

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DESEMPENHO DE SISTEMAS DE REATORES  
ANAERÓBIOS E AERÓBIO NA REMOÇÃO DE  
COLIFORMES E OVOS DE HELMINTOS DE ÁGUAS  
RESIDUÁRIAS DE SUINOCULTURA**

**Silvia Helena Zacarias Sylvestre**  
**Biomédica**

**2013**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DESEMPENHO DE SISTEMAS DE REATORES  
ANAERÓBIOS E AERÓBIO NA REMOÇÃO DE  
COLIFORMES E OVOS DE HELMINTOS DE ÁGUAS  
RESIDUÁRIAS DE SUINOCULTURA**

**Silvia Helena Zacarias Sylvestre**

**Orientador: Prof. Dr. Roberto Alves de Oliveira**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

**2013**

S985d Sylvestre, Silvia Helena Zacarias  
Desempenho de sistemas de reatores anaeróbios e aeróbio na  
remoção de coliformes e ovos de helmintos de águas residuárias de  
suinocultura / Silvia Helena Zacarias Sylvestre. – Jaboticabal, 2013  
xiii, 100 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013  
Orientador: Roberto Alves de Oliveira  
Banca examinadora: Giovana Tommaso, Ruben Pablo Schocken  
Iturrino

Bibliografia

1. Águas residuárias. 2. Filtro anaeróbio 3. Filtro biológico  
percolador. 4. Patógenos 5. Reator UASB. I. Título. II. Jaboticabal-  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 628.31:636.4

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –  
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO:** DESEMPENHO DE SISTEMAS DE REATORES ANAERÓBIOS E AERÓBIO  
NA REMOÇÃO DE COLIFORMES E OVOS DE HELMINTOS DE ÁGUAS  
RESIDUÁRIAS DE SUINOCULTURA

**AUTORA:** SILVIA HELENA ZACARIAS SYLVESTRE

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM MICROBIOLOGIA  
AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ROBERTO ALVES DE OLIVEIRA

Departamento de Engenharia Rural / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. RUBEN PABLO SCHOCKEN ITURRINO

Departamento de Patologia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de  
Jaboticabal

Profa. Dra. GIOVANA TOMMASO

Universidade de São Paulo / Pirassununga/SP

Data da realização: 19 de agosto de 2013.

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**SILVIA HELENA ZACARIAS SYLVESTRE-** Nasceu em Assis (SP) em 14 de agosto de 1968, graduou-se em Biomedicina pela Faculdade de Ciências da Saúde Barão de Mauá, em julho de 1992. Ingressou no Curso de Especialização, em 1996 recebendo o título de Especialista em Citopatologia Oncótica, pela Faculdade de Ciências da Saúde Barão de Mauá. Em 2009 graduou-se em Farmácia Bioquímica pela UNIESP, Câmpus Taquaritinga. Em março de 2011 ingressou no Curso de Mestrado do Programa de Pós- graduação em Microbiologia Agropecuária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista (FCAV-UNESP), situada na cidade de Jaboticabal-SP.

Aos meus amados pais Antonio (*in memorian*) e Maria Antonia, por todo carinho, educação, amor e oportunidades oferecidas ao longo da vida.

Aos meus irmãos Marco, Augusto (*in memorian*) e João, pela ajuda e torcida.

Aos meus sobrinhos Milena, Henrique, Kaique, Kairon, Maria Fernanda e João Pedro, por todo carinho.

Dedico

Ao amor da minha vida, Wiliam, pelos incentivos, dedicação, ajuda e paciência e por estar ao meu lado em todos os momentos ao longo desta jornada. Viver está trajetória seria angustiante se fosse completamente só. Amo você.

Ofereço

## **Agradecimentos**

Ao Professor Dr. Roberto Alves de Oliveira pela orientação e conhecimentos transmitidos.

Ao Professor Dr. Estevam Guilherme Lux Hoppe pelo apoio e colaboração nas Análises parasitológicas.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Câmpus de Jaboticabal e aos Docentes do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária pela oportunidade de aperfeiçoamento acadêmico.

À FUNDUNESP, à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Aos amigos, em especial a Gilvânia Campos Silva, Cristiane Moretto, Cintia S. Lourenzon Guariz e Guilherme Braz, pelas trocas, pelas lágrimas, pelos sorrisos, pela disponibilidade sempre manifestada, pela amizade e apoio indispensável no monitoramento dos reatores e análises no laboratório.

Aos caros amigos Rose Maria Duda, Grácie Ferraz Rodrigues Fernandes, Marcelo Bruno, pelas valiosas contribuições transmitidas ao longo desta jornada.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia Rural, FCAV-UNESP, Senhores Luiz José Antonichelli, Marcos Antonio Rechi, Francisco Gonçalves de Souza e Ailton Crispim pela colaboração, e auxílios prestados durante a execução deste trabalho.

Ao secretário Davi Aparecido Trevizolli, pela atenção dispensada.

Às secretárias da Seção de Pós-Graduação, pelo acompanhamento no cumprimento das normas do curso e pela paciência.

À Édna Maria Testa D'Áquila, secretária da Microbiologia, pela disposição e solicitude.

À minha mãe Maria Antonia, pelo incentivo e orações.

Aos meus tios, Alberto, Áurea e Aparecida, pela força, incentivo e torcida para conclusão deste trabalho.

Aos meus alunos do Centro Universitário UNIFAFIBE pela ternura sempre manifestada, todos os dias.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS ... ..	x
LISTA DE FIGURAS .....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS .....	xiv
RESUMO .....	xv
ABSTRAT .....	xvi
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
2.1. Sistema de tratamento anaeróbio: UASB e filtro anaeróbio .....	3
2.2. Sistema de tratamento aeróbio: filtro biológico percolador .....	5
2.3. Sistemas combinados anaeróbio/aeróbio para tratamento de águas residuárias .....	7
2.4. Meio suporte em reatores anaeróbios .....	8
2.5. Águas residuárias de suinocultura .....	9
2.6. Lodo biológico .....	10
2.7. Indicadores de contaminação .....	13
2.8. Helmintos .....	15
2.8.1. <i>Ascaris suum</i> .....	16
2.9. Protozoários .....	18
2.10. Bactérias do grupo coliformes .....	19
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>20</b>
3.1. Localização geográfica e instalações .....	20
3.2. Afluente .....	21
3.2.1. Ilustração fotográfica do local de coleta das águas residuárias .....	21
3.3. Instalações experimentais .....	23
3.4. Condições operacionais .....	26
3.5. Monitorização dos sistemas de tratamento .....	27
3.6. Exame microbiológico .....	27
3.6.1. Ilustração fotográfica do procedimento de exame de colimetria .....	30
3.7. Exame parasitológico .....	30
3.7.1. Enumeração de ovos de helmintos no afluente e efluente .....	31
3.7.1.1. Fundamento .....	31
3.7.1.2. Equipamentos materiais e reagentes .....	32
3.7.1.3. Preparação das soluções .....	33
3.7.1.4. Procedimentos para enumeração dos ovos de helmintos e cistos de protozoários .....	33
3.7.2. Análises de viabilidade em águas residuárias .....	37
3.7.2.1. Técnica da concentração por centrifugação .....	37
3.7.2.2. Equipamentos materiais e reagentes .....	37
3.7.2.3. Preparação das soluções .....	38

3.7.2.4. Coleta das amostras.. .....	38
3.7.2.5. Procedimento.. .....	39
3.7.2.6. Expressão dos resultados.. .....	40
3.8. Enumeração de ovos de helmintos no lodo.....	40
3.8.1. Recuperação de ovos de helmintos no lodo.....	40
3.8.1.1. Equipamentos materiais necessário.....	40
3.8.1.2. Preparo das soluções.....	41
3.8.1.3. Procedimentos.....	42
3.8.1.4. Incubação para análise de viabilidade dos ovos de helmintos... ..	43
3.8.1.5. Identificação, contagem e viabilidade dos ovos .....	43
3.8.1.6. Expressão dos resultados... .....	44
3.9 .Exame .de cistos de protozoários( <i>Giardia</i> spp e <i>Entamoeba</i> spp).....	44
3.9.1. Exame microscópico direto.....	44
3.9.2. Centrifugo-flutuação em solução de sulfato de zinco .....	44
3.10.Exame de <i>Cryptosporidium</i> spp.....	47
3.10.1. Centrifugo-flutuação pelo formol éter .....	47
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
4.1. Temperatura.....	49
4.1.1. Temperatura máxima, média e mínima do ar .....	49
4.2. Exame de coliformes .....	50
4.2.1. Coliformes totais e termotolerantes nos afluentes e efluentes ... ..	50
4.2.2. Coliformes totais e termotolerantes no lodo ... ..	56
4.3. Exame parasitológico .....	59
4.3.1. Enumeração de ovos de helmintos e cistos de protozoários nos afluentes e efluentes ... ..	59
4.3.2. Enumeração de ovos de helmintos no lodo .....	64
4.3.3. Viabilidade de ovos de <i>Ascaris suum</i> .....	65
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>69</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>70</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1.</b> Tempo de sobrevivência de patógenos no solo e plantas.....	12
<b>TABELA 2.</b> Tempo de operação, temperatura média do ar, tempo de detenção hidráulica (TDH), carga orgânica volumétrica (COV), tempo de retenção de sólidos (TRS) aplicados nos reatores UASB (R1 e R2) do sistema de tratamento I e no reator UASB (R1) e filtro anaeróbio (FA), filtro biológico percolador (FBP) e decantador do sistema de tratamento anaeróbio II, nos ensaios 1 a 4 .....	26
<b>TABELA 3.</b> Tamanho, densidade e velocidade de sedimentação de algumas espécies de ovos de helmintos .....	32
<b>TABELA 4.</b> Valores médios das temperaturas do ar máximas, médias e mínimas observadas na Estação Agroclimatológica da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, durante a operação dos sistemas de tratamento anaeróbio I, II e pós - tratamento, durante os quatro ensaios.....	49
<b>TABELA 5.</b> Valores médios do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes no afluente e nos efluentes dos reatores UASB (R1 e R2) instalados em série, do sistema de tratamento I, nos ensaios 1, 2, 3 e 4 .....	50
<b>TABELA 6.</b> Valores médios do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes no afluente e nos efluentes do sistema de tratamento II composto por reator UASB, filtro anaeróbio de fluxo ascendente (FA), filtro biológico percolador (FBP) e decantador (D), instalados em série, nos ensaios 1, 2, 3 e 4.....	51
<b>TABELA 7.</b> Média de número mais provável (NMP/ g <sup>-1</sup> ST) de coliformes totais no lodo dos reatores UASB instalados em série, em escala piloto do sistema de tratamento II .....	57
<b>TABELA 8.</b> Média de número mais provável (NMP/ g <sup>-1</sup> ST) de coliformes totais no lodo do reator UASB e filtro anaeróbio de fluxo ascendente (FA), (Sistema II).....	58
<b>TABELA 9.</b> Ocorrência de parasitas no afluente .....	59
<b>TABELA 10</b> Valores médios de número de ovos de helmintos obtidas nas amostras de afluentes bruto, efluentes do reator UASB(R1) e, UASB (R2) instalados em série, em esala piloto, do sistema de tratamento I .....	61

<b>TABELA 11.</b> Valores médios de ovos de helmintos nas amostras de afluentes efluentes do reator UASB, filtro anaeróbio, filtro biológico percolador e decantador, instalados em série, em escala piloto, do sistema de tratamento II .....	62
<b>TABELA 12.</b> Valores médios de número de ovos $g^{-1}$ ST de helmintos no lodo dos reatores UASB instalados em série, em escala piloto do sistema de tratamento I e do reator UASB, filtro anaeróbio de fluxo ascendente (FA), instalados em série, nos ensaios 1, 2, 3 e 4 .....	64

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Instalações experimentais.....	21
<b>FIGURA 2.</b> Vista externa das instalações de confinamento de suínos .....	22
<b>FIGURA 3.</b> Vista interna das instalações de confinamento de suínos .....	22
<b>FIGURA 4.</b> Local de coleta das águas residuárias de suinocultura. ....	22
<b>FIGURA 5.</b> Pré-tratamento das águas residuárias.....	23
<b>FIGURA 6.</b> Representação esquemática do sistema de tratamento I .....	24
<b>FIGURA 7.</b> Representação esquemática do sistema de tratamento II.....	25
<b>FIGURA 8.</b> Anéis de polipropileno ( <i>Bioring</i> ).....	26
<b>FIGURA 9.</b> Amostras para exame de coliformes .....	28
<b>FIGURA 10.</b> Esquema do método de análise de coliformes .....	29
<b>FIGURA 11.</b> Inoculação no Lauryl.....	30
<b>FIGURA 12.</b> Lauryl turvo e com bolha.....	30
<b>FIGURA 13.</b> Meio de cultura EC .....	30
<b>FIGURA 14.</b> Meio de cultura BVB .....	30
<b>FIGURA 15.</b> Determinação de cistos de protozoários pela método direto .....	45
<b>FIGURA 16.</b> Determinação de cistos de protozoários pela técnica de Faust.....	46
<b>FIGURA 17.</b> Etapas pré-coloração de Kinyoun.....	47
<b>FIGURA 18.</b> Procedimento para determinação de <i>Cyptosporidium</i> spp .....	48
<b>FIGURA 19.</b> Eficiência de remoção de coliformes totais nos reatores UASB (R1 e R2) instalados em série, em escala piloto, do sistema de tratamento I, nos ensaios 1, 2, 3 e 4 .....	53
<b>FIGURA 20.</b> Eficiência de remoção de coliformes termotolerantes nos reatores UASB (R1 e R2) instalados em série, em escala piloto, do sistema de tratamento I, nos ensaios 1, 2, 3 e 4 .....	54
<b>FIGURA 21.</b> Eficiência de remoção de Coliformes totais no sistema de tratamento II composto por reator UASB, filtro anaeróbio (FA), filtro biológico percolador (FBP) e decantador (D) instalados em série, nos ensaios 1, 2, 3 e 4.....	54

<b>FIGURA 22.</b> Eficiência de remoção de coliformes termotolerantes no sistema de tratamento II composto por reator UASB, filtro anaeróbio (FA) filtro biológico percolador (FBP) e decantador (D) instalados em série, nos ensaios 1, 2, 3 e 4.....	55
<b>FIGURA 23.</b> Ovo de <i>Ascaris suum</i> .....	59
<b>FIGURA 24.</b> Valores médios das eficiências de remoção de ovos de helmintos nos reatores UASB (R1 e R2) e R1+R2 do sistema de tratamento I nos ensaios 1, 2,3 e 4 .....	63
<b>FIGURA 25.</b> Valores médios das eficiências de remoção de ovos de helmintos nos reatores UASB e filtro anaeróbio (R1 e R2) e R1+R2 e do sistema (R1+R2+R3+ Dec.) do sistema de tratamento II nos ensaios 1, 2, 3 e 4.....	63
<b>FIGURA 26.</b> Percentagem de ocorrência de ovos viáveis no afluente, efluente do reator UASB (R2) e lodo dos reatores UASB (R1 e R2) .....	66
<b>FIGURA 27.</b> Percentagem de ocorrência de ovos viáveis no afluente, efluente do FA e lodo dos reatores anaeróbios (UASB e FA) do sistema de tratamento II .....	66

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- AVT-** Ácidos voláteis totais
- BVB-** Bile verde brilhante
- COV-** Carga orgânica volumétrica
- CV-** Coeficiente de variação
- DQO-** Demanda química do oxigênio
- DBO-** Demanda bioquímica de oxigênio
- Dec-** Decantador
- d.p.i-** Dias pós infecção
- EPA-** Environmental Protection Agency
- ETE-** Estação de tratamento de efluentes
- FA-** Filtro anaeróbio
- FBP-** Filtro biológico percolador
- IBGE-** Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- L3-** Larva infectante
- NMP-** Número mais provável
- OMS-** Organização Mundial de Saúde
- p.p.p-** Período pré-patente
- Reator UASB-** Upflow Anaerobic sludge blanket reactor
- R1-** Reator 1
- R2-** Reator 2
- SPE-** Substâncias poliméricas extracelulares
- SST-** Sólidos suspensos totais
- SSV-** Sólidos suspensos voláteis
- ST-** Sólidos totais
- SV-** Sólidos voláteis
- TRS-** Tempo de retenção de sólidos
- TDH-** Tempo de Detenção Hidráulica
- WHO-** World Health Organization

## DESEMPENHO DE SISTEMAS DE REATORES ANAERÓBIOS E AERÓBIO NA REMOÇÃO DE COLIFORMES E OVOS DE HELMINTOS DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE SUINOCULTURA

**RESUMO-** No presente trabalho avaliou-se o desempenho de dois sistemas de tratamento na redução de indicadores de contaminação biológica em água residuária de suinocultura. O sistema I foi constituído por dois reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), com volumes de 510 e 209 L, instalados em série e o sistema II foi constituído por reator UASB, filtro anaeróbio, filtro biológico percolador e decantador, instalados em série, com volumes de 300, 190, 250 e 150 L, respectivamente. Os tempos de detenção hidráulica (TDH) aplicados nos primeiros reatores UASB foram de 40, 30, 20 e 11 h nos sistemas I e II. As eficiências médias de remoção de coliformes totais e termotolerantes no sistema I foram de 92,92 a 99,50% e de 94,29 a 99,56% respectivamente, e no sistema II aumentaram para 99,45 a 99,91% e 99,52 a 99,93%, respectivamente. As remoções médias de ovos de helmintos no sistema I foram de 96,44 a 99,11% e no sistema II alcançaram 100% em todos os ensaios. No lodo dos reatores, a contagem de coliformes totais e termotolerantes variou de  $10^5$  a  $10^9$  NMP (100 mL)<sup>-1</sup> e de ovos de helmintos de 0,86 a 9,27 ovos g<sup>-1</sup> ST. Não foram detectados cistos de protozoários nos afluentes, efluentes e lodos.

**Palavras-chave:** filtro anaeróbio, filtro biológico percolador, patógenos, pós-tratamento, reator UASB, viabilidade de ovos de helmintos.

## PERFORMANCE SYSTEMS AEROBIC AND ANAEROBIC REACTORS IN REMOVING COLIFORMS AND EGGS OF HELMINTH SWINE WASTEWATER

**ABSTRACT-** The present work evaluated the performance of two treatment systems in reducing indicators of biological contamination in swine production wastewater. System I consisted of two up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors, with volumes of 510 and 209 L, placed in series; system II consisted of a UASB reactor, anaerobic filter, trickling filter and decanter, placed in series, with volumes of 300, 190, 250 and 150 L, respectively. Hydraulic retention times (HRT) applied in the first UASB reactors were 40, 30, 20 and 11 h in systems I and II. The mean removal efficiencies of total and thermotolerant coliforms in system I were 92.92% to 99.50% and 94.29% to 99.56%, respectively, and increased in system II to 99.45% to 99.91% and 99.52% to 99.93%, respectively. Average removal rates of helminth eggs in system I were 96.44% to 99.11%, and reached 100% in all assays in system II. In reactor sludge, the counts of total and thermotolerant coliforms ranged between  $10^5$  and  $10^9$  MPN (100 mL)<sup>-1</sup>, while helminth eggs ranged from 0,86 a 9,27 eggs g<sup>-1</sup> TS. Not protozoan cysts were detected in the tributaries, effluents and sludge.

**Keywords:** anaerobic filter, pathogens, post-treatment, trickling filter, UASB reactor helminth eggs viability.

## 1. INTRODUÇÃO

A atividade suinícola vem crescendo muito nos últimos anos. A suinocultura está entre as cadeias produtivas melhor estruturada do agronegócio brasileiro, compreendendo o terceiro maior rebanho mundial.

O efetivo de suínos no ano de 2011 no Brasil foi de 39,3 milhões de cabeças, aumento de 0,9 % com relação a 2010, segundo levantamento do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2012), e a principal forma de criação é em galpões de confinamento onde, normalmente faz-se uso intensivo de água para a limpeza. Isso trouxe, como consequência, o aumento da quantidade de dejetos produzidos, os quais inadequadamente tratados e reaproveitados passaram a causar poluição ambiental, pois acabam sendo despejados nos corpos d'água e/ou no solo.

Um corpo d'água receptor ou o solo pode incorporar uma enorme quantidade dos mais variados gêneros de organismos, muitos deles organismos patogênicos e causadores de inúmeras doenças.

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que ovos de helmintos, cistos de protozoários e bactérias são os patógenos que mais colocam em risco a saúde humana ou animal. Isto se deve a ampla distribuição geográfica que os helmintos, protozoários e bactérias apresentam, ao grande tempo de sobrevivência no meio externo (ovos de *Ascaris* sp podem sobreviver até sete anos no solo); a sua dose infectante, ou seja, um ovo ou cisto é suficiente para contaminar o hospedeiro e a ausência de imunidade específica permanente no hospedeiro (THOMAZ-SOCCOL, PAULINO CASTRO, 1999).

A consciência de que o tratamento de resíduos produzidos pelas diferentes atividades agropecuárias é de vital importância para a saúde pública e para o combate à poluição, tem levado à necessidade de desenvolver sistemas de tratamento que combinem alta eficiência e custos baixos de construção e operação (STEIL et al., 2002). Todavia não há um sistema de tratamento indicado como ideal para todas as condições, e sim aquele que apresenta uma melhor relação custo-benefício, quando se escolhe criteriosamente um sistema que se adapte às condições locais e aos objetivos em cada caso.

O desenvolvimento de tecnologias que visem a remoção de microrganismos patogênicos, com vistas à possível reutilização do efluente como insumo agrícola,

têm como foco principal os ovos de helmintos, cuja dose infectante é de apenas um ovo. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1989), a reutilização de um efluente na irrigação sem restrição deve apresentar menos de  $10^3$  coliformes fecais por 100 ml e menos do que um ovo viável de helminto por litro.

A utilização de reatores anaeróbios (UASB e filtro anaeróbio) pode funcionar como tratamento secundário, alcançando uma satisfatória eficiência de remoção de DQO e DBO. Porém, a qualidade do efluente produzido usualmente não se enquadra nos padrões estabelecidos pela legislação ambiental. Dentre os reatores aeróbios, o filtro biológico percolador, pode ser utilizado para o pós-tratamento, com o objetivo de complementar a remoção da matéria orgânica, nutrientes e dos organismos patogênicos (bactérias, protozoários e helmintos).

Segundo Van Haandel e Marais (1999), o sistema combinado anaeróbio/aeróbio tem grande potencial de redução de custos de construção e operacional. Muitos trabalhos têm sido realizados utilizando essa combinação para o tratamento de águas residuárias de suinocultura, com objetivo, dentre outros, de remover coliformes. No Brasil Duda e Oliveira (2009), utilizaram sistema de tratamento composto por reatores anaeróbios (UASB e filtro anaeróbio) e aeróbio (filtro biológico percolador) em série; Oliveira e Santana (2011) associaram dois reatores UASB, com reator operado em bateladas seqüenciais com etapa aeróbia (RBS); e Santos (2011) operou reator anaeróbio compartimentado, filtro aerado submerso e reator USB anóxico, em série e obtiveram acréscimos expressivos na remoção de coliformes.

Os ovos de helmintos são muito resistentes aos processos de desinfecção; todavia podem ser removidos por operações físicas, a exemplo da sedimentação (GONÇALVES, 2003).

Para garantir a eficácia dos reatores anaeróbios e aeróbios, dependendo do reuso que se pretende para o efluente tratado, pode torna-se necessário ainda um processo complementar para remoção de patógenos.

Assim, neste trabalho foram avaliados dois sistemas de tratamento de águas residuárias da suinocultura, um processo anaeróbio em dois estágios composto por dois reatores UASB instalados em série; e outro processo anaeróbio-aeróbio, com dois reatores anaeróbios, UASB e filtro anaeróbio e um aeróbio, o filtro biológico

percolador, instalados em série para a remoção de patógenos. Tendo como objetivos específicos, quantificar as concentrações de coliformes totais e termotolerantes nos afluentes, efluentes e lodos, e conseqüentemente determinar as eficiências de remoção nos dois sistemas de tratamento; quantificar, identificar e verificar a viabilidade de ovos de helmintos nos afluentes, efluentes e lodos, e conseqüentemente determinar as eficiências de remoção nos dois sistemas de tratamento e quantificar as concentrações de cistos de protozoários nos afluentes, efluentes e lodo.

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Sistema de tratamento anaeróbio: UASB e filtro anaeróbio**

O grande sucesso no desenvolvimento de tecnologias para o tratamento anaeróbio pode ser atribuído à introdução de reatores de alta taxa, como por exemplo, os reatores UASB e o filtro anaeróbio nas décadas de 1970 e 1960 respectivamente.

As diversas características favoráveis dos sistemas anaeróbios, passíveis de serem operados com elevados tempos de retenção de sólidos e baixíssimos tempos de detenção hidráulica, conferem grande potencial para a sua aplicabilidade no tratamento de águas residuárias de baixa concentração segundo Chernicharo, (2007) e as de alta concentração, como as de suinocultura de acordo com Oliveira e Santana (2011).

A configuração do reator UASB consiste basicamente no regime hidráulico de fluxo ascendente e na incorporação de um dispositivo interno de separação sólidos/gás/líquido, dispensando o uso de um meio suporte para crescimento da biomassa. Isto favorece o desenvolvimento e retenção de uma biomassa concentrada e altamente ativa na zona de digestão, na forma de flocos densos ou lodo granulado. Conseqüentemente, o reator opera com tempos de retenção de sólidos (TRS) muito altos, mesmo quando submetido a um TDH muito baixo (FORESTI e OLIVEIRA, 1995). Tratar esgotos utilizando reator UASB é uma opção positiva, sobretudo, para regiões de clima quente como no caso do Nordeste

brasileiro (VANHAANDEL e LETTINGA, 1994). O efluente, produzido por este sistema conserva grande parte dos nutrientes, no entanto, não pode ser utilizado na agricultura, pois exige cuidados com relação a patógenos e parasitas que podem contaminar os trabalhadores rurais e consumidores dos produtos.

Segundo Chernicharo et al.(2001) a remoção de coliformes nos reatores anaeróbios tem baixa eficiência, usualmente na ordem de uma unidade logarítmica e há poucos estudos que abordam a remoção de helmintos, vírus e protozoários nesses reatores.

A remoção de ovos de helmintos nos reatores UASB tem sido relatada são da ordem de 60 a 90%, e é insuficiente para a produção de efluentes que possam ser utilizados na irrigação. Logo, o efluente do reator UASB exige pós-tratamento para produzir esgotos tratados com características de qualidade sanitária, recomendada pela WHO (1989), para irrigação irrestrita (1000 UFC por 100 mL e 1 ovo de helminto por litro) (CAVALCANTI et al., 2000)

Existem diversos trabalhos com o reator UASB para o tratamento de águas residuárias de suinocultura no Brasil (OLIVEIRA, 1997; PEREIRA, 2003; SANTANA, 2004; FERNANDES, 2004; RAMIRES 2005; CAMPOS et al., 2005; LOURENÇO, 2006) mostrando o seu bom desempenho na remoção de matéria orgânica, sólidos suspensos e coliformes, porém muito poucos estudos da remoção de ovos de helmintos (PINTO, 2012).

Operando um sistema composto por reator anaeróbio compartimentado seguido de reator UASB tratando águas residuárias de suinocultura com TDH variando de 24 a 60 h, Neto e Oliveira (2009) obtiveram eficiência de remoção de coliformes totais e termotolerantes de até 99,59%. Já Ramires (2005), com reatores UASB em dois estágios observaram remoções de coliformes de 99,7299 a 99,9999% com TDH de 43 e 21 h

Utilizando um sistema composto por reator anaeróbio compartimentado e reator UASB com TDH de 2,09 e 3,26 dias seguidos de lagoas de polimento tratando águas residuárias de suinocultura, Pinto (2012) obteve eficiência de remoção de ovos de *Ascaris suum* no sistema de tratamento de 99,57%.

O filtro anaeróbio é um reator biológico com escoamento através do lodo, o qual permanece aderido e retido em leito fixo de material inerte. Apresentam as

vantagens dos reatores anaeróbios com fluxo através do lodo suspenso, inclusive na remoção da matéria orgânica dissolvida. Ademais, podem ser utilizados para esgotos concentrados ou diluídos; resistem bem às variações de vazão afluente; perdem pouco dos sólidos biológicos; permitem várias opções de forma, sentido de fluxo e materiais de enchimento; e têm construção e operação muito simples. As principais limitações dos filtros anaeróbios decorrem do risco de obstrução do leito (entupimento ou colmatação dos interstícios) e do volume relativamente grande devido ao espaço ocupado pelo material inerte de enchimento (ANDRADE NETO,1997).

A eficiência dos filtros na remoção da carga orgânica está associada à atividade biológica influenciada pela temperatura e, principalmente, ao tempo de retenção de sólidos (TRS) e tempo de detenção hidráulica (TDH) que é o tempo médio de permanência do líquido no interior do filtro, em contato com o meio suporte. Ocorre que o TRS depende do tipo de meio suporte (capacidade de aderência do material biológico) e do TDH, influenciado pelo arranjo do material suporte. Como o último é de mais fácil determinação, é utilizado como principal parâmetro de projeto (ANDRADE NETO, 1997).

De acordo com Chernicharo (2007) algumas das vantagens do tratamento anaeróbio são: a baixa produção de sólidos, cerca de 2 a 8 vezes inferior à que ocorre nos processos aeróbios; baixo consumo de energia, usualmente associado a uma elevatória chegada. Isso faz com que os sistemas tenham custos operacionais muito baixos; baixa demanda de área; baixos custos de implantação; produção de metano, um gás combustível de elevado teor calorífico; possibilidade de preservação da biomassa, sem alimentação do reator, por vários meses; tolerância a elevadas cargas orgânicas; aplicabilidade em pequena e grande escala e baixo consumo de nutrientes.

## **2.2 Sistema de tratamento aeróbio: filtro biológico percolador**

A tecnologia se baseia na aplicação contínua e uniforme dos esgotos por meio de distribuidores hidráulicos, que percolam pelo meio suporte em direção aos drenos de fundo. O filtro biológico percolador funciona em fluxo contínuo e sem

inundação da unidade. São sistemas aeróbios, permanentemente sujeitos à renovação do ar, que naturalmente circula nos espaços vazios do meio suporte, disponibilizando o oxigênio necessário para a respiração dos microrganismos. Os filtros biológicos percoladores são sistemas de tratamento de esgotos baseados no princípio da oxidação bioquímica aeróbia do substrato orgânico presente nos esgotos. Por meio da transformação de substâncias coloidais e dissolvidas, em sólidos estáveis. A película que se desgarra do meio suporte, o biofilme, sedimenta-se facilmente e é removida em uma unidade de decantação secundária.

A percolação dos esgotos permite o crescimento bacteriano na superfície do material de enchimento (meio suporte), formando uma película ativa (biofilme), constituída por colônias gelatinosas de microrganismos (Zooglea) de espessura máxima de 2 a 3 mm (METCALF e EDDY, 1991).

A intensa atividade biológica favorece o desenvolvimento de bactérias aeróbias, facultativas e anaeróbias, com predominância das bactérias facultativas. Os fungos também estão presentes nos biofilmes e competem com as bactérias na degradação do substrato orgânico. Durante o processo, as placas de biofilme se desprendem do meio suporte devido ao grau de estabilização, à tensão de cisalhamento causada pelo gradiente de velocidade de escoamento do líquido entre os vazios, e à indisponibilidade de oxigênio para os microrganismos aeróbios mais próximos ao meio suporte (JORDÃO e PESSOA, 1995).

O material desprendido é removido em unidade de decantação secundária, obtendo-se assim, um efluente final clarificado, com baixas concentrações de matéria orgânica e sólidos em suspensão (VON SPERLING, 1996).

O tratamento de esgotos por filtração biológica convencional normalmente requer uma unidade subsequente de desinfecção para desativação de microrganismos causadores de doenças.

De acordo com Santos (2005), o filtro biológico percolador geralmente consegue reduzir a concentração de coliformes em apenas 1 a 2 unidades logarítmicas, o que não satisfaz as exigências da legislação ambiental, dependendo do grau de diluição no corpo receptor.

Vários estudos foram e ainda são realizados, de forma a viabilizar a desinfecção de efluentes de filtro biológico. O seu uso para tratamento e pós-

tratamento de águas residuárias de suinocultura ainda foi pouco estudado (DUDA, 2010).

### **2.3 Sistemas combinados anaeróbio/aeróbio para o tratamento de águas residuárias.**

Apesar das inúmeras vantagens, os reatores anaeróbios dificilmente produzem efluentes que atendam os padrões estabelecidos pela legislação ambiental brasileira, devendo adotar unidades de pós-tratamento de modo a adequar as características do efluente tratado aos requisitos legais e propiciar a proteção do corpo d'água receptor. Assim a combinação de unidades anaeróbias seguidas de pós-tratamento vem se constituindo na principal alternativa de tratamento de esgotos.

Segundo Oliveira & Santana (2011), o sistema de tratamento combinado anaeróbio-aeróbio, composto por reator UASB em dois estágios seguidos de reator operado em batelada sequencial, com etapa aeróbia (RBS), mesmo com baixo TDH (39 e 20h), tratando águas residuárias de suinocultura foi muito eficiente na remoção de coliformes, atingindo eficiências de 93,80 a 99,99%.

Chernicharo et al. (2001), citaram que o principal objetivo do pós tratamento é completar a remoção de matéria orgânica e promover a remoção dos componentes que são dificilmente afetados pelo tratamento anaeróbio como nutrientes e patógenos.

Segundo Van Haandel e Marais (1999), o sistema combinado anaeróbio/aeróbio tem grande potencial de redução de custos de construção e operacional. Ainda, devido à remoção de grande parte do material orgânico do afluente no tratamento anaeróbio, a necessidade de oxidação do material orgânico residual no sistema aeróbio complementar é muito menor do que aquela necessária para o tratamento de esgoto sem tratamento anaeróbio precedente. Ao mesmo tempo, a unidade anaeróbia atuará como tanque de equalização, o que irá reduzir as oscilações da demanda de oxigênio e resultará em diminuição adicional da capacidade de aeração necessária.

## 2.4 Meio suporte em reatores anaeróbios

Os filtros anaeróbios são reatores que dispõem de uma camada de material suporte, leito, em cuja superfície ocorre a fixação de microrganismos formando biofilmes. Estes microrganismos também podem se agregar na forma de grânulos e flocos. Biofilmes são descritos na literatura como microrganismos fixos em uma interface e imobilizado em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares (SPE) de origem microbiana (RAS et al., 2011).

No entanto, um dos fatores limitantes para esta tecnologia ainda tem sido o alto custo do material suporte, que na maioria dos casos é proporcional ao custo de construção do filtro. Neste contexto, deve-se utilizar um meio suporte de baixo custo, inerte e de textura adequada, a exemplo da esponja sintética de poliuretano. Filtros anaeróbios são capazes de reter grandes quantidades de biomassa, que formam biofilmes sob o meio suporte inerte (FANG, CHUI e LI, 1995).

A agregação de colônias de microrganismos em suporte inerte é uma técnica recomendada para manter maior quantidade de biomassa destinada à remoção de material carbonáceo e nutrientes. Algumas características tais como: elevada área superficial, resistência à abrasão, leveza e superfície de aderência são exigidas na seleção do material suporte, o qual deve ser inerte e nunca rapidamente biodegradável (SOUSA et al., 2009).

A influência das propriedades físicas e químicas do material suporte na formação do biofilme em reator anaeróbio tem sido tema de alguns estudos (PICANÇO et al., 2001; YANG et al., 2004).

Habouzit et al. (2009) estudaram a aderência de arqueias metanogênicas em diferentes meios suporte. Os resultados indicaram que as propriedades físico-químicas do meio suporte influenciaram significativamente a aderência de bactérias e arqueias. A relação arqueias / bactérias das comunidades microbianas aderidas foi fortemente dependente da natureza do material suporte.

Além disso, filtros anaeróbios com meio suporte devem ser operados de maneira que otimizem, de um lado um período de rápido crescimento de um biofilme ativo e, por outro lado, este biofilme deve ser controlado para manter uma alta atividade específica e evitar entupimentos, os quais podem ocorrer caso a água

residuária tenha uma concentração elevada de sólidos em suspensão (ESCUDIÉ et al., 2011).

## 2.5 Águas residuárias de suinocultura.

A suinocultura no Brasil é uma atividade bastante difundida e de grande alcance social. Ela é considerada, pelos órgãos de fiscalização e proteção ambiental como atividade de grande potencial poluidor, devido ao elevado número de contaminantes contidos nos seus efluentes cuja ação individual ou combinação representa uma fonte de potencial de contaminação e de degradação do ar, dos recursos hídricos e do solo (PEREIRA, 2006).

Segundo Diesel et al., (2002), a capacidade poluente dos dejetos de suínos, em termos comparativos, é muito superior à de outras espécies. Utilizando-se o conceito de equivalente populacional, um suíno em média, equivale a 3,5 pessoas.

A poluição do ambiente por resíduos orgânicos de origem animal, oriundos da exploração agropecuária vem colocando em risco o equilíbrio ecológico, seja pela introdução de agentes patogênicos a animais e vegetais, seja pelo rompimento do equilíbrio biológico (MATOS et al., 1997).

Os dejetos suínos são constituídos por fezes, urina, água desperdiçada pelos bebedouros e de higienização, resíduos de ração, pelos, poeiras e outros materiais decorrentes do processo criatório. O esterco por sua vez é constituído pelas fezes dos animais, que contém matéria orgânica, nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, sódio, magnésio, manganês, ferro, zinco, cobre e outros elementos incluídos nas dietas dos animais. (DIESEL et al., 2002).

O resíduo de suinocultura também possui organismos patogênicos entéricos, a presença de organismos patogênicos em torno de  $10^5$  a  $10^7$  NMP  $100\text{mL}^{-1}$  em resíduo de suinocultura constitui um grave problema de saneamento (METCALF E EDDY, 1981; SENIOR, 1995).

De acordo com Vanotti et al. (2005), dentre os agentes patogênicos mais importantes capazes de ser veiculados pelos dejetos de suínos tem-se, as bactérias, tais como *Salmonella* sp. e *E. coli* 0157:H7, protozoários como, *Giardia* sp, *Entamoeba* sp, *Cryptosporidium parvum*, vírus e helmintos.

Dentre as bactérias o gênero *Escherichia* faz parte da flora intestinal normal dos animais e do homem assim como do meio ambiente e está associado à diarreias e infecções hospitalares (ORTOLAN,1990).

A patogenicidade da *Escherichia coli* está relacionada à sua capacidade de colonizar o epitélio intestinal. (NATARO e KAPER, 1998).

Segundo Hurst et al., (1996), o gênero *Salmonella* apresenta mais de 2000 sorovares com isso há mais dificuldades e isolamento e detecção dos mesmos. A maioria dos sorovares de *Salmonella* spp. que infectam suínos não causa doença clínica nesses animais. Todavia, mesmo animais aparentemente saudáveis podem excretar a bactéria de forma intermitente pelas fezes e, assim, contaminar o ambiente e outros animais (CASTAGNA, SCHWARZ & CARDOSO, 2004)

A salmonelose é uma das principais causas de gastroenterites em humanos veiculada por alimentos em todo o mundo. Trata-se de um importante problema de saúde pública tanto em países industrializados como em desenvolvimento (EFSA 2009, EFSA 2010, LOUREIRO et al., 2010).

Os vírus entéricos são responsáveis da mesma forma por doenças provocadas por ingestão de água ou alimentos contaminados e por dejetos de animais disposto no meio ambiente, isso ocorre porque alguns organismos que infectam humanos podem se desenvolver no trato intestinal de outros animais e contaminar a água ao serem eliminados pelas fezes. Os protozoários também são fonte de contaminação em resíduo de suinocultura (HURST et al.,1997).

Entre as espécies mais importantes pode-se citar a *Entamoeba histolytica* que pode ter o suíno como hospedeiro e causar amebíase que é responsável pela maior incidência de óbitos por doença parasitária. Os vermes entéricos são também importante fonte de contaminação patogênica em resíduo de suinocultura tendo animais domésticos como hospedeiro. Entre as espécies mais importantes podemos citar o *Ascaris* sp e a *Taenia* sp, cujos ovos são resistentes as condições ambientais por vários meses o que amplia as possibilidades de infecção (MAIER et al., 2000)

## **2.6 Lodo biológico**

Parte da matéria orgânica nos processos biológicos de tratamento de efluentes, é absorvida e convertida em biomassa microbiana, que é denominada

genericamente de lodo biológico. O termo “lodo” tem sido utilizado para designar os subprodutos sólidos do tratamento de esgotos. O lodo é convencionalmente chamado de “biossólido,” como uma forma de ressaltar os seus aspectos benéficos, valorizando a sua utilização produtiva, em comparação à mera disposição final através de aterros, da disposição superficial no solo ou incineração, (VON SPERLING e ANDREOLI, 2001).

Segundo Andreoli et al.(1997), o lodo de esgoto resultante do tratamento de águas residuárias é um dos grandes problemas ambientais urbanos da atualidade.

A crescente demanda por melhores condições ambientais tem exigido de empresas públicas e privadas a definição de políticas ambientais mais avançadas, incluindo o tratamento de efluentes. A quantidade de efluentes tratados tende a aumentar, e seu tratamento tem gerado aumento de lodo a ser destinado adequadamente (BARREIROS et al.,2007).

Os sistemas de tratamento combinados (anaeróbio e aeróbio) são promissores; entre as vantagens, destacam-se a menor produção de lodo (CHERNICHARO, 2006) e a redução de coliformes no lodo que poderia ser reutilizado na agricultura.

Segundo Korentajer (1991), do ponto de vista econômico, essa opção parece ser a mais vantajosa. Alguns estudos referenciam a reutilização do lodo oriundo do esgoto doméstico, sendo escassas pesquisas com lodo gerado no tratamento de dejetos de suinocultura.

Os dejetos de suinocultura possui também organismos patogênicos entéricos que são causadores de doenças em humanos. O grupo de bactérias que pode causar doenças no homem e que estão presentes nos dejetos de suinocultura é o de coliformes termotolerantes e deve ser monitorado em sistemas de tratamento (BRAILE e CAVALCANTI, 1993).

Dentre os helmintos mais comuns no lodo, incluem-se os *Ascaris* sp, *Trichuris* spp, *Ancilostomídeos* e *Taenia* spp. Desses, os três primeiros são bastante resistentes a uma ampla variedade de condições físicas e químicas adversas, sendo capazes de sobreviverem por vários anos no solo (EPA, 1992).

Na Tabela 1, são apresentados os tempos de sobrevivência de alguns patógenos no solo e na superfície de plantas.

**TABELA 1.** Tempo de sobrevivência de patógenos no solo e plantas.

PATÓGENOS	SOLO		PLANTAS	
	Máximo absoluto	Máximo usual	Máximo absoluto	Máximo usual
Bactérias	1 ano	2 meses	6 meses	1 mês
Vírus	1 ano	3 meses	2 meses	1 mês
Cistos de protozoários	10 dias	2 dias	5 dias	2 dias
Ovos de helmintos	7 anos	2 anos	5 meses	1 mês

Fonte: EPA (1992)

O lodo oriundo de dejetos de animais é um resíduo rico em matéria orgânica e nutrientes, indispensáveis ao crescimento e desenvolvimento das plantas (BETTIOL e CAMARGO, 2000).

Uma opção ambientalmente sustentável para a disposição final do lodo de esgoto é seu uso como fertilizante e condicionador de solo na agricultura e em atividades florestais (SILVA et al., 2002; TRANNIN et al., 2008). Para isso, o lodo deve apresentar concentrações de agentes patogênicos em níveis que não tragam consequência ao solo, à planta e ao homem.

Em síntese, para que possa ser aplicado na agricultura, de forma segura, todo lodo de esgoto deve passar por algum tratamento adicional de modo a situar-se dentro dos parâmetros definidos por lei.

A Resolução CONAMA n° 375 (Brasil, 2006), trata especificamente, do lodo de esgoto. Não há legislação própria para lodo proveniente de resíduos agropecuários ou similares, os parâmetros microbiológicos que classificam o lodo para a utilização como adubo na agricultura, os separam em tipo A ou produto derivado, quando a concentração de coliformes termotolerantes for menor que  $10^3$  NMP g<sup>-1</sup> de ST, ou lodo do tipo B, se a concentração for menor que  $10^6$  NMP g<sup>-1</sup> de ST.

Uma das características importantes dos lodos anaeróbios provenientes de reatores UASB é que devido ao longo tempo de residência celular no reator, o lodo apresenta elevado grau de estabilização, não necessitando de pré-tratamento antes da desinfecção. O volume de lodo gerado nos reatores anaeróbios também é menor quando se compara com outras formas de tratamento (CAMPOS, 1999 e ROSÁRIO, 2007).

## 2.7 Indicadores de contaminação

A maior dificuldade encontrada pelos pesquisadores e agências ambientais para monitorar organismos patogênicos e efluentes é a quantidade e variedade destes organismos bem como a dificuldade de isolamento e identificação. O uso de indicadores é uma alternativa para identificar e quantificar a contaminação fecal no monitoramento da qualidade da água e efluentes. O indicador ideal é aquele que mede os riscos associados à ingestão de água ou alimentos contaminados. O grupo de microrganismos indicadores de contaminação fecal deve ser único para efluentes e água para o, consumo, recreação e alimentos. Além disso, deve sobreviver por longo tempo no ambiente, não apresentar crescimento na água e ser identificado em um teste eficaz na rotina do laboratório (MAIER et al.,2000).

Atualmente, a quantificação do grupo coliforme que inclui os gêneros *Escherichia* e *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Enterobacter*, tem sido utilizado como medida de contaminação fecal. A análise é feita pelo método NMP (número mais provável) e tem sido adotado como índice de patogênicos em diferentes materiais. O isolamento de coliforme total é feito através do metabolismo da lactose e da produção de ácido e gás a 35°C, e o de termotolerantes da mesma forma só que a 44,5°C (KUNST et al., 2002).

As quantidades de coliformes totais e termotolerantes tem limitações na predição do potencial de contaminação do material analisado, porque o tempo de sobrevivência destes organismos é menor do que dos demais. Além disso, esses microrganismos são mais sensíveis aos processos de tratamento da água e por isso não constituem um modelo adequado para quantificar protozoários. Estudos mostram que ocorrem epidemias ocasionadas por protozoários em material em que a quantidade de coliformes totais e termotolerantes estava dentro dos padrões permitidos pelos órgãos ambientais e nos quais possui nutrientes e temperatura adequada. Essa ocorrência pode produzir resultados falsos positivos quando o método é utilizado para determinar a contaminação da água em países tropicais (HURST et al.,1997).

Esta aparente falta de confiabilidade dos tradicionais indicadores de poluição fecal em condições tropicais, têm levado a sugestões de outros indicadores

complementares aos coliformes para detectar poluição orgânica em ambientes aquáticos (BYAMUKAMA et al., 2005).

Entretanto, estudos realizados por vários pesquisadores e reportados em documento da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2002) têm apresentado falhas quanto ao uso desse grupo, podendo-se citar: a baixa sobrevivência fora do trato intestinal, particularmente em ambientes marinhos; definição incerta como um grupo e baixa relação com a presença de bactérias patogênicas e vírus. Assim, é importante considerar outros indicadores na avaliação microbiológica das águas, os quais podem exibir relação mais estreita com a presença de microrganismos patogênicos na água, particularmente aqueles que podem persistir por mais tempo no ambiente (SOUZA; DANIEL, 2008).

A presença de helmintos no lodo não pode ser avaliada por meio de bactérias indicadoras, tornando-se necessária a utilização de um outro indicador para este tipo de organismo. Assim, foi sugerido pela WHO), que se utilizasse *Ascaris lumbricoides* como o indicador mais adequado para este grupo de patógenos.

Segundo Galvan e Victorica (1998) a avaliação de ovos de helmintos, no entanto, não pode ser somente quantitativa, pois é a viabilidade dos ovos que os tornam “importantes” epidemiologicamente. Os ovos férteis não embrionados, quando eliminados pelo hospedeiro, juntamente com as fezes, não são infecciosos até que se transformem em larvas infectantes. Eles não são capazes de causar enfermidade até que se transformem, dentro do ovo, em larvas de segundo estágio. Somente estes ovos, ao serem ingeridos por um novo hospedeiro, liberam suas larvas no intestino delgado e continuam seu ciclo normal para formar parasitas adultos. A etapa de desenvolvimento, desde o embrião até a larva infectiva, ocorre no solo ou nos cultivos, sendo que esta capacidade infectiva pode permanecer latente durante anos se as condições ambientais forem adequadas.

Passamani (2001) Paulino et al. (2001), Soares et al. (2001), Jiménez (2007), Santos e Torres (2010) e Bastos (2012) realizaram a quantificação e a viabilidade de ovos de helmintos em águas residuárias de esgoto sanitário, Pinto (2012) em águas residuárias de suinocultura, visando a avaliação do efluente bruto e tratado.

## 2.8 Helmintos

Os helmintos constituem um grupo muito numeroso, composto de vários filos, sendo três mais importantes em termos de parasitologia: Platyhelminthes, Aschelminthes e Acantocephala.

Os helmintos parasitos constituem um dos grupos mais importantes, quando se trata de saúde. Isto em função da frequência com que são encontrados na natureza, da resistência dos ovos de algumas espécies a condições adversas, e devido à baixa dose infectante para contaminação do hospedeiro. Os helmintos são os parasitos mais resistentes a condições ambientais externas, sobretudo seus ovos.

O aumento na transmissão das parasitoses teria um efeito equivalente ao aumento da fecundidade do parasito e poderia ser uma estratégia que favoreceria sua manutenção na natureza. Por isso é que a estrutura e a função da casca dos ovos dos nematóides têm papel relevante e que deve sempre ser considerada. Sua resistência, complexidade e variabilidade podem ser consideradas como adaptações que aumentariam a sobrevivência do embrião e da larva no meio ambiente. A casca do ovo também é responsável pela resistência a anti-helmínticos. O estudo da estrutura e função da casca do ovo objetiva entender sua resistência para facilitar seu controle. A casca dos ovos de nematóides pode consistir de 1 a 5 camadas, e o padrão mais frequentemente encontrado consiste em uma camada interna lipídica; uma camada média quitinosa; uma camada externa vitelina (WHARTON, 1980).

Essas camadas são formadas interiormente por oôgenese, e são elaboradas pelo próprio ovo. Além disso, a casca dos ovos de alguns nematóides pode possuir uma ou duas camadas externas secretadas por células uterinas, ainda na parede do útero das fêmeas. A camada uterina pode conter mucopolissacarídeos e proteínas, sendo em geral grossa e irregular, fornecendo ao ovo o aspecto típico de uma membrana mamilonada, como nos ovos de *Ascaris* sp. A casca dos ovos de nematóides é uma estrutura biológica extremamente resistente, sendo impermeável à maioria das substâncias, com exceção de gases e solventes lipídicos. O papel principal da camada de quitina é, provavelmente, fornecer resistência estrutural. Caso fosse removida, a camada lipídica seria facilmente submetida a danos

mecânicos o que permitiria a entrada de produtos químicos nocivos (WHARTON, 1980).

Ligações covalentes entre quitina e proteína fornecem alguma resistência aos ataques químicos. A extrema resistência química da casca do ovo pode ser observada durante os testes de embrionamento, quando os ovos são incubados em meios contendo ácido sulfúrico 0,1 N e nenhuma alteração substancial é notada (MASSARA, 1988).

O embrionamento dos ovos sob uma variedade de soluções nocivas confirma a impermeabilidade da casca do ovo a compostos solúveis em água. Os ovos também desenvolvem-se normalmente em soluções hiper e hipo-osmóticas, o que sugere que a casca do ovo seja impermeável à água (WHARTON, 1980).

Capizzi e Schwartzbrod (2001), estudando as propriedades hidrofóbicas da superfície de ovos de *Ascaris suum* a partir da verificação da aderência de compostos de hidrocarbonetos (hexadecano e octano), encontraram que os percentuais hidrofóbicos do octano foram sempre acima de 70%, sugerindo que a superfície dos ovos de *Ascaris* sp tenham características hidrofóbicas.

Quanto à respiração, a molécula de oxigênio é maior que a molécula de água. Assim, não é possível ter uma membrana biológica que seja permeável ao oxigênio, e impermeável ao vapor de água. Conseqüentemente a casca do ovo deve apresentar uma permeabilidade muito baixa a trocas gasosas, restringindo perdas de água, ao mesmo tempo que permite um adequado suprimento de oxigênio para o desenvolvimento do embrião (GODINHO, 2003).

A taxa de perda de água dos ovos de nematóides é afetada pelas mudanças de temperatura verificadas no ambiente natural em que se encontram. O efeito da temperatura sobre a permeabilidade da casca do ovo é, dessa forma, um importante fator de influência na capacidade dos ovos em sobreviverem às condições adversas do meio ambiente (GODINHO, 2003).

### **2.8.1 *Ascaris suum***

O *Ascaris suum* é o maior nemátode que parasita os suínos, as fêmeas podem atingir um comprimento de 25 à 40 cm (MURRELL, 1986).

Segundo Roepstorff e Nansen (1998), os ovos de *Ascaris suum* apresentam uma membrana externa espessa e são extremamente resistentes a fatores ambientais e a agentes químicos.

Os ovos deste nemátode permaneceram viáveis durante mais de 10 dias em condições de digestão aeróbia a 47°C. Por outro lado, a 37°C e em condições de anaerobiose mantiveram-se altamente viáveis. Por essa razão, são usados muitas vezes como indicadores no teste da eficácia de diversos métodos de tratamento de efluentes orgânicos (ROSYPAL et al., 2007).

No entanto, o calor e a dessecação, tal como ocorre em solos arenosos expostos à ação direta do sol, destroem-nos em poucas semanas (RADOSTITS et al., 2007).

Sabe-se que são rapidamente destruídos a uma temperatura de 55°C e resistem apenas 2 dias a 47°C (ROSYPAL et al., 2007).

O ciclo biológico de *Ascaris suum* é direto. As fêmeas, extremamente prolíficas (posturas de 200.000 ovos por dia) depositam os ovos não embrionados no intestino delgado. Estes saem nas fezes e dispersam-se pelo meio ambiente. Na presença de temperaturas entre os 15°C e os 33°C e uma umidade relativa elevada (80%) os ovos começam a embrionar. A larva eclode raramente no meio ambiente e normalmente os suínos infectam-se pela ingestão de ovos contendo a forma larval infectante L3. As L3 que emergem dos ovos penetram no intestino delgado, na parede do ceco e na parte superior do intestino grosso (FRONTERA et al., 2005).

Após atravessar a parede intestinal iniciam uma migração orgânica, que começa cerca de 6 horas após a eclosão das larvas, que na sua maioria, alcançam o fígado em cerca de 24 horas (CORDERO DEL CAMPILLO e ARGÜELLO, 2002).

Passam via sanguínea, ao coração e atingem o tecido pulmonar 5 a 6 dias mais tarde (8 a 11 d.p.i.). Ascendem pelos brônquios e traqueia até à faringe (12 dias pós-infecção (d.p.i.)) onde são deglutidas, e alcançam novamente o intestino delgado 14 a 21 d.p.i. (FRONTERA et al., 2005), onde sofrem maturação e se desenvolvem até à forma adulta.

O período pré-patente (p.p.p.), período que decorre entre a infecção e o aparecimento das primeiras formas detectáveis do agente infeccioso, é de 6 a 8 semanas aproximadamente (RADOSTITS et al. 2007), contudo, este dependente

quer da idade dos animais afetados, quer do fato de se tratar de uma primoinfecção ou reinfecção.

Algumas larvas, utilizando a circulação pulmonar regressam ao coração, e redistribuem-se por diversos órgãos formando granulomas nos quais acabam por morrer (CORDERO DEL CAMPILLO e ARGÜELLO, 2002).

Segundo Pinto (2012) o helminto *Ascaris suum* é responsável por uma verminose que acomete suínos levando a significativo prejuízo econômico devido à redução na eficiência de produção em função da perda de peso, e à condenação de vísceras pela migração do parasita durante a fase larvária. Os ovos de *Ascaris suum* são indistinguíveis dos ovos de *Ascaris lumbricoides* sendo geralmente diferenciados pelas características morfológicas dos vermes adultos.

Ainda segundo Pinto (2012), autores como Loreille e Bouchet (2003) e Leles et al.(2012) levantaram a hipótese do *Ascaris suum* e o *Ascaris lumbricoides* serem a mesma espécie, pois apesar do *Ascaris suum* ser um parasita específico de suínos pode causar infecção cruzada em humanos.

## 2.9 Protozoários

Os protozoários constituem um conjunto de organismos unicelulares, em geral, são organismos microscópicos, medindo micrômetros de comprimento. Sua forma varia, podendo ser ovóides, esféricos, estrelados e de contornos bizarros.

O cisto é a forma de resistência, que o protege quando em meio impróprio (REY, 2001).

Os protozoários podem ser transmitidos aos seres humanos, através da água. Dentre eles destacam-se o *Cryptosporidium spp.* e *Giardia lamblia* por permanecerem viáveis por vários meses na água entre 4 e 10°C. As principais fontes de contaminação de mananciais por oocistos de *Cryptosporidium spp.* e cistos de *Giardia lamblia*, são os esgotos sanitários, bem como os dejetos e efluentes de atividades agropecuárias, principalmente nos países em desenvolvimento (HELLER et al.,2004).

Os cistos de *Giardia lamblia* podem sobreviver de 28 a 56 dias, estando o tempo da sua sobrevivência relacionado com temperaturas baixas. A dose infectante é baixa, ao redor de 10 a 130 cistos. Este parasito é considerado uma das principais

causas de diarreia nos países em desenvolvimento, infectando cerca de 10 a 15% da população mundial. (CARDOSO et al., 2003).

O *Cryptosporidium* spp. tem sido considerado como principal agente etiológico de diarreia entre crianças com idade superior a um ano e inferior a dois anos (MOITINHO et al., 1997).

A partir de 1984, este parasito foi associado a surtos de diarreia, devido ao consumo de água contaminada e também pelo contato com águas destinadas à recreação, mas somente em 1993, com o surto ocorrido em Milwaukee, Wisconsin, EUA, esta parasitose foi reconhecida como problema de saúde pública (FAYER, 2004)

O protozoário *Entamoeba histolytica* apresenta distribuição geográfica mundial e a sua presença está relacionada diretamente com as deficiências dos serviços de saneamento básico. A importância da pesquisa deste protozoário na água reside no fato de que um dos principais mecanismos de transmissão é através do consumo de água contaminada ou consumo de alimentos crus que tenham sido irrigados com águas poluídas (REY, 2001).

Outros protozoários de interesse humano, veiculados pela água, que merecem destaque, são as amebas de vida livre pertencentes aos gêneros *Acanthamoeba* e *Naegleria*, que habitam ambientes aquáticos, tais como piscinas, lagoas, rios, solos úmidos e esgoto (NEVES, 2002).

Segundo Martinez (1985), estas amebas são potencialmente patogênicas, pois podem comportar-se como parasitos facultativos de seres humanos, causando óbito ou incapacidade permanente

## **2.10 Bactérias do grupo coliformes**

O grupo dos coliformes totais inclui bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou aeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35 °C. Contém cerca de 20 gêneros, dentre os quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato intestinal de humanos quanto de outros animais homeotérmicos. Sua presença não indica necessariamente poluição de origem fecal, já que este grupo de

microrganismos é encontrado naturalmente no ambiente como no solo, insetos e vegetais (SILVA et al., 1997)

Os coliformes termotolerantes são capazes de fermentar a lactose com produção de gás e aldeídos ácidos, em 24 h a  $44,5 \pm 0,5$  °C. Este grupo atua como indicador de poluição fecal, devido à sua ocorrência restrita às fezes do ser humano e dos animais homeotérmicos. Sua presença evidencia o risco da presença de organismos patogênicos de origem fecal. Três gêneros fazem parte deste grupo: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella* (SILVA et al., 1997).

A incidência de infecções por esse grupo é mais frequente nas regiões tropicais, onde predominam aglomerações populacionais, condições sanitárias precárias e a contaminação dos suprimentos aquíferos por material de origem fecal (KONEMAN et al., 2001).

Durante o processo de tratamento de águas residuárias é importante que se faça a contagem padrão de bactérias, visto que o resultado permite avaliar a eficiência das várias etapas do processo. Pesquisadores como Duda e Oliveira (2009); Fernandes (2004), Ramires (2005) e Oliveira e Santana (2011), entre outros, realizaram a quantificação de coliformes em águas residuárias de suinocultura, visando à avaliação do efluente bruto e tratado para atender aos padrões microbiológicos de águas doces da legislação brasileira, Resolução CONAMA nº 357 (Brasil, 2005).

### **3.MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Localização geográfica e instalações**

A “Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV)” localiza-se no município de Jaboticabal-SP, e dista 3 Km do centro urbano da cidade. Com população da ordem de 72.000 habitantes, está na região Norte do Estado de São Paulo, cujas coordenadas geográficas são 21° 15' 22” de latitude Sul e 48° 18' 66” de longitude Oeste, e a 595 metros de altitude. O clima da região, segundo classificação de Koppen (1948), é Awa (subtropical úmido, seco no inverno e com chuvas no verão), com precipitação média anual de 1300 mm e temperatura média

anual de 21°C. Distância da capital do Estado, São Paulo, é de 340 Km, e de Ribeirão Preto é de 50 Km (UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, 2013).

O experimento foi conduzido nas instalações experimentais e Laboratórios de Saneamento Ambiental do Departamento de Engenharia Rural e Laboratório de Enfermidades Parasitárias dos Animais do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias na Universidade Estadual Paulista - UNESP, Câmpus Jaboticabal (Figura 1).



**FIGURA 1.** Vista geral das instalações experimentais localizadas na área do Laboratório Saneamento Ambiental Anaeróbia do Departamento de Engenharia Rural da UNESP – Câmpus Jaboticabal.  
Fonte: SILVA (2013).

### 3.2 Afluente

As águas residuárias de suinocultura utilizadas como afluente dos sistemas de tratamento foram coletadas diariamente em confinamento de suínos em fase de crescimento e terminação, em propriedade com criação comercial, no município de Jaboticabal-SP, a qual utilizava lâmina d'água para a coleta e transporte dos dejetos.

#### 3.2.1 Ilustração fotográfica do local de coleta das águas residuárias

As Figuras 2, 3 e 4 ilustram a propriedade comercial onde foram coletadas as águas residuárias de suinocultura para realização deste trabalho.



**FIGURA 2 (a) e (b).** Vista parcial externa da instalação comercial de confinamento de suínos



**FIGURA 3 (a) e (b).** Vista interna das Instalações de confinamento de suínos



**FIGURA 4.** Local de coleta das águas residuárias de suinocultura

As águas residuárias de suinocultura foram coletadas em tanque de armazenamento e sedimentação existente na instalação comercial (Figura 4) e transportadas até a área experimental onde eram preliminarmente peneiradas (malha de 3 mm) (Figura 5) para separação dos sólidos grosseiros e em seguida, foram armazenadas em caixas e bombeadas para os primeiros reatores UASB. Os demais reatores foram alimentados na sequência da instalação em série por gravidade

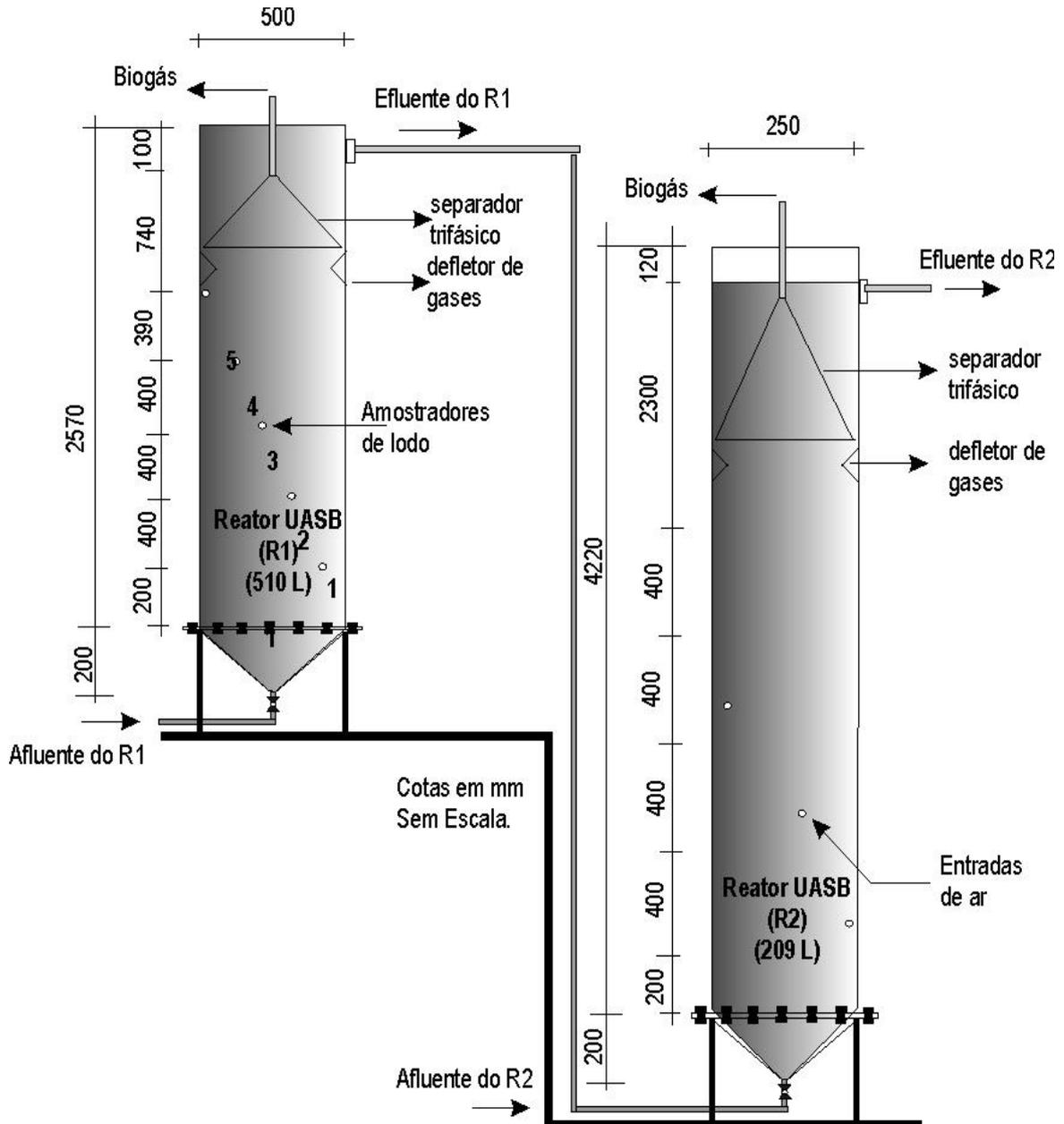


**FIGURA 5.** Pré-tratamento das águas residuárias de suinocultura utilizadas na alimentação dos Reatores UASB.

### 3.3 Instalações experimentais

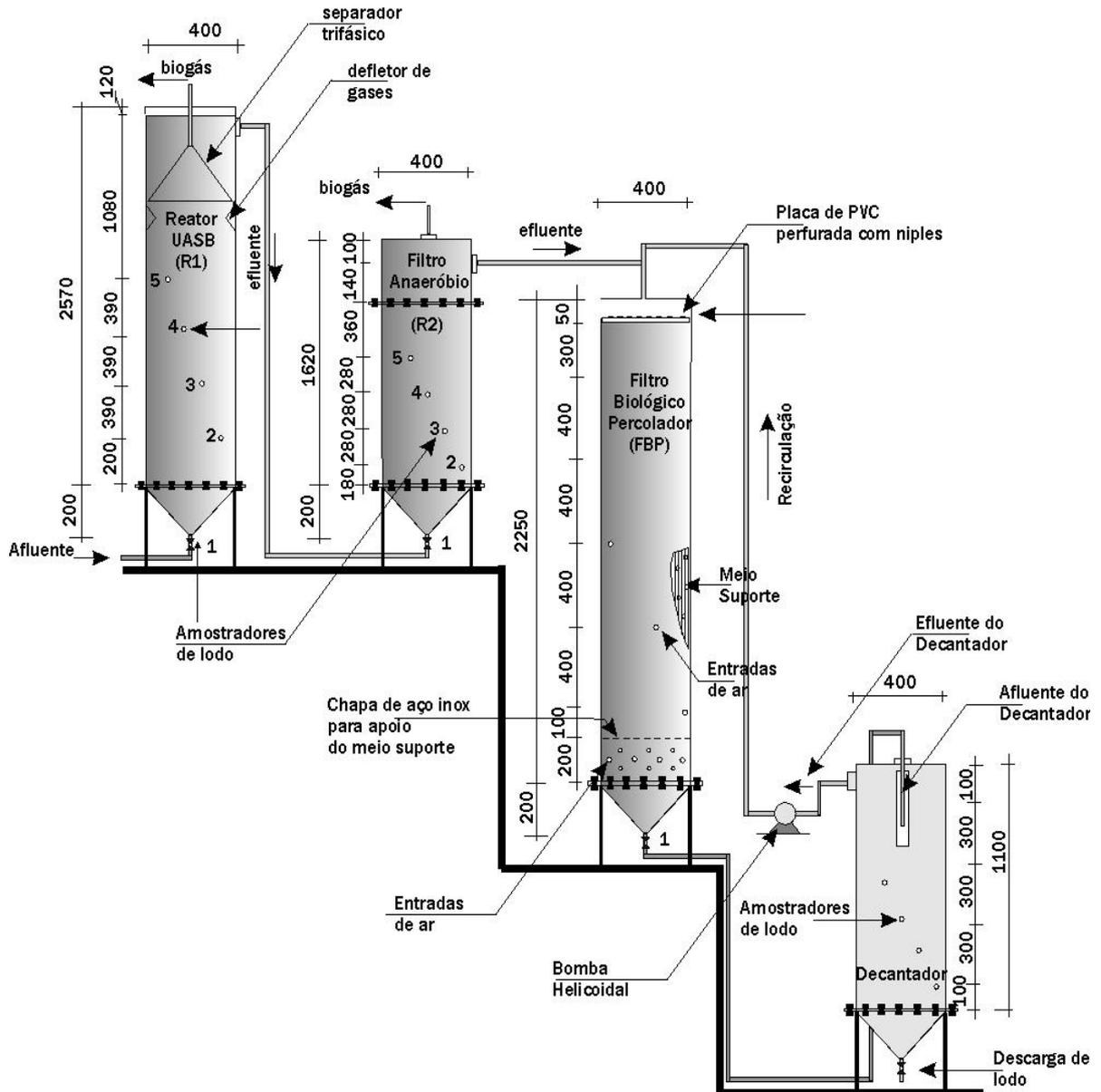
As instalações experimentais foram compostas por dois sistemas de tratamento.

O sistema de tratamento I foi constituído por dois reatores de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), em escala piloto, instalados em série, com volumes de 510 e 209 L, para o primeiro (R1) e segundo reatores (R2), respectivamente (Figura 6). Para a alimentação do R1, foi utilizada uma bomba helicoidal, conforme descrito por Oliveira e Santana (2011).



**FIGURA 6.** Representação esquemática das instalações experimentais do sistema de tratamento anaeróbio (I), com dois reatores UASB, instalados em série, em escala piloto.  
 Fonte: OLIVEIRA e SANTANA, (2011).

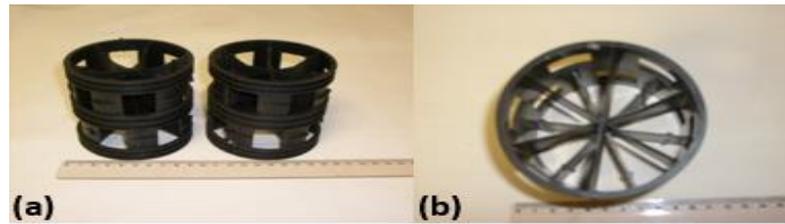
O sistema de tratamento II foi composto por reator UASB, filtro anaeróbio, filtro biológico percolador e decantador, instalados em série, com volumes de 300, 190, 250, 150 L, respectivamente (Figura 6), conforme descrito por Duda e Oliveira (2011).



**FIGURA 7.** Esquema da instalação experimental do sistema de tratamento II composto por reator UASB, filtro anaeróbico de fluxo ascendente, filtro biológico percolador e decantador instalados em série, em escala piloto.

Fonte: DUDA e OLIVEIRA (2011).

Nos filtros anaeróbico e no biológico percolador foram utilizados como meio suporte, anéis de polipropileno (Bioring®) com área superficial específica de  $101 \text{ m}^2 / \text{m}^3$  fabricado pela Interpacking (Figura 8). Os anéis foram colocados de forma desorganizada.



**FIGURA 8 (a) e (b)-** Anéis de polipropileno (Bioring®)

### 3.4 Condições operacionais

As condições operacionais aplicadas nos sistemas de tratamento estão descritas na Tabela 2.

**TABELA 2.** Tempo de operação, épocas do ano temperatura média do ar, tempo de detenção hidráulica (TDH), carga orgânica volumétrica (COV), aplicados nos reatores UASB (R1 e R2) do sistema de tratamento I e no reator UASB (R1) e filtro anaeróbio (FA), filtro biológico percolador (FBP) e decantador do sistema de tratamento anaeróbio II, nos ensaios 1a 4.

Atributo	Sistema de tratamento	Ensaio				
		1	2	3	4	
Tempo de operação (d)		112	69	100	117	
Período (mês/ano)		06 a 10/11	10 a 12/11	01 a 04/12	05 a 09/12	
Temperatura média do ar (°C)		22,1	23,0	23,8	21,8	
DQO total (mg.L <sup>-1</sup> )	I	Afluente	11335	5474	10705	6296
		R1	4483	2154	2188	1527
		R2	1280	1574	778	1238
	II	Afluente	9308	6596	8096	10895
		R1	1338	1416	2614	1846
		R2	717	1089	917	1549
TDH (h)	I	R1	40,0	30,0	20,0	11,0
		R2	16,3	12,2	8,1	4,5
	II	UASB	40,0	30,0	20,0	11,0
		FA	19,0	14,5	9,5	5,2
COV g DQO total (L d) <sup>-1</sup>	I	R1	6,8	4,3	12,8	13,7
		R2	6,5	4,2	6,6	8,4
COV g DQO total (L d) <sup>-1</sup>	II	UASB	5,6	5,2	9,7	18,7
		FA	1,4	2,1	6,0	7,8
		FBP	0,65	1,2	1,2	5,3
		D	1,1	1,6	1,6	9,8

Fonte: SILVA (2013)

### **3.5 Monitorização dos sistemas de tratamento**

O monitoramento dos reatores iniciou-se em julho de 2011 e estendeu-se até agosto de 2012 e consistiu em um conjunto de análises físico-químicas realizadas por Silva (2013), parasitológicas e microbiológicas. As análises foram realizadas no esgoto bruto, nos efluentes e no lodo.

Os parâmetros avaliados foram: temperatura do ar, pH; OD; DQO total, particulada e filtrada; oxigênio dissolvido; sólidos totais; sólidos voláteis totais; sólidos suspensos totais; sólidos suspensos voláteis; nitrogênio amoniacal; nitrogênio total Kjeldahl (NTK); nitrito; nitrato; fósforo total; coliformes totais; coliformes termotolerantes e ovos de helmintos. A frequência das análises de todos os parâmetros foi semanal, com exceção ovos de helmintos e de coliformes que foi realizada quinzenalmente após a estabilização do sistema.

As análises físico-químicas de rotina foram determinadas de acordo com metodologias descritas por APHA, AWWA, WPC (2005).

Os reatores anaeróbios foram considerados com condições estáveis quando os valores de coeficientes de variação (CV) das médias das eficiências de remoção de DQO total e sólidos suspensos voláteis (SSV), concentração de ácidos voláteis (AVT) e produção de metano (CH<sub>4</sub>) foram menores que 20%. No filtro biológico percolador quando os valores médios de DQO e SSV no efluente e suas eficiências tiveram CV abaixo de 20% (SILVA, 2013).

### **3.6 Exame microbiológico**

Para a colimetria, exame microbiológico para a estimativa da concentração de coliformes totais e termotolerantes, foi empregada a técnica de tubos múltiplos, em conformidade com o Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA; AWWA; WEF, 2005).

Empregando-se a técnica do número mais provável (NMP), obtiveram-se informações sobre a população presuntiva de coliformes (teste presuntivo) e sobre a população real de coliformes (teste confirmativo). Este teste visa detectar a presença de microrganismos fermentadores de lactose, especialmente do grupo coliformes e baseia-se na utilização de um meio de cultura rico em nutrientes, que proporcione

um rápido crescimento dos microrganismos, oferecendo apenas a lactose como fonte de carbono, a qual é fermentada pelos coliformes com consequente produção de ácidos e gás, evidenciada pelo tubo de Durhan. O meio de cultura utilizado contém ainda, "Lauryl sulfato", que inibe consideravelmente o crescimento da flora acompanhante ( HIGASKINO, 1998).

Essas análises foram conduzidas nos laboratórios da área de Digestão Anaeróbia do Departamento de Engenharia Rural da FCAV/UNESP – Jaboticabal.

Os resultados foram expressos em NMP (número mais provável) por 100 mL de amostra (APHA; AWWA; WEF, 2005).

As amostras foram coletadas em frascos de vidro autoclavados e processadas imediatamente após a coleta, como ilustrado na Figura 9.



**FIGURA 9.** Amostras para exame de coliformes

Foram coletadas amostras dos afluentes na tubulação de entrada dos reatores UASB, e dos efluentes, nas tubulações de saída dos reatores a UASB, filtro anaeróbio, filtro biológico percolador e decantador. As coletas foram realizadas no final de cada ensaio, com duas repetições por ensaio. As amostras de lodo foram coletadas em todos os pontos de amostragem equidistantes ao longo da altura dos reatores.

Para realização da técnica empregou-se meio de cultura "lauryl sulfato" no teste presuntivo, os meios Biliverdina para indicar a presença de coliformes totais e o meio "E.C." como indicativo de coliformes termotolerantes, no teste confirmativo.

Para as amostras dos afluentes, efluentes e lodo, procedeu-se previamente a uma série de diluições em água peptonada, da ordem de  $10^{-1}$  até  $10^{-9}$ , utilizando-se apenas as diluições de  $10^{-3}$  até a  $10^{-9}$  par os estudos de colimetria. Neste caso foram utilizadas uma séries de três tubos para cada diluição.

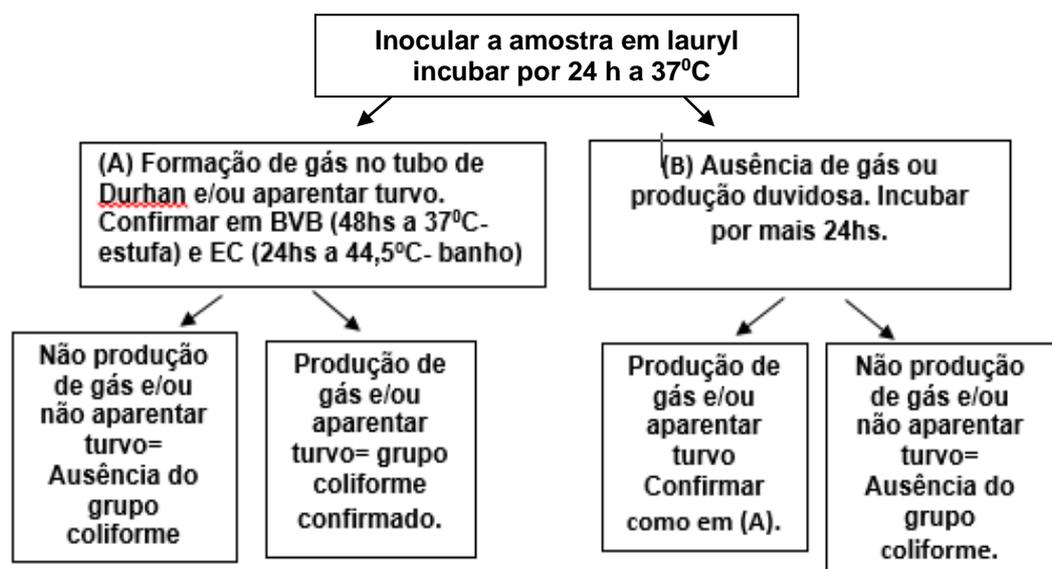
Após semear as amostras em meio de cultura “Lauryl sulfato”, os tubos foram incubados em estufa a  $35^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas, quando foram feitas as leituras. Considera-se positivo no tubo de Durham quando houver acumulação de gás no seu interior.

O teste confirmativo foi realizado a partir do conteúdo dos respectivos tubos positivos no teste presuntivo. De cada tubo com amostra que fora positivo no teste presuntivo, outros 3 tubos foram semeados, com alça de platina flambada e fria tanto no meio “Bile Lactosado Verde Brilhante” como no meio “E.C.”.

As culturas em meio “Bile Lactosado Verde Brilhante” foram incubados em estufa  $35^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas, enquanto as culturas em meio “E.C.” foram mantidas em banho maria a  $44^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas; após fez-se a leitura, observando-se, a formação de gás no interior dos tubos de Durham.

Para obter as concentrações de coliformes totais e termotolerantes foram utilizadas tabelas específicas para este fim (APHA; AWWA; WEF, 2005).

O esquema resumido do método está descrito na Figura 10

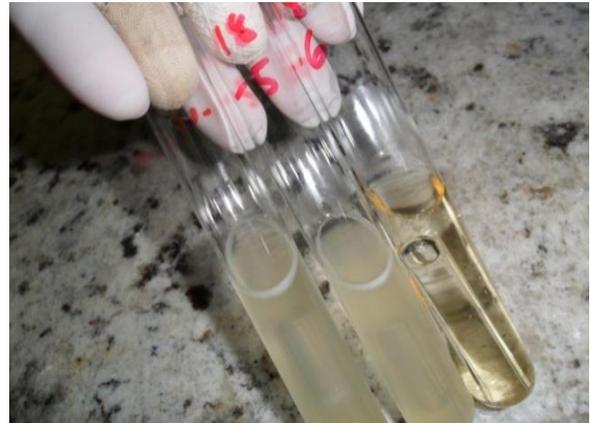


**FIGURA 10.** Esquema de exame de coliformes totais e termotolerantes, pelo Método do Número Mais Provável (NMP).  
Fonte: APHA (1998)

### 3.6.1 Ilustração fotográfica do procedimento de exame de colimetria



**FIGURA 11** Inoculação no Lauryl



**FIGURA 12.** Lauryl turvo e com bolha



**FIGURA 13.**Meio de cultura EC



**FIGURA 14.**Meio de cultura BVB

### 3.7. Exame parasitológico

Para o processamento, preparação das amostras e enumeração de ovos de helmintos, utilizou-se o método de sedimentação, desenvolvido por Bailenger (1979) e modificado por Ayres e Mara (1991).

As amostras dos afluentes e efluentes (10 L de cada) foram coletadas e acondicionadas em galões de polietileno de 15 L e o processamento se deu após duas horas de sedimentação.

A pesquisa de cistos de protozoários, tais como de *Entamoeba* spp. e *Giardia* spp, foi realizada através do exame microscópico direto (GOMES et al., 2002), e

pelo método de concentração de centrífugo-flutuação em solução de sulfato de zinco (CARDOSO et al., 2003).

Para pesquisa de *Cryptosporidium* spp foi utilizada a centrífugo-sedimentação pelo formol-éter, de acordo com o método empregado por Deng e Cliver (1999).

O local de amostragem dos afluentes foi a tubulação de entrada dos primeiros reatores UASB dos sistemas de tratamento I e II e os efluentes foram amostrados nas tubulações de saída dos reatores UASB, filtro anaeróbio, filtro biológico percolador e decantador. Foram realizadas duas repetições no final dos ensaios.

O teste de viabilidade dos ovos de *Ascaris suum* foi empregado para o afluente e efluente final do reator UASB (R2), afluente e efluente do filtro anaeróbio e no lodo dos reatores anaeróbios (UASB e filtro anaeróbio) do sistema de tratamento I e II respectivamente.

### **3.7.1 Enumeração de ovos de helmintos no afluente e efluente**

#### **3.7.1.1 Fundamento**

De acordo com o método de Bailenger (1978) e modificado por Ayres et al (1996) as amostras de esgotos a serem processadas passam pelas etapas de sedimentação, centrifugação e flutuação. Após sucessivas centrifugações da amostra, com descarte do sobrenadante, o sedimento é tratado com solução tampão aceto-acética (pH 4,5) e éter (ou acetato de etila) para a separação do material gorduroso. Posteriormente, com a adição de uma solução de sulfato de zinco de alta densidade ( $ZnSO_4$ , densidade 1,18), os ovos flutuam. Os ovos que possuem densidade relativa menor que este valor são separados do sedimento, e portanto flutuam. A contagem é realizada utilizando-se uma câmara de McMaster com observação no microscópio em objetivas de 10x e 40x.

O tamanho, a densidade relativa e a velocidade de sedimentação de alguns ovos são mostrados na Tabela 3. Pode-se observar que, com exceção dos ovos de *Schistosoma mansoni*, os demais são ligeiramente menores que os ovos de *Ascaris suum* e suas densidades relativas são similares, exceto para os ovos de *Taenia saginata* que apresentam densidade bem mais elevada (1,30).

**TABELA 3-** Tamanho, densidade e velocidade de sedimentação de algumas espécies de ovos de helmintos

Espécies	Tamanho (µm)	Densidade	Velocidade de Sedimentação (m/h)
<i>Ascaris suum</i>	65 x 45	1,13	0,95
<i>Schistosoma mansoni</i>	50 x 150	1,18	5,23
<i>Trichuris trichiura</i>	22 x 50	1,15	0,48
<i>Taenia saginata</i>	40 x 35	1,30	0,83
Ancilostomídeos	60 x 40	1,05	0,26

Fonte: DUNN, 1991, citado por HINDIYEH (1995) e ZERBINE (2000)

### 3.7.1.2 Equipamentos, materiais e reagentes

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

- Microscópio óptico comum com objetivas de 10x e 40x.
- Centrífuga para operar a 1000 g.
- Tubos de centrífuga.
- Agitador Vortex.
- Bomba de sucção ou sifão.
- Câmara de McMaster.
- Pipetas de Pasteur.
- Pipetas volumétricas.
- Densímetro.
- Béquer de 1 litro.
- Balde de 10 litros.
- Garrações de plástico com tampa de rosca e capacidade para 1 e 10 litros.
- Solução tampão aceto-acética (pH 4,5).
- Solução de sulfato de zinco (densidade 1,18).
- Solução Triton X-100 ou Tween 80
- Éter ou acetato de etila.

Nota : Se a câmara de MacMaster for de acrílico tem que utilizar éter, se for de vidro pode ser utilizada tanto o éter quanto o acetato de etila.

### 3.7.1.3 Preparação de soluções

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

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

### 3.7.1.4 Procedimentos para enumeração dos ovos e cistos de protozoários

De acordo com o método de BAILENGER modificado, são adotados os seguintes procedimentos para preparação das amostras e enumeração de ovos de helmintos (AYRES & MARA, 1996):

- Coletar uma amostra de esgoto de volume conhecido (V litros) - usualmente 1 litro para esgoto bruto ou parcialmente tratado e 10 litros para esgoto tratado (ver nota 1).
- Deixar a amostra sedimentar em um béquer (esgoto bruto) ou em um balde (esgoto tratado). Usualmente, tem sido adotados tempos de sedimentação de cerca de 1 hora para o esgoto bruto e de 2 horas para o esgoto tratado
- Remover aproximadamente 90% do sobrenadante usando uma bomba de sucção ou um sifão, garantindo que fique no recipiente um volume de aproximadamente 100 mL para o esgoto bruto e de 1 L para o esgoto tratado. Inclinando o recipiente, caso necessário, tendo o cuidado para não ressuspender o sedimento.

- Transferir cuidadosamente o sedimento para os tubos da centrífuga, enxaguando o béquer e/ou balde com solução Triton (ou Tween). Para qualquer transferência do sedimento de um recipiente para o outro, ou de um tubo para outro tubo, enxaguar com solução Triton (ou Tween).
- Pesar todos os tubos ajustando-os simetricamente na centrífuga e proceder a centrifugação a 1000 g (ver nota 3) por 15 minutos.
- Após a primeira centrifugação, descartar o sobrenadante; transferir todos os sedimentos para um único tubo e centrifugar novamente a 1000 g (ver nota 3) por 15 minutos.
- Descartar o sobrenadante e ressuspender o sedimento contido no tubo utilizando um volume equivalente de solução tampão aceto-acética (pH 4,5), ou seja, para um volume do sedimento igual a 2 mL, adicionar 2 mL da solução tampão. Caso o volume do sedimento seja inferior a 2 mL, adicionar solução tampão até completar um volume de 4 mL. Este volume mínimo de 4 mL visa facilitar o descarte do sobrenadante obtido durante a etapa (i), sem provocar a ressuspensão do sedimento contendo os ovos.
- Complementar o preenchimento do tubo com a adição de um volume de éter (ou acetato de etila) correspondente a duas vezes o volume do sedimento e homogeneizar a amostra com equipamento tipo Vortex. Ex.: se o volume do sedimento for 2 ml, adicionar 4 mL de éter ou acetato de etila.
- Centrifugar a 1000 g (ver nota 3) por 15 minutos. Após a centrifugação a amostra apresentará três fases distintas: i) no fundo do tubo se concentrará todo o material não gorduroso e fragmentos pesados, incluindo os ovos de helmintos, larvas e protozoários; ii) uma fase intermediária contendo a solução tampão, que deverá ser clara (transparente); e iii) uma fase superior contendo a gordura e outros materiais, que juntamente com o éter (ou acetato de etila) formam uma camada tampão espessa e de cor escura.
- Descartar todo o sobrenadante com um único movimento firme e rápido, deixando no tubo apenas o sedimento (anotar o volume do sedimento). Caso seja necessário, desprender a camada tampão de cor escura com uma agulha fina, visando facilitar o descarte do sobrenadante.

- Adicionar um volume de solução de sulfato de zinco igual a 5 vezes o volume do sedimento (ex.: se o volume do sedimento for igual a 1 mL, adicionar 5 mL da solução de sulfato de zinco). Anotar o volume do produto final, incluindo o sedimento e o sulfato de zinco (X mL) e homogeneizar a amostra com equipamento tipo Vortex.
- Remover, rapidamente, uma alíquota da amostra final com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e transferir para a câmara de McMaster. Deixar a câmara de contagem em repouso por 5 minutos para permitir que os ovos flutuem e atinjam a superfície do retículo de contagem.
- Examinar no microscópio em objetivas de 10x ou 40x e contar todos os ovos e cistos que estiverem dentro do retículo . Para uma melhor precisão na enumeração dos ovos de helmintos e cistos de protozoários, deve-se fazer a leitura de mais de uma câmara, preferencialmente três, e calcular a média aritmética das contagens obtidas (ver expressão de cálculo – item 4.3.6).

Nota (1) O método é muito eficiente quando utilizado para esgotos brutos, os quais usualmente apresentam uma elevada concentração de ovos de helmintos. Para esgotos tratados, no entanto, o número de ovos tende a ser muito baixo; nestes casos, o volume da amostra deve ser aumentado pelo menos para 10 litros, objetivando uma melhor recuperação dos ovos. Caso o número de ovos de helmintos no esgoto bruto também seja baixo, deve-se aumentar o volume da amostra de 1 para 5 litros

Para garantir uma maior recuperação dos ovos, é recomendado que o tempo de sedimentação adotado seja pelo menos o dobro do tempo de sedimentação teórico (calculado de acordo com a lei de Stokes').

Tempos de sedimentação maiores favorecem uma maior recuperação dos ovos (ZERBINE, 2000).

Nota (2) a expressão que relaciona “g” com “rpm” é como a seguir:

$$rpm = \sqrt{\frac{k.g}{r}}$$

onde: “k” = 89.456 e “r” é o raio da centrífuga (distância entre o eixo da centrífuga e o centro do recipiente), em cm .

Nota (3) se a quantidade de ovos de helmintos contidos dentro do retículo for zero, deve-se contar os eventuais ovos de helmintos que poderão estar fora do retículo.

### 3.7.1.5 Expressão de resultados

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

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

onde:

N = número de ovos (ovos/litro)

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

X = volume do produto final (mL)

P = volume da câmara de McMaster (para câmara de dois retículos P = 0,30 mL; para câmara de um retículo P = 0,15 mL)

V = volume original da amostra (ver item 4.3.5 - procedimento "a" )

### 3.7.1.6 Identificação de ovos de helmintos

A identificação dos ovos de helmintos deve ser realizada baseando-se principalmente nas suas características morfológicas e de tamanho, tais como: forma; conteúdo do ovo; espessura da membrana externa (casca) etc. São os seguintes os principais critérios para identificação dos ovos (STOTT, 1998).

- tamanho: os ovos de helmintos variam em comprimento de pequenos (18 µm) a grandes (150 µm ou maiores) e possuem diâmetros tão pequenos como 12 a 14 µm (como é o caso de alguns ovos de trematódeos) a 90 µm ou mais (caso dos maiores ovos de trematódeos);
- forma: os ovos de helmintos podem ser de forma esférica ou oval, embora alguns poucos possam ser assimétricos;

- membrana externa: os ovos de helmintos usualmente apresentam parede externa lisa, variando na espessura, dependendo da espécie;
- conteúdo interno: os ovos recentemente excretados apresentam estágios de desenvolvimento que são característicos para cada espécie. Em sua maioria, os ovos de nematóides não se apresentam embrionados quando liberados com as fezes;
- várias modificações da estrutura dos ovos também se constituem ferramentas importantes de identificação, a exemplo de: protuberâncias, espinhos, rolhas polares e opérculos.

### **3.7.2 Análises de viabilidade em águas residuárias**

#### **3.7.2.1 Técnica da concentração por centrifugação**

Esta técnica é aplicada a águas residuárias brutas que contenham sólidos suspensos ou turbidez, com possíveis ocorrências de grandes quantidades de ovos de helmintos. A técnica também é aplicada a análises de sedimentos.

O fundamento da técnica consiste em centrifugações sucessivas da amostra com solução salina isotônica, permitindo assim o clareamento do sobrenadante. Após o descarte do sobrenadante, os ovos que se encontram no sedimento são recuperados por flutuação com solução de sulfato de zinco a 33,1% e o sobrenadante é filtrado em membrana de 25 mm e 8 µm de porosidade.

A contagem é realizada por observação microscópica da lâmina contendo a membrana corada com o corante biológico.

#### **3.7.2.2 Equipamentos, materiais e reagentes**

- Centrífuga para operar a 1000 g
- Equipamento de filtração para membrana de 25 mm de diâmetro (Millipore ou equivalente)
- Microscópio com objetivas de 10x, 40x e 100x, com bom poder de resolução
- Equipamento tipo Vortex

- Membranas de éster de celulose de 25 mm de diâmetro e porosidade de 8  $\mu\text{m}$  (Millipore ou equivalente)
- Garrafões de plástico com tampa de rosca e capacidade de 5 litros
- Solução salina isotônica (NaCl a 0,85% em água destilada)
- Solução aquosa de 0,1% (p/v) de um dos seguintes corantes biológicos: Azul de Tripán, Safranina O, Eosina Y
- Glicerol

### 3.7.2.3 Preparação de soluções

São os seguintes os principais procedimentos para a preparação das soluções necessárias ao desenvolvimento das análises de viabilidade em esgotos brutos:

- Solução salina isotônica (NaCl a 0,85%): pesar 0,85 g de NaCl e diluir em água destilada até completar o volume de 100 mL de solução
- Solução aquosa de 0,1% (p/v) de Safranina O: pesar 0,1 g do corante Safranina e dissolver em água destilada até completar o volume de 100 mL de solução
- Solução aquosa de sulfato de zinco ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) a 33,1% (p/v): pesar 33,1 g de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e dissolver em água destilada até completar o volume de 100 mL de solução

### 3.7.2.4 Coleta de amostras

- Coletar 5 litros da amostra no ponto em que se encontra mais homogênea (representativa). Caso o líquido amostrado esteja parado ou com pouco movimento, coletar também o sedimento e processá-lo pelo mesmo método.
- Tampar os recipientes e transportá-los ao laboratório, se possível preservados com gelo, as amostras deverão ser analisadas preferencialmente logo após a coleta ou, eventualmente, em um prazo máximo de 48 horas. Caso não seja possível a análise neste período (48 horas), as amostras deverão ficar armazenadas sob refrigeração por um período máximo de 15 dias.

### 3.7.2.5 Procedimento

Para amostras contendo grandes quantidades de detritos/sólidos grosseiros, homogeneizar a mesma com um bastão de vidro e filtrar através de uma gaze. Lavar perfeitamente os sólidos que ficarem aderidos à gaze e processar 1 litro da amostra de acordo com os seguintes passos:

- Distribuir a amostra em frascos de centrífuga e proceder a centrifugação a 1000 g durante 5 minutos; descartar o sobrenadante, ressuspender os sedimentos em solução salina isotônica e agitar com o equipamento tipo Vortex. Transferir o sedimento para um ou dois tubos de centrífuga. Centrifugar novamente a 1000 g durante 5 minutos e descartar o sobrenadante; repetir o procedimento até obter um sobrenadante claro (geralmente são necessárias de duas a três centrifugações).
- Após descartar o sobrenadante da última etapa de centrifugação, transferir todo o sedimento restante para um tubo de centrífuga de 50 mL de capacidade. Utilizar solução de sulfato de zinco para auxiliar na lavagem do tubo e transferência do sedimento.
- Adicionar mais solução de sulfato de zinco até completar o volume de 25 mL e agitar com Vortex. Completar novamente com sulfato de zinco até obter o volume final de 50 mL e agitar novamente com Vortex. Centrifugar a 1000 g durante três minutos.
- Transferir o sobrenadante para o recipiente de filtração a vácuo e proceder a filtração em membrana de 25 mm e porosidade de 8  $\mu\text{m}$ .

Nota :Tendo em vista a eventual dificuldade de filtração, devido à porosidade, ao tamanho da membrana e ao teor de sólidos presentes na amostra, pode-se tornar necessária a filtração de alíquotas menores, utilizando-se várias membranas.

- Ao término da filtração, adicionar 5 mL do corante selecionado e filtrar lentamente. Retirar a membrana colocá-la sobre um papel filtro para perder o excesso de umidade (no máximo por dois minutos).
- Colocar uma gota de glicerol na lâmina e espalhar sobre uma área correspondente ao tamanho da membrana (aprox. 25 mm de diâmetro).

Colocar a membrana com cuidado, sobre o glicerol, para que não apareçam bolhas de ar; adicionar outra gota de glicerol, sobre a membrana, e espalhar com cuidado; colocar a lamínula e esperar até que a membrana fique transparente, para permitir uma boa visualização dos ovos. Caso se deseje acelerar este processo, deve-se colocar a lâmina na incubadora a 37<sup>o</sup> C.

- Observar ao microscópio usando objetivas de 10x e 40x de aumento. Se desejar um maior aumento, observar com objetiva de 100x, aplicando uma gota de óleo de imersão.

### 3.7.2.6 Expressão dos resultados

Para cada lâmina, contar o número de ovos corados (ovos não-viáveis) e não corados (ovos viáveis) e expressar o percentual de ovos viáveis, por litro de amostra.

## 3.8 Enumeração de ovos de helmintos no lodo

### 3.8.1 Recuperação dos ovos de helmintos no lodo

Para recuperação dos ovos de helmintos do lodo foi empregado o método de Meyer (MEYER et al., 1978).

#### 3.8.1.1 Equipamentos e materiais necessários

- Microscópio óptico comum, com objetivas de 10 x e 40 x
- Centrífuga para operar a 1000g
- Tubos de centrífuga
- Equipamento de filtração a vácuo para membrana de 47 mm de diâmetro
- Bomba de sucção para operar até 40 cm de Hg
- Membranas de éster de celulose de 47 mm de diâmetro e 0,45 µm de porosidade (Millipore ou equivalente)
- Proveta de 250 mL
- Proveta de 100mL

- Bastão de vidro
- Pipeta volumétrica
- Pipeta de Pasteur
- Pinça
- Placa de Petri
- Câmara de Sedgwick-Rafter (quadriculada)
- Estufa para operar a 28 °C
- Agitador tipo Vórtex
- Frascos plásticos para amostragem de lodo
- -Balança analítica
- Solução Triton X-100 ou Tween 80
- Solução de Hipoclorito de Sódio a 50%
- Solução de ácido Sulfúrico a 0,1 N
- Solução de Sulfato de Zinco  $d = 1,18$
- Balança analítica
- Equipamento de filtração a vácuo
- Bomba de sucção

#### 3.8.1.2 Preparo das soluções

- Solução detergente Triton X-100 ou Tween 80: pipetar 1 mL da solução e adicionar em 1 litro de água de torneira.
- Solução de hipoclorito de sódio a 50%: em uma proveta, adicionar 500 mL de água sanitária comercial e 500 mL de água destilada.
- Solução de sulfato de zinco ( $ZnSO_4$ ): pesar 33 g de  $ZnSO_4$  e diluir em 100 mL de água destilada (utilizar um densímetro para verificar se a densidade é igual a 1,18).
- Solução de ácido sulfúrico 0,1 N: adicionar 2,8 mL de ácido sulfúrico concentrado em 1000 mL de água destilada.

#### 3.8.1.3 Procedimentos

- Pesar 75 g de lodo em um béquer de 250 ml;

- Adicionar 100ml da solução de hipoclorito de sódio a 50%;
- deixar reagir por 5 minutos e transferir o conteúdo do béquer para uma proveta de 250 mL;
- lavar o béquer com a solução de hipoclorito de sódio e transferir o resíduo para a proveta até completar 225 ml na proveta;
- agitar e aguardar 50 minutos;
- transferir o conteúdo da proveta para tubos de centrífuga. Lavar bem a proveta com a solução Tween 80 e completar os tubos;
- centrifugar a 2800 rpm durante 3 minutos;
- descartar o sobrenadante;
- Lavar o sedimento até que este fique clarificado. Colocar 2 mL de Tween 80 em cada tubo com sedimento. Misturar com bastão de vidro, completar com água destilada e centrifugar novamente a 2800 rpm durante 3 minutos;

Nota: A quantidade de lavagens varia de amostra para amostra. Até se conseguir um sobrenadante clarificado podem ser necessárias várias lavagens (caso contrário torna-se muito difícil filtrar a amostra). Com o tempo cada laboratório pode definir quantas são necessárias para cada tipo de lodo que será analisado. Quando o lodo está mais seco, as vezes são necessárias de 10 a 15 lavagens; já com o lodo mais fluído, 3 a 5 são suficientes. O volume de tween 80 para lavar o lodo pode ser aumentado para 3 a 5 mL ao invés de 2 mL, conforme o tipo de lodo, uma vez que não altera a característica do lodo e facilita para lavar (ZERBINE, 2000).

- Após a etapa de lavagens, adicionar 75 mL da solução de ZnSO<sub>4</sub> densidade 1,18 ao sedimento. Agitar no vortex (ou com bastão de vidro) e centrifugar novamente a 2800 rpm durante 3 minutos;
- deixar o sobrenadante descansar por 3 minutos para garantir a flotação dos ovos e então filtrar através de membrana de Milipore 0,45mm de porosidade e 47mm de diâmetro sob pressão negativa.
- Lavar bem as paredes do copo de filtração com água destilada.
- Em seguida raspar o sedimento da (s) membrana (s) com uma lamínula para uma placa de Petri contendo 10 a 15 mL da solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,1N;

- Para fazer somente a identificação e contagem dos ovos, basta transferir uma alíquota da amostra para a câmara de Sedgwick-Rafter e proceder a leitura ao microscópio.

#### 3.8.1.4 Incubação para análise da viabilidade dos ovos de helmintos

O procedimento de incubação, *in vitro*, dos ovos recuperados do lodo é utilizado quando se deseja avaliar a viabilidade dos ovos.

Segundo Zerbine (2000) o procedimento de incubação foi adaptado pela DESA/UFMG a partir do procedimento adotado por alguns autores como Meyer et al. (1978), Stott (1998), sendo os procedimentos básicos bastante semelhantes.

Após a recuperação dos ovos do lodo, a placa de Petri contendo os ovos recuperados deve ser envolvida em papel alumínio e incubada no escuro, em estufa a 28 °C, durante 28 dias. Este tempo tem sido considerado como um período ótimo que garante uma margem de segurança na análise da viabilidade. Após esse período, proceder a leitura. É necessário oxigenar as placas pelo menos em dias alternados, para que os ovos se desenvolvam. Como o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> evapora durante a incubação, basta completar o volume da amostra, mantendo-o em torno de 15 mL na placa.

#### 3 8.1.5 Identificação, contagem e viabilidade dos ovos

Os critérios para identificação dos ovos de helmintos é baseado, principalmente, no tamanho e nas características morfológicas específicas dos ovos, tais como: forma, conteúdo do ovos, espessura da membrana externa (casca), além de modificações, tais como, protuberâncias, espículas, rolhas polares e opérculo.

Quanto à viabilidade, não há um padrão para se definir ovo viável e não viável. Assim, neste trabalho considerou-se ovo viável aquele que após o período de 28 dias de incubação apresentou em seu interior uma larva formada e ovo não viável aquele que permaneceu em qualquer outro estágio anterior, mas não se diferenciou em larva.

### 3.8.1.6 Expressão dos resultados

A fórmula para expressão dos resultados foi adaptada para seguir o padrão de expressão da EPA, que é dado em Ovos/grama de matéria seca. (ZERBINE, 2000)

$$Nf = 1000 \times \left[ \frac{Ni \times Vf}{Vi \times C} \right]$$

Na qual:

Nf = número de ovos contados na amostra analisada (ovo/g MS)

Ni = número de ovos contados (média dos valores encontrados em cada câmara)

Vf = Volume final da amostra (mL) (na placa de Petri)

Vi = Volume inicial da amostra de lodo (75 g)

C = Concentração de Sólidos Totais (g/L)

## 3.9 Exame de cistos de protozoários (*Giardia* spp e *Entamoeba* spp)

Para a determinação de Cistos de protozoários (*Giardia* spp e *Entamoeba* spp) foram realizados o exame direto, a centrífugo-flutuação em solução de sulfato de zinco (Técnica de Faust et al.(1939)). Para determinação de *Cryptosporidium* spp foi realizada a centrífugo-sedimentação pelo formol-éter (Técnica de Ritchie (1948)).

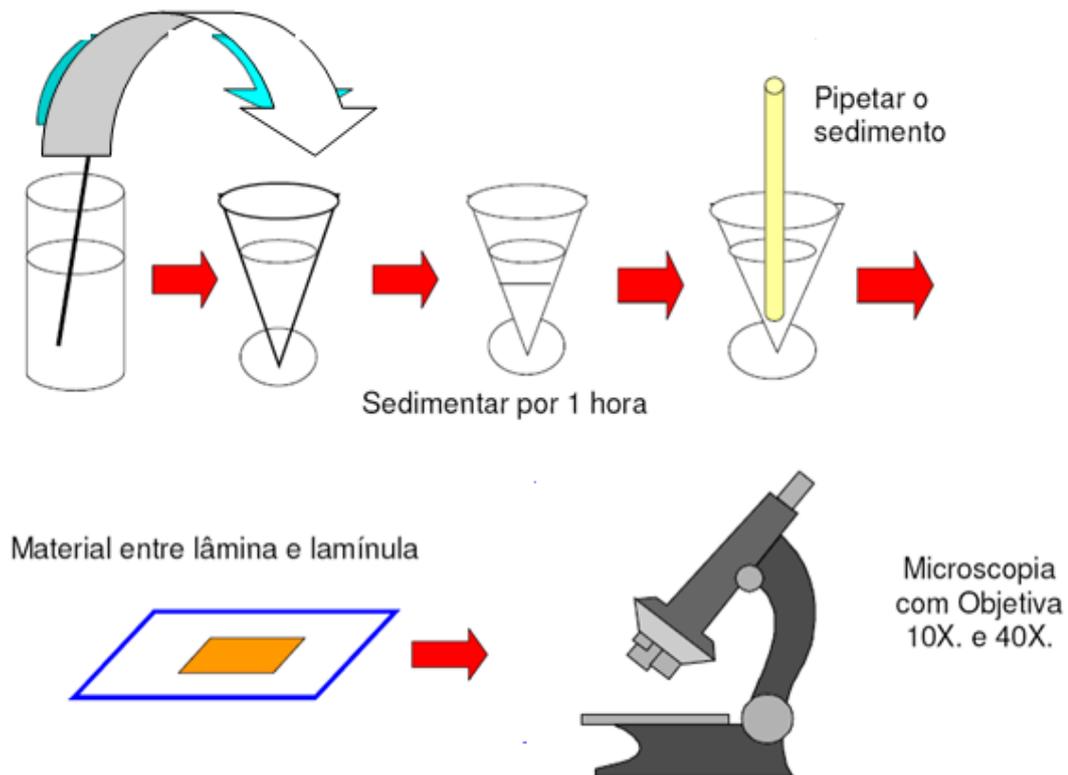
### 3.9.1 Exame microscópico direto

As amostras foram coadas com tamis em um cálice de sedimentação.

Uma alíquota de 20 µL do sedimento foi colocada entre lâmina e lamínula, sendo observada ao microscópio óptico em aumento de 100 e 400 vezes.

O esquema resumido do método está descrito a seguir na Figura 15:

Coar a amostra em um tamis



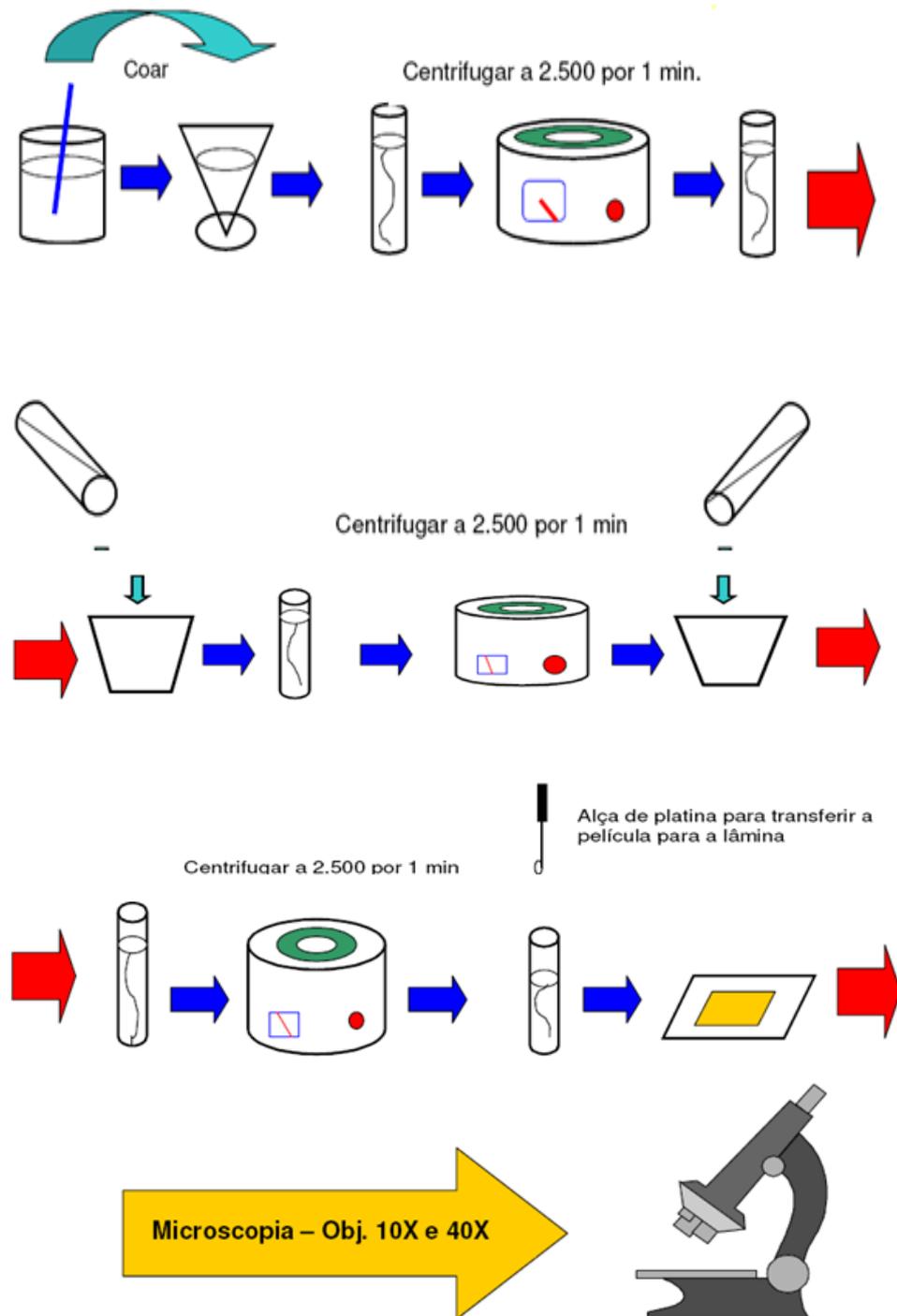
**FIGURA 15.** Procedimento para determinação de Cistos de protozoários pelo método direto.

### 3.9.2 Centrifugo-flutuação em solução de sulfato de

Uma alíquota de 50  $\mu\text{L}$  do sedimento foi misturada com 10 mL de água, em um tubo de centrífuga, e posteriormente foi centrifugada a 1.500 rpm, por um minuto.

Após, o sedimento foi resuspenso com 10 mL de água, para posterior centrifugação, durante um minuto, a 1.500 rpm. A seguir, o sedimento foi misturado com 10 mL de solução de sulfato de zinco (densidade 1,18), com nova centrifugação. Posteriormente, a membrana formada na superfície do líquido foi removida com uma alça de bacteriologia dobrada e transferida para uma lâmina de microscopia coberta com lamínula, sendo observada ao microscópio óptico, no aumento de 100 e 400 vezes.).

O esquema resumido do método está descrito a seguir na Figura 16.



**FIGURA 16.** Procedimento para determinação de cistos de protozoários pela técnica de Faust et al.(1939).

### 3.10 Exame de *Cryptosporidium* spp

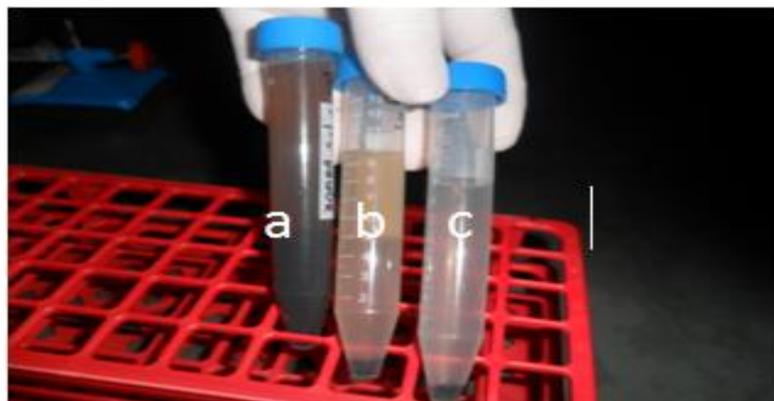
#### 3.10.1 Centrifugo-sedimentação pelo formol-éter (Técnica de Ritchie (1948))

Uma alíquota de 50  $\mu$ L do sedimento foi misturada com 10 mL de água, e posteriormente, foi centrifugada a 2.500 rpm, por um minuto.

A seguir, o sedimento foi resuspendido com 10 mL de água para posterior centrifugação. Após a lavagem do sedimento, foram adicionados 7 mL de formol 10%, sendo deixado o material em repouso por três minutos. Após, foram acrescentados 3 mL de éter, sendo o material homogeneizado e novamente centrifugado. A partir do sedimento, foram preparados esfregaços, em duplicata

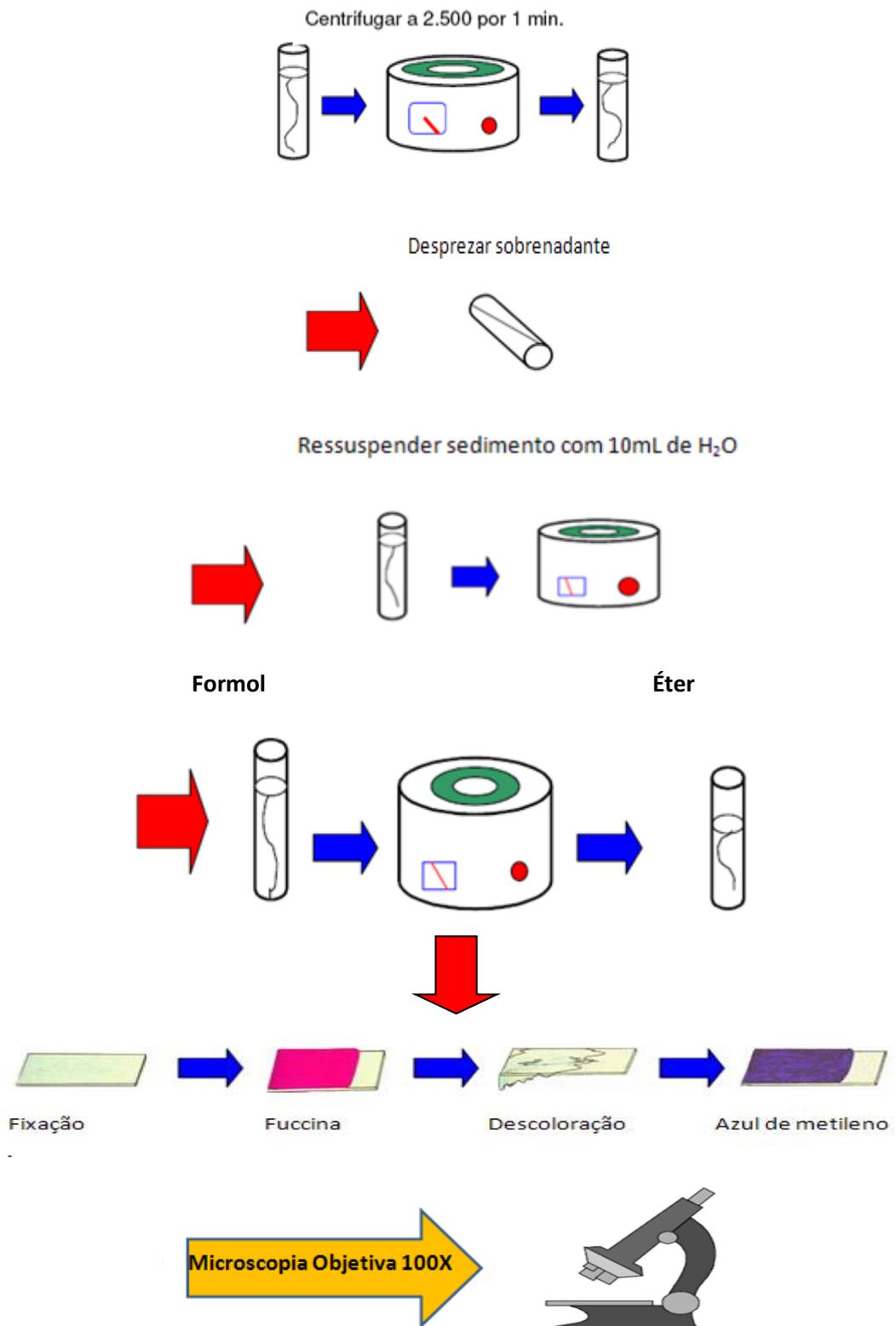
Os esfregaços preparados, em duplicata, a partir do sedimento obtido pelo método de centrifugo-sedimentação (Técnica de Ritchie modificado), foram secos pelo calor e fixados com metanol por cinco minutos. Após, os esfregaços foram corados a frio com o corante fucsina de Kinyoun por 25 minutos e, descorados com álcool acético, durante 30 a 40 segundos. A seguir, foram contracorados com azul de metileno, por um minuto. Posteriormente, as lâminas permanentes foram examinadas em microscópio óptico (aumento de 1.000 vezes)

#### 3.10.2 Ilustração fotográfica: etapas pré coloração de Kinyoun



**FIGURA 17.** Etapas pré-coloração de Kinyoun  
a-Amostra diluída em H<sub>2</sub>O  
b-Amostra centrifugada com H<sub>2</sub>O  
c-Amostra centrifugada com éter

O esquema resumido do método está descrito a seguir na Figura 18.



**FIGURA 18.** Procedimento para determinação de *Cryptosporidium* spp.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Temperatura

#### 4.1.1 Temperatura máxima, média e mínima do ar

Na Tabela 4 estão descritos os valores médios das temperaturas diárias máximas, médias e mínimas, registradas na Estação Agroclimatológica da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, durante a operação dos sistemas de tratamento I e II, durante os cinco ensaios.

**TABELA 4.** Valores médios das temperaturas do ar máximas, médias e mínimas observadas na Estação Agroclimatológica da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, durante a operação dos sistemas de tratamento anaeróbio I, II e pós - tratamento, durante os quatro ensaios.

Temperatura do ar (°C)	Período	Máxima	Média	Mínima
Ensaio 1	06 a 10/2011	30,0 a	22,1 b	14,9 c
Ensaio 2	10 a 12/2011	29,2 a	22,9 ab	17,5 a
Ensaio 3	01 a 04/2012	29,9 a	23,3 a	18,4 a
Ensaio 4	05 a 09/2012	26,9 b	19,0 d	14,0 c
CV (%)		10	11	17
F		23,4**	37,7**	48,8**

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna, diferem pelo teste de Tukey a 5%. \*\* - Significativo a 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ); \* - Significativo a 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ); ns - não significativo ( $p > 0,05$ ); C V – coeficiente de variação.

Fonte: SILVA, 2013

Os valores das temperaturas máximas do ar observadas durante os ensaios foram semelhantes entre os ensaios 1, 2 e 3 e diferiram significativamente ( $p < 0,01$ ) no ensaio 4. A menor temperatura média do ar, de 19 °C, foi observada no ensaio 4, o qual ocorreu no período de maio a setembro de 2012 e diferiu dos demais ensaios.

Os maiores valores de temperatura média do ar foram de 22,1 a 23,3°C nos ensaios 1, 2 e 3, e ocorreram no período de junho de 2011 a abril de 2012. As temperaturas mínimas foram semelhantes nos ensaios 1 e 4, com os menores valores, de 14,0 °C e os maiores valores das temperaturas mínimas foram observadas nos ensaios 2 e 3, de 17,5 e 18,4°C, respectivamente ( $p < 0,01$ ) (SILVA, 2013).

## 4.2 Exame de Coliformes

### 4.2.1 Coliformes totais e termotolerantes nos afluentes e efluentes

Os valores médios dos números de coliformes totais e termotolerantes nos afluentes do sistema I variaram de  $4,00E+07$  a  $2,40E+08$  NMP (100 mL)<sup>-1</sup> nos ensaios 1 a 4. Para o sistema II os valores médios foram de  $1,40E+07$  a  $2,40E+08$  NMP (100 mL)<sup>-1</sup> como apresentado nas Tabelas 5 e 6.

**TABELA 5.** Valores médios do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes no afluente e nos efluentes dos reatores UASB (R1 e R2) instalados em série, do sistema de tratamento I, nos ensaios 1, 2, 3 e 4.

Local de Amostragem	Coliformes totais NMP (100 mL) <sup>-1</sup>			
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4
<b>Sistema I</b>				
<b>Afluente</b>	4,30E+07	4,40E+07	4,40E+07	2,40E+08
<b>UASB R1</b>	2,90E+06	4,40E+06	4,60E+06	2,10E+07
<b>UASB R2</b>	2,10E+05	2,60E+05	3,00E+05	1,70E+07
Coliformes termotolerantes NMP (100 mL) <sup>-1</sup>				
Sistema I	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4
<b>Afluente</b>	4,30E+07	4,30E+07	4,00E+07	2,10E+08
<b>UASB R1</b>	2,90E+06	3,30E+06	1,50E+06	1,70E+07
<b>UASB R2</b>	1,90E+05	2,25E+05	2,40E+05	1,20E+07

Duda e Oliveira (2009) encontraram valores médios de coliformes totais e termotolerantes nas águas residuárias de suinocultura variando de  $2,5E+07$  a  $1,2E+09$  NMP (100 mL)<sup>-1</sup> semelhantes ao encontrado neste trabalho (Tabelas 5 e 6).

Já Schimidt et al (2002), encontraram média de coliformes termotolerantes de  $7,10E+06$  NMP (100 mL)<sup>-1</sup>, valor inferior ao encontrado no presente trabalho.(Tabela 5 e 6).

**TABELA 6** Valores médios do número mais provável de coliformes totais e termotolerantes no afluente e nos efluentes do sistema de tratamento II composto por reator UASB, filtro anaeróbio de fluxo ascendente (FA), filtro biológico percolador (FBP) e decantador (D), instalados em série nos ensaios 1, 2, 3 e 4.

Local de Amostragem		Coliforme total NMP (100mL) <sup>-1</sup>			
Sistema II	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	
Afluente	2,90E+07	4,25E+07	1,45E+07	2,40E+08	
UASB	7,50E+06	6,80E+06	4,40E+06	4,00E+07	
FA	2,30E+06	4,40E+05	6,20E+05	2,00E+07	
FBP	9,00E+04	6,80E+04	3,70E+04	2,20E+06	
Decantador	2,40E+04	4,60E+04	3,00E+04	1,20E+06	

		Coliforme termotolerante NMP (100mL) <sup>-1</sup>			
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	
Afluente	2,90E+07	4,05E+07	1,40E+07	2,20E+08	
UASB	6,40E+06	5,40E+06	2,20E+06	3,70E+07	
FA	1,40E+06	4,30E+05	4,60E+05	1,70E+07	
FBP	2,00E+04	4,85E+04	3,40E+04	1,50E+06	
Decantador	2,00E+04	4,00E+04	2,90E+04	1,20E+06	

No efluente do reator UASB (R2) do sistema de tratamento I foi observada a redução para valores médios de coliformes totais e termotolerantes de  $1,90E+05$  a  $1,70E+07$  NMP (100 mL)<sup>-1</sup> nos ensaios 1 a 4 (Tabela 4). No filtro anaeróbio do sistema II  $4,30E+05$  a  $2,00E+07$  NMP (100 mL)<sup>-1</sup> de coliformes totais e termotolerantes, nos ensaios 1 a 4 (Tabela 5) demonstrando que não houve diferenças acentuadas para remoção de coliformes. Com a adição do FBP foi obtido decréscimo para sistema de tratamento II para valores médios de  $2,00E+04$  a  $2,20E+06$  dos ensaios de 1 a 4. No decantador foram mantido a redução para valores médio similares de coliformes totais e termotolerantes, de  $2,40E+04$  a  $1,20E+06$  nos ensaios de 1 a 4.

Contudo no sistema de tratamento I, com dois reatores UASB em série, foi obtido efluente com melhor qualidade microbiológica para os indicadores coliformes avaliados, exceto no ensaio 4, quando os valores foram idênticos para coliformes totais. Em ambos os sistemas de tratamento, nos reatores anaeróbios, ficou evidenciado o efeito da diminuição do TDH, principalmente no ensaio 4, prejudicando a qualidade microbiológica do efluente com o aumento do número de coliformes totais e termotolerantes.

Em águas residuárias de suinocultura, tratadas em reatores anaeróbios compartimentado e UASB, instalados em série, Abreu Neto e Oliveira (2009), observaram concentrações de coliformes totais e termotolerantes da ordem de  $1,00E+07$  NMP (100 mL)<sup>-1</sup>, valores semelhantes aos encontrados no presente trabalho.

Operando um sistema composto por reatores UASB em dois estágios (R1 e R2) tratando águas residuárias de suinocultura, com TDH de 36 e 18 h para o primeiro reator e 7,5 e 3,7 h para o segundo reator, Ramires (2005) obteve concentrações de coliformes totais e termotolerantes, no efluente do conjunto (R1+R2) de  $4,7E+07$  a  $1,40E+06$  NMP (100 mL)<sup>-1</sup>, resultado superior ao encontrado neste trabalho para o sistema I.

Utilizando um sistema de tratamento composto por reatores UASB em escala piloto, com volumes de 918 e 188 L instalados em série (R1+R2), com TDH de 62,3 e 31,1 h no primeiro reator, Oliveira e Santana (2011) obtiveram resultados semelhantes ou pouco mais elevados quando avaliaram as concentrações de coliformes em águas residuárias de suinocultura. Após o tratamento nos dois reatores UASB do sistema I os autores também obtiveram redução acentuada nas concentrações de coliformes termotolerantes no efluente do R1, para valores médios de  $4,30E+06$  a  $4,30E+07$  NMP (100 mL)<sup>-1</sup> e do R2, quando diminuíram para valores médios de  $2,40E+06$  a  $4,30E+07$  NMP (100 mL)<sup>-1</sup>.

Portanto, os sistemas de tratamento anaeróbio I e II avaliados revelaram potencial de redução da ordem de duas unidades logarítmicas para a remoção de coliformes totais e termotolerantes, com variações relativamente pequenas entre os ensaios 1 a 3 nos quais o TDH foi de 59 a 28 h. Com a diminuição do TDH para a faixa de 15 a 16 h, no ensaio 4, as remoções foram da ordem de uma unidade logarítmica.

Comparando-se a quantidade de microrganismos antes e após o processo biológico anaeróbio, foi possível calcular as eficiências de remoção de coliformes.

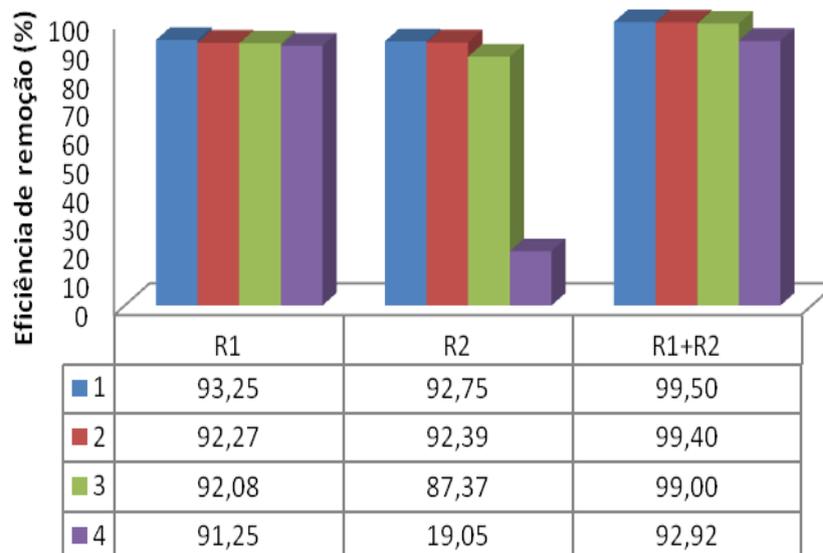
Para coliformes totais e termotolerantes, os valores médios foram de 92,92%, a 99,93% nos reatores anaeróbios dos sistemas de tratamento I e II, nos ensaios 1 a 4 (Figuras 19, 20, 21 e 22).

As maiores eficiências da remoção de coliformes ocorreram nos ensaios 1, 2 e 3.

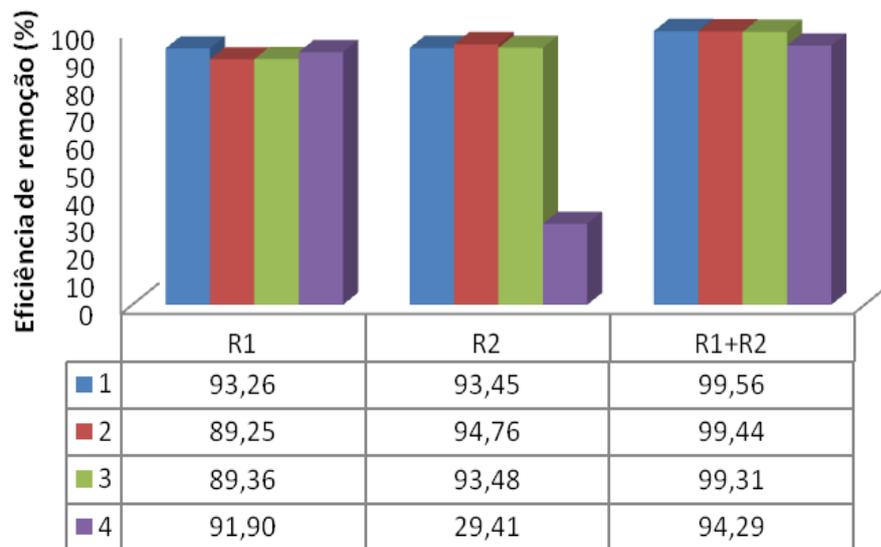
A diminuição do TDH e da temperatura no ensaio 4 resultou em menores remoções de coliformes, as quais foram provocadas, principalmente, pela redução da eficiência no reator UASB (R2) e no filtro anaeróbio, dos sistemas de tratamento I e II, nos quais os TDH foram de 4,5 e 5,2 h respectivamente.

Mesmo alcançando eficiências de 99,56 e 99,93% na remoção de coliformes termotolerantes, nos efluentes dos reatores anaeróbios dos sistemas de tratamento I e II respectivamente, as concentrações de coliformes permaneceram acima dos padrões estabelecidos para águas doces utilizadas na irrigação de plantas, de acordo com a legislação brasileira, Resolução CONAMA 375/2005 e efluente tratado conforme as diretrizes da Organização Mundial de Saúde (WOH,1989)

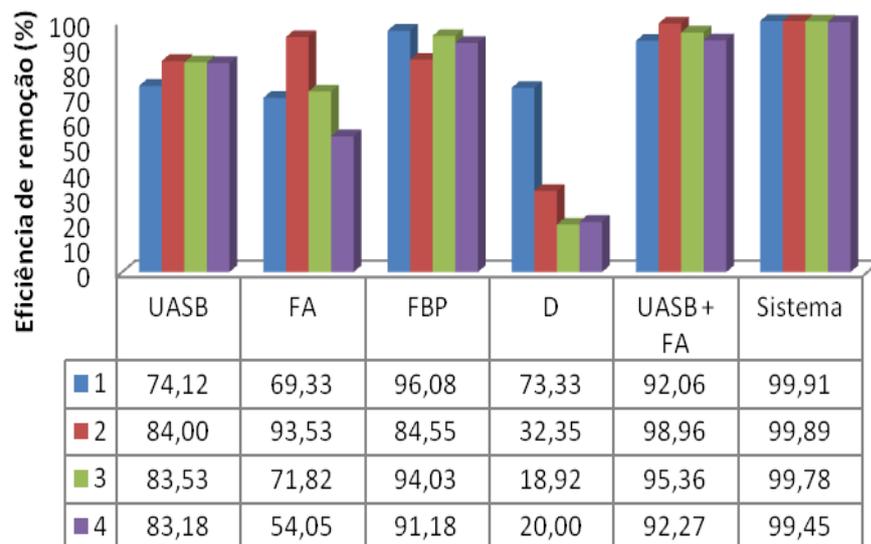
Esses resultados confirmam o que é citado na literatura, ou seja, que efluentes de reatores UASB necessitam de um pós-tratamento para alcançar esse objetivo.



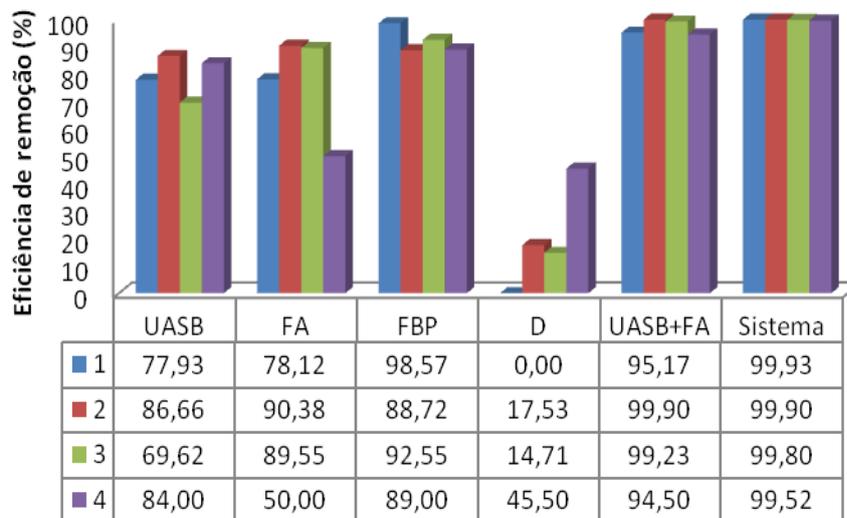
**FIGURA 19.** Eficiência de remoção de coliformes totais nos reatores UASB (R1 e R2) instalados em série, em escala piloto, do sistema de tratamento I, nos ensaios 1, 2, 3 e 4.



**FIGURA 20.** Eficiência de remoção de coliformes termotolerantes nos reatores UASB (R1 e R2) instalados em série, em escala piloto, do sistema de tratamento I, nos ensaios 1, 2, 3 e 4.



**FIGURA 21.** Eficiência de remoção de coliformes totais no sistema de tratamento II composto por reator UASB, filtro anaeróbio(FA), filtro biológico percolador (FBP) e decantador ( D) instalados em série,nos ensaios 1, 2, 3 e 4.



**FIGURA 22.** Eficiência de remoção de coliformes termotolerantes no sistema de tratamento II composto por reator UASB, filtro anaeróbio (FA), filtro biológico percolador (FBP) e decantador (D) instalados em série, nos ensaios 1, 2, 3 e 4.

Pereira-Ramirez et al. (2004) avaliando águas residuárias de suinocultura oriundas de reator UASB e filtro anaeróbio com TDH de 8,5 h, obtiveram concentrações de coliformes termotolerantes no efluente final de  $2,51E+07$  NMP  $(100 \text{ mL})^{-1}$ . O filtro anaeróbio (FA) removeu entre 80 e 96% dos coliformes termotolerantes, valores similares e pouco superiores aos obtidos neste trabalho, no ensaio 3, quando o TDH no FA foi de 9,5L.

Avaliando o desempenho de um sistema composto por filtro anaeróbio de fluxo ascendente ( $681 \text{ m}^3$ ) seguido de reator UASB ( $300 \text{ m}^3$ ) tratando esgoto sanitário, Busato (2005) obteve eficiência média de remoção de coliformes totais e termotolerantes de 81 e 78 %, respectivamente. A eficiência média de remoção no reator UASB foi de 71% para coliformes totais e 69% para coliformes termotolerantes. Já no filtro anaeróbio as eficiências médias de remoção de coliformes totais e termotolerantes foram de 41% e 33%, respectivamente. Estes valores foram inferiores aos encontrados neste trabalho em virtude das maiores concentrações de sólidos suspensos das águas residuárias de suinocultura, o que deve aumentar a remoção física da matéria orgânica com os quais os coliformes

podem sedimentar ou ficar retidos no lodo granulado, floculento ou aderido ao meio suporte, no caso do filtro anaeróbio.

Avaliando um sistema de tratamento composto por reatores anaeróbios em série, seguidos de filtro biológico percolador, idêntico ao utilizado no sistema II deste trabalho, Duda (2010) tratando águas residuárias de suinocultura obteve eficiências de remoção de coliformes termotolerantes de 99,86% no conjunto do reator UASB e do filtro anaeróbio isoladamente. Ao adicionar o filtro biológico percolador (FBP) como pós-tratamento as eficiências de remoção aumentaram par 99,94 e 99,99% nos ensaios com TDH de 44,7 e 66,6 h para o sistema de tratamento anaeróbio e pós-tratamento, valores superiores aos obtidos neste trabalho. Isso confirma que que com o TDH maior as eficiências de remoção de coliformes aumentam.

No sistema II, as eficiências de remoção foram superiores ao do sistema I, composto apenas pelos reatores anaeróbios UASB em série, confirmando a importância do pós-tratamento.

A adequação da qualidade bacteriológica do efluente final, visando o atendimento aos padrões da legislação ambiental, dependerá essencialmente das características do corpo d'água receptor. Nesse sentido, para se atender o padrão de qualidade de um rio de classe 2, no máximo  $1,00E+03$  NMP/ 100 mL, a diluição e a concentração de coliformes a montante do ponto de lançamento serão fatores preponderantes na análise (BRASIL, 2005)

#### **4.2.2 Coliformes totais e termotolerantes no lodo**

Nos reatores UASB (R1 e R2) do sistema I foi observado uma maior concentração de coliformes no ponto 1 do leito do lodo biológico (Tabela 7), localizado na parte inferior do reator. As concentrações médias de coliformes totais no ponto 1 foram de  $1,50E+08$  a  $9,10E+08$  NMP  $(100\text{ mL})^{-1}$  e de coliformes termotolerantes de  $1,10E+08$  a  $6,50E+08$  NMP  $(100\text{ mL})^{-1}$  nos ensaios de 1 a 4.

Nas regiões mais altas dos reatores UASB do sistema I, as concentrações de coliformes diminuíram, e nos pontos 4 (Figura 6) ocorreram as menores concentrações, mesmo não havendo diferenças logarítmicas no reator UASB (R2) (Tabela 7).

Assim o lodo produzido no reator UASB (R2) do sistema de tratamento I, apresentou menores concentrações de coliformes totais e termotolerantes, podendo ser classificado como classe B, considerando a Resolução CONAMA 375 de 2006 (BRASIL, 2006) em vigência.

Em relação ao lodo do sistema II, no ponto 1 do reator UASB e FA (Tabela 8) a concentração de coliformes também foi superior, quando comparada aos demais pontos, em todos os ensaios; e foram diminuindo à medida que se distanciaram do leito do lodo, ou seja da região inferior dos reatores.

**TABELA 7.** Valores médios de número mais provável (NMP g<sup>-1</sup> ST) de coliformes totais e termotolerantes no lodo dos reatores UASB instalados em série, em escala piloto do sistema de tratamento I.

Local de Amostragem	Distância da entrada (mm)	Coliformes Totais (NMP g <sup>-1</sup> ST)			
		Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4
UASB (R1)	(1) 400	1,50E+08	6,50E+08	4,85E+08	9,10E+08
	(2) 800	1,90E+07	1,65E+07	2,30E+08	9,02E+07
	(3) 1200	7,20E+06	8,60E+06	2,45E+06	7,20E+07
	(4) 1600	5,20E+06	4,50E+06	2,20E+06	8,75E+06
UASB (R2)	(1) 400	1,20E+06	8,75E+06	4,75E+05	9,35E+06
	(2) 800	9,30E+05	1,01E+06	4,00E+05	5,30E+05
	(3) 1200	9,10E+05	4,95E+05	2,90E+05	4,10E+05
	(4) 1600	6,00E+05	2,60E+05	3,60E+05	3,60E+05
		Coliformes Termotolerantes (NMP g <sup>-1</sup> ST)			
		Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4
UASB (R1)	(1) 400	1,20E+08	6,10E+08	4,05E+08	1,10E+08
	(2) 800	1,90E+07	1,50E+07	2,70E+08	8,20E+07
	(3) 1200	0,72E+07	8,60E+06	2,25E+06	6,30E+07
	(4) 1600	0,72E+07	4,50E+06	2,00E+06	7,80E+06
UASB (R2)	(1) 400	1,00E+06	2,00E+06	4,15E+05	6,50E+06
	(2) 800	9,30E+05	1,06E+06	3,15E+05	4,30E+05
	(3) 1200	7,00E+05	4,00E+05	2,45E+05	4,10E+05
	(4) 1600	5,30E+05	2,40E+05	2,30E+05	2,70E+05

No tratamento de esgoto doméstico em reatores UASB, Backes (2008) avaliou o lodo e obteve valores de coliformes termotolerantes da ordem de 2,10E+03 NMP g<sup>-1</sup> ST, o que enquadrou como lodo do tipo B, dando a possibilidade de reutilização. Santos et al. (2011), na Estação de Tratamento de Esgoto Rios das

Antas, com reatores UASB, obteve concentrações de coliformes termotolerantes menores que 10 NMP g<sup>-1</sup> ST, deste modo, tal resíduo poderia ser utilizado como fertilizante em solos agrícolas.

É pertinente lembrar que para lodo oriundo do tratamento de águas residuárias de suinocultura ou outros resíduos agropecuários não há legislação específica. A Resolução 375 do CONAMA (2006) define critérios e procedimentos para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados. Contudo, os valores limites para qualidade microbiológica podem ser utilizados como referência para avaliar o risco de contaminação com o possível reuso na agricultura dos lodos dos reatores dos sistemas de tratamento de águas residuárias de suinocultura I e II.

**TABELA 8.** Valores médios de número mais provável (NMP/ g<sup>-1</sup> ST) de coliformes totais no lodo do reator UASB e filtro anaeróbio de fluxo ascendente (FA) (Sistema II).

Local de Amostragem .....	Distância de .. entrada .. (mm)	Coliformes Totais NMP g <sup>-1</sup> ST			
		Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4
UASB	(1) 200	8,40E+08	7,05E+09	6,05E+09	9,50E+09
	(2) 400	5,50E+08	6,45E+08	5,30E+08	9,35E+08
	(3) 790	3,70E+07	6,00E+08	2,00E+08	9,05E+08
	(4) 1180	3,00E+07	5,40E+07	1,80E+08	5,00E+08
	(5) 1570	2,40E+07	3,10E+07	2,52E+07	4,00E+07
FA	(1) 200	2,00E+07	2,95E+07	2,80E+07	3,90E+07
	(2) 380	1,90E+07	2,45E+07	2,10E+07	3,30E+07
	(3) 660	1,60E+07	2,30E+07	2,00E+07	2,75E+07
	(4) 940	1,40E+07	1,95E+07	1,85E+07	2,07E+07
	(5) 1220	1,20E+07	1,50E+07	1,35E+07	2,00E+07
		Coliformes Termotolerantes NMP g <sup>-1</sup> ST			
UASB	(1) 200	8,40E+07	6,40E+09	5,00E+09	9,40E+09
	(2) 400	5,30E+07	6,01E+08	4,02E+08	8,75E+08
	(3) 790	3,30E+07	5,40E+08	3,75E+08	8,00E+08
	(4) 1180	2,90E+07	3,70E+07	3,75E+08	4,35E+08
	(5) 1570	2,00E+07	3,00E+07	3,00E+07	3,95E+07
FA	(1) 200	1,90E+07	2,00E+07	2,05E+07	3,65E+07
	(2) 380	1,70E+07	1,95E+07	2,00E+07	3,07E+07
	(3) 660	1,30E+07	1,95E+07	1,80E+07	2,22E+07
	(4) 940	1,20E+07	1,01E+07	1,77E+07	2,00E+07
	(5) 1220	1,05E+07	0,90E+07	1,09E+07	1,90E+07

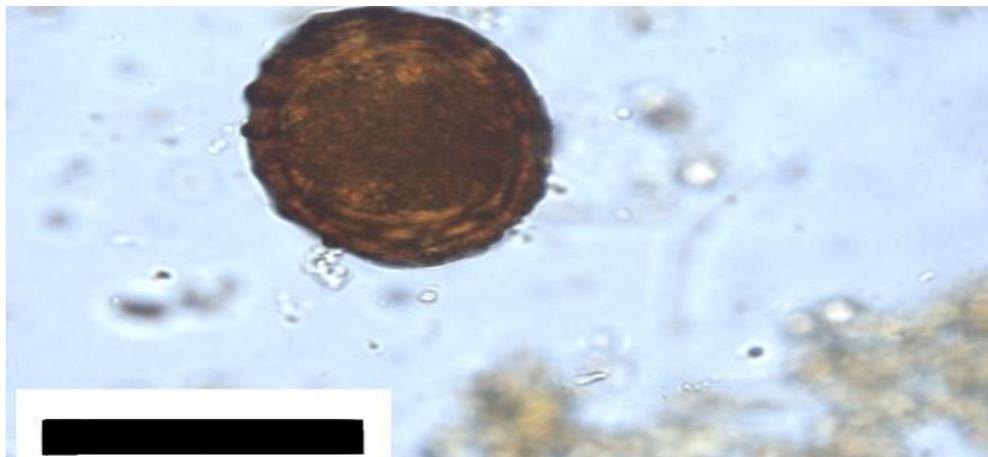
Para a reutilização de lodo do tipo A na agricultura, as concentrações de coliformes totais e termotolerantes devem ser inferiores a  $1,00E+03$  NMP  $g^{-1}$ ST e para o Tipo B, inferiores a  $1,00E+06$  NMP  $g^{-1}$  ST (Brasil, 2006).

Desta forma, somente o lodo produzido no reator UASB (R2) do sistema I (ensaios 1 e 2; 3 e 4), ocorreram valores que estão de acordo com os padrões da Resolução CONAMA 375 (BRASIL, 2006) para a reutilização na agricultura, como lodo tipo B.

### 4.3 Exame parasitológico

#### 4.3.1 Enumeração de ovos de helmintos cistos de protozoários nos afluentes e efluentes

Neste trabalho nas amostras dos afluentes e efluentes foram encontrados somente ovos de *Ascaris suum*, como é mostrado na Figura 23. Não foram detectados oocistos ou cistos de protozoários (Tabela 9).



**FIGURA 23.** Ovo de *Ascaris suum* - Microscopia óptica obj. 40x

**TABELA 9.** Ocorrência de parasitas no afluente

Ensaio	Oocistos de <i>Cryptosporidium</i>	Cistos de <i>Entamoeba</i> spp e <i>Giardia</i> spp	Helmintos
1	nd	nd	<i>Ascaris suum</i>
2	nd	nd	<i>Ascaris suum</i>
3	nd	nd	<i>Ascaris suum</i>
4	nd	nd	<i>Ascaris suum</i>

nd: não detectado

A concentração das formas parasitárias em águas residuárias de suinocultura está associada às práticas de manejo e instalações. Mudanças no sistema de criação diminuem as taxas de infecção, mas os agentes podem persistir mesmo em propriedades com boas práticas de manejo (ROEPSTORFF e NANSEN, 1994).

Morris et al. (1984), comparando criações de suínos em piso cimentado e ripado, descreveram maior ocorrência de *Ascaris suum* em cimentados. Instalações contendo lâmina d'água são propícias para a disseminação de agentes parasitológicos, quando essas são inadequadamente utilizadas, o que justifica a presença de ovos de *Ascaris suum* no afluente. É importante verificar a vazão da água para que os dejetos sejam constantemente carregados do ambiente.

Para prevenir a transmissão vertical das porcas para leitões em matrizes gestantes é utilizado Ivermectina injetável e conseqüentemente há diminuição da contaminação local. O tratamento com anti-helmintícos é feito utilizando fembendazol oral e todos os animais são mantidos em área cimentada sem acesso ao solo, recebendo somente ração comercial. Portanto, a persistência de helmintos nos rebanhos está associada à contaminação, à resistência dos ovos destes helmintos ao meio ambiente e a anti helmínticos (ROEPSTORFF e NANSEN, 1994).

A presença de ovos de *Ascaris suum* comprovou que existe uma resistência desse helminto ao anti-helmíntico utilizado, contribuindo para aumentar a persistência desse agente dentre os animais, e demonstrou a eficiência do mesmo contra cistos de protozoários, uma vez que estes não foram encontrados nas amostras analisadas.

Os resultados de identificação e contagem das médias de ovos de helmintos obtidas nas amostras de afluentes e efluentes dos reatores UASB (R1 e R2) instalados em série, em escala piloto, do sistema de tratamento I, nos ensaios 1, 2, 3 e 4 são apresentados na Tabela 10.

No afluente, o número de ovos de *Ascaris suum* encontrados no sistema I variou de 2,333 a 3,000 ovos L<sup>-1</sup>, com média geral de 2,500 ovos L<sup>-1</sup> para o sistema I. Nos efluentes dos reatores UASB em dois estágios do sistema I, foram obtidas contagens mais reduzidas, de 0,106 a 0,187 ovo L<sup>-1</sup> no R1 e 0,027 a 0,107 ovo L<sup>-1</sup> no R2 com média de 0,133 ovo L<sup>-1</sup> no R1 e de 0,060 no R2, resultando em eficiências

de remoção da ordem de 96,44% a 99,11 no conjunto (R1+R2) nos ensaios de 1 a 4, (Figura 24).

**TABELA 10.** Valores médios de número de ovos de helmintos obtidas nas amostras de afluentes bruto, efluentes dos reatores UASB (R1) UASB (R2) instalados em série, em escala piloto, do sistema de tratamento I.

Ensaio	Afluente (ovo L) <sup>-1</sup>	R1 (ovo L) <sup>-1</sup>	R2 (ovo L) <sup>-1</sup>
1	3,000	0,107	0,027
2	2,666	0,106	0,053
3	2,333	0,133	0,053
4	3,000	0,187	0,107

Na Tabela 11, estão apresentados os valores médios de ovos de helmintos obtidas nas amostras de afluentes e efluentes do reator UASB, filtro anaeróbico, filtro biológico percolador e decantador do sistema de tratamento II. No afluente, o número de ovos de helmintos encontrados variou de 2,3 a 3,6 ovos L<sup>-1</sup>, com média geral de 2,7 ovos L<sup>-1</sup> para o sistema II. Já nos efluentes do reator UASB e do filtro anaeróbico, as médias foram de 0,14 ovo L<sup>-1</sup> e 0,07 ovo L<sup>-1</sup>, respectivamente. Nos efluente do filtro biológico percolador e decantador não foram encontrados ovos de helmintos, demonstrando a elevada eficiência do conjunto tratamentos secundário e terciário na remoção destes organismos (Figura 25).

**TABELA 11.** Valores médios do número de ovos de helmintos nas amostras de afluentes bruto, efluentes do reator UASB, filtro anaeróbico, filtro biológico percolador e decantador, instalados em série, em escala piloto, do sistema de tratamento II.

Ensaio	Afluente (ovo L) <sup>-1</sup>	UASB (ovo L) <sup>-1</sup>	FA (ovo L) <sup>-1</sup>	FBP (ovo L) <sup>-1</sup>	Decantador (ovo L) <sup>-1</sup>
1	3,667	0,213	0,053	0,00	0,00
2	2,332	0,107	0,053	0,00	0,00
3	2,333	0,107	0,080	0,00	0,00
4	2,667	0,133	0,107	0,00	0,00

No tratamento de esgoto doméstico em reatores UASB e filtro biológico percolador, PASSAMANI (2001) obteve uma eficiência de remoção de 87,5% (24

ovo/L) no efluente do reator UASB. No FB não foram detectados ovos de helmintos, portanto, eficiência de remoção de 100% resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho.

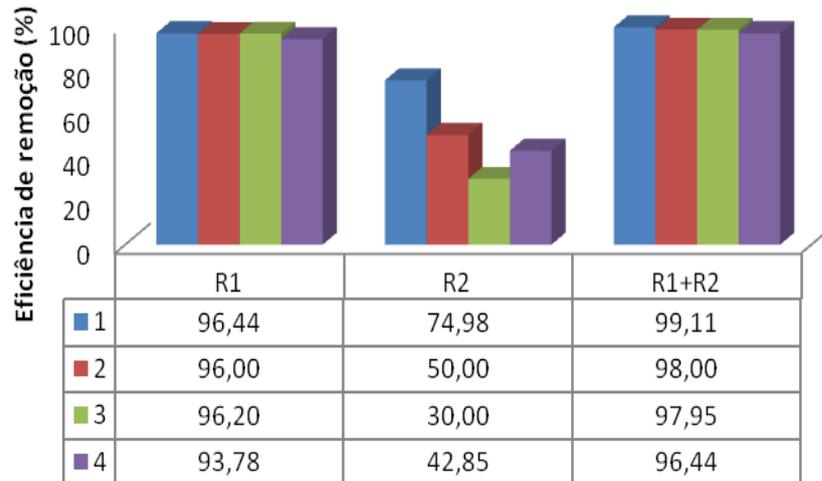
A variação na quantidade do número de ovos encontrados em efluentes de reator UASB entre outros autores é muito grande. Zerbine et. al. (1998) e Souza (2005) apresentaram, respectivamente, totais de 195 e 229,9 ovos/L<sup>-1</sup>, valores muito acima aos citados neste estudo, demonstrando a maior contaminação parasitológica dos esgotos sanitários domésticos e a alta variação entre locais. Já em relação aos valores médios obtidos nos efluentes, encontram-se dentro da faixa apresentada no trabalho de Cavalcante et. al. (2007), com média de 0,65 ovo L<sup>-1</sup> de helmintos.

Cavalcante (2007) ao trabalhar com filtros anaeróbios tratando esgoto doméstico, obteve eficiência de 99% para remoção de ovos de helmintos resultando em um efluente final com valor menor que 1 ovo L<sup>-1</sup>, resultado similar ao do FA do sistema II, e ambos melhores do que no reator UASB (R2) do sistema I

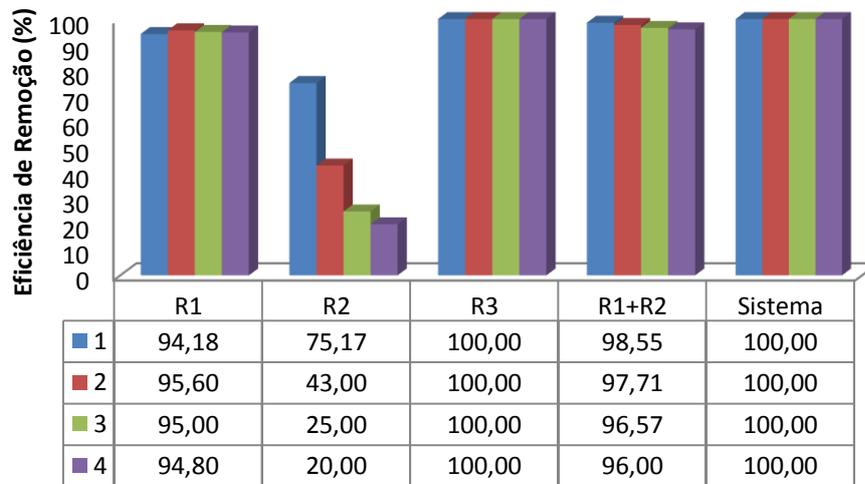
Leopoldino et al.(2005), trabalhando com filtros anaeróbios no tratamento de esgoto doméstico, observaram um efluente final com média menor que 1 ovo/L, sendo a remoção de 83,3% para ovos de helmintos. O tamanho e a densidade dos ovos favorecem a remoção por processos físicos tais como, filtração e sedimentação, fenômenos observados nos filtros anaeróbios.

O filtro anaeróbio mostrou-se capaz de proporcionar um polimento importante no efluente do UASB, demonstrando assim a sua importância, diante da dificuldade de remoção de ovos de efluentes com baixa concentração de ovos de helmintos.

Nos reatores anaeróbios dos sistemas de tratamento I e II, as maiores eficiências de remoção de helmintos ocorreram com os TDH mais elevados, nos ensaios 1, 2, 3. Com a diminuição acentuada do TDH no ensaio 4 as menores remoções de helmintos foram provocadas principalmente, pela redução no desempenho do reator UASB (R2) e do FA dos sistemas de tratamento I e II, nos quais os TDH foram de 4,5 e 5,2 h respectivamente (Figuras 24 e 25).



**FIGURA 24.** Valores médios das eficiências de remoção de ovos de helmintos nos reatores UASB (R1 e R2) e R1+R2 do sistema de tratamento I nos ensaios 1, 2, 3 e 4.



**FIGURA 25.** Valores médios das eficiências de remoção de ovos de helmintos nos reatores UASB e filtro anaeróbio (R1 e R2) e R1+R2 e do sistema (R1+R2+R3+ Dec.) do sistema de tratamento II nos ensaios 1, 2, 3 e 4.

Os resultados máximos de eficiência 99,11% e 100 % nos sistemas de tratamento I e II, respectivamente, foram considerados excelentes na remoção de ovos de helmintos, atendendo às recomendações sanitárias da OMS para uso irrestrito do efluente para irrigação (WHO, 1989 e 2006)

### 4.3.2 Enumeração de ovos de helmintos no lodo

Na manta do lodo dos reatores UASB (ponto 1, Figuras 6 e 7), tanto do sistema I quanto do sistema II, foram encontrados valores elevados do número de ovos de *Ascaris suum*, de 0,86 a 7,55 g<sup>-1</sup> ST. No leito do lodo a contagem de ovos foi superior, atingindo valores de 1,90 a 9,27 g<sup>-1</sup> ST (Tabela 12).

Das amostras analisadas, as maiores concentrações foram detectadas no leito do lodo do reator UASB e ponto 3, Figuras 6 e 7, em todos os ensaios.

Os resultados obtidos, tanto no sistema de tratamento I como no sistema de tratamento II foram acima de 0,25 ovo g<sup>-1</sup> ST em todos os ensaios. Portanto o lodo deve ser classificado como tipo B, segundo a Resolução CONAMA 375 (BRASIL, 2006 para o qual o limite deve ser inferior a 10 ovos g<sup>-1</sup> e a utilização é restrita.

**TABELA 12.** Valores médios de número de ovos g<sup>-1</sup> ST de helmintos no lodo dos reatores UASB instalados em série, em escala piloto do sistema de tratamento I e do reator UASB, filtro anaeróbio de fluxo ascendente (FA) instalados em série, nos ensaios 1, 2, 3 e 4.

Local de Amostragem	Distância de entrada (mm) (Ponto)	Helmintos Ovos g <sup>-1</sup> ST			
		Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4
<b>Sistema I</b>					
UASB (R1)	(1) 400	9,27	9,03	8,22	5,59
	(3) 1200	5,23	5,36	7,55	4,94
UASB (R2)	(1) 400	1,74	2,19	6,34	3,74
	(3) 1200	0,94	1,58	4,83	3,03
<b>Sistema II</b>					
UASB	(1) 200	9,55	8,60	7,04	3,30
	(3) 790	4,15	4,35	4,26	2,35
FA	(1) 200	4,07	2,41	1,99	1,90
	(3) 660	1,68	0,86	0,89	1,56

Este estudo indica que existe uma tendência dos ovos serem retidos ou sedimentados no leito do reator UASB e retidos por adsorção no biofilme formado no meio suporte do reator do FBP, já que os mesmos foram encontrados em pequena quantidade ou não detectados nas amostras dos efluentes.

A quantidade de ovos encontrados no lodo foi superior às encontradas nos afluentes e efluentes tanto no sistema I quanto do sistema II. Uma possível causa para este fato, pode estar relacionada com o uso de diferentes metodologias para a detecção no líquido (método de sedimentação, desenvolvido por Bailenger (1979) e

modificado por Ayres e Mara (1991)) e no lodo, (método de Meyer (1978)). Pode haver maior recuperação de ovos no lodo do que no líquido e como causa secundária a própria natureza da distribuição dos ovos que dispersa no líquido e concentra no lodo.

No lodo biológico podemos encontrar os mais variados microrganismos patogênicos, porém a simples presença do agente infeccioso nos lodos utilizados na agricultura não implica necessariamente na imediata transmissão de doenças; caracterizando apenas um risco potencial (TONON, 2007).

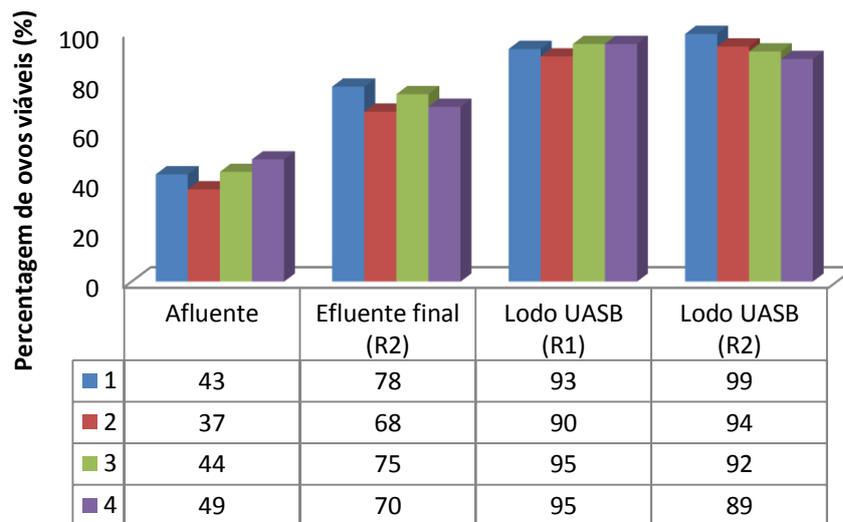
O risco real de um indivíduo ser infectado depende, na verdade, da combinação de uma série de fatores, dentre os quais: a resistência dos organismos patogênicos ao tratamento de águas residuárias e as condições ambientais, dose infectiva, patogenicidade, suscetibilidade e grau de imunidade do hospedeiro, grau de exposição humana aos focos de transmissão. Assim para que um microrganismo presente em um efluente utilizado na agricultura chegue a provocar doença, o mesmo terá que resistir aos processos de tratamento empregados e sobreviver ao meio ambiente em número suficiente para infectar um indivíduo suscetível (TONON, 2007).

Os resultados obtidos nesta pesquisa, são de grande importância para a engenharia sanitária e ambiental, pois evidenciam a importância de sistemas combinados (aneróbio e aeróbio), como uma tecnologia capaz de propiciar impacto benéfico significativo para a saúde pública, uma vez que remove totalmente ovos de helmintos.

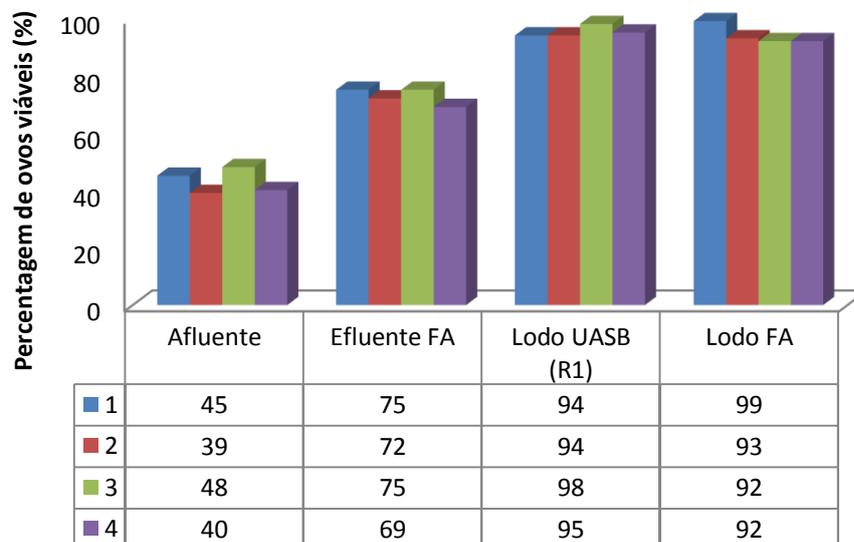
#### **4.3.3 Viabilidade de ovos de *Ascaris suum***

A quantidade de ovos viáveis no final do processo de tratamento deve ser levado em consideração caso se queira utilizar o efluente tratado ou lodo estabilizado resultante na agricultura, em pastagens ou para outros fins.

Os resultados dos testes de viabilidade de ovos de *Ascaris suum* estão representados nas Figuras 26 e 27. Conforme pode-se observar, as amostras de afluente e de efluente dos reatores anaeróbios apresentaram a ocorrência tanto de ovos viáveis quanto de não viáveis.



**FIGURA 26.** Percentagem de ocorrência de ovos viáveis no afluente, efluente do reator UASB (R2) e lodo dos reatores UASB (R1 e R2) do sistema de tratamento I.



**FIGURA 27.** Percentagem de ocorrência de ovos viáveis no afluente, efluente do filtro anaeróbio (FA) do lodo dos reatores anaeróbios (UASB e FA) do sistema de tratamento II.

A porcentagem de ovos viáveis nas amostras dos afluentes foi baixa, de 37 a 48%. Nas amostras de efluentes foi maior, de 68 a 99 %, tanto no sistema de tratamento I quanto no sistema de tratamento II em todos os ensaios.

Resultados semelhantes quanto a ocorrência relativa de ovos viáveis no afluente e efluente de reator anaeróbio foram obtidos por Zerbine et. al (1998) ao avaliar a viabilidade dos ovos de helmintos pela técnica da coloração rápida, encontrando tanto ovos viáveis , quanto não viáveis. O percentual médio de ovos viáveis foram de 3,9% no esgoto bruto de 14,9% no efluente do reator anaeróbio.

Prevalência similar de ovos viáveis de *Ascaris sp* em lodo de esgoto foi observado em trabalho realizado por Jiménez (2007).

Maya et. al. (2010) demonstraram que ovos de *Ascaris sp*, seguidos de *Toxocara canis*, são os mais resistentes a diferentes tratamentos empregados em virtude de sua espessa camada, o que corrobora com os resultados aqui obtidos

No lodo concentraram-se os ovos de *Ascaris suum* em quantidades relevantes, fato que está de acordo com os resultados obtidos por Godinho et. al. (2003), superando em alguns casos 85% do total de ovos viáveis encontrados, valores percentuais semelhantes aos verificados neste trabalho no qual mais da metade dos ovos de *Ascaris suum* estavam viáveis já no afluente.

A porcentagem de viabilidade de ovos viáveis obtidos neste estudo poderia ser esperado, uma vez que o lodo anaeróbio do tratamento de águas residuárias de suinocultura produzido nos reatores anaeróbios é rico em nutrientes, o que propicia o desenvolvimento dos ovos quando também em condições de umidade e temperatura ideais.

Segundo Soccol et al.(1999), Paulino et al. (2001) e Rey (2001), os ovos de helmintos são os que apresentam maior resistência de vida dentro do lodo de esgoto e alguns ovos podem permanecer viáveis por até sete anos, quando em condições ideais.

Andreoli et al. (1997) realizaram contagem e teste de viabilidade para ovos de helmintos presentes em lodo de esgoto anaeróbio, proveniente de reator anaeróbio (RALF). A verificação da presença de ovos de helmintos foi realizada de forma estratificada no perfil do lodo. Observou-se como neste estudo, a predominância de ovos de helmintos do gênero *Ascaris sp*, bem como a comprovação da sedimentação dos ovos para as camadas mais profundas do perfil do lodo, tendo aos 60 dias praticamente 86% dos ovos de helmintos viáveis concentrados na camada inferior do perfil.

Johnson et al (1998) avaliaram a viabilidade de *Ascaris suum* expostos à vários processos de tratamento por meio de teste in vitro. Os ovos de *Ascaris suum* foram colocados em um digestor anaeróbio de lodo mesofílico, em uma lagoa de lodo e armazenado à 4°C. Após 1 semana, no digestor anaeróbio mesofílico, 95% dos ovos de *Ascaris suum* estavam viáveis. Os ovos embrionados, que estavam presentes antes do tratamento, mais de 98% sobreviveram até 5 semanas em anaerobiose.

Pinto (2012), avaliando a viabilidade de ovos de *Ascaris suum* no lodo de uma lagoa facultativa, obteve densidade que variou de 98 a 1554 ovos viáveis g<sup>-1</sup> ST o que demonstra que de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho também um tratamento higienizante é necessário para a utilização do lodo produzido em reatores anaeróbios de alta taxa na reciclagem na agricultura, ou para outros objetivos visando reduzir o risco para saúde humana e animal.

Vários estudos sobre a higienização do lodo vem sendo realizados para se adequarem à Resolução CONAMA 375 (BRASIL, 2006). No artigo 3° desta resolução está determinado que: “todos os lodos gerados em sistema de tratamento de esgoto, para terem aplicação agrícola, deverão ser submetidos a processo de redução de patógenos e atratividade de vetores e por processo de redução significativa de patógenos”.

Pesquisadores como Calheiros et al. (2011) utilizaram o processo de caleação para a higienização do lodo, com o intuito de reduzir patógenos provenientes de reatores anaeróbios e obtiveram excelentes resultados. Com 30 dias de tratamento com 50% de cal não foi acusada a presença de coliformes. A ausência de helmintos foi observada com 100% em massa de cal.

Piana et al. (2011) e Teixeira (2012) utilizaram sistema de compostagem termofílica para o tratamento de lodo gerado em ETE e também obtiveram excelentes resultados na redução de coliformes e helmintos.

Com o processo de compostagem termofílica é possível obter temperaturas elevadas do lodo, as quais são capazes de destruir os patógenos nele existentes (PIANA et al., 2011).

## 5. CONCLUSÕES

A remoção de ovos de helmintos nos sistemas de tratamento foi excelente com eficiência de remoção de 99,11% com reatores UASB em dois estágios (sistema I) e de 100% com reator UASB seguido de filtro anaeróbio, filtro biológico percolador e decantador (sistema II). As concentrações nos efluentes foram menores que 1 ovo L<sup>-1</sup>, e com isso atendeu as recomendações sanitárias da Organização Mundial da Saúde (OMS) para uso irrestrito do efluente para irrigação.

A contagem de coliformes nos efluentes dos sistemas de tratamento revelaram um elevado potencial de remoção de coliformes atingindo valores de 99,51% para o sistema I e de 99,91% para o sistema II, o que resultou em efluentes finais com concentrações de 1,00E+04 a 1,00E+07 NMP (100mL)<sup>-1</sup>. Essas concentrações nos afluentes, permitem a reutilização agrícola apenas para irrigação restrita (cereais, culturas industriais, forrageiras, pastagens e árvores) de acordo com a OMS.

Os reatores anaeróbios em um estágio alcançavam eficiências de remoção para coliformes e ovos de helmintos significativamente menores do que quando utilizados em dois estágios, considerando o mesmo TDH para as mesmas configurações, evidenciando a vantagem acentuada de reatores em série para a produção de efluente com melhor qualidade microbiológica e parasitológica.

No sistema II ocorreu maior eficiência de remoção dos coliformes totais, termotolerantes e ovos de helmintos, em virtude da unidade de pós-tratamento composto pelo filtro biológico percolador e decantador. Portanto, o pós-tratamento, com processo aeróbio e operação de sedimentação, contribui para aumentar as eficiências de remoção de coliformes totais e termotolerantes e elimina os ovos de helmintos.

A fração de ovos viáveis no lodo foi elevada, o que limita a utilização desse lodo na agricultura, sendo necessário mecanismos adicionais de higienização, como por exemplo a caleação ou compostagem termofílica.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU NETO, M. S. de; OLIVEIRA, R. A. de. Remoção de matéria orgânica, de nutrientes e de coliformes no processo anaeróbio em dois estágios (reator compartimentado seguido de reator UASB) para o tratamento de águas residuárias de suinocultura. **Engenharia Agrícola** Jaboticabal, v.29, n.1, p.148-161, 2009.

ANDRADE NETO, C. O. **Sistemas Simples para Tratamento de Esgotos Sanitários – Experiência Brasileira**. Rio de Janeiro, ABES, 301p. 1997.

ANDREOLI, C. V.; FERNANDES, F.; LARA, A. I., BONET, B.; DOMAZAK, S. C. A reciclagem agrícola de lodo de esgoto no estado do Paraná. In: WORKSHOP SUL-AMERICANO SOBRE USOS ALTERNATIVOS DE RESÍDUOS DE ORIGEM FLORESTAL E URBANA, 1997, Curitiba. **Anais....** Curitiba: EMBRAPA-CNPQ/IBAMA/Universidade Federal do Paraná, p.83-104,1997.

APHA; AWWA; WEF. **Multiple tube fermentation technique for members of the coliform group**. In: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21<sup>st</sup> ed. Washington DC: APHA, 2005.

APHA-AWWA-WEF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, (21<sup>st</sup> ed.), **American Public Health Association**, Washington, DC (2005).

ASANO, T.; LEONG, L.Y.C.; RIGBY, M.G.; SAKAJI, R.H. Evaluation of the California wastewater reclamation criteria using enteric virus monitoring data. **Water Science and Technology**, Kiddington, v. 26, n. 7-8, p.1513 – 1524, 1992.

AYRES R, MARA, D. **Analysis of wastewater for use in agriculture. A laboratory manual of parasitological and bacteriological techniques**. Geneva: WHO, 1996. 31p

AYRES, R., STOTT, R., LEE, D. L., MARA, D. D. e SILVA, S. A Comparison of techniques for the enumeration of humanan parasitic helminth eggs in treated wastewater. **Water Environment Technology**, London, v.12, n. 7, p. 617- 623, 1991.

BACKES, C. **Aplicação e efeito residual do lodo de esgoto em sistemas de produção de tapetes de grama esmeralda**. 2008 Tese (Doutorado em Agronomia área de concentração – Horticultura) Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

BAILENGER, J. Mechanisms of parasitological concentration in coprology and their practical consequences. **Journal of American Medical Technology**, Chicago, n.41, p. 65-71, 1979.

BARREIROS, R.M.; GONÇALVES, J.L.M.; SANSÍGOLO, C.A.; POGGIANI, F. Modificações na produtividade e nas características físicas e químicas da madeira de *Eucalyptus grandis* causadas pela adubação com lodo de esgoto tratado. **Revista Árvore**, Viçosa, v.31, n.1, p.103-111, 2007.

BASTOS, V. K. **Detecção e quantificação de ovos viáveis de *Ascaris* sp e outros ovos de helmintos em lodo de esgoto**. 2012 81f. Dissertação (Mestrado, em Engenharia Sanitária) Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. (Ed.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 312p, 2000.

BRAILE, P. M.; CAVALCANTI, J. E. W. A. **Manual de tratamento de águas residuárias industriais**. São Paulo: CETESB, 764 p., 1993.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente - Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de águas e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**. Brasília, BR, 2005.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente - Resolução nº 375, de 29 de agosto de 2006. **Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências**. Brasília, BR, 2006.

BUSATO, R. **Desempenho de um filtro anaeróbio de fluxo ascendente como tratamento de efluentes de Reator UASB: Estudo de caso ETE Imbituva** 2004. 237p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) Setor Tecnologia, Universidade Federal do Paraná – Curitiba, 2004.

BYAMUKAMA, D; MACH. L. R., KANSIIME, f., MANAFI, M., FARNLEITNE, A. H., Discrimination Efficacy of Fecal Pollution Detection in different aquatic habitats of a high altitude tropical country, using Presumpti Coliforms, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* spores **Applied and Environmental Microbiology**, Bethesda , p.65 -71, v.71, n.1, 2005.

CALHEIROS, H. C., RIBEIRO, E. C., CAMARGO, C. G. de Desidratação de lodo proveniente de reator anaeróbio compartimentado em leito de secagem plantado com camomila e higienizado com cal. **Revista de Estudos Ambientais**, Blumenau, v. 13, n. 2, p. 33 - 43, 2011.

CAMPOS, J. R. **Tratamento de esgotos sanitário por processos anaeróbios e disposição controlada no solo**. Rio de Janeiro: ABES, 1999. 464 p. (Projeto PROSAB).

CAMPOS, C. M. M.; DAMASCENO, L. H. S.; MOCHIZUKI, E. T.; BOTELHO, C.G. Avaliação do desempenho do reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) em escala laboratorial na remoção da carga orgânica de águas residuárias da suinocultura. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 390-399, 2005.

CAPIZZI, S.; SCHWARTZBROD, J. Surface properties of *Ascaris suum* eggs: hydrophobic potential and Lewis acid-base interactions. **Colloides and Surfaces Netherlands**, v. 22, n. 2, p.99-105, 2001.

CARDOSO, L. S.; DE CARLI, G. A.; LUCA, S. J.; *Cryptosporidium* spp e *Giardia* spp em efluentes biologicamente tratados e desinfetados. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro v.8, n. 4, p. 285-290, 2003.

CASTAGNA S. M. F., SCHWARZ C. W. & CARDOSO M. Presença de *Salmonella* sp. no trato intestinal e em tonsilas/linfonodos submandibulares de suínos ao abate. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootécnica**, Belo Horizonte. v.56, n.3 p.300-306, 2004.

CAVALCANTE, F. L. **Avaliação da eficiência de filtros anaeróbios na remoção de Coliformes fecais e ovos de helmintos** 2007. 116 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária) Universidade Federal do Rio Grande do Norte – Natal, 2007.

CAVALCANTE, F. L. ANDRADE NETO, C. O.; ARAUJO, A. L. C.; MELO, H.N. Avaliação da eficiência de duas ETEs com filtro anaeróbio na remoção de coliformes fecais e ovos de helmintos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 24, 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Associação Brasileira de Eng. Sanitária e Ambiental, 2007, 1 CD- ROM.

CAVALCANTI, P.F.F., VAN HAANDEL, A. C., LETTINGA, G. **Polishing ponds for post treatment of digested sewage: Sequential batch ponds**. In: VI OFICINA E SEMINÁRIO LATINO-AMERICANO DE DIGESTÃO ANAERÓBIA. 5-9 nov. Recife. **Anais.....IWA**: Recife, p .352-359, 2000.

CHERNICHARO, C. A. L.; VAN HAANDEL, A. C.; CYBIS, L. F. CYBIS, E. F. Introdução. IN: *PROSAB*- Programa de Pesquisa em saneamento Básico, **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios**, Brasília, p.19-34, 2001.

CHERNICHARO, C.A.L. Post treatment options for the anaerobic treatment of domestic wastewater. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology** v.5, p.73-92, 2006.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios**: princípios do tratamento biológico de águas residuárias. 2. ed. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 359p., 2007.

CORDERO DEL CAMPILLO, M., ARGÜELLO, M. R. H. Ascarioses. In CORDERO DEL CAMPILLO, M., ROJO VÁZQUEZ, F. A., MARTINES FERNÁNDEZ, A. R., SÁNCHEZ ACEDO, C., HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ, S., NAVARRETE LÓPEZ-COZAR, I., DÍEZ BAÑO S, P., QUIROZ ROMERO, H. e CARVALHO VARELA, M., **Parasitología Veterinária**, Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana de España, S.A. U. p. 469-473, 2002.

DENG, M .Q.; CLIVER, D. O. Cryptosporidium parvum studies with dairy products. **Int. Journal. of Food Microbiology**. California-Davis, v.46, p.113-121,1999.

DIESEL, R.; MIRANDA, C. R.; PERDOMO, C. C. Coletânea de tecnologias sobre dejetos suínos. **Boletim informativo Embrapa**, CNPSA, Concórdia 31 p., 2002.

DUDA, R. M. **Desempenho de sistema composto por reatores anaeróbios em série seguido de filtro biológico percolador no tratamento de águas residuárias de suinocultura**. 2010. 241f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.

DUDA, R. M.; OLIVEIRA, R. A. Reatores anaeróbios operados em batelada seqüencial seguidos de lagoas de polimento para o tratamento de águas residuárias de suinocultura. Parte II: remoção de nutrientes e coliformes. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.29, n.1, p.135-145, 2009.

DUDA, R. M. OLIVEIRA, R. A. Tratamento de águas residuárias de suinocultura em reator UASB e filtro anaeróbio em série seguidos de filtro biológico percolador. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v.16, n.1, p. 91-100, 2011.

EPA- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – U.S.E.P.A. (1992) **Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge**. EPA/625/R-92/013. Dec. 1992.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union, 2007, **EFSA J**. Parma, 223 p., 2009.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the European Union, 2008. **EFSA J**. Parma, 1503 p., 2010

ESCUDIE´, R.; CRESSON, R.; DELGENE´S, J-P.; BERNE T, N. Control of start-up and operation of anaerobic biofilm reactors: an overview of 15 years of research **Water Research**. London v. 45. p.110, 2011.

FAYER, R. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. **Veterinary Parasitology**, Netherlands, n.126, p.37-56, 2004.

FANG, H. H. P.; CHUI, H-K.; LI, Y-Y. Effect of degradation kinetics on the microstructure of anaerobic biogranules. **Water Science and Technology**. Kiddingington, v.32. n.8. p. 165-172, 1995.

FAUST, E. C.; SANITZ, W.; TOBIE, J.; ODON, V.; PERES, C. & LINCOME, D. R. Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of protozoa and helminth in faces, **Journal of Parasitology**, London, v. 25 p. 241- 262, 1939.

FERNANDES, G. F. R. **Desempenho de processo anaeróbio em dois estágios (reator compartimentado seguido de reator UASB) para tratamento de águas residuárias de suinocultura.** 2004. 135f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

FORESTI, E.; OLIVEIRA, R. A. de. **Anaerobic treatment of piggery wastewater in UASB reactors.** In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON AGRICULTURAL AND FOOD PROCESSING WASTES.7, 1995.Chicago-SA. **Proceedings..**Chicago, p.309-318, 1995.

FRONTERA, E., ALCAIDE, M., DOMÍNGUEZ-ALPÍZAR, J. L., BOES, J., REINA, D. & NAVARRETE, I., (2005). Evidence of interaction between *Ascaris suum* and *Metastrongylus apri* in experimentally infected pigs. **Veterinary Parasitology**. London, v.127, n.28, p. 295-301.

GALVÁN, M.; de VICTORICA, J. Implicaciones sanitarias de la presencia de huevos viables de nemátodos en el agua para riego y necesidad de su evaluación rápida. In: **Anais XXVI Congresso Interamericano de ingeniería sanitaria y ambiental.** Lima, 9 p., 1998.

GODINHO, V. M.; CHERNICHARO, A. A. L.; HONÓRIO, KARINA BARBOSA. Caracterização de lodos gerados em sistema de tratamento de esgoto quanto à presença de ovos de helmintos. In 22 CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 22, 2003, Joinville. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES,2003. v.1, p.1-10, 2003.

GODINHO, V. M. **Estudo Sobre a Ocorrência de ovos de helmintos e viabilidade de *Ascaris* sp em lodos anaeróbios in natura e submetidos à higienização por caleação e por tratamento Térmico.** 2003 139f Dissertação (Mestrado em saneamento, meio ambiente e recursos hídricos) - Escola de Engenharia da UFMG, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003

GOMES, A.; PACHECO, M.; FONSECA, Y.; CESAR, N.; DIAS, H.; SILVA, R.; Pesquisa de *Cryptosporidium* sp. em águas de fontes naturais e comparação com análises bacteriológicas. **Revista. Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.61, n.1, p. 59-63, 2002.

GONÇALVES, R.F. (Coord.) **Desinfecção de efluentes sanitários**. Vitória-ES: RIMA, 2003.

GUIMARÃES, S.; SOGAYAR, M.I.; FRANCO, M.F. Giardia duodenalis: Inter-strain variability of proteins, antigens, proteases, isoenzymes and nucleic acids. **Revista Instituto Medicina Tropical**. São Paulo. v.41, n.1, p.45-58, 1999.

HABOUZIT, F., GE'VAUDAN, G., HAMELIN, J., BERNET, N. **Influence of support properties on initial adhesion of a methanogenic microbial consortium**. In PROCEEDINGS OF THE IWA SPECIALIZED CONFERENCE ON PROCESSES IN BIOFILMS: Fundamentals to Applications, Davis, California, September p.13-16. 2009.

HIGASKINO, C. E. K. Determinação de coliformes fecais em amostra de lodo de esgoto por fermentação em tubos múltiplos. In: ANDREOLI, C. V., BONNETE, B. R. **Manual de métodos para análises microbiológicas e parasitológicas em reciclagem agrícola de lodo de esgoto**. Curitiba: Somepar, 1998. p. 27- 35.

HELLER, L.; BASTOS, R.K.X.; VIEIRA, M.B.C.; BEVILACQUA, P.D.; BRITO, L.L.A.; MOTA, S.M.M.; OLIVEIRA, A.A.; MACHADO, P.M.; SALVADOR, D.P.; CARDOSO, A.B.; Oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia*: circulação no ambiente e riscos à saúde humana. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. Brasília, v.13, n.2, p.79-92. 2004.

HSU, B.; HUANG, C.; HSU, C.L.; HSU, Y.F.; YEH, J.H. Occurrence of Giardia and Cryptosporidium in the Kau-Ping river and its watershed in Southern Taiwan. **Water Research**, Oxford, v. 33, n. 4, p. 2701-2707, 1999.

HURST, C. J.; KNUDSEN, G. R. McINERNEY, M. J. **Manual of environmental microbiology**. Washington: 894p., 1997.

IBGE **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm> . Acesso em 28 outubro 2012.

JIMÉNEZ B. Helminth ova control in sludge: a review. **Water Science and Technology**, Kiddington, v.56, n.9 p.219-228, 2007.

JOHNSON, P. N., DIXON, R., ROSS, A. D. An in vitro test to assess the viability of *Ascaris suum* eggs exposed to various sewage treatment processes. **International Journal for Parasitology**, London v. 28 p. 627-633, 1998.

JORDÃO, E.P & PESSÔA, C.A. (1995). **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 3ª ed. Rio de Janeiro: ABES, 682p, 1995.

KATO, M.T.; ANDRADE NETO, C.O.; CHERNICHARO, C.A.L et al. Configurações de reatores anaeróbios. In: CAMPOS, J.R. **Tratamento de esgotos sanitário por processos anaeróbios e disposição controlada no solo**. Rio de Janeiro: ABES, p.53-99, 1999.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WILSON, J. R. W. C. **Diagnóstico microbiológico** 5 ed. Brasil: Editora MEDSI, 2001.

KÖNIG A. Influência do tempo de decantação na concentração de ovos de helmintos em esgoto doméstico bruto. In: Seminário Nacional de Microbiologia Aplicada ao Saneamento, 1, 2000, Vitória, ES. **Anais ... Vitória/ ES: UFES/FNS (Ministério da Saúde)**, p. 28 – 33, 2000.

KORENTAJER, L. A review of the agricultural use of sewage sludge: benefits and potential hazards. **Water S. A.** Oxford, v.17, n.3, p.189-196, 1991.

KUNST, S.; KRUSE, T.; BURMESTER, A. **Sustainable water and soil management**. Berlin: Springer, 393p., 2002.

LEITE, D. C. **Remoção conjunta de carbono e nitrogênio de dejetos de suínos pelo processo de nitrificação e desnitrificação**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

LELES, D.; GARDNER, S.; REINHARD, K. Are *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* a single species? **Parasites and Vectors**, London, v.42, n.5, p.2-7, 2012.

LEOPOLDINO, J. K.M; ANDRADE NETO, C. O; NÓBREGA, A. K.C; BRITO, L. P. Avaliação da eficiência de uma ETE anaeróbica compacta na remoção de coliformes e ovos de helmintos. In CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. 2005, 23, Campo Grande, 18-23 set. 2005. **Anais....**Campo Grande ABES, 2005, p.1- 6.

LOREILLE, O.; BOUCHET, F. Evolution of ascariasis in humans and pigs: a multidisciplinary approach. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Manguinhos, v.98, suppl.1, p. 39 – 46, 2003.

LOUREIRO E.C.B., MARQUES N.D.B., RAMOS F.L.P., REIS E.M.F., RODRIGUES D.P. e HOFER E. *Salmonella* serovars of human origin identified in Pará State, Brazil from 1991 to 2008. **Revista Panamericana Amazonica Saúde**, Ananindeua, n.1, v.1, p.93-100, 2010.

LOURENÇO, A. M. P. **Desempenho de um sistema composto de reator UASB, filtro anaeróbio e lagoa aerada facultativa para o tratamento das águas residuárias da suinocultura**. 2006. 129f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2006.

MAIER, M. M.; PEPPER, I. L.; GERBA, C. P. **Environmental microbiology** California: Academic Press, 2000, 585p.

MARTINEZ, A.J. **Free-living amebas: natural history, prevention, diagnosis, pathology and treatment of the disease**. Boca Raton: CRC Press, 1985,156p.

MASSARA, C. L. 1988. **Viabilidade de ovos de *Ascaris lumbricoides* eliminados após terapêutica anti-helmíntica** 125f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia). Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, 1988.

MATOS, A. T.; SEDIYAMA, M. A.; FREITAS, S. P.; VIDIGAL, S. M.; GARCIA, N. C. P. Características químicas e microbiológicas do solo influenciadas pela aplicação de dejetos líquidos de suínos. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 44, n. 254, p. 399-410, 1997.

MAYA, C, ORRITIZ M, JIMÉNEZ B.; Viability of *Ascaris* and other helminth genera non larval eggs in different conditions of temperature, lime (pH) and humidity. **Water Science and Technology**, London, v.62 n.11, p. 2616-24, 2010.

METCALF; EDDY **Tratamiento y depuración de las aguas residuales**.Barcelona: Editorial Labor, 1981. 837 p.

METCALF; EDDY **Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse**.3<sup>rd</sup> ed. New Delhi, McGraw -Hill Inc. 1991,1334p.

METCALF; EDDY. **Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse**. 4<sup>th</sup> ed. New Delhi, McGraw - Hill Inc. 2003, 1500p.

MEYER, K. B., MILLE, R. K. D & KANE SHIRO, E. S. Recovery of *Ascaris* eggs from sludge. **The Journal of Parasitology**. Bethesda, v. 64, n. 2, p. 380-383, 1978.

MORRIS, R .G.; JORDAN, H.E.; LUCE, W.G.; COBURN, T.C.; MAXWELL, C.V. Prevalence of gastrointestinal parasitism in Oklahoma swine. **American Journal Veterinary Resource**, Chicago, v.45, n.11, p.2421-2423, 1984.

MOITINHO, M. L. R.; ROBERTO, A. C. B. S.; MARTINS, M. R., Ocorrência de *Cryptosporidium* sp. em fezes diarréicas de crianças do município de Maringá-PR. **Revista Brasileira Analises Clinicas**. Rio de Janeiro v.29, n. 3, p.168-170, 1997.

MURRELL, K. D. Epidemiology, pathogenesis, and control of major swine helminth parasites. **Journal Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 2, n. 2, p. 439 - 454, 1986.

NATARO, J. P.; KAPER, B. Diarrheagenic *Escherichia coli* **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 10 ed. São Paulo: Atheneu, 2002, 349 p.

OLIVEIRA, R. A. de. **Efeito da concentração de sólidos suspensos do afluente no desempenho e características do lodo de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo tratando águas residuárias de suinocultura**. 1997. 359f. (vol. I e II). Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) Escola de Engenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

OLIVEIRA, R. A. DE, SANTANA, A. M. Tratamento de águas residuárias de suinocultura em reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) em dois estágios seguidos de reator operado em batelada sequencial (RBS). **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.31, n.1, p.178-192, 2011.

ORTOLAN, M. G. S. **Avaliação do efluente do hospital de clínicas de Porto Alegre: citotoxicidade, genotoxicidade, perfil microbiológico de bactérias mesofílicas e resistência a antibióticos**. 1999. 115f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente), Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

PASSAMANI, R. F. **Remoção de coliformes fecais e ovos de helmintos em uma ETE do tipo UASB + biofiltro aerado submerso tratando esgoto sanitário e em lodo anaeróbio submetido à higienização por caleagem ou por pasteurização:** 2001, Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Universidade Federal do Espírito Santo, 2001.

PAULINO, R. C.; CASTRO EA, SOCCOL V. T. Tratamento anaeróbio de esgoto e sua eficiência na redução da viabilidade de ovos de helmintos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.34 n.5: p.421-428, 2001.

PEREIRA, E. R. **Desempenho e caracterização microbiana do processo de dois estágios com reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) tratando águas residuárias de suinocultura.** 2003. 103 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

PEREIRA, E. R. **Qualidade da água residuária em sistemas de produção e de tratamento de efluentes de suíno e seu reuso no ambiente agrícola.** 2006. 108 f. Tese (Doutorado em Agronomia) Escola Superior de Agronomia "Luiz de Querroz"- Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

PEREIRA-RAMIREZ, O.; QUADRO, M. S.; ANTUNES, R. M.; KOETZ, P. R. Influência da recirculação e da alcalinidade no desempenho de um reator UASB no tratamento de efluente de suinocultura. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.10, n.1, p.103-110, 2004.

PIANA, M.G., MILLER, P. R. M., KONIG JR, G. Higienização do lodo de esgoto por compostagem termofílica. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.24, n.1, p. 44-47, 2011

PICANÇO, A.P., VALLERO, M.V.G., GIANOTTI, E.P., ZALAT, M., BLUNDI, C.E. Influence of porosity and composition of supports on the methanogenic biofilm characteristics developed in a fixed bed anaerobic reactor. **Water Science. Technology**, Kiddingtong, v.44, n.4, p.197-204, 2001.

PINTO, A. C. A. **Emprego de lagoas seriadas após reatores RAC-UASB para tratamento de águas residuárias de suinocultura.** 2012. 125f. Tese (Doutorado em Epidemiologia), Universidade Federal de Minas Gerais, Escola Veterinária, Belo Horizonte M.G, 2012.

RADOSTITS, O. M., GAY, C. C., HINCHCLIFF K. W., CONSTABLE, P. D., **Veterinary Medicine** A text book of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats 10° ed. Saunders - Elsevie , 2007.

RAMIRES, R. D. **Produção de metano e remoção de matéria orgânica, nutrientes e microrganismos patogênicos em reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB) em dois estágios tratando águas residuárias de suinocultura.** 2005. 136f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

RAS, M.; LEFEBVRE, D.; DERLON, N.; PAUL, E.; GIBBAL-NEUHAUSER, E. Extracellular polymeric substances diversity of biofilms grown under contrasted environmental conditions. **Water Research**, Oxford, v. 45. p.1529-1538. 2011.

REY, L. **Parasitologia.** Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. 2ª ed. Guanabara Koogan S. A. Rio de Janeiro, 1991, 731p.

REY, L. **Parasitologia.** 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, 856 p.

RITCHIE, L. S. **An ether sedimentation technique for routine stool examination.** Bulletin of the United States Army Medical Department, n.8, p.326, 1948.

ROEPSTORFF, A. & NANSEN P. Epidemiology and control of helminth infections in pigs under intensive and non-intensive production systems. **Veterinary Parasitology**, Netherlands, v.54, p.69-85, 1994.

ROEPSTORFF, A. & NANSEN, P. Animal health manual - Epidemiology diagnosis and control of helminth parasites of swine. Roma: **FAO**, 1998, p.4.

ROSARIO, C. G. A. **Avaliação da disposição de lodo gerado numa estação de tratamento de água em reator anaeróbio de fluxo ascendente e manto de lodo,** 2007. 116 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

ROSYPAL, A. C., BOWMAN, D. D., HOLLIMAN, D., FLICK, G. J., & LINDSAY, D. S. Effects of high hydrostatic pressure on embryonation of *Ascaris suum* eggs. **Veterinary Parasitology**, Netherlands, v.145, n.1-2, p. 86-89, 2007.

RUTHES, A. C. C.; WAHAB, S.; WAHAB, N.; MOREIRA, H.; MOREIRA, L. Conjuntivite presumível por *Acanthamoeba*. **Arquivo Brasileiro Oftalmologia**, São Paulo, v.67, n.6, p.897-900, 2004.

SANTANA, A. M. **Atividade da microbiota e desempenho de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com matanta de lodo (UASB) em dois estágios tratando águas residuárias de suinocultura**, 2004. 113 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004

SANTANA, A. M. de; OLIVEIRA, R. A. de. Desempenho de reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo em dois estágios tratando águas residuárias de suinocultura. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.25, n.3, p.817-830, 2005.

SANTOS, Ana Silva Pereira. Avaliação de desempenho de um filtro biológico percolado em diferentes meios suporte plásticos. 81 p. Dissertação (Mestrado em Ciência em Engenharia Civil) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – 2005.

SANTOS Y. T. C.; TORRES D. M., **Análise da viabilidade de ovos de helmintos em amostras do conteúdo de fossas e tanques**. In: V CONGRESSO NORTE-NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO (CONNEPI) 17-19 nov. Maceió. **Anais.....**, Maceió, SETEC, 2010.

SANTOS, S. C. **Sistema de tratamento anaeróbio, aeróbio e anóxico para águas residuárias de suinocultura: remoção de matéria orgânica, de nutrientes e de coliformes**. 2011. 199 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2011.

SANTOS, L. M., LEITE, W. C., LUZ, F. M. M., SAAB, S. C. Determinação do potencial agrícola do lodo de esgoto por meio de análises físico-químicas e microbiológicas. **Synergismuss Scyentifica**, Pato Branco, v.6, n. 1, 2011.

SANTOS, E.S. **Avaliação do desempenho operacional de uma ETE em escala real, composta por reator UASB e lagoa de pós tratamento**. 112 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos hídricos). Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2003.

SENIOR, E. **Microbiology of Landfill Sites**. 2.ed. Boca Raton: Lewis, 1995. 205p.

SCHMIDT, V.; GOTTARD, C.P.T.; SANTOS, M. A. A. Perfil físico-químico e microbiológico de uma estação de tratamento de dejetos de suínos. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, v.18, n.3, p. 287-293, 2002.

SILVA, G. C. **Tratamento de águas residuárias de suinocultura em reatores anaeróbios seguidos de filtro biológico percolador e wetlands** Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

SILVA, J. E.; RESCK, D.V.S.; SHARMA, R.D. Alternativa agronômica para o biossólido produzido no Distrito Federal. II - Aspectos qualitativos, econômicos e práticos de seu uso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.26, p.497-503, 2002.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos**, São Paulo: Varela, p. 7-20, 1997.

SILVA, R. F. da. **Compostagem e solarização para higienização de lodo de esgoto e uso no cultivo de cássia amarela (*Senna siamea Lam*)**. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2007.

SOARES, A. M. E.; VON SPERLING, M.; CHERNICHARO C. A. L. et al. Avaliação da remoção de patógenos em duas lagoas de polimento com diferentes relações geométricas tratando o efluente de um reator UASB compartimentado. In: CHERNICHARO, C.A.L. (Coord.). **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios**. Coletânea de Trabalhos Técnicos. Belo Horizonte: PROSAB, v.2, p. 87-96, 2001.

SOUSA, J. T.; AGRA, C. A.; HENRIQUE, I. N.; BRASIL, D. P.; SANTOS, E. C. Tratamento aeróbio de esgotos domésticos utilizando bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) como suporte para biomassa imobilizada. **Revista Tecnologia e Tendências**, Novo Hamburgo, v.8. n.1, p. 68, 2009.

SOUZA A. **Os microrganismos nas atividades de disposição de esgotos no solo: Estudo de caso**. 2005 163f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

SOUZA, J.B; DANIEL, L. A. Inativação dos microrganismos indicadores *Escherichia coli*, colifagos e *Clostridium perfringens* Empregando ozônio. **Ambiência -Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, São José dos Pinhais, v. 4, n. 2, p.265 - 273, 2008.

THOMAZ-SOCCOL, V.; PAULINO, R. C.; CASTRO, E. A. Agentes patogênicos: helmintos e protozoários. In: ANDREOLI C. V.; FERNANDES F.; LARA I. A.(Org.). **Reciclagem de Biossólidos: Transformando Problemas em Soluções**, Curitiba: SANEPAR/FINEP, 1999, cap. 3, p.156-174.

STEIL, L. **Avaliação do uso de inóculo na biodigestão anaeróbia de resíduos de aves de postura, frango de cortes e suínos**. 2001. 109f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) Instituto de Química. Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.

STEIL, L.; LUCAS JUNIOR, J.; OLIVEIRA, R. A Avaliação do uso de inóculos na biodigestão anaeróbias de resíduos de aves de postura, frangos de corte e suínos. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 22, n 1, p. 146- 149, 2002.

STOTT, R. Enumeration of intestinal helminth ova in raw and treated wastewaters. A training manual. **Wastewater Parasitology**. Department of Civil Engineering. University of Portsmouth,1998.

TEIXEIRA, C., **Higienização de lodo de estação de tratamento de esgoto por compostagem termofílica para uso agrícola**. 2012. 130f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistema) Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

THOMAZ-SOCCOL, V.; PAULINO, R. C.; CASTRO, E. A. Agentes patogênicos: helmintos e protozoários. In: ANDREOLI C. V.; FERNANDES F.; LARA I. A.(Org.). **Reciclagem de Biossólidos: transformando problemas em soluções**. Curitiba: **SANEPAR/FINEP**, cap. 3, p.156-174, 1999.

TONON D. **Desinfecção de efluentes sanitários por cloração visando o uso na agricultura** 2007. 284f Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo da UNICAMP, Campinas, 2007

TRANNIN, I. C. de B.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. de S. Atributos químicos e físicos de um solo tratado com biossólido industrial e cultivado com milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.12, n. 3 p.223-230, 2008.

TZIPORI, S.; WARD, H. Cryptosporidiosis biology, pathogenesis and diseases. **Microbes Infection journal**, Paris n.4, p.1047-1058, 2002.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Departamento de Ciências Exatas. Estação Agroclimatológica. Disponível em <[www.fcav.unesp.br/estacao](http://www.fcav.unesp.br/estacao)> Acesso em setembro de 2012.

VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G. **Tratamento anaeróbico de esgotos: manual para regiões de clima quente**. Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 210 p.,1994.

VAN HAANDEL A.; MARAIS, G. O. **Comportamento do sistema de lodo ativado**. Campina Grande: **Epgraf**, 488 p. 1999.

VANOTTI, M. B., PATRICIA, D.; MILLNER, PATRICKG. HUNT A, APREL Q. ELLISON. Removal of pathogen and indicator microorganisms from liquid swine manure in multi-step biological and chemical treatment. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v.96, n. 2, p 209-214, 2005.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2 ed., Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais; 243p.1996.

VON SPERLING, M; ANDREOLI, C. V. Introdução. In: ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. **Princípio do tratamento biológico de águas residuárias: Lodo de esgotos - tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: DESA - UFMG/SANEPAR, v. 6, cap.1, p.13-16, 2001.

WHARTON, D. A. Nematode egg-shells. **Parasitology**, Cambridge University Press v.81, n. 1, p.447-463, 1980.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Health guidelines for the use of wastewater in agriculture and aquaculture**. WHO Scientific Group. World Health Organization Technical Reports Series n. 778. WHO, Geneva, Switzerland, 1989. p.25.

WHO (World Health Organization). **Water Quality –Guidelines, Standards and Health: Assesment of Risk and Management for Water-Related Infectious Disease . Water Quality - Guidelines, Standards and Health Assesment**, 2002.

WHO - World Health Organization. **Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater**. Geneva, v.1, p. 2 e 3, 2006.

YANG, Y. N.,TADA, C., MIAH, M.S., TSUKAHARA, K., YAGISHITA, T.,SAWAYAMA, S. Influence of bed materials on methanogenic characteristics and immobilized microbes in anaerobic digester. **Mater. Sci. Eng. C**, Amsterdam, v.24, n.3, p 413-419, 2004.

ZERBINI, A. M.; VIANA, E. M. & CHERNICHARO, C. A. L. Avaliação de um sistema de tratamento de esgotos domésticos por reatores anaeróbios e por disposição controlada no solo na remoção de ovos de helmintos. In: SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 8, 1998, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: ABES p. 292 – 297, 1998.

ZERBINI, A. M., **Identificação e análise de viabilidade de ovos de helmintos em um sistema de tratamento de esgotos domésticos constituído de reatores anaeróbios e rampas de escoamento superficial** Dissertação (Mestrado em m Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000