.

A contagem dos (oo)cistos foi baseada na metodologia descrita no item 4.3.4.1. Entretanto, ao aplicar duas gotas do corante fluorogênico vital DAPI sob a lâmina e deixadas agir por 15 minutos, os (oo)cistos de *Giardia* e *Cryptosporidium* eram totalmente corados e isto dificultava a visualização dos núcleos das formas encistadas. Devido à esta dificuldade relatada, foi variado o tempo de incubação do DAPI entre 5, 10 e 15 minutos para observar se diferentes tempos forneciam lâminas com melhor qualidade para visualização dos núcleos.

Como observado na Tabela 18, as lâminas preparadas com tempos de incubação do DAPI de 5, 10 e 15 minutos forneceram condições próximas para visualização dos núcleos, sendo a melhor condição em 10 minutos. Esta otimização do tempo de incubação permitiu uma melhoria na visualização dos núcleos de 49,2% ($\pm 2,21$) para 55,0% ($\pm 2,60$). Por isto, nas próximas preparações das lâminas com (oo)cistos foi utilizado o tempo de 10 minutos.

Tabela 18 – Otimização do tempo de incubação do DAPI (4'6'-diamidino-2-phenylindol) para melhor visualização dos núcleos nos cistos de *Giardia* spp.

Suspensão	Tempo de incubação do DAPI (min)	5			10			15		
	Réplicas	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>Giardia</i> spp. ¹	Cistos com núcleos visíveis	178	164	182	204	197	196	207	183	167
	Cistos com núcleos não visíveis	241	218	257	180	143	168	194	204	176
	Contagem total dos cistos	419	382	439	384	340	364	401	387	343
	% de cistos com núcleos visíveis	42,5	42,9	41,5	53,1	57,9	53,8	51,6	47,3	48,7
	% média de cistos com núcleos visíveis $\pm$ DP	42,3 $\pm$ 0,76			55,0 $\pm$ 2,60			49,2 $\pm$ 2,21		

¹ adquirida da UNICAMP; DP: desvio padrão.

Na Figura 35 há imagens dos (oo)cistos, após a otimização do tempo de incubação do DAPI, através dos quatro filtros de identificação: a) FITC: isotiocianato de fluoresceína, b) DAPI: 4'6'-diamidino-2-phenylindol, c) IP: iodeto de propídio, e d) DIC: contraste interferencial diferencial.

Figura 35 – Oocisto de *Cryptosporidium* spp. e cisto de *Giardia* spp., respectivamente, nos quatro filtros de identificação: A) FITC, B) DAPI, C) IP e D) DIC (aumento de 400x).

5.3 CARATERIZAÇÃO DO ESCOAMENTO NOS FILTROS

Os escoamentos dos filtros de laboratório em acrílico (FLAs) e os filtros lentos em escala domiciliar (FLDs) foram avaliados em triplicata. Em cada um dos filtros foram realizados ensaios em fluxo contínuo e em fluxo intermitente.

5.3.1 Caracterização do escoamento em sistemas com escoamento contínuo

5.3.1.1 Perturbação do tipo pulso e degrau nos filtros de laboratório em acrílico (FLA)

As injeções do cloreto de sódio em tipo pulso e degrau foram aplicados nos FLAs com escoamento contínuo em uma taxa de $1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$. As curvas de concentração de saída do traçador em função do tempo dadas pela sonda de condutividade (Figuras 36a e 36b), também chamadas de curvas DTR, forneceram informações sobre o tempo médio de residência (ou tempo de detenção hidráulica) de um elemento fluido dentro do filtro.

Os tempos médios de residência obtidos para as injeções tipo pulso e degrau foram de $192 (\pm 6) \text{ min}$ e $322 (\pm 16) \text{ min}$, respectivamente. Essa diferença de aproximadamente 2,2 horas entre as injeções remetem a alta difusão do NaCl nos 13 cm de lâmina d'água no FLA causada pelo pulso. Essa alta difusão faz com que o traçador atinja a superfície da camada filtrante em segundos e adiante a saída do traçador.

Figura 36 – Curvas DTR (distribuição do tempo de residência), em triplicata, para os filtros de laboratório em acrílico em fluxo contínuo, sendo a) injeção tipo pulso e b) injeção tipo degrau.

As curvas DTR (Figura 36a e 36b) adimensionalizadas em função de $E\theta$ e θ (Figura 37a e 37b), também chamadas de curvas E, podem ser ajustadas aos modelos hidrodinâmicos uniparamétricos baseados na idealidade, como o modelo N-CSTR e os

modelos de pequena e grande dispersão. Esse ajuste permite determinar a proximidade do escoamento no FLA com os ideais pistonado e mistura completa.

Figura 37 – Curva E (distribuição do tempo de residência adimensional), em triplicata, para os filtros de laboratório em acrílico em fluxo contínuo, sendo a) injeção tipo pulso e b) injeção tipo degrau.

Os picos da curva E obtidas pela injeção tipo degrau (Figura 37b) estão relacionados aos procedimentos de diferenciação da curva F (concentração máxima em função da concentração pontual). Esses picos são eventos que inevitavelmente podem acontecer no tratamento dos dados em um sistema degrau. Essa mesma explicação não pode ser aplicada ao pico causado no ensaio 3 da injeção tipo pulso (Figura 37a), já que não há o procedimento de diferenciação no tratamento dos dados. Neste caso, o pico pode estar relacionado ao procedimento de ajuste da vazão que, por ser baixa (0,25 mL/min), é sensível a mudanças. Em um desses ajustes, uma concentração pontual de traçador pode ter sido detectada pela sonda.

As variâncias adimensionais obtidas para as injeções tipo pulso e degrau foram de 0,050 ($\pm 0,008$) e 0,119 ($\pm 0,012$), respectivamente. Esses valores indicam que o ensaio com a injeção tipo pulso apresentou menor grau de dispersão do que o ensaio com tipo degrau, segundo recomendações de Fogler (2002), provavelmente devido à maior quantidade de erros ocasionado pela diferenciação da curva F. Essa hipótese pode ser analisada também em função da modelagem do escoamento baseado nos extremos de idealidade.

Figura 38 – Modelos hidrodinâmicos com base em extremos de idealidade de escoamento para o filtro de laboratório em acrílico em fluxo contínuo com injeção tipo pulso.

A modelagem do escoamento no FLA em fluxo contínuo com a injeção do traçador tipo pulso (Figura 38) mostra que o modelo que apresentou melhor ajuste ($0,96 \pm 0,01$), segundo a correlação de Pearson, foi o de N-CSTR. Esse sistema remete a 21 ± 4 números de reatores de mistura completa em série, que é uma realidade próxima à pistonada segundo Levenspiel (2000). O modelo de pequena dispersão teve correlação de Pearson ($0,95 \pm 0,01$) próxima à correlação do modelo N-CSTR e, visualmente, apresentou mais precisão na localização temporal e de magnitude dos picos de saída do traçador; entretanto, os picos do modelo de pequena dispersão sempre se iniciavam antes dos dados experimentais obtidos. Esse adiantamento pode ter sido significativo no cálculo da correlação.

A modelagem do escoamento no FLA em fluxo contínuo com a injeção do traçador tipo degrau (Figura 39) também mostrou um melhor ajuste ($0,81 \pm 0,11$), segundo a correlação de Pearson, em relação ao modelo N-CSTR. Entretanto, o ensaio com a injeção degrau teve $9 (\pm 1)$ reatores de mistura completa em série, valor menor do que o obtido para o ensaio com injeção tipo pulso. Esse resultado já era esperado baseado nas variâncias anteriormente citadas que indicaram um maior espalhamento do ensaio com injeção degrau do que o pulso em relação aos extremos ideais (FOGLER, 2002).

Figura 39 - Modelos hidrodinâmicos com base em extremos de idealidade de escoamento para o filtro de laboratório em acrílico em fluxo contínuo com injeção tipo degrau.

Dessa forma, a necessidade de diferenciação da curva F, nos ensaios com injeção degrau, causou maiores variâncias e menores correlações com os extremos de idealidade. Em contrapartida, o ensaio não causou adiantamento da curva DTR, como os ensaios com injeção tipo pulso. Esse adiantamento pode levar a erros cruciais de amostragem em ensaios que visam avaliar a eficiência do filtro. Por isso, a partir dos ensaios realizados nos FLAs, foi determinado que o filtro lento em escala domiciliar (FLD) em fluxo contínuo teria o escoamento avaliado somente com a perturbação tipo degrau.

5.3.1.2 Perturbação do tipo degrau no filtro lento em escala domiciliar (FLD)

O escoamento do FLD em fluxo contínuo foi avaliado através da perturbação tipo degrau. A curva de distribuição DTR e a curva adimensional E estão na Figura 40a e 40b. O tempo médio de residência do FLD foi de 350 (± 22) min e a variância adimensional da curva foi de 0,125 ($\pm 0,076$), valores semelhantes aos determinados pela curva DTR e E do FLA. Apesar da semelhança, a curva adimensional E do FLD não apresentou picos aleatórios causados pela diferenciação como no FLA.

Figura 40 – Curva C (distribuição do tempo de residência) e curva E (distribuição do tempo de residência adimensional), em triplicata, para o filtro lento em escala domiciliar em fluxo contínuo.

A modelagem do escoamento no FLD em fluxo contínuo com a injeção do traçador tipo degrau (Figura 41) mostra que o modelo que apresentou melhor ajuste, segundo a correlação de Pearson, também foi o de N-CSTR. Esse sistema remete a 11 ± 8 números de reatores de mistura completa em série, que é uma realidade próxima à pistonada, segundo Levenspiel (2000).

Figura 41 - Modelos hidrodinâmicos com base em extremos de idealidade de escoamento para o filtro lento em escala domiciliar em fluxo contínuo com injeção tipo degrau.

5.3.2 Caracterização do escoamento em sistemas com escoamento intermitente

A caracterização do escoamento em sistemas intermitentes não segue a mesma proposta dos sistemas contínuos, devido à independência desses ensaios com o tempo. Neste caso, a análise do escoamento é baseada no Índice de Dispersão de Morril modificado (mMDI) que correlaciona as saídas de 90% e 10% do traçador, como proposto por Tchobanoglous, Burton e Stensel (2003).

5.3.2.1 Perturbação do tipo pulso e degrau nos filtros de laboratório em acrílico (FLA)

As injeções do traçador em tipo pulso e degrau invertido foram aplicados nos FLAs com escoamento intermitente, seguindo a proposta de Young-Rojanschi e Madramootoo (2014). As curvas de concentração de saída do traçador em função do volume de vazios (Figura 42a e 42b) e as curvas de fração do traçador em função do volume de vazios (Figura 9c e 9d) forneceram informações para o cálculo do mMDI.

Figura 42 – Curva da concentração do traçador em função do volume de vazios com a injeção tipo pulso invertido (A) e degrau invertido (B) e curva da fração de saída do traçador com a injeção tipo pulso invertido (C) e degrau invertido (D) para os FLAs em fluxo intermitente.

As Figuras 42c e 42d mostram que o traçador demorou seis e nove alimentações, respectivamente, para sair completamente do filtro de laboratório. Esse fato pode estar relacionado a uma nova mistura proporcionada no recipiente que era colocada a sonda de condutividade. O volume do recipiente era de ± 20 mL, volume significativo perante o volume de alimentação do FLA (± 24 mL).

Os valores de mMDI para o FLA em fluxo intermitente com injeção tipo pulso e degrau foram 2,10 ($\pm 0,23$) e 1,58 ($\pm 0,04$), respectivamente. Os ensaios apresentaram escoamento próximo à idealidade pistonada, segundo metodologia proposta por Tchobanoglous, Burton e Stensel (2003); entretanto, a injeção tipo pulso apresentou uma maior dispersão devido à alta difusão do sal na lâmina d'água acima da superfície de areia e isso ocasionou no espalhamento das curvas de concentração do traçador em função do volume de vazios.

5.3.2.2 Perturbação do tipo degrau nos filtros lentos em escala domiciliar (FLD)

A injeção do traçador em tipo degrau invertido foi aplicada no FLD com escoamento intermitente, seguindo a proposta de Young-Rojanschi e Madramootoo (2014). As curvas de concentração de saída do traçador em função do volume de vazios (Figura 43a) e as curvas de fração do traçador em função do volume de vazios (Figura 43b) forneceram informações para o cálculo do mMDI.

Figura 43 – Curva da concentração de traçador em função do volume de vazios (A) e curva da fração de saída do traçador em função do volume de vazios (B) para o FLD em fluxo intermitente com a injeção tipo degrau invertido.

A Figura 43b mostra que 65% do volume acumulado do traçador tinham saído do filtro no final da segunda alimentação, 90% no final da terceira e os 10% finais saíram do filtro na quarta alimentação. Esses resultados remetem a um valor de mMDi igual a 1,50 ($\pm 0,04$),

próxima à realidade pistonada (TCHOBANOGLOUS, BURTON E STENSEL, 2003) e semelhante à caracterização do escoamento no FLA.

Young-Rojanschi e Madramootoo (2014) também avaliaram o escoamento de FLDs em fluxo intermitente utilizando o NaCl como traçador e obtiveram valor de mMDI igual a 1,8. Ao comparar os valores de mMDI de Young-Rojanschi e Madramootoo (2014) e do presente estudo, percebe-se que o FLD construído nesta pesquisa tem escoamento ainda mais próximo à realidade pistonada. Este resultado indica que a configuração do FLD adotado nesta pesquisa está mais propícia ao tratamento do que a configuração de Young-Rojanschi e Madramootoo (2014), devido à característica de escoamento mais próxima ao regime pistonado.

5.4 ENSAIOS DE TRATABILIDADE

5.4.1 Preparação e caracterização dos coagulantes naturais

Os cactos *O. cochenillifera* e *O. ficus indica* foram testados como coagulantes naturais. O preparo de 500 g de cladódios resultou em apenas 4% do coagulante em pó (± 20 g), essa baixa produção já era esperada devido à técnica de desidratação e ao alto teor de água no interior dos cladódios.

A técnica para o preparo dos coagulantes naturais em pó foi relativamente simples e pode ser desempenhada por qualquer pessoa, desde que haja os materiais necessários para o preparo. Em contrapartida, esta técnica requer o uso de estufa com a temperatura controlada e uma peneira com uma abertura específica; materiais inviáveis às realidades das comunidades isoladas. Por isso, caso apresente eficiência para a clarificação da água de estudo, estes coagulantes podem ser preparados por órgãos competentes e distribuídos à população beneficiada.

Em uma condição futura, esta técnica de desidratação para preparo do coagulante natural em pó pode ser adaptada às comunidades. Neste caso, a estufa comercial seria substituída por uma estufa com papel laminado utilizando a irradiação solar como fonte de energia e a peneira específica seria substituída por uma peneira fina comumente encontrada em comunidades isoladas como, por exemplo, a peneira de fubá.

5.4.1.1 Análise de sólidos totais, voláteis e fixos

Os sólidos totais, fixos e voláteis foram quantificados para estimar a quantidade de cacto efetivamente dosado nos ensaios de tratabilidade. Para a quantificação foram utilizados

os procedimentos indicados em APHA, AWWA, WEF (2012). Os resultados obtidos para *O. cochenillifera* e *O. ficus indica* estão na Figura 11.

Figura 44 - Determinação dos sólidos totais, voláteis e fixos para a *O. cochenillifera* e *O. ficus indica*

A *O. cochenillifera* apresentou teor de umidade semelhante a *O. ficus indica*, 6,82% e 4,61%, respectivamente. Esses valores foram obtidos pelo coeficiente angular da regressão linear entre a massa do cacto e os sólidos totais. Como o preparo dos dois coagulantes naturais em pó seguiram a mesma metodologia, era esperado que os teores de umidade fossem próximos. Diferente do teor de umidade, a quantidade de sólidos totais fixos e voláteis variou entre os cactos. A *O. cochenillifera* apresentou 16,45% de STF e 76,76% de STV, enquanto que a *O. ficus indica* apresentou 40,84% de STF e 57,76% de STV.

A diferença de 19% de sólidos totais voláteis entre os cactos pode ser significativa no processo de coagulação, pois indica uma maior quantidade de compostos orgânicos (TORRES, CARPINTEYRO-URBAN, VACA, 2012; BUSTILLOS, CARPINTEYRO-URBAN, OROZCO, 2013) com potencial de coagulação presentes na *O. cochenillifera* do que na *O. ficus indica*. Estas hipóteses foram confirmadas e otimizados em ensaios de tratabilidade.

A *O. ficus indica* também foi quantificada em função dos sólidos por Jigar *et al* (2011). Neste estudo, a composição dos cladódios *in natura* resultou em 14% de sólidos totais, deste total, 78% são sólidos voláteis. Como observado, a quantificação de Jigar *et al* (2011) para *O. ficus indica* foi semelhante à de *O. cochenillifera* do presente estudo. Esta diferença pode estar relacionada à composição dos cladódios da *Opuntia* spp. que variam, inevitavelmente, depende das propriedades do solo no local de cultivo, da estação e da idade da planta (RETAMAL, DURÁN, FERNÁNDEZ, 1987; RODRIGUEZ-FELIX, CANTWELL, 1988; STINTZING *et al*, 2005).

5.4.1.2 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

As análises de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier das duas espécies cactáceas (Figura 45) indicam a presença de semelhantes grupos funcionais nas duas amostras.

Figura 45 – Análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier para a *O. cochenillifera* e *O. ficus indica*.

A banda de vibração de estiramento em 1600 cm^{-1} é devida ao alongamento assimétrico da ligação dupla carboxílica dos grupos funcionais carboxilato desprotonados (FARINELLA, MATOS, ARRUDA, 2007). O pico em 1100 cm^{-1} é devido à vibração de alongamento (C-O) de cetonas, aldeídos ou grupos carbóxilos (CHANDRASEHKHAR, PRAMADA, 2006). A banda larga, forte e sobreposta em torno de 3600 a 3200 cm^{-1} pode ser devido ao excesso de rotação da vibração de estiramento de O-H e N-H. A banda a 2850 cm^{-1} é devido à vibração de alongamento simétrico de ($-\text{CH}_3$) de ácido alifáticos (LI *et al*, 2007). O pico observado a 1370 cm^{-1} reflete a vibrações de estiramento de grupos carboxílicos iônicos simétricos ou assimétricos ($-\text{COOH}$) de pectina (FARINELLA, MATOS, ARRUDA, 2007).

Os grupos funcionais identificados nas amostras de *O. cochenillifera* e *O. ficus indica* foram carboxilas, hidroxilos, aldeídos e cetonas. Além destes grupos funcionais, também foram observadas bandas na região da pectina (1370 cm^{-1}). As pectinas são uma família de complexos polissacarídeos ricos em ácido galacturônico (LIMBERG *et al*, 2000), composto orgânico com propriedades coagulantes (MCGARVIE, PAROLIS, 1979). A presença deste ácido nas espécies de *Opuntia* spp. indica um potencial de coagulação que pode ser confirmado em ensaios de tratabilidade.

5.4.1.3 Difratoograma de Raio-X

Os difratogramas para os cactos *O. cochenillifera* e *O. ficus indica* (Figura 46) indicam uma semelhança na composição de estruturas cristalinas.

Figura 46 – Difratoograma de Raio-X para a *O. cochenillifera* e *O. ficus indica*

A análise realizada com o software X'Pert HighScore indica a presença das seguintes estruturas cristalinas: oxalato de cálcio monohidratado (whewellite), carbonato de cálcio, sulfato de dextroanfetamina e cianeto de potássio. Como observado na Figura 46 pelas linhas amarelas, o cianeto de potássio (KCN) é uma estrutura cristalina presente somente na *O. ficus indica*. De acordo com Baeissa (2014), a presença do cianeto em certas plantas é um produto evolutivo que ocorre para impedir que os animais e insetos a consumam.

Um ponto que merece destaque é em relação à presença da substância sintética de sulfato de dextroanfetamina, indicada pelas linhas rosas. Por ser artificial, a presença desta substância nos cactos ainda é uma incógnita; entretanto, estima-se que o erro está associado ao baixo ângulo de difração ($\pm 6^\circ$). Nesses ângulos, a incidência do raio-x é espalhada pelo ar causando picos nem sempre condizentes com a realidade (GAAST *et al*, 1985). Para os casos em que é necessário avaliar as estruturas cristalinas em baixos ângulos, recomenda-se utilizar outra técnica de difração como o “espalhamento de Raio-X a baixo ângulo” (*small angle X-ray scattering*) reportado por Glatter e Kratky (1982).

Contreras-Padilla *et al* (2015) analisaram as difractometrias do cacto *Opuntia ficus indica* após o processo de incineração. A análise indicou a presença de oxalato de cálcio monohidratado, carbonato de cálcio, óxido de magnésio, bicarbonato de cálcio e magnésio, peroxidifosfato de potássio e fairchildite, composto formado durante o processo de incineração. Entretanto, somente o oxalato de cálcio monohidratado e o carbonato de cálcio foram detectados pela difratometria do presente estudo.

Segundo Alves *et al* (2008), os principais elementos encontrados nos cladódios da *Opuntia* spp. são cálcio, potássio, magnésio, sódio e pequenas quantidades de ferro e manganês, presentes na forma de carbonatos, cloretos, sulfatos, oxalatos e fosfatos. A proporção de cada elemento varia de acordo com o local de cultivo, a estação e a idade da planta (RETAMAL, DURÁN, FERNÁNDEZ, 1987; RODRIGUEZ-FELIX, CANTWELL, 1988; STINTZING *et al*, 2005). Por isso, provavelmente, no presente estudo, somente foram encontrados elementos com cálcio e potássio.

5.4.2 Diagramas de coagulação utilizando *Opuntia ficus indica* e *Opuntia cochenillifera*

Nos ensaios de tratabilidade foram pré-fixados os parâmetros de coagulação, floculação e sedimentação para a construção do diagrama de coagulação. Como ponto de partida foi considerado: i) gradiente de mistura rápida de 335 s^{-1} com tempo de 1,0 min; ii) gradiente de mistura lenta de 30 s^{-1} com tempos de 30 min; iii) velocidade de sedimentação de 1,0, 0,50 e 0,25 cm/min – conforme resultados obtidos por Diaz *et al* (1999), Miller *et al* (2008), Torres, Carpinteyro-Urban e Vaca (2012) e Bustillos, Carpinteyro-Urban e Orozco (2013).

Os diagramas de coagulação foram construídos em função da remoção de turbidez e cor aparente. As Figuras 47 e 48 equivalem aos diagramas de coagulação com *O. cochenillifera* para remoção de turbidez e cor aparente, respectivamente. Igualmente, as Figuras 49 e 50 representam os diagramas com *O. ficus indica* para remoção de turbidez e cor aparente, respectivamente.

Com os diagramas, condições ótimas de dosagem e pH de coagulação foram definidas para cada um dos coagulantes (*O. cochenillifera* e *O. ficus indica*). As áreas delimitadas pelas linhas pontilhadas representam, de forma aproximada, as regiões com menores valores remanescentes para turbidez e cor aparente.

Dois pontos “ótimos” de coagulação foram selecionados e estão indicados em cada um dos diagramas. Em um desses pontos foi necessário corrigir o pH da água de estudo, seja com alcalinizante ou acidificante, e o outro ponto foi com a água de estudo sem correção. A seta vermelha corresponde ao ponto “ótimo” para o tratamento com coagulante natural e alcalinizante, a seta verde indica o ponto “ótimo” para o tratamento com coagulante e acidificante, e a seta azul corresponde ao ponto “ótimo” para o tratamento somente com o coagulante, ou seja, sem necessidade de correção de pH. 7

Um dos pontos “ótimos” para remoção de turbidez e cor aparente utilizando a *O. cochenillifera* foi em pH próximo de 6,8, dosagem de 30 mg/L e velocidade de sedimentação de 0,25 cm/min. As remoções de turbidez e cor aparente neste ponto “ótimo” foram iguais a 96,2% e 77,4%, respectivamente, remetendo a valores remanescentes iguais a 4,44 uT e 31,9 uH. O outro ponto “ótimo” para *O. cochenillifera* foi em pH próximo de 11, dosagem de 100 mg/L e velocidade de sedimentação de 0,25 cm/min. As remoções de turbidez e cor aparente neste ponto “ótimo” foram iguais a 99% e 82,9%, respectivamente, correspondendo a valores remanescentes iguais a 1,2 uT e 25,6 uH.

Um dos pontos “ótimos” para remoção de turbidez e cor aparente utilizando a *O. ficus indica* foi em pH próximo de 6,9, dosagem de 100 mg/L e velocidade de sedimentação de 0,25 cm/min. As remoções de turbidez e cor aparente neste ponto “ótimo” foram iguais a 69,1% e 44,1%, respectivamente, resultando em valores remanescentes iguais a 36,1 uT e 80,5 uH. O outro ponto “ótimo” para *O. ficus indica* foi em pH próximo de 2,9, dosagem de 100 mg/L e velocidade de sedimentação de 0,25 cm/min. As remoções de turbidez e cor aparente neste ponto “ótimo” foram iguais a 88,7% e 78,8%, respectivamente, remetendo a valores remanescentes iguais a 10,9 uT e 27,6 uH.

Figura 47 – Diagramas de coagulação para remoção de turbidez: dosagem de *O. cochenillifera* entre 5 e 50 mg/L, mistura rápida de $GMr = 335 \text{ s}^{-1}$ e $TMr = 1 \text{ min}$, mistura lenta de $GMI = 30 \text{ s}^{-1}$ e $TMI = 30 \text{ min}$, e sedimentação de (a) $Vs = 1,0 \text{ cm/min}$, (b) $Vs = 0,5 \text{ cm/min}$ e (c) $Vs = 0,25 \text{ cm/min}$.

Figura 48 – Diagramas de coagulação para remoção de cor aparente: dosagem de *O. cochenillifera* entre 5 e 50 mg/L, mistura rápida de $GMr = 335 \text{ s}^{-1}$ e $TMr = 1 \text{ min}$, mistura lenta de $GMI = 30 \text{ s}^{-1}$ e $TMI = 30 \text{ min}$, e sedimentação de (a) $Vs = 1,0 \text{ cm/min}$, (b) $Vs = 0,5 \text{ cm/min}$ e (c) $Vs = 0,25 \text{ cm/min}$.

Figura 49 – Diagramas de coagulação para remoção de turbidez: dosagem de *O. ficus indica* entre 5 e 50 mg/L, mistura rápida de GMr = 335 s⁻¹ e TMr = 1 min, mistura lenta de GMI = 30 s⁻¹ e TMI = 30 min, e sedimentação de (a) Vs = 1,0 cm/min, (b) Vs = 0,5 cm/min e (c) Vs = 0,25 cm/min.

Figura 50 – Diagramas de coagulação para remoção de cor aparente: dosagem de *O. ficus indica* entre 5 e 50 mg/L, mistura rápida de $GMr = 335 \text{ s}^{-1}$ e $TMr = 1 \text{ min}$, mistura lenta de $GMI = 30 \text{ s}^{-1}$ e $TMI = 30 \text{ min}$, e sedimentação de (a) $Vs = 1,0 \text{ cm/min}$, (b) $Vs = 0,5 \text{ cm/min}$ e (c) $Vs = 0,25 \text{ cm/min}$.

Os ensaios de tratabilidade do presente estudo tem certa similaridade com os resultados de Miller *et al* (2008) e Shilpa *et al* (2012). Estes estudos também utilizaram os cladódios da *Opuntia* spp. após a desidratação como coagulante natural para a clarificação da água de consumo. Miller *et al* (2008) atingiu remoções de turbidez de até 92% com dosagens de 20 mg/L em intervalos de pH de 6,9 a 10,2, já Shilpa *et al* (2012) atingiu uma remoção um pouco menor (89%) e em pH mais elevado (9,0).

Como observado nos ensaios de tratabilidade, o coagulante natural extraído da *O. cochenillifera* produz água clarificada com valores remanescentes menores de turbidez e cor aparente, quando comparados aos resultados obtidos pela *O. ficus indica*. Esse fato pode estar relacionado à maior quantidade de sólidos totais voláteis presentes na composição da *O. cochenillifera*, resultado indicado no item 5.4.1.1.

Devido à maior eficiência, o coagulante natural selecionado para os ensaios posteriores foi o extraído da *O. cochenillifera*. Ao comparar os dois pontos “ótimos” deste coagulante, o com adição de alcalinizante (pH ~ 11) apresentou maiores eficiências de remoção de turbidez e cor aparente; entretanto, essa condição necessita de contínua inserção de produtos químicos para operação. Esse fato aumenta o custo e a complexidade, inviabilizando a utilização em comunidades isoladas com escassez de recursos. Neste contexto, a condição ótima selecionada foi em pH sem a necessidade de correção (próximo a 6,8) e dosagem de 30 mg/L. Nessa condição ótima selecionada, o floco tem a aparência alongada e filamentosa (Figura 51), semelhante às características descritas por Miller *et al* (2008).

Figura 51 - Floco alongado e filamentoso formado no ensaio de tratabilidade com *O. cochenillifera*: dosagem de 30 mg/L, pH próximo à 6,8, $GMr = 335\text{ s}^{-1}$, $TMr = 1\text{ min}$, $GMI = 30\text{ s}^{-1}$ e $TMI = 30\text{ min}$.

5.4.3 Otimização dos parâmetros de mistura

Primeiramente, a influência do gradiente de mistura rápida nos ensaios de tratabilidade foi avaliada. A Figura 52 indica os valores remanescentes de turbidez e cor aparente utilizando cinco gradientes de mistura rápida diferentes: $GMr = 200, 250, 335, 380$ e 430 s^{-1} . Apenas os GMr de 250 e 335 s^{-1} apresentaram valores dentro do recomendado por CAWST para a operação do FLD (turbidez $< 10 \text{ uT}$), entretanto o GMr de 250 s^{-1} teve melhores remoções em relação à cor aparente. Dessa forma, o GMr otimizado foi de 250 s^{-1} .

Figura 52 - Turbidez e cor aparente remanescentes nas seguintes condições: dosagem de *O. cochenillifera* = 30 mg/L , mistura rápida com GMr entre 200 e 430 s^{-1} e $TMr = 60 \text{ s}$, mistura lenta com $GMI = 30 \text{ s}^{-1}$ e $TMI = 30 \text{ min}$, e sedimentação com $Vs = 1,0; 0,5$ e $0,25 \text{ cm/min}$ e $Ts = 7, 14$ e 28 min .

Em seguida foi otimizado o tempo de mistura rápida. A Figura 53 indica os valores remanescentes de turbidez e cor aparente utilizando cinco tempos de mistura rápida diferentes: $TMr = 60, 50, 40, 30$ e 20 s . O TMr de 60 s foi o selecionado devido às maiores remoções de turbidez e cor aparente.

Figura 53 - Turbidez e cor aparente remanescentes nas seguintes condições: dosagem de *O. cochenillifera* = 30 mg/L , mistura rápida com $GMr = 335 \text{ s}^{-1}$ e TMr entre 20 e 60 s , mistura lenta com $GMI = 30 \text{ s}^{-1}$ e $TMI = 30 \text{ min}$, e sedimentação com $Vs = 1,0; 0,5$ e $0,25 \text{ cm/min}$ e $Ts = 7, 14$ e 28 min .

A Figura 54 apresenta a influência do gradiente de mistura lenta nos ensaios de tratabilidade. Nesta etapa foram testados cinco gradientes diferentes: 20, 25, 30, 35 e 40 s^{-1} . Os ensaios com gradientes $\text{GMI} = 25$ e 30 s^{-1} foram os que resultaram em menores valores remanescentes para turbidez e cor aparente; entretanto, as remoções obtidas pelo $\text{GMI} = 25 \text{ s}^{-1}$ foram maiores.

Figura 54 - Turbidez e cor aparente remanescentes nas seguintes condições: dosagem de *O. cochenillifera* = 30 mg/L, mistura rápida com $\text{GMR} = 250 \text{ s}^{-1}$ e $\text{TMR} = 60 \text{ s}$, mistura lenta com GMI entre 20 e 40 s^{-1} e $\text{TMI} = 30 \text{ min}$, e sedimentação com $V_s = 1,0; 0,5$ e $0,25 \text{ cm/min}$ e $T_s = 7, 14$ e 28 min .

A Figura 55 apresenta a influência de seis tempos de mistura lenta nos ensaios de tratabilidade. Os tempos avaliados foram: 5, 10, 20, 30, 40 e 45 min. Valores de turbidez remanescente menores que 10 uT foram obtidas a partir de 20 min, sendo o melhor ponto em 40 min. Como o intuito é facilitar a operação com o menor tempo possível, o TMI adotado foi em 20 min.

Figura 55 - Turbidez e cor aparente remanescentes nas seguintes condições: dosagem de *O. cochenillifera* = 30 mg/L, mistura rápida com $\text{GMR} = 250 \text{ s}^{-1}$ e $\text{TMR} = 60 \text{ s}$, mistura lenta com $\text{GMI} = 25 \text{ s}^{-1}$ e TMI entre 5 e 45 min, e sedimentação com $V_s = 1,0; 0,5$ e $0,25 \text{ cm/min}$ e $T_s = 7, 14$ e 28 min .

Por fim, os parâmetros de mistura otimizados foram: dosagem de *O. cochenillifera* = 30 mg/L, pH = 6,8, mistura rápida $GMr = 250 \text{ s}^{-1}$ e $TMr = 60 \text{ s}$, mistura lenta $GMI = 25 \text{ s}^{-1}$ e $TMI = 20 \text{ min}$ e sedimentação $Vs = 0,25 \text{ cm/min}$ ($Ts = 28 \text{ minutos}$). Essa condição proporciona água com turbidez $7,67 \pm 1,67 \text{ uT}$ e cor aparente $33,3 \pm 2,61 \text{ uH}$, valores adequados para inserção ao FLD, segundo recomendações de CAWST (2010).

Miller *et al* (2008) realizaram ensaios de tratabilidade com *Opuntia* spp. em dosagens de 20 mg/L em intervalos de pH de 6,9 a 10,2 e obtiveram as seguintes condições ótimas: mistura rápida $GMr = 700 \text{ s}^{-1}$ e $TMr = 60 \text{ s}$ e mistura lenta $GMI = 25 \text{ s}^{-1}$ e $TMI = 45 \text{ min}$. Já os ensaios de tratabilidade por Shilpa *et al* (2012) com dosagem de 20 mg/L em pH de 9,0 tiveram condições ótimas diferentes, sendo a mistura rápida $GMr = 120 \text{ s}^{-1}$ e $TMr = 60 \text{ s}$, mistura lenta $GMI = 18 \text{ s}^{-1}$ e $TMI = 20 \text{ min}$ e sedimentação $Ts = 20 \text{ min}$.

A diferença dos resultados obtidos no presente estudo com os de Miller *et al* (2008) e Shilpa *et al* (2012) pode estar associada às características do coagulante que, inevitavelmente variam em função da condição climática, do solo e dos nutrientes; e além disso, a diferença também pode estar relacionada às características da água de estudo. Miller *et al* (2008) preparou uma água bruta com base na composição de um manancial da Venezuela e Shilpa *et al* (2012) utilizou a água do lago Kukarahalli (Mysore, Índia). Essas matrizes de água bruta são diferentes da água preparada com caulinita e ácido húmico do presente estudo e, portanto, podem ter melhores eficiências de remoção de turbidez e cor aparente em diferentes condições de mistura.

5.5 ESTUDO DO DESEMPENHO DOS FILTROS DE LABORATÓRIO EM ACRÍLICO

O estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente foi dividido em três etapas: i) água de estudo sem presença de risco microbiológico; ii) água de estudo com *Escherichia coli*; iii) água de estudo com cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.

Em todas as etapas foram realizados ensaios de tratabilidade no “ponto ótimo” determinado para a *O. cochenillifera* (dosagem de 30 mg/L em pH próximo de 6,8) e com os parâmetros de mistura rápida, lenta e sedimentação otimizados ($GMr = 250 \text{ s}^{-1}$, $TMr = 60 \text{ s}$, $GMI = 25 \text{ s}^{-1}$, $TMI = 20 \text{ min}$, $Vs = 0,25 \text{ cm/min}$). A taxa de filtração aplicada aos FLAs foram iguais às aplicadas no FLDs, sendo a operação contínua com taxa constante de $1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$ e em operação intermitente com taxa decrescente iniciando em $\pm 3,86 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$.

5.5.1 Estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente com água de estudo sem risco microbiológico

Para esta etapa foram realizados dois ensaios de tratabilidade em jarreste nas condições ótimas. Em cada ensaio eram retirados 6,0 L de água clarificada, totalizando 12 L, volume suficiente para alimentação dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente. A qualidade das águas bruta, coagulada, decantada e filtradas dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente foi ponderada em função da cor aparente, pH e potencial zeta (Figura 56).

O pré-tratamento com coagulante natural *O. cochenillifera* atingiu remoções de $\pm 76\%$ de cor aparente. Os valores de pH foram praticamente estáveis variando em apenas 2,4%. O potencial zeta após a coagulação se manteve negativo e relativamente constante, semelhante aos resultados obtidos por Miller *et al* (2008).

Miller *et al* (2008) utilizou como matriz para os ensaios uma água preparada com base na composição de um manancial da Venezuela. O potencial zeta da água bruta era de $\pm - 32$ mV, após o processo de coagulação o potencial foi para $\pm - 30$ mV. Segundos os autores, essa constância negativa e relativamente constante exclui a possibilidade do mecanismo de coagulação ter sido por neutralização de cargas e suporta a de que o mecanismo na realidade é a adsorção e formação de pontes.

Em relação à filtração, o FLA em fluxo contínuo teve maior eficiência de remoção de cor aparente do que o FLA em fluxo intermitente. Esse fato pode ser explicado devido à variação da taxa de filtração no FLA em fluxo intermitente que, inevitavelmente, varia ao longo do tempo e sobrecarrega o filtro no início de cada alimentação. Essa variação na taxa de filtração consequentemente afeta a eficiência do tratamento. O FLA em fluxo contínuo, com taxa de filtração quase três vezes menor e constante, evita a ocorrência de distúrbios no topo da camada filtrante e, portanto, produz água filtrada com melhores condições. Essa diferença de eficiência observada nos filtros de laboratórios igualmente pode acontecer em maiores escalas, como os filtros lentos em escala domiciliar. Young-Rojanschi e Madramootoo (2014) também observaram maiores eficiências de remoção de turbidez nos FLDs em fluxo contínuo do que em fluxo intermitente.

Os valores remanescentes de cor aparente no FLA em fluxo contínuo atingiram a Portaria MS nº 2914 (BRASIL, 2011) a partir da segunda coleta (tempo = 120 min). Esse fenômeno não foi atingido para o FLA em fluxo intermitente em nenhuma das cinco alimentações, provavelmente, devido à maior sensibilidade da camada filtrante quando operada em taxas maiores e variáveis.

Em relação aos valores de pH, as duas primeiras amostras filtradas de cada sistema (contínuo e intermitente) tinham valores menores de pH do que a água decantada de entrada. Os FLAs eram preenchidos com água do poço da EESC/USP, com pH próximo à 7, antes do

início de cada operação. Assim, à medida que ocorria a filtração, a água do poço saía do sistema e isso era evidenciado nos valores de pH menores nas primeiras amostras de água filtrada. Apesar disso, todas as amostras filtradas ficaram de acordo com o recomendado na Portaria 2914/2011.

Figura 56 – Desempenho do ensaio de tratabilidade com o *kit* filtros de laboratório em acrílico em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e intermitente (taxa máxima de $3,68 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação à cor aparente, ao pH e ao potencial zeta. Condições do ensaio de tratabilidade: *O. cochenillifera* = 30 mg/L, pH = 6,8, GMr = 250 s^{-1} , TMr = 60 s, GMI = 25 s^{-1} , TMI = 20 min, Vs = 0,25 cm/min.

Em relação ao potencial zeta, todas as amostras se mantiveram com valores negativos e relativamente constantes, afirmando a hipótese de Miller *et al* (2008) que não há neutralização de cargas em nenhuma das etapas do tratamento.

5.5.2 Estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente com água de estudo e *Escherichia coli*

Os ensaios com os FLAs em fluxo contínuo e intermitente foram repetidos com a inserção de *E. coli* na água com caulinita e ácido húmico. Neste caso foi monitorada a qualidade da água bruta, clarificada e filtrada, além do resíduo retido no jarro do jarteste em relação à bactéria *E. coli* e as formas de carbono (total e inorgânico). Os resultados obtidos, no ensaio em fluxo contínuo, em triplicata, estão na Figura 57.

O pré-tratamento com coagulante natural *O. cochenillifera* removeu 0,32log de *Escherichia coli* e acrescentou 1,7 mgC/L de carbono orgânico à água clarificada. Esse valor foi obtido pela relação entre o carbono total antes e depois do processo coagulação, tomando como base a constância no valor de carbono inorgânico. A matéria orgânica inserida favoreceu o crescimento da *E. coli* no jarro do jarteste no Dia 2.

Apesar desta desvantagem, os filtros de laboratórios operados em fluxo contínuo apresentaram eficiências de remoção de *E. coli*. Este resultado é promissor para a operação dos filtros lentos em escala domiciliar. Outro ponto de destaque é em relação ao aumento do log de remoção nos dias 2, 3 e 4, sendo 0,10log, 0,14log e 0,43log, respectivamente.

Figura 57 - Desempenho do ensaio de tratabilidade com o *kit* filtros de laboratório em acrílico em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação à *Escherichia coli* e às formas de carbono total e inorgânico.

Condições do ensaio de tratabilidade: *O. cochenillifera* = 30 mg/L , $\text{pH} = 6,8$, $\text{GMr} = 250 \text{ s}^{-1}$, $\text{TMr} = 60 \text{ s}$, $\text{GMI} = 25 \text{ s}^{-1}$, $\text{TMI} = 20 \text{ min}$, $\text{Vs} = 0,25 \text{ cm/min}$.

O desempenho dos FLAs em fluxo intermitente foi avaliado, em triplicata, somente em função da *E. coli* devido ao pequeno volume amostral ($\pm 24 \text{ mL}$). Os resultados estão na Figura 58.

Em cada um dos dias, foram avaliadas seis amostras de água filtrada dos FLAs em fluxo intermitente. No primeiro dia, não houve log de remoção significativo em relação à *Escherichia coli*, provavelmente por que não havia nenhuma camada biológica desenvolvida no topo da camada filtrante. Vale ressaltar que o valor de $117 \text{ UFC}/100 \text{ mL}$ na primeira água filtrada do Dia 1 foi referente à mistura da água do poço da EESC/USP que estava no interior do FLA com a água de estudo que inevitavelmente se adiantava. Esse fenômeno de

adiantamento foi observado nos ensaios de caracterização do escoamento com o traçador (Figura 42b).

No segundo dia de operação, houve um aumento do número de *E. coli* presentes no jarro jarreste, provavelmente pelo carbono orgânico adicionado pela *O. cochenillifera*. Após a terceira alimentação, o FLA começou a ter eficiências de remoção de *E. coli*, atingindo valores de até 0,89log.

Figura 58 - Desempenho do ensaio de tratabilidade com o *kit* filtros de laboratório em acrílico em fluxo intermitente (taxa máxima de 3,68 m³/m².dia) em relação à *Escherichia coli* e às formas de carbono total e inorgânico. Condições do ensaio de tratabilidade: *O. cochenillifera* = 30 mg/L, pH = 6,8, GMr = 250 s⁻¹, TMr = 60 s, GMI = 25 s⁻¹, TMI = 20 min, Vs = 0,25 cm/min.

5.5.3 Estudo do desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente com água de estudo e protozoários

Os (oo)cistos de protozoários foram inoculados diretamente nos jarros do jarreste. O volume inoculado foi de 10 µL da suspensão de *Giardia* spp. da UNICAMP e 30 µL da suspensão da *Waterborne* de *Cryptosporidium* spp. Os inóculos adicionados ao jarreste corresponderam a 436 (±171) cistos/L e 726 (±38) oocistos/L, como mostrado na Tabela 16.

Depois de inoculados os (oo)cistos de protozoários nos jarros, dez ensaios de tratabilidade foram realizados para a coleta de dez amostras de água filtrada com o FLA em fluxo contínuo. Essas amostras foram destinadas exclusivamente à análise viabilidade

analítica do Método de Floculação em Carbonato de Cálcio (FCCa), sendo cinco amostras utilizando somente as suspensões da UNICAMP e da *Waterborne* e as outras cinco usando o *kit Easyseed®*. Confirmado o desempenho do protocolo em relação ao critério de aceitação do Método 1623.1 (USEPA, 2012), os FLAs em fluxo contínuo e intermitente foram avaliados em função da remoção de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

5.5.3.1 Controle de qualidade analítica do método de concentração (FCCa) com as suspensões

O ensaio de controle de qualidade analítica do Método de FCCa foi realizado quatro vezes com as suspensões e uma vez com o teste controle (branco), todos em igualdade de condições, seguindo o protocolo do Método 1623.1 (USEPA, 2012). Nesta etapa, uma alíquota de 5 µL de *Giardia* spp. e uma de 15 µL de *Cryptosporidium* spp. foram inoculados utilizando como matriz a água filtrada dos FLAs.

No ensaio controle (branco) não foram encontrados (oo)cistos na lâmina, o que indica ausência de contaminação do teste. De acordo com a Tabela 19, os valores médios entre as quatro réplicas foram de 313 (± 32) cistos e 612 (± 188) oocistos, estes resultados remetem a 71,9% e 84,3% de recuperação, com coeficientes de variação de 10,3% para *Giardia* spp. e 30,7% para *Cryptosporidium* spp., respectivamente. Tanto as recuperações quanto os coeficientes de variação ficaram de acordo com os intervalos recomendados pelo Método 1623.1. Dessa forma, o método de FCCa pode ser avaliado com o *kit EasySeed®*.

Recuperações semelhantes às obtidas no estudo foram reportadas por Shephed e Wyn-Jones (1996). Esses autores avaliaram a recuperação (oo)cistos de protozoários utilizando diversos métodos de concentração. Quando utilizado o método de FCCa, as recuperações para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. foram de 77,1% e 73,6%, respectivamente.

Tabela 19 – Resultado do controle analítico do método de concentração de FCCa utilizando as suspensões de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

Suspensões	Amostra	1			2			3			4		
	Poço da lâmina	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Cistos de <i>Giardia</i> spp.	Cistos inoculados	436 ± 171											
	Contagem de organismos	11	13	16	15	16	18	13	16	19	19	15	17
	Soma dos poços	40			49			48			51		
	(oo)cistos em cada amostra*	267			327			320			340		
	Média total de cistos ± desvio padrão	313 ± 32											
	Recuperação de cistos (%) ± CV (%)	71,9 ± 10,3											
Oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp.	Oocistos inoculados	726 ± 38											
	Contagem de organismos	13	20	19	39	20	34	39	37	30	47	34	35
	Soma dos poços	52			93			106			116		
	(oo)cistos em cada amostra*	347			620			707			774		
	Média total de oocistos ± desvio padrão	612 ± 188											
	Recuperação de cistos (%) ± CV (%)	84,3 ± 30,6											

* Corresponde à soma dos poços vezes o fator de multiplicação (FM = 6,67). O FM considera o volume do pellet (1 mL) sobre o volume total das alíquotas (3 vezes 50 µL)

Ensaio controle (branco) não houve presença de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

5.5.3.2 Controle de qualidade analítica do método de concentração (FCCa) com o kit EasySeed®

O ensaio com o controle de qualidade utilizando o *kit EasySeed®* foi realizado conforme indicado no Método 1623.1 (4 amostras + 1 branco, em igualdade de condições). De acordo com as informações do *kit*, cada frasco, tem em sua composição 99 ± 1,5 cistos de *Giardia* spp. e 99 ± 1,4 oocistos *Cryptosporidium* spp. A matriz avaliada foi a água filtrada dos FLAs.

No ensaio controle não foram encontrados (oo)cistos na lâmina, o que indica ausência de contaminação do teste. De acordo com a Tabela 20, os valores médios entre as quatro réplicas foram de 48 (± 23) cistos e 17 (± 13) oocistos, estes resultados remetem a 48,8% e 16,7% de recuperação, com coeficientes de variação de 48,3% para *Giardia* spp. e 76,6% para *Cryptosporidium* spp., respectivamente.

Tabela 20 – Resultado do controle analítico do método de concentração de FCCa utilizando o kit EasySeed®.

Suspensões	Amostra	1			2			3			4		
	Poço da lâmina	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Cistos de <i>Giardia</i> spp.	Cistos inoculados	99 ± 1,5											
	Contagem de organismos	2	4	3	1	2	3	2	7	2	0	0	3
	Soma dos poços	9			6			11			3		
	(oo)cistos em cada amostra*	60			40			73			20		
	Média total de cistos ± desvio padrão	48 ± 23											
	Recuperação de cistos (%) ± CV (%)	48,8 ± 48,3											
Oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp.	Oocistos inoculados	99 ± 1,4											
	Contagem de organismos	2	0	0	0	0	0	1	1	2	2	1	1
	Soma dos poços	2			0			4			4		
	(oo)cistos em cada amostra*	13			0			27			27		
	Média total de oocistos ± desvio padrão	17 ± 13											
	Recuperação de cistos (%) ± CV (%)	16,7 ± 76,6											

* Corresponde à soma dos poços vezes o fator de multiplicação (FM = 6,67). O FM considera o volume do pellet (1 mL) sobre o volume total das alíquotas (3 vezes 50 μ L)

Tanto a recuperação quanto o coeficiente de variação para *Giardia* spp. estavam de acordo com os intervalos recomendados pelo Método 1623.1 (USEPA, 2012); entretanto, os dois índices foram ultrapassados para os oocistos *Cryptosporidium* spp.

Boni (2016) avaliou a recuperação dos (oo)cistos de protozoários utilizando kits padronizados e também detectou recuperações para os oocistos de *Cryptosporidium* spp. fora do recomendado pelo Método 1623.1 (USEPA, 2012). Esse fato pode estar relacionado ao padrão de coloração mais fraco e o tamanho inferior dos oocistos quando comparados aos cistos.

Cantusio Neto (2008) também avaliou a recuperação dos (oo)cistos utilizando como matriz água reagente e o kit *Easyseed*®. O autor obteve recuperações de $5,8\% \pm 3,8$ (CV = 65,5%) para cistos de *Giardia* spp. e $5,3\% \pm 2,8$ (CV = 52,8%) para oocistos de *Cryptosporidium* spp., ou seja, as recuperações não atingiram os valores estabelecidos no Método 1623.1 para nenhum dos protozoários avaliados.

Ao realizar uma comparação entre os resultados obtidos pelo método de concentração FCCa utilizando como inoculo as suspensões comerciais (Tabela 18) e o kit *EasySeed*® (Tabela 19), foi possível observar uma redução de (oo)cistos recuperados. Enquanto o primeiro ensaio recuperou 71,9% e 84,3% de cistos e oocistos, respectivamente; o segundo ensaio recuperou somente 48,8% e 16,7%. Essa redução de 32% dos cistos e 80% dos oocistos pode estar relacionada com o número de organismos inoculados quando utilizadas as suspensões comerciais. Por mais que houvesse a homogeneização das suspensões, cada alíquota apresentava uma quantidade de (oo)cistos e isto afetou diretamente no valor da recuperação dos organismos.

5.5.3.3 Desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e em fluxo intermitente

Após a análise da qualidade analítica do método de concentração por FCCa, os filtros de laboratório em fluxo contínuo e intermitente foram avaliados, em triplicata, em função da remoção de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. Nesta etapa, os (oo)cistos de protozoários foram inoculados diretamente nos jarros do jarteste. O volume inoculado foi de 10 µL da suspensão de *Giardia* spp. da UNICAMP e 30 µL da suspensão da *Waterborne* de *Cryptosporidium* spp., correspondendo à 436 (± 171) cistos/L e 726 (± 38) oocistos/L, como mostrado na Tabela 16.

Depois de inoculados, dois ensaios de tratabilidade foram realizados com as condições ótimas de dosagem, pH e mistura com o coagulante natural *O. cochenillifera*. A água filtrada de cada filtro foi coletada e concentrada pelo método de FCCa para análise dos (oo)cistos através de microscopia empregando quatro filtros de identificação: FITC, DAPI, IP e DIC.

Os resultados em relação ao desempenho dos FLAs em fluxo contínuo e intermitente para remoção de protozoários estão na Tabela 21. Como observado, houve ausência de cistos de *Giardia* spp. e presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas águas filtradas dos FLAs em fluxo contínuo e em fluxo intermitente. Esses resultados podem ser explicados correlacionando às características e às dimensões dos oocistos.

Tabela 21 – Desempenho dos filtros de laboratório em acrílico em fluxo contínuo e em fluxo intermitente em relação aos (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

Suspensões	Operação FLA	Fluxo contínuo									Fluxo intermitente								
	Amostra	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
	Poço da lâmina	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
Cistos de <i>Giardia</i> spp.	Cistos inoculados	436 ± 171																	
	Contagem de organismos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
	Soma dos poços	0	0			0			0	0			0						
	(oo)cistos em cada amostra	0	0			0			0	0			0						
	Média total de cistos ± desvio padrão	0 ± 0									0 ± 0								
Oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp.	Oocistos inoculados	726 ± 38																	
	Contagem de organismos	0	0	0	0	0	0	4	2	1	4	0	0	0	0	2	3	0	0
	Soma dos poços	0	0			7			4	2			3						
	(oo)cistos em cada amostra	0	0			47			27	13			20						
	Média total de oocistos ± desvio padrão	16 ± 27									20 ± 7								

Os cistos de *Giardia* spp. tem dimensões que variam de 8 a 18 µm de comprimento por 5 a 15 µm de largura, já os oocistos de *Cryptosporidium* spp. têm estruturas esféricas que variam de 4 a 6 µm (USEPA, 2012). Analisando somente as dimensões, os (oo)cistos seriam facilmente removíveis no meio filtrante dos FLAs. Entretanto, o oocisto tem uma capacidade de compreensibilidade que facilita a sua passagem pelo meio filtrante (LI *et al*, 1995). Essa

característica intrínseca pode ter sido a responsável pela presença do oocisto na saída dos filtros de laboratório.

De acordo com a Tabela 21, 16 (± 27) e 20 (± 7) oocistos passaram pela camada filtrante dos FLAs em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $3,68 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$), respectivamente. Esses resultados indicam remoções de oocistos de $1,91\log_{10}$ e $1,73 \log_{10}$. A presença destes organismos na saída das unidades de filtração afirma a necessidade de sistemas de desinfecção após os filtros lentos.

DeLoyde (2007) realizou sete testes para avaliar a remoção de (oo)cistos de protozoários em filtros lentos de areia em escala piloto com taxa de filtração de $0,4 \text{ m/h}$. Os ensaios avaliaram o aumento da remoção de (oo)cistos relacionada ao aumento da maturidade biológica (de 4 a 20 meses). As remoções médias variaram de $2,6$ a $4,4\log_{10}$ para oocistos de *Cryptosporidium* spp. e de $3,8$ a $4,5 \log_{10}$ para cistos de *Giardia* spp.

Palmateer *et al* (1999) avaliou a redução de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp em filtros em escala domiciliar operando em fluxo intermitente. As remoções médias foram de $3,8\log_{10}$ para oocistos e $>5\log_{10}$ para os cistos.

Os resultados obtidos por DeLoyde (2007) e Palmateer *et al* (1999) para remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. foram maiores do que os obtidos nos filtros de laboratório em fluxo contínuo e intermitente ($1,91\log_{10}$ e $1,73 \log_{10}$). Este resultado pode estar associado ao tempo de amadurecimento da camada biológica. Como o ensaio de filtração nos FLAs foi realizado com o meio filtrante limpo, a camada biológica não havia se desenvolvido no topo da camada filtrante. Provavelmente, a remoção de (oo)cistos nesta etapa foi referente à ação física de coar que eventualmente acontece ao longo da camada filtrante.

5.6 ESTUDO DO DESEMPENHO DOS FILTROS LENTOS EM ESCALA DOMICILIAR

5.6.1 Desempenho do pré-tratamento

A água de estudo com caulinita, ácido húmico e *E. coli* foi preparada diariamente em uma bombona de 200L com o auxílio de misturador mecânico (item 5.2.2). Ainda sob agitação do misturador, seis gramas de *O. cochenillifera* eram adicionados à água bruta para o início do pré-tratamento. Essa massa correspondia à condição ótima de dosagem obtida nos ensaios de tratabilidade (30 mg/L) relacionada ao volume que era tratado (200 L).

As mistura rápida e lenta também foram realizadas no mesmo reservatório pelo misturador mecânico. Nesta etapa, houve uma adaptação nas rotações do misturador mecânico para que ele produzisse os mesmos gradientes de mistura otimizados em jarreste (250 e 25 s^{-1}). As rotações calculadas foram de 416 e 90 rpm para as mistura rápida e lenta, respectivamente. Entretanto, na mistura lenta, houve a necessidade de mudança da rotação

devido à limitação do misturador. O mínimo proporcionado pelo misturador era de 200 rpm, por isso, as novas condições de tratabilidade foram de $GMr = 250 \text{ s}^{-1}$ (416 rpm), $TMr = 60 \text{ s}$, $GMI = 83,3 \text{ s}^{-1}$ (200 rpm) e $TMI = 20 \text{ min}$. A mudança no gradiente de mistura lenta teve influência direta na eficiência do pré-tratamento, para suprir a deficiência relatada, o tempo de decantação foi ajustado para 24h.

As adaptações na mistura lenta e na sedimentação proporcionaram condições para obtenção de água clarificada com turbidez de $7,83 (\pm 2,32) \text{ uT}$, valor inferior ao recomendado como afluente do FLD (CAWST, 2010) e semelhante ao obtido nos ensaios de tratabilidade ($7,67 \pm 1,67 \text{ uT}$). O pré-tratamento adaptado alcançou eficiência média de remoção de turbidez de 92,9% (Figura 59).

Miller *et al* (2008) e Shilpa *et al* (2012) realizaram ensaios de tratabilidade para clarificação de águas de consumo utilizando o cacto *Opuntia* spp. após a desidratação dos cladódios como coagulante natural. Esses autores atingiram remoções de turbidez de 92% e 89%, respectivamente, valores semelhantes ao atingido neste estudo (92,9%).

Como observado na Figura 59, nos dias 21, 28, 33, 34, 35 e 36 de operação não houve o preparo da água bruta por falta de água do poço da EESC/USP. Após essa constância, a água do poço começou a ser reservada em reservatório de 3000L. Esse período sem a produção de água clarificada afetou diretamente na qualidade da água filtrada dos FLDs em fluxo contínuo e intermitente, resultados que serão apresentados no item relacionado à operação dos filtros.

Figura 59 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* para a remoção de turbidez.

A condição adaptada do pré-tratamento também foi monitorada em função de outros parâmetros de qualidade da água como cor aparente, cor verdadeira, temperatura, condutividade elétrica, pH, alcalinidade total e parcial, potencial zeta, absorbância 254 nm, carbono total, inorgânico e orgânico, coliformes totais e *Escherichia coli*.

O pré-tratamento obteve água clarificada com cor aparente de 35,9 ($\pm 5,03$) uH, semelhante ao obtido nos ensaios de tratabilidade ($33,3 \pm 2,61$ uH). Esse resultado refere-se a uma eficiência de remoção média de cor aparente de 73,3% (Figura 60). A eficiência em relação à cor verdadeira foi de somente 11,8%, como mostra a Figura 61.

A baixa remoção de cor verdadeira também foi verificada por Nougbodé *et al* (2013). Esses autores avaliaram as propriedades da solução aquosa de *Opuntia dillenii* como coagulante natural para clarificação de águas superficiais com altos valores de cor verdadeira. Após ensaios de tratabilidade, os autores detectaram eficiências de remoção de cor de 4 a 15% usando dosagens de 1 a 10 mL.

Figura 60 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação a cor aparente.

Figura 61 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação a cor verdadeira.

Como observado na Figura 62, as águas bruta e clarificada apresentavam temperaturas entre 20 e 30°C, dependendo da temperatura diária. Segundo Zhang *et al* (2006), a temperatura poderia ser um fator limitante ao processo de coagulação com *Opuntia* spp. caso fosse menor que 10°C. Isto aconteceria devido ao menor grau de agitação das moléculas e, conseqüentemente, menor o contato do coagulante com as partículas. Como esta condição não é comum em países tropicais como o Brasil, a temperatura não foi um interferente no processo de coagulação, contudo pode ser limitante em países com condições climáticas desfavoráveis.

Figura 62 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação à temperatura.

Os valores de condutividade elétrica média das águas bruta e clarificada foram iguais a 53,25 ($\pm 3,07$) e 57,24 ($\pm 4,23$) $\mu\text{S}/\text{cm}^2$, respectivamente (Figura 63). O aumento de 7,5% após a clarificação pode estar associado à variação de temperatura que ocorria ao longo do dia. Essas variações aumentam o grau de agitação dos íons e fornecem a energia cinética para o fenômeno de condução elétrica.

Figura 63 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação à condutividade elétrica.

Após o processo de clarificação, foi observado um aumento de 10,3% no valor de pH na água (Figura 64). Este acréscimo no pH está relacionado à presença de carbonato de cálcio na *O. cochenillifera*, indicado pela análise de difração de Raio-X exposta no item 5.4.1.3. A hipótese também pode ser confirmada pelo aumento de 20,6% de alcalinidade total e 68,9% de alcalinidade parcial expostas nas Figuras 65 e 66.

Figura 64 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação ao pH.

Figura 65 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação à alcalinidade total

Figura 66 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação à alcalinidade parcial

O valor de potencial zeta após a coagulação se manteve negativo e relativamente constante (Figura 67), o que exclui a possibilidade de neutralização de cargas durante a coagulação. Miller *et al* (2008) também observou valores constantes e negativos após a coagulação com *Opuntia* spp. em pó. Segundo os autores, o mecanismo de coagulação predominante para a espécie cactácea é a adsorção e formação de pontes.

Figura 67 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação ao potencial zeta

A presença de substâncias húmicas, anteriormente associadas à cor verdadeira, também pode ser estimada pela absorvância ($\lambda = 254 \text{ nm}$) ou pela concentração de carbono orgânico total. Os valores de absorvância 254 (Figura 68), carbono total (Figura 69), carbono inorgânico (Figura 70) e carbono orgânico total (Figura 71) não apresentaram diferenças significativas entre a água bruta e clarificada, segundo o teste estatístico ANOVA de fator único a um grau de 5% de significância. Esses resultados são compatíveis com os determinados para a cor verdadeira nos ensaios de tratabilidade, ou seja, o coagulante não foi eficiente na remoção de substâncias húmicas, como o ácido húmico presente na água bruta.

Figura 68 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação à absorvância 254 nm

Figura 69 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação ao carbono total

Figura 70 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação ao carbono inorgânico Figura 71 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação ao carbono orgânico total

A qualidade microbiológica da água clarificada foi avaliada em função dos microrganismos indicadores coliformes totais (Figura 72) e *E. coli* (Figura 73). Os coliformes cresceram 0,51log (ou 69%) após a coagulação; isto está associado à inserção de matéria orgânica presente no cacto que fornece nutrientes para o crescimento bacteriano (GHEBREMICHAEL *et al*, 2005; MILLER *et al*, 2008). Apesar das condições favoráveis, o crescimento de *E. coli* não foi observado significativamente, segundo o teste ANOVA de fator único ao nível de 5% de significância.

Figura 72 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação aos coliformes totais Figura 73 - Desempenho do pré-tratamento com *O. cochenillifera* em relação à *Escherichia coli*

De modo geral, a adaptação do pré-tratamento à bombona de 200 L foi eficiente para a clarificação da água, segundo as recomendações de CAWST (2010) em relação à qualidade do afluente ao filtro lento em escala domiciliar. Apesar de eficiente, o pré-tratamento na bombona não é adaptado às comunidades isoladas brasileiras, devido à necessidade de um misturador mecânico específico para as etapas de mistura rápida e lenta.

Como sugestão para trabalhos futuros, o pré-tratamento adaptado às realidades locais pode ser feito em uma única unidade composta por um balde de 20L. As misturas rápida e lenta podem ser feitas manualmente usando uma ferramenta de fácil acesso (colher de

madeira, por exemplo). As dificuldades para a execução deste pré-tratamento adaptado devem ser ponderados.

5.6.2 Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo e em fluxo intermitente

Os filtros lentos em escala domiciliar, em fluxo contínuo e em fluxo intermitente, foram operados por 75 dias. Durante esse período, os parâmetros de qualidade da água filtrada foram comparados às exigências da Portaria nº 2914 (2011) e WHO (2011) para avaliar o desempenho de cada um dos filtros.

Como citado no item relacionado à adaptação do pré-tratamento, nos dias 21, 28, 33, 34, 35 e 36 de operação não houve o preparo da água bruta por falta de água do poço da EESC/USP. Apesar de ser uma desvantagem para a pesquisa, a ausência da alimentação dos filtros é algo que pode acontecer frequentemente em comunidades isoladas. Por isso, a influência desta falta de alimentação também foi avaliada em função dos parâmetros de qualidade da água.

As águas filtradas do FLD em fluxo intermitente foram analisadas de duas formas: i) água filtrada coletada às 8h da manhã referente ao período de pausa de ± 12 h (20h do dia anterior até 8h do dia seguinte), nomeada como AFIPP (água filtrada do FLD intermitente no período de pausa) e ii) amostra composta com as águas filtradas às 12h, 16h e 20h, referentes aos períodos de pausa de ± 4 h, nomeada de AFIC (água filtrada do FLD intermitente composta). A análise da água filtrada do FLD em fluxo contínuo foi realizada de forma pontual aproximadamente ao meio dia de cada dia. Essa água foi nomeada na discussão de AFC (água filtrada do FLD contínuo).

5.6.2.1 Parâmetros físico-químicos

O primeiro parâmetro de qualidade a ser analisado foi a turbidez. Como observado na Figura 74, a água clarificada apresentou valores de turbidez próximos a 10 uT, como recomendado por CAWST (2010) durante toda a operação dos filtros; entretanto, em dias específicos, o valor de turbidez ficou ligeiramente acima do recomendado. Essa diferença ao longo da operação está associada à eficiência da *O. cochenillifera* como coagulante natural que, inevitavelmente, varia a composição em função do local de cultivo, da estação e da idade da planta (RETAMAL, DURÁN, FERNÁNDEZ, 1987; RODRIGUEZ-FELIX, CANTWELL, 1988; STINTZING *et al*, 2005).

As eficiências dos filtros em fluxo contínuo e intermitente foram avaliadas, inicialmente, de forma simultânea e, em seguida, separadamente. Após as respectivas filtrações, as

amostras AFIC, AFIPP e AFC obtiveram valores remanescentes médios de 1,83 ($\pm 0,80$) uT, 1,62 ($\pm 0,59$) uT e 1,47 ($\pm 0,40$) uT, respectivamente. Esses resultados indicam eficiências de remoção de $\pm 76,6\%$, $\pm 79,4\%$ e $\pm 81,2\%$.

Jenkins, Tiwari e Darby (2011) também observaram a influência dos períodos de pausa entre as alimentações na eficiência de remoção de turbidez em um FLD em fluxo intermitente. Neste estudo, o FLD era alimentado duas vezes, a primeira amostra de água filtrada era coleta após um longo período de pausa ($\pm 16h$) e a segunda amostra era coletada após um curto período de pausa ($\pm 5h$). Semelhante ao presente estudo, Jenkins, Tiwari e Darby (2011) constataram um aumento de eficiência no período de pausa maior ($95,4 \pm 2,6\%$ versus $89,5 \pm 6,2\%$). Os autores indicam que a diferença entre os períodos de pausa dos FLDs ($\pm 16h$ e $\pm 5h$) pode ser a causa da redução, tanto em relação à atuação dos microrganismos do *schmutzdecke*, quanto à filtração propriamente dita na camada filtrante.

Young-Rojanschi e Madramootoo (2014) analisaram a remoção de turbidez em dois FLDs, sendo um com operação contínua e outro com operação intermitente. Para fins comparativos, o volume de água filtrada por dia era o mesmo entre as operações. Semelhante a este estudo, os resultados de Young-Rojanschi e Madramootoo (2014) se mostraram promissores às operações contínuas, atingindo remoções de turbidez de 96% *versus* 87%. Segundo os autores, este resultado está associado à própria operação contínua que mantém um nível d'água constante ao longo de todo o tratamento sem sobrecargas pontuais. As sobrecargas, decorrentes da operação em fluxo intermitente, podem facilitar a compactação do topo da camada de areia dificultando a passagem da água e o processo de filtração.

Figura 74 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) para a remoção de turbidez.

Além das eficiências de remoção, também foi avaliada a influência da falta de água no 21º, 28º, 33º, 34º, 35º e 36º dia de operação em função dos parâmetros de qualidade da água. Para melhor explicação e visualização, a Figura 74 foi destacada apenas em função das águas filtradas (Figura 75).

Segundo CAWST (2010), os FLDs suportam intervalos de alimentação de até 48h sem alteração da qualidade da água filtrada. Isto explica por que a ausência de alimentação no 21º e 28º dia de operação não afetou a qualidade da água filtrada dos FLDs em fluxo contínuo e em fluxo intermitente. Entretanto, a qualidade da água filtrada pode ser afetada quando o período máximo de 48h for ultrapassado. Esse episódio aconteceu durante a operação dos FLDs entre os dias 33 e 36.

As amostras correspondentes ao FLD em fluxo intermitente (AFIC e AFIPP) tiveram influência significativa após as 96h sem alimentação, com aumentos nos valores de turbidez em até 2,2 vezes. O FLD em fluxo intermitente demorou 14 dias para atingir a condição anterior, esse período de readaptação está destacado na Figura 75. Em contrapartida, a AFC, correspondente ao FLD em fluxo contínuo, não apresentou aumento após as 96h. Isto mostra que a operação em fluxo intermitente é mais sensível à falta de alimentação do que a operação em fluxo contínuo. Por isso, recomenda-se, assim como CAWST (2010), que os FLDs em fluxo intermitente não ultrapassem o período máximo de 48h sem alimentação.

Figura 75 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) para a remoção de turbidez, com enfoque nas águas filtradas.

As carreiras de filtração para o FLD em fluxo intermitente e em fluxo contínuo foram atingidas no 53° e 59° de operação, respectivamente. A diferença de seis dias entre as operações também pode estar associada à maior sensibilidade da alimentação intermitente. Após as etapas de limpeza, foi notado um aumento de 38% no valor de turbidez das águas filtradas do FLD em fluxo intermitente e uma constância na água do FLD em fluxo contínuo.

Como observado na Figura 75, nenhuma das amostras atingiram o padrão de potabilidade brasileira de 1 uT (BRASIL, 2011) antes das manutenções. Apesar disto, os FLDs podem ser soluções adequadas para países com padrão de potabilidade menos restritivos (WHO, 2011) como a Etiópia (EARWAKER, 2006), Nicaraguá e Camboja (CAWST, 2010).

Após as manutenções, as amostras filtradas AFIC, AFIPP e AFC apresentaram valores médios de turbidez iguais 1,13 ($\pm 0,34$), 1,09 ($\pm 0,34$) e 1,21 ($\pm 0,14$), respectivamente. Apesar de próximo, as amostras médias ainda não atingiram o padrão de potabilidade brasileiro (BRASIL, 2011).

O desempenho dos FLDs em fluxo contínuo e em fluxo intermitente também foi monitorado em função de outros parâmetros de qualidade da água como cor aparente, cor verdadeira, temperatura, condutividade elétrica, pH, alcalinidade total e parcial, potencial zeta, absorbância 254 nm e carbono total, inorgânico e orgânico. Os resultados estão resumidos na Tabela 21.

Tabela 22 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m³/m².dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m³/m².dia) em relação aos parâmetros físico-químicos

Parâmetro		FLD em fluxo intermitente		FLD em fluxo contínuo
		Amostra diária composta	Amostra do período de pausa	Amostra pontual
Turbidez (uT)	M $\pm$ DP ER (%)	1,83 $\pm$ 0,80 76,6	1,62 $\pm$ 0,59 79,4	1,47 $\pm$ 0,40 81,2
Cor aparente (uH)	M $\pm$ DP ER (%)	19,0 $\pm$ 2,46 47,3	18,5 $\pm$ 2,85 48,4	19,1 $\pm$ 2,23 46,9
Cor verdadeira (uH)	M $\pm$ DP ER (%)	16,3 $\pm$ 1,96 28,8	15,4 $\pm$ 3,43 32,8	17,2 $\pm$ 3,33 24,7
Temperatura (°C)	M $\pm$ DP (°C)	24,3 $\pm$ 2,07	22,0 $\pm$ 1,86	23,9 $\pm$ 2,25
Condutividade elétrica (μ S/cm ²)	M $\pm$ DP	58,4 $\pm$ 3,92	56,8 $\pm$ 2,96	56,9 $\pm$ 3,31
pH	M $\pm$ DP	7,20 $\pm$ 0,14	7,06 $\pm$ 0,13	7,26 $\pm$ 0,10
Alcalinidade total (mgCaCO ₃ /L)	M $\pm$ DP	30,2 $\pm$ 1,94	28,5 $\pm$ 1,83	28,6 $\pm$ 2,06
Alcalinidade parcial (mgCaCO ₃ /L)	M $\pm$ DP	21,8 $\pm$ 1,75	20,3 $\pm$ 1,62	21,0 $\pm$ 1,77
Potencial zeta (mV)	M $\pm$ DP (mV)	- 20 $\pm$ 1,51	- 20 $\pm$ 1,26	- 21 $\pm$ 1,58

Absorbância 254 nm	M ± DP ER (%)	0,048 ± 0,007 22,0	0,048 ± 0,008 22,4	0,049 ± 0,008 21,4
Carbono total (mgC/L)	M ± DP ER (%)	7,96 ± 0,55 9,61	7,50 ± 0,33 14,9	7,24 ± 0,37 17,8
Carbono inorgânico (mgC/L)	M ± DP ER (%)	6,99 ± 0,30 2,18	6,66 ± 0,30 6,84	6,45 ± 0,20 9,15
Carbono orgânico total (mgC/L)	M ± DP ER (%)	0,97 ± 0,38 41,6	0,84 ± 0,32 49,6	0,74 ± 0,35 55,2

M é a média, DP é o desvio padrão e ER é a eficiência de remoção.

As águas filtradas dos FLDs em fluxo contínuo e intermitente igualmente não atingiram o padrão de potabilidade para cor aparente (15 uH). Como visto nas Figuras 76 e 77, a cor aparente remanescente está associada à cor verdadeira que praticamente não foi removida no tratamento com filtros lentos. Segundo o teste estatístico ANOVA, a diferença entre os valores remanescentes de cor aparente nas amostras AFIC, AFIPP, AFC não foram significativas, ou seja, o tipo de operação do filtro não influencia no desempenho em relação à cor aparente.

Figura 76 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m³/m².dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m³/m².dia) para a remoção de cor aparente.

Figura 77 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) para a remoção de cor verdadeira

As temperaturas das águas filtradas variavam em função das características climáticas. Como a AFIPP era coletada às 8 horas da manhã, naturalmente, a temperatura da água filtrada era menor do que a AFIC e AFC (Figura 78). A condutividade elétrica se manteve relativamente constante após as filtrações (Figura 79), segundo o teste ANOVA ao nível de 5% de significância.

Figura 78 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação à temperatura.

Figura 79 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação à condutividade elétrica.

Os valores de pH das águas filtradas AFIC, AFIPPP e AFC apresentaram resultados condizentes com a legislação brasileira que recomenda valores entre 6,0 e 9,5 (Figura 80). Já os valores de alcalinidade total (Figura 81) e parcial (Figura 82) se mantiveram relativamente constantes após a filtração, segundo o teste ANOVA de fator único a 5% de significância.

Figura 80 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação ao pH.

Figura 81 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação à alcalinidade total

Figura 82 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação à alcalinidade parcial

O valor de potencial zeta após a filtração se manteve negativo e relativamente constante (Figura 83) para as três condições AFIC, AFIPP e AFC. Essa constância negativa indica que não há a reversão de cargas no processo de filtração.

Figura 83 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação ao potencial zeta

O valor de absorvância 254 nm nas águas filtradas está ligado ao valor de cor verdadeira (DI BERNARDO, SABOGAL PAZ, 2008). Como observado na Figura 77 e 84, os dois parâmetros apresentaram baixas eficiências de remoção e produziram águas filtradas com características semelhantes em relação aos dois tipos de operação.

Figura 84 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação à absorvância 254 nm

O carbono removido nos filtros em fluxo contínuo e em fluxo intermitente é basicamente orgânico. Essa matéria orgânica provavelmente foi consumida pelos microrganismos atuantes na camada biológica dos filtros e utilizada para suas funções vitais (MILLER *et al*, 2008). Os resultados de carbono total, inorgânico e orgânico estão nas Figuras 85, 86 e 87.

Figura 85 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação ao carbono total

Figura 86 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação ao carbono inorgânico total

Figura 87 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) em relação ao carbono orgânico total

5.6.2.2 Parâmetros microbiológicos

O desempenho dos FLDs em fluxo contínuo e em fluxo intermitente foi monitorado também em função de parâmetros microbiológicos como coliformes totais, *Escherichia coli*, cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.

O primeiro parâmetro microbiológico avaliado foram os coliformes totais. Após as filtrações, as amostras AFIC, AFIPP e AFC obtiveram remoções de coliformes totais iguais a $2,60\log (\pm 0,99)$, $2,57\log (\pm 0,61)$ e $2,33\log (\pm 0,66)$, respectivamente, como mostrado na Figura 88.

Ao analisar a Figura 88, percebe-se a ausência de coliformes totais em apenas três análises ao longo da operação dos filtros, sendo estes o 30º dia do AFIC, 58º do AFIPP e 64º do AFC. Com base nestes resultados, é possível concluir que os FLDs operados em fluxo contínuo e em fluxo intermitente não apresentaram resultados em conformidade com o padrão de potabilidade brasileiro (BRASIL, 2011).

Figura 88 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) para a remoção de coliformes totais

Figura 89 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) para a remoção de coliformes totais, com enfoque nas águas filtradas.

A bactéria *E. coli* também foi avaliada nos FLDs em fluxo contínuo e intermitente. As amostras AFIC, AFIPP e AFC apresentaram remoções de *E. coli* iguais a $2,41\log (\pm 0,42)$,

2,86log ($\pm 0,79$) e 2,10log ($\pm 0,30$), respectivamente, como mostrado na Figura 90. Como observado, o tipo de operação (contínuo ou intermitente) teve grande influência na eficiência do tratamento com FLDs. Alguns trabalhos como os de Elliott *et al* (2008), Jenkins, Tiwari e Darby (2011) e Young-Rojanschi e Madramootoo (2014) mostram diferentes combinações dos parâmetros de operação e suas respectivas análises microbiológicas.

Elliott *et al* (2008) avaliaram um FLD em fluxo intermitente com períodos de pausa entre as alimentações de ± 12 h, semelhante ao período de pausa da amostra pontual do FLD intermitente. Os autores observaram uma redução da bactéria *E. coli* em 2,55log ($\pm 0,33$), resultado próximo ao deste estudo (2,86log $\pm 0,79$). Jenkins, Tiwari e Darby (2011) operaram um FLD em fluxo intermitente com uma alimentação após um curto período de pausa (± 5 h), próximo ao período de pausa de (± 4 h) da amostra composta do FLD intermitente. Neste caso, a redução de *E. coli* foi ligeiramente menor (1,60log $\pm 0,41$) que a deste estudo (2,41log $\pm 0,42$).

Young-Rojanschi e Madramootoo (2014) analisaram a remoção de diversos parâmetros de qualidade da água, incluindo a *Escherichia coli*, em um FLD em fluxo contínuo. Os autores indicaram uma redução de 3,71log da bactéria, valor quase duas vezes maior que à deste estudo (2,10log $\pm 0,30$). Entretanto, a alimentação do sistema contínuo proposta por Young-Rojanschi e Madramootoo (2014) foi por bombeamento, o que torna a tecnologia inviável tecnicamente e financeiramente às comunidades isoladas.

Figura 90 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo (1,22 m³/m².dia) e em fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m³/m².dia) para a remoção de *Escherichia coli*

Na Figura 91, observa-se um aumento na eficiência de remoção de *E. coli* nas três amostras ao longo da operação dos filtros; isto pode estar correlacionado ao processo de amadurecimento da camada biológica. Apesar do visível aumento da eficiência ao longo da operação, apenas as amostras filtradas pontuais do FLD intermitente nos 50°, 64° e 71° dia de operação tiveram ausência da bactéria *E. coli* e estavam em conformidade com o padrão de potabilidade brasileiro (BRASIL, 2011). O restante das amostras filtradas teve a presença da bactéria *E. coli*. Essa condição confere um risco à comunidade beneficiada e pode inviabilizar a transferência da tecnologia, por isso se torna imprescindível a desinfecção das águas filtradas.

Figura 91 – Desempenho dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo ($1,22 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) e em fluxo intermitente (taxa máxima de $2,79 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$) para a remoção de *Escherichia coli*, com enfoque nas águas filtradas.

Outra análise microbiológica foi em relação aos (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. Por aderirem facilmente às superfícies, os (oo)cistos de protozoários foram inseridos no sistema pontualmente sob às lâminas d'águas dos FLDs. Antes de avaliar o potencial de remoção, as suspensões de (oo)cistos foram contabilizadas, em triplicada, poço a poço.

Nesta etapa, foi utilizada uma nova suspensão de oocistos de *Cryptosporidium* spp. adquiridas da Waterborne. A concentração de oocistos nessa nova suspensão foi aproximadamente três vezes maior que a antiga, semelhante à concentração da suspensão de *Giardia* spp ($5 \mu\text{L} \approx 500$ (oo)cistos), como visto na Tabela 23.

Tabela 23 - Resultado da contagem em triplicata das suspensões de *Giardia* spp. (5 µL) da UNICAMP e de *Cryptosporidium* spp. (15 µL) da Waterborne para posterior inoculo

Suspensões	Poço da lâmina	Alíquota (µL)	Contagem de (oo)cistos	
			Corados	Não Corados
Giardia spp. ¹	1	5	108	219
	2		218	201
	3		211	173
	Média de Giardia spp ± DP ± CV (%)		179 ± 62 ± 34	198 ± 23 ± 12
	377 ± 85 ± 46			
Cryptosporidium spp. ²	1	15	396	588
	2		291	497
	3		348	501
	Média de Cryptosporidium spp. ± DP ± CV (%)		345 ± 53 ± 15	529 ± 51 ± 10
	874 ± 104 ± 25			

¹ UNICAMP; ² Waterborne

Para manter a quantidade de ± 500 (oo)cistos/L, o volume inoculado de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. foi relativo ao volume de cada um dos filtros. O FLD operando em fluxo contínuo tem um volume total de ± 20 L, o que remete ao volume de inoculo de 100µL de cada uma das suspensões. O FLD operando em fluxo intermitente logo após a alimentação tem um volume total de ± 35 L, o que remete ao volume de inoculo de 175µL de cada uma das suspensões. Após o inoculo, as águas filtradas foram analisadas em função da remoção de (oo)cistos. Este processo se repetiu por cinco vezes nos últimos dias de operação dos filtros em fluxo contínuo e intermitente.

As cinco amostras de águas filtradas dos FLDs em fluxo contínuo e intermitente apresentaram ausência de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. Esse resultado obtido indica remoções de $>5\log$ para os (oo)cistos de protozoários e apresentam conformidade com o padrão de potabilidade brasileiro (BRASIL, 2011).

Palmateer *et al* (1999) foram os únicos autores que avaliaram as remoções de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em filtros lentos em escala domiciliar. Estes autores utilizaram um FLD operado em fluxo intermitente e atingiram remoções médias de $3,8\log$ para oocistos e $>5\log$ para os cistos. Segundo os autores, a menor remoção de oocistos está associada à sua capacidade de compreensibilidade entre os vazios intergranulares.

5.6.3 Manutenção dos filtros lentos em escala domiciliar

5.6.3.1 Avaliação dos principais microrganismos atuantes no *schmutzdecke*

Duas avaliações da camada biológica foram feitas em cada um dos FLDs, sendo a primeira quando atingida a carreira de filtração e a segunda ao final da operação dos filtros. O final da carreira de filtração para os FLDs em fluxo intermitente e contínuo aconteceram no 53° e 59° dia de operação, respectivamente. Os microrganismos atuantes nas camadas biológicas dos filtros, nestes dias de operação, estão nas Figuras 92 e 93.

Vale ressaltar que a identificação dos organismos foi realizada pela Dra. Sandra Yamashiro do Laboratório de Protozoologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, especificamente inserida no grupo de pesquisa da Profa. Regina Maura Bueno Franco.

Figura 92 – Microrganismos atuantes no *schmutzdecke* do filtro lento em escala domiciliar intermitente no 53° dia de operação.

Legenda: A – *Vorticella* sp., B – Nematódeo, C – Zoóide de peritríquio, D – Ovo de Nematódeo

No FLD em fluxo intermitente foram identificados apenas dois organismos atuantes na camada biológica, sendo a *Vorticella* sp. (Figura 92a) em maior abundância e o nematódeo (Figura 92b) em menor abundância. As Figuras 92c e 92d correspondem aos mesmos organismos, entretanto em outro estágio de vida. Apesar de não terem sido inseridos no tratamento de forma proposital, a *Vorticella* sp. e os nematódeos, podem ter entrado no sistema pela mangueira que transporta a água do poço da EESC/USP que, inevitavelmente, contém microrganismos.

A *Vorticella* sp. é um ciliado que possui os flagelos distribuídos ao longo de toda a célula, também chamado de ciliado peritríquio. Esse organismo, comumente encontrado em águas doces, pode parasitar oocistos de *Cryptosporidium* spp. (FAYER *et al*, 2000; STOTT *et al*, 2004; SIQUEIRA-CASTRO *et al*, 2016) e bactérias (MANSANO, 2012). O nematódeo, popularmente chamado de verme, também pode ser encontrado em águas doces e, quando em vida livre, parasita bactérias (BLANC *et al*, 2006) e oocistos de *Cryptosporidium* spp. (HUAMANCHAY *et al*, 2004).

Como visto, ambos os organismos presentes na camada biológica parasitam cistos de *Cryptosporidium* spp. e bactérias como, por exemplo, a *Escherichia coli*. A abundância de *Vorticella* sp. e nematódeos pode ser um forte indício para explicação da remoção de $2,44\log (\pm 0,79)$ de *E. coli* e ausência de oocistos nas águas filtradas do FLD.

A mesma análise foi realizada em relação ao FLD em fluxo contínuo no 59º dia de operação. Os microrganismos atuantes neste filtro foram semelhantes ao FLD em fluxo intermitente, com a exceção da presença de rotíferos que também consomem bactérias (LI *et al*, 2013) e oocistos de *Cryptosporidium* spp. (FAYER *et al*, 2000; STOTT *et al*, 2004). A maior riqueza de microrganismos no FLD em fluxo contínuo pode estar relacionada à facilidade de manutenção dos microrganismos aeróbios devido ao nível constante do FLD.

Figura 93 - Microorganismos atuantes no *schmutzdecke* do filtro lento em escala domiciliar contínuo no 59° dia de operação.

Legenda: A – Zoóide de peritríquio, B – Rotífero, C – Nematódeo, D – Ciliado vacuolarizando

No final da operação (75° dia), os microrganismos atuantes na camada biológica nos FLDs em fluxo intermitente e contínuo foram novamente avaliados. As Figuras 94 e 95 expõem cada um dos organismos identificados. Ao comparar os resultados obtidos quando atingida a carreira de filtração e o final da operação, pode-se observar a presença dos mesmos microrganismos, mostrando uma tendência à composição do biofilme. Entretanto, no final da operação dos filtros foi observada uma maior predominância dos organismos.

Apesar dos resultados alcançados, a técnica utilizada para identificação dos microrganismos não é confiável para análise de biologia molecular. Por isso, como sugestão, a camada biológica dos FLDs em fluxo contínuo e intermitente pode ser novamente avaliada em função da técnica molecular para avaliação de outros microrganismos.

Figura 94 - Microorganismos atuantes no *schmutzdecke* do filtro lento em escala domiciliar intermitente no 75º dia de operação.

Legenda: A – *Vorticella* sp., B - Nematódeo

Figura 95 - Microorganismos atuantes no *schmutzdecke* do filtro lento em escala domiciliar contínuo no 75º dia de operação.

Legenda: A – Zoóide de peritríquio, B – Rotífero, C – Nematódeo, D – Ciliado vacuolarizando, E – Peritríquio, F – *Vorticella* sp.

5.6.3.2 Avaliação da estrutura física da manta feltro

As mantas feltro posicionadas no topo da camada filtrante nos FLDs em fluxo contínuo e intermitente foram analisadas em função das fotomicrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV). As imagens de MEV da manta antes da operação dos FLDs foram obtidas com aumento de 100x, 500x, 1000x e 3000x (Figura 96). Nessa primeira avaliação foi observada uma estrutura fibrosa com emaranhados, sem impurezas aderidas na superfície da manta.

Figura 96 – Fotomicrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da manta feltro antes da operação dos filtros em um aumento de 100x, 500x, 1000x e 3000x.

Após 75 dias de operação, as mantas posicionadas nos FLDs em fluxo contínuo (Figura 97) e em fluxo intermitente (Figura 98) foram avaliadas em função das fotomicrografias de MEV. Vale ressaltar que estas análises foram realizadas depois da raspagem e retirada da camada biológica.

Figura 97 – Fotomicrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da manta feltro posicionada no FLD contínuo em um aumento de 100x, 500x, 1000x e 3000x.

As imagens em MEV (Figuras 97 e 98) mostram que parte das impurezas encaminhadas aos filtros era aderida basicamente à superfície dos fios da manta feltro.

Paterniani (1991) realizou ensaios com mantas não tecidas como pré-tratamento aos filtros lentos convencionais e constatou um aumento em 1,1 a 3,6 vezes a duração da carreira de filtração. Esse resultado indica que as mantas no topo da camada filtrante dos filtros lentos em escala domiciliar também podem aumentar o tempo de produção de água filtrada.

Cumbi (2013) analisou a eficiência de remoção de turbidez em uma ETA piloto utilizando a filtração somente com manta sintética não tecida. Quando o sistema era operado em taxas de $5 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia.}$, a turbidez reduzia de 10 uT para valores menores que 5 uT durante as doze horas de monitoramento. As condições de operação de Cumbi (2013) foram similares ao deste estudo e isto é um indicativo que as mantas feltros posicionadas nos FLDs podem ter sido as responsáveis pela remoção de grande parte das impurezas da água clarificada.

Figura 98 – Fotomicrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da manta feltro posicionada no FLD intermitente em um aumento de 100x, 500x, 1000x e 3000x

Di Bernardo, Graham e Paterniani (1990) utilizaram as mantas não tecidas como pré-tratamento aos filtros lentos convencionais. Depois de três anos consecutivos de operação, as mantas não apresentaram nenhum sinal de deterioração, demonstrando sua alta durabilidade.

Com base nestes resultados, a manta filtro posicionada no topo da camada filtrante dos FLDs pode ser uma solução atrativa às comunidades isoladas devido ao aumento da carreira de filtração, à sua eficiência, à simplicidade e à durabilidade.

5.7 ENSAIOS DE DESINFECÇÃO

5.7.1 Preparação e caracterização dos desinfetantes alternativos

A esponja-vegetal (*Luffa cylindrica*) e o quiabo (*Hibiscus esculentus*) foram testados como desinfetantes alternativos. A semente da *L. cylindrica* e o fruto da *H. esculentus* foram avaliados através do preparo do extrato e as folhas da *L. cylindrica* através do preparo em pó.

5.7.1.1 Análise dos sólidos totais, fixos e voláteis

Os sólidos totais, fixos e voláteis foram quantificados para estimar a quantidade de desinfetante efetivamente dosado nos ensaios de desinfecção. Para a quantificação foram utilizados os procedimentos indicados em APHA *et al* (2012). Os resultados obtidos para os extratos da semente da *L. cylindrica* e do fruto da *H. esculentus* estão na Figura 99.

O extrato da semente da *L. cylindrica* apresentou teor de umidade semelhante ao fruto da *H. esculentus*, 98,51% e 98,15%, respectivamente. Esses valores foram obtidos pelo coeficiente angular da regressão linear entre a dosagem dos extratos e os sólidos totais. Como o preparo dos dois desinfetantes alternativos foi semelhante, era esperado que os teores de umidade dessem valores próximos.

Diferente do teor de umidade, a quantidade de sólidos totais voláteis variou entre os dois extratos. As sementes da *L. cylindrica* apresentaram 1,29% de STV, enquanto que os frutos da *H. esculentus* apresentaram 1,65% de STV. Essa diferença de 0,36% de sólidos totais voláteis entre os extratos é pequena, mas pode ser significativa no processo de desinfecção. Esses resultados foram confirmados nos ensaios de desinfecção em laboratório.

Figura 99 - Determinação dos sólidos totais, voláteis e fixos para os extratos da semente de *L. cylindrica* e do fruto da *H. esculentus*.

Semelhante aos resultados anteriores, os sólidos totais, fixos e voláteis foram quantificados para o desinfetante extraído das folhas da *L. cylindrica*. Este desinfetante foi preparado em pó, por isso, não foi comparado aos outros dois desinfetantes preparados pela extração aquosa. Os resultados para o desinfetante em pó das folhas da *L. cylindrica* estão na Figura 100.

Figura 100 - Determinação dos sólidos totais, voláteis e fixos para o desinfetante em pó extraído das folhas da *L. cylindrica*

O teor de umidade do desinfetante em pó foi de 7,28%, valor menor que o determinado para os outros modos de preparo. A quantidade de sólidos voláteis foi igual a 39,59%, valor superior ao determinado para os outros desinfetantes; entretanto, este valor de STV está relacionado à massa total dosada do pó. Quando analisada a porcentagem de STV em relação ao ST, o teor de compostos voláteis é de 42,9%, enquanto que as sementes das *L. cylindrica* e o fruto da *H. esculentus* são de 86,6% e 89,2%, respectivamente.

Essa diferença entre as porcentagens de STV podem indicar melhores desempenhos de desinfecção para os extratos do que para o pó, pois são os compostos orgânicos (altamente voláteis em $T \sim 550^{\circ}\text{C}$) presentes nos desinfetantes alternativos que fornecem as

propriedades para a inibição dos microrganismos (OYETAYO, OYETAYO, AJEWOLE, 2007; CARVALHO *et al*, 2011).

Oyetayo, Oyetayo e Ajewole (2007) rastrearam a presença de saponinas e alcaloides nas folhas e sementes da *L. cylindrica*. Esses compostos orgânicos inibem o crescimento microbiano devido à sua interferência na divisão celular (NOBLE, 1990). Carvalho *et al* (2011) constataram a presença de compostos de açúcares altamente ácidos, como o ácido palmítico, linoleico e esteárico, no fruto da *H. esculentus*. Esses compostos orgânicos formam uma estrutura tridimensional com as glicoproteínas e desenvolvem uma propriedade de anti-adesão aos microrganismos. Dessa forma, quanto maior a quantidade de sólidos voláteis e, conseqüentemente, de compostos orgânicos presentes no desinfetante, maior a chance dele ter ação de inibição sob os microrganismos. Esse resultado pode ser confirmado em ensaios de desinfecção.

5.7.2 Estudo do desempenho para inativação de *Escherichia coli*

O potencial de inativação de *E. coli* utilizando as três formas de desinfetantes alternativos (duas da *L. cylindrica* e uma do *H. esculentus*) foram avaliadas em diferentes condições de dosagem e valores pH durante tempos de contato variados.

A Figura 101 equivale ao log₁₀ de inativação de *E. coli* quando utilizado o extrato do fruto do *H. esculentus* como desinfetante alternativo. Como observado, a presença do extrato de quiabo, em quase todas as condições, favorece o crescimento ao invés da inativação de *E. coli*. Este fato aconteceu nas maiores dosagens (25 e 50 g/L) e em condições de pH baixo e alto, durante tempos de contato baixos (5 e 30 min). Segundo o teste ANOVA ao nível de significância de 5%, tanto o tempo de contato, quanto o pH e a dosagem do extrato de *H. esculentus* influenciam no log de inativação de *E. coli*; entretanto, o parâmetro de maior significância foi o tempo de contato.

Figura 101 – Inativação de *E. coli* em log utilizando como desinfetante alternativo o extrato do fruto de *H. esculentus*, sendo em A) pH 4,86 ($\pm 0,15$), B) pH 6,78 ($\pm 0,10$), C) pH 9,94 ($\pm 0,08$)

A melhor condição de desinfecção foi com 1 g/L do extrato de *H. esculentus* em pH 6,78 ($\pm 0,10$) durante um tempo de contato de 30 min. Essa condição, indicada pela seta,

forneceu inativação de *E. coli* de $1,12\log_{10}$ ($\pm 0,16$). O resultado obtido foi superior aos $0,37\log_{10}$ alcançado por Carvalho *et al* (2011) em uma dosagem de 97,7 g/L de extrato durante o tempo de contato de 30 min.

O segundo desinfetante alternativo analisado foi o extrato das sementes da *L. cylindrica* (Figura 102). Nesta etapa, apenas duas condições de ensaio foram avaliadas devido à baixa quantidade de desinfetante produzido ($\pm 3\%$). Em um baixo tempo de contato (5 min) o extrato forneceu condições para a desinfecção; entretanto, com o aumento do tempo (60 min) o extrato passou a ser ineficiente à inativação, favorecendo o crescimento. Uma hipótese para explicar esse crescimento é a adaptação das bactérias às condições estabelecidas pelo desinfetante.

Figura 102 – Inativação de *E. coli* em log utilizando como desinfetante alternativo o extrato das sementes de *L. cylindrica* (1 g/L e pH $7,34 \pm 0,05$)

O ensaio de desinfecção utilizando o extrato das sementes a 1 g/L em um tempo de contato de 5 min proporcionou uma inativação de $0,44\log$ ($\pm 0,17$). Shaheed *et al* (2009) tiveram um resultado próximo ($0,40\log$) para inativação de coliformes termotolerantes; entretanto com uma dosagem maior de extrato das sementes (67 g/L) em um tempo de contato de uma hora. Provavelmente, essa diferença está associada ao microrganismo alvo e as diferentes condições de ensaio.

O terceiro desinfetante analisado foi o pó das folhas da *L. cylindrica* (Figura 103). Semelhante ao extrato do fruto de *H. esculentus*, tanto o tempo de contato, quanto o pH e a dosagem do pó das folhas da *L. cylindrica* influenciaram o log de inativação de *E. coli*, segundo o teste ANOVA ao nível de 5% de significância; entretanto, o parâmetro de maior significância, neste caso, foi a dosagem do desinfetante. Esta análise estatística não é tão clara visualmente quanto à realizada para o extrato do quiabo. Entretanto, de modo geral, o desinfetante extraído das folhas apresenta valores mais próximos à zero de inativação do que os obtidos pelo

extrato do *H. esculentus* (Figura 101), isto indica que as bactérias *E. coli* não foram inativadas, mas também não cresceram nas condições estabelecidas pelo desinfetante.

Figura 103 – Inativação de *E. coli* em log utilizando como desinfetante alternativo o pó das folhas da *L. cylindrica*, sendo em: A) pH 2,73 ($\pm 0,02$), B) pH 7,33 ($\pm 0,14$), C) 9,71 ($\pm 0,05$)

O ensaio de desinfecção com a maior inativação foi com 1,0 g/L do pó das folhas de *L. cylindrica* em pH 2,73 ($\pm 0,02$) durante um tempo de contato de 60 min. Essa condição, identificada pela seta contínua, atingiu $0,72\log \pm (0,33)$ de inativação de *E. coli*, após a correção do pH com 50 μL de H_2SO_4 1M.

A necessidade do acidificante torna o processo muitas vezes inviável às comunidades isoladas com carência de recursos. Então, para adaptar a desinfecção à comunidade, foi selecionado o ponto com a maior inativação sem a necessidade de correção do valor de pH. Assim, a condição selecionada, indicada pela seta tracejada, foi com 0,25 g/L do pó das folhas de *L. cylindrica* em pH 7,33 ($\pm 0,14$) durante um tempo de contato de 60 min. A condição proporcionou uma inativação de $0,16\log (\pm 0,17)$ de *E. coli*.

Os pontos selecionados para os três desinfetantes alternativos em relação à inativação de *E. coli* foram, igualmente, avaliados em função de diversos parâmetros de qualidade, tais como: pH, temperatura, turbidez, cor aparente, cor verdadeira, carbono total e carbono inorgânico. Os resultados estão expostos na Tabela 24.

Tabela 24 – Análises microbiológicas e físico-químicas para os pontos selecionados dos três desinfetantes alternativos

Parâmetro	Unidade	Extrato do fruto de <i>H. esculentus</i>	Extrato das sementes de <i>L. cylindrica</i>	Pó das folhas de <i>L. cylindrica</i>
Inativação de <i>E. coli</i>	log	$1,12 \pm 0,16$	$0,44 \pm 0,17$	$0,16 \pm 0,17$
Dosagem	g/L	1,0	1,0	0,25
pH	-	$6,78 \pm 0,10$	$7,30 \pm 0,04$	$7,61 \pm 0,24$
Tempo de contato	min	30	5	60
Temperatura	°C	23	22	23
Turbidez	uT	$1,14 \pm 0,11$	$37,2 \pm 0,15$	$4,75 \pm 0,52$
Cor aparente	uH	$1,43 \pm 0,15$	$134 \pm 2,60$	$27,4 \pm 1,27$
Cor verdadeira	uH	$1,10 \pm 0,17$	$6,0 \pm 1,22$	$9,4 \pm 2,45$
Carbono total	mgC/L	$9,53 \pm 0,54$	$29,9 \pm 0,42$	$17,2 \pm 0,33$
Carbono inorgânico total	mgC/L	$6,00 \pm 0,20$	$5,72 \pm 0,21$	$6,66 \pm 0,02$

Dentre as opções testadas, o extrato do quiabo (*H. esculentus*) foi o desinfetante com a maior inativação de *E. coli* ($1,12\log \pm 0,16$). Apesar disto, o desempenho do extrato do *H. esculentus* foi baixo quando comparado à eficiência de outros desinfetantes químicos e físicos empregados em estações de tratamento. Por exemplo, Souza e Daniel (2005) conseguiram $3\log$ de inativação de *E. coli* com uma dosagem bem menor de hipoclorito de sódio (3,0 mg/L)

durante um tempo de contato de 20 min. Medeiros (2013) utilizou outro desinfetante, o hipoclorito de cálcio, e relatou que em CT (concentração e tempo de contato) próximos a 50 mg.min.L⁻¹ o desinfetante proporcionou 100% de eficiência em relação as bactérias *E. coli*.

A desinfecção com extrato de *H. esculentus* não atendeu o padrão de potabilidade (BRASIL, 2011), por isso pode conferir risco eminente à população caso seja consumida. Uma possível alternativa de desinfecção é pela radiação solar que, além de ser uma fonte natural disponível, é perfeitamente aplicável em comunidades isoladas, pois não há necessidade de dosagem de produtos químicos e não há custo com materiais comerciais. No tratamento com SODIS, a água contaminada é colocada em garrafas de plástico tipo PET e exposta à luz solar. A exposição pode variar entre 1,0 h (se a temperatura exceder 50°C) a 2 dias (se houver nebulosidade). A eficiência do tratamento é intensificada se as garrafas estiverem acomodadas em superfícies refletoras de luz solar como alumínio. Segundo o manual desenvolvido pelo EAWAG/SANDEC em 2002, SODIS pode atingir até 4 logs de inativação de *Escherichia coli*. A limitação dessa técnica está relacionada à dependência da temperatura, exposição solar, do clima e das condições do tempo.

As qualidades das águas desinfetadas pelo extrato do quiabo, extrato das sementes da bucha e pó das folhas da bucha, expostas na Tabela 24, estão relacionadas ao modo de preparo de cada um dos desinfetantes. Por exemplo, o extrato preparado a partir dos frutos de *H. esculentus* era uma solução viscosa, transparente e com pequenos sólidos em suspensão; já o extrato preparado a partir das sementes de *L. cylindrica* era uma solução com muitas partículas em suspensão e de coloração amarelada, causada provavelmente pelo processo de fervura; e o pó preparado a partir das folhas era uma substância que não se dissolia completamente na água, resultando também em partículas em suspensão. Essas partículas em suspensão presentes nos desinfetantes extraídos tanto das sementes quanto do pó da *L. cylindrica* causaram o aumento do valor de turbidez e a cor amarelada característica do extrato das sementes foi o responsável pelo aumento no valor de cor aparente.

O extrato do fruto de *H. esculentus* proporcionou água desinfetada com a melhor qualidade em relação aos parâmetros microbiológicos e físico-químicos; entretanto, mesmo assim, não atingiu ao padrão de potabilidade (BRASIL, 2011).

5.7.3 Estudo do desempenho para inativação de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

O melhor resultado para a inativação de *E. coli* foi o ensaio utilizando o extrato do fruto do quiabo (*H. esculentus*) a 1g/L e em pH próximo a neutralidade ($6,78 \pm 0,10$) durante um

tempo de contato de 30 min. Neste item, esta condição ótima foi avaliada também em relação à inativação de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

Nos ensaios anteriores foram utilizadas as suspensões de cistos de *Giardia* spp. adquiridos na UNICAMP e os oocistos de *Cryptosporidium* spp. adquiridos na *Waterborne*. Entretanto, nesta etapa, a suspensão de *Cryptosporidium* da *Waterborne* teve que ser trocada por uma suspensão adquirida na UNESP. Os (oo)cistos inoculados no sistema foram então contabilizados, em triplicata, poço a poço. Nas alíquotas de 5 µL da suspensão da UNICAMP e da UNESP, encontrou-se em média 131 (± 41) cistos e 338 (± 135) oocistos, respectivamente, como mostra a Tabela 25.

Tabela 25 - Resultado da contagem em triplicata das suspensões de *Giardia* spp. (5 µL) da UNICAMP e *Cryptosporidium* spp. (5 µL) da UNESP para posterior inóculo

Suspensões	Poço da lâmina	Alíquota (µL)	Contagem de (oo)cistos	
			Corados	Não Corados
<i>Giardia</i> spp. ¹	1	5	133	27
	2		72	15
	3		112	35
	Média de <i>Giardia</i> spp ± DP ± CV (%)		106 ± 31 ± 29	26 ± 10 ± 39
				131 ± 41 ± 69
<i>Cryptosporidium</i> spp. ²	1	5	243	72
	2		155	64
	3		329	151
	Média de <i>Cryptosporidium</i> spp. ± DP ± CV (%)		242 ± 87 ± 36	96 ± 48 ± 50
				338 ± 135 ± 86

¹ adquirido na UNICAMP; ² adquirido na UNESP

Essas alíquotas foram inoculadas em três amostras com água do poço da EESC/USP e, em seguida, o extrato do fruto de *H. esculentus* a 1 g/L foi inserido e o tempo de contato de 30 min foi contabilizado. Após a desinfecção, as três amostras foram submetidas ao método de concentração por FCCa. Os resultados das amostras após a desinfecção estão expostos na Tabela 26.

Tabela 26 – Desinfecção de (oo)cistos de protozoários com extrato do fruto de *H. esculentus* a 1 g/L por 30 min.

Suspensões	Amostra Poço da lâmina	1						2						3					
		1		2		3		1		2		3		1		2		3	
		C	N C	C	N C	C	N C	C	N C	C	N C	C	N C	C	N C	C	N C	C	N C
Cistos de <i>Giardia</i> spp.	Cistos inoculados	131 ± 41																	
	Contagem de organismos	9	1	3	0	3	2	15	3	7	5	10	4	6	3	1	2	3	1
	Contagem de organismos	10		3		5		18		12		14		9		3		4	
	Soma dos poços	18						44						16					
	Número de cistos*	60						147						53					
	Média total de cistos ± desvio padrão	87 ± 52																	
	Número de cistos viáveis ± desvio padrão	63 ± 38																	
	Cistos viáveis (%)	73,1																	
Oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp.	Oocistos inoculados	338 ± 135																	
	Contagem de organismos	10	8	13	3	8	6	56	21	1	3	14	10	17	6	16	8	9	3
	Contagem de organismos	18		16		14		77		4		24		23		24		12	
	Soma dos poços	48						105						59					
	Número de oocistos*	160						350						196					
	Média total de oocistos ± desvio padrão	235 ± 101																	
	Número de oocistos viáveis ± desvio padrão	160 ± 69																	
	Oocistos viáveis (%)	67,9																	

* Corresponde à soma dos poços vezes o fator de multiplicação (FM). O FM considera o volume do pellet (0,5 mL) sobre o volume total das alíquotas (3 vezes 50 µL)

C = corados, NC = não corados

De acordo com a Tabela 26, os valores médios entre as três amostras foram de 87 (± 52) cistos e 235 (± 101) oocistos, estes resultados remetem a 66,1% e 69,6% de recuperação, com coeficientes de variação de 60,1% para *Giardia* spp. e 42,8% para *Cryptosporidium* spp., respectivamente. Tanto as recuperações quanto os coeficientes de variação estão de acordo com os intervalos recomendados pelo Método 1623.1. Em outras palavras, os ensaios apresentam confiabilidade em termos de recuperação.

A eficiência da desinfecção dos (oo)cistos em relação ao extrato de *H. esculentus* foi avaliada através do método de inclusão do corante fluorogênico vital IP (iodeto de propídio). Antes do processo de desinfecção, as porcentagens de organismos corados eram de 80,5% cistos e 71,7% oocistos. Após a desinfecção, estas porcentagens foram de 73,1% cistos e 67,9% oocistos, valores menores, mas próximos aos iniciais. Essa redução na porcentagem de organismos corados pode estar associada à incerteza de organismos inoculados em cada amostra, mesmo após as homogeneizações das suspensões.

De modo geral, o desinfetante extraído do fruto de *H. esculentus* não afetou significativamente a viabilidade dos (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., segundo o teste ANOVA em um nível de 5% de significância. Não é possível comparar este resultado com outros reportados na literatura, pois, até o presente momento, não há estudos sobre a inativação de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. utilizando desinfetantes a base de plantas.

Esperava-se que o desinfetante extraído do fruto do quiabo não fosse afetar a viabilidade dos (oo)cistos de protozoários, pois estes microrganismos apresentam características morfológicas que fornecem alta resistência até à desinfecção com cloro (KORICH *et al*, 1990). Algumas pesquisas sobre métodos de desinfecção alternativos ao cloro com eficiências de inativação podem ser ponderadas como, por exemplo, o ozônio e desinfecção solar (SODIS).

Boni (2016) avaliou a desinfecção de (oo)cistos de protozoários *parvum* com ozônio, utilizando o kit Merifluor® para contagem dos organismos e o iodeto de propídio para análise da viabilidade. A melhor condição para desinfecção foi em 5 mgO₃L⁻¹ e tempo de contato de 5 min e atingiu inativações de 2,52 e 2,92 log de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium parvum*, respectivamente.

Heaselgrave e Kilvington (2011) avaliaram a inativação dos (oo)cistos utilizando a desinfecção solar (SODIS) simulada em laboratório, utilizando o kit Merifluor® para contagem dos organismos e o iodeto de propídio para análise da viabilidade. Os ensaios foram conduzidos em placas de microtitulação com 12 poços transparentes contendo as suspensões de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium parvum*. As placas foram expostas à luz solar simulada com uma irradiância óptica de 550 Wm⁻² fornecida a partir de um simulador. Após 2 horas de irradiação, os autores obtiveram 1,92 e 0,07log de inativação de cistos e

oocistos, respectivamente. Após 6 horas de irradiação, essas inativações subiram para 1,92 e 0,32log.

Gómez-Couso *et al* (2009) também avaliaram a inativação de oocistos de *Cryptosporidium parvum*. Os autores constataram que infectividade do oocisto era reduzida em níveis de irradiação maiores que 600 Wm^{-2} durante tempos de exposição entre 8 e 12h. Esse resultado pode explicar a menor inativação de oocistos no estudo de Heaselgrave, Kilvington (2011).

Estes resultados demonstram que a desinfecção solar (SODIS) pode ser uma alternativa como pós-tratamento aos FLDs em comunidades isoladas para a redução do risco microbiológico consequente da bactéria *Escherichia coli*, cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp.

5.8 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS

Os ensaios toxicológicos foram realizados utilizando as águas bruta, clarificada e filtrada. Neste caso, a água bruta foi uma mistura de caulinita, ácido húmico e *E. coli*; a água clarificada foi a coletada após o pré-tratamento com *O. cochenillifera*; e as águas filtradas foram as coletadas na saída dos filtros lentos em escala domiciliar em fluxo contínuo e em fluxo intermitente no 65º dia de operação. Estes ensaios utilizaram as larvas de IV instar do inseto *Chironomus xanthus* como organismo-teste e a sua mortalidade após 96h foi aferida para avaliar os possíveis efeitos agudos do tratamento (Figura 104).

Figura 104 – Ensaio utilizando larvas do inseto *Chironomus xanthus* para avaliar a toxicidade da água bruta, clarificada e filtrada

De acordo com os resultados da Figura 104, 100% das larvas de *C. xanthus* sobreviveram aos bioensaios. Essa porcentagem não dá base para calcular as doses letais aos organismos, por isso os resultados não foram expressos em relação ao CL_{50} e CE_{50} . Entretanto, segundo a classificação proposta por Barbosa (2000), pode-se afirmar que a água bruta, clarificada e filtrada não foi tóxica ao organismo testado.

6 CONCLUSÕES

Os FLDs foram erguidos em estrutura de PVC utilizando areias de construção civil como materiais filtrantes e manta de fácil acesso. A montagem do sistema foi simples e passível de ser construída em comunidades isoladas. O preparo dos materiais filtrantes foi a etapa mais laboriosa e precisou de um elevado consumo de água (2282 L).

Os escoamentos nos FLDs em fluxo contínuo (taxa de 1,22 m³/m².dia) e fluxo intermitente (taxa máxima de 2,79 m³/m².dia) foram caracterizados por ensaios de traçador em injeções tipo degrau. O FLD em operação contínua se ajustou melhor ao modelo N-CSTR e apresentou resultados próximos à realidade pistonada ($N = 11 \pm 8$). O escoamento no FLD em operação intermitente resultou em um valor de mMDI igual a 1,50, também próximo à idealidade pistão.

O coagulante natural *Opuntia cochenillifera* preparado em pó apresentou maiores eficiências para remoção de turbidez e cor aparente do que a *Opuntia ficus indica*. O ensaio de tratabilidade com 30 mg/L de *O. cochenillifera* sem necessidade de correção do pH ($\pm 6,8$) proporcionou a remoção de 96,2% de turbidez e 77,4% de cor aparente. O pré-tratamento adaptado às comunidades isoladas utilizando o coagulante natural apresentou valores compatíveis de turbidez ($7,83 \pm 2,32$ uT) para inserção aos filtros.

O sistema com pré-tratamento utilizando *O. cochenillifera* em pó seguido pelos FLDs em fluxo contínuo e intermitente foi operado por 75 dias e resultou em água filtrada com valores mínimos de turbidez iguais a 1,47 uT ($\pm 0,40$) e valores mínimos de cor aparente e verdadeira iguais a 18,5 uH ($\pm 2,85$) e 15,4 uH ($\pm 3,43$), respectivamente. Este sistema atingiu remoções de coliformes totais em até 2,60log ($\pm 0,99$) e *Escherichia coli* em até 2,86log ($\pm 0,79$) e, além disso, produziu água filtrada com ausência de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. Apesar dos resultados alcançados, a água filtrada ainda não estava em acordo com o padrão de potabilidade brasileiro.

O extrato do quiabo (*Hibiscus esculentus*), utilizado como desinfetante alternativo, teve um melhor desempenho na inativação da bactéria *E. coli* do que o extrato das sementes e o pó da folhas da esponja-vegetal (*Luffa cylindrica*). A melhor condição para desinfecção ($1,12\log \pm 0,16$) foi no ensaio com dosagem de 1 g/L do extrato do quiabo, sem a necessidade de ajustar o pH ($\pm 6,78$) durante um tempo de contato de 30 min.

As amostras de água bruta, clarificada e filtrada dos FLDs em fluxo contínuo e intermitente não apresentaram toxicidade agudo ao organismo teste *Chironomus xanthus*.

7 RECOMENDAÇÕES

1. Construir os FLDs com estrutura resistente para facilitar o transporte às comunidades isoladas.
2. Realizar estudos com FLD alimentado com doses elevadas de (oo)cistos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. durante 1 ano para determinar sua influência sob o sistema.
3. Pesquisar a eficiência de inativação de *Escherichia coli* e de (oo)cistos de protozoários utilizando diferentes desinfetantes alternativos.
4. Realizar ensaios toxicológicos utilizando as larvas de *Chironomus xanthus* com a água desinfetada.

REFERÊNCIAS

- AHAMMED, M. M; DAVRA, K. **Performance Evaluation of Biosand Filter Modified with Iron Oxide-Coated Sand for Household Treatment of Drinking Water**. *Desalination* 276 (1 e 3), 287 e 293. 2011.
- ALMEIDA, C. A. **Aspectos do Ciclo de Vida de Espécies Bentônicas Nativas e sua Utilização na Avaliação da Qualidade de Sedimentos Naturais e Reservatórios**. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 2007.
- ALVES, M. A. *et al.* Fruto de Palma [*Opuntia ficus indica* (L) MILLER, Cactaceae]: Morfologia, composição química, fisiologia, índices de colheita e fisiologia pós-colheita. **Revista Iberoamericana de Tecnologia**. 9, n. 1, 16-25. 2008.
- ANASTASAKIS, K. *et al.* Flocculation Behavior of Mallow and Okra Mucilage in Treating Wastewater. **Desalination** 249:786-791, 2009.
- ANI, J. U. *et al.* The Coagulation Performance of Okra Mucilage in na Industrial Effluent by Turbidimetry. **Int. J. Chem. Sci.**: 10(3), 2012, 1293-1308. 2012.
- APHA; AWWA; WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. United States of America. 2012.
- ARNOLD, N. B. **Household biosand water filters: materials, capacity and temperature effects on performance**. Master's Thesis. Michigan Technological University. 2015.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **NBR 11799: Material filtrante – areia, antracito de pedregulho**. Especificação. ABNT. 7p. 1990.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **NBR 12713: Ecotoxicologia Aquática: Toxicidade Aguda – Método de Ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea)**. Rio de Janeiro. 21 p. 2009.
- BAEISSA, E. S. Photocatalytic removal of cyanide by cobalt metal doped on TiO₂–SiO₂ nanoparticles by photo-assisted deposition and impregnation methods. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**. 20, 3761-3766. 2014.

BAIG, S. A. *et al.* Improvement of Drinking Water Quality by Using Plant Biomass Through Household Biosand Filter – A Decentralized Approach. **Ecological Engineering**. 37 (2011). 1842-1848. 2011.

BALDURSSON, S.; KARANIS, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks—an update 2004–2010. **Water Research**, v. 45, n. 20, p. 6603-6614, 2011.

BARBOSA, R. M. **Avaliação do impacto de efluentes (lodos) de Estações de Tratamento de Água à biota aquática através de testes de toxicidade**. 2000. 199 f. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2000.

BONI, D. M. **Avaliação da viabilidade de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium parvum* em água filtrada obtida após tratamento convencional com flotação e ozonização**. Universidade de São Paulo. Escola de Engenharia de São Carlos. Dissertação (Mestrado). 2016.

BLANC, C. *et al.* Nutrition on bacteria by bacterial-feeding nematodes and consequences on the structure of soil bacterial community. **European Journal of Soil Biology**. 42, S70-S78. 2006.

BRADLEY, I.M. **Iron oxide amended biosand filters for virus removal**. Thesis Master of Science. University of Illinois at Urbana-Champaign. USA. 2011.

BRASIL. **Portaria nº 2914 de 12/11/2011**. DOU, Seção 1, n. 239, 39-46. Ministério da Saúde. 2011.

BUSTILLOS, T. L. G; CARPINTEYRO-URBAN, S; OROZCO, C. Production and Characterization of *Opuntia ficus-indica* Mucilage and Its Use as Coagulant-Flocculant Aid for Industrial Wastewaters. **International Journal of Biotechnology Research**, v 1(3). p. 38-45. April 2013.

CACCIÒ, S. M; WIDMER, G. **Cryptosporidium: parasite and disease**. Springer. 2014.

CAMPAGNA, A. F; RODRIGUES, B. K; NOGUEIROL, R. C; VERANI, N. F; ESPÍNDOLA, E. L. G; ALLEONI, L. R. F. Use of Artificial Sediment to Assess Toxicity of Chromium on

Chironomus xanthus. *Danio rerio* and *Poecilia reticulata*. **Acta Limnologica Brasiliensia**. v. 25, n. 1, p. 42-53. 2013.

CANTUSIO NETO, R. **Estudo dos métodos: floculação em carbonato de cálcio e adaptação das técnicas de filtração em membrana e separação imunomagnética para a detecção de *Cryptosporidium* e *Giardia* em amostras hídricas**. Tese (Doutorado). Instituto de Biologia. Universidade Estadual de Campinas. 2008.

CARVALHO, D. C. C. R. *et al.* Antibacterial Properties of the Extract of *Abelmoschus esculentus*. **Biotechnol Bioprocess Eng** 16:971-977, 2011.

CARVALHO, T. K; SABOGAL PAZ, L. P. **Filtração Lenta em Areia como Alternativa Doméstica de Tratamento de Água – Eficiência do Método de Operação por Batelada**. Relatório Final. Pesquisa de Iniciação Científica. PIBIC. EESC/USP. São Carlos. 2013.

CAVALCANTI, V. A. **Avaliação da Toxicidade de Sedimentos e Águas Contaminados com Azocorantes Têxteis Utilizando *Chironomus xanthus* e *Daphnia similis***. Dissertação (Mestrado). Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca. Rio de Janeiro. 2010.

CAVALIER-SMITH, T. Gregarine site-heterogeneous 18S rDNA trees, revision of gregarine higher classification, and the evolutionary diversification of Sporozoa. **Eur. J. Protistol.** 50 (5), 472 - 495. 2014.

CENTRE OF AFFORDABLE WATER AND SANITATION TECHNOLOGY – CAWST. **Biosand Filter Manual. Design, Construction, Installation, Operation and Maintenance**. Training Manual. Canada. 2010.

CHALMERS, R. M. ***Cryptosporidium***. Second Edition ed. Elsevier, 2014.

CHANDRASEKHAR, S; PRAMADA, P. N. Rice husk ash as an adsorbent for methylene blue—effect of ashing temperature. **Adsorption**. 12, 27-43.

CHECKLEY, W. *et al.* A review of the global burden, novel diagnostics, therapeutics, and vaccine targets for cryptosporidium. **Lancet Infect Dis.** 15(1): 85 – 94. 2015.

CHIACCHIO, F. P. B; MESQUITA, A. S; SANTOS, J. R. Palma Forrageira: Uma Oportunidade Econômica Ainda Desperdiçada para o Semiárido Baiano. **Bahia Agric**, v. 7, n. 3, nov 2006.

CHO, E.J. *et al.* A Waterborne Outbreak and Detection of *Cryptosporidium* Oocysts in Drinking Water of an Older High-Rise Apartment Complex in Seoul. **Korean Journal of Parasitology**. v. 51, n. 4, 2013.

CHOY, S. Y. *et al.* A Review on Common Vegetables and Legumes as Promising Plant-Based Natural Coagulants in Water Clarification. **Int. J. Environ. Sci. Technol.** December. 2015.

CHOY, S. Y. *et al.* Utilization of plant-based natural coagulants as future alternatives towards sustainable water clarification. **Journal of Environmental Sciences**. 26 (2014). 2178-2189. (2014)

CONTRERAS-PADILLA, M. *et al.* Characterization of crystalline structures in *Opuntia ficus indica*. **J. Biol Phys.** 41: 99-112. 2015.

COSTA, C. R. *et al.* A Toxicidade em Ambientes Aquáticos: Discussão e Métodos de Avaliação. **Quim. Nova**. v. 31. n. 7, p. 1820-1830. 2008.

COVERT, T. C. *et al.* Evaluation of the Autoanalysis Colilert Test for Detection and Enumeration of Total Coliforms. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 55, n 10, 2443-2447. 1989

CUMBI, H. A. **Avaliação do desempenho de mantas sintéticas não tecidas no tratamento de água para consumo humano visando utilizando em comunidades rurais – ensaio em escala piloto**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2013.

DALY, E. R. *et al.* Outbreak of Giardiasis associated with a community drinking-water source. **Epidemiology and Infection**. v. 138, n. 4, 2010.

DELOYDE, J. L. **Removal of MS2 Bacteriophage, *Cryptosporidium*, *Giardia* and Turbidity by Pilot-Scale Multistage Slow Sand Filtration**. Thesis. University of Waterloo. 2007.

DI BERNARDO, L; DANTAS, A. D. B; VOLTAN, P. E. N. **Tratabilidade de Água e dos Resíduos Gerados em Estações de Tratamento de Água**. Editora LDiBe. 2011.

DI BERNARDO, L.; GRAHAM, N. J. D.; PATERNIANI, J. E. S. Investigao Experimental sobre Desempenho de Mantas Snticas na Filtrao Lenta de guas de Abastecimento. **Anais: XXIII CONGRESSO INTERAMERICANO DE INGENIERIA SANITRIA Y AMBIENTAL**. San Juan, Puerto Rico. 1990.

DI BERNARDO, L; SABOGAL PAZ, L. P. **Seleo de tecnologia de tratamento de gua**. So Carlos: LDiBe LTDA. 878p. 2008.

DIAZ, A. *et al.* A preliminary evaluation of turbidity removal by natural coagulants indigenous to Venezuela. **Process Biochemistry**. 35, 391-395. 1999.

DORNFELD, C. B. **Utilizao de Chironomus spp. (Diptera, Chironomidae) para a Avaliao da Qualidade de Sedimentos e Contaminao por Metais**. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de So Carlos, Universidade de So Paulo, 2006.

EARWAKER, P. **Evaluation of Household Biosand Filters in Ethiopia**. Thesis (Master of Science). Institute of Water and Environment, Cranfield University, Silsoe, United Kingdom. 2006.

EAWAG/SANDEC. **Desinfeco solar da gua – Guia de aplicaes do SODIS**. Dubendorf. 2002.

ECKNER, K. F. Comparison of Membrane Filtration and Multiple-Tube Fermentation by the Colilert and Enterolert Methods for Detection of Waterborne Coliform Bacteria, *Escherichia coli*, and Enterococci Used in Drinking and Bathing Water Quality Monitoring in Southern Sweden. **Applied and Environmental Microbiology**. v 64, n 8, 3079-3083. 1988.

ELLIOT, M A. *et al.* Reductions of E-coli, Echovirus Type 12 and Bacteriophages in na Intermittently Operated Household-Scale Slow Sand Filter. **Water Research** 42, p. 2662-2670. 2008.

ELLIOT, M. A. *et al.* Investigation of E. coli and Virus Reductions Using Replicate, Bench-Scale Biosand Filter Columns and Two Filter Media. **Int. J. Environ. Res. Public Health**. 12, 10276-10299. 2015.

ELLIOT, M.A. *et al.* Virus Attenuation by Microbial Mechanisms During the Idle Time of a Household Slow Sand Filter. **Water Research** 45 p. p. 4092-4102. 2011.

FADAEI, A. Comparison of the Efficiency of Physical and Biological Treatment of Slow Sand Filter in Kahkash (Samaan) Treatment Plant. **Resources and Environment**. 5(4): 107-109. 2015.

FAGNANI, R. A. G. **Avaliação de dano morfológico em oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. pela ação da peroxidação assistida por luz ultravioleta (H_2O_2/UV).** Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas (Campinas – SP). 2010.

FAHMI, M. R. *et al.* Performance Evaluation of Okra (*Abelmoschus esculentus*) as Coagulant for Turbidity Removal in Water Treatment. **Key Engineergin Materials**. 594- 595 (2014). pp. 226-230. 2014.

FARINELLA, N. V; MATOS, G. D; ARRUDA, M. A. Z. Grape bagasse as a potential biosorbent of metals in effluent treatments. **Bioresource Technology**. 98, 1940-1946. 2007.

FAYER, R. *et al.* Rotifers Ingest Oocysts of *Cryptosporidium parvum*. **J. Eukaryot Microbiol**. 47(2): 161-163. 2000

FENG, Y. *et al.* Occurrence, source, and human infection potential of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. in source and tap water in Shanghai, China. **Applied and environmental microbiology**, v. 77, n. 11, p. 3609–16, 2011.

FLATEN, T. P. Aluminium as a risk fator in Alzheimer's disease, with emphasis on drinking water. **Brain Research Bulletin**. v 55, n 2, 187-196. 2011.

FLETCHER, M. S. *et al.* Enteric Protozoa in the Developed World: a Public Health Perspective. **Clinical Microbiology Reviews**. v 25(3): 420-449. 2012.

FOGLER, H.S. **Elementos de Engenharia das Reações Químicas**. Rio de Janeiro, LTC. 2002.

FONSECA, A. L. **Avaliação da Qualidade da Água na Bacia do Rio Piracicaba/SP através de Testes de Toxicidade com Invertebrados**. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. 1997.

FRANCO, R. M. B. Protozoários de veiculação hídrica: relevância em saúde pública. **Revista Pan-americana de Infectologia**. v 9(4): 36-43. 2007

FRANCO, R. M. B; BRANCO, N; LEAL, D. A. G. Cryptosporidium e Giardia: Desafios em Águas de Abastecimento Público. **Revista de Patologia Tropical**. v. 41(2):119-135, abr-jun 2012.

FRANCO, R. M. B; ROCHA-EBERHARDT; CANTUSIO NETO, R. Occurrence of Cryptosporidium oocysts and Giardia cysts in Raw Water from the Atibaia River, Campinas, Brazil. **Rev Inst Med Trop**. São Paulo 43. p. 109-111. 2001.

FREGONESI, B. M. *et al*. Cryptosporidium e Giardia: Desafios em Águas de Abastecimento Público. **O Mundo da Saúde**, São Paulo; 36(4):602-609. 2012.

GAAST, S. J. *et al*. Small-angle x-ray powder diffraction, morphology, and structure of allophane and imogolite. **Clays and Clay Minerals**. 33, n 3, 237-243. 1985.

GEBRESAMUEL, N; GEBRE-MARIAM, T. Comparative Physico-Chemical Characterization of the Mucilage of Two Cactus Pears (*Opuntia* spp.). Obtained from Mekelle, Northern Ethiopia. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, 3, p. 79-86. 2012.

GELDREICH, E. E. **Microbial Quality in Water Supply Distribution Systems**. CRC Press Inc. Boca Raton, FL. 1996.

GIGLIO, L. G. **Avaliação de Diversos Métodos de Detecção de Cistos de Giardia spp. e Oocistos de Cryptosporidium parvum Presentes no Resíduo Gerado Após o Tratamento de Água de Abastecimento com Turbidez Elevada**. Universidade de São Paulo. Escola de Engenharia de São Carlos. Dissertação (Mestrado). 2015.

GÓMEZ-COUSO, H. *et al*. Effect of the radiation intensity, water turbidity and exposure time on the survival of Cryptosporidium during simulated solar disinfection of drinking water. **Acta Tropica**. 112, 43-48. 2009.

GLATTER, O; KRATKY, O. Small Angle X-ray Scattering. **Academic Press**. 1982.

GRANADOS, S. D; CASTAÑEDA, A. D. P. **El nopal: historia, fisiología, genética e importancia frutícola**. Editorial Trillas, Mexico City. 1996.

GREBREMICHAEL, K. A. *et al.* A Simple Purification and Activity Assay of The Coagulant Protein From Moringa Oleifera Seed. **Water Research**. 39(11):2338-2344. Jun. 2005.

GRIMASON, A. M. *et al.* Application of DAPI and immunofluorescence for enhanced identification of Cryptosporidium spp oocysts in water samples. **Water Research**, v. 28, n. 3, p. 733-736, 1994.

GUZMAN-HERRADOR, B. R. *et al.* Waterborne outbreaks in the Nordic countries 1998 to 2012. **Euro Surveill**. 20 pii: 21160. 2015.

HACHICH, E. M. *et al.* Importância do Controle dos Parasitas Patogênicos Giardia e Cryptosporidium em Águas Captadas para Consumo Humano. **XXVII Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental**. RJ. Brasil. Anais Eletrônicos II-042. 2000.

HARHOFF, J; CLEASBY, J. L. Comparing aluminum and iron coagulants for inline filtration of cold water. **Journal – American Water Works Association**. v 80, n 4, 168-175. 1988.

HEASELGRAVE, W; KILVINGTON, S. The efficacy of simulated solar disinfection (SODIS) against Ascaris, Giardia, Acanthamoeba, Naegleria, Entamoeba and Cryptosporidium. **Acta Tropica**. v 119, i 2-3, 138-143. 2011.

HELLER, L; PÁDUA, V. L. **Abastecimento de Água para Consumo**. Ed. UFMG. Belo Horizonte. 2006.

HIGASHI, E. S. **Bioensaios de toxicidade da água do efluente de Biofiltros em areia como ferramenta de avaliação da qualidade da água**. Universidade de São Paulo. Escola de Engenharia de São Carlos. Dissertação (Mestrado). 2016.

HUAMANCHAY, O. *et al.* Ingestion of Cryptosporidium oocysts by Caenorhabditis elegans. **J Parasitol**. 90(5):1176–1178. 2004.

HWANG, H. G. *et al.* Risk Assessment of the Schmutzdecke of Biosand Filters: Identification of an Opportunistic Pathogen in Schmutzdecke Developed by na Unsafe Water Source. **Int. J. Environ. Res. Public Health** 2014, 11, p. 2033-2048. 2014.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico (PNSB)**. 2002.

IDEXX. **Colilert®: um teste simples de 24 horas para coliformes e *E. coli***. 2002.

IPA. **Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia e Napolea*) em Pernambuco**. Recife, 2006.

JENKINS, M.V; TIWARI, S. K; DARBY, J. Bacterial, Viral and Turbidity Removal by Intermittent Slow Sand Filtration For Household Use in Developing Countries: Experimental Investigation and Modeling. **Water Research** 45. p. 6227-6239. 2011.

JIGAR, E. *et al.* Study on renewable biogas energy production from cladodes of *Opuntia ficus indica*. **Journal of Food and Agriculture Science**. v 1(3). p. 44-48. 2011.

JIMENEZ, B. *et al.* Dextran blue colorant as a reliable tracer in submerged filters. **Wat. Res.** v 22, n 10. p 1253-1257. 1988.

KENNEDY, T. J; HERNANDEZ, E. A; MORSE, A. N. Hydraulic Loading Rate Effect on Removal Rates in a BioSand Filter: A Pilot Study of Three Conditions. **Water Air Soil Pollut**, 223: 4527-4537. 2012.

KORICH, D. G. *et al.* Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 5, p. 1423-1428, 1990.

LI, J. *et al.* Aerobic granules dwelling vorticella and rotifers in an SBR fed with domestic wastewater. **Separation and Purification Technology**. 110. 127-131. 2013

LENGSFELD, C; FALLER, G; HENSEL, A. Okra polysaccharides inhibit adhesion of *Campylobacter jejuni* to mucosa isolated from poultry in vitro but not in vivo. **Animal Feed Science and Technology**. 135 (1):113-125. 2007.

LENSFELD, C. *et al.* Glycosylated compounds from Okra inhibit adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa. **Journal Agric Food Chem**. 52(6): 1495-1503. 2004.

LEVENSPIEL, O. **Engenharia das Reações Químicas**. 3 ed. São Paulo. Ed. Edgard Blucher LTDA. 2000.

LI, S. Y. *et al.* **Potential Cryptosporidium surrogates and evaluation of compressible oocysts**. 1995.

LIM, L, MCFADDEN, G. I. The evolution, metabolism and functions of the apicoplast. **Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.** 365 (1541), 749 - 763. 2010.

LIMBERG, G. *et al.* Quantification of the amount of galacturonic acid residues in blocksequences in pectin homogalacturonan by enzymatic fingerprinting with exo- and endo-polygalacturonase II from *Aspergillus niger*. **Carbohydrate Research**. 327, p. 321-332, 2000.

LLOYD, B. J. **The significance of Protozoal Predation and Adsorption for the Removal of Bacteria by Slow Sand Filtration**. In: Graham, N. e Collins, R. (eds.), *Advance in Slow Sand and Alternative Biological Filtration*. John Wiley & Sons Ltd. London. UK.

LUJAN, H. D; SVARD, S. **Giardia: a model organism**. SpringerWienNewYork. Austria. 2011.

LYNN, T. J. *et al.* Dynamic performance of biosand filters. **American Water Works Association**. E587-E589. 2013.

MACKENZIE, W. R. *et al.* A massive outbreak in milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water-supply. **New England Journal of Medicine**. v. 331, n. 3, 161-167, Jul 1994.

MAGALHÃES, D. P; FERRÃO FILHO, A. S. A Ecotoxicologia Como Ferramenta no Biomonitoramento de Ecossistemas Aquáticos. **Ecol. Bras.**, 12(3): 355-381, 2008.

MAGALHÃES, E. V; SABOGAL PAZ, L. P. **Filtração Lenta Domiciliar como Alternativa de Tratamento de Água para Comunidades Isoladas do Brasil – Desafios na Construção**. In: *Anais da 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*. Águas de Lindóia. 2007.

MAHAFFY, N. C. *et al.* Effects of physical disturbances on media and performance of household-scale slow sand filters. **Journal of Water Supply**. 250-259. 2015.

MANSANO, A. S. **Estrutura da comunidade microbiana e a importância da bacterivoria por protozoários em uma represa subtropical (Represa do Lobo, SP, Brasil)**. Mestrado (Dissertação). Universidade Federal de São Carlos. 2012.

MANZ, D. H. **New Horizons for Slow Sand Filtration**. In: The Eleventh Canadian National Conference and Second Policy Forum on Drinking Water and the Biennial Conference of the Federal-Provincial-Territorial Committee on Drinking Water, Promoting Public Health Through Safe Drinking Water, Abril 3-6, Calgary, Canada, p. 682-692. 2004.

MARQUELLI, W. A; SILVA, H. R; LOPES, J. F. **Irrigação na Cultura da Bucha Vegetal**. Circular Técnica 116. Embrapa. Brasília. Março, 2013.

MCGARVIE, D; PAROLIS, H. The Mucilage of *Opuntia fícus-indica*. **Carbohydr. Res.**, 69(1): 171-179. 1979.

MCTIGUE, N. E; CORNWELL, D. A. **Water Treatment Residuals Management for Small Systems**. Water Research Foundation. Washington, USA. 2009.

MEDEIROS, R. C. **Comparação da resistência de protozoários patogênicos - *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.* - e de microrganismos indicadores à desinfecção sequencial cloro-radiação ultravioleta e ozônio-radiação ultravioleta**. Dissertação (Mestrado em Ciências - Engenharia Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

MEDEIROS, R. C. **Avaliação da remoção de *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.* em processos de tratamento de esgoto sanitário**. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 2013.

MERCK. **Microbiology Manual**. 12th edition. 2005.

MILLER, S. M. *et al.* Towards Understanding the Efficacy and Mechanism of *Opuntia spp.* as a Natural Coagulant for Potential Application in Water Treatment. **Environ. Sci. Technol.** 12(42): 4274-4279. 2008.

MORCH, K. *et al.* Severity of *Giardia* infection associate with postinfectious fatigue and abdominal symptoms two years after. **BMC Infectious Diseases**, v. 9, 2009.

NOBLE, R. L. The discovery of vinca alkaloids chemotherapeutic agents against cancer. **Biochem Cell Biol**, 68: 1344-1351. 1990.

NOUGBODÉ, Y. A. E. I. *et al.* Evaluation of the *Opuntia dellenii* as Natural Coagulant in Water Clarification: Case of Treatment of Highly Turbid Surface Water. **Journal of Water Resource and Protection**. 5, 1242-1246. 2013.

NOVELLI, A. **Efeito do Vermitec® 18CE e de seu Princípio Ativo, a Abamectina, em Ambientes Aquáticos: Uma Análise Laboratorial e in situ.** Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 2010.

OLSTADT, J. *et al.* A comparison of ten USEPA approved total coliform/*E. coli* tests. **Journal of Water and Health**. p. 267-282. 2007.

OYETAYO, F. L; OYETAYO, V. O; AJEWOLE, V. Phytochemical Profile and Antibacterial Properties of the Seed and Leaf of the Luffa Plant (*Luffa cylindrical*). **J. Pharmacology and Toxicology** 2(6) 586-589. 2007.

PÁDUA, V. L. **Remoção de Microrganismos Emergentes e Microcontaminantes Orgânicos no Tratamento de Água Para Consumo Humano.** Coordenador. Programa de Pesquisa em Saneamento Básico – PROSAB. Belo Horizonte. 2009.

PALMATEER, G. *et al.* Toxicant and Parasite Challenge of Manz Intermittent Slow Sand Filter. **Environ. Toxicol.** 14, 217-225. 1999.

PATERNIANI, J. E. S. **Utilização de Mantas Sintéticas não Tecidas na Filtração Lenta em Areia de Águas de Abastecimento.** Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 245p. 1991.

PEGORARO, P.R. **Distribuição do tempo de residência e letalidade no processamento térmico contínuo de líquidos com escoamento laminar não ideal em trocadores bitubulares.** 140 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade de São Paulo. São Paulo. 2011.

PIMIENTA, E. **El Nopal Tunero.** Universidad de Guadalajara. México, 246pp. 1990.

RETAMAL, N; DURÁN, J. M; FERNÁNDEZ, J. Seasonal Variations of Chemical Composition in Prickly Pear (*Opuntia ficus indica*). **J. Sci. Food. Agric.** 38, 303-311.1987.

RODGHER, S; ESPÍNDOLA, E. L. G; LOMBARDI, A. T. Suitability of *Daphnia similis* as an Alternative Organism in Ecotoxicological Tests: implication for metal toxicity. **Ecotoxicology**, 19:1027-1033. 2010.

RODRIGUEZ-FELIX, A; CANTWELL, M. Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (*nopalitos*). **Plant Foods for Human Nutrition**. 38: 83-93. 1988.

RYAN, U. *et al.* It's official – *Cryptosporidium* is a gregarine: What are the implications for the water industry? **Water Research** 105, 305 – 313. 2016

SANCHEZ, L. D. **Limpieza de la Biomembrana en un Filtro Lento en Arena y su Efecto al Inicio de la Carrera de Filtración**. Tesis de Maestría. Facultad de Ingeniería de la Universidad del Valle. Abril. Santiago de Cali. Colômbia. 1996

SANTOS, L. U. D.; CANTUSIO NETO, R.; FRANCO, R. M. B. Protozoários patogênicos de veiculação hídrica: as metodologias de detecção em amostras de esgoto e a eficiência dos tratamentos de remoção e desinfecção. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. Edição Temática, 22-28, 2008.

SEMENZA, J; NICHOLS, G. L. Cryptosporidiosis surveillance and water-borne outbreaks in Europe. **Eurosurveillance: bulletin europeen sur les maladies transmissibles**. 12(5): E13-E14. 2007.

SEPÚLVEDA, E. *et al.* Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. **Journal of Arid Environments**. 68. 534-545. 2007.

SIQUEIRA-CASTRO, I. C. V. *et al.* First report of predation of *Giardia* sp. Cysts by ciliated protozoa and confirmation of predation of *Cryptosporidium* spp. Oocysts by ciliate species. **Environ Sci Pollut Res**. 2016

SHAHEED, A. *et al.* Disinfection of Water Borne Coliform Bacteria Using *Luffa cylindrica* Fruit and Seed Extracts. **Environmental Technology**. v. 30. n. 13. 1 December, p. 1435-1440. 2009.

SHILPA, A. B. S. *et al.* Evaluation of Cactus and Hyacinth Bean Peels as Natural Coagulants. **International Journal of Chemical and Environmental Engineering**. June 2012, v. 3, n. 3. 2012.

SOBSEY, M. D. *et al.* A. Point of use household drinking water filtration: A practical effective solution for providing sustained access to safe drinking water in the developing world. **Environ. Sci. Technol.** 42 (12), 4261–4267. 2008.

SOTERO-SANTOS, R. B; ROCHA, O; POVINELLI, J. Toxicity of Ferric Chloride Sludge to Aquatic Organisms. **Chemosphere**. p. 628-636. 2007.

SOUZA, J. B; DANIEL, L. A. Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. coli*, colifagos e *C. perfringens* em água com elevada concentração de matéria orgânica. **Eng sanit ambient**. v 10, n 2. 111-117. 2005.

SRINIVASA, R; MISHRA, A. Okra (*Hibiscus esculentus*) and Fenugreek (*Trigonella Foenum Graceum*) Mucilage: Characterization and Application as Flocculants for Textile Effluent Treatments. **Chinese Journal of Polymer Science**. v. 26. n. 6. (2008). 679-687. 2008.

STAUBER, C. E. *et al.* A Randomized Controlled Trial of the Concrete Biosand Filter and its Impact on Diarrheal Disease in Bonao, Dominican Republic. **Am J Trop Med Hyg**. 2009 Feb; 80(2): 286-293. 2009.

STAUBER, C. E. **The Microbiological and Health Impact of the Biosand Filter in the Dominican Republic: A Randomized Controlled Trial in Bonao**. PhD. Department of Environmental Sciences and Engineering, University of North Carolina, Chapel Hill, USA. 2007.

STINTZING, F. C. *et al.* Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (*Opuntia* spp.) Clones. **J. Agric. Food. Chem.** 53, 442-451. 2005.

STIRPE, F. **Ribosome-Inactivating Proteins**. Molecular Neurosurgery with Targeted Toxins. 2004.

STOTT, R. *et al.* Predation of *Cryptosporidium* oocysts by protozoa and rotifers: implications for water quality and public health. **Water Science and Technology**. v 47, n 3. 77-83. 2003.

STRIXINO, S; STRIXINO, G. Ciclo de Vida de Chironomus sancticaroli (Diptera, Chironomidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. 26:183-189. 1982.

TCHOBANOGLIOUS, G; BURTON F. L; STENSEL, H. D. **Wastewater Engineering: Treatment and Reuse**. 4 ed. McGraw-Hill. New York. 2003.

THAKUR, S. S; CHOUBEY, S. Assessment of Coagulation Efficiency of Moringa Oleifera and Okra for Treatment of Turbid Water. **Archives of Applied Science Research**, 2014. 6(2):24-30. 2014.

THOMPSON, R. C. A; ASH, A. Molecular epidemiology of Giardia and Cryptosporidium infections. **Infection, Genetics and Evolution**. v 40: 315-323. 2016

TIWARI, S. S. K. *et al.* Intermittent slow sand filtration for preventing diarrhoea among children in Kenyan households using unimproved water sources: randomized controlled trial. **Tropical Medicine and International Health**. 14(11), 1374 – 1382. nov 2009.

TORRES, L. G; CARPINTEYRO-URBAN, S. L; VACA, M. Use of Prosopis laevigata Seed Gum and Opuntia ficus-indica Mucilage for the Treatment of Municipal Wastewaters by Coagulation-Flocculation. **Natural Resources**, 3, p. 35-41. 2012.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **Method 1623.1 Cryptosporidium and Giardia in Water by Filtration/IMS/FA**. Office of Water (MS-140) EPA 816 -R-12-001. January 2012

VANDERZWAAG, J. C. **Use and Performance of Biosand Filters in Posoltega, Nicaragua**. Master of Science thesis. Civil Engineering. The University of British Columbia. 2008

VESEY, G. *et al.* A new method for the concentration of Cryptosporidium oocysts from water. *Journal of Applied Bacteriology*, v. 75, n. 1, p. 82-86, 1993

WANG, H. *et al.* Reduction of MS2 Bacteriophage and Rotavirus in Biosand Filters. **Water Research & Technology**. 2016

WETZEL, D. M. *et al.* Gliding motility leads to active cellular invasion by Cryptosporidium parvum sporozoites. **Infect. Immun.** 73, 5379 - 5387. 2005.

WHO. **Guidelines for drinking-water quality.** World Health Organization, Geneva. 2017.

WHO. **Preventing diarrhoea through better water, sanitation and hygiene: Exposures and impacts in low and middle income countries.** World Health Organization, Geneva. 2015.

WHO. **Progress on sanitation and drinking-water.** World Health Organization, Geneva. 2012.

WHO. **Progress on sanitation and drinking-water.** World Health Organization, Geneva. 2013.

WHO. **Progress on sanitation and drinking-water.** World Health Organization, Geneva. 2015.

YIN, C. Y. Emerging Usage of Plant-Based Coagulants for Water and Wastewater Treatment. **Process Biochem** 45. p. 1437-1444. 2010.

YOUNG-ROJANSCHI, C; MADRAMOOTOO, C. Comparing the performance of biosand filters operated with multiday residence periods. **Journal of Water Supply.** 157-167. 2015.

YOUNG-ROJANSCHI, C; MADRAMOOTOO, C. Intermittent Versus Continuous Operation of Biosand Filters. **Water Research** 45. p. 1-10. 2014.

ZHANG, J. *et al.* A preliminary study on cactus as coagulant in water treatment. **Process Biochemistry.** 41, 730-733. 2006.

ZHU, G, KEITHLY, J. S, PHILIPPE, H. What is the phylogenetic position of *Cryptosporidium*? **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 50, 1673 - 1681. 2000.

ANEXOS

Anexo A – Características da suspensão de *Cryptosporidium parvum* da Waterborne.

WTM

WaterborneTM, Inc.
Clinical and Environmental Parasitology Products * 6045 Hurst Street, New Orleans, LA 70118 USA
TEL / FAX: 504-895-3338 or Toll-Free: 866-895-3338 * Email: custserv@waterborneinc.com * www.waterborneinc.com

Product Specification and Analysis Report
Cryptosporidium parvum

Product: Suspension of Oocysts of *Cryptosporidium parvum*, Iowa isolate, for use in research.

Source of the oocysts: Experimentally infected calves.

Species/genus identification method(s): Direct immunofluorescence microscopy with genus-specific monoclonal antibodies; also phase microscopy.

Lot #: 10-16	Date shed: 4/30/16
Total number of oocysts provided: 1×10^6	Date purified: 5/1/16

Total volume:

☒ 4 mL ☐ 8 mL ☐ other:

Storage solution:

☒ PBS with penicillin, streptomycin, gentamicin, Amphotericin B, 0.01% Tween 20

☒ 5% Formalin/PBS & 0.01% Tween 20

☐ other:

Purification method(s): Oocysts are purified from feces by sucrose and Percoll density gradient centrifugation, after initial extraction of feces with diethyl ether.

Quantitation Method: Neubauer hemacytometer counting, using red blood cell method.

Storage Conditions: 4 to 6 degrees Celcius (i.e. refrigerator temperature)

Expiration date: The shelf life of live *C. parvum* oocysts is guaranteed up to 2 months after the date of shipment; however, viability and useful life of oocysts for research may continue for a much longer period provided oocysts are stored at refrigerator (4-8 deg. C) temperatures in the presence of antibiotics, including Amphotericin B as fungicide (0.25 ug per ml). Formalinized oocysts are guaranteed for 6 months after date of receipt.

Anexo B – Características do *kit* EasySeed®

EasySeed™

Certificate of Analysis

Batch Number: **B 547**

General

Safety: This product is non-hazardous.
Storage: 2-8°C. Do not freeze.
Catalogue Number: ESCG100
Preparation Date: 10 September 2015
Expiration Date: 8 January 2016
Volume: 1.274 ml +/- 21 ul
Suspension media: Buffered saline solution.
Sterilisation method: Gamma irradiation.

Counts (Method Ref: ESCG-101)		
	Mean	St.Dev.
Cryptosporidium count:	99	1.4
	Mean	St.Dev.
Giardia count:	99	1.5
DAPI staining:		
Cryptosporidium % +ve	100	%
Giardia % +ve	100	%

Stock specifics

Organism: *Cryptosporidium parvum*
Strain: Iowa
Source: Bovine
Shed date: 22 August 2015
Purification method: Discontinuous sucrose and cesium chloride centrifugation gradients.

Organism: *Giardia lamblia*
Strain: H3
Source: Gerbil
Shed date: 27 August 2015
Purification method: Sucrose and Percoll density gradient centrifugation

Quality Assurance Officer:

 Fiona Pollock

This document is issued in accordance with NATA's
 accreditation requirements.
 Accredited for compliance with ISO Guide 34.

Accredited Reference Material Producer
 Accreditation Number: 14993
 Site Number: 15276

A BIONERIEUX COMPANY

Water Industry Enquiries:

BTB Pty Ltd
 Sydney Australia
 Tel: 61 (0) 2 9877 5150
 Fax: 61 (0) 2 9877 5101
www.btbio.com

Issue 9 - March 2009