

Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”
Instituto de Biociências

**Relatório Final de Atividades de Estágio de Instrumentação
na Área de Biologia da Conservação**

Maria Fernanda Ramos de Deus

Trabalho de Conclusão de Curso

Botucatu – 2009

Maria Fernanda Ramos de Deus

**Relatório Final de Atividades de Estágio de Instrumentação na Área de
Biologia da Conservação**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de
Biociências, Universidade Estadual
Paulista “Julio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Roque Passos Piveli
Escola Politécnica - USP

Botucatu

2009

À minha mãe e à memória de meu pai.

Agradecimento

À Deus, que sempre me deu forças em todos os momentos.

À minha mãe, e irmão pelo apoio, dedicação e estímulo aos meus estudos e pelo exemplo de vida.

Ao meu namorado pela paciência e compreensão nos momentos em que tive que me dedicar ao presente trabalho.

Ao Prof. Dr. Roque Passos Piveli pela oportunidade e orientação.

À Silvana Audrá Cutolo, pela atenção e conhecimentos transmitidos.

Ao Gilberto Sundefeld Jr pela paciência e ensinamentos durante as análises laboratoriais.

Lista de abreviaturas e siglas

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

CT – Coliformes Totais

DBO: Demanda Bioquímica de Oxigênio

DBO₅: Demanda Bioquímica de oxigênio analisada durante cinco dias

DQO: Demanda Química de Oxigênio

ETE – Estação de tratamento de esgoto

MUG – Substrato 4-metilumbeliferil- β -D-glucoronídeo

NMP: Número mais provável

OMS – Organização Mundial da Saúde

ONPG - Substrato orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo

SDT – Sólidos Dissolvidos Totais

SFA: Sulfato Ferroso Amoniacal

SST – Sólidos Suspensos Totais

ST – Sólidos Totais

UNT: Unidades Nefelométricas

Sumário

1.Objetivos do Estágio de Instrumentação e Instalações	7
2.Atividades desenvolvidas	8
3.Introdução	9
4.Coleta de amostras	16
5.Demanda Química de Oxigênio - DQO	17
5.1.A DQO e a água.....	17
5.2. Técnica Aplicada.....	17
5.3. Procedimento	18
6.Demanda Bioquímica de Oxigênio - DBO	20
6.1. A DBO e a água.....	20
6.2. Técnica aplicada	21
6.3. Procedimento	21
6.3.1. Atividades preparatórias	21
6.3.1.1. Calibração do Oxímetro	21
6.3.1.2 Preparo dos Frascos de DBO	22
6.3.1.3. Preparo da Água de Diluição	23
6.3.2. Ensaio de DBO	24
7. Determinação dos Sólidos Totais - ST	27
7.1.Os ST e a água	27
7.2.Técnica Aplicada.....	27
7.3.Procedimentos	27
8.Determinação dos Sólidos Suspensos Totais - SST	29
8.1.Os SST e a água.....	29
8.2.Procedimento.....	29
9.Determinação dos Sólidos Dissolvidos Totais - SDT	31
9.1.Os SDT e a água	31
9.2.Procedimento	31
10.Detecção de Coliformes Totais e <i>Escherichia coli</i>	32
10.1.Os coliformes e a água	32
10.2.Técnica Aplicada.....	33
10.3.Procedimento	33
11. Conclusão	36
12. Bibliografia.....	37

1. Objetivos do Estágio de Instrumentação e Instalações

Tendo em vista a importância da determinação dos padrões de qualidade exigidos pela legislação, foi desenvolvido o estágio de instrumentação entre os meses de fevereiro de 2009 e novembro de 2009 no Laboratório de Saneamento do Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária da Escola Politécnica – Universidade de São Paulo - sob orientação do Professor Dr. Roque Passos Piveli, com o objetivo de aprimorar os conhecimentos das técnicas laboratoriais de análise de água.

As amostras analisadas eram originárias das estações de tratamento de esgotos Cecap e Piracicamirim, localizadas no município de Piracicaba (SP), e do Campo Experimental de Uso Agrícola de Esgoto Tratado localizado em Lins – SP

2. Atividades Desenvolvidas

As atividades desenvolvidas no estágio foram:

- Determinação da Demanda Química de Oxigênio
- Determinação da Demanda Bioquímica de Oxigênio
- Determinação de Sólidos Totais
- Determinação de Sólidos Suspensos Totais
- Determinação de Sólidos Dissolvidos Totais
- Detecção de Coliformes Totais e *E.coli*

3. Introdução

A água, durante muitos anos, foi considerada, pela população mundial, um recurso inesgotável e, por isso, sem necessidade do uso racional. A escassez, o desperdício e a crescente demanda pela água doce representam séria e crescente ameaça ao desenvolvimento sustentável e à proteção do meio ambiente. A saúde e o bem-estar do homem, a garantia de alimentos e o desenvolvimento industrial, também são setores que estão em risco devido à redução dos níveis de água. De acordo com Onyango (2002), em 2025, a retirada de água para usos domésticos, industriais e de pecuária, será 50% maior que atualmente. Este aumento limitará severamente a disponibilidade de água para irrigação reduzindo, drasticamente, o crescimento da produção alimentar.

A poluição dos mananciais, o desmatamento, o assoreamento dos rios, o uso inadequado de irrigação e a impermeabilização do solo, entre tantas outras ações do homem moderno, são responsáveis pela morte e contaminação da água doce (Machado, 2003) reduzindo ainda mais a pequena quantidade disponível.

O consumo anual de água no mundo em 2000 foi de 3.811,4 km³, sendo 69% (2.652,1 km³) destinado ao setor agrícola, 21% (783,1 km³) ao industrial e apenas 10% (376,3 km³) ao doméstico (consumo humano, uso sanitário, serviços urbanos municipais). Entretanto, de acordo com pesquisas realizadas pelo International Water Management Institute (IWMI, 2002), devido ao rápido crescimento populacional e aumento da renda per capita, o consumo doméstico aumentará 71% dos quais mais de 90% será em países em desenvolvimento, prenunciando, desta forma, a questão das águas como um dos mais graves problemas da humanidade

Por outro lado, nota-se, em todo o mundo, que é cada vez mais constante a existência de medidas governamentais e sociais que objetivam viabilizar a continuidade das diversas atividades públicas e privadas que têm como foco as águas doces, em particular, aquelas que incidem diretamente sobre a qualidade de vida da população (Machado, 2001). Em face desta situação, o reuso de água proveniente de ETE's objetivando a substituição de fontes naturais mostra-se uma boa alternativa para satisfazer, principalmente, as demandas menos restritivas como, por exemplo, a irrigação agrícola e processos industriais (resfriamento,

alimentação de caldeiras, água de processos, etc), possibilitando, desta forma, que águas de melhor qualidade sejam aproveitadas em usos mais nobres, como o doméstico.

Outro aspecto a se considerar no reuso é a redução de impactos ambientais. O reuso da água proveniente dos esgotos tem sido procurado como uma forma de resolver os problemas criados pelas limitações em se dar um destino adequado aos resíduos sólidos ou aos efluentes líquidos gerados. (Aisse, *et al.*, 2006)

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 1973), a prática do reuso pode ser classificada em reuso direto (conexão direta dos efluentes de uma estação de tratamento de esgotos a uma estação de tratamento de águas e, em seguida, ao sistema de distribuição) ou indireto (diluição dos esgotos, após tratamento, em um corpo hídrico - lago, reservatório ou aquífero subterrâneo - no qual, após tempos de detenção relativamente longos, é efetuada a captação, seguida de tratamento adequado e posterior distribuição).

A aplicação de água residuária como fonte alternativa pode ser utilizada nos mais diversos setores, podendo citar-se o agrícola; urbano com fins potáveis e não potáveis; industrial e a recarga de aquíferos.

Na agricultura, a grande quantidade de águas residuárias, produzidas pelos sistemas de tratamento de esgoto, oferece um enorme potencial para o uso destas na irrigação, promovendo, dessa forma, uma menor utilização de água própria para outros consumos de primeira necessidade para o homem (Montes *et al.*, 2006).

Dentre os atrativos da utilização de esgotos sanitários tratados, incluem-se o reuso da água, proporcionando alívio na demanda e preservação de oferta desse bem para usos múltiplos; a ampliação de áreas irrigadas; a recuperação de áreas improdutivas ou degradadas e a reciclagem de nutrientes, proporcionando economia significativa de insumos como, por exemplo, fertilizantes e ração animal (Florêncio *et al.*, 2006). O esgoto doméstico é constituído 99% de água e 1% de colóides suspensos e dissolvidos, orgânicos e inorgânicos, incluindo macronutrientes - principalmente N, P e K- e, parcialmente micronutrientes, úteis às plantas (Mota *et al.*, 2006).

No Brasil, a agricultura consome, aproximadamente, 61% da água doce total (Christofid, 2001), havendo previsão de atingir 70% na próxima década, tendo em vista o elevado crescimento do agro-negócio. Portanto, o uso de fontes alternativas de água para a agricultura é altamente desejável, favorecendo a realocação dos recursos hídricos utilizados para outros setores (Montes *et al.*, 2006). Convém assinalar que se estima que uma economia de apenas 10% da água utilizada na agricultura aumentaria em 60% a oferta desse recurso para uso doméstico (Phillipi *et al.*, 2004).

No setor urbano, o potencial de reuso de efluentes é muito amplo e diversificado. Entretanto, usos que demandam água com qualidade elevada, requerem sistemas de tratamento e de controle avançados, podendo levar a custos incompatíveis com os benefícios correspondentes (Hespanhol, 2003). Para a utilização da água residuária para fins potáveis, a OMS indica apenas sistemas de reuso indireto e de origem exclusivamente doméstica, e que, nos sistemas de tratamento, empreguem-se barreiras múltiplas. Para os fins urbanos não potáveis, as águas residuárias podem ser utilizadas para irrigação de locais públicos como centros esportivos, parques e jardins; reserva de proteção contra incêndios; sistemas decorativos aquáticos como fontes e chafarizes; descarga sanitária de banheiros públicos, entre outros.

Outro setor onde encontramos crescimento no interesse pela utilização do reuso, é o industrial. Segundo Hespanhol (2003), os custos elevados da água industrial associados às demandas crescentes, têm levado as indústrias a avaliar as possibilidades internas de reuso e a considerar ofertas das companhias de saneamento para a compra de efluentes tratados, a preços inferiores aos da água potável dos sistemas públicos de abastecimento. Entre os usos industriais possíveis, encontram-se a utilização em torres de resfriamento como água de make-up e caldeiras. Na construção civil, a preparação e cura de concreto, e a compactação do solo, são possíveis atividades que podem utilizar esse recurso.

A recarga artificial de aquíferos com efluentes tratados é outro setor onde se pode empregar o reuso. As finalidades são diversas, incluindo o aumento de disponibilidade e armazenamento de água, controle de salinização em aquíferos costeiros e controle de subsidência de solos. Esta prática pode ser relevante em

alguns municípios, abastecidos por água subterrânea, onde a recarga natural de aquíferos vem sendo reduzida pelo aumento de áreas impermeabilizadas (Bernardi, 2003).

Apesar de todos os benefícios citados, é importante lembrar que os efluentes tratados são constituídos de excretas de origem humana e animal. Esses efluentes podem conter os mais variados organismos patogênicos e em concentrações elevadas. Portanto, não restam dúvidas sobre a possibilidade de transmissão de patógenos em qualquer modalidade de reuso da água, colocando em risco diferentes grupos populacionais. Dependendo de sua origem, os esgotos podem também conter agentes químicos, alguns de toxicidade relevante à saúde. (Bastos *et al.*, 2006).

No Brasil, as normas, os padrões e os códigos de prática de reuso agrícola são baseados em diretrizes estabelecidas por órgãos internacionais. A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) estabeleceu diretrizes que são voltadas unicamente para os aspectos agrícolas e edafológicos em sistemas irrigados com efluentes. A Organização Mundial da Saúde publicou, em 1989, as "Diretrizes para o Uso de Esgotos em Agricultura e Aqüicultura", nas quais foram estabelecidas três categorias de cultivos, as condições de aproveitamento para cada categoria, grupos expostos (trabalhadores, consumidores, público), quantidade de ovos de helmintos e de coliformes fecais permitidos e o tratamento de águas residuárias necessário para conseguir a qualidade microbiológica exigida.

Tabela 1 - Diretrizes recomendadas sobre a qualidade microbiológica das águas residuárias empregadas para a irrigação de cultivos ^a

Categorias	Condições de aproveitamento ou finalidade	Grupo exposto	Nematoda intestinal ^b (média aritmética de ovos/L)	Coliforme fecal (média geométrica/100 ml ^c)	Tratamento de águas residuárias com qualidade microbiológica exigida
A	Rega de cultivos comumente consumidos crus, campos de esportes, parques públicos	Trabalhadores, consumidores e público	≤ 1	≤ 1000 ^d	Série de tanques de estabilização que permitem alcançar a qualidade microbiológica indicada ou tratamento equivalente
B	Rega de cultivos industriais, forrageiras e árvores ^e	Trabalhadores	≤ 1	Não é recomendada nenhuma norma	Retenção em tanques de estabilização por 8 a 10 dias ou eliminação equivalente de helmintos e coliformes fecais
C	Rega localizada ^f de cultivos na categoria B quando nem trabalhadores e nem o público estão expostos	Nenhum	Não aplicável	Não é aplicável	Tratamento prévio segundo exige a tecnologia de rega por no mínimo a sedimentação primária

Fonte: OMS (1989)

^a Em casos específicos, se deveria levar em conta os fatores epidemiológicos, socioculturais e ambientais de cada lugar e modificar as diretrizes de acordo com ele.

^b Espécies *Ascaris*, *Trichuris* e *Ancilostoma*

^c Durante o período de rega

^d Convém adotar uma diretriz mais estrita (≤ 200 coliformes fecais por 100 ml) para campos públicos como os de hotéis, nos quais o público pode entrar em contato direto.

^e No caso de árvores frutíferas, a rega deve cessar duas semanas antes de colher a fruta e esta não deve ser colhida do solo. Não é conveniente regar por aspersão.

^f Chamado também rega por gotejo ou jato

Além do controle de coliformes fecais nas águas residuárias e no efluente tratado destinado ao reuso agrícola, podem ser adotados indicadores de patogenicidade como, por exemplo, bactérias: *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Vibrio cholerae*; protozoários intestinais: *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica* e *Giardia lamblia*; helmintos intestinais: *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermiculares*, *Trichuris trichiura* (Piveli *et al.*, 2007).

Para o reuso indireto, o controle de lançamento de outros efluentes nos corpos hídricos onde ocorrerá a diluição dos esgotos para futura captação de água e utilização em atividades de reuso, também é um fator de suma importância para satisfazer os requisitos de qualidade e, desta forma, definir em quais setores a água retirada poderá ser aplicada.

No Brasil a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA 20/1986 (Brasil, 1986) estabelece os padrões de qualidade de lançamento de efluentes nos cursos hídricos. Esta Resolução dividiu as águas do território brasileiro em águas doces (salinidade $< 0,05\%$), salobras (salinidade entre $0,05\%$ e 3%) e salinas (salinidade $> 3\%$). Em função dos usos previstos, foram criadas nove classes de qualidade. As águas doces foram divididas em Classe Especial, Classe I, Classe II, Classe III e Classe IV, dependendo de sua finalidade e tratamentos necessários para sua aplicação

A Classe Especial é destinada ao uso doméstico sem prévia ou com simples desinfecção e à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas, não devendo apresentar coliformes totais quando o uso se destina ao abastecimento sem tratamento.

A Classe I é composta por águas destinadas à utilização doméstica após tratamento simplificado; à proteção das comunidades aquáticas; às atividades de natação, esqui aquático e mergulho e à irrigação de hortaliças consumidas cruas ou frutas com desenvolvimento rente ao solo com consumo cru. Os corpos d'água incluídos nesta classe devem apresentar DBO_5 a 20°C até $3\text{mgO}_2/\text{L}$; SDT com teor máximo de 500mg/L ; até 40 unidades nefelométricas (UNT) de turbidez; ausência de substância que comuniquem gosto ou odor; entre outros.

Na classe II, estão as águas destinadas ao abastecimento doméstico após tratamento convencional; à proteção das comunidades aquáticas; às atividades de recreação de contato primário (assim como a Classe I); à irrigação de hortaliças e plantas frutíferas e à aquicultura. Para estas águas, são estabelecidos os mesmos limites da Classe I com apenas algumas diferenças como DBO_5 a 20°C até $5\text{mgO}_2/\text{L}$; turbidez de até 100 UNT; e limite de 1.000 coliformes fecais por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 5 amostras mensais colhidas em qualquer mês.

As águas utilizadas para abastecimento doméstico após tratamento convencional; irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras e a dessedentação de animais estão incluídas na Classe III que devem apresentar número de coliformes fecais até 4.000 por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 5 amostras mensais colhidas em qualquer mês; turbidez de até 100 UNT;

DBO₅ a 20 °C até 5 mgO₂/L; teor máximo de 500mg/L de sólidos dissolvidos totais; entre outros.

A Classe IV engloba as águas destinadas à navegação, à harmonia paisagística e aos usos menos exigentes. As condições para que as águas sejam enquadradas nessa classificação não envolvem limites de coliformes, índices de DBO, SDT ou turbidez.

A alternativa de reutilização das águas residuárias pode ser uma das soluções para o problema da escassez da água. Para tanto, é necessário que se respeite o seu potencial de aplicação, os padrões de qualidade, os aspectos culturais, ambientais, sociais e econômicos, a fim de que seja garantido o êxito na implantação dos sistemas de reuso.

4. Coleta de amostras

Para a obtenção de resultados fidedignos e com menores interferências, é necessário que as amostras de água sejam coletadas corretamente.

É importante realizar um planejamento dos testes que serão realizados em laboratório antes de sair para a coleta, para que as quantidades de água recolhidas sejam suficientes para todos os ensaios. Geralmente, captura-se uma quantidade um pouco maior do material como forma de prevenção às possíveis perdas e erros durante os ensaios.

Para os testes realizados, as amostras devem ser coletadas em frascos plásticos limpos. Para as determinações microbiológicas, é necessário que estes frascos estejam também estéreis.

Com o intuito de reduzir a contaminação das amostras, realiza-se a coleta com a boca do frasco contra a corrente tomando o cuidado de evitar a entrada de materiais indesejáveis, como folhas, galhos, etc.

Outro fator importante que envolve a coleta é a anotação de possíveis alterações no meio fornecedor da amostra e a devida identificação dos frascos coletores.

O espaço de tempo entre a retirada da água e a realização dos testes, deve ser o menor possível, para que não ocorram alterações muito expressivas.

5. Demanda Química de Oxigênio - DQO

A Demanda Química de Oxigênio é um indicador de qualidade da água que calcula, indiretamente, a quantidade de matéria orgânica de uma determinada amostra de água baseado na quantidade de oxigênio necessário para oxidar essa matéria, sendo ela biodegradável ou não.

5.1 A DQO e a água

A DQO representa a quantidade de oxigênio consumida por diversos compostos, sem a intervenção de microorganismos. Ela reflete a quantidade total de componentes oxidáveis presentes na água, seja carbono ou hidrogênio de hidrocarbonetos; nitrogênio de proteínas ou enxofre e fósforo de detergentes.

É um parâmetro indispensável nos estudos de caracterização de esgotos sanitários e de efluentes industriais. A análise de seus valores é uma das mais expressivas para determinação do grau de poluição da água.

Quando utilizada conjuntamente com a DBO, torna-se ainda mais útil por permitir observar a biodegradabilidade de despejos. Como na DBO mede-se apenas a fração biodegradável, quanto mais este valor se aproximar da DQO, mais facilmente biodegradável será o efluente.

A DQO é um dos padrões que regem o reuso hídrico. O uso de água para irrigação, por exemplo, com altos valores de DQO prejudica o crescimento de plantas, especialmente em solos pobres. É, também, um padrão utilizado para classificação dos corpos d'água.

5.2. Técnica Aplicada

A DQO foi determinada pelo método da digestão em condensador de refluxo do tipo Friedrichs com dicromato em meio ácido e titulação com sulfato ferroso amoniacal. Neste processo, a matéria orgânica e inorgânica da amostra é oxidada em meio ácido por uma quantidade conhecida de um reagente oxidante forte. A quantidade da matéria oxidada, expressa como equivalente em oxigênio, é

proporcional à quantidade do reagente oxidante consumido e a DQO é calculada a partir da diferença entre o dicromato adicionado inicialmente e o dicromato encontrado após a oxidação.

5.3. Procedimento

Em um Becker de 250 ml, acrescenta-se, no mínimo, 200 ml da amostra e, com o auxílio de um agitador magnético, realiza-se a homogeneização.

Como nos esgotos existe uma grande quantidade de íons Cloretos, é necessária a adição de Sulfato de Mercúrio (HgSO_4), para que ocorra a precipitação do Cloreto de Mercúrio (HgCl_2) e não haja interferência no consumo de dicromato. Sendo assim, em um balão de fundo chato de 500 ml, insere-se 1g de Sulfato de Mecúrio e algumas pérolas de vidro para auxiliar na mistura e homogeneização. Acrescenta-se, então, 25 ml de uma solução de ácido sulfúrico e sulfato de prata. Em seguida, coloca-se 25 ml de solução de dicromato de potássio 0,25N (no caso de amostras com valor provável de DQO abaixo de $50\text{mgO}_2/\text{L}$, substitui-se esta solução e a do SFA por outras de mesmos reagentes, porém com concentração de 0,025N) e transfere-se a mistura para o balão do condensador. Em seguida, pipeta-se 50 ml da amostra no balão. Adiciona-se mais 50 ml de $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{Ag}_2\text{SO}_4$ e homogeneiza-se bem. Terminado essa etapa, conecta-se o balão no condensador de refluxo onde permanecerá por duas horas. Da mesma forma, realiza-se a análise do branco, composto apenas por água destilada.

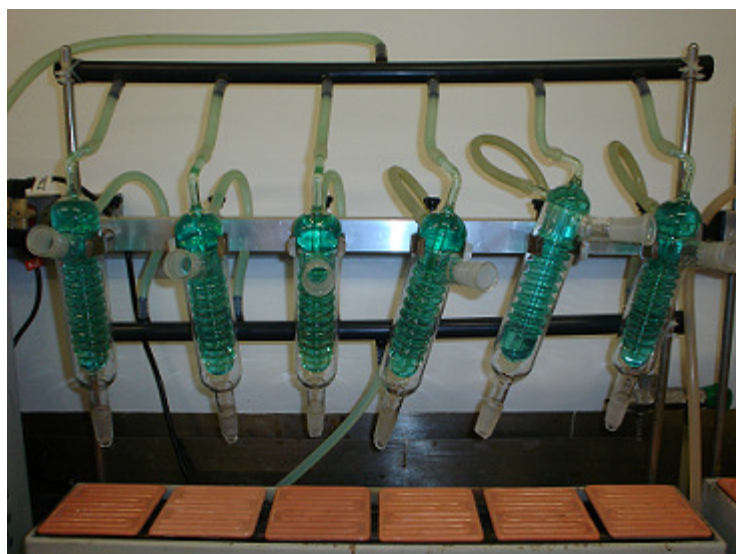


Figura 1: Condensador de Refluxo

Passado o tempo do condensador, adiciona-se no balão, 150 ml de água destilada e aguarda-se até a solução atingir temperatura ambiente. Alcançada tal temperatura, adiciona-se, aproximadamente, 5 gotas de solução indicadora Ferroin no balão. Procede-se então à titulação com uma solução de sulfato ferroso amoniacal (SFA) 0,25N utilizando, sempre, um agitador magnético para auxiliar a mistura. Anota-se o volume de SFA utilizado na titulação para alcançar a viragem do verde-azulado ao marrom.

Para o cálculo, utiliza-se a seguinte fórmula:

$$DQO = \frac{(B - A) \cdot N_{SFA} \cdot 8000}{ml \text{ amostra}}$$

Onde,

A = ml SFA gastos na amostra;

B = ml SFA gastos no branco;

N_{SFA} = Normalidade real do SFA;

6. Demanda Bioquímica de Oxigênio - DBO

A DBO é uma variável que determina, indiretamente, a concentração de matéria orgânica biodegradável (poluição orgânica) em um corpo d'água através da demanda de oxigênio exercida por microrganismos aeróbios (Valente *et al.*, 1997)

6.1. A DBO e a água

A Demanda Bioquímica de Oxigênio é um dos principais parâmetros utilizados para avaliar os impactos produzidos pelo despejo de esgotos domésticos e/ou industriais sobre os corpos d'água. Ela corresponde à quantidade de oxigênio necessário para que os organismos aeróbios consigam oxidar a matéria orgânica biodegradável presentes nestes despejos. Define-se como matéria biodegradável, aquela que pode ser consumida e assimilada como alimento e fonte de energia pela população de microorganismos decompositores do ambiente aquático. Para sua utilização como alimento energético, é necessário que ocorra oxidação ou degradação com a finalidade de reduzir suas moléculas complexas a espécies mais simples.

Os processos oxidativos, principalmente os respiratórios, podem causar um grande consumo de oxigênio nas águas de um manancial. Microorganismo heterótrofos e vegetais, quando em grande número, podem reduzir drasticamente o nível de oxigênio dissolvido, sendo que a proliferação de tais organismos depende das fontes de alimento, ou seja, da matéria orgânica presente. Sendo assim, quanto maior a carga orgânica de um efluente e, conseqüentemente, de alimento disponível, maior tende a ser o número de microorganismos aeróbios realizando oxidação da matéria orgânica e reduzindo as taxas de oxigênio. Entretanto, quando a carga dos esgotos lançados excede a capacidade de autodepuração do corpo de água, a grande competição e, posterior esgotamento deste gás, acarreta a morte de todos os organismos aeróbios, que são substituídos pelos anaeróbios. Esta substituição provoca problemas estéticos e liberação de odores desagradáveis. Podemos assim concluir que a quantidade de nutrientes orgânicos assimiláveis

lançados, através dos efluentes, ao corpo d'água deve ser proporcional à sua disponibilidade de oxigênio dissolvido.

A DBO também pode ser utilizada para avaliar a eficiência de um determinado sistema de tratamento de água e, através da determinação de seus valores, é possível calcular a aeração necessária para degradar a matéria orgânica nas ETE's.

6.2. Técnica aplicada

A determinação da DBO é um teste empírico que corresponde à diferença entre as concentrações de oxigênio no início e no fim de um período de incubação, em condições específicas que tentam se aproximar das condições reais de campo.

O método utilizado foi o de diluição com incubação de 5 dias a 20°C e determinação dos níveis de oxigênio através do método da Azida modificado. Essa metodologia aplica-se às águas superficiais poluídas, efluentes e águas residuais que têm microorganismos próprios, mas não oxigênio suficiente para que, após cinco dias de incubação, ainda haja oxigênio dissolvido na amostra.

6.3. Procedimento

6.3.1. Atividades preparatórias

6.3.1.1. Calibração do Oxímetro

Para a obtenção de valores exatos de oxigênio dissolvido nas amostras em estudo, é necessário que o oxímetro esteja calibrado.



Figura 2: Oxímetro

Para a calibração, aera-se, por duas horas, 1L de água destilada que, em seguida, permanece em repouso por 30 minutos. Transfere-se cuidadosamente, para dois frascos de DBO, a água aerada. Em um dos frascos, insere-se a sonda do oxímetro e liga-se o aparelho. No outro frasco, acrescenta-se 1 ml de sulfato manganoso, 1 mL de solução álcali-iodeto-azida e agita-o 10 vezes. Forma-se então um precipitado marrom que deverá estar sedimentado até a metade do frasco para que se possa acrescentar, posteriormente, 1 ml de ácido sulfúrico concentrado. Agita-se então mais 10 vezes. Retira-se deste frasco uma alíquota de 100ml que é transferida para um erlenmeyer de 250ml. Acrescenta-se a solução de amido e procede-se à titulação com tiossulfato de sódio 0,025N até a solução se tornar incolor. Neste momento, calcula-se o OD $[O_{2\text{dissolvido}}(\text{mg/L}) = \text{Volume}_{\text{Tiossulfato}} \times N_{\text{Tiossulfato}} \times 8000) / 100]$ e ajusta-se o oxímetro para o valor obtido.

Em dois outros frascos de DBO, acrescenta-se água destilada, uma pequena quantidade de sulfito de sódio e de cloreto de cobalto. Em um deles, adiciona-se 1ml de sulfato manganoso e 1ml de solução álcali-iodeto-azida até formar um precipitado branco. Insere-se então a sonda e ajusta-se o zero no oxímetro.

6.3.1.2. Preparo dos Frascos de DBO

Para a realização deste teste, os frascos de DBO devem permanecer em solução sulfocrômica por um dia. Após esse período, lavam-se os frascos com água

corrente e, posteriormente, com água destilada. Os frascos são então mantidos em estufas a altas temperaturas. Antes da utilização, é necessário que os frascos estejam em temperatura ambiente.

6.3.1.3. Preparo da Água de Diluição

Para uma melhor eficiência no metabolismo dos microrganismos envolvidos na determinação da DBO, é adicionada Água de Diluição ao frasco de incubação.

Em um recipiente previamente lavado com solução sulfocrômica, água corrente e água destilada, adicionam-se 3L (a quantidade varia de acordo com a necessidade a ser empregada no estudo) de água destilada que permaneceram em aeração por duas horas com o intuito de saturá-la com ar de maneira a obter uma elevada concentração de oxigênio dissolvido. Após esse período, deixa-se o recipiente em repouso por 30 minutos. Para cada litro de água aerada, adiciona-se 1ml de solução tampão de fosfato, 1ml de solução de sulfato de magnésio, 1ml de solução de cloreto de cálcio e 1mL de solução de cloreto férrico.



Figura 3: Sistema de aeração da água

6.3.2. Ensaio de DBO

Considerando-se que podemos relacionar os valores obtidos no teste de DBO com os obtidos nos testes de DQO e que, teoricamente, para esgotos domésticos, os valores de DQO são duas vezes os de DBO, o valor estimado para a diluição da DBO pode ser baseado na tabela abaixo:

Tabela 2: Tabela estimativa para diluição de DBO com base nos valores de DQO

Alíquota para diluição (mL)	Faixa de DQO (mg/L)
0.001	128000 – 130000
0.002	118000 – 125000
0.005	60000 – 115000
0.02	12000 – 42000
0.1	6000 – 21000
0.2	3000 – 10000
1	600 – 2100
2	300 – 1050
5	120 – 420
10	60 – 210
20	30 – 105
50	12 – 42
100	6 – 21
300	0 – 7

(Fonte: Manual de procedimentos e técnicas laboratoriais, 2004)

Com base na tabela, adiciona-se a alíquota de diluição no frasco de DBO e completa-se o volume com a Água de Diluição tomando o cuidado para evitar a formação de bolhas. Como os frascos de DBO podem possuir volumes diferentes, anota-se o volume de cada frasco para os futuros cálculos. Mede-se então, com o auxílio do oxímetro, o OD inicial.

Coloca-se, os frascos na incubadora onde devem permanecer durante 5 dias à 20 °C. É importante que durante todo o período de incubação, os frascos fiquem em ambiente sem iluminação para evitar a atividade de seres clorofilados fotossintéticos, o que poderia alterar os resultados obtidos. Após o período de incubação, mede-se o OD final e procede-se aos cálculos:

$$\text{DBO (mg O}_2\text{/L)} = \frac{OD_f - OD_i}{f}$$

Onde:

$$f = \frac{\text{ml de amostra}}{\text{volume de frasco de DBO}}$$

No teste de DBO, as condições abaixo devem ser respeitadas para garantir a confiabilidade do teste:

- $OD_i - OD_f \geq 2\text{mg/L};$
- $1 \leq OD_f \leq 6 \text{ mg/L}.$

7. Determinação dos Sólidos Totais - ST

Resíduos ou sólidos são todas as matérias suspensas ou dissolvidas na água, que permanecem como resíduo após evaporação, secagem ou calcinação, a uma temperatura pré- estabelecida e por um tempo fixado.

Os sólidos totais representam a quantidade total de sólidos presentes em um efluente, tanto em solução quanto em suspensão. São compostos pelos sólidos suspensos totais e sólidos dissolvidos totais.

7.1. Os ST e a água

A análise de sólidos totais possibilita determinar a quantidade total do material presente no esgoto, incluindo todos os sólidos dissolvidos e em suspensão. O teor de sólidos totais no efluente serve como meio para classificar os esgotos em forte, médio e fraco, sendo que a determinação em amostras colhidas ao longo do tratamento permite avaliar a eficiência do processo.

7.2. Técnica Aplicada

Para a análise dos sólidos totais, bem como, a dos sólidos suspensos totais e sólidos dissolvidos totais, foi utilizado o método de gravimetria que se baseia na diferença entre massas.

7.3. Procedimentos

Na determinação dos sólidos totais, primeiramente calcina-se a cápsula de porcelana na mufla à 550°C por 1 hora. A cápsula é então resfriada em dessecador e pesada em balança analítica (P_0). Após a agitação da amostra com a finalidade de quantificar todos os sólidos presentes na mesma, transfere-se um volume pré-determinado para a cápsula com a ajuda de uma pipeta volumétrica. Como em todas as técnicas de sólidos, a cápsula não deve ser tocada de maneira alguma. Sendo assim, utilizando luvas, transporta-se a cápsula até a estufa, onde permanece por

24 horas a uma temperatura de 103°C. Após este período, retira-se a cápsula da estufa e deixa-a esfriando em dessecador. Finalmente, realiza-se a pesagem final da cápsula (P1).



Figura 4: Balança analítica

Para obter-se o valor referente aos sólidos totais, utiliza-se a seguinte fórmula:

$$ST \text{ (mg/L)} = \frac{P_1 - P_0}{\text{vol. amostra(L)}} \cdot 1000$$

8. Determinação dos Sólidos Suspensos Totais - SST

Os sólidos suspensos totais são a porção do resíduo total que pode ser retida em filtro de porosidade de 1,2 μm

8.1. Os SST e a água

Os sólidos suspensos totais são pequenas partículas de poluentes sólidos nos despejos e que são passíveis de separação por meios convencionais como a filtração. Constituem o grupo de sólidos em estado grosseiro e a turbidez, provocada por sua presença na água, gera problemas estéticos e prejudica a atividade fotossintética reduzindo os níveis de oxigênio dissolvido.

8.2. Procedimento

Para a determinação dos sólidos suspensos totais, calcina-se na mufla, à 550°C por 15 minutos, uma membrana de filtração de 1,2 μm umedecida dentro de uma cápsula de porcelana. Após o resfriamento em dessecador, pesa-se, em balança analítica, o conjunto membrana-cápsula obtendo-se P_0 . Acondiciona-se a membrana tarada em um sistema de filtração *manifold* com o auxílio de pinças para evitar o contato manual com a membrana. Retira-se uma alíquota da amostra sob agitação e insere-a no sistema de filtração acionando o sistema a vácuo. Ao término da filtração, lavam-se as paredes do copo de filtração com água destilada. Retira-se, cuidadosamente, a membrana com o auxílio da pinça e, acomodando-a na cápsula, direciona-se o conjunto para a estufa de onde, após 2 horas à 103°C, deverá ser retirado, esfriado em dessecador e pesado em balança analítica, obtendo-se P_1 .



Figura 5: Cápsulas de porcelana em resfriamento no dessecador



Figura 6: Sistema de filtração *manifold*

Para os cálculos, utiliza-se a seguinte fórmula:

$$\text{SST (mg/L)} = \frac{P_1 - P_0}{\text{vol.amostra(L)}} \cdot 1000$$

9. Determinação dos Sólidos Dissolvidos Totais - SDT

Os sólidos dissolvidos totais são a porção do resíduo total que passa por filtro de porosidade de 1,2 µm.

9.1. Os SDT e a água

Sólidos dissolvidos totais compreendem os sólidos em solução verdadeira e os em estado coloidal não retidos na filtração.

O conhecimento do teor de sólidos dissolvidos totais é um parâmetro importante no tratamento de despejos. Se o teor de SDT for muito grande, mesmo que o despejo seja biodegradável, o tratamento biológico poderá ser dificultado devido a problemas de pressão osmótica. Por outro lado, se o despejo for de origem orgânica não biodegradável e a matéria orgânica for solúvel, os tratamentos de decantação simples não serão eficientes, tendo que optar, por exemplo, pela precipitação química.

9.2. Procedimento

Na determinação dos sólidos suspensos totais, primeiramente calcina-se a cápsula de porcelana na mufla à 550°C por 1 hora para, em seguida, resfriá-la em dessecador e pesá-la em balança analítica para a obtenção do P_0 . Realiza-se então a filtração de um volume pré-determinado de amostra em uma membrana de 1,2µm. Retira-se o filtrado e transfere-o para a cápsula previamente pesada. Com o auxílio de luvas, transporta-se a cápsula até a estufa onde ela permanecerá por 24 horas a uma temperatura de 180°C. Retira-se a cápsula da estufa, com auxílio de pinça de Mohr, e deixa-a esfriar em dessecador. Por fim, pesa-se a cápsula obtendo-se o P_1 .

A fórmula utilizada para a determinação dos sólidos suspensos totais é:

$$\text{SST (mg/L)} = \frac{P_1 - P_0}{\text{vol.amostra(L)}} \cdot 1000$$

10. Detecção de Coliformes Totais e *Escherichia coli*

Os Coliformes Totais formam um grupo composto por bactérias que, quando incubadas a 35-37°C por 48 horas, são capazes de fermentar a lactose com produção de ácido e gás. São bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, oxidase-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos. (Ray, 1996). As bactérias deste grupo podem apresentar atividade da enzima β - galactosidase e são, predominantemente, representantes dos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Destas, apenas a *Escherichia coli* tem como habitat primário o trato intestinal do homem e animais. Os demais, além de serem encontrados nas fezes, também estão presentes em outros ambientes como vegetais e solo. (Brasil, 2004).

A *E. coli* faz parte de um subgrupo dos coliformes totais – os coliformes fecais. Este subgrupo apresenta a capacidade de continuar fermentando lactose com produção de gás, quando incubado à temperatura de 44,5-45,5°C. Além disso, esta bactéria apresenta atividade das enzimas β - galactosidase e β -glucoronidase. É a espécie predominante entre os diversos microrganismos anaeróbios facultativos que fazem parte da microbiota intestinal do homem e de animais, sendo considerado o mais específico indicador de contaminação fecal e de eventual presença de organismos patogênicos (Brasil, 2004).

10.1. Os coliformes e a água

A água é um dos importantes veículos de enfermidades diarreicas de natureza infecciosa (Isac-Marquez et al., 1994). As doenças de veiculação hídrica são ocasionadas, principalmente, por microrganismos patogênicos de origem entérica, e são transmitidas, basicamente, pela rota fecal-oral (Amaral et al., 2003). Desta forma, a utilização de água residuária de forma direta ou indireta, proveniente de estações de tratamento de esgoto, pode fornecer um grande risco à saúde humana, já que os esgotos são ricos em contaminantes fecais.

Na avaliação da qualidade da água, geralmente, utilizam-se microorganismos indicadores que, quando presentes, confirmam a ocorrência de contaminação fecal com provável presença de patógenos. A *Escherichia coli* e os coliformes totais são os mais importantes indicadores deste tipo de poluição hídrica. É necessário

ressaltar que, para serem considerados bons indicadores, os microorganismos não devem ser contaminantes naturais da água; eles devem apresentar habitat exclusivo no trato intestinal do homem e de animais, pois assim, sua detecção indicará, obrigatoriamente, a presença de material fecal ou patógeno. Além disso, devem estar presentes em grande número nas fezes, e serem detectados através de técnicas rápidas, simples e precisas (Franco e Landgraf, 2003).

Entre as muitas técnicas de detecção de coliformes, encontram-se algumas que detectam rapidamente estes microorganismos. Elas consistem na adição de substratos enzimáticos que possuem a capacidade de identificar a atividade da enzima β -galactosidase, que indica a presença de coliformes totais, e de β -glucoronidase, que indica a presença de *E. coli* (Silva et al., 2000).

10.2. Técnica Aplicada

A Técnica aplicada para a detecção e identificação de CT e *E.coli* foi a do substrato cromogênico.

Esta técnica utiliza dois substratos anteriormente conhecidos. O substrato orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG), pela ação da enzima β - galactosidase produzida pelos coliformes totais, é hidrolisado a orto-nitrofenol. O substrato ONPG é incolor, enquanto que sua forma hidrolisada apresenta coloração amarela. Sendo assim, a presença de coliformes totais é confirmada pela mudança de coloração do meio incolor para amarelo.

O outro substrato utilizado na técnica é o 4-metilumbeliferil- β -D-glucoronídeo (MUG) que sofre degradação pela ação da enzima β -glucoronidase resultando no 4-metilumbeliferona. Este produto apresenta fluorescência azul sob luz ultravioleta (360nm). Como a enzima β -glucoronidase é caracteristicamente produzida pela *E.coli*, a existência desta bactéria é facilmente confirmada pela existência de fluorescência azul no meio de cultura.

10.3. Procedimento

Para o desenvolvimento da técnica de detecção de CT e *E. coli* utilizou-se o Substrato Cromogênico Enzimático Colilert®.

No frasco contendo a amostra de água a ser analisada (ou suas diluições), mistura-se assepticamente o meio de cultura contido em um flaconete do teste.

Fecha-se o frasco e agita-o vigorosamente para que todos os grânulos sejam dissolvidos.

Após agitação, verte-se cuidadosamente o conteúdo do frasco nas cartelas (Quanti-Tray) estéreis do kit contendo 96 cavidades. Lacra-se a cartela e incuba-a por 24 horas a 35 °C.

Decorrido o tempo de incubação, realiza-se a leitura do teste: a existência de cavidades com meio amarelo, comprova a existência de coliformes totais. Sob luz ultravioleta (360nm), as cavidades que apresentam fluorescência azul, confirmam a presença de *E. coli* na amostra.

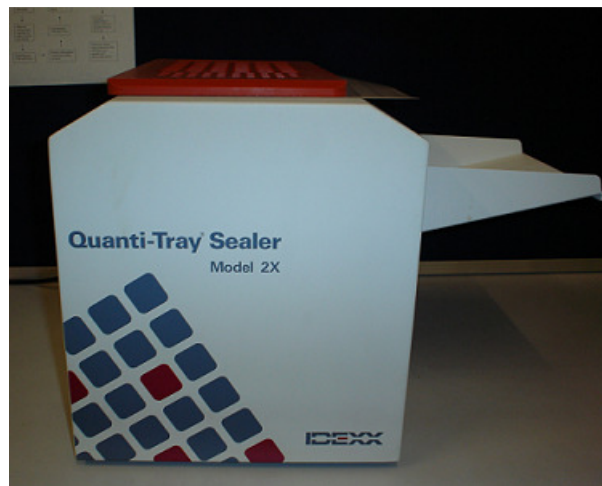


Figura 7: Seladora



Figura 8: Incubadora



Figura 9: Cartela Quanti-Tray com resultados positivos para coliformes totais

Para amostras de água que costumam apresentar altas contaminações por coliformes, quando quer se detectar o NMP de CT, é necessário que, antes da inserção do meio de cultura, façam-se diluições em água destilada até que a quantidade de coliformes presentes na amostra possa ser estimada através das tabelas padrões de NMP.

11. Conclusão

A pequena quantidade de água doce disponível é um problema mundial e por isso, torna-se cada vez mais necessária e urgente a tomada de atitudes que revertam ou, pelo menos, amenizem o quadro crítico atual de disponibilidade hídrica.

Entre tantas alternativas elencadas para resolver tal situação, o reuso de águas provenientes de ETE's surge como uma possível solução para a redução do consumo de água natural, principalmente quando considerados os usos menos exigentes.

É necessário salientar, porém, que a utilização de efluentes tratados, se não administrada de forma séria e consciente, pode gerar, entre outros, grandes problemas de saúde pública, uma vez que estes efluentes são ricos em microorganismos causadores das mais variadas infecções. Sendo assim, é preciso que o uso de águas residuárias siga padrões de qualidade pré-estabelecidos.

Apesar de não existir uma legislação brasileira que regule o reuso nos diversos setores, a própria Resolução CONAMA Nº 20, poderia criar fundamentos legais e determinantes para a utilização de águas residuárias. Uma vez que a Resolução classifica os corpos d'água de acordo com o nível de qualidade que estes devem possuir para atender às necessidades da comunidade, os parâmetros utilizados nesta classificação poderiam ser também aproveitados para determinar a qualidade da água residuária e assim direcioná-la corretamente para que os diferentes setores fizessem uso desse recurso, reduzindo a demanda nos corpos naturais sem fornecer riscos à saúde humana. Para que essa determinação seja feita, ensaios de laboratório, como os discutidos no presente trabalho, são essenciais.

Conclui-se, desta forma, a importância da correta aplicação das técnicas laboratoriais aqui descritas, bem como o real entendimento dos parâmetros utilizados na classificação da qualidade d'água para que os resultados de testes realizados possam ser corretamente interpretados, e o reuso possa consolidar-se como uma alternativa viável e segura à escassez hídrica.

12. Bibliografia

AISSE, M.M; COHIM, E.; KIPERSTOK, A. Reúso urbano e rural. In: FLORENCIO, L.; BASTOS, R.K.X; AISSE, M.M. (coord.) Tratamento e utilização de esgotos sanitários. Rio de Janeiro: ABES, 2006. p. 112-154 (Projeto PROSAB)

AMARAL, L.A.; NADER FILHO, A.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; FERREIRA, F. L.A.; BARROS, L. S. S. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. Rev. Saúde Pública v.37, n.4, p.510-514, 2003.

American Public Health Association/American Water Works Association/Water Pollution Control Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th edition. Washington, DC (1998)

BASTOS, R.K.X; BEVILACQUA P.D. Normas e critérios de qualidade para reuso da água. In: FLORENCIO, L.; BASTOS, R.K.X; AISSE, M.M. (coord.) Tratamento e utilização de esgotos sanitários. Rio de Janeiro: ABES, 2006.

BERNARDI, C.C. Reuso de água para irrigação. ISEA – FGV. Distrito Federal, 2003.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução no 20, de 18 de junho de 1986.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 518, de 25.03.04. Dispõe sobre normas e padrões de potabilidade de água para consumo humano. Brasília: SVS, 2004.

CHRISTOFID, D. Olhares sobre a política de recursos hídricos no Brasil: O caso da bacia do rio São Francisco. Universidade de Brasília, Brasília DF, 2001, 424p.

FLORÊNCIO, L.; AISSE, M.M; BASTOS, R.K.X; PIVELI, R.P. Utilização de esgotos sanitários – marcos conceituais e regulatórios. In: FLORENCIO, L.; BASTOS, R.K.X; AISSE, M.M. (coord.) Tratamento e utilização de esgotos sanitários. Rio de Janeiro: ABES, 2006.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. Atheneu: São Paulo, 2003. 182p.

HESPANHOL, I. Potencial de reuso de água no Brasil: agricultura, indústria, município e recarga de aquíferos. Bahia Análises & Dados. Salvador, v.13, n.Especial, p.411-437, 2003.

IFPRI & IWMI - INTERNATIONAL FOOD POLICY RESEARCH INSTITUTE & INTERNATIONAL WATER MANAGEMENT INSTITUTE. Florida Center for Environmental Studies. Relatório "Global Water Outlook to 2025: Averting an Impending Crises". . 2002

ISAAC-MARQUEZ AP; LEZAMA-DAVILA, C. M.; KU-PECA, P. P.; TAMAYSEGOVIA, P. Calidad sanitaria de los suministros de agua para consumo humano em Campeche. Salud Pública Méx ,v.36,n. 6, p.655-661, 1994.

MACHADO, C. J. S. (Org.) Experiências Internacionais de Gestão de Águas Interiores: Uma Análise Comparada com o Arcabouço Jurídico Brasileiro. Revista Forense Eletrônica (Suplemento), Rio de Janeiro v. 356, agosto, 2001.

MACHADO, C.J.S. Recursos Hídricos e Cidadania no Brasil: Limites, Alternativas e Desafios. Ambiente & Sociedade, Volume VI nº. 2 jul./dez. 2003

Manual de procedimentos e técnicas laboratoriais voltado para análises de águas e esgotos sanitário e industrial. 2004

MONTES, C.R.; KATO, M.T.; SOUZA, M.A.A.; FILHO, B.C.; JUNIOR, J.M. Irrigação com esgotos tratados: impactos no solo e aquíferos. In: FLORENCIO, L.; BASTOS, R.K.X; AISSE, M.M. (coord.) Tratamento e utilização de esgotos sanitários. Rio de Janeiro: ABES, 2006.

MOTA, S.; FONSECA, A.F; STEFANUTTI, R.; JR VOLSCHAN, I.; NAVAL, L. Irrigação com esgotos sanitários e efeitos nas plantas. In: FLORENCIO, L.; BASTOS, R.K.X; AISSE, M.M. (coord.) Tratamento e utilização de esgotos sanitários. Rio de Janeiro: ABES, 2006.

ONYANGO, E. Oferta de água em 2025. Water Media Network.

PHILLIPI, A.JR; ROMÉRIO, M.A; BRUNA, G.C. Curso de Gestão Ambiental. Ed. Manole Ltda, 2004, 1045p.

Piveli RP, Fabreti AA, Cutolo SA, Leo LFR. Flotacao por ar dissolvido aplicada como pos-tratamento de efluentes de lagoas anaerobias e facultativas utilizando cloreto férrico como coagulante. Sanare (SANEPAR), v. 25, p. 24-34, 2007

RAY, B. Fundamental food microbiology. Boca Ratton: CRC Press, 1996. 516p.

SILVA, N.; SILVEIRA, N. F. A.; JUNQUEIRA, V. C. A.; CATANÚSIO NETO, R. Manual de métodos de análise microbiológica da água. Campinas: ITAL/ Núcleo de Microbiologia, 2000.

VALENTE, J.P.S.; PADILHA, P.M.; SILVA, A.M.M. Oxigênio Dissolvido (OD), demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO) como parâmetros de poluição no ribeirão Lavapés/Botucatu – SP. Eclética Química. Vol.22. São Paulo. 1997

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Reuse of effluents: methods of wastewater treatment and health safeguards. Of a WHO meeting of experts. Technical report series N° 517. Geneva, 1973.

World Health Organization. "Health guidelines for the use of wastewater in agriculture and aquaculture", Technical Report Series, No. 778, World Health Organization, Geneva. 1989