

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

**TRATAMENTO DE ESGOTO DOMÉSTICO EM LAGOAS DE
ESTABILIZAÇÃO COM SUPORTES PARA O DESENVOLVIMENTO
DE PERIFITON - BIOFILME**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Ambiental.

Orientador: Professor Flávio Rubens Lapolli, Dr.

Co-orientadora: Valeria Reginatto Spiller, Dra.

Florianópolis

Junho – 2005

AGRADECIMENTOS

No período de 4 anos, muitas atividades direta e indiretamente relacionadas com este estudo foram conduzidas e durante este percurso, muitas pessoas e instituições estiveram envolvidas. Agradeço a **todos** que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, especialmente:

- Ao **programa de pós-graduação em Engenharia Ambiental** pela oportunidade concedida;
- Aos meus orientadores, **professor Flávio e professora Valeria**;
- A minha **família** pela compreensão e incentivo;
- Ao **Pablo Heleno Sezerino** pelo apoio técnico e pessoal;
- Aos **pesquisadores do Laboratório de Reúso das Águas – LARA**, principalmente a **Jackeline e Débora**;
- A **Aioanna** pela orientação durante as atividades em Munique/Alemanha;
- Ao **CNPq** pela concessão da bolsa de Doutorado;
- A **CAPES** pela bolsa de Doutorado Sanduíche durante o estágio na Alemanha;
- As instituições financiadoras: **FUNCITEC e FINEP**;
- A **CASAN** pela disponibilidade da área para a implantação dos módulos experimentais de laboratório e de campo;
- A **TIGRE S.A.** pelas placas de PVC cedidas;
- A **SCHNEIDER S. A.** pela doação das bombas de água.

ÍNDICE

RESUMO	14
ABSTRACT	15
CAPÍTULO 1 - Considerações Iniciais	
1.1. INTRODUÇÃO E OBJETIVO GERAL.....	16
1.2. HIPÓTESES FORMULADAS	19
CAPÍTULO 2 - Revisão Bibliográfica	
2.1. LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO PARA O TRATAMENTO DE ESGOTOS DOMÉSTICOS.....	20
2.1.1. Lagoas Facultativas	23
2.1.2. Lagoas de Maturação	28
2.1.3. Lagoas com Biofilme ou Perifiton.....	37
2.2. PRINCIPAIS TRANSFORMAÇÕES BIOQUÍMICAS EM LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO DE ESGOTOS	46
2.2.1. Processos de transformação do Carbono	47
2.2.2. Processos de transformação do Nitrogênio	55
2.2.3. Processos de transformação do Fósforo.....	63
2.3. MICROBIOTA Em LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO	65
2.4. OS BIOFILMES.....	72
2.5. HIBRIDIZAÇÃO <i>IN SITU</i> FLUORESCENTE – FISH NA IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS.....	75
2.5.1. Considerações iniciais	75
2.5.2. Taxonomia microbiana	77
2.5.3. Construção de sondas para identificação de microrganismos.....	78
2.5.4. FISH para identificação de bactérias em reatores biológicos	80
CAPÍTULO 3 - Etapa de Laboratório 1	
3.1. OBJETIVOS.....	81
3.2. METODOLOGIA	81
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
3.4. CONCLUSÕES	100
CAPÍTULO 4 - Etapa de Laboratório 2	
4.1. OBJETIVOS.....	102
4.2. METODOLOGIA	102
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	104
4.3.1. Fase 1	104
4.3.2. Fase 2	109
4.4. CONCLUSÕES	114
CAPÍTULO 5 - Etapa de Laboratório 3	
5.1. OBJETIVOS.....	116
5.2. METODOLOGIA	116
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	123
5.4. CONCLUSÕES	132
CAPÍTULO 6 - Etapa de Campo	
6.1. OBJETIVOS.....	134
6.2. METODOLOGIA	134
6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	139
6.4. CONCLUSÕES	177
CAPÍTULO 7 – Conclusões Gerais e Recomendações.....	181
BIBLIOGRAFIA.....	186

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama da alocação de energia pelos seres fotoautotróficos.	50
Figura 2: Espectro de absorção da luz pelas clorofilas <i>a</i> e <i>b</i> e o espectro de ação da fotossíntese.	52
Figura 3: Esquema simplificado da respiração dos quimioheterotróficos. CHONS simbolizando a matéria orgânica (DBO ₅).	53
Figura 4: Esquema simplificado da respiração dos fotoautotróficos.	54
Figura 5: Evolução simultânea do substrato-biomassa em função do tempo.	55
Figura 6: Esquema representativo da relação mutualística entre as algas e as bactérias heterotróficas na zona fótica das lagoas facultativas.	66
Figura 7: Etapas da construção de sondas de ácidos nucleicos e sua aplicação.	79
Figura 8: Estrutura desenvolvida para a realização do estudo possibilitando o controle parcial de temperatura e iluminação.	82
Figura 9: Esquema representativo da unidade experimental evidenciando a disposição dos reatores com diferentes materiais suporte e a disposição dos suportes nos mesmos.	83
Figura 10: Comparações nas concentrações de DQOt e DQOs entre os tratamentos.	90
Figura 11: Comportamento da DQOs nos tratamentos ao longo do período de experimento.	90
Figura 12: Comparações nas concentrações de NTK (A) e Norg. (B) entre os tratamentos.	91
Figura 13: Comparações nas concentrações de Nox (A) e NO ₃ ⁻ (B) entre os tratamentos.	91
Figura 14: Comportamento das frações de nitrogênio nas células controle C0 (A), C1 (B), C2 (C) e C3 (D).	92
Figura 15: Proporções médias das formas nitrogenadas nos reatores com diferentes materiais suporte.	93
Figura 16: Comparação entre as concentrações de SS nos tratamentos com os diferentes materiais suportes.	94
Figura 17: Comparações entre a concentração de SS na massa líquida (B) dos reatores e o peso seco algal (A) ao longo do período de estudo.	94
Figura 18: Massa do biofilme ao longo do tempo nos suportes (A) e na lagoa (B).	95
Figura 19: Estimativa da velocidade do crescimento do biofilme nos suportes.	95
Figura 20: Remoções médias dos parâmetros avaliados nas células com diferentes materiais suportes durante o período de experimento.	96
Figura 21: Frequência relativa dos organismos plântônicos e perifíticos presentes nos reatores com diferentes materiais suportes.	97
Figura 22: Micrografias de alguns dos organismos detectados nas amostras.	99
Figura 23: Esquema representativo dos módulos laboratoriais utilizados na etapa de laboratório 2.	103
Figura 24: Proporções médias das frações de nitrogênio verificadas no alfuente e efluente dos módulos.	106
Figura 25: Remoções médias dos parâmetros avaliados nas células durante o experimento.	108
Figura 26: Microcrustáceo presente na massa líquida dos módulos de laboratório (aumento de 50 vezes).	108
Figura 27: Comparações nas concentrações de pH (A) e DQOt (B) entre os tratamentos com material suporte (ML1 _b) e controle (ML2 _b).	111

ÍNDICE DE FIGURAS - Cont.

Figura 28: Comparações nas concentrações de NTK (A) e Norg. (B) entre os tratamentos com material suporte (ML1 _b) e controle (ML2 _b).....	112
Figura 29: Comparações nas concentrações de SS entre os tratamentos com material suporte (ML1 _b) e controle (ML2 _b).....	112
Figura 30: Fotos de microscopia do biofilme no 70º dia operação do ML1 _b	113
Figura 31: Remoções médias dos parâmetros avaliados nas duas lagoas, com material suporte (ML1 _b) e controle (ML2 _b), durante o experimento.....	114
Figura 32: Microrganismos analisados e suas respectivas sondas.	119
Figura 33: Representação da lâmina de teflon utilizada na técnica de FISH.	122
Figura 34: Comparações entre as concentrações de SS entre os tratamentos com biofilme (ML1 _c) e controle (ML2 _c).....	126
Figura 35: Comportamento das concentrações de N-NH ₄ ⁺ e Nox nas unidades com biofilme (ML1 _c) e controle (ML2 _c) durante o período de estudo.....	126
Figura 36: Remoções médias dos parâmetros avaliados nas duas lagoas durante o experimento.	128
Figura 37: Quantificação dos grandes grupos detectados na amostra do biofilme no ML1 _c com 98 dias de operação.....	129
Figura 38: Quantificação das classes de proteobactérias detectados na amostra do biofilme no ML1 _c com 98 dias de operação.	129
Figura 39: Relação entre todas as bactérias da classe Betaproteobactéria, as Betaproteobactérias oxidantes de amônia (Nso 190), o grupo das <i>Nitrosomonas</i> (NEU) e <i>Nitrospira</i> sp (Ntspa662) detectados no biofilme com 98 dias de operação.	129
Figura 40: Quantificação dos organismos detectados nos efluentes do ML1 _c (LB) e do ML2 _c (LM) após 98 dias de funcionamento.....	130
Figura 41: Microfotografia de células hibridizadas em amostra do biofilme. DAPI em azul e alfa1b em vermelho (escala 10µm).....	131
Figura 42: Microfotografia de células hibridizadas em amostra do biofilme. DAPI em azul e Beta 42a em vermelho (escala 5µm).....	131
Figura 43: Microfotografias de células hibridizadas em amostra do biofilme. Em a: células coradas com DAPI em azul e células hibridizadas com a sonda Nso 190 em vermelho (escala 10µm). Em b, células hibridizadas com a sonda NEU (escala 10µm).....	132
Figura 44: Sistema de campo. Foto panorâmica (A); lagoa com biofilme (B) e detalhe do suporte de PVC revestido por biomassa (C).....	135
Figura 45: Representação da disposição dos suportes de PVC na lagoa (LB).....	136
Figura 46: Comportamento da DQO afluente e efluente as lagoas e temperatura do ar observada no período de 17 meses de estudo sob diferentes condições operacionais.....	143
Figura 47: Comportamento da DBO ₅ sóluvel no efluente da LB e na LF no ano de 2004.....	144
Figura 48: Concentrações de DBO ₅ efluente na LB e LF durante TRH de 10 e 20 dias.....	144
Figura 49: Comportamento do N-NH ₄ ⁺ afluente e efluente as lagoas e OD médio nas lagoas no período de 17 meses de estudo.....	145

ÍNDICE DE FIGURAS - Cont.

Figura 50: Comportamento do nitrogênio oxidado nos efluentes das lagoas durante o estudo.	145
Figura 51: Comportamento do P-PO ₄ ³⁻ afluente e efluente as lagoas no período experimental sob diferentes condições operacionais.	148
Figura 52: Densidade de <i>E. coli</i> no afluente e efluente das lagoas ao longo do período de estudo.	148
Figura 53: Concentrações de SS no afluente e efluente as lagoas ao longo do estudo.	149
Figura 54: Concentrações de clorofila <i>a</i> nos efluente das lagoas ao longo do estudo.	149
Figura 55: Remoções médias verificadas na LB e na LF.....	150
Figura 56: Dados pluviométricos observados no ano de 2004 na região do estudo (dados da Epagri/INMET).151	151
Figura 57: Evaporação média diária e evaporação total mensal em 2004 (dados da Epagri/INMET).....	152
Figura 58: Insolação média diária (dados da Epagri/INMET) e intensidade de luz média as 9:00h.	152
Figura 59: Médias mensais da temperatura do ar em 2004 (dados da Epagri/INMET).....	153
Figura 60: Quantificação e composição da biomassa perifítica na LB ao longo do estudo.	154
Figura 61: Frequência média dos microrganismos encontrados em suspensão nas lagoas e no biofilme da lagoa com suportes de PVC.....	155
Figura 62: Microfotografias de espécies de euglenofíceas.	156
Figura 63: Microfotografias de amostras do biofilme.....	157
Figura 64: Média mensal da abundância, representada por categorias, dos organismos fotoautotróficos aderidos nos suportes de PVC (perifiton) e compondo o fitoplâncton das lagoas LB e LF durante o ano de 2004.	159
Figura 65: Microfotografias de protozoários e rotíferos presentes nas amostras analisadas.....	209
Figura 66: Resultados médios obtidos para os organismos presentes nas amostras do biofilme e do plâncton da LB e da LF.	162
Figura 67: Resultados médios da quantificação das proteobactérias detectadas as amostras do biofilme e do bacterioplâncton da LB e da LF.	163
Figura 68: Variações diárias na temperatura do ar e na intensidade de luz visível nos dias 11 e 18 de agosto e 08 de setembro de 2004 na estação experimental.	166
Figura 69: Variações diárias na concentração de OD nos dias 11 e 18 de agosto e 08 de setembro de 2004 na LB e na LF.	167
Figura 70: Variações diárias na transparência da água (DS) na LB e LF em 11 e 18 de agosto e 08 de setembro de 2004.....	168
Figura 71: Variações horárias no pH no efluente da LB e da LF em 11 e 18 de agosto e 08 de setembro de 2004.	168
Figura 72: Variações horárias nas concentrações das frações de nitrogênio inorgânico nos efluentes da LB e da LF em 10 e 10 de agosto e 08 de setembro.	170
Figura 73: Variações horárias nas concentrações de P-PO ₄ ³⁻ na LB e LF em 11 e 18 de agosto e 08 de setembro de 2004.....	172
Figura 74: Variações horárias nas concentrações de DQOs na LB e LF em 18 de agosto e 08 de setembro de 2004.	172

ÍNDICE DE FIGURAS - Cont.

Figura 75: Variações horárias na turbidez do efluente na LB e LF em 11 e 18 de agosto e 08 de setembro de 2004.	173
Figura 76: Médias das reduções de $N-NH_4^+$, DQO e $P-PO_4^{3-}$ na LB e na LF durante os três dias de realização do perfil horário da qualidade do efluente final.	173
Figura 77: Comparações das concentrações de OD, da transparência de <i>Secchi</i> , das concentrações de $N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$, SS e da turbidez ao longo da lagoa LB e da LF no dia 30 de agosto de 2004.	176
Figura 78: Massa do biofilme ao longo da lagoa.	177

ÍNDICE DE TABELA

Tabela 1: Taxas de aplicação superficial para lagoas facultativas, em função das condições ambientais do local de implantação.	26
Tabela 2: Faixa de operação das taxas de aplicação superficial em função das condições ambientais.....	27
Tabela 3: Profundidades recomendadas para lagoas facultativas em função das características do esgoto afluente ou das condições climáticas locais.....	27
Tabela 4: Porcentagem de redução de organismos patogênicos em alguns processos de tratamento de esgotos.	29
Tabela 5: Valores dos coeficientes K_T ou K_b e TRH, obtidos por diferentes pesquisadores.....	35
Tabela 6: Valores do coeficiente de decaimento bacteriano obtidos a 20°C, para lagoas facultativas e de maturação, segundo os modelos de fluxo disperso e de mistura completa.	36
Tabela 7: Classificação do perifiton.....	39
Tabela 8: Comparação entre diferentes sistemas de lagoas com biofilmes aplicados ao tratamento de esgotos.	44
Tabela 9: Quadro comparativo entre sistemas de lagoas sem e com biofilmes aplicados ao tratamento de esgotos. Série de lagoas composta por uma lagoa anaeróbia seguida por uma facultativa e uma última de maturação.	45
Tabela 10: Características e fatores ambientais das principais transformações bioquímicas envolvidas no tratamento em lagoas de estabilização.	47
Tabela 11: Contribuição “per capita” e concentração típica da matéria orgânica presente nas águas residuárias domésticas.....	48
Tabela 12: Contribuição <i>per capita</i> e concentrações típicas das formas nitrogenadas presentes nos esgotos domésticos.....	56
Tabela 13: Estimativas de μ_N para <i>Nitrosomonas</i> em três faixas de temperatura.	59
Tabela 14: Mecanismo biológico da desnitrificação.	59
Tabela 15: Percentual de amônia não ionizada em função da temperatura da água e do pH.	61
Tabela 16: Contribuição <i>per capita</i> e concentração típica das formas fosforadas presentes nos esgotos domésticos.....	63
Tabela 17: Função dos diferentes grupos do plâncton no tratamento de esgotos em lagoas de estabilização.	67
Tabela 18: Zooplâncton de lagoas de estabilização de esgotos.....	72
Tabela 19: Características operacionais aplicadas na etapa de laboratório 1.	83
Tabela 20: Descrição dos métodos analíticos empregados na Etapa de Laboratório 1.	84
Tabela 21: Sistema subjetivo para determinação da abundância de organismos planctônicos e perifíticos nas unidades experimentais.	85
Tabela 22: Resultados das análises físico-químicas verificadas no efluente da lagoa anaeróbia (LA), afluente as células laboratoriais, durante o período de 10/09/2002 a 05/11/2002.	86
Tabela 23: Resultados das análises físico-químicas verificadas no reator controle (C0).	87
Tabela 24: Resultados das análises físico-químicas verificadas no reator com suporte de PVC (C1).	87

ÍNDICE DE TABELA - Cont.

Tabela 25: Resultados das análises físico-químicas verificadas no reator com suporte de acrílico (C2).....	88
Tabela 26: Resultados das análises físico-químicas verificadas no reator com suporte de fibra de vidro (C3)..	88
Tabela 27: Resultados de ANOVA ($\alpha = 0,05$) que apresentaram diferenças significativas entre o tratamento no reator controle e os demais.....	89
Tabela 28: Identificação e quantificação dos organismos (categorias) plantônicos e perifíticos presentes nas amostras dos efluentes das células e do material raspado dos suportes.	98
Tabela 29: Principais características operacionais do sistema nas fases 1 e 2 da etapa de laboratório 2.	104
Tabela 30: Resultados das análises físico-químicas verificadas no efluente da lagoa anaeróbia (LA), afluyente aos módulos de laboratório.....	105
Tabela 31: Resultados das análises físico-químicas verificadas no ML1 _a	105
Tabela 32: Resultados das análises físico-químicas verificadas no ML2 _a	106
Tabela 33: Estimativa da massa do biofilme no suporte de PVC e no ML1 _a no 77° dia.	107
Tabela 34: Resultados das análises físico-químicas verificadas no efluente da lagoa anaeróbia (LA), afluyente aos módulos de laboratório.....	109
Tabela 35: Resultados das análises físico-químicas verificadas no ML1 _b	110
Tabela 36: Resultados das análises físico-químicas verificadas no ML2 _b	110
Tabela 37: Resultados de ANOVA que apresentaram diferenças significativas entre o tratamento no ML1 _b e ML2 _b	111
Tabela 38: Estimativa da massa do biofilme no suporte de PVC no ML1 _b no 70° dia.	113
Tabela 39: Principais características operacionais do sistema na etapa de laboratório 3.	117
Tabela 40: Grupos de microrganismos analisados pela técnica de FISH e respectivas sondas utilizadas.	120
Tabela 41: Categorias utilizadas para estimar a quantidade de células hibridizadas durante as análises de FISH.	123
Tabela 42: Resultados das análises físico-químicas verificadas no efluente da lagoa facultativa piloto (LF) coletado as 9:00 h, afluyente aos módulos de laboratório durante a etapa de laboratório 3.....	124
Tabela 43: Resultados das análises físico-químicas verificadas no ML1 _c	125
Tabela 44: Resultados das análises físico-químicas verificadas no ML2 _c	125
Tabela 45: Estimativa da massa do biofilme no suporte de PVC (ML1 _c) no 98° dia.	127
Tabela 46: Períodos de estudo nas lagoas piloto na etapa de campo.	136
Tabela 47: Procedência das amostras fixadas para análises de FISH	137
Tabela 48: Caracterização do efluente da LA durante todo o período experimental	140
Tabela 49: Medidas climatológicas e resultados obtidos durante o tratamento de esgoto na LF e na LB em TRH de 20 dias.	141

ÍNDICE DE TABELA - Cont.

Tabela 50: Medidas climatológicas e resultados obtidos durante o tratamento de esgoto na LF e na LB em TRH de 10 dias.	142
Tabela 51: Cálculo da concentração de amônia perdida por volatilização nas unidades estudadas durante as diferentes condições operacionais.	146
Tabela 52: Estimativa da remoção média de $N-NH_4^+$ afluyente nas lagoas por diferentes mecanismos e comparação da estimativa da remoção total com a remoção média verificada pelas análises físico-químicas..	147
Tabela 53: Balanço hídrico nas lagoas, calculado a partir da diferença entre volume médio de água precipitado e a evaporação média diária mensal e da área e vazão das lagoas.	151
Tabela 54: Gêneros com maiores freqüências na lagoa facultativa, na lagoa com biofilme e no biofilme.	156
Tabela 55: Número mínimo de gêneros de algas, protozoários e micrometazoários encontrados no plâncton e no perifíton da LB e da LF durante as duas condições operacionais.	157
Tabela 56: Estimativa da quantidade de células hibridizadas para amostras da lagoa facultativa controle.	161
Tabela 57: Estimativa da quantidade de células hibridizadas para amostras da lagoa com biofilme (LB).	161
Tabela 58: Estimativa da quantidade de células hibridizadas (categorias) para amostras do biofilme da lagoa com biofilme.	162
Tabela 59: Resumo da análise multivariada para principais correlações fortes entre os parâmetros mensurados nas lagoas sem biofilmes - LF.	164
Tabela 60: Resumo da análise multivariada para principais correlações fortes entre os parâmetros mensurados na lagoa com biofilme - LB.	165
Tabela 61: Valores médios, DP, máximo, hora do máximo, mínimo e hora do mínimo da temperatura atmosférica e da intensidade de luz visível nos dias de realização do perfil horário.	166
Tabela 62: Valores médios da OD nas lagoas durante a realização do perfil diário das características dos efluentes.	167
Tabela 63: Valores médios da leitura do DS e estimativa da zona eufótica nas lagoas durante a realização do perfil diário das características dos efluentes.	168
Tabela 64: Valores médios de pH nas lagoas durante a realização do perfil diário das características dos efluentes.	169
Tabela 65: Valores de p obtidos no teste ANOVA comparando os parâmetros mensurados nas duas lagoas (diferenças significativas quando $p < 0,05$).	170
Tabela 66: Valores médios e desvio padrão das diferentes frações do nitrogênio inorgânico verificadas ao longo do dia nas lagoas.	171
Tabela 67: Valores médios de $P-PO_4^{3-}$ nas lagoas durante a realização do perfil diário das características dos efluentes.	172
Tabela 68: Valores médios de DQOs nas lagoas durante a realização do perfil diário das características dos efluentes.	173
Tabela 69: Resultados obtidos no perfil longitudinal realizado na LB em 30 de agosto de 2004.	174
Tabela 70: Resultados obtidos no perfil longitudinal realizado na LF em 30 de agosto de 2004.	175

LISTA DE SÍMBOLOS

A – área da lagoa
ADP – adenosina difosfato
ATP – adenosina trifosfato
B1 – biofilme da C1
B2 – biofilme da C2
B3 – biofilme da C3
CASAN – Companhia Catarinense de Águas e Saneamento
CH₄ - metano
Cloro *a* – clorofila *a*
CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
Ce – concentração de N-NH₃ efluente
Ci – concentração de N-NH₃ afluente
CO₂ – dióxido de carbono
C0 – célula controle (sem suporte para biofilme)
C1 – célula com suporte de PVC
C2 – célula com suporte de acrílico
C3 – célula com suporte de fibra de vidro
DAPI - *4,6 diamidino – 2 – phenylindoli*
DBO₅ – Demanda Bioquímica de Oxigênio
DBOs – Demanda Bioquímica de Oxigênio solúvel (da amostra filtrada)
DDT - dichlorodiphenyltrichloroethano
DNA – desoxiribonucleico
DNAc – desoxiribonucleico complementar
DNAr – ribossômico
DQO – Demanda Química de Oxigênio
DQOs – Demanda Química de Oxigênio solúvel (da amostra filtrada)
EPS – *extracellular polymeric substances*
ETE – Estação de Tratamento de Esgotos
FISH – *Fluorescence In Situ Hybridization*
K_T ou K_b – constante de primeira ordem para remoção de coliformes fecais
LA - Lagoa Anaeróbia (efluente)
L/B – relação comprimento/largura
LB – Lagoa com biofilme piloto
LEEs – Lagoas de Estabilização de Esgotos
LF – Lagoa facultativa piloto
Ls – taxa de aplicação superficial
LSU – *Large subunit* (grande subunidade do ribossomo)
ML1_a – Módulo Laboratorial 1 na fase 1 da etapa de laboratório 2
ML2_a - Módulo Laboratorial 2 na fase 1 da etapa de laboratório 2

LISTA DE SÍMBOLOS – Cont.

ML1_b - Módulo Laboratorial 1 na fase 2 da etapa de laboratório 2

ML2_b - Módulo Laboratorial 2 na fase 2 da etapa de laboratório 2

ML1_c - Módulo Laboratorial 1 na etapa de laboratório 3

ML2_c - Módulo Laboratorial 2 na etapa de laboratório 3

Ne – n° de coliformes fecais no efluente

Ni – n° de coliformes fecais no afluente

N-NH₄⁺ - nitrogênio amoniacal

N-NO₂⁻ - nitrogênio nítrico

N-NO₃⁻ - nitrogênio nitrato

Norg – nitrogênio orgânico

Nox – nitrogênio oxidado

NT – nitrogênio Total

NTK – nitrogênio Total Kjeldah

OD – oxigênio Dissolvido

PCR – *Polymerase Chain Reaction*

pH – potencial hidrogeniônico

Pi - piruvato

P-PO₄³⁻ - fosfato

PS – Peso Seco

PSA – Peso Seco Algal

PSF – Peso Seco fixo ou cinzas

PSV – Peso Seco Volátil

Q - vazão

RNA_m – ácido ribonucléico mensageiro

RNA_r – ácido ribonucléico ribossômico

S - Unidades de *Sveldberg*

SAMAE – Serviço Autônomo Municipal de Água e Esgoto

SS – Sólidos Suspensos

SSU – *small subunit* (pequena subunidade do ribossomo)

ST – Sólidos Totais

STF – Sólidos totais Fixos

STV – Sólidos Totais Voláteis

T - Temperatura

TRH – Tempo de Retenção Hidráulico

UASB – *upflow anaerobic sludge blanket*

UV – radiação ultravioleta

UVA – ultravioleta (320-400nm)

UVB – ultravioleta (280-320nm)

RESUMO

As lagoas de estabilização são sistemas naturais de tratamento de esgotos domésticos que vêm sendo empregadas em todas as regiões do país. Nesses sistemas, o tratamento ocorre mediante fenômenos bioquímicos, biológicos e físico-químicos regulados por uma ampla diversidade de organismos, os quais são responsáveis pela reciclagem da matéria orgânica e dos nutrientes. São sistemas sensíveis às condições climáticas, as quais regulam a atividade das algas e das bactérias envolvidas no processo de tratamento de esgotos. Comumente, os efluentes produzidos em sistemas de lagoas de estabilização apresentam boas condições sanitárias, satisfatória redução do material orgânico carbonáceo afluente, porém, reduzida eficiência de remoção de nutrientes e sólidos em suspensão. Comparativamente aos sistemas lodos ativados que possuem alta concentração de biomassa por unidade de volume, as conversões bioquímicas em lagoas de estabilização ocorrem mais lentamente, necessitando assim maiores tempos de retenção hidráulicos e, conseqüentemente, maiores áreas. A introdução de suportes nas lagoas de estabilização induz a um aumento no contato entre os microrganismos e o efluente, conduzindo a um incremento da atividade da biomassa na lagoa e, conseqüentemente, uma melhora da qualidade do efluente final, inclusive com possibilidade de nitrificação. O objetivo geral desse estudo é avaliar o potencial de utilização de suportes para biofilmes em lagoas de estabilização aplicadas ao tratamento de esgoto doméstico. A base metodológica empregada conduziu a ações diferenciadas em quatro etapas, sendo três destas em escala de laboratório e uma em escala de campo – módulos piloto. Em laboratório buscou-se a identificação do potencial do biofilme/perifiton sob condições ambientais parcialmente controladas, a escolha do material suporte, a relação área suporte/volume do reator, a identificação do incremento de biomassa promovido pelo biofilme e a identificação dos microrganismos via microscopia óptica e análises de biologia molecular. Com as relações obtidas nas diferentes fases de laboratório, partiu-se para o estudo em escala de campo utilizando duas lagoas (área de 15m², cada), sendo uma com suporte para biofilme (30m² de suporte), denominada de LB e a outra sem suporte, denominada de lagoa facultativa – LF. Durante os 17 meses de estudo em campo, aplicou-se dois tempos de retenção hidráulico distintos (10 e 20 dias). Os resultados mostraram que o biofilme aderido a suportes de PVC, material selecionado em etapa de laboratório, proporcionou um aumento da biomassa na lagoa correspondente a faixa entre 25% a 57% da biomassa presente nas lagoas sem biofilme. A introdução de suportes de PVC para a adesão de biofilme, numa relação de duas vezes a área superficial da lagoa, contribuiu para uma melhora significativa na qualidade do efluente tratado em termos de DBO₅ solúvel quando as lagoas operaram em TRH de 10 dias. A nitrificação não foi detectada em campo. Este processo foi significativo apenas quando as lagoas de laboratório operaram como lagoas terciárias. Na lagoa com biofilme ocorreram menores variações na qualidade do efluente quando maiores cargas foram aplicadas (TRH de 10 dias), sugerindo que uma maior densidade de microrganismos ativos na lagoa (biofilme + plâncton) foi obtida, acelerando o processo de biodegradação dos compostos orgânicos afluentes e tornando o sistema mais estável em caso de variações nas cargas aplicadas. A principal vantagem verificada nas lagoas com biofilmes no tratamento de esgotos foi a expressiva redução na concentração de SS no efluente produzido. Em 50% das etapas experimentais, o efluente da LB apresentou concentrações de SS significativamente inferiores às observadas no efluente da LF. Com maiores áreas de suporte introduzidas nas lagoas (7,5m²/m³ e 5,2m²/m³), menores foram as concentrações de SS no efluente produzido. A introdução de suportes artificiais para adesão de microrganismos constitui uma interessante alternativa aplicada à melhoria do tratamento em sistemas de lagoas de estabilização que se encontram sobrecarregados – sistemas subdimensionados, pois permitem uma manutenção de uma fração maior de microrganismos no sistema.

Palavras – chave: tratamento de esgotos, lagoas de estabilização, perifiton, biofilme

ABSTRACT

Stabilization ponds are natural systems of domestic wastewater treatment which are being used in all regions of Brazil. In these systems the treatment occurs by biochemical, biological and physico-chemical processes that are regulated by a diversity of organisms which are responsible for the natural organic matter and nutrient recycling. This kind of system is sensitive to climatic conditions that regulate the activity of bacteria and algae involved in the treatment process. Often, the effluents produced in the stabilization pond systems present good sanitary conditions, and a satisfactory reduction in the organic matter content, however, they have limited efficiency regarding the removal of nutrients and suspended solids. In comparison to activated sludge systems that have high biomass concentrations per unit of volume, the biochemical conversions occur more slowly in the ponds, which need longer hydraulic retention times and, consequently, bigger areas. The introduction of supports into the stabilization ponds induces an increase in the contact between the microorganisms and the effluent, leading to an increase in the biomass activity in the pond and the possibility for nitrification and, consequently, a better effluent quality is obtained. The overall aim of this study is to evaluate the potential for the utilization of biofilm supports in stabilization ponds applied to domestic wastewater treatment. The methodology was carried out in four steps, three of them being in laboratory scale and one in field scale – pilot module. In the laboratory we investigated the potential of the biofilm/periphyton under partially controlled environmental conditions, the choice of the support material, the support area/pond volume ratio, the identification of the development of biomass promoted by the biofilm and the identification of the microorganisms by optical microscopy and molecular biology analyses. The ratios obtained in the different phases of laboratory experiments, allowed the study to be carried out in field scale using two ponds (area of 15m², each). In one of them we placed 30m² of support and this was called the biofilm pond (LB) and in the other one we did not place anything and this was called the facultative pond (LF). For 17 months of field study, we applied two distinct hydraulic retention times (10 and 20 days). The results showed that the biofilm attached to the PVC plates, the material selected in the laboratory phase, provided an increase in the pond biomass, corresponding to 25% - 57% of the biomass present in the ponds without biofilm. The area of PVC support introduced for the attachment of biofilm, twice the superficial area of the pond, contributed to a significant improvement in the treated effluent quality in terms of soluble BOD₅ when the ponds operated with a 10-day HRT. Nitrification was not detected in field scale. This process was significant only when the laboratory ponds operated as tertiary ponds. In the pond with biofilm less variations occurred in the quality of the effluent when higher organic loads were applied (10-day HRT), suggesting that a higher density of active microorganisms in the pond (biofilm + plankton) was obtained, which accelerated the biodegradation process of affluent organic matter and it made the system more stable in the cases where organic loading variations were applied. The main advantage of using the biofilm ponds for wastewater treatment was found to be the significant reduction in SS concentration in the effluent produced. In 50% of the experimental steps, the LB effluent presented SS concentrations significantly lower than those observed in the LF effluent. When larger support areas were introduced in the ponds (7.5m²/m³ and 5.2m²/m³), lower SS concentrations in the final effluent were found. The introduction of supports for the microorganism attachment presented an interesting alternative for the improvement of wastewater stabilization pond treatments when they are overloaded or undersized. The supports permit the maintenance of a greater proportion of microorganisms in the system.

Key words: Wastewater treatment, stabilization ponds, periphyton, biofilm.

CAPÍTULO 1 – Considerações Iniciais

1.1. INTRODUÇÃO E OBJETIVO GERAL

Grande parte dos recursos hídricos no Brasil encontram-se com a qualidade comprometida devido ao lançamento de esgotos, de origens diversas, não tratados ou sem tratamento adequado. Apesar do crescente aumento dos investimentos públicos em saneamento básico, ainda é grande a parcela da população brasileira não servida por rede de esgoto e tão pouco por sistemas de tratamento. O índice de atendimento de esgoto no sul do país é de apenas 21,9% contrastando com 97,1% de população atendida com água potável (Bio, 2001). Para Santa Catarina, este índice é ainda menor, apenas 8,84% da população do estado têm coleta e tratamento de esgotos sanitários (IBGE, 2004). Dentro desta perspectiva, tornam-se relevantes os estudos aprofundados em tecnologias que possam ser eficientes no tratamento dos esgotos e apresentem viabilidade econômica para o Brasil.

Neste contexto, as lagoas de estabilização de esgotos vêm sendo empregadas com sucesso no Brasil devido ao baixo investimento necessário à implantação, operação e manutenção aliadas às condições climáticas favoráveis e a disponibilidade de área territorial na maioria das regiões. Em Santa Catarina, estado brasileiro localizado no centro sul do país, existem inúmeras lagoas de estabilização tratando esgotos de diversas origens. Grande parte destas estão situadas no oeste e são utilizadas para o tratamento de esgotos oriundos da agroindústria, predominantemente da produção e beneficiamento de suínos. Tratando esgotos domésticos municipais existem seis grandes sistemas distribuídos nos municípios de Florianópolis, Joinville e Balneário Camboriú sob a concessão da Companhia Catarinense de Águas e Saneamento-CASAN e, em Orleães, São Ludgero e Joaçaba sob a concessão do Serviço Autônomo Municipal de Água e Esgoto-SAMAE. Os sistemas de lagoas situados na Grande Florianópolis e em Joinville atingem elevadas performances na redução de DBO_5 e coliformes fecais (Bento *et al.*, 2000; Rocha, 2005), enquanto que no sistema de Balneário Camboriú o tratamento dos esgotos é precário, especialmente no verão quando a população da cidade atinge 1 milhão de habitantes (Ribeiro, 2001).

Nas lagoas de estabilização o tratamento ocorre de forma natural mediante fenômenos bioquímicos, biológicos e físicos regulados por uma ampla diversidade de seres vivos, os quais são responsáveis pelas transformações da matéria orgânica e dos nutrientes. As lagoas de estabilização são sistemas sensíveis às condições climáticas, sendo a temperatura, a insolação e a

intensidade de luz solar, os principais fatores determinantes do sucesso do tratamento nessas unidades, pois, regulam a atividade das algas e das bactérias envolvidas no processo.

Comparada aos sistemas convencionais de tratamento secundário de esgotos, tais como, lodos ativados, filtros biológicos e reatores anaeróbios, as lagoas de estabilização, se configuradas adequadamente, adequam-se a paisagem natural e produzem efluentes com excelentes condições sanitárias, refletidas nas baixas densidades de coliformes fecais, vírus e ausência de nematóides intestinais. A redução do material orgânico carbonáceo dos esgotos também é considerada satisfatória. Entretanto, apesar da boa qualidade microbiológica alcançada, estas não se mostram ser tão efetivas na redução de nutrientes, notadamente, nitrogênio e fósforo e da mesma forma os sólidos em suspensão.

Diferentes tecnologias existentes, baseadas em mecanismos químicos e físicos, mostram-se eficientes para a remoção de nutrientes e metais pesados dos esgotos; entretanto, estas consomem significantes quantidades de energia e a maioria dos produtos químicos utilizados apresenta elevado custo. A cada etapa adicional numa Estação de Tratamento de Esgotos – ETE, destaca Oswald (1988), o custo do tratamento dobra de valor. Outrossim, o tratamento químico conduz a uma contaminação dos subprodutos do tratamento, especialmente o lodo. Em contrariedade, o tratamento do esgoto com contribuição de uma comunidade fotoautotrófica, mediado pela combinação de captura de nutrientes, altos níveis de pH e alta concentração de OD, pode atingir elevada eficiência, sendo mais adequado do ponto de vista ecológico em relação ao tratamento convencional, pois oferece o benefício da recuperação dos recursos, e apresentando menor custo.

O lançamento de nitrogênio e fósforo nos corpos d'água receptores causa sérios desequilíbrios ecológicos, tais como toxicidade às espécies aquáticas e a eutrofização, comprometendo a biodiversidade local e os usos múltiplos da água. O ciclo do nitrogênio nas lagoas de estabilização contempla todas as etapas do ciclo em um ecossistema aquático natural, sendo a volatilização da amônia, a assimilação do nitrogênio inorgânico pela biomassa algal e a sedimentação do nitrogênio orgânico particulado, os principais mecanismos de transformação do nitrogênio dos esgotos durante o tratamento. A baixa taxa de nitrificação em lagoas de estabilização tem sido atribuída à combinação da baixa concentração de oxigênio dissolvido e o lento crescimento das bactérias nitrificantes comparado às bactérias heterotróficas e a ausência de superfícies permanentemente aeróbias para colonização pelas bactérias nitrificantes, tendo em vista que essas bactérias têm crescimento favorecido quando aderidas à suportes.

Dessa forma, o aprimoramento do tratamento de esgotos domésticos em lagoas de estabilização pela utilização de suportes inertes para o desenvolvimento de biofilme microbiano, promove a adesão e a concentração de microrganismos ativos no processo de tratamento, os quais, ficam mais tempo disponíveis na lagoa e não sofrem com o deslocamento na coluna d'água resultante da estratificação térmica.

Apesar da carência de estudos sobre biofilme em lagoas de estabilização no Brasil, algumas pesquisas têm sido desenvolvidas em escala laboratorial e escala piloto, a maioria conduzida com esgoto agroindustrial e industrial na Austrália (Scott *et al.*, 1994; Maclean *et al.*, 2000), Nova Zelândia (Craggs *et al.*, 2000) e Tailândia (Polprasert e Agarwalla, 1995; Rakkoed *et al.*, 1999). Nestes estudos, a remoção da amônia dos esgotos através da nitrificação promovida pelo biofilme, tem sido o foco principal. No entanto, além da nitrificação, os biofilmes nas lagoas melhoram a qualidade do efluente final em termos de remoção de material carbonáceo, sólidos em suspensão e coliformes fecais. Mais recentemente, Zancan Filho *et al.* (2004), desenvolveram, no Brasil, estudo com biofilme em lagoas objetivando a redução da concentração de sólidos em suspensão do efluente.

A principal desvantagem das lagoas de estabilização de esgotos refere-se à necessidade de grandes áreas para implantação, sendo por isso, a redução da área necessária à implantação das lagoas outra importante vantagem que pode ser alcançada com a incorporação da técnica de lagoas de estabilização de esgotos contendo suportes para biofilme. A redução da área é viável, tendo em vista que os suportes constituem um habitat imóvel, onde se concentra uma parcela dos microrganismos ativos no processo que permanecem no sistema por um período maior de tempo, comparado aos microrganismos em suspensão. Entretanto, necessita-se de estudos aprofundados e regionais sobre o processo para a identificação de parâmetros de projeto, tais como a área de suporte necessária por volume ou área superficial das lagoas, as cargas aplicadas, os possíveis problemas operacionais, a manutenção do sistema, a forma e a disposição do material suporte na lagoa, as espécies de microrganismos que compõem o biofilme, entre outros.

Tendo em vista as razões acima descritas, este trabalho tem como objetivo geral avaliar o potencial de utilização de suportes para biofilmes - perifiton em lagoas de estabilização, aplicadas ao tratamento de esgoto doméstico.

1.2. HIPÓTESES FORMULADAS

A pesquisa foi conduzida sob as seguintes hipóteses:

1ª. A colocação de suportes nas lagoas de estabilização aumenta o contato entre os microrganismos e a massa líquida, conduzindo a um incremento da atividade da biomassa na lagoa e conseqüentemente uma melhora da qualidade do efluente final;

2ª. A introdução de material suporte à lagoa de estabilização aumenta a possibilidade de bactérias com baixa velocidade de crescimento, tais como as nitrificantes, que crescem preferencialmente aderidas, de se desenvolverem na lagoa e formarem uma população mais densa e ativa capaz de nitrificar a amônia afluente;

3ª. A competição microbiana pelo crescimento perifítico conduz a redução da concentração de sólidos em suspensão do efluente produzido na lagoa;

4ª. Com a concentração da biomassa e o aumento do contato entre o líquido e as bactérias nas lagoas com biofilmes, áreas menores são requeridas para a implantação desses sistemas.

CAPÍTULO 2 – Revisão Bibliográfica

2.1. LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO PARA O TRATAMENTO DE ESGOTOS DOMÉSTICOS

As lagoas de estabilização de esgotos foram descobertas acidentalmente em 1901 após a construção de uma lagoa de armazenamento de esgotos em San Antônio, Texas, EUA (lago Mitchel) na qual verificou-se que os efluentes possuíam melhor qualidade que os afluentes (Silva e Mara, 1979). Em 1924 na cidade de Santa Rosa, Califórnia, para evitar o custo de uma estação de tratamento de esgotos, lançaram-se esgotos sobre o leito natural de pedras, imaginando-se que este funcionaria como um filtro natural. No entanto, o esgoto bruto provocou a colmatação do leito de pedra formando uma lagoa de 90cm de profundidade, sem apresentar odores desagradáveis (Kellner e Pires, 1998). Dessa forma, verificou-se a capacidade dos lagos artificiais no tratamento dos esgotos.

A primeira instalação na América do Norte projetada para o tratamento de esgotos foi em Maddok, Dakota do Norte, em 1948. Nesta mesma época eram realizadas pesquisas sobre a depuração dos esgotos nas lagoas de estabilização na Austrália, onde surgiram as primeiras lagoas em série, conhecidas até hoje como “Lagoas Australianas”.

No Brasil, a primeira lagoa de estabilização foi construída em São José dos Campos, SP, por volta de 1960. Desde então, muitas lagoas para o tratamento de esgotos sanitários e industriais têm sido construídas no território nacional, assim como muitas pesquisas sobre o processo de tratamento nesses sistemas têm sido desenvolvidas.

Em literatura especializada encontram-se vários conceitos para as lagoas de estabilização: “... sistema de tratamento biológico em que a estabilização da matéria orgânica é realizada pela oxidação bacteriológica (oxidação aeróbia ou fermentação anaeróbia) e/ou redução fotossintética das algas” (Pessoa e Jordão, 1982); “... *waste stabilization ponds are impoundments into which wastewater flow in and out after a defined retention period. Treatment relies solely on the natural process of biological purification that occur in any natural water body. No external energy, other than derived from sunlight, is required for the operation*” (Mara et al., 1992). Von Sperling (1996), assim como outros autores, incluem as lagoas aeradas mecanicamente entre as lagoas de estabilização e as define como: “... a forma mais simples para o tratamento de esgotos. Há diversas variantes dos sistemas de lagoas de estabilização, com diferentes níveis de simplicidade operacional e requisitos de área”.

O princípio do tratamento nas lagoas de estabilização de esgotos – LEEs, baseia-se na capacidade de reciclagem dos elementos em um corpo d'água lântico natural. Sendo assim, as pesquisas almejam o entendimento dos processos de depuração e, também, a maximização dos mesmos nesses ambientes para a obtenção de parâmetros que permitam a construção e a boa performance dos sistemas sob condições adversas.

O tratamento de esgotos nas LEEs ocorre naturalmente por meio de processos físicos, biológicos e bioquímicos regulados por fatores ambientais, especialmente a temperatura e a intensidade de luz solar. As LEEs são habitadas por uma ampla diversidade de seres vivos de vários níveis da cadeia alimentar, desde bactérias até pequenos animais aquáticos. Esses organismos interagem entre si e com o meio tornando o processo mais completo dentro da perspectiva ecológica, do fluxo energético. A cada passagem de energia por um nível trófico, uma quantidade menor atinge o nível acima sucessivamente, devido ao trabalho executado e devido à ineficiência das transformações de energias biológicas no nível trófico anterior (Lindeman, 1942 *apud* Ricklefs, 1996).

Como em todos os sistemas biológicos de tratamento de esgotos, nas LEEs as bactérias heterotróficas são as principais responsáveis pelo processo de reciclagem dos elementos, entretanto, os fotoautotróficos (algas e cianobactérias) também exercem papel fundamental. Sua principal função é a produção de oxigênio pela fotossíntese, o qual fica disponível às bactérias para a decomposição aeróbia da matéria orgânica. Um outro papel suplementar desempenhado pelas algas nas lagoas é a remoção de nutrientes, tais como nitrogênio, fósforo e carbono, para satisfazer suas necessidades nutricionais.

Outro efeito indireto proporcionado pelas algas às lagoas decorre do consumo de dióxido de carbono, subproduto da respiração da biota, particularmente das bactérias heterotróficas e proveniente dos bicarbonatos do próprio meio líquido, que modifica o equilíbrio carbonato-bicarbonato e, em consequência da formação dos íons hidróxidos OH^- , eleva o pH do líquido, cujos valores variam entre 8 e 11 (Uehara e Vidal, 1989). O elevado pH das lagoas favorece a redução do número de bactérias patogênicas, a precipitação dos fosfatos de cálcio e a volatilização da amônia.

As LEEs apresentam-se mais suscetíveis às condições climáticas de temperatura e luminosidade do que outros sistemas biológicos de tratamento de esgotos devido, principalmente, a

necessidade de produção de oxigênio pela fotossíntese. Dessa forma, esse tipo de tratamento apresenta maior viabilidade em países de clima quente (zona tropical e subtropical).

De acordo com Von Sperling (1996), as lagoas de estabilização são bastante indicadas para as condições brasileiras, devido aos seguintes aspectos:

- suficiente disponibilidade de área em um grande número de localidades;
- clima favorável (temperatura e insolação elevadas);
- operação simples;
- necessidade de poucos ou de nenhum equipamento.

Outra importante vantagem das lagoas de estabilização em relação aos métodos convencionais de tratamento de esgotos é a baixa produção de lodo. Obviamente que para isso ocorrer há necessidade de adequada operação e manutenção das unidades, incluindo às que compõem o tratamento preliminar.

Além dos fatores acima mencionados, as LEEs em série (lagoa anaeróbia seguida por lagoa facultativa e lagoa de maturação) são os sistemas que produzem efluentes com melhores condições sanitárias, dentre os sistemas convencionais de tratamento, refletidas nas baixas densidades de coliformes fecais, normalmente inferiores a 1000NMP/100mL, ausência de nematóides intestinais e remoções superiores a 90% para vírus (Maynard *et al.*, 1999). A redução de material carbonáceo, também, é considerada suficiente para o atendimento das exigências legais previstas ao lançamento de efluentes em corpos d'água. Segundo Von Sperling (1996), a remoção de DBO₅ pode atingir proporções de até 90%.

As desvantagens das LEEs referem-se ao requerimento de extensas áreas para implantação dos sistemas, a possibilidade de geração de maus odores decorrentes da liberação de gases durante a digestão anaeróbia nas lagoas anaeróbias, as elevadas concentrações de nutrientes e sólidos em suspensão nos efluentes das lagoas facultativas e de maturação e o risco da presença de toxinas liberadas por determinadas espécies de algas, tais como *Pseudo-nitzschia*, *Alexandrium*, *Gymnodinium* e *Pyrodinium* e muitas cianobactérias, como por exemplo *Cylindrospermopsis*, *Anabaena*, *Planktotrix* e a *Microcystis* que podem desenvolver-se durante o tratamento (Matthiensen, 2002).

Existe uma imensa variedade de tipos e arranjos de LEEs, proporcionando diferentes níveis de tratamento, sendo os mais comumente citados em literatura: as lagoas anaeróbias, lagoas

facultativas, lagoas de maturação e as lagoas aeradas mecanicamente. Nos últimos anos têm surgido novas concepções de lagoas, no intuito de melhorar a qualidade do efluente final, promover o reúso, reduzir a área de implantação, entre outros. Destacam-se nesse contexto, as lagoas de alta taxa, as lagoas com macrófitas, as lagoas com peixes e as lagoas com biofilme.

Na seqüência desse estudo bibliográfico, apresenta-se uma revisão sobre as lagoas facultativas, de maturação e lagoas com biofilme, as quais estão diretamente relacionadas com a pesquisa.

2.1.1. Lagoas Facultativas

As lagoas facultativas são utilizadas no tratamento secundário dos esgotos diferenciando-se das lagoas anaeróbias por serem menos profundas e por operarem com menores cargas orgânicas. O principal objetivo dessas unidades de tratamento corresponde à remoção da matéria orgânica dos esgotos. São denominadas facultativas por apresentarem uma camada aeróbia superficial, uma zona facultativa intermediária e uma camada anaeróbia no fundo da lagoa.

Normalmente, essas lagoas apresentam grande espelho d'água para o desenvolvimento de algas nas camadas mais superficiais e iluminadas, e para propiciar maior área de transferência de oxigênio com a atmosfera. O suprimento de oxigênio na camada aeróbia das lagoas facultativas é controlado pelo metabolismo foto-autotrófico das algas e a re-aeração através da interface ar/água. Neste tipo de lagoa, processos de oxidação bacteriana convertem o material orgânico a dióxido de carbono, amônia e fosfatos, sendo as *Pseudomonas* sp, *Flavobacterium* sp e *Alcaligenes* sp, as principais bactérias envolvidas (König, 1990).

A presença dos nutrientes (NH_4^+ , PO_4^{-2}) resultantes da atividade bacteriana proporciona um ambiente adequado ao desenvolvimento das algas, as quais, através de sua atividade fotossintética produzem o oxigênio que fica disponível às bactérias para a oxidação aeróbia da matéria orgânica (König, 1990). Portanto, existe uma relação mutualística entre as algas e bactérias, embora certas espécies de algas presentes em LEEs possam também utilizar material orgânico diretamente (Oswald *et al.*, 1953; Pipes e Gotaas, 1960 *apud* König, 1990).

A influência das algas nas lagoas facultativas abrange diretamente a oxigenação da massa líquida, a modificação do pH e a assimilação de nutrientes. Indiretamente, elas contribuem para a volatilização da amônia e a precipitação dos fosfatos, proporcionando maior grau de depuração da água residuária durante o seu percurso na lagoa.

A zona facultativa das lagoas facultativas corresponde a camada que apresenta variação entre presença e ausência de oxigênio dissolvido, funcionando parte do tempo em aerobiose e outra parte em anaerobiose. A proporção da coluna d'água facultativa é variável de sistema para sistema dependendo das condições climáticas e operacionais.

A matéria orgânica sedimentada na lagoa forma a zona anaeróbia das lagoas facultativas, dando origem ao lodo no fundo da lagoa o qual é convertido anaerobicamente a CO_2 e CH_4 , processo que será discutido na sequência desse trabalho.

A boa performance das lagoas facultativas tem sido evidenciada em vários países. A maioria dessas unidades integra sistemas contendo três ou mais lagoas, normalmente na sequência: lagoa anaeróbia para o tratamento primário, seguida de facultativa para o tratamento secundário e de maturação para o tratamento terciário. As reduções de DBO_5 nessas unidades variam de 70% a 90% (Mendonça *et al.*, 1990; Von Sperling, 1996). Bento *et al.* (2002) avaliaram a eficiência de um sistema de lagoas de estabilização em Florianópolis/SC durante três anos e observaram remoções de 40% da DBO_5 numa lagoa facultativa de tratamento secundário e 90% para o sistema completo (lagoa anaeróbia + lagoas facultativas + lagoa de maturação). Albis e Mara (2003), estudando lagoas facultativas únicas para o tratamento de esgoto doméstico em várias regiões do Reino Unido, obtiveram remoções de 95% a 98% da DBO_5 em lagoas operando com alto tempo de retenção (38 a 112 dias). Os maiores TRH foram utilizados no inverno.

No oeste da África, Koné *et al.* (2004) avaliando 19 lagoas facultativas de tratamento de esgotos domésticos durante 15 anos, verificaram uma ampla variedade de condições operacionais, com TRH variando de 4 a 25 dias e taxa de aplicação superficial de 50 a 500kg DBO_5 /ha.d e performance com remoção de DBO_5 oscilando entre 38% a 65%.

O tratamento de esgotos em lagoas facultativas, também, promove uma eficiente remoção de microrganismos patogênicos resultante da contribuição de diversos fatores, destacando-se a radiação solar incidente, o alto tempo de retenção hidráulico e, os altos valores de pH e as altas concentrações de oxigênio dissolvido (Maynard *et al.*, 1999). Outros fatores relacionados são as toxinas liberadas por certas espécies de algas, a predação, a inanição, a temperatura e a profundidade da lagoa. Bento *et al.* (2002) verificaram remoção de até 4 unidades logarítmicas para *Escherichia coli* em lagoas facultativas com aproximadamente 12 dias de tempo de retenção.

A eficiência na remoção de nutrientes durante o tratamento de esgotos em lagoas facultativas apresenta expressiva variação sazonal, conforme destaca a literatura, sendo que em muitos sistemas os efluentes produzidos não se enquadram dentro dos parâmetros de lançamento apontados em legislação federal, a qual permite o lançamento de efluentes com até 20mg/L de nitrogênio amoniacal (CONAMA n° 357/2005). No item 3.1.5. são apontadas algumas informações adicionais sobre a remoção de nitrogênio em lagoas facultativas.

No dimensionamento das lagoas facultativas inúmeros modelos são empregados, sendo a maioria destes baseados na determinação da área superficial mínima requerida para que ocorra a degradação e/ou estabilização da matéria orgânica carbonácea, expressa em termos de DBO₅.

Os modelos empíricos de dimensionamento mais utilizados atualmente surgiram por volta de 1970, os quais baseavam-se na máxima taxa de aplicação superficial (Gloyna, 1971 *apud* Kellner e Pires, 1998; Mara, 1976) e/ou no tempo de retenção hidráulico (Arceivala, 1973 *apud* Mendonça, 1990), conforme segue:

- para a taxa de aplicação superficial (equação 1):

$$\lambda_s = \frac{C_0 \times Q}{A} \quad (1)$$

Onde: λ_s = taxa de aplicação superficial (gDBO₅/m².d ou kgDBO₅/ha.d); C_0 = DBO₅ afluente (mg/L ou g/m³); Q = vazão (m³/d); A = área requerida (m² ou ha).

- para o tempo de retenção hidráulico (TRH) (equação 2):

$$TRH = \frac{V}{Q} \quad (2)$$

Onde: TRH = tempo de retenção hidráulico (d); V = volume da lagoa (m³) [V é o produto da área requerida (A em m² ou ha) pela profundidade (P em m)]; Q = vazão (m³/d).

O TRH relatado na literatura para efetivar o tratamento de esgotos domésticos em lagoas facultativas, possui uma faixa ampla de valores. Estudos de Arceivala (1973) *apud* Mendonça (1990), apontavam para um TRH variando de 7 a 110 dias, para temperaturas variando de 25°C a 5° C. Silva (1982) *apud* Mendonça (1990) destaca que o TRH mínimo é de 6 dias para as condições climáticas do nordeste brasileiro. Mara *et al.* (1992) descreve o TRH como função da área requerida, da profundidade e do balanço hídrico na lagoa, ou seja, a vazão média afluente e a taxa de evaporação, conforme segue (equação 3):

$$TRH = \frac{2 \times A \times P}{2 \times Q_{afllu} - 0,001 \times A \times \varepsilon} \quad (3)$$

Onde: TRH = tempo de retenção hidráulico (d); A = área requerida da lagoa (m²); P = profundidade da lagoa (m); Q_{afllu} = vazão média afluyente (m³/d); ε = taxa de evaporação local (mm/d ou L/m².d).

Von Sperling (1996) destaca que a faixa de TRH usualmente empregada varia de 15 a 45 dias, sendo que os menores TRH podem ser adotados em regiões em que a temperatura do líquido seja mais elevada. Além disso, o tempo de retenção requerido é função da cinética de remoção de DBO₅ e do regime hidráulico da lagoa.

Contudo, as lagoas facultativas, por se tratarem de sistemas abertos, estão submetidas diretamente as variações ambientais. Logo, relação entre a máxima taxa de aplicação superficial e a temperatura são relatadas na literatura e utilizadas para o dimensionamento, conforme segue:

- destacado por Gloyna (1971) *apud* Kellner e Pires (1998) – Tabela 1:

Tabela 1: Taxas de aplicação superficial para lagoas facultativas, em função das condições ambientais do local de implantação.

λ_s * (kgDBO ₅ /ha.d)	População ** (hab)	TRH *** (dias)	Condições ambientais locais
< 10	< 200	> 200	Regiões muito frias com coberturas sazonais de gelo, baixa temperatura da água
10 – 50	200 – 1000	200 – 100	Clima frio com cobertura sazonal de gelo, temperatura de verão temperada e presente por pequenos períodos
50 – 150	1000 – 3000	100 – 33	Regiões temperadas, semitropicais, cobertura de gelo ocasional
150 – 300	3000 – 7000	33 – 17	Regiões tropicais, sol e temperatura uniformemente distribuídos

* admitiu-se que a vazão afluyente é igual a vazão efluente
 ** admitiu-se contribuição de 50 gDBO₅/hab.d (Na literatura brasileira, adota-se como referência o valor de 54gDBO₅/hab.d)
 *** admitiu-se contribuição de esgoto de 100 L/hab.d (De acordo com ABNT (NBR13169/1997), uma pessoa no Brasil produz de 100 a 160L de esgoto por dia).

Fonte: Gloyna (1971) *apud* Kellner e Pires (1998)

- destacado por Von Sperling (1996) – Tabela 2:

Tabela 2: Faixa de operação das taxas de aplicação superficial em função das condições ambientais

Faixa de λ_S (kgDBO ₅ /ha.d)	Condições ambientais locais
240 – 350	Regiões com inverno quente e elevada insolação
120 – 240	Regiões com inverno e insolação moderados
100 – 180	Regiões com inverno frio e baixa insolação

Fonte: Von Sperling (1996)

- destacado por Mara (2003) (equação 4):

$$\lambda_S = 350 \times (1,107 - 0,002 \times T)^{T-25} \quad (4)$$

Onde: λ_S = taxa de aplicação superficial (kgDBO₅/ha.d); T = temperatura (° C)

- destacado por Yanes (1986) *apud* Kellner e Pires (1998) (equação 5):

$$\lambda_S = 357,4 \times (1,085)^{T-20} \quad (5)$$

Onde: λ_S = taxa de aplicação superficial (kgDBO₅/ha.d); T = temperatura (° C)

Em relação à profundidade (P), novamente uma faixa ampla de valores é relatado, contudo recomenda-se profundidades variando de 1,5 a 3m (Von Sperling, 1996). Arceivala (1981) *apud* Von Sperling (1996), destaca que em lagoas facultativas muito rasas, com profundidade inferior a 1m, estas se comportam como totalmente aeróbias, e pode ocorrer o desenvolvimento de uma vegetação emergente sendo um potencial abrigo para larvas de mosquitos. Já em lagoas profundas - próximas do limite de 3m, o mesmo autor destaca que a performance de tratamento é mais estável e menos afetada pelas condições ambientais, produzindo um efluente com qualidade mais uniforme ao longo do ano.

Gloyna (1971) *apud* Kellner e Pires (1998) relacionou a profundidade com o tipo de esgoto afluente e às condições locais, conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3: Profundidades recomendadas para lagoas facultativas em função das características do esgoto afluente ou das condições climáticas locais

P (m)	Tipo de esgoto a tratar	Condições locais
1,0	Pré-decantado	Temperatura uniforme e quente
1,0 – 1,5	Bruto	Temperatura uniforme e quente
1,5 – 2,0	Contendo sólidos sedimentáveis	Flutuações na temperatura, moderadas e sazonais
2,0 – 3,0	Grande quantidade de areia ou sólidos sedimentáveis	Sensíveis variações sazonais de temperatura

Fonte: Gloyna (1971) *apud* Kellner e Pires (1998)

A partir do dimensionamento e, conseqüentemente, das dimensões da lagoa – as quais fornecerão a configuração do reator, juntamente com as condições territoriais locais e da opção do arranjo por parte do projetista, pode-se prever a performance de remoção de DBO₅, sabendo-se que esta se processa segundo uma reação de primeira ordem, tal como:

- para regime hidráulico com fluxo em pistão (equação 6):

$$C = C_0 \times e^{-K \times TRH} \quad (6)$$

- para regime hidráulico mistura completa (equação 7):

$$C = \frac{C_0}{1 + K \times TRH} \quad (7)$$

- para regime hidráulico mistura completa, reatores em série (equação 8):

$$C = \frac{C_0}{\left(1 + K \times \frac{TRH}{n}\right)^n} \quad (8)$$

- para regime hidráulico fluxo disperso (equações 9 e 10):

$$C = C_0 \times \frac{4ae^{1/2d}}{(1+a)^2 e^{2/2d} - (1-a)^2 e^{-a/2d}} \quad (9)$$

$$a = \sqrt{1 + 4K \times TRH \times d} \quad (10)$$

Onde: C₀ = concentração de DBO₅ total afluente (mgO₂/L); C = concentração de DBO₅ solúvel efluente (mg/L); K = coeficiente de remoção de DBO₅ (varia de 0,30 a 0,35 d⁻¹ – Von Sperling, 1996); TRH = tempo de retenção hidráulico (d); n = número de lagoas em série; d = número de dispersão (= D x TRH / L²); D = coeficiente de dispersão longitudinal (m²/d); L = comprimento do percurso longitudinal no reator (m).

2.1.2. Lagoas de Maturação

As lagoas de maturação são empregadas no tratamento terciário dos esgotos possibilitando o polimento do efluente tratado em outras unidades. Usualmente, essas lagoas têm profundidade inferior ou igual a 1 metro e são construídas em série (Mara *et al.*, 1992). O tamanho e o número de lagoas varia conforme a qualidade do efluente tratado nas unidades precedentes e a qualidade final requerida. De acordo com Mara *et al.* (1992), nas lagoas de maturação ocorre menor

estratificação biológica e físico-química vertical, e a oxigenação é mais homogênea ao longo do dia em relação às facultativas.

A função primária das lagoas de maturação é a remoção dos microrganismos patogênicos contidos nos esgotos. Na Tabela 4 evidencia-se a superioridade dessas unidades na remoção de patógenos dos esgotos quando comparadas a outros sistemas biológicos de tratamento. No entanto, somente uma pequena fração da DBO₅ sofre redução nessas unidades, entretanto, sua contribuição pode ser significativa na remoção de nitrogênio e fósforo, através de mecanismos de volatilização, precipitação e assimilação pela biomassa algal (Mara *et al.*, 1992).

Tabela 4: Porcentagem de redução de organismos patogênicos em alguns processos de tratamento de esgotos.

TRATAMENTO	NÍVEL DE TRATAMENTO	VÍRUS ENTÉRICOS	BACTÉRIAS	PROTOZOÁRIOS	HELMINTOS
Filtro biológico	Terciário	90 – 95	90 – 95	50 – 90	50 – 95
Lodos ativados	Secundário	90 – 99	90 – 99	50	50 – 99
Fossa Séptica	Primário	50	50 – 90	0	50 – 90
Lagoas: 3 séries (TRH>25 dias)	Terciário	> 99,999	> 99,999	100	100

Fonte: Jordão e Sobrinho (1994)

Nas lagoas de maturação ocorre maior diversidade de algas em relação às lagoas facultativas com predomínio dos gêneros sem motilidade (Mara *et al.*, 1992). Frequentemente, essas lagoas são colonizadas por zooplâncton e peixes podendo surgir macrófitas se não houver adequada manutenção do sistema.

Em regiões de clima tropical e subtropical, a lagoa de maturação promove uma desinfecção natural dos esgotos pela ação de diversos fatores, tais como a elevada temperatura, sedimentação, tempo de retenção hidráulico, insolação, pH, OD, escassez de alimento, herbivoria, competição biológica e presença de compostos tóxicos (Mara *et al.*, 1992; Von Sperling, 1996; Keller e Pires, 1998; Maynard *et al.*, 1999). O regime de mistura também é considerado, por muitos autores, impactante na redução de coliformes fecais nessas unidades, sendo um fator dependente do projeto da lagoa e das condições climáticas locais (Brissaud *et al.*, 2003).

Muitos autores (Marais e Shaw, 1961; Ferrara e Harleman, 1981 *apud* Maynard *et al.*, 1999) acreditavam que a temperatura constituía o principal fator atuante no mecanismo de remoção das bactérias termotolerantes em lagoas de maturação. Em decorrência desse fato, algumas equações de dimensionamento dessas unidades baseiam-se nesse parâmetro. Entretanto, as pesquisas recentes têm demonstrado que a remoção de bactérias indicadoras em lagoas de maturação resulta de mecanismos mais complexos, envolvendo interações entre o meio físico-químico e biológico da lagoa, onde a temperatura continua sendo um importante fator regulador (Person *et al.*, 1987; Mara *et al.*, 1992; Maynard *et al.*, 1999). Mara e Pearson (1986) julgaram que a relação entre decaimento bacteriano e aumento da temperatura deve ser indireta pelo fato das lagoas de maturação apresentarem altos níveis de remoção de coliformes fecais em detrimento das lagoas anaeróbias e facultativas operando sob as mesmas faixas de temperatura.

Maynard *et al.* (1999) destacam a inexistência de evidências sobre os efeitos das toxinas produzidas e liberadas pelas algas no decaimento bacteriano em lagoas de maturação. Muitos autores sugerem que certas algas produzem substâncias que são tóxicas às bactérias, entretanto, poucos estudos têm sido conduzidos para a identificação dessas toxinas e de seus efeitos. Pratt (1940) descobriu que a alga verde *Chlorella* produz uma toxina extracelular que controla a velocidade de crescimento de sua população e Mezriouri *et al.* (1994) sugeriram que as cianobactérias e *Chlorella* secretam substâncias que são tóxicas para *Escherichia coli* e *Vibrio cholerae*, respectivamente.

As interações biológicas que ocorrem na lagoa de maturação têm sido apontadas como atuantes na redução de bactérias indicadoras nessas unidades. Fernandez *et al.* (1992) *apud* Maynard *et al.* (1999) verificaram a importância da predação e da competição na remoção de coliformes fecais. Outros estudos evidenciam uma relação diretamente proporcional entre a densidade de rotíferos e a remoção de coliformes fecais nas lagoas de maturação, indicando que esses micrometazoários contribuem, através da predação, na remoção dessas bactérias (Trossellier *et al.*, 1986; Mills *et al.*, 1992; Mayo, 1995 *apud* Maynard *et al.*, 1999).

Mayo e Noike (1996) detectaram a densidade de heterotróficas totais e coliformes fecais em lagoas de maturação durante um período de tempo, e observaram que quando o número de heterotróficas foi reduzido, aumentou a densidade de coliformes fecais no efluente e vice-versa.

Segundo Mayo e Gondwe (1989) *apud* Maynard *et al.* (1999), a eliminação dos patógenos dos efluentes nas lagoas de maturação depende principalmente da exposição dos microrganismos à

luz solar, sendo muito importante à profundidade da lagoa para a penetração da radiação solar na coluna d'água. Segundo os mesmos autores, muitos fatores afetam a penetração de luz na lagoa e, conseqüentemente, a exposição dos microrganismos a radiação, destacando-se a profundidade, a concentração de algas e o regime de mistura.

Os componentes do espectro solar responsáveis pela inativação de bactérias abrangem a radiação UVB (290-320nm), a radiação UVA (320-400nm) e a luz do azul para verde claro (400-550nm). Todos esses três componentes da luz solar contribuem, aproximadamente, da mesma forma para inativação de bactérias do grupo *Enterococci* e RNA-F fagos, mas UVB é mais eficiente na remoção de *E. coli* e RNA-F fagos (Davies-Colley *et al.*, 1999).

A forte interação entre parâmetros ambientais como OD e pH podem intensificar a inativação dos microrganismos pela radiação solar; por exemplo, a remoção de *E. coli* é dependente da ligação entre a radiação solar e as concentrações de OD na lagoa e, também ocorre um aumento significativo na inativação se o pH for superior a 8,5 (Davies-Colley *et al.*, 1997).

Curtis *et al.* (1992) atribuíram a inativação de coliformes fecais em lagoas terciárias à presença de substâncias húmicas em todo o volume de água provocando a adsorção da luz solar e a utilização da energia para transformar o oxigênio dissolvido em formas tóxicas, como o peróxido de hidrogênio ou, provavelmente, superóxidos e radicais hidroxil. Esse mecanismo (fotoxidação) promove a destruição da membrana interna, responsável por manter o pH interno das bactérias entre 7,6 e 7,8. Os autores verificaram que para o maior comprimento de onda (440nm) adsorvido pelas substâncias húmicas, não houve dano aos coliformes fecais em concentrações de pH inferiores a 8,0. Então, sugeriram que o dano causado às células bacterianas pela luz solar faz com que esses microrganismos apresentem maior sensibilidade aos efeitos de outros fatores, como concentrações de OD e níveis de pH elevados.

Apesar de existir um consenso geral sobre a atuação do tempo de retenção hidráulico na remoção de microrganismos patogênicos nas LEEs, este aspecto não tem sido muito abordado em literatura. Normalmente, a sobrevivência das bactérias exclusivamente do trato intestinal é reduzida quando estas estão fora do seu ambiente natural, exceto para as formas de resistência, tais como os esporos produzidos por determinadas espécies, os quais apresentam resistência prolongada sob condições adversas. Entretanto, o TRH isoladamente não é suficiente para a inativação satisfatória dos microrganismos nas lagoas, existindo a necessidade de uma ação

conjunta com outros fatores. Pearson *et al.* (1996) reduziram a remoção de coliformes fecais quando aumentaram a profundidade de lagoas terciárias com o propósito de elevar o TRH.

De fato, o aumento do TRH proporciona um tempo maior de exposição das bactérias patogênicas às condições ambientais de radiação solar, herbivoria, altas concentrações de OD, pH, entre outros fatores citados anteriormente. Mas, para que todos esses fatores atuem sobre as bactérias, deve haver penetração de luz solar ao longo da coluna d'água.

A maioria dos estudos sobre a eliminação dos organismos patogênicos em lagoas de maturação é realizada utilizando-se os indicadores coliformes fecais. No entanto, Mezrioui *et al.* (1994) verificou que as bactérias *E. coli* e *Vibrio cholerae* sobrevivem diferentemente sobre as mesmas condições. Em altas temperaturas e atividade algal, *Vibrio cholerae* apresentou maior resistência ou menor decaimento em relação a *E. coli* em lagoas de maturação. Estes resultados estampam a cautela necessária quando se avalia os riscos à saúde baseando-se apenas nos organismos indicadores de contaminação fecal.

Poucos estudos sobre a remoção de vírus em lagoas terciárias foram desenvolvidos. Muitos autores concordam que o principal mecanismo de remoção dos vírus nessas unidades consiste na adsorção destes junto aos sólidos (Lewis *et al.*, 1986; Ohgaki *et al.*, 1986). Vasl e Kott (1982) *apud* Maynard *et al.* (1999) observaram remoção de 60% a 100% dos vírus por adsorção ao material particulado. Se houver remoção dos sólidos suspensos do efluente, a remoção de vírus será efetiva. Há evidências, também, da inativação de polivírus em altos níveis de pH (Funderberger *et al.*, 1978 *apud* Maynard *et al.*, 1999).

Na avaliação da remoção de parasitas intestinais poucos estudos foram conduzidos, principalmente, pelas dificuldades analíticas e a baixa confiabilidade dos métodos de detecção e quantificação existentes. Para os cistos de protozoários, destacando-se *Giardia* e o oocisto de *Cryptosporidium* e os ovos de nematóides, especialmente *Ascaris lumbricoides* há um consenso de que o único mecanismo de remoção destes nas lagoas consiste na sedimentação, pois essas formas são extremamente resistentes as mais variadas condições ambientais podendo, no caso do ovo de *Ascaris*, persistirem no ambiente por vários anos. As velocidades de sedimentação para ovos de *Ascaris* e cistos de *Giardia* são de 65cm/h (Shuval *et al.*, 1986 *apud* Bouhoum *et al.*, 2000) e 1cm/h (Sauch, 1984 *apud* Bouhoum *et al.*, 2000), respectivamente. Desta forma, o lodo sedimentado no fundo das lagoas de estabilização pode conter muitos ovos e cistos viáveis de parasitas intestinais e no caso de ressuspensão desse material, ocorrerá ressuspensão dos ovos e

cistos. Bouhoum *et al.* (2000) estudando um sistema piloto de lagoas de estabilização em Marraquech – Marrocos (lagoa aeróbia + lagoa facultativa + lagoa de maturação) com TRH total de 16 dias durante dois anos, obteve remoção de 100% para ovos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris*, *Enterobius* e *Hymenolepis* e 99% para *Giardia*, *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba coli*. Os mesmos autores verificaram que a maior parte dos cistos e ovos estavam no lodo das duas primeiras lagoas. Resultados similares também foram obtidos na França (Grimason *et al.*, 1996; Wiandt *et al.*, 2000).

A literatura relata vários fatores que garantem o decaimento bacteriano em lagoas de estabilização, conforme discutido anteriormente. Trabalhos têm sido desenvolvidos para a identificação da proporção da atuação dos fatores isoladamente ou agrupados, em alguns casos. Entretanto, nesses sistemas abertos sujeitos a inúmeras condições físicas, químicas e biológicas, as reduções de coliformes fecais resultam do efeito sinérgico de todos esses fatores (König, 1990), sendo por isso, difíceis de quantificar e modelar.

Nos últimos anos o reúso das águas vêm sendo enfatizado devido ao aumento da demanda por água potável e o declínio da qualidade dos recursos hídricos disponíveis. Nessa perspectiva, os efluentes produzidos nas lagoas terciárias de tratamento de esgotos têm sido utilizados, em vários países, na irrigação, aquicultura, reflorestamento e recarga de aquíferos. A principal característica que contribui para esse fato diz respeito à alta qualidade sanitária atingida durante o tratamento nessas unidades. Outros importantes fatores são a disponibilidade de nutrientes inorgânicos, os quais podem ser aproveitados na irrigação de vegetais e, as altas densidades de fitoplâncton e zooplâncton que podem alimentar muitas espécies de peixes.

As lagoas de maturação são, classicamente, idealizadas e projetadas para promoverem a remoção de organismos indicadores de contaminação fecal. Os primeiros modelos de dimensionamento previam o decaimento das bactérias termotolerantes obedecendo a uma cinética de primeira ordem, aplicáveis a reatores de mistura completa. Marais (1974) *apud* Mara *et al.* (1992), destacam que este comportamento pode ser matematicamente expresso conforme a equação 11:

$$N_e = \frac{N_i}{1 + K_T TRH} \quad (11)$$

Onde: N_e = número de coliformes fecais por 100mL no efluente; N_i = número de coliformes fecais por 100mL no afluente; K_T = constante de primeira ordem para a remoção de coliformes fecais (d^{-1}); TRH = tempo de retenção hidráulico (d).

Contudo, na prática a mistura dos efluentes em uma lagoa é parcial (Cavalcanti *et al.*, 2001) sendo necessário, portanto, identificar e modelar o decaimento dos coliformes para os demais regimes hidráulicos possíveis em uma lagoa, quais sejam: fluxo pistão, mistura completa em série e fluxo disperso, conforme segue:

- decaimento de coliformes fecais para regime hidráulico fluxo em pistão (equação 12):

$$N_e = N_i e^{-K_T TRH} \quad (12)$$

- decaimento de coliformes fecais para regime hidráulico mistura completa células em série (equação 13):

$$N_e = \frac{N_i}{\left(1 + K_T TRH/n\right)^n} \quad (13)$$

- decaimento de coliformes fecais para regime hidráulico disperso (equações 14 e 15):

$$N_e = N_i \times \frac{4ae^{1/2d}}{(1+a)^2 e^{a/2d} - (1-a)^2 e^{-a/2d}} \quad (14)$$

$$a = \sqrt{1 + (4 \times K_T \times TRH \times d)} \quad (15)$$

Onde: N_e = número de coliformes fecais por 100mL no efluente; N_i = número de coliformes fecais por 100mL no afluente; K_T = constante de primeira ordem para a remoção de coliformes fecais (d^{-1}); TRH = tempo de retenção hidráulico (d); n = número de lagoas em série; d = número de dispersão (adimensional).

Mara *et al.* (1992) destacam que na grande maioria das vezes as lagoas de estabilização são idealizadas em conjunto, obedecendo a seqüência lagoa anaeróbia, facultativa e de maturação, sendo, portanto, necessário levar em consideração no dimensionamento da lagoa de maturação a previsão de decaimento de coliformes fecais obtido nas lagoas a montante. Considerando estes fatores, os autores recomendam o dimensionamento da lagoa de maturação conforme a equação 16:

$$N_e = \frac{N_i}{\left(1 + K_T TRH_a\right) \times \left(1 + K_T TRH_f\right) \times \left(1 + K_T TRH_m\right)^n} \quad (16)$$

Onde: N_e e N_i são o número de coliformes fecais por 100mL no efluente e no afluente, respectivamente; TRH = tempo de retenção hidráulico (d); os índices subscritos a, f e m são

referentes às lagoas anaeróbias, facultativas e maturação, respectivamente; n = número de lagoas de maturação.

Von Sperling *et al.* (2003), destacam que pelo fato de o regime hidráulico fluxo em pistão ser aquele que conduz a mais elevada eficiência de remoção de constituintes que seguem a cinética de primeira ordem, deve-se buscar na prática a configuração de lagoas que se aproximem desse regime idealizado. Essa aproximação, reforçam os pesquisadores, é alcançada com lagoas alongadas, onde a relação entre o comprimento – L e a largura – B seja maior que 5 vezes ($L/B > 5$), ou em casos em que se dispõe de chicanas nas referidas lagoas de maturação, ou ainda, utilizando uma série de lagoas (série de 3 a 5 lagoas quadradas ou retangulares).

Como visto nas equações supracitadas (11 a 16), o dimensionamento das lagoas de maturação é regido, dentre outros parâmetros, pela constante de primeira ordem para a remoção de coliformes fecais (K_T , dada em d^{-1}), também conhecido como coeficiente de decaimento bacteriano (K_b). Inúmeros estudos descrevem o comportamento do decaimento bacteriano, sendo que este é dependente de vários fatores, entre os mais consideráveis: a temperatura, a profundidade da lagoa e o pH do efluente na lagoa.

Cavalcanti *et al.* (2001), destacam que para avaliar a influência da temperatura a maioria dos pesquisadores usa a expressão de Arrhenius, tendo-se normalmente o valor de K_T ou K_b a 20°C como referência, sendo este coeficiente expresso por (equação 17):

$$K_{bT} = K_{b20} \times \varphi^{(T-20)} \quad (17)$$

Onde: K_{bT} = coeficiente de decaimento para qualquer temperatura (d^{-1}); K_{b20} = coeficiente de decaimento na temperatura 20°C (d^{-1}); φ = coeficiente experimental dependente da temperatura (variando entre 1,07 e 1,20).

Diferentes valores de K_T ou K_b e de φ são relatados na literatura, conforme destacado na Tabela 5.

Tabela 5: Valores dos coeficientes K_T ou K_b e TRH, obtidos por diferentes pesquisadores.

Referência	Temperatura de referência ($^\circ\text{C}$)	Valor de K_T ou K_b (d^{-1})	Valor de TRH
Marais (1974)	20	2,60	1,20
Sherry e Parker (1979)	20	1,50	1,06
Klock (1971)	20	1,10	1,07
Yanez (1993)	20	0,84	1,07

Fonte: Cavalcanti *et al.* (2001).

A profundidade da lagoa de maturação, como citado anteriormente, também exerce grande influência em K_T ou K_b , onde as lagoas mais rasas possuem maiores valores do coeficiente de decaimento bacteriano em razão dos diferentes aspectos, tais como: (i) maior atividade fotossintética na coluna d'água, conduzindo a maiores valores de OD e pH; (ii) maior penetração da radiação UV na coluna d'água. Contudo, deve-se analisar o efeito combinado das lagoas mais rasas: K_T ou K_b é maior, mas o tempo de retenção hidráulico é menor (para uma dada área superficial). O impacto no produto entre o coeficiente de decaimento e o tempo de retenção pode ser avaliado através das fórmulas apresentadas para os diferentes regimes hidráulicos (Von Sperling *et al.*, 2003).

Diferentes valores de K_T ou K_b , em função da profundidade da lagoa e do regime hidráulico, são destacados na Tabela 6.

Tabela 6: Valores do coeficiente de decaimento bacteriano obtidos a 20°C, para lagoas facultativas e de maturação, segundo os modelos de fluxo disperso e de mistura completa.

Tipo de Lagoa	TRH (d)	Profundidade (m)	Relação L/B	K_T ou K_b (d^{-1}) Fluxo disperso	K_T ou K_b (d^{-1}) Mistura completa
Facultativa	10 a 20 20 a 40	1,5 a 2,0	2 a 4	0,2 a 0,3	0,4 a 1,6 1,6 a 5,0
Maturação (sem chicanas, lagoas em série)	3 a 5 (em cada lagoa)	0,8 a 1,0	1 a 3	0,4 a 0,7	0,6 a 1,2
Maturação (com chicanas, lagoa única)	10 a 20	0,8 a 1,0	6 a 12	0,4 a 0,7	Não Recomendado
Maturação (com chicanas, lagoas em série)	3 a 5 (em cada lagoa)	0,8 a 1,0	6 a 12	0,4 a 0,7	Não Recomendado

Fonte: Von Sperling *et al.* (2003).

A partir do dimensionamento da lagoa de maturação, pode-se quantificar matematicamente a remoção do nitrogênio amoniacal do efluente tratado nesta lagoa, empregando-se modelos numéricos obtidos por diferentes pesquisadores. Pano e Middlebrooks (1982) apresentam duas equações que descrevem a remoção de nitrogênio amoniacal ($NH_3 + NH_4^+$), conforme segue:

- para temperaturas abaixo de 20°C (equação 18):

$$C_e = \frac{C_i}{1 + \left[\left(\frac{A}{Q} \right) \times (0,0038 + 0,000134T) \times e^{(1,041 + 0,044T) \times (pH - 6,6)} \right]} \quad (18)$$

- para temperatura acima de 20°C (equação 19):

$$C_e = \frac{C_i}{1 + \left\{ \left[5,035 \cdot 10^{-3} \times \left(\frac{A}{Q} \right) \right] \times e^{[1,540 \times [pH - 6,6]]} \right\}} \quad (19)$$

Onde: C_e = concentração de nitrogênio amoniacal no efluente (mg/L); C_i = concentração de nitrogênio amoniacal no afluente (mg/L); A = área da lagoa (m^2); T = temperatura ($^{\circ}C$); Q = vazão afluente (m^3/d)

Reed (1985) *apud* Mara *et al.* (1992) apresenta uma equação para a remoção de nitrogênio amoniacal, conforme segue (equação 20):

$$C_e = C_i \times e^{\left\{ - \left[0,0064 \times (1,039)^{T-20} \right] \times [TRH + 60,6 \times (pH - 6,6)] \right\}} \quad (20)$$

Onde: C_e = concentração de nitrogênio amoniacal no efluente (mg/L); C_i = concentração de nitrogênio amoniacal no afluente (mg/L); T = temperatura (faixa de 1 a $28^{\circ}C$); TRH = tempo de retenção hidráulico (faixa entre 5 a 231 d).

O valor de pH apresentado na equação 20, descrita por Reed (1985) *apud* Mara *et al.* (1992), pode ser estimado conforme expresso na equação 21:

$$pH = 7,3 \times e^{0,0005 \times A} \quad (21)$$

Onde: A = alcalinidade do afluente (mg $CaCO_3/L$)

Pelo monitoramento realizado em lagoas de maturação localizadas no Brasil, Índia e Kenia, estudadas por Ayres *et al.* (1992) *apud* Mara *et al.* (1992), pode-se prever a remoção de ovos de helmintos através da equação 22:

$$R = 100 \times \left[1 - 0,41 \times e^{(-0,38 \times TRH)} \right] \quad (22)$$

Onde: R = percentagem de remoção de ovos de helmintos; TRH = tempo de retenção hidráulico (d).

2.1.3. Lagoas com Biofilme ou Perifiton

O termo perifiton (periphyton) foi designado por ecólogos para definir um *microhabitat*, conforme considera Wetzel (1983): “complexa comunidade de microbiota (algas, bactérias, protozoários, animais, detritos orgânicos e inorgânicos) agregada a um substrato orgânico ou inorgânico, vivo ou morto”. Os estudos sobre perifiton em ecossistemas aquáticos naturais desenvolveram-se tanto em substratos naturais, folhas de plantas, troncos caídos na água, como

em artificiais, placas de vidro, madeira, acrílico, PVC, lata, etc. Um dos maiores problemas em relação aos substratos naturais é o emprego de um método satisfatório para a determinação de sua área.

Os trabalhos de vários autores (Panitz, 1980; Chamixais, 1991; Bento, 1997) mostram que a taxa de crescimento do perifiton em substratos artificiais segue uma curva sigmóide, da qual a parte mais inferior representa o crescimento inicial da colonização do substrato, a parte superior representa o crescimento de uma comunidade madura.

Na colonização de substratos em ambientes de correnteza há uma efetiva seleção por espécies com mecanismos próprios de fixação, enquanto que em ambientes lênticos, a colonização é menos restritiva (Miranda, 1996).

A comunidade de organismos que vive aderida a diferentes substrato pode desempenhar um papel fundamental na dinâmica dos ecossistemas aquáticos, podendo-se enumerar os seguintes itens:

- em muitos ecossistemas o perifiton pode contribuir com cerca de 70% a 80% de matéria orgânica para a **produtividade total** (Wetzel, 1975);
- os organismos desta comunidade apresentam uma **alta taxa de reciclagem de nutrientes** e uma ampla distribuição geográfica, proporcionando desta forma, abrigo e alimento para vários organismos, principalmente peixes (Panitz, 1980);
- o perifiton **pode proteger as macrófitas hospedeiras** da ação direta dos herbívoros;
- os organismos perifíticos que apresentam forma fixa são menos sujeitos à ação de correntes e movimentos da água, podendo constituir-se em melhores **indicadores biológicos da qualidade de água** do que do próprio plâncton (Miranda, 1996);
- os organismos perifíticos apresentam relação volume/superfície grande podendo desta forma **acumular certas substâncias** como DDT, Dietrin, ^{32}P , ^{65}Zn (Cushing, 1967). Portanto, são importantes tanto do ponto de vista radiológico como ecológico;
- a comunidade perifítica pode ser **utilizada no pré-tratamento de águas residuárias**, face a sua capacidade de remover nutrientes (Sladecová, 1962);

- o grau de produtividade primária desta comunidade também pode ser utilizado como mais um fator na **classificação trófica dos lagos** (Sladecková, 1962).

Os organismos perifíticos causam problemas na colmatação de filtros em estações de tratamento de água, corrosão de comportas, pilares de pontes e cascos de embarcações e também colonizam decantadores e piscinas, acarretando dispêndios consideráveis ao processo de tratamento (Sladecková, 1962; Chamixaes, 1991).

A comunidade perifítica coloniza muitos *habitats* de rios e lagos e tem sido utilizada como indicador biótico das características do ambiente e para biomonitoramento (Miranda, 1996).

O perifiton pode ser classificado em classes conforme a quantidade de massa seca, cinzas e clorofila *a* que o constituem (Tabela 7). Estas classes são indicativas das características tróficas do ambiente aquático.

Tabela 7: Classificação do perifiton

TIPO	MASSA SECA	g/m²
I	Elevada biomassa	> 40
II	Média biomassa	20 - 40
III	Pouca biomassa	< 20
TIPO	CINZAS	g/m²
I	inorgânico	> 75
II	predominantemente inorgânico	50 - 75
III	predominantemente orgânico	25 - 50
IV	orgânico	< 25
TIPO	CLOROFILA <i>a</i>	Relação entre massa seca algal / massa seca total
I	Autotrófico	> 0,60
II	Auto-heterotrófico	0,25 - 0,60
III	Hetero-autotrófico	0,10 - 0,25
IV	Heterotrófico	< 0,10

Fonte: Adaptado de Lakatos, 1989.

Na Engenharia Ambiental utiliza-se o termo biofilme em substituição ao termo perifiton para designar a biomassa que cresce aderida a suportes introduzidos em sistemas de tratamento de águas e esgotos. Então, de maneira genérica, perifiton é empregado por liminólogos e ecólogos nos estudos de ambientes lóticos e lênticos naturais, enquanto o termo biofilme é utilizado na Engenharia Ambiental.

Pesquisas sobre a diversidade, a dinâmica e o papel da comunidade perifítica em ecossistemas aquáticos naturais têm sido conduzidos desde 1900. Em lagoas de estabilização de esgotos, raros são os trabalhos desenvolvidos nesta área e, somente na última década, percebeu-se que essa comunidade pode contribuir na reciclagem dos compostos presentes nas águas residuárias tratadas em lagoas.

As superfícies para desenvolvimento de biofilmes em LEEs constituem um *microhabitat* colonizado por uma ampla variedade de espécies de bactérias e algas, e também protozoários e micrometazoários. Os principais organismos responsáveis pelo tratamento dos esgotos (as bactérias) são encontrados, predominando, no perifiton de ambientes aquáticos naturais, indicando a preferência destes pelo crescimento sobre alguma superfície (Henrici, 1933 *apud* Toole *et al.*, 2000).

A complexa comunidade que compõe o biofilme em lagoas de estabilização interage entre si e com o meio, assumindo grande importância na atuação da maioria dos processos dentro do sistema aquático e agindo de forma positiva no aumento da performance do tratamento dos esgotos.

As LEEs com biofilmes têm sido pesquisadas e idealizadas para aumentar a eficiência do tratamento de esgotos em lagoas facultativas em relação à remoção de amônia, tendo em vista a satisfatória performance dessas unidades na remoção de matéria orgânica e patógenos. Dessa forma, dentre os poucos trabalhos que foram publicados sobre o assunto, a maioria enfatiza a importância dos suportes para o desenvolvimento de biofilme microbiano capaz de promover uma efetiva nitrificação nas lagoas facultativas, destacando-se as pesquisas de Baskaram *et al.* (1992) que avaliaram a remoção de nitrogênio em LEEs com biofilmes; Scott *et al.* (1994) aumentaram a taxa de nitrificação adicionando suportes para biofilmes em lagoas rasas na Austrália; Polprasert e Agarwalla (1995) observaram a importância da atividade do biofilme em lagoas facultativas na Tailândia; Polprasert e Sookhanich (1995) investigaram a capacidade do biofilme em lagoas na biodegradação de compostos fenólicos; Muttamara e Puetpaiboon (1996), também na Tailândia, verificaram a remoção de nitrogênio em lagoas com chicanas para desenvolvimento de biofilme; Rakkoed *et al.* (1999) pesquisaram em laboratório o aumento da eficiência na remoção de nitrogênio de esgoto de uma indústria de borracha na Tailândia, utilizando suportes inertes em lagoas facultativas; Mclean *et al.* (2000) na Austrália, estudaram a capacidade de nitrificação em lagoas com biofilme tratando esgoto da cidade de Melbourne; Craggs *et al.* (2000) verificaram o potencial da nitrificação em lagoas facultativas com biofilmes

tratando esgoto de fazendas de produção de leite na Nova Zelândia e mais recentemente, Zancan Filho *et al.* (2004), em Porto Alegre, Brasil, avaliaram a capacidade de remoção de algas no efluente de lagoas facultativas e de maturação com suportes para biofilme.

Existe ainda muita discordância sobre os mecanismos responsáveis pela remoção do nitrogênio nas LEEs, no entanto, muitos pesquisadores concordam que a nitrificação e a desnitrificação não exercem o papel principal devido à ausência de áreas de suporte suficientes para a adesão das bactérias nitrificantes (Stone *et al.*, 1975; Ferrara, 1982; Mara e Pearson, 1986; Mara *et al.*, 1992; Maynard *et al.*, 1999; Craggs *et al.*, 2000).

Muttamara e Puetpaiboon (1996), conforme citado anteriormente, relataram o aumento da remoção da amônia quando chicanas foram utilizadas, neste caso, para aumentar a área de suporte dos microrganismos em lagoas facultativas, mas, ao final do experimento concluíram que a volatilização da amônia constituiu no principal mecanismo de remoção. Inúmeros autores têm concluído que a volatilização da amônia é o principal caminho para remoção do nitrogênio dos esgotos nas lagoas (Silva *et al.*, 1995; Soares *et al.*, 1996; Maynard *et al.*, 1999). Na superfície das lagoas aeróbias, em épocas quentes, atinge-se valores de pH superiores a 10, favoráveis a volatilização da amônia. Entretanto, Ferrara e Harleman (1981) e Mara *et al.* (1992) reportaram a sedimentação do nitrogênio assimilado pelas algas como a principal forma de remoção de nitrogênio em lagoas secundárias e terciárias. Também, Zimmo *et al.* (2003) concluíram que as lagoas aeróbias perdem, por volatilização, concentrações inferiores a 1,5% da concentração de nitrogênio afluente.

De fato, existem muitas contradições sobre os principais mecanismos atuantes na redução do nitrogênio nas lagoas de estabilização. Estes ambientes são heterogêneos e a realização de um balanço de massa é praticamente inviável em escala real, sendo necessário para tanto, a mensuração do nitrogênio nas suas diferentes formas e em diferentes profundidades, em diferentes épocas do ano, do dia, análises no lodo e o controle do nitrogênio que volatiliza, entre outros.

A assimilação da amônia pela biomassa algal como fonte de nutrientes, também, contribui na redução da amônia dos esgotos durante o tratamento nas lagoas aeróbias. Segundo Reed (1985) *apud* Mara *et al.* (1992), aproximadamente 5% da amônia afluente é removida pela assimilação algal nas lagoas aeróbias, excluindo-se as lagoas de alta taxa, onde esse percentual é mais elevado.

De acordo com WPC (1983), de 3% a 10% da biomassa algal é composta por nitrogênio, então a remoção de nitrogênio por assimilação algal é diretamente proporcional à produção de algas nas lagoas, ou seja, quanto maior a produção, maior será também a assimilação. Nas lagoas aeróbias, normalmente têm-se concentrações de SS superiores a 100mg/L, estimando que destes, 90% sejam biomassa algal (Mara, 2003), tem-se 90mg de algas e 9mg de nitrogênio, cerca de 18% do nitrogênio afluente (considerando 50mgNTK/L dos esgotos domésticos).

Usualmente, as bactérias nitrificantes estão presentes nas LEEs aeróbias em baixa densidade, e quando presentes em elevadas densidades, a nitrificação ocorre intermitentemente durante um período de tempo imprevisível (Stone *et al.*, 1975; Ferrara, 1982; Constable *et al.*, 1989; Craggs *et al.*, 2000). Segundo Stone *et al.* (1975), o principal fator limitante da nitrificação em lagoas facultativas constitui na ausência de superfícies permanentemente aeróbias para colonização das bactérias responsáveis pelo processo, as quais crescem melhor quando aderidas a superfícies aeróbias do que quando suspensas na coluna d'água. Mas então, como a nitrificação ocorre em sistemas de tratamento de esgotos por lodos ativados contendo zonas anóxicas intercaladas com zonas aeróbias? O lodo nesses sistemas está parte do tempo sob condições aeróbias e outra parte, sob condições anóxicas.

Muitos fatores podem limitar a nitrificação nas lagoas aeróbias, tais como as flutuações de pH e OD, a presença de toxinas produzidas por algas e cianobactérias, a intensidade de luz, entre outros. Porém, ainda não há comprovação científica da atuação desses fatores sobre as bactérias nitrificantes nas lagoas.

Obviamente, é sabido da faixa restrita de pH necessária ao desenvolvimento das bactérias nitrificantes, mas sabe-se também que elas são mais sensíveis a meio ácido em detrimento de meio alcalino e nas lagoas aeróbias o pH varia de neutro a básico. Segundo Diab *et al.* (1993), as bactérias nitrificantes têm capacidade de sobreviver em condições anóxicas, mas a nitrificação somente ocorrerá após 24 horas do estabelecimento de condições aeróbias estáveis. Acredita-se que esse longo período de aclimação (fase lag) seja um mecanismo de proteção para garantir que o processo ocorra exclusivamente se prevalecerem condições aeróbias durante longos períodos, o que é energeticamente vantajoso para esses microrganismos. Provavelmente, haveria uma maior demanda energética se as nitrificantes iniciassem a nitrificação imediatamente à presença de oxigênio. Por esses motivos, apontam os autores supracitados, dificilmente tem-se nitrificação em lagoas facultativas, as quais sofrem substancial variação nos níveis de oxigênio dissolvido durante o dia, com períodos de supersaturação nas horas de maior intensidade de luz

solar e, períodos de anoxia durante a noite. Dessa forma, a inibição da nitrificação em LEEs estaria relacionada com as flutuações entre condições aeróbias e anóxicas na lagoa e a curta duração da fase aeróbia (menor que 24h).

Outro importante fator que afeta a nitrificação em reatores aeróbios, inclusive nas lagoas de estabilização, compreende a desvantagem metabólica relacionada à menor velocidade de crescimento das bactérias nitrificantes em relação as heterotróficas (WPC, 1983). Assim, a manutenção de uma população de nitrificantes estáveis no reator biológico, depende da concentração de matéria orgânica disponível às heterotróficas. Em elevadas relações DBO₅/microrganismos, as heterotróficas apresentam vantagem na competição pelo oxigênio, não permitindo o desenvolvimento das nitrificantes no reator.

A incorporação de superfícies (suportes ou chicanas) nas camadas aeróbias das LEEs promove o estabelecimento das bactérias nitrificantes e a manutenção da taxa de nitrificação durante o tratamento de esgotos domésticos e industriais (Constable *et al.*, 1989; Baskaran *et al.*, 1992; Diab *et al.*, 1993; Polprasert e Agarwalla, 1995; Muttamara e Puetpaiboon, 1997). Constable *et al.* (1989) e Baskaran *et al.* (1992) verificaram que o biofilme bactério-algal é mais eficiente na nitrificação do que o biofilme exclusivamente bacteriano, provavelmente devido às algas constituírem uma adicional superfície para adesão das bactérias.

Em literatura especializada encontra-se uma ampla variação da capacidade de nitrificação obtida em lagoas com biofilmes, variando de 0,16 a 2,17gN/m² de suporte por dia (Craggs *et al.*, 2000; Mclean *et al.*, 2000). Muitos fatores estão relacionados com a capacidade de nitrificação dos biofilmes, tais como a profundidade dos suportes na lagoa, as cargas aplicadas, a disponibilidade de oxigênio e a temperatura. Na Tabela 8, encontram-se algumas informações obtidas a partir dos dados disponíveis nos trabalhos relacionados.

O biofilme ou o perifiton em suportes inertes nas lagoas de estabilização acelera a biodegradação dos substratos e como resultado tem-se a produção de efluentes com menores concentrações de DQO e DBO₅, em detrimento das lagoas sem biofilmes (Rakkoed *et al.*, 1999; Craggs *et al.*, 2000; Sukias *et al.*, 2002). Os mesmos autores observaram que a biomassa aderida nos suportes contribui para a redução dos sólidos em suspensão durante o tratamento nas lagoas, no entanto, não se tem conhecimento sobre os mecanismos que atuam neste aspecto. Craggs *et al.* (2000), aponta o efeito do sombreamento provocado pelo suporte, como uma possível causa. Também,

os suportes constituem uma barreira física que provoca a “quebra” do fluxo superficial contribuindo na decantação do material particulado.

Tabela 8: Comparação entre diferentes sistemas de lagoas com biofilmes aplicados ao tratamento de esgotos.

Material suporte	Carga aplicada	Relação área do suporte com volume ou área superficial da lagoa	Taxa de nitrificação por área de suporte gN/m ² .d	Remoção média de amônia (%) principalmente pela nitrificação	Referência
PVC	15 gDQO/m ² .d	8-31m ² /m ²	2,14 (máxima)	60	Scott <i>et al.</i> , 1994 Austrália
Polipropileno e HDPE	Não disponível	Não disponível	0,16 a 1,23	72	Craggs <i>et al.</i> , 2000 Nova Zelândia
PVC (laboratório)	23-47 gDQO/m ³ .d	15-62m ² /m ³	2,1 (máxima)	60% (no período quente)	Mclean <i>et al.</i> , 2000 Austrália
Geotextil (piloto)	16-24 gDQO/m ³ .d	1,3-3,1m ² /m ³	0,96	50% melhor que a controle	
Plástico	25-61 gDQO/m ³ .d	29m ² /m ³	Não disponível	41-83	Rakkoed <i>et al.</i> , 1999 Tailândia
PVC (laboratório)	5-20 gDQO/m ² .d	0,6-1,9m ² /m ²	Não disponível	81-94	Muttamara e Puetpaiboon, 1997 Tailândia
Chicanas concreto (piloto)				72 – 78	

Não se têm dados concretos sobre a performance das lagoas com biofilme em relação a redução de DBO₅, DQO e SS. A maioria dos trabalhos publicados enfatiza a oxidação da amônia, apresentando os dados quantitativos, mas em relação aos demais parâmetros, somente descrevem qualitativamente que as lagoas com biofilmes foram mais eficientes do que as lagoas convencionais.

Zancan Filho *et al.* (2004) compararam a eficiência de 4 sistemas de lagoas, todas compostas por 1 lagoa facultativa + 1 lagoa de maturação + 1 lagoa de maturação, operadas em série. No 1º sistema experimental todas as lagoas estavam sem suportes para biofilme. No 2º, somente a primeira lagoa continha suportes, no 3º sistema, a primeira e a segunda lagoa continham suportes e no 4º, adicionou-se suportes em todas as 3 lagoas. O TRH de cada sistema foi o mesmo, 47 dias e o afluente foi o efluente de uma lagoa anaeróbia de tratamento de esgotos domésticos. Os resultados evidenciaram a melhor performance nas séries contendo 2 e 3 lagoas com biofilmes e a remoção máxima foi obtida no sistema contendo suportes em todas as unidades (Tabela 9).

Tabela 9: Quadro comparativo entre sistemas de lagoas sem e com biofilmes aplicados ao tratamento de esgotos. Série de lagoas composta por uma lagoa anaeróbia seguida por uma facultativa e uma última de maturação.

Sistema	Remoção (%)			
	DBO ₅	turbidez	P total	Ortofascato
1° série de lagoas (sem biofilme)	16	86	83	84
2° série de lagoas (1° lagoa com biofilme)	16	84	80	92
3° série de lagoas (1° e 2° com biofilme)	46	91	87	94
4° série de lagoas (1°, 2° e 3° com biofilme)	59	89	88	97

Fonte: Zancan filho *et al.* (2004).

Pelo exposto até o momento, pode-se destacar muitas vantagens da presença da comunidade perifítica nas lagoas aeróbias de tratamento de esgotos, as quais:

- **maior remoção de nutrientes** – as algas perifíticas capturam nutrientes mais rapidamente do que as algas plantônicas (Hoffmann, 1998);
- **ocorrência de nitrificação** – pelo estabelecimento das bactérias nitrificantes nos suportes (Constable *et al.*, 1989; Baskaran *et al.*, 1992; Diab *et al.*, 1993; Polprasert e Agarwalla, 1995; Muttamara e Puetpaiboon, 1997; Craggs *et al.*, 2000);
- **maior concentração de biomassa ativa na lagoa** – aumento do tempo de retenção dos microrganismos que constituem o perifiton;
- **menores oscilações na qualidade do efluente final** – o perifiton apresenta maior resistência às variações de temperatura, pH e intensidade de luz em detrimento da comunidade plantônica (Hoffmann, 1998);
- **produção de efluente com melhor qualidade** – demonstrado em alguns trabalhos (remoção de SS e nitrificação);

- *maior capacidade de remoção de metais pesados, compostos e elementos nocivos* – as algas perifíticas apresentam maior relação volume/superfície podendo acumular maiores quantidades de vários compostos.

Devido a escassez de trabalhos publicados sobre as lagoas com biofilmes e a variedade de diferentes resultados que vêm sendo obtidos, ainda não existem informações suficientes que permitam apontar parâmetros para o dimensionamento desses sistemas.

2.2. PRINCIPAIS TRANSFORMAÇÕES BIOQUÍMICAS EM LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO DE ESGOTOS

No tratamento biológico de esgoto há uma interação de diversos mecanismos, alguns ocorrendo simultaneamente e outros sequencialmente. A atividade microbiana principia-se no próprio sistema de coleta e interceptação de esgotos e atinge seu máximo na estação de tratamento, onde o objetivo principal consiste na oxidação ou fermentação da matéria carbonácea. Dessa forma, os processos biológicos de tratamento funcionam de modo a proporcionarem um ambiente favorável ao crescimento maximizado das células microbianas, responsáveis pela reciclagem da matéria orgânica e dos nutrientes. As reações que ocorrem durante o processo são determinadas pelo metabolismo das espécies presentes no sistema.

Nas lagoas de estabilização ocorrem inúmeros processos bioquímicos envolvidos na ciclagem da matéria orgânica e dos nutrientes. Cada tipo de lagoa propicia a predominância de uma ou mais reações bioquímicas. Na Tabela 10 apresenta-se resumidamente, as reações, substratos característicos, produtos finais e requisitos ambientais dos quatro principais tipos de reações biológicas que ocorrem nas lagoas de estabilização com adição da nitrificação e a desnitrificação.

Dada sua importância ao processo biológico de tratamento de esgotos, apresenta-se na sequência do estudo uma revisão mais detalhada sobre o metabolismo do carbono, nitrogênio, fósforo.

Tabela 10: Características e fatores ambientais das principais transformações bioquímicas envolvidas no tratamento em lagoas de estabilização.

REAÇÃO BIOLÓGICA	CARACTERÍSTICAS					FATORES AMBIENTAIS			
	Organismos	Substratos	Principais produtos	Tempo requerido (dias)*	Odores produzidos	Temperatura (°C) Permissível Adequada**	OD	pH	Necessidade de luz
Oxidação aeróbia	Bactérias aeróbias	Carboidratos Proteínas	CO ₂ NH ₃	5 – 10	nenhum	0 – 40 15 - 30	Sim	7,0 – 9,0	Não
Redução Fotossintética	Algas	CO ₂ NH ₃ PO ₄ ³⁻	O ₂	10 – 20	nenhum	4 – 40 15 - 25	Sim	6,5 – 10,5	Sim
Fermentação ácida	Bactérias facultativas heterotróficas	Carboidratos Proteínas Gorduras	Ácidos orgânicos	10 – 20	H ₂ S Ácidos orgânicos	0 – 50 10 - 40	Sim e não	4,5 – 7,2	Não
Fermentação metânica	Bactérias produtoras de metano	Ácidos orgânicos	CH ₄ CO ₂ H ₂	40 – 50	H ₂ S	6 – 30 14 - 30	Não	6,8 – 7,2	Não
Nitrificação	Bactérias Autotróficas	CO ₂ NH ₃ NO ₂	NO ₂ NO ₃	30 ou mais	nenhum	10 – 30 15 – 25	Sim	7,5 – 8,6	Não
Desnitrificação	Bactérias facultativas heterotróficas	NO ₃ Carboidratos Proteínas Gorduras	N ₂	5 – 10	nenhum	0 – 50 15 – 30	Não	7,0 – 8,0	Não

*Tempo requerido para o desenvolvimento de uma população estável.

**Os números situados acima da linha dizem respeito à faixa permissível e, os números abaixo da linha referem-se à faixa adequada.

Fonte: Adaptado de WPC (1983) e Uehara e Vidal (1989).

2.2.1. Processos de transformação do Carbono

De acordo com Pessoa e Jordão (1982), a matéria orgânica dos esgotos domésticos compõe-se principalmente por proteínas (cerca de 40%), carboidratos (25% a 50%) e gorduras e óleos (aproximadamente 10%). Esse material é comumente mensurado em termos indiretos através da DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) e DQO (Demanda Química de Oxigênio) e diretamente por meio do COT (Carbono Orgânico Total). Na Tabela 11, apresenta-se a contribuição per capita e a concentração típica da matéria orgânica dos esgotos domésticos medida em diferentes formas.

Quanto a capacidade de decantação, a matéria orgânica afluyente à lagoa de estabilização é constituída por sólidos sedimentáveis, coloidais e dissolvidos, sendo que os dois primeiros sedimentam próximo a entrada da lagoa para formar a camada de lodo, e os dissolvidos permanecem no meio líquido. Na camada de lodo, os sólidos orgânicos sedimentados são estabilizados anaerobicamente e a fração da matéria orgânica dissolvida, ou não sedimentada, adicionada da matéria solúvel proveniente da degradação do lodo, ficam disponíveis às condições aeróbias, anóxicas e anaeróbias, dependentes do tipo de lagoa.

Tabela 11: Contribuição “per capita” e concentração típica da matéria orgânica presente nas águas residuárias domésticas.

Matéria Orgânica	Contribuição per capita típica (g/hab.d)	Concentração típica no esgoto bruto (mg/L)
DQO	100	700
DBO ₅	50	350
COT	45	250

Fonte: Adaptado de Von Sperling (1995).

A matéria carbonácea dos esgotos, medida em termos de DQO, pode ser dividida quanto a degradabilidade em duas componentes principais: uma fração não biodegradável ou inerte, e outra biodegradável. A fração inerte, solúvel e/ou suspensa, pode estar presente no afluente ou ser produzida através do metabolismo dos microrganismos do próprio sistema. A fração biodegradável pode ser de rápida ou de lenta degradação, estando presente na forma solúvel e na forma particulada.

A DQO de rápida degradação biológica inclui compostos orgânicos constituídos por moléculas orgânicas pequenas e simples, rapidamente absorvidas e metabolizadas no interior das células, como monossacarídeos, ácidos graxos de baixo peso molecular, aminoácidos e álcoois. A fração lentamente biodegradável inclui, além das moléculas orgânicas complexas (carboidratos, proteínas e lipídios), moléculas em solução e sob a forma coloidal, que têm em comum o fato de não serem absorvidas pelas células sem antes sofrerem hidrólise extracelular. Este mecanismo constitui o passo limitante da utilização da matéria orgânica lentamente biodegradável pelas células. Nas lagoas de estabilização, devido ao elevado tempo de retenção hidráulico, em comparação com outros sistemas biológicos de tratamento, ocorre maior remoção da DQO lentamente degradável (Von Sperling, 1995).

No caso de existir uma mistura de substratos rapidamente e lentamente biodegradáveis, a biomassa do sistema se desenvolve de acordo com o fornecimento e a concentração de substâncias rapidamente biodegradáveis (Lopes, 1996).

Durante o processo de tratamento em lagoas de estabilização, a matéria orgânica afluente é removida ou transformada diretamente ou indiretamente por vários mecanismos físicos, bioquímicos, químicos e biológicos, tais como a sedimentação, a digestão anaeróbia e aeróbia, a fotossíntese, a assimilação pela biomassa zooplantônica etc. No entanto, os principais mecanismos bioquímicos de transformação do carbono nesses ambientes, compreendem:

- i. Fermentação anaeróbia (lagoas anaeróbias e nas camadas do fundo das lagoas facultativas e de maturação);
- ii. Redução fotossintética (nas zonas fóticas das lagoas facultativas, de maturação, de alta taxa e lagoas com biofilme/perifiton);
- iii. Oxidação aeróbia (nas camadas aeróbias das lagoas facultativas, de maturação, de alta taxa e lagoas com biofilme/perifiton).

• **FOTOSSÍNTESE:**

Fotossíntese é um processo de síntese endergônico que consiste na conversão de energia luminosa em energia química, que posteriormente é utilizada para reduzir o dióxido de carbono em produtos altamente energéticos como a glicose e o amido. O processo ocorre em seres procariontes e eucariontes. Quimicamente, o processo fotossintético significa a armazenagem de uma parte da energia solar sob a forma de energia potencial. Segundo Ricklefs (1996) mais da metade da fotossíntese na litosfera é realizada por cianobactérias, dinoflagelados, diatomáceas e euglenófitas do fitoplâncton.

Os seres fotossintetizantes, capturam energia luminosa e a transformam em energia química de ligação nos carboidratos. A equação geral da reação de oxidação-redução pode ser escrita conforme equações 23, 24 e 25 (Odum, 1983):



No caso das cianobactérias, as algas unicelulares e os vegetais, **A** corresponde ao oxigênio. A água é oxidada com a liberação de oxigênio gasoso e o gás carbônico é reduzido a carboidrato (CH_2O), com a liberação de água. Na fotossíntese bacteriana, H_2A (o redutor) é um composto inorgânico de enxofre, como o ácido sulfídrico (H_2S), no caso das sulfobactérias verdes e púpuras (*Chlorobacteriaceae* e *Thiorhodaceae*, respectivamente), ou um composto orgânico, como no caso das bactérias sulfúreas roxas e pardas (*Athiorhodaceae*). Conseqüentemente, o oxigênio não é liberado nesse tipo de fotossíntese bacteriana (Odum, 1983).

A fotossíntese transforma o carbono de um estado oxidado (CO_2 ou HCO_3^-) para um estado reduzido (CH_2O) de alta energia. Para cada grama de carbono assimilado, a planta ganha 39kJ de energia, porém devido à ineficiência dos muitos passos bioquímicos da fotossíntese, não mais do

que um terço da energia da luz absorvida pelos pigmentos fotossintéticos eventualmente aparece nas moléculas de carboidrato (Ricklefs, 1996).

As moléculas de carboidratos são rearranjadas no interior da célula permitindo a síntese de novos compostos essenciais ao metabolismo do ser fotossintetizante. Dessa forma, as moléculas de glicose, tornam-se óleo e celulose e, combinadas com nitrogênio, fósforo, enxofre, magnésio e carboidratos simples, produzem um conjunto de proteínas, ácidos nucleicos e pigmentos (Ricklefs, 1996).

A produtividade primária de um sistema ecológico pode ser definida como a taxa na qual a energia radiante é convertida, pela atividade fotossintética, em substâncias orgânicas (Odum, 1983). Pode ser subdividida em:

- *Produção primária bruta*: corresponde a energia total assimilada pela fotossíntese;
- *Produção primária líquida*: corresponde a energia acumulada na biomassa e disponível ao nível trófico seguinte.

A diferença entre a produção bruta e a líquida abrange a energia da respiração, a quantidade utilizada para manutenção e a biossíntese (Figura 1).

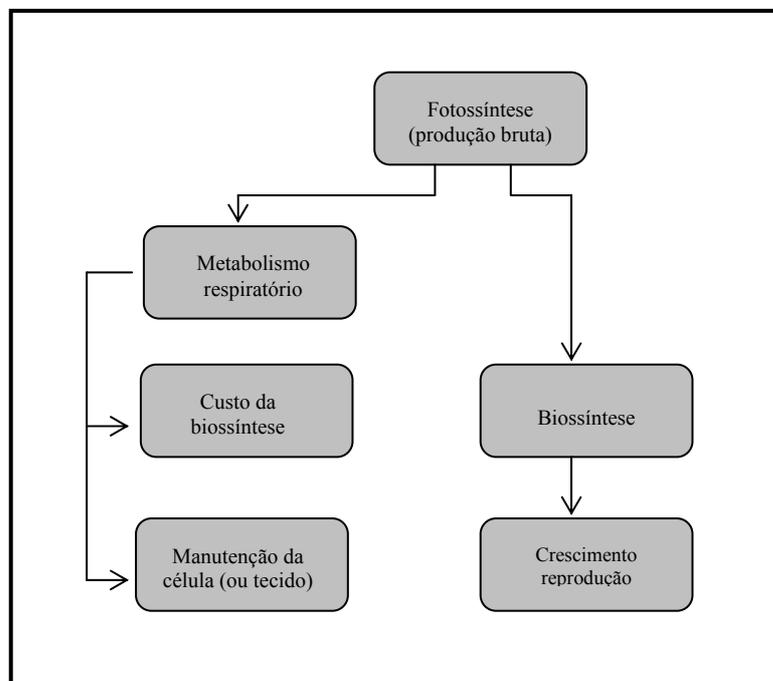


Figura 1: Diagrama da alocação de energia pelos seres fotoautotróficos. Fonte: Ricklefs (1996).

Todos os seres fotossintetizantes também utilizam o oxigênio para a respiração. Dessa forma, a produção líquida de oxigênio (O_2 produzido – O_2 respirado) pode ser negativa, neutra ou positiva, dependendo de uma série de fatores (Odum, 1983). De maneira geral, as microalgas, durante as horas iluminadas do dia, realizam mais síntese do que oxidação, gerando sempre um saldo de compostos orgânicos para os heterotróficos, além de um superávit de oxigênio que permite a respiração durante todo o dia (24h) (Von Sperling, 1995). Estudos em lagoas facultativas de esgotos apontam que a produção líquida de oxigênio pode chegar a valores de $2\text{kgO}_2/\text{kg}$ de peso seco (PS) algal (Uehara e Vidal, 1989). Segundo Abdel-Razik (1991) *apud* Von Sperling (1996), o balanço entre produção e consumo de oxigênio numa lagoa facultativa favorece a produção. O mesmo autor cita que as microalgas produzem cerca de quinze vezes mais oxigênio do que consomem, conduzindo a um saldo positivo no sistema.

A captura de energia solar pelos seres fotoautotróficos eucariontes e cianobactérias é realizada através de pigmentos essenciais de clorofilas (*a*, *b*, *c*, *d* e *e*) e pigmentos acessórios: os carotenóides (carotenos α e β) contidos dentro dos cloroplastos e as ficobilinas (ficoeritrina e ficocianina) contidas nas membranas fotossintéticas das cianobactérias (Junqueira e Carneiro, 1991). A clorofila *a* é o pigmento mais abundante seguida pela clorofila *b*. Em algumas bactérias os pigmentos estão localizados em cromatófaros (sistema membranoso), sendo conhecidos como bacterioclorofilas, tais como: clorobium clorofila em bactérias verdes, bacterium clorofila em bactérias que não produzem oxigênio (Junqueira e Carneiro, 1991).

Observando-se a Figura 2, percebe-se que os picos do espectro de ação da luz solar na fotossíntese e os dos espectros de absorção da luz pela clorofila apresentam padrão semelhante, evidenciando que a clorofila é o pigmento mais importante na recepção da luz durante a fotossíntese. Também, observa-se que a absorção da luz pela clorofila se faz com intensidade máxima nas faixas de comprimento de onda de 400-500 nm, correspondente à luz azul, e 600-700 nm, correspondente à luz vermelha (Odum, 1983). As bacterioclorofilas absorvem luz numa região próxima ao infravermelho (660 a 870 nm).

Fisiologicamente, a fotossíntese se processa em duas fases, na primeira (fase clara ou fotoquímica), a energia luminosa é utilizada para quebrar a molécula de água e liberar oxigênio e os prótons H^+ com seus elétrons, reduzem NADP formando $NADPH + H^+$ e ATP (energia química). Na segunda fase (fase escura), a qual independe da luz, o $NADP + H^+$ reduz o CO_2 para formar compostos orgânicos (glicose) com o auxílio da hidrólise do ATP em ADP + Piruvato (Junqueira e Carneiro, 1991).

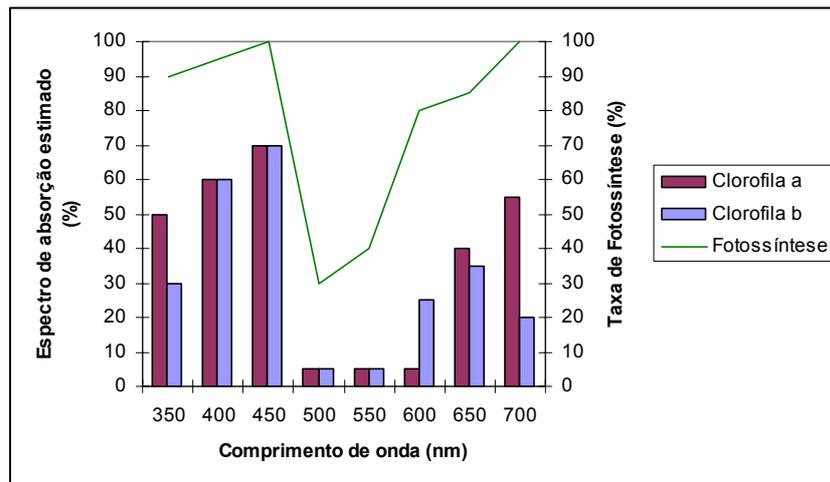


Figura 2: Espectro de absorção da luz pelas clorofilas *a* e *b* e o espectro de ação da fotossíntese. Fonte: Adaptado de Odum (1983).

Durante as horas do dia, a produtividade primária não está limitada à disponibilidade de luz, porque os níveis de luz solar incidentes na superfície terrestre excedem os pontos de saturação da maioria dos fotoautotróficos (Ricklefs, 1996), os quais absorvem somente 1% a 2% da energia solar (Odum, 1983). Os principais fatores limitantes da fotossíntese constituem:

- *Temperatura:* como a maioria dos processos biológicos, a fotossíntese acontece mais rapidamente quando a temperatura se encontra dentro de uma estreita faixa de variação, o ponto ótimo varia de acordo com a temperatura prevaiente do ambiente ao qual os fotossintetizantes se aclimatam, aproximadamente 16°C para as espécies adaptadas ao clima temperado até cerca de 38°C para espécies adaptadas ao clima tropical (Ricklefs, 1996). Temperaturas elevadas (acima de 45°C) causam a desnaturação de proteínas e enzimas celulares e conseqüentemente a inativação da fotossíntese (Junqueira e Carneiro, 1991);
- *Nutrientes:* os organismos fotossintetizantes necessitam de macronutrientes (N, P, K) e micronutrientes (Ca, Mn, Mg, Na, Se, Si, etc.) essenciais ao processo de síntese e ao metabolismo. O requisito por nutrientes e o balanço entre eles varia conforme as espécies.

A fotossíntese determina uma grande variação de pH nas lagoas facultativas e aeradas de estabilização de esgotos, podendo atingir pH = 10 nos momentos de maior atividade fotossintética, e cair a 7 – 7,5 no período da noite (Silva e Mara, 1979). Quando em grande

atividade, as algas removem o CO_2 do meio mais rapidamente do que este é liberado pela respiração ou repostado pela atmosfera. Nesses momentos, o CO_2 necessário às algas é obtido dos íons carbonatos e bicarbonatos e o aumento do pH ocorre pela liberação de íons hidroxila (equações 26 e 27).



- **RESPIRAÇÃO AERÓBIA**

A respiração aeróbia é o processo bioquímico de obtenção de energia da maioria dos seres vivos. Consiste na utilização do oxigênio comoceptor final de elétrons durante a oxidação da matéria orgânica. É o processo inverso da fotossíntese. Em sistemas de tratamento de esgotos, a respiração realizada pelas bactérias quimioheterotróficas consiste na principal forma de remoção da matéria orgânica dos efluentes. Essas bactérias necessitam de oxigênio para oxidarem a matéria orgânica dos esgotos (fonte de carbono orgânico) e obterem energia para a síntese de novas células e para o metabolismo (Figura 3).

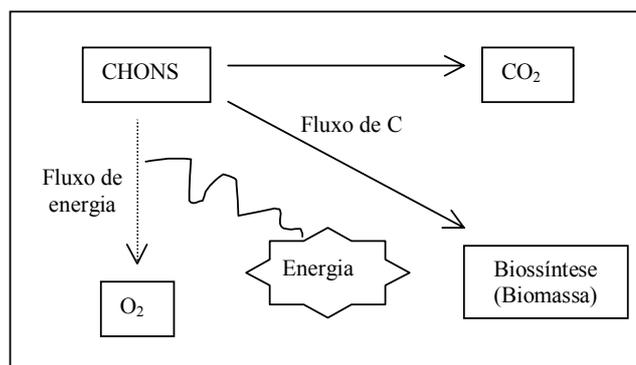


Figura 3: Esquema simplificado da respiração dos quimioheterotróficos. CHONS simbolizando a matéria orgânica (DBO_5). Fonte: Adaptado de IFU (2000).

A respiração aeróbia dos seres vivos corresponde ao principal fator de consumo de oxigênio em todos os ambientes. Nas LEEs a respiração é realizada, principalmente, pelas bactérias heterotróficas, microalgas e zooplâncton. Os organismos fotossintetizantes nas lagoas de estabilização também respiram o oxigênio para oxidarem a glicose ou o amido resultante da fotossíntese e obterem energia aos processos vitais (Figura 4).

O processo de respiração celular compreende as seguintes etapas: glicólise (degradação de uma molécula de glicose e duas de ácido pirúvico), ciclo do ácido tricarbóxico e cadeia respiratória. A quantidade de ATPs gerada ao final do processo é de 38 (Equação 38) (Vazoller, 1999):

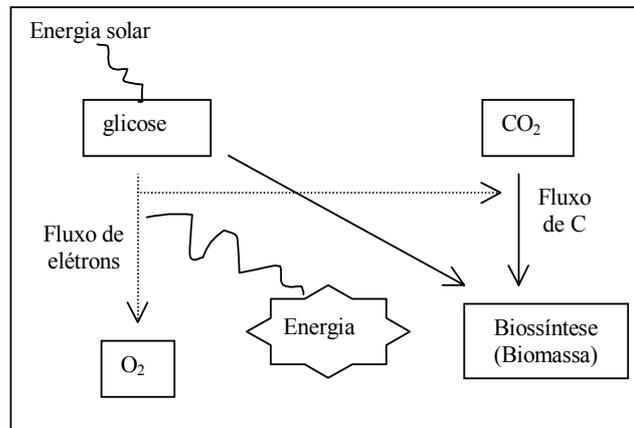
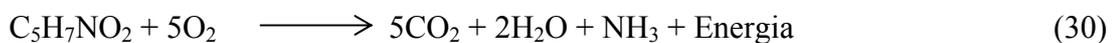


Figura 4: Esquema simplificado da respiração dos fotoautotróficos. Energia solar simbolizando a fotossíntese. Fonte: Adaptado de IFU (2000).

Os principais mecanismos de degradação da matéria orgânica, que traduzem a evolução da biomassa quimioheterotrófica em função do tempo, envolvem reações de oxidação e síntese (equação 29) e respiração endógena (equação 30):



Onde: CHONS – representação da matéria orgânica; $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$ – representação da biomassa bacteriana.

Durante a oxidação e síntese, a matéria orgânica é oxidada a produtos finais e utilizada pelos microrganismos para o seu metabolismo e desenvolvimento. Neste período o substrato é abundante. Na respiração endógena, predominam os mecanismos de auto-oxidação, onde a principal fonte de alimento passa a ser o material de reserva celular.

A demanda de oxigênio utilizada pelos organismos aquáticos envolve as reações de produção e utilização de energia. Segundo IFU (2000), para as bactérias heterotróficas degradarem 1g de carbono orgânico (como acetato) são necessárias 2,67g de oxigênio; para o crescimento de biomassa fitoplantônica resultante de 1g de nitrogênio são necessárias 21g de oxigênio.

A Figura 5 representa graficamente a evolução da biomassa heterotrófica ao longo do tempo em função da concentração de matéria orgânica, expressa pela DBO e do oxigênio consumido (OC)

em um ambiente aquático, como numa estação de tratamento de esgotos aeróbia. A DBO_5 é utilizada pela biomassa para o crescimento resultando num consumo de oxigênio e aumento da população de microrganismos. Quando a maior parte da DBO_5 , inicialmente presente, encontra-se reduzida, e os nutrientes escassos, a população microbiana passa a declinar (crescimento endógeno). Este fenômeno está veiculado a autodepuração de ambiente para o restabelecimento do equilíbrio no meio aquático, por mecanismos essencialmente naturais.

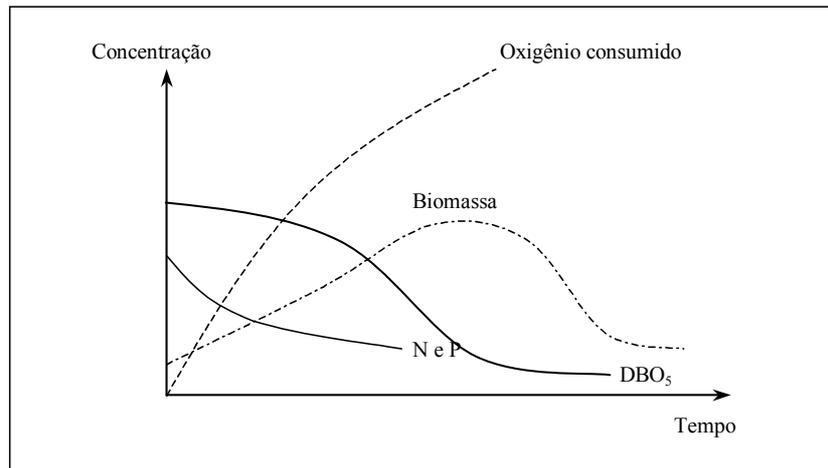


Figura 5: Evolução simultânea do substrato-biomassa em função do tempo. Fonte: Adaptado de Metcalf & Eddy, 1991.

Na respiração aeróbia bacteriana, além da matéria carbonácea, os microrganismos necessitam de fontes de nutrientes essenciais, especialmente o nitrogênio e o fósforo. O equilíbrio entre esses nutrientes é fundamental para o desenvolvimento de uma população ativa nos processos de tratamento de esgotos. Segundo literatura especializada (Metcalf & Eddy, 1991), uma proporção de 20:5:1 de $DBO:N:P$ é considerada ideal para que as bactérias heterotróficas removam a DBO_5 afluyente nas ETEs.

2.2.2. Processos de transformação do Nitrogênio

Depois da matéria carbonácea, os compostos nitrogenados são os principais constituintes dos esgotos domésticos. As fontes desse elemento compreendem, principalmente, as proteínas dos alimentos utilizados na alimentação humana e os produtos da degradação excretados na forma de uréia. Na Tabela 12 verifica-se a contribuição per capita e a concentração típica dos compostos nitrogenados nos esgotos sanitários.

De maneira geral, as ETEs são projetadas para a remoção da matéria orgânica, principal constituinte dos esgotos. No entanto, devido aos efeitos deletérios ao ambiente natural e a saúde

pública, a partir do final do século XX, mecanismos envolvidos na degradação biológica das substâncias nitrogenadas tornou-se alvo de muitas pesquisas.

Tabela 12: Contribuição *per capita* e concentração típicas das formas nitrogenadas presentes nos esgotos domésticos.

Composto nitrogenado	Contribuição <i>per capita</i> (g/hab.d)	Concentração no esgoto bruto (mg/L)
N orgânico (proteínas, uréia, aminoácidos,...)	3,5	20
N inorgânico reduzido (NH ₃ e NH ₄)	4,5	30
N oxidado (NO ₃ e NO ₂)	0	0
N Total	8,0	50

Fonte: Adaptado de Von Sperling (1995).

Atualmente, a forma mais convencional de eliminação do nitrogênio dos esgotos sanitários é conduzida em duas etapas distintas. Na primeira, realizada em condições de aerobiose, a amônia é convertida a nitrato, no processo conhecido por nitrificação. Na segunda etapa, a desnitrificação, ocorre na ausência de oxigênio, o nitrato é convertido em N₂ gasoso, tendo como substâncias gasosas o óxido nítrico (NO) e óxido nitroso (N₂O) como possíveis intermediários, igualmente lançados na atmosfera (Madigan, *et al.*, 1997).

O ciclo do nitrogênio nas LEEs contempla todas as etapas do ciclo em um sistema lântico natural excluindo-se a fixação, sendo, conforme citado anteriormente, a volatilização da amônia, a precipitação do nitrogênio particulado e a assimilação de amônia pela biomassa algal, os principais fenômenos relacionados. Conforme discutido anteriormente, a nitrificação não ocorre efetivamente nas LEEs convencionais, mas, esse processo pode ser importante em lagoas com suportes para biofilmes, como descrito no item 2.1.5. Em virtude desse fato, apresenta-se uma revisão sobre esse processo.

• **NITRIFICAÇÃO**

A nitrificação consiste na oxidação biológica da amônia, tendo como produto final o nitrato. O processo é mediado por bactérias quimioautotróficas - que utilizam o carbono inorgânico (CO₂) para síntese de novas células, pertencentes a dois gêneros mais frequentes, *Nitrosomonas*, responsável pela primeira etapa e, *Nitrobacter*, responsável pela segunda etapa (Henze, *et al.*, 1997; Madigan, *et al.*, 1997). Segundo pesquisas recentes (Jetten *et al.*, 1999), *Nitrosomonas*

possui metabolismo alternativo, podendo oxidar a amônia em condições anaeróbias utilizando o nitrito como acceptor de elétrons enquanto o gênero *Nitrobacter* é aeróbio obrigatório. Em condições aeróbias, tem-se:

1. Geração de nitrito – Mediado por *Nitrosomonas* (equação 31):



Composto intermediário: NH_2OH

$$\Delta G^{0'} = -287 \text{ kJ/reação}$$

2. Geração de nitrato – Mediado por *Nitrobacter* (equação 32):

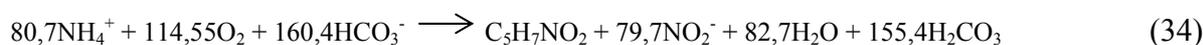


$$\Delta G^{0'} = -76 \text{ kJ/reação}$$

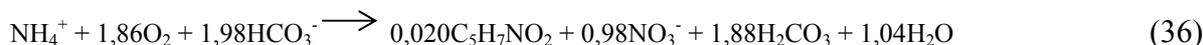
3. Reação Global (equação 33):



Em termos de crescimento celular, Henze, *et al.* (1997) propõem as seguintes equações estequiométricas para as duas etapas da nitrificação (equações 34 e 35):



Assim, a equação final seria (equação 36) :



Na primeira reação ocorre a geração de 113g de células pela conversão de $80,7 \times 14 = 1.129,8\text{g}$ de N-NH_4^+ , ou seja, $(113/1.129,8) = 0,10\text{gSSV/g N-NH}_4^+$ removido e, para o nitrogênio oxidado, levando-se em conta o NO_2^- , tem-se $[(113 \times 0,02)/(1 \times 14)] = 0,16\text{gSSV/gN-NH}_4^+$ (Henze, *et al.*, 1997). A quantidade de oxigênio necessária no processo, pode ser calculada conforme equação 37:

$$\frac{1,86\text{molO}_2 \times (32\text{gO}_2/\text{mol})}{1\text{molN-NH}_4^+ \times (14\text{gN/mol})} = 4,25\text{gO}_2/\text{gN-NH}_4^+ \quad (37)$$

Considerando-se apenas a demanda de oxigênio para a reação de nitrificação, tem-se (equação 38):

$$\frac{2\text{molO}_2 \times (32\text{gO}_2/\text{mol})}{1\text{molN-NH}_4^+ \times (14\text{gN}/\text{mol})} = 4,57\text{gO}_2/\text{gN-NH}_4^+ \quad (38)$$

A diferença entre estes dois valores indica que o carbono inorgânico utilizado pelas células para o crescimento, atua também como um agente oxidante, reduzindo o consumo de oxigênio (Henze, *et al.*, 1997). Estes baixos valores para o fator de conversão substrato nitrogenado para células é um dos indicativos do lento crescimento destas bactérias.

A temperatura e o pH são os principais fatores intervenientes no processo de nitrificação. Muitos estudos têm evidenciado uma faixa estreita de pH, valores entre 7,5 e 8,6, como a ideal para a nitrificação (WPC,1983). A performance da nitrificação diminui drasticamente com a queda do pH. Valores altos de pH também inibem o processo, pois alta concentração de amônia livre é tóxica para *Nitrosomonas*. De acordo com WPC (1983), o ideal é manter o pH entre 7,2 e 8,2..

As considerações sobre o pH no processo são extremamente importantes porque a nitrificação consome alcalinidade. Se a alcalinidade não for suficiente no sistema, ocorre a redução do pH e a inibição da nitrificação.

A temperatura tem uma grande influência sobre a nitrificação, como para a maioria das reações bioquímicas, entretanto, há problemas de quantificação dos seus efeitos. A Tabela 13 apresenta as faixas de velocidade de crescimento específicas (μ_N) relacionadas à temperatura. Henze, *et al.* (1997) consideram que a velocidade específica de crescimento para *Nitrosomonas* esteja entre 0,6 a 0,8d⁻¹, enquanto que para *Nitrobacter* se pode esperar valores entre 0,6 e 1,0 d⁻¹, em temperatura de 30°C, indicando crescimento bastante reduzido. A velocidade de oxidação da amônia é controlada pelo crescimento de *Nitrosomonas*, devido a estas apresentarem velocidades de crescimento inferiores a *Nitrobacter*, razão pela qual, dificilmente ocorrem acúmulos de nitritos nos sistemas de tratamento. As bactérias nitrificantes são ausentes em ambientes com temperatura inferior a 10°C (WPC, 1983). O gênero *Nitrobacter* cresce mais rápido que *Nitrosomonas* até a temperatura de 28°C.

Nos últimos anos, com a utilização de ferramentas da biologia molecular, como a identificação dos microrganismos pela técnica de *Fluorescence in situ Hybridization* – FISH, observou-se que outras espécies de bactérias nitrificantes têm importante papel na nitrificação do nitrogênio em

estações de tratamento de esgotos. Muitos estudos têm evidenciado a dominância de *Nitrosococcus mobilis* e *Nitrospira* como bactérias oxidantes de amônia e nitrito, respectivamente em reatores biológicos (Juretschko *et al.*, 1998; Daims *et al.*, 2001; Dionisi *et al.*, 2002; Regan *et al.*, 2002)

Tabela 13: Estimativas de μ_N para *Nitrosomonas* em três faixas de temperatura.

TEMPERATURA (°C)	μ_N (dias) <i>Nitrosomonas</i>
10	0,3
20	0,65
30	1,2

Fonte: WPC (1983).

• **DESNITRIFICAÇÃO**

No processo de redução dissimilatória do nitrato – desnitrificação, o íon nitrato (NO_3^-) é reduzido a óxidos gasosos (óxido nitroso - N_2O e óxido nítrico - NO) os quais podem ser reduzidos para nitrogênio gasoso (N_2) e este perdido para a atmosfera. O nitrato nesse processo atua como acceptor final de elétrons e o mecanismo enzimático ocorre em condições anaeróbias ou com baixas tensões de oxigênio. Portanto, a desnitrificação ocorre preferencialmente em ambientes onde não há oxigênio dissolvido. Todas as bactérias capazes desse tipo de respiração preferem, se possível, a utilização do oxigênio como acceptor de elétrons. As bactérias responsáveis pela desnitrificação são heterotróficas, anaeróbias facultativas e utilizam o nitrato e nitrito como aceptores finais de elétrons durante a oxidação da matéria orgânica (Tabela 14).

Tabela 14: Mecanismo biológico da desnitrificação.

Processo	Seqüência dos produtos intermediários	Compostos reguladores	Grupo de organismos que realizam os processos
Desnitrificação	$\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$	O_2	Bactérias aeróbias também capazes de crescer anaerobiamente em presença de NO_3^- e NO_2^-

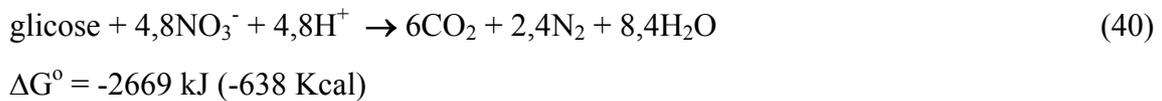
Fonte: Gianotti (1994).

Similarmente a respiração aeróbia, a desnitrificação permite uma completa oxidação do substrato orgânico para CO_2 com a desvantagem do ganho menor de energia para o microrganismo (Gianotti, 1994):

- Respiração aeróbia (equação 39):



- Respiração anaeróbia – Desnitrificação (equação 40):



As condições mais favoráveis para a desnitrificação são pH próximo a 8,0, temperatura em torno de 35°C, ausência de oxigênio (o qual inibe completamente o processo), presença de nitratos ou nitritos e fontes de matéria carbonácea de rápida degradação (no mínimo 2,9g de DBO₅ para cada grama de N-NO₃⁻ reduzido, segundo IFU, 2000). Nessas condições a velocidade específica de crescimento atinge valores da ordem de 3 a 6 dias. Em valores de pH inferiores a 7 ocorre produção acentuada de óxidos de nitrogênio altamente tóxicos ao processo (Verstraete e Philips, 1998).

Durante a desnitrificação há produção de alcalinidade. O ácido carbônico (H₂CO₃) é convertido a bicarbonato (HCO₃⁻) como resultado da conversão do nitrato a nitrogênio gasoso. A produção de alcalinidade foi determinada por diversos pesquisadores (Horskotte *et al.*, 1974; Jeris *et al.*, 1974 *apud* WPC, 1983) e encontra-se na ordem de 2,9 a 3,0 mg de CaCO₃ por mg de nitrogênio reduzido. A produção de alcalinidade é interessante para a concepção de sistemas que acoplam nitrificação e desnitrificação, possibilitando um equilíbrio natural do pH no processo.

São vários os gêneros de bactérias capazes de desnitrificarem, entre eles, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterim*, *Achoromobacter*, *Paracoccus*, *Corynebacterium*, *Acinetobacterium*, *Gluconobacter*, *Xanthomonas*, *Azospirillum*, *Chromobacterium*, *Bacillus*, *Wolinella*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, etc. (Gianotti, 1994).

A desnitrificação vêm sendo acoplada aos processos de tratamento de esgotos com biomassa floculada (lodos ativados) e biomassa fixa (reatores com biofilmes), nos quais consegue-se a obtenção de zonas aeróbias para a nitrificação na superfície dos flocos ou dos biofilmes, e zonas anóxicas para a desnitrificação no interior dos flocos ou dos biofilmes. Também, têm sido projetadas unidades anóxicas para as ETEs especialmente para a desnitrificação. Nas LEEs o processo não é expressivo, certamente pela ausência ou reduzida concentração de nitrogênio oxidado na massa líquida.

- **VOLATILIZAÇÃO DA AMÔNIA**

Apesar da volatilização da amônia não ser um processo biológico, é o mecanismo mais citado em literatura como principal responsável pela remoção do nitrogênio em LEEs. Neste processo ocorre o desprendimento da amônia não ionizada, presente na lagoa, para atmosfera. No meio líquido, a concentração de amônia não ionizada é regulada pela reação de equilíbrio dependente do pH (equação 41) (Schnoor, 1996):



Com a elevação do pH, o equilíbrio da reação se desloca para a esquerda, favorecendo a maior presença de NH_3 na massa líquida. A atividade fotossintética intensificada aumenta o pH do meio líquido, conforme discutido anteriormente, aumentando a concentração de NH_3 nas LEEs. A proporção de íon amônio (NH_4^+) e de amônia livre (NH_3) em solução depende do pH e da temperatura do líquido. A fração de amônia não ionizada na lagoa pode ser calculada usando-se a equação de Clement e Merlin (1995) (Equação 42):

$$\alpha = \% \text{NH}_3 = \frac{100}{1 + 10^{(pK_a - pH)}} \quad (42)$$

Na Tabela 15, descreve-se o percentual de amônia não ionizada no meio líquido em função do pH e da temperatura da água. Em pH 9 e temperatura de 35°C praticamente 50% da amônia encontra-se na forma não ionizada e para essa mesma temperatura mas pH de 6, somente 0,1% corresponde a NH_3 .

Tabela 15: Percentual de amônia não ionizada em função da temperatura da água e do pH.

Temperatura (°C)	Percentual de amônia não ionizada (%)						
	pH 6,0	pH 6,5	pH 7,0	pH 7,5	pH 8,0	pH 8,5	pH 9,0
0	0,010	0,027	0,083	0,27	0,82	2,6	7,7
5	0,013	0,040	0,12	0,40	1,2	3,6	10,5
10	0,019	0,058	0,19	0,58	1,8	5,4	15
15	0,028	0,086	0,25	0,82	2,5	7,5	20
20	0,035	0,12	0,39	1,1	3,3	10	26
25	0,052	0,18	0,50	1,6	5,0	13	32
30	0,080	0,23	0,72	2,1	7,0	18	40
35	0,1	0,31	0,92	2,8	9	21	47

Fonte: Schnoor (1996).

A amônia não ionizada é relativamente volátil e pode ser removida da solução para a atmosfera via difusão através da água para a superfície e pela transferência de massa da superfície da água

para a atmosfera. A quantidade de amônia volatilizada depende do pH, da temperatura e das condições de mistura da água (Pano e Middlebrooks, 1982). A descrição matemática que permite estimar a transferência de massa da amônia da lagoa para a atmosfera é dada na equação 43, assumindo que a concentração de amônia na atmosfera seja 0 (Zimmo *et al.*, 2003):

$$N_{NH_3} = -K_1[NH_3] \quad (43)$$

Onde: N_{NH_3} = velocidade de transferência de massa da amônia da lagoa para a atmosfera (mg/L.d); K_1 = coeficiente de transferência de massa por convecção na fase líquida (d); $[NH_3]$ = concentração de amônia não ionizada na lagoa.

O K_1 pode ser obtido conforme demonstrado na equação de Stratton (1969) *apud* Zimmo *et al.* (2003) (Equação 44):

$$K_1 = \frac{0,0566}{d} \exp[0,13(T - 20)] \quad (44)$$

Onde d = profundidade da coluna d'água na lagoa (m) e T = temperatura da água (°C).

A maioria dos pesquisadores atribui a volatilização da amônia como sendo o principal mecanismo de redução da amônia dos esgotos tratados em lagoas de estabilização com predominância dos processos aeróbios. Porém, Zimmo *et al.* (2003), após um estudo quantitativo sobre a perda de amônia por volatilização em lagoas aeróbias, verificaram que uma fração menor que 1,5% de amônia afluyente foi perdida por volatilização. O pH das lagoas facultativas (secundárias) e de maturação estudadas pelos autores atingiu valores entre 9 e 10 somente no final da tarde de dias quentes e ensolarados, período no qual a remoção de amônia por volatilização foi máxima (aproximadamente 21%). Os mesmos autores, baseados em seus experimentos, propuseram a seguinte equação para o cálculo da quantidade de amônia volatilizada nas lagoas de estabilização de esgotos (Equação 45):

$$Y = 3,30[NH_3] + 4,90 \quad (45)$$

Onde: Y = amônia volatilizada por dia (mgN/m².d) e $[NH_3]$ é a concentração de amônia não ionizada na lagoa (mgN/L).

2.2.3. Processos de transformação do Fósforo

Assim como o nitrogênio, o fósforo é um nutriente essencial a toda forma de vida, sendo um importante constituinte das membranas celulares e do material genético. Nos esgotos domésticos, o fósforo está presente em três formas principais: ortofosfatos, polifosfatos (polímeros e ácido fosfórico) ou fosfatos condensados e constituindo compostos orgânicos (fosfoproteínas insolúveis, ácidos nucleicos e polissacarídeos). O fósforo inorgânico contempla aproximadamente 70% do fósforo total dos esgotos sendo oriundos principalmente dos detergentes (Tabela 16).

Tabela 16: Contribuição *per capita* e concentração típica das formas fosforadas presentes nos esgotos domésticos.

Composto fosforado	Contribuição <i>per capita</i> (g/hab.d)	Concentração no Esgoto bruto (mg/L)
P orgânico (fosfatases, fosfoproteínas, fosfolípidos, ácidos nucleicos, carboidratos...)	0,8	4,0
P inorgânico (ortofosfatos + polifosfatos, ex: HPO_4^- , $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$, PO_4^{3-} , FeHPO_4^+ , $\text{CaH}_2\text{PO}_4^+$)	1,7	10,0
P Total	2,5	14,0

Fonte: Adaptado de Von Sperling (1995).

Diferentemente do nitrogênio, o grande reservatório de fósforo não é o ar, mas são as rochas que sofrem erosão e liberam fosfatos para o ecossistema (Odum, 1983). Dessa forma, o ciclo do fósforo se processa no solo, água e seres vivos excluindo-se a fase gasosa. Os fosfatos, oriundos da dissolução das rochas, são absorvidos do solo e da água pelos microrganismos e vegetais que os utilizam para a formação de compostos orgânicos (biossíntese), os quais vão sendo repassados pela cadeia alimentar, formando novos compostos orgânicos. Quando esses compostos se desintegram (excreção e decomposição), os fosfatos ficam novamente disponíveis no ambiente.

Em processos biológicos de lodos ativados, normalmente remove-se fósforo biologicamente através da alternância de zonas anaeróbias (estresse bacteriano - liberação de fosfato intracelular) e zonas aeróbias (assimilação maximizada de fosfatos) com posterior remoção do lodo (bactérias com altos teores de fósforo).

Entretanto, em LEEs, onde a biomassa se desenvolve naturalmente (sem recirculação), os principais mecanismos de remoção do fósforo da fase líquida constituem-se na retirada do fósforo orgânico contido nas algas e bactérias do efluente e, a precipitação dos fosfatos em condições de elevado pH (Van Haandel e Lettinga, 1984; Von Sperling, 1996).

A assimilação de fósforo pelas algas é menor que a assimilação de nitrogênio devido a biomassa algal conter cerca de 10 vezes mais nitrogênio. As algas fitoplantônicas são constituídas de aproximadamente 1% de fósforo (WPC, 1983). Portanto, assumindo uma concentração de 100mg/L de algas no efluente (peso seco – PS), a perda será de $0,01 \times 100 = 1\text{mgP/L}$. Admitindo-se uma concentração de fósforo afluente de 14mg/L (Von Sperling, 1996), o percentual de remoção, por esta via, situa-se em torno de 7%. No entanto, em lagoas de alta taxa, com a maximização da produção primária na massa líquida, as concentrações das algas podem atingir valores extremamente altos, o que contribui para uma maior redução do fósforo dissolvido. Ressalta-se a necessidade de remoção da biomassa algal do efluente das lagoas para obtenção de uma real remoção de fósforo e nitrogênio dos esgotos.

Outros autores também relatam que reduções de fósforo mais significativas podem ocorrer pela precipitação dos fosfatos, na forma de hidroxiapatita ou estruvita, em pH elevado, acima de 8,0 (Von Sperling, 1996). Dessa forma, as lagoas rasas proporcionam ambiente propício à ocorrência desse fenômeno, devido aos fatores já mencionados relacionados com a maximização da fotossíntese.

Vários fatores físicos, químicos e físico-químicos interferem na precipitação dos íons fosfatos no ambiente aquático, entre estes destacam-se: a concentração de íons ferro, alumínio, sulfeto, compostos orgânicos e carbonatos, pH e condições de oxi-redução (Esteves, 1998).

Freqüentemente, o ferro é responsável pela maior fração de fosfatos precipitados. Em águas oxigenadas e com pH próximo ao neutro, a maior parte do ferro (Fe^{3+}) encontra-se precipitado ou complexado na forma de hidróxido de ferro hidratado: $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+} \rightarrow [\text{Fe}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+} + \text{H}^+$, podendo adsorver espécies fosfatadas (H_2PO_4^- e HPO_4^{2-}) em sua superfície, precipitando-as principalmente no sedimento. Cada miligrama de Fe^{3+} pode precipitar, devido à relação de valências, aproximadamente 0,5mg de fosfato (Esteves, 1998).

De acordo com Mara *et al.* (1992), o melhor caminho para uma eficiente redução do fósforo nas LEEs consiste num aumento do número de lagoas de maturação, possibilitando uma maior

imobilização do fósforo sedimentado. Huang e Gloyna (1984) *apud* Mara *et al.* (1992) verificaram remoções de até 45% de fósforo em LEEs com 90% de remoção de DBO₅.

Nurdogan e Oswald (1995) adicionaram cal em um esgoto afluente a um sistema de lagoas de alta taxa para manutenção de uma concentração de 60mg/L de Ca, resultando no aumento da autofloculação das algas e, conseqüentemente, da precipitação. Os autores obtiveram remoção de 99% do fósforo afluente com concentração remanescente de 0,1mgP/L em lagoas em escala laboratorial com TRH de 5 dias.

2.3. MICROBIOTA EM LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO

As lagoas de estabilização de esgotos são habitadas por vários tipos de organismos vivos presentes em vários níveis de trofia – bactérias, algas, protozoários, microcrustáceos, insetos e peixes – produtores primários, consumidores, predadores e decompositores, que coexistem da interação entre eles e com o ambiente. Por tanto, apesar da simplicidade de implantação, operação e manutenção dessas unidades de tratamento, o estudo da ecologia desses ecossistemas e, conseqüentemente, o entendimento e controle dos fenômenos que atuam na reciclagem do material contido dos esgotos é uma tarefa de difícil quantificação.

Os fatores que afetam a diversidade, a sucessão e a abundância de organismos nas lagoas de estabilização, e por conseqüência, a eficiência do tratamento do esgoto, compreendem:

- a disponibilidade de substratos e nutrientes (em qualidade - concentração e quantidade – cargas aplicadas);
- o efeito da interação entre os próprios organismos;
- as mudanças ambientais de natureza física, tais como: temperatura, umidade, radiação solar (intensidade e fotoperíodo), entre outros;
- as mudanças nas condições operacionais

A principal comunidade de organismos envolvidos no tratamento dos esgotos em lagoas é o plâncton, definido como sendo “o conjunto de organismos que não dispõem de movimentos próprios capazes de se opor aos movimentos da água” (Henzen, 1887 *apud* Esteves, 1998), composto pelo bacterioplâncton, fitoplâncton e zooplâncton. Numa lagoa aeróbia em bom funcionamento, há predominância de fotoautotróficos e bactérias heterotróficas em detrimento dos demais organismos. A relação de mutualismo entre esses dois grupos pode ser visualizada na Figura 6. As algas, através da fotossíntese, produzem oxigênio para a realização dos processos de

decomposição aeróbios da matéria orgânica e para manutenção das condições aeróbias do meio aquático (Tabela 17).

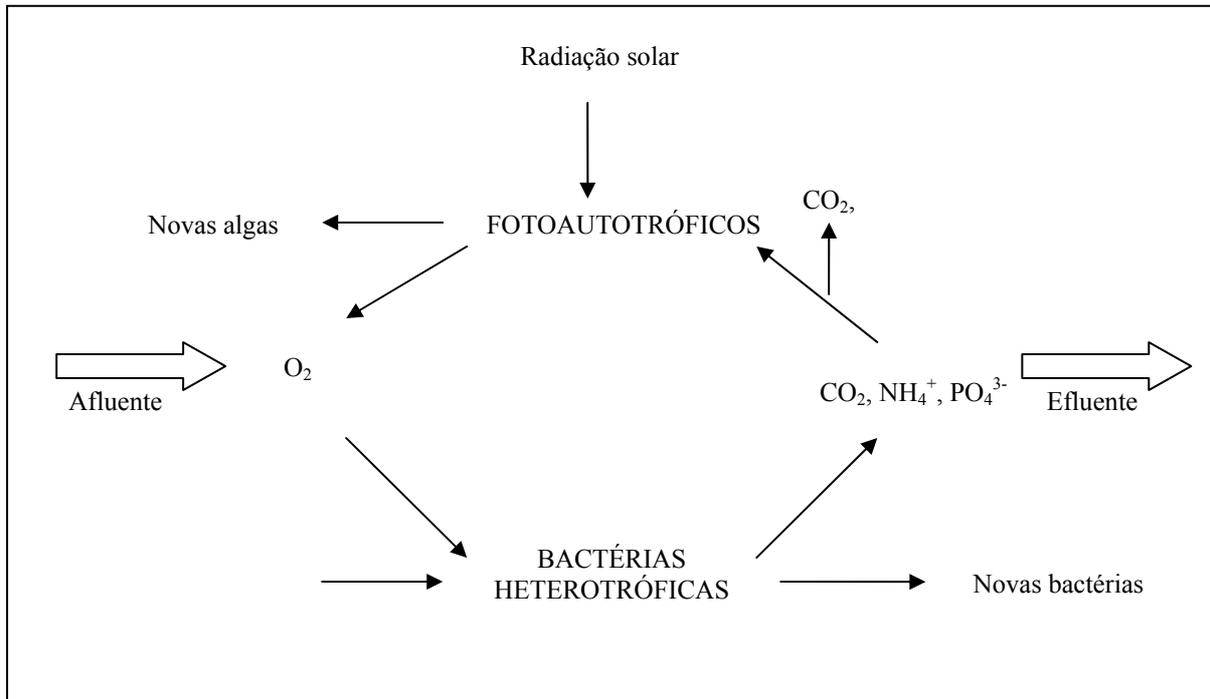


Figura 6: Esquema representativo da relação mutualística entre as algas e as bactérias heterotróficas na zona fótica das lagoas facultativas. Fonte: Adaptado de König (1990).

O oxigênio resultante da fotossíntese das algas durante as horas do dia é suficiente para exceder não apenas a sua demanda respiratória, como também a dos outros organismos envolvidos na estabilização da matéria orgânica na zona fótica. No sul do Brasil, as maiores concentrações de OD ocorrem entre as 14:00h as 16:00h, quando a intensidade de luz solar é maior (Von Sperling, 1996). Por outro lado, durante a noite, as algas cessam a fotossíntese mas continuam necessitando de oxigênio para a respiração, conduzindo a níveis de OD próximos a zero a partir da 01:00 h até o amanhecer.

As algas assimilam nitrogênio na forma de amônia ou nitrato. No primeiro caso, 1kg de algas, em peso seco, sintetizada a partir da transformação da amônia em proteínas celulares, pode produzir 1,6kg de oxigênio. As espécies que utilizam o nitrito e nitrato podem produzir 2kg de oxigênio por kg de matéria seca algal (Arceivala, 1981).

Tabela 17: Função dos diferentes grupos do plâncton no tratamento de esgotos em lagoas de estabilização.

CLASSIFICAÇÃO DO PLÂNCTON	CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS	EFEITO NO TRATAMENTO DE ESGOTOS
BACTERIOPLÂNCTON (bactérias)	(i) Consomem O ₂ : - Oxidam a matéria orgânica carbonácea - Oxidam a amônia (ii) Em anoxia, reduzem o nitrito e o nitrato (iii) Em anaerobiose, fermentam a matéria orgânica (iv) Disponibilizam nutrientes para o fitoplâncton (v) Absorvem nutrientes (NH ₃ , PO ₄ ³⁻ , ...)	DIRETO: - Remoção da DBO ₅ - Remoção de amônia - Remoção de fosfato
FITOPLÂNCTON (cianobactérias e algas)	(i) Produzem oxigênio (ii) Elevam o pH (iii) Absorvem nutrientes inorgânicos (CO ₂ , NH ₃ , NO ₃ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , ...) (iii) Servem de alimento ao zooplâncton	DIRETO: - Oxigenação da massa líquida - Remoção de amônia, nitrato e fosfato por assimilação - Remoção de metais pesados INDIRETO: - Decaimento bacteriano (patógenos) - Precipitação do fosfato - Volatilização da amônia
ZOOPLÂNCTON (Protozoários, microcrustáceos, rotíferos)	(i) Consomem bactérias, fitoplâncton e detritos orgânicos.	- Clarificam o efluente - Contribuem no equilíbrio ecológico do sistema - Contribuem na reciclagem dos elementos - em excesso comprometem as cadeias alimentares

Os grupos do fitoplâncton frequentemente associados às lagoas de estabilização, compreendem espécies de clorofíceas, euglenofíceas e cianobactérias. Uma breve descrição dos grupos e dos gêneros presentes nas zonas aeróbias de LEEs é dada a seguir, conforme informações obtidas em Streble e Krauter (1987), Uehara e Vidal (1989), König (1990), Fukumaga *et al.* (1992), Canovas *et al.* (1996), Hosetti e Frost (1998) e Silva (2002).

- **Chlorophyta** (algas verdes)¹

As algas da divisão Chlorophyta são eucariontes fotoautotróficas e apresentam clorofilas *a* e *b* e amido como substância de reserva, o qual cora com lugol, o que facilita a diferenciação entre as espécies flageladas dessa divisão com as Euglenophytas. São morfologicamente diversificadas – unicelulares, coloniais, filamentosas, com flagelo(s) ou sem flagelo e podem ser encontradas em

¹ Considerou-se dentro da divisão das Chlorophyta, as espécies, classificadas como Cryptophyta por muitos autores. São elas: *Cryptomonas*, *Chilomonas* e *Chromonas*.

ambientes oligotrófico, mesotrófico e eutrófico. Algumas espécies, tais como *Chlorella* podem produzir toxinas (Chlorellina) nocivas, principalmente, ao bacterioplâncton.

Nas lagoas de estabilização predominam as espécies da classe Chlorophyceae, as quais, caracterizam-se por serem cosmopolitas e habitarem preferencialmente lagos mesotróficos e eutróficos. Os principais representantes das Chlorophyceae lacustres são as ordens Chlorococcales e Volvocales (algumas espécies com flagelo); alguns dos gêneros mais freqüentes em lagoas de estabilização compreendem:

1. *Chlorella* – Estão entre as menores algas verdes (5 - 10µm), possuem rápido crescimento e habitam ambientes com elevada concentração de DBO₅. Estão freqüentemente dominando o fitoplâncton em lagoas de alta taxa e lagoas facultativas com elevada taxa de aplicação superficial. Normalmente, são as primeiras algas a surgirem nas lagoas;
2. *Scenedesmus* – Várias espécies desse gênero são habitantes freqüentes em lagoas de estabilização. Formam colônias de 2 a 8 células, normalmente 4 e 8. As células terminais usualmente são curvadas, apresentando espinhos em algumas espécies. São resistentes a herbivoria exercida pelo zooplâncton. Encontradas principalmente em lagoas de alta taxa juntamente com *Chlorella* e lagoas facultativas com alta densidade de zooplâncton;
3. *Chlamydomonas* – Células esféricas, quase esféricas ou alongadas (elípticas) com 2 flagelos. Apresentam membrana celular espessa e acumulam grandes quantidades de amido. São freqüentes em águas com alta concentração de DBO₅, sendo encontradas em lagoas facultativas muitas vezes dominando a comunidade plântonica;
4. *Carteria* – Células esféricas com 4 flagelos e presença de mancha oceolar roxa. Movimento giratório. Presente principalmente em lagoas com elevada carga de DBO₅;
5. *Micractium* – Células esféricas em grupos de 4, apresentam espículas (espinhos) que as protegem da predação. Preferem águas com baixa concentração de DBO₅ e baixa turbidez. São encontradas com maior freqüência em lagoas terciárias e lagoas facultativas com baixa taxa de aplicação superficial. No entanto, também surgem em lagoas de alta taxa. Freqüentemente têm a população aumentada em lagoas com alta densidade de zooplâncton;
6. *Chlorococcum* – Células esféricas, ligeiramente ovaladas, isoladas ou em grupos irregulares. Preferem ambientes com elevada DBO₅. Raramente dominam a comunidade plantônica;
7. *Ankistrodesmus* – Células alongadas e delgadas, solitárias ou em grupos (2 – 32 células). Normalmente estão em lagoas na forma solitária e raramente dominam o plâncton;

8. *Cryptomonas*, *Chilomonas* e *Chromonas* – Células mais estreitas na parte posterior com 2 flagelos. Frequentes em lagoas com baixa turbulência e elevada concentração de DBO₅. Podem dominar a poluição plantônica em lagoas facultativas.
9. *Eudorina* e *Pandorina* – Formam colônias com muitas células (16 – 32) flageladas o que permite rápida movimentação giratória. São muito frequentes em águas oligotróficas mas várias espécies são resistentes a ambientes contaminados.
10. *Pyrobotrys*, *Actinastrum*, *Coelastrum*, *Gonium*, etc.

- **Cyanophyta** (cianobactérias, algas azuis)

Compreendem organismos procariontes fotoautotróficos, apresentam clorofila *a* além de outros pigmentos característicos do grupo (ficocianinas e ficobilinas) em tilacóides livres que conferem à alga uma cor azul-esverdeada. A reserva energética pode ser amido, glicogênio e cianoficina. Morfologicamente, são unicelulares ou filamentosas e algumas espécies fixam nitrogênio atmosférico, outras produzem esporos perdurantes - acineto. Muitas das formas filamentosas possuem aerótopos no interior das células o que confere à alga capacidade de flutuação e deslocamento na coluna d'água.

Os filamentos podem estar envolvidos em uma bainha mucilaginosa em forma de tubo (tricoma). Muitas espécies filamentosas podem realizar movimento oscilatório nas extremidades e deslizamento. Outras, unicelulares apresentam-se envolvidas por uma mucilagem, formando agregados celulares visualizados a olho nu (ex: *Microcystis* spp).

Várias espécies de cianobactérias têm capacidade de produzir potentes neurotoxinas, hepatotoxinas, entre outras. Em Portugal, Vasconcelos e Pereira (2001) verificaram a presença de microcistina hepatotóxica em concentrações que variaram no ano entre 2,3µg/L a 56µg/L no efluente final de uma série de lagoas em Esmorin (Norte de Portugal), composta por lagoa anaeróbia seguida por lagoa facultativa e a última de maturação. As espécies encontradas no efluente foram *Planktotrix mougeotti*, *Microcystis aeruginosa* e *Pseudoanabaena mucicola* em densidade máxima de $2,7 \times 10^6$ células/mL e a toxicidade foi atribuída a *Microcystis aeruginosa*.

Nas lagoas de estabilização são frequentes as classes Oscillatoriales (filamentosas), Chroococcales (colônias) e Nostocales (filamentosas) sendo os organismos componentes da primeira, frequentes em águas com relação N/P maior que 5; as segundas, observadas em ambientes eutrofizados e as terceiras, em ambientes oligotróficos, pois, muitas espécies fixam nitrogênio. Alguns dos gêneros mais frequentes em lagoas de estabilização, compreendem:

1. *Oscillatoria* e *Planktotrix* – Os tricomas são retos ou ligeiramente ondulados, apresentam motilidade e as células são discóides. A principal diferença entre os dois gêneros é a presença de aerótopos em *Planktotrix*. Ambas, freqüentemente dominam o plâncton nas lagoas de maturação. Também, ocorrem nas lagoas facultativas com baixa taxa de aplicação superficial. Têm hábitos planctônicos e perifíticos ficando aderidas em chicanas ou outras partes submersas da lagoa;
2. *Microcystis* – Colônias micro ou macroscópicas flutuantes em arranjo irregular com células sobrepostas em mucilagem colonial incolor, diluente; células ovais ou quase esféricas com presença facultativa de aerótopos. Freqüentes em lagoas com baixa turbulência e elevada concentração de DBO₅;
3. *Merismopedia* – Colônias tabulares formadas por uma camada de células esféricas, as vezes de cor rosada. Presentes em águas com baixa turbulência, elevada turbidez e alta concentração de DBO₅;
4. *Synechococcus*, *Synechococcus*, *Synechocystis*, *Spirulina*, *Phormidium*, *Anabaena*, *Lyngbya*, etc.

- **Euglenophyta** (muitos dos fitoflagelados)

Divisão composta por algas unicelulares eucariontes, com heterotrofia facultativa, flageladas (1 flagelo emergente – espécies de água doce), com presença de mancha ocular avermelhada ao microscópio óptico – estigma, envolvidas por película (estrias ou lorica) e com paramido como substância de reserva energética. Muitas espécies apresentam fototactismo. Nas lagoas de estabilização, são observados os seguintes gêneros:

1. *Euglena* – células alongadas de rápido movimento. Presentes em águas polissapróbia. São encontradas, principalmente, em lagoas primárias e secundárias;
2. *Phacus* – células achatadas e arredondadas, algumas espécies apresentam estrias, movimento giratório. Detectadas em lagoas secundárias;
3. *Leptocinlis* – células arredondadas com estrias transversais. Freqüentemente observados em lagoas secundárias;
4. *Trachelomonas* – não tão comum em LEEs quanto os gêneros acima citados, apresenta lórica e algumas espécies, espinhos.

- **Bacillariophyceae** (diatomáceas)

Algas eucariontes fotoautotróficas, nas formas unicelulares cocoides e coloniais filamentosas. Os pigmentos fotossintetizantes são compostos por clorofila *a* e *c* e a substância de reserva é a crisolaminarina, sendo que muitas espécies acumulam óleo no citoplasma. A característica

marcante das diatomáceas é a presença de sílica impregnada na matriz orgânica da parede celular – frústulas. Essas algas não são tão freqüentes e abundantes nas LEEs quanto as Chlorophytas, Euglenophytas e Cianophytas, mas podem fazer parte do fitoplâncton representantes da ordem Pennales, tais como *Navicula* spp, *Nitzschia* spp e *Cyclotella* spp. As diatomáceas são comumente habitantes de ambientes turbulentos e bem oxigenados, sendo freqüentemente associadas ao perifiton.

- **Dinophyta** (Dinoflagelados)

Os dinoflagelados são algas unicelulares eucariontes com flagelo (1 flagelo). Muitas espécies apresentam carapaça. Contém clorofilas *a* e *c*. Nas LEEs não são frequentes mas eventualmente detecta-se *Peridinium* spp e *Gimnodinium* spp.

Apesar do nome zooplâncton, os protozoários estão incluídos nessa categoria juntamente com os pequenos invertebrados que flutuam em suspensão nos corpos hídricos. Nas LEEs, esses organismos contribuem para a a clarificação do efluente e a reciclagem dos elementos. Na Tabela 18, estão citados os organismos

Os rotíferos, cladóceras e copépodos ocorrem principalmente em lagoas secundárias e terciárias. Elevadas densidades desses organismos afetam o balanço de oxigênio pelo extermínio ou diminuição do número de algas e aumento da demanda respiratória. Consomem bactérias, algas, protozoários e detritos orgânicos contribuindo dessa forma para a clarificação do efluente (Uehara e Vidal, 1989).

Inúmeros estudos têm demonstrado que os protozoários, especialmente os ciliados, desempenham importante papel nos processos biológicos de tratamento de esgotos contribuindo na remoção de bactérias patogênicas, DBO₅ e dos SS (Curds *et al.*, 1968; Curds e Cockburn, 1970; Laybourn-Parry *et al.*, 1999).

Laybourn-Parry *et al.*, 1999, estudando o papel dos ciliados e dos flagelados heterotróficos em lagoas de estabilização e *wetlands* na Austrália, demonstraram que os protozoários nanoflagelados heterotróficos são mais eficientes na remoção das bactérias quando comparados aos ciliados. Também, observaram uma diminuição crescente na população de protozoários ao longo da série de lagoas enquanto o contrário ocorreu no *wetland*.

Tabela 18: Zooplâncton de lagoas de estabilização de esgotos.

ZOOPLÂNCTON			
PROTOZOÁRIOS		MICRO E MACROMETAZOÁRIOS	
Grupo	Gênero	Grupo	Gênero e/ou família e/ou classe
Ciliados	<i>Paramecium, Vorticella, Tokophrya, Podophrya, Aspidisca, Euplotes, Colpoda, Colpidium, Acineta, Halteria, Spirostomum, Lacrymaria.</i>	Rotíferos	<i>Pleurotroena, Enteroplea, Epiphanes, Philodina, Brachionus, Cephalodella.</i>
Amebas	<i>Amoeba</i>	Anelídios e Nematóides (ocorrem no plâncton mas, comumente estão no fundo das lagoas contribuindo para a estabilização do lodo)	
Flagelados não clorofilados	<i>Peranema</i> Nanoflagelados (<5µm)	Cladoceras	<i>Daphnia, Moinadaphnia</i>
		Copepodos	
		Larva de insetos	Notonectidae, <i>Buena</i> e Chironomidae

Fonte: Adaptado de Uehara e Vidal (1989) e Laybourn-Parry *et al.* (1999).

Canovas *et al.* (1996), mostraram a influência do TRH na estrutura do zooplâncton em lagoas de alta taxa. Menores TRHs favorecem o desenvolvimento de pequenos flagelados e ciliados, enquanto maiores valores permitem a proliferação de espécies com longo tempo de geração, como os microcrustáceos, os nematóides e os rotíferos.

2.4. OS BIOFILMES

As comunidades de bactérias em ambientes naturais têm importantíssimo papel na produção e degradação de matéria orgânica, na degradação de vários poluentes ambientais e no ciclo do nitrogênio, enxofre e muitos metais. A maioria desses processos requer organismos com diferentes capacidades metabólicas que freqüentemente contituem os biofilmes. Os estudos desenvolvidos em bioreatores e em meios de cultura têm demonstrado que os biofilmes estão envolvidos no processamento dos esgotos, no tratamento de água subterrânea contaminada com derivados de petróleo (Massol-Deya *et al.*, 1995) e na nitrificação. Também, os biofilmes são formados em muitos ambientes extremos, tais como em canais com águas ácidas oriundas da drenagem de minas de carvão, onde eles contribuem para o ciclo do enxofre (Davey e Toole, 2000).

Muitas descobertas sobre biofilmes têm sido feitas na última década devido à aplicação de novas técnicas de microscopia associadas com técnicas de biologia molecular. A utilização de microscópios *confocal scanning laser* (CSLM) para estudos de biofilmes alterou radicalmente a

percepção sobre a estrutura e função dos mesmos. Este tipo de microscópio, o qual permite a visualização de amostras totalmente hidratadas, tem revelado uma elaborada estrutura *three dimensional* dos biofilmes. A maioria dos biofilmes exibe um elevado nível de heterogeneidade, no qual, há um agregado de células e não apenas uma única camada, as quais estão interdispersas em uma matriz de exopolímeros que varia de densidade criando áreas abertas onde se formam canais de água (Davey e Toole, 2000).

As microcolônias que contituem os biofilmes podem ser compostas por populações de uma única espécie microbiana ou por comunidades de microrganismos de diversas espécies, dependendo dos parâmetros ambientais sobre os quais os biofilmes são formados. Nimerosas condições afetam a estrutura do biofilme, tais quais: as propriedades da superfície e da interface do suporte, a disponibilidade de nutrientes, a composição da comunidade microbiana e a hidrodinâmica. Dessa forma, há um concenso de que nos ecossistemas naturais, os biofilmes não são camadas de uma espécie microbiana, eles representam um sistema biológico com um alto nível de organização formando comunidades complexas a nível estrutural e funcional.

Em ambientes aquáticos naturais, as bactérias são encontradas, predominantemente, formando biofilmes (Geesey *et al.*, 1977). Segundo Davey e Toole (2000), algumas especulações sobre as vantagens dos organismos formarem biofilmes ao invés de viverem como células isoladas, contituem:

- **Proteção:** a produção de EPS (*Extracellular Polymeric Substances*), maximizada nas células sésseis, confere uma proteção física e química aos organismos que compõem o filme biológico;
- **Maior disponibilidade de nutrientes e cooperação metabólica:** variável conforme a localização das microcolônias; simbiose entre as células, o produto de uma espécie é o substrato para outra;
- **Aquisição de novas características genéticas:** dispersão da informação gênica por conjugação. A transferência horizontal de genes é importante para a evolução e a diversidade genética das comunidades microbianas. A prevalência de plasmídeos nas bactérias de diversos ambientes consiste no melhor mecanismo para a disseminação de informação genética.

Várias concepções de processos biológicos de tratamento de esgotos utilizam-se da formação microbiana em biofilmes, dentre os quais, os biofiltros, os biodiscos e os *wetlands*. Os microrganismos que compõem os biofilmes nos bioreatores apresentam maior resistência às variações de cargas, aos compostos tóxicos e as variações ambientais quando comparados aos microrganismos em suspensão. Adicionalmente, a fixação microbiana em suportes, aumenta o tempo de detenção celular e conseqüentemente a eficiência do processo de tratamento.

Tal qual em ambientes naturais, a formação dos biofilmes em reatores de tratamento de esgotos resulta de processos físicos, químicos e biológicos, os quais são caracterizados pela seguinte seqüência de eventos (Characklis e Marshal, 1990):

1. moléculas orgânicas são **transportadas** da fração líquida até o suporte, onde parte destas são **adsorvidas** formando uma primeira camada de acumulação;
2. uma parte dos microrganismos presentes na fração líquida é **transportada** para a primeira **camada de acumulação**;
3. uma parcela dos microrganismos que atinge o substrato fica **adsorvida** a este durante um período finito de tempo, sendo então, liberados – este processo é denominado **desorção**. A desorção pode ser resultado das forças de cisalhamento provocadas pelo movimento do fluido, como também pode ser resultado de outros fatores físicos, químicos e biológicos;
4. a porção de células de microrganismos que foram adsorvidos pode permanecer no meio suporte por um período de tempo grande o suficiente tornando esta **adsorção irreversível**;
5. os microrganismos que estão adsorvidos crescem e reproduzem-se utilizando o aporte nutricional existente na fração líquida, aumentando assim o número de células no biofilme. Durante o metabolismo destes microrganismos grandes quantidades de subprodutos são formadas, sendo que muitos destes são excretados na forma de **substâncias poliméricas extracelulares** (EPS - *extracellular polymeric substances*) responsáveis pela **aderência de novas células** oriundas da fração líquida, mantendo assim o biofilme aglomerado;
6. novas células e a matéria particulada presente na fração líquida são acumuladas ao biofilme. **Acúmulo** refere-se a imobilização de células e matéria particulada no biofilme,

enquanto que a adsorção refere-se ao mesmo processo, porém, ocorrendo junto ao suporte;

7. porções do biofilme são desprendidas e ficam suspensas na fração líquida. **Desprendimento** consiste da perda de material do biofilme, enquanto que desorção é a perda de células e outros materiais do suporte.

Vários fatores contribuem para a adesão de uma bactéria à determinada superfície e dependem não só da fisiologia do microrganismo, mas também, da natureza e a quantidade do substrato e as condições do meio.

A progressão da acumulação do biofilme forma uma curva sigmóide, a qual é dividida arbitrariamente em três fases:

1. **Fase inicial** – período de reconhecimento do substrato e início da adesão dos microrganismos no suporte;
2. **Fase exponencial ou log** – período de crescimento máximo dos microrganismos. Há abundância de substratos;
3. **Fase de equilíbrio** – a biomassa se mantém ao longo do tempo. A velocidade de crescimento celular é proporcional a velocidade de desprendimento.

No tratamento de esgotos deseja-se a manutenção da biomassa no filme biológico (fase de equilíbrio) ao longo do tempo. No entanto, alterações nas características operacionais, tais como aumento da carga hidráulica, aumento da carga orgânica, variações de pH, OD, presença de substâncias tóxicas, entre outros, fazem com que ocorram contínuas flutuações na concentração da biomassa nos reatores.

2.5. HIBRIDIZAÇÃO *IN SITU* FLUORESCENTE – FISH NA IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS

2.5.1. Considerações iniciais

A aplicação da biologia molecular, principalmente pelas técnicas de Hibridização *in situ* Fluorescente - FISH (*Fluorescence in situ Hybridization*), acopladas ou não ao uso do *confocal scanning laser microscopes*, têm permitido, nos últimos anos, uma melhor percepção da comunidade microbiológica que compõe os reatores biológicos de tratamento de esgotos.

Na síntese protéica, no interior das células, a informação genética encontra-se armazenada nas seqüências nucleotídicas que compõem as moléculas do DNA genômico. Esta informação é inicialmente transcrita para uma seqüência de bases chamada de RNA mensageiro (RNAm), sob a ação da enzima RNA polimerase, sendo posteriormente traduzida numa seqüência de aminoácidos que constituem uma proteína. As estruturas no interior da célula onde se processa a tradução e síntese de proteínas são os ribossomos, os quais são constituídos de proteínas e outras moléculas de RNA denominados de RNA ribossomal (RNAr) (Lechner *et al.*, 1994).

O ribossomo é constituído por duas subunidades ribossomais e cada uma destas integra moléculas de RNAr de diferentes tamanhos que podem ser definidos pelas suas propriedades de sedimentação, designadas de unidades de *Svedberg* (S). Em ribossomos de células procariontes são encontradas as moléculas RNAr 5S e RNAr 23S que constituem a subunidade grande (LSU) e as moléculas RNAr 16S que constituem a subunidade pequena (SSU).

O RNA é sintetizado a partir da cópia de regiões específicas e bem delimitadas do DNA. Os genes ribossomais do DNA possuem a informação genética que codifica a síntese de diferentes moléculas de RNAr. Devido à importância celular da tradução do RNAm em proteínas ou ribossomos, é provável que a forma com que esse mecanismo aconteça tenha surgido uma única vez na evolução (sem sofrer alterações). Dessa forma, grande parte das seqüências de bases das unidades RNAr 5S, 16S e 23S podem ser consideradas conservadas, assim como os genes que as codificam (Abreu, 2004).

Segundo Woese (1987), a seqüência de gene DNAr 16S pode ser utilizada como “molécula relógio” para o estudo da forma como os procariontes têm evoluído ao longo do tempo. Atualmente o RNAr e os seus genes correspondentes (DNAr) são utilizados como marcas biológicas da evolução, devido as seguintes razões (Olsen *et al.*, 1986):

- i. O RNAr está presente no processo de síntese proteica e tem a mesma função em todos os organismos;
- ii. A estrutura do RNAr é conservada sendo relativamente baixa a taxa de mutação durante a evolução quando comparado a outros genes;
- iii. Os RNAr e seus genes são facilmente acessíveis pelas técnicas de PCR – *Polymerase Chain Reaction* - e sequenciação;
- iv. As moléculas RNAr 16S e RNAr 23S contêm suficiente informação permitindo comparações significativas e satisfatórias;

- v. Acredita-se não ocorrer transferência de genes de RNAr entre organismos; relações entre RNAr refletem relações de evolução.

2.5.2. Taxonomia microbiana

Nos últimos anos o gene DNAr 16S, com aproximadamente 1.500 bases de desoxiribonucleotídeos de comprimento, tem sido seqüenciado em milhares de bactérias. Muitas das regiões conservadas são muito semelhantes entre diferentes bactérias, e dentro destas, pequenas seqüências podem ser reconhecidas como únicas, para uma bactéria em particular. Estas seqüências fornecem a “impressão digital” molecular para um determinado organismo e podem ser utilizadas para identificação individual de células bacterianas (Amann *et al.*, 1990b; Amann *et al.*, 1995). Análises comparativas das seqüências DNAr 16S estão conduzindo à reconstrução das árvores filogenéticas universais (Woese, 1987).

Antigamente, antes de se conhecer a informação contida no RNAr 16S, os organismos vivos eram divididos em Eucariontes e Procariontes. Entretanto, árvores filogenéticas baseadas em seqüências parciais de RNAr 16S revelaram que os procariontes deveriam ser divididos em dois grupos distintos que foram designados de Bactéria e Archea (Woese, 1987). Então os organismos vivos foram reclassificados em três domínios: Eucariontes, Archae e Bactérias (Woese, 1987, Woese *et al.*, 1990 *apud* Abreu, 2004).

O domínio **Archaea** abrange o grupo mais primitivo de seres vivos. São microscópicos, procariontes, anaeróbios, com parede celular isenta de peptidoglicano e adaptados as mais extremas condições, sendo por isso conhecidos como Extremofílicos. São encontrados em ambientes inóspitos como pântanos, fontes termais, fundo de oceano, salinas, vulcões, fonte ácida, etc. Fazem parte do grupo Archaea os microrganismos termofílicos, hipertermofílicos, psicofílicos, halofílicos, acidofílicos e alcalifílicos. As mais de 250 espécies descritas têm sido subdivididas em dois grupos, os **Eucaryarchaea** composto pelos metanogênicos, halófitos e termoacidófilas e, os **Crenarchaea** composto pelos acidófilos, hipertemofílicos e psicofílicos.

As **Bactérias** são os microrganismos mais comuns encontrados na água, ar, solo e em outros seres vivos. Possuem peptidoglicano na parede celular e segundo o seqüenciamento do RNAr, foram subdivididas nos seguintes grupos (Garrity *et al.*, 2001):

1. **Alpha-proteobactérias** – incluem bactérias que fixam nitrogênio, muitas quimioautóricas e quimioheterotóricas. Os membros deste filo crescem em ambientes oligotróficos. Ex: *Caulobacter* spp, *Nitrobacter* spp e *Zooglea* spp.

2. **Beta-proteobactérias** – incluem bactérias quimioautotróficas e quimioheterotróficas. Membros deste filo podem ser encontrados no solo, na água e alguns são patogênicos aos humanos. Ex: *Alcaligenes* spp, *Comamonas* spp, *Sphaerophilus* spp, algumas *Zooglea* spp e a maioria das oxidadoras de amônia.
3. **Gamma-proteobactérias** – abrangem as ordens Pseudomonadales, Legionellales, Vibrionales, enterobacteriales e Pasteurellales. Ex: *Acetobacter* spp, *Aeromonas* spp, *Pseudomonas* spp, *Vibrio* spp e *Nitrococcus mobilis* (oxida nitrito).
4. **Delta-proteobactérias** – incluem os gêneros *Myxococcus* e *Bdellovibrio* os quais são predadores de outras bactérias, *Desulfobrio* (reduzidor dissimilatório de sulfato) e *Nitrospina gracilis* (oxida nitrito) entre outras.
5. **Episilon-proteobactérias** – compreende os gêneros *Campylobacter* e *Helicobacter*. Ambos patogênicos aos seres humanos.
6. **Bactérias púrpuras e fotossintetizantes** – são gram-negativas fotoautotróficas:
 - i. Bactérias púrpuras do enxofre – alpha-proteobactérias;
 - ii. Bactérias púrpuras – beta-proteobactérias;
 - iii. Bactérias verdes – não-proteobactérias
7. **Gram-negativas não-proteobactérias** – abrange muitos filos incluindo as cianobactérias e muitas quimioheterotróficas patogênicas. Destaca-se aqui o Filo Nitrospira com o *Nitrospira* spp, a qual oxida amônio a nitrito.
8. **Bactérias gram positivas** – divididas em dois grupos:
 - i. Bactérias com baixo percentual das bases G + C (moles) – Filo Firmicutes;
 - ii. Bactérias com alto percentual das bases G + C (moles) – Filo Actinobactérias.

2.5.3. Construção de sondas para identificação de microrganismos

A construção de uma sonda inicia-se pela caracterização molecular de comunidades microbianas naturais. Primeiramente realiza-se a extração dos ácidos nucléicos diretamente da amostra ambiental de um determinado *habitat* ou a partir de uma cultura pura, através dos procedimentos habituais, nomeados de técnicas de diluição. Na seqüência podem-se seguir duas vias objetivando a construção de clones de DNAr (Amann *et al.*, 1992):

- 1° - PCR: fragmentos do DNAr podem ser seletivamente amplificados de um DNA misto a partir de *primers* específicos da região do DNAr 16S;
- 2° - Transcrição reversa do RNAr 16S do ecossistema a partir da enzima transcriptase reversa, obtendo-se o DNAr (DNA complementar).

A partir de uma destas duas vias obtêm-se uma série de clones de DNAr com seqüências possíveis de serem determinadas. Analisando comparativamente as seqüências existentes, pode-se realizar estudos de filogenia e construção de sondas (Figura 7).

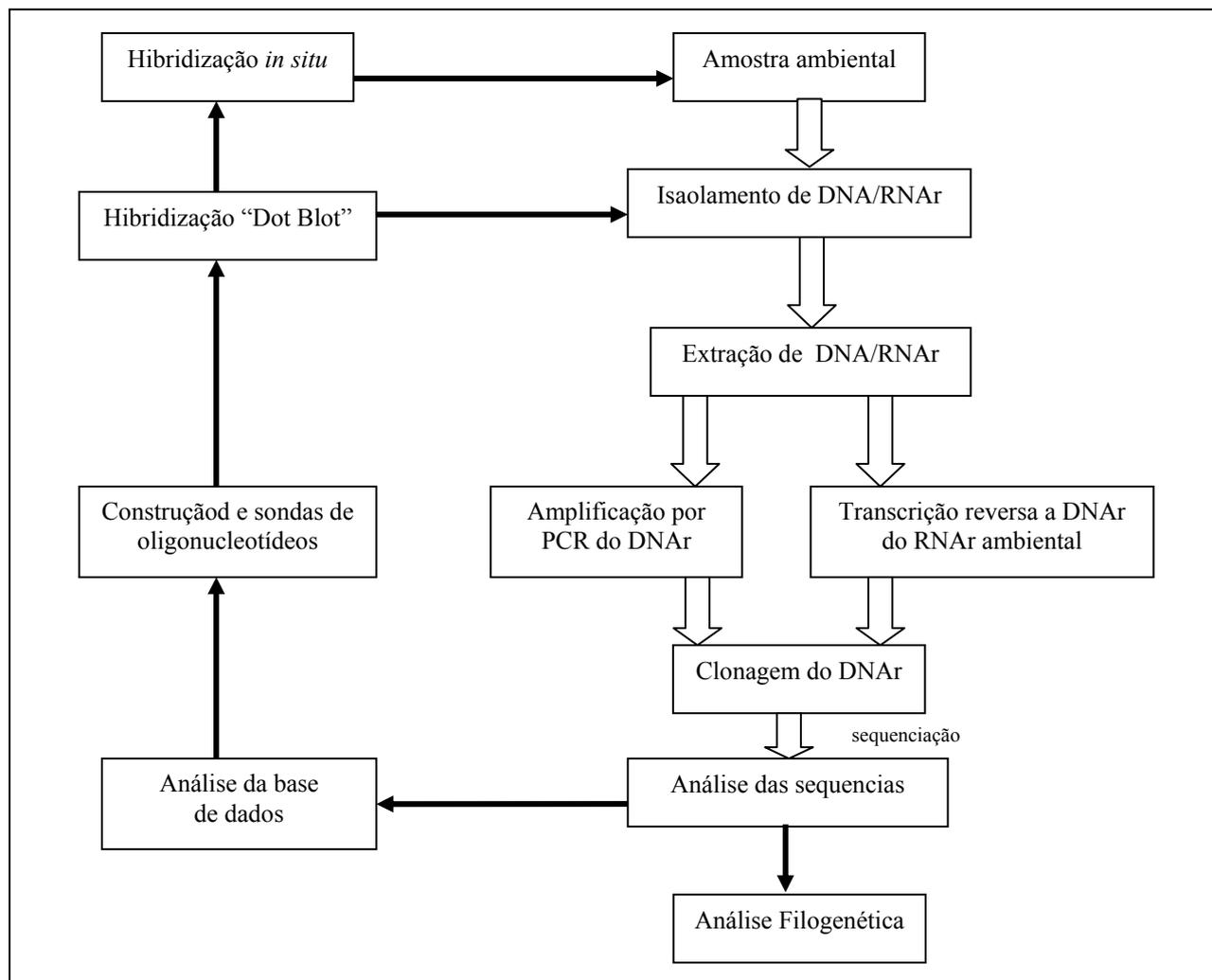


Figura 7: Etapas da construção de sondas de ácidos nucleicos e sua aplicação (Amann *et al.*, 1995).

Na construção de uma sonda estão envolvidas quatro etapas fundamentais (Amann *et al.*, 1995):

- i. Alinhamento do RNAr (ou seu gene DNAr);
- ii. Identificação da seqüência alvo;
- iii. Síntese e marcação da sonda;
- iv. Avaliação experimental e otimização da especificidade da sonda e determinação da temperatura de dissociação.

A terceira etapa envolve a síntese de DNA que pode ser efetuada automaticamente e a marcação dos nucleotídeos é realizada por ligação enzimática (com radionucleotídeos ou dioxigenina) ou por ligação química (com dioxigenina ou marcadores fluorescentes).

2.5.4. FISH para identificação de bactérias em reatores biológicos

A técnica designada de Hibridização *in situ* fluorescente (FISH) (Amann *et al.*, 1995) aplicada à identificação de bactérias em reatores biológicos de tratamento de esgotos, consiste na utilização de sondas de oligonucleotídeos, usualmente com 15 a 20 nucleotídeos de comprimento, complementares às regiões RNAr 16S do alvo (bactérias que se deseja detectar).

As regiões RNAr 16S possuem um elevado grau de conservação característico das entidades filogenéticas, tais como: gênero, famílias e subclasses. As sondas são capazes de penetrar nas células bacterianas fixadas e formarem ligações estáveis (híbridos – via pontes de hidrogênio entre nucleotídeos complementares), com a região RNAr 16S nos ribossomos. Se não existir complementariedade entre a seqüência de oligonucleotídeos da sonda e a região RNAr 16S do ribossomo, não ocorre a hibridização estável e os oligonucleotídeos são lavados das células.

De forma a permitir a observação, quando a hibridização ocorre, são acopladas à sonda moléculas marcadoras. Vários marcadores podem ser utilizados, sendo o procedimento mais comum a ligação de um marcador fluorescente na extremidade 5' da sonda (Amann *et al.*, 1990b; 1992; 1995). Os fluorocromos mais comumente empregados são: fluoresceína (FLUOS), tetrametilrodamina, texas red, Cy3, Cy5 e Cy7 (Amann *et al.*, 1995). Devido à sua relativa estabilidade, o Cy3 tornou-se o marcador mais usual, melhorando a detecção de FISH em amostras ambientais (Glöckner *et al.*, 1996). As células em que os oligonucleotídeos marcados hibridizam com o RNAr alvo podem ser diretamente visualizadas em um microscópio de epifluorescência.

Segundo Wagner e Amann (1997) em sistemas de lodos ativados a maioria das bactérias são proteobactérias da subclasse Beta seguida pela subclasse Delta. As Alpha e Gamma-proteobactérias são menos abundantes nesses sistemas. Os mesmos autores descrevem que a alta relação obtida com a sonda EUB (sonda para bactérias) e o marcador DAPI – *DNA intercalating dye 4,6 diamidino – 2 – phenylindoli* (cora todas as células), indica que a maioria das bactérias no reator estão crescendo e estão metabolicamente ativas, pois as bactérias que não hibridizam com a sonda EUB estão metabolicamente inativas ou não permeáveis aos nucleotídeos da sonda pelo procedimento padrão de fixação.

CAPÍTULO 3 – Etapa de Laboratório 1

Este capítulo refere-se a primeira fase do estudo, em escala de laboratório - denominada Etapa de Laboratório 1, contemplando os objetivos específicos, os procedimentos metodológicos adotados, os resultados obtidos, a discussão e as conclusões.

3.1. OBJETIVOS

Esta etapa da pesquisa contemplou os seguintes objetivos:

- Testar em laboratório três tipos distintos de materiais: PVC, acrílico e fibra de vidro como suporte do biofilme em reatores de 2 litros simulando uma pequena porção da zona fótica de lagoas facultativas de tratamento de esgotos domésticos;
- Comparar os resultados obtidos nos reatores com os diferentes suportes;
- Avaliar a remoção de material carbonáceo, nitrogênio e sólidos em reatores com biofilme simulando a zona fótica de lagoas facultativas;
- Comparar o desempenho dos reatores com suportes de PVC, acrílico, fibra de vidro e reator controle (sem suporte) simulando zona fótica de lagoas facultativas;
- Acompanhar o desenvolvimento do biofilme nos diferentes suportes;
- Analisar a composição algal e da microfauna em cada material suporte e na massa líquida das células;
- Escolher o suporte de melhor adequação ao crescimento da biomassa ativa no tratamento de esgotos em lagoas facultativas para a continuidade do estudo em etapas posteriores.

3.2. METODOLOGIA

Com o objetivo de selecionar um tipo de material suporte para o desenvolvimento de biofilme microbiano em lagoas de estabilização, construiu-se uma estrutura de madeira com 1,50m de comprimento, 0,6m de largura e 0,8m de altura, revestimento lateral com cortina do tipo *blackout* e 4 lâmpadas fluorescentes (tubo de 1,10m de comprimento) (Figura 8), onde foram colocados os reatores (beckers) com três diferentes materiais suportes: PVC (B₁), acrílico (B₂) e fibra de vidro (B₃), além de reatores sem suportes (controle).

O estudo foi desenvolvido no período de 20/08/2002 a 05/11/2002 no Laboratório da Divisão Operacional de Esgotos – DIOES da Companhia Catarinense de Água e Saneamento – CASAN. No dia 20/08/2003 os reatores foram completados (2 litros) com esgoto tratado a nível primário e aguardou-se a estabilização da condição facultativa até o dia 10/09/2003, quando o TRH foi de

20 dias. Após o período de estabilização, introduziram-se os suportes nos reatores e o sistema foi operado e monitorado continuamente até 05/11/2003.



Figura 8: Estrutura desenvolvida para a realização do estudo possibilitando o controle parcial de temperatura e iluminação. Observam-se os reatores de 2L (beckers) e as lâmpadas fluorescentes.

Nesta etapa da pesquisa realizou-se ensaios com 4 séries de reatores sendo cada série composta por 8 reatores, totalizando 32. Os reatores foram operados individualmente, sob as mesmas condições de alimentação, iluminação e temperatura durante 56 dias (Figura 9). O objetivo de cada reator de bancada foi simular uma porção da zona fótica de uma lagoa facultativa com TRH de 20 dias.

A alimentação diária dos reatores foi feita manualmente e a iluminação foi controlada com temporizador do tipo *timer* ligado às lâmpadas, a fim de obter-se um fotoperíodo de 12h/dia. Para a alimentação dos reatores foi utilizado o efluente da lagoa anaeróbia da ETE continental de Florianópolis (CASAN), coletado e analisado duas vezes por semana, nas segundas e quintas-feiras as 8:30h. O efluente da lagoa anaeróbia era armazenado refrigerado a 4°C e utilizado diariamente na alimentação do sistema. As características operacionais do sistema experimental encontram-se na Tabela 19.

Nos reatores da primeira série não foram colocados suportes – série controle (Célula 0 - C0), nas outras séries foram adicionados suportes retangulares (área de 0,015m²) de PVC (Célula 1 - C1), acrílico (Célula 2 - C2) e fibra de vidro (Célula 3 - C3) (Figura 9).

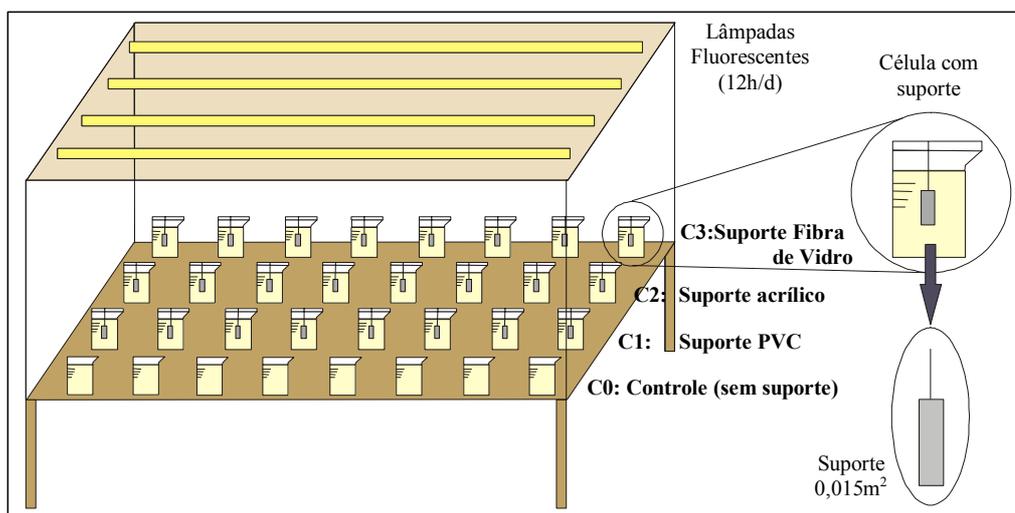


Figura 9: Esquema representativo da unidade experimental evidenciando a disposição dos reatores com diferentes materiais suporte e a disposição dos suportes nos mesmos.

Tabela 19: Características operacionais aplicadas na etapa de laboratório 1.

PARÂMETRO	VALORES APLICADOS
Período de ensaio	56 dias (20/08 a 05/11/2002)
Vazão	0,1L/d
Fotoperíodo	12h
Tempo de retenção hidráulico - TRH	20 dias
Volume do reator	2L
Área do suporte	0,015m ² /reator exceto para células controle – C0.
Relação área do suporte e volume do reator	7,5m ² /m ³
Carga volumétrica média de N-NH ₄ ⁺	1,8 ± 0,1gN-NH ₄ /m ³ .d
Carga volumétrica média de DQO	15 ± 1,5gDQO/m ³ .d
Carga média de N-NH ₄ ⁺ por área de suporte	0,24 ± 0,018gN-NH ₄ /m ² .d
Carga média de DQO por área de suporte	2 ± 0,2gDQO/m ² .d
Intensidade luminosa	10.000 lux ou 13.000cal/m ² .h
Temperatura média da massa líquida	25°C±2°C

Diariamente, antes da alimentação dos reatores, monitorou-se a temperatura, OD e pH na massa líquida dos mesmos e realizou-se a alimentação do sistema (retirada de 0,1L e introdução de 0,1L do efluente da lagoa anaeróbia em cada reator) para manutenção de um TRH de 20 dias. Para este procedimento a massa líquida contida em cada reatora foi previamente homogeneizada com uma espátula de metal. Semanalmente, monitorou-se um reator de cada série do experimento, analisando-se parâmetros biológicos e físico-químicos da massa líquida e do biofilme aderido nos suportes, conforme descrições na Tabela 20. As determinações foram realizadas em duplicatas exceto para os SS, o NTK e a clorofila *a* devido ao alto custo do material utilizado nessas análises. No caso das duplicatas, quando o desvio médio entre as duas leituras foi maior que 20%, realizou-se uma nova determinação. O resultado final expresso consiste na média de duas leituras com desvio médio inferior a 20%.

Na realização das coletas, a massa líquida foi previamente homogeneizada, o que ressuspensava os sólidos contidos no fundo das células. O biofilme foi raspado dos suportes com escova de cerdas macias e jatos de água destilada – remoção mecânica (Pompêo, Monchini-Carlos, 2003).

Tabela 20: Descrição dos métodos analíticos empregados na Etapa de Laboratório 1.

<i>ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS</i>		
PARÂMETRO DETERMINADO	METODOLOGIA UTILIZADA	FAIXA DE LEITURA
Temperatura	Termômetro de mercúrio graduado (sensibilidade 0,5°C).	0°C a 50°C
OD - Oxigênio Dissolvido Temperatura da massa líquida nas células	Oxímetro portátil YSI [®] , modelo 55.	0mg/L a 20mg/L -5°C a 45°C
pH - potencial Hidrogeniônico	Potenciômetro pHmetro ATI ORION [®] , modelo 310.	0 a 14
Alcalinidade total	Titulação potenciométrica com solução de H ₂ SO ₄ 0,02N (APHA, 1995).	–
DQOt Demanda Química de Oxigênio, total	Método colorimétrico de refluxo fechado (APHA, 1995).	50mg/L a 1.500mg/L
DQOs Demanda Química de Oxigênio, solúvel (filtrada)	Amostra previamente filtrada em filtro de fibra de vidro com 0,45µm de porosidade. Método colorimétrico de refluxo fechado (APHA, 1995).	50mg/L a 1.500mg/L
ST (Sólidos Totais), SS (Sólidos Suspensos), STF (ST fixos), STV (ST voláteis)	Gravimetria (APHA, 1995).	–
NTK Nitrogênio Total Kjeldah	Digestão em digestor Hack [®] em meio ácido com oxidação forçada com H ₂ O ₂ a 440°C. Leitura como N-NH ₄ ⁺ - Nessler (Vogel, 1981). Espectrofotômetro.	–
N-NH ₄ ⁺ (N-amoniacal)	Nessler (Vogel, 1981). Espectrofotômetro.	0,5mg/L a 20mg/L
N-NO ₂ ⁻ (N-nitrito)	Alfanaftalamina (APHA, 1995). Espectrofotômetro.	0mg/L a 1mg/L
N-NO ₃ ⁻ (N-nitrato)	Brucina (APHA, 1972). Espectrofotômetro.	0,5mg/L a 12mg/L
Nox. (N-oxidado)	Cálculo: N-NO ₂ ⁻ + N-NO ₃ ⁻ . Espectrofotômetro.	–
Norg. (N-orgânico)	Cálculo: NTK – N-NH ₄ ⁺ . Espectrofotômetro.	–
NT (N-Total)	Cálculo: NTK + Nox. Espectrofotômetro.	–
P-PO ₄ ³⁻ (ortofosfato reativo)	Ácido Vanadomolibdato (APHA, 1995). Espectrofotômetro.	0,5mg/L a 20mg/L
<i>MEDIDAS BIOLÓGICAS</i>		
PARÂMETRO DETERMINADO	METODOLOGIA UTILIZADA	
PS e PSV do biofilme (Peso Seco e PS volátil)	Extração do biofilme (perifiton) e determinação de sua massa seca e massa seca volátil. Método de determinação gravimétrica (APHA, 1995).	
Clorofila <i>a</i>	Extração em acetona 90% e análise colorimétrica (APHA, 1995).	
Diversidade Abundância Frequência	Fixação das amostras com solução concentrada de lugol (Branco, 1996). Identificação das espécies componentes da comunidade plantônica e perifítica presente nas células baseada nas descrições de Streble e Krauter (1985) e chave dicotômica de Lopreto e Tell (1995). Para obtenção de uma estimativa da abundância das espécies presentes nas amostras, utilizou-se um sistema subjetivo, conforme demonstrado na Tabela 21.	

Tabela 21: Sistema subjetivo para determinação da abundância de organismos planctônicos e perifíticos nas unidades experimentais.

CATEGORIA	ABUNDÂNCIA	Visualização de um campo da lâmina observado em microscópio óptico em aumento de 100 vezes
0	Nenhum	Nenhum (0) organismo observado
1	Raros	1 – 2 organismos observados
2	Poucos	2 – 20 organismos observados
3	Comum	20 – 100 organismos observados
4	Muitos	mais que 100 organismos observados

Nas análises espectrofotométricas utilizou-se o espectrofotômetro da Hack[®], modelo DR 4000 e para a microscopia, Microscópio Óptico da Olympus[®], modelo BX-41, e software Image Pro-express, versão 4.0 para Windows 98, na captura de imagens estáticas.

Na avaliação dos resultados foram utilizadas ferramentas estatísticas através do software STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., 2001), as quais permitiram as seguintes determinações:

- *Análise Descritiva:* utilizada para descrever, analisar e interpretar os dados numéricos de uma amostra. Neste estudo, os resultados foram expressos por média aritmética, mediana, desvio padrão, 1º quartil (contempla 25% dos elementos), 3º quartil (contempla 75% dos elementos), o valor máximo, o valor mínimo, a frequência relativa da ocorrência de uma espécie ou grupo, gráficos de comportamento das variáveis em função do tempo, graficos *box plot* mostrando a média, o erro médio, o desvio padrão, os valores discrepantes e extremos de uma variável durante o período.
- *Análise Inferencial (ANOVA):* é um teste de hipóteses que fornece a probabilidade dos grupos (tratamentos) terem médias iguais ou diferentes. Existem duas hipóteses: H_0 – as médias são iguais, não há diferença entre os tratamentos e H_1 – as médias são diferentes, há diferença entre os tratamentos. Portanto, o objetivo do teste é determinar a probabilidade (p) que permite aceitar ou rejeitar H_0 . Se $p > \alpha$ aceita-se H_0 e se $p < \alpha$ rejeita-se H_0 . Aplicou-se o teste de variância ANOVA com nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$) para a verificação de diferenças significativas entre os tratamentos nas unidades com material suporte para biofilme e na unidade sem material suporte.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parâmetros físico-químicos – análise descritiva e teste ANOVA

Os parâmetros físico-químicos expressos pelo número de amostragens (n), a média, a mediana, o desvio padrão (DP), o valor mínimo e o máximo, o 1º quartil e o 3º quartil determinados para o afluente aos reatores (LA), ao reator controle, sem suporte (C0) e aos reatores com suportes de PVC, acrílico e fibra de vidro (C1, C2 e C3, respectivamente), estão descritos nas Tabelas 22, 23, 24, 25 e 26.

Verifica-se que o afluente aos reatores (Tabela 22) apresentou concentrações elevadas de nitrogênio (NTK médio de 54,9mg/L) mantendo uma relação DQOt:NTK de 6:1. A variabilidade verificada nos resultados obtidos no efluente da lagoa anaeróbia foi de aproximadamente 20% do valor médio, exceto para as frações de sólidos e de fosfato reativo dissolvido ($P-PO_4^{3-}$), os quais tiveram variação superior a 20% durante o período de estudo.

A concentração média do esgoto bruto afluente a LA em escala real nos anos de 1999, 2000 e 2001, foi de 500mg/L (Bento *et al.*, 2002). Considerando esse valor, a LA removeu aproximadamente 40% da DQO afluente, apresentando desempenho similar às citadas na literatura (Von Sperling, 1996; Metcalf & Eddy, 2003).

Tabela 22: Resultados das análises físico-químicas verificadas no efluente da lagoa anaeróbia (LA), afluente as células laboratoriais, durante o período de 10/09/2002 a 05/11/2002.

Parâmetros	n	média	DP	mínimo	1º quartil	mediana	3º quartil	máximo
pH	15	7,6	0,2	7,2	7,5	7,7	7,8	8,1
Alcalinidade total (mg/L)	15	292,8	38,4	234,6	251,9	302,1	331,0	342,1
Temperatura da amostra (°C)	15	23,1	2,3	19,0	21,0	23,0	25,0	26,0
DQOt (mg/L)	15	309,5	68,3	184,8	264,3	328,2	369,3	395,8
NTK (mg/L)	15	54,9	5,4	44,5	52,1	53,8	58,2	64,0
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	15	34,6	3,7	27,6	33,8	35,0	37,1	39,5
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	15	7,2	4,0	2,7	4,2	6,6	11,4	14,8
ST (mg/L)	15	1689,6	583,5	855,0	1298,0	1510,0	2135,0	2676,0
SS (mg/L)	15	128,9	37,2	85,0	90,0	115,0	160,0	180,0

A elevada concentração de N-NH₄⁺ no efluente da LA é freqüentemente observada em unidades desse tipo devido à liberação deste íon durante a conversão anaeróbia da matéria orgânica.

Tabela 23: Resultados das análises físico-químicas verificadas no reator controle (C0).

Parâmetros	n	média	DP	mínimo	1º quartil	mediana	3º quartil	máximo
pH	8	7,8	0,4	7,3	7,4	8,0	8,1	8,5
Alcalinidade total (mg/L)	8	102,7	17,5	88,8	92,1	98,0	104,7	143,1
Temperatura da amostra (°C)	8	23,8	2,2	21,0	22,3	23,1	25,8	27,1
OD (mg/L)	8	3,2	1,7	1,3	1,8	3,0	4,7	5,4
DQOt (mg/L)	8	263,3	81,9	176,8	197,7	239,2	332,8	390,6
DQOs (mg/L)	8	69,7	23,8	25,5	56,8	74,5	84,2	101,3
NT (mg/L)	8	41,4	7,3	31,2	37,0	39,0	47,5	52,5
NTK (mg/L)	8	24,9	6,7	16,1	20,6	23,3	30,2	34,6
Norg. (mg/L)	8	22,3	7,6	14,5	15,8	20,3	29,0	33,5
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	8	2,6	3,2	0,4	0,8	1,4	2,8	10,1
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	8	9,3	6,0	0,3	4,9	8,4	15,0	17,2
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	8	7,3	1,7	5,2	5,6	7,6	8,1	10,3
Nox (mg/L)	8	16,5	7,1	5,7	10,4	17,4	22,8	25,1
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	8	7,9	1,0	6,6	7,1	8,0	8,5	9,3
ST (mg/L)	8	1593,6	206,7	1341,0	1426,0	1544,5	1785,5	1896,0
SS (mg/L)	8	137,3	28,2	97,0	121,0	132,5	153,5	187,0
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	6	0,699	0,448	0,256	0,328	0,602	0,969	1,439

Tabela 24: Resultados das análises físico-químicas verificadas no reator com suporte de PVC (C1).

Parâmetros	n	média	DP	mínimo	1º quartil	mediana	3º quartil	máximo
pH	8	7,8	0,4	7,4	7,6	7,7	8,0	8,4
Alcalinidade total (mg/L)	8	93,6	19,4	76,2	82,8	90,6	93,6	138,8
Temperatura da amostra (°C)	8	24,0	2,4	21,0	22,3	23,1	26,5	27,1
OD (mg/L)	8	3,2	2,1	1,0	1,6	3,0	4,2	7,2
DQOt (mg/L)	8	211,4	61,0	134,1	266,4	154,4	209,8	295,7
DQOs (mg/L)	8	57,4	37,4	20,5	24,4	49,4	88,6	114,3
NT (mg/L)	8	39,3	5,2	28,7	37,0	40,8	42,6	45,0
NTK (mg/L)	8	17,0	4,3	13,3	13,8	15,3	19,5	25,7
Norg. (mg/L)	8	14,9	6,0	6,1	11,1	14,3	18,6	25,3
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	8	2,1	2,7	0,4	0,6	1,0	2,5	8,3
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	8	11,4	6,5	1,3	5,9	13,4	16,6	18,0
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	8	10,9	3,6	5,6	8,3	11,0	13,5	16,2
Nox (mg/L)	8	22,3	5,5	14,3	16,9	24,8	26,1	28,5
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	8	7,8	1,3	5,1	7,4	8,1	8,7	9,3
ST (mg/L)	8	1522,9	191,9	1252,0	1343,5	1546,5	1704,0	1743,0
SS (mg/L)	8	93,0	11,9	74,0	83,5	96,0	103,5	104,0
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	6	0,407	0,139	0,254	0,303	0,366	0,525	0,614

Os SS e a clorofila *a* na massa líquida dos reatores com biofilmes foram inferiores aos mensurados na célula controle, indicando que os microrganismos tiveram preferência pelo crescimento perifítico, corroborando com dados de literatura (Toole *et al.*, 2000; Zancan *et al.*, 2004).

Tabela 25: Resultados das análises físico-químicas verificadas no reator com suporte de acrílico (C2).

Parâmetros	n	média	DP	mínimo	1º quartil	mediana	3º quartil	máximo
pH	8	7,6	0,2	7,4	7,5	7,6	7,8	7,9
Alcalinidade total (mg/L)	8	90,1	21,4	63,1	80,6	87,5	92,1	137,4
Temperatura da amostra (°C)	8	23,9	2,2	21,0	22,3	23,1	26,0	27,1
OD (mg/L)	8	3,2	2,4	0,6	1,3	2,3	5,4	6,8
DQOt (mg/L)	8	179,5	66,2	81,7	143,2	177,1	201,8	309,8
DQOs (mg/L)	8	31,9	27,0	2,1	11,1	21,3	57,9	72,8
NT (mg/L)	8	40,7	7,1	25,0	39,5	41,6	45,3	47,9
NTK (mg/L)	8	16,3	4,6	9,6	13,0	16,5	18,8	24,5
Norg. (mg/L)	8	14,4	2,9	9,3	12,5	15,4	15,7	18,8
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	8	1,9	2,9	0,2	0,5	0,9	1,7	8,9
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	8	12,6	5,1	3,7	9,6	13,1	16,3	19,3
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	8	11,8	4,6	3,9	8,7	12,1	15,8	16,9
Nox (mg/L)	8	24,4	6,4	15,4	18,7	26,2	27,8	34,2
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	8	7,9	1,2	5,7	7,1	8,2	8,8	9,2
ST (mg/L)	8	1548,3	196,7	1233,0	1383,5	1599,0	1693,5	1801,0
SS (mg/L)	8	81,1	30,2	36,0	56,0	86,5	100,0	128,0
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	7	0,447	0,321	0,059	0,259	0,398	0,702	1,025

Tabela 26: Resultados das análises físico-químicas verificadas no reator com suporte de fibra de vidro (C3).

Parâmetros	n	média	DP	mínimo	1º quartil	mediana	3º quartil	máximo
pH	8	7,7	0,3	7,4	7,5	7,7	7,9	8,2
Alcalinidade total (mg/L)	8	99,1	17,0	85,5	89,9	93,7	101,0	138,4
Temperatura da amostra (°C)	8	23,8	2,3	20,9	22,3	23,0	26,0	27,1
OD (mg/L)	8	3,0	2,5	0,6	1,3	2,2	4,3	8,2
DQOt (mg/L)	8	195,2	37,2	111,1	185,8	208,3	219,9	222,9
DQOs (mg/L)	8	48,1	37,3	15,4	19,3	33,6	74,6	114,3
NT (mg/L)	8	42,2	9,1	27,9	37,3	41,3	47,7	57,5
NTK (mg/L)	8	21,8	5,6	13,7	16,6	23,1	26,0	29,7
Norg. (mg/L)	8	19,4	5,7	12,4	14,6	19,0	23,4	28,5
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	8	2,5	3,0	0,4	1,0	1,3	2,6	9,5
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	8	10,1	6,4	0,1	5,3	11,2	15,7	16,2
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	8	10,4	5,2	4,7	6,3	8,8	15,0	18,1
Nox (mg/L)	8	20,4	7,7	4,8	16,9	21,8	26,6	27,9
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	8	8,2	1,2	6,5	7,1	8,5	9,2	9,8
ST (mg/L)	8	1552,9	184,1	1264,0	1425,5	1538,5	1706,5	1818,0
SS (mg/L)	8	124,1	56,4	58,0	86,0	114,5	149,5	235,0
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	7	0,782	0,510	0,136	0,326	0,905	1,322	1,442

As concentrações de nitrogênio amoniacal na massa líquida dos reatores foram baixas com médias de 2,6mg/L, 2,1mg/L, 1,9mg/L e 2,5mg/L para C0, C1, C2 e C3, respectivamente. A presença de nitrato e nitrito demonstraram a ocorrência de nitrificação em todas as unidades.

Os níveis de fosfato reativo nas células foram superiores àqueles detectados no afluente (LA) indicando a liberação do fosfato no sistema. O pH não atingiu valores que propiciassem uma efetiva precipitação do $P-PO_4^{3-}$, mantendo-se na faixa entre 7,6 e 7,8 nas unidades.

Nas comparações entre o tratamento de esgoto no reator sem suportes para biofilmes (C0) com aqueles contendo suportes, aplicando-se o teste de hipóteses ANOVA, foi observado maior número de diferenças significativas entre os tratamentos na C0 e C2 seguida pela C0 e C1, indicando que os suportes de acrílico e PVC foram diferenciais no sistema. As diferenças ocorreram entre as concentrações das frações de nitrogênio, exceto nitrito, e SS da C2 e C1 em relação a C0 e para a C2 verificou-se, também, diferenças nas concentrações de DQOt e DQOs. A célula com suporte de fibra de vidro (C3) diferenciou-se da célula controle (C0) apenas em relação à concentração de DQOt (Tabela 27).

Tabela 27: Resultados de ANOVA ($\alpha = 0,05$) que apresentaram diferenças significativas entre o tratamento no reator controle e os demais.

Parâmetros	Valor de p		
	C0 x C1 (PVC)	C0 x C2 (Acrílico)	C0 x C3 (Fibra de vidro)
DQOt (mg/L)		0,0408	0,0500
DQOs (mg/L)		0,0101	
NTK (mg/L)	0,0143	0,0100	
Norg. (mg/L)	0,0486	0,0154	
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	0,0203	0,0215	
Nox (mg/L)		0,0349	
SS (mg/L)	0,0011	0,0018	

Para os demais parâmetros não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos. No estudo de Craggs *et al.* (2000), não ocorreram diferenças significativas no tratamento de esgoto realizado em lagoa facultativa com suporte de HDPE e outra com suporte de polipropileno em diferentes condições de operação e profundidades. Em ambientes aquáticos naturais, não há um consenso dos pesquisadores sobre a natureza do material suporte preferida pelos microrganismos. Observa-se em alguns casos maior biomassa perifítica em madeira, outros em vidro, acrílico, PVC, etc.

Na Figura 10 estão plotadas as concentrações de DQOt e DQOs nos 4 reatores avaliados. Os maiores valores ocorreram no C0 (DQOt média = 263,3mg/L e DQOs média = 69,7) e os menores no C2 (DQOt média = 179,5mg/L e DQOs média = 31,9mg/L) seguido pelo C1 (DQOt média = 211,4mg/L e DQOs média = 57,4mg/L). Estes resultados evidenciam que os suportes de

acrílico e PVC introduzidos na zona fótica de lagoas facultativas, contribuem para a redução da matéria orgânica dos esgotos.

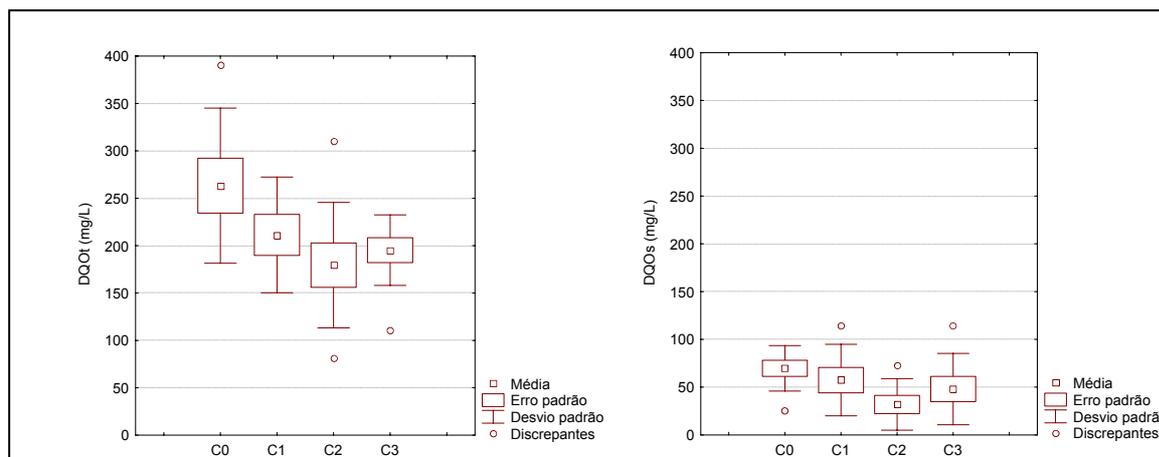


Figura 10: Comparações nas concentrações de DQOt e DQOs entre os tratamentos.

A DQOt foi cerca de 4 vezes maior que a DQOs em todos os tratamentos. Este fato resulta, principalmente, do carbono orgânico incorporado a biomassa algal suspensa na lagoa.

Os efluentes produzidos nos reatores com suportes para biofilmes apresentaram DQOs inferior a 50mg/L em 50% ou mais do período experimental, enquanto que no C0 esta condição ocorreu somente em 25% das amostragens (Figura 11). O aumento da densidade de bactérias heterotróficas nos reatores pela adesão de microrganismos nos suportes foi, provavelmente, o maior responsável pela maior remoção da DQOs afluente nessas unidades.

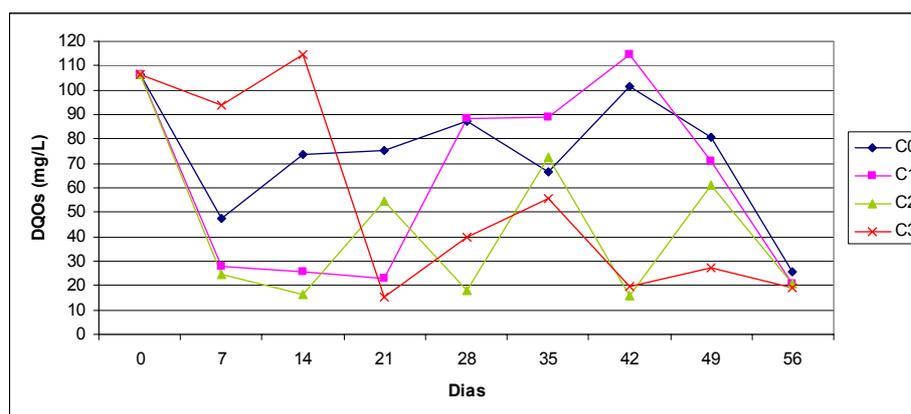


Figura 11: Comportamento da DQOs nos tratamentos ao longo do período de experimento.

Na massa líquida de todos os reatores verificou-se que o nitrogênio foi composto em sua maioria por frações orgânicas (Figura 12) componentes da biomassa presente na massa líquida. No C0 e

C3 ocorreram as maiores concentrações de nitrogênio orgânico, inferindo que nessas unidades a concentração de algas foi maior do que no C1 e C2.

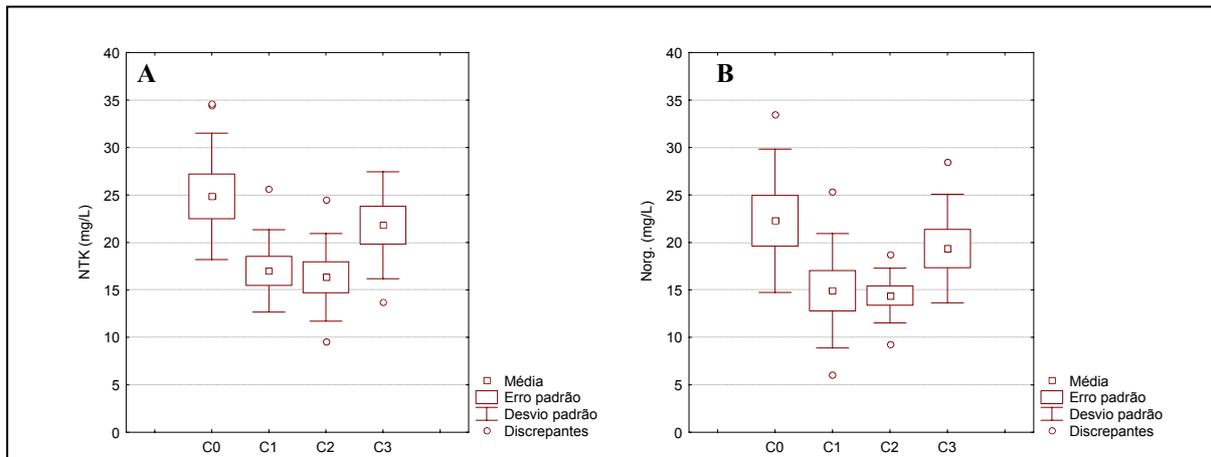


Figura 12: Comparações nas concentrações de NTK (A) e Norg. (B) entre os tratamentos.

Na Figura 13 têm-se as concentrações de nitrogênio oxidado e as frações de nitrogênio-nitrato nos reatores. Observa-se a ocorrência de nitrificação pelas elevadas concentrações de nitrogênio oxidado em todas as unidades, destacando-se àquelas com biofilmes. Aproximadamente 50% do Nox corresponde ao nitrogênio nítrico evidenciando uma nitrificação incompleta, provavelmente pela baixa densidade de bactérias oxidadoras de nitrito e/ou pela baixa atividade das mesmas provocadas por fatores limitantes ao processo. Maiores concentrações de Nox foram detectadas no efluente do C2 (média de 24,4mgN/L) e no C1 (média de 22,3mgN/L). Outros autores (Bento *et al.*, 2002) têm observado a nitrificação parcial (apenas a nitritação) em lagoas facultativas e de maturação durante o verão.

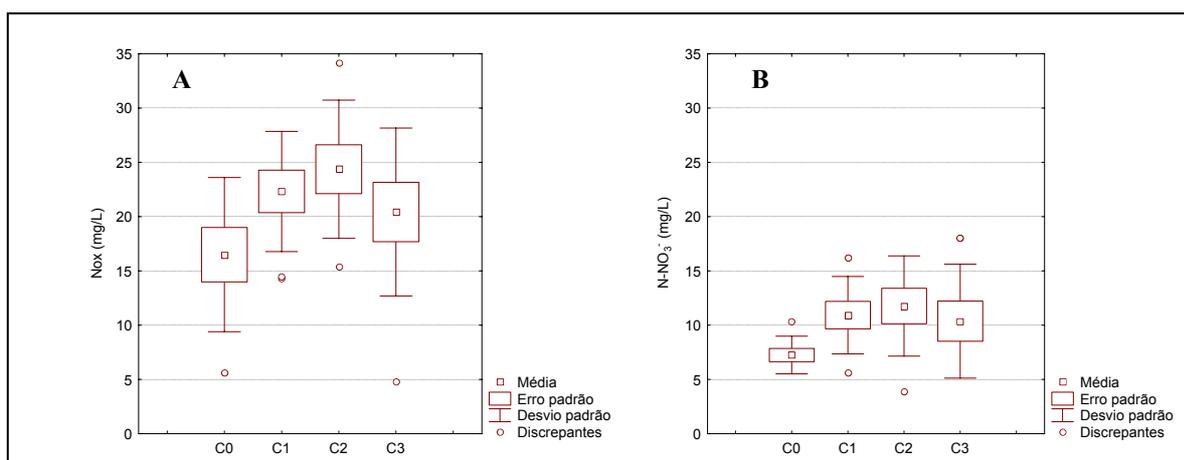


Figura 13: Comparações nas concentrações de Nox (A) e NO₃⁻ (B) entre os tratamentos.

As concentrações das frações de nitrogênio ao longo do período (Figura 14) mostram um decréscimo abrupto das concentrações de amônia em todos os tratamentos após o 14º dia de

operação, mantendo-se em concentrações inferiores a 3mg/L até o fim do experimento. O aumento do Nox em todas as unidades evidencia a ocorrência da nitrificação, a qual, segundo este parâmetro, foi mais expressiva na C2. Valores elevados de Norg foram verificados em todas as células destacando-se a C0 e C3 por apresentarem concentrações mais elevadas, principalmente após o 42º dia.

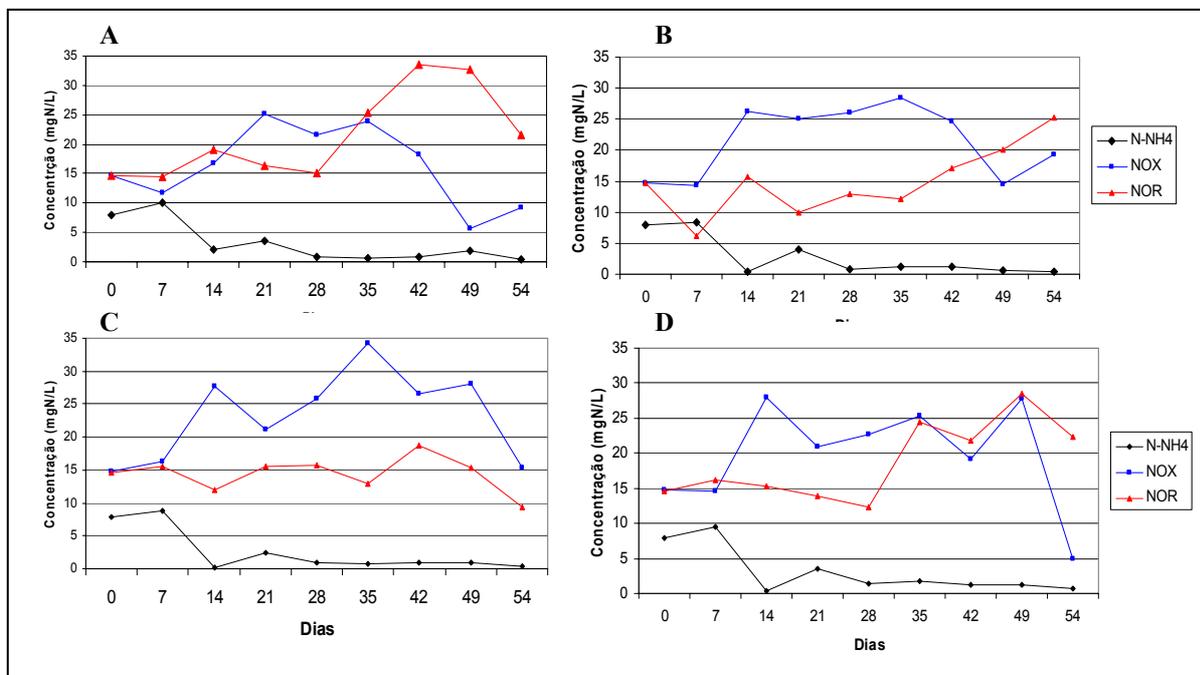


Figura 14: Comportamento das frações de nitrogênio nas células controle C0 (A), C1 (B), C2 (C) e C3 (D).

As proporções médias das diferentes formas nitrogenadas mensuradas na massa líquida de cada reator podem ser observadas na Figura 15. A proporção de amônia foi similar em todas as unidades, mantendo-se em torno de 5%. As diferenças observadas referem-se as concentrações de $N-NO_3^-$ e Norg, indicando que os mecanismos de transformação do nitrogênio ocorreram em diferentes proporções. Nos reatores C0 e C3, nos quais foram verificadas maiores concentrações de Norg, a incorporação de nitrogênio à biomassa algal foi mais intensa, enquanto no C2 e C1 a nitrificação foi o mecanismo mais expressivo. Também, supõe-se que o biofilme contribuiu para a adesão de bactérias que oxidam o nitrito, tendo em vista maiores proporções de nitrato nos efluentes das células com suportes.

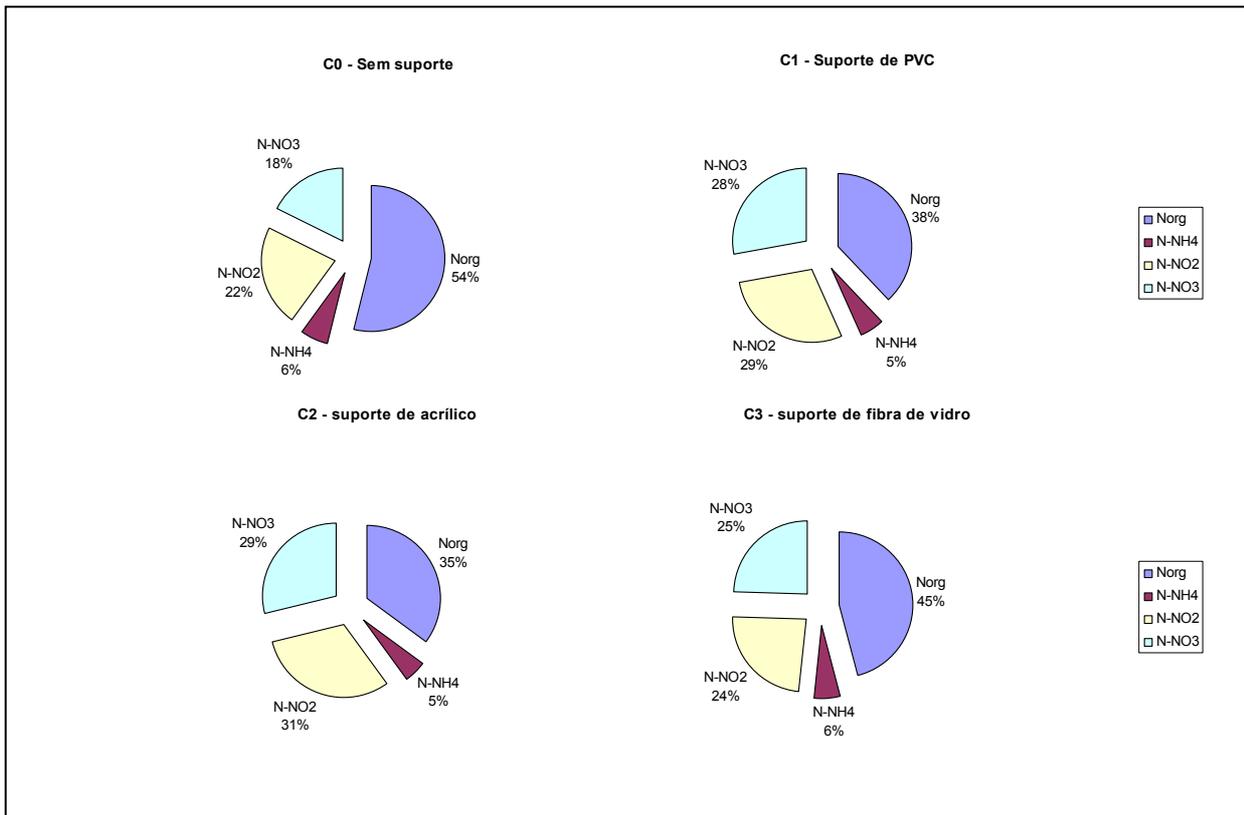


Figura 15: Proporções médias das formas nitrogenadas nos reatores com diferentes materiais suporte.

A variação de SS foi maior no C3 e menor no C1, indicando que o suporte de PVC manteve a qualidade da massa líquida mais constante ao longo do tempo quando comparado aos demais suportes (Figura 16). Maiores concentrações de SS ocorreram no C3 e menores nos C2 e C1. Entretanto, essas concentrações de SS não correspondem aos valores realmente presentes no efluente de cada reator, devido a ressuspensão mecânica dos sólidos previamente às coletas.

Considerando que a clorofila *a* das algas plantônicas constitui cerca de 1% do peso seco da biomassa algal, obteve-se o comportamento da biomassa em suspensão ao longo do período em todas as células (Figura 17). A proporção de algas plantônicas em relação aos SS foi de $45\% \pm 0,1\%$, $44\% \pm 0,1\%$, $52\% \pm 0,2\%$ e $66\% \pm 0,2\%$ no C0, C1, C2 e C3 respectivamente. No reator com suporte de fibra de vidro houve maior concentração de biomassa fitoplantônica.

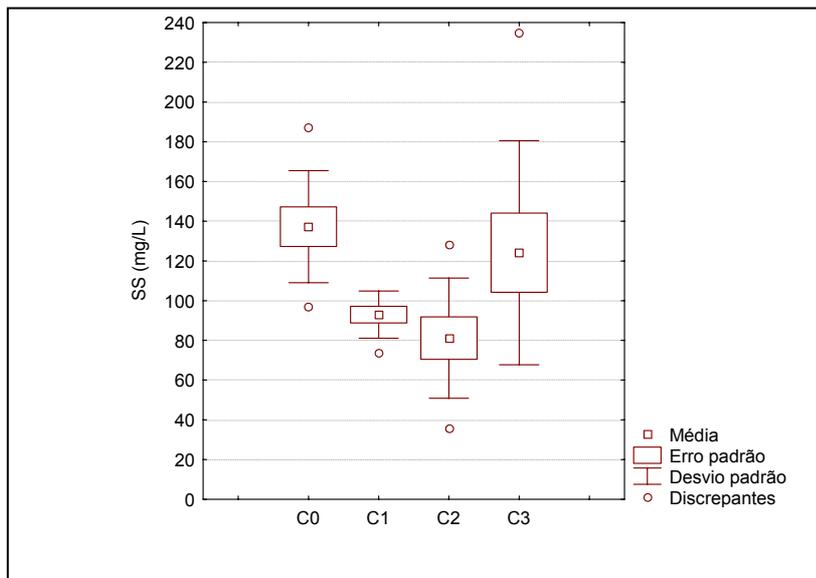


Figura 16: Comparação entre as concentrações de SS nos tratamentos com os diferentes materiais suportes.

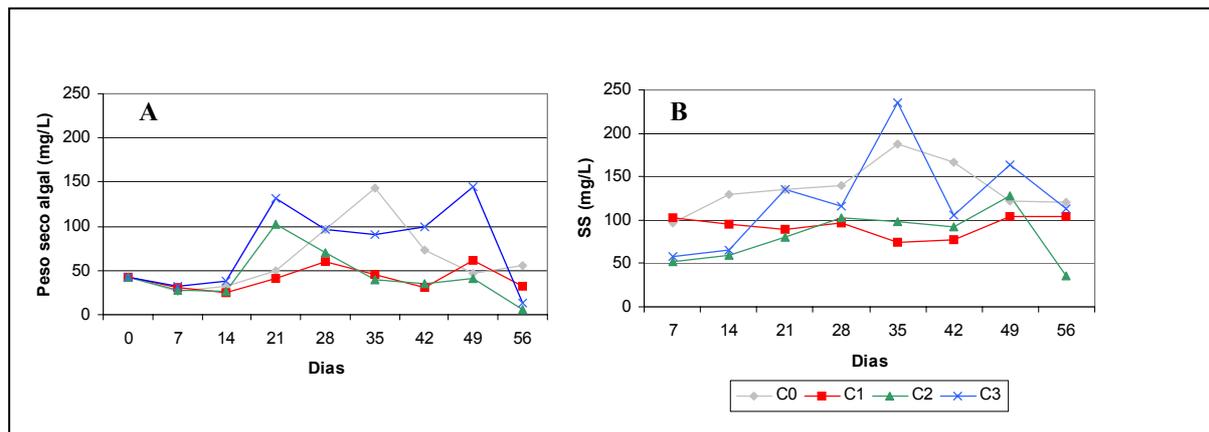


Figura 17: Comparações entre a concentração de SS na massa líquida (B) dos reatores e o peso seco algal (A) ao longo do período de estudo.

Massa do Biofilme

O suporte com maior concentração de biomassa ao longo do período foi o de fibra de vidro (B3) (Figura 18). A biomassa nos suportes de acrílico e de PVC (B2 e B1 respectivamente) apresentou comportamento similar. Do 14º ao 21º dia houve um acentuado aumento na concentração da biomassa em todos os suportes, no B1 de 1,52g/m² para 3,98g/m², no B2 de 1,29g/m² para 4,87g/m² e no B3 de 1,83g/m² para 5,79g/m². Zancan *et al.* (2004) em estudo realizado em Porto alegre, Brasil, obtiveram colonização significativa pelo perifiton em lagoas facultativas e de maturação tratando esgotos domésticos com cerca de 3 semanas de tempo de contato dos suportes nas lagoas.

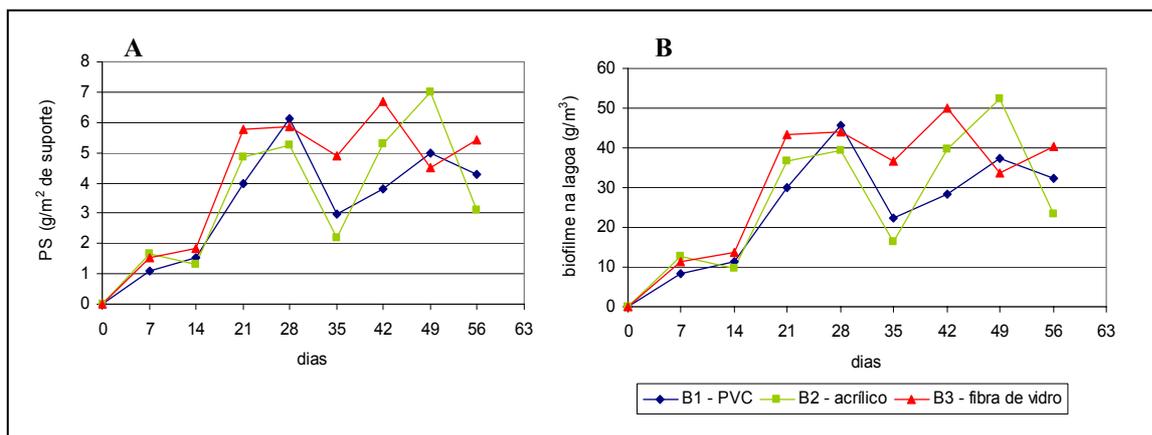


Figura 18: Massa do biofilme ao longo do tempo nos suportes (A) e na lagoa (B).

Em todos os suportes ocorreu um declínio da biomassa no 35º dia, sendo este mais evidente no C2. O incremento da biomassa nos reatores após o 21º dia de operação foi de aproximadamente 33g/m^3 no C1, 35g/m^3 no C2 e 41g/m^3 no C3. No biofilme, cerca de 50% da biomassa foi constituída de algas, mas infelizmente, devido a problemas analíticos houve perda de muitos dados referentes à concentração de clorofila *a* da comunidade perifítica.

A estimativa da velocidade de crescimento da biomassa nos suportes pode ser observada na Figura 19. O comportamento foi semelhante para todos os tratamentos, atingindo valores máximos no 21º dia no suporte de fibra de vidro e de acrílico e no 28º dia no de PVC com crescimento de $0,28\text{g/m}^2\cdot\text{d}$, $0,22\text{g/m}^2\cdot\text{d}$ e $0,21\text{g/m}^2\cdot\text{d}$, respectivamente.

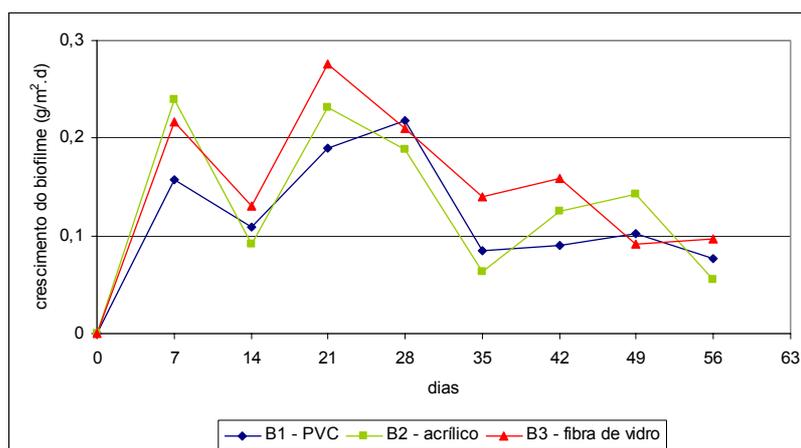


Figura 19: Estimativa da velocidade do crescimento do biofilme nos suportes.

Performance das unidades de tratamento

Os valores médios de remoção das principais variáveis de controle, calculados a partir do conjunto de dados numéricos obtidos ao longo do período experimental, relacionando o afluente aos reatores com a massa líquida coletada nos mesmos, evidenciam que o tratamento secundário dos esgotos nos reatores foi eficiente, obtendo-se elevada redução de DQOs e $N-NH_4^+$ (Figura 20). Houve melhoria da qualidade da massa líquida nos reatores contendo suporte para biofilme, principalmente no C2 e C1, os quais apresentaram maiores reduções na maioria dos parâmetros.

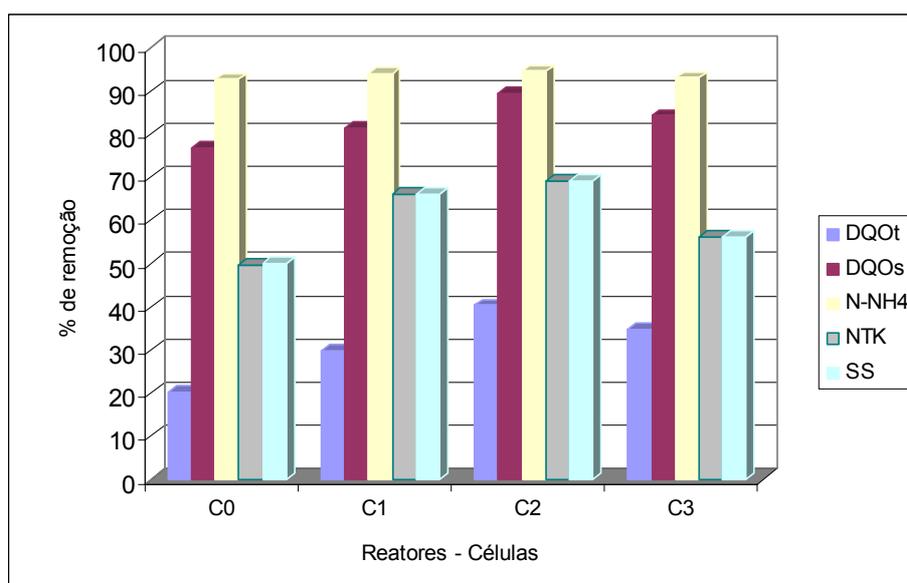


Figura 20: Remoções médias dos parâmetros avaliados nas células com diferentes materiais suportes durante o período de experimento.

Análise de Microscopia

A frequência relativa dos grandes grupos presentes no plâncton e no perifiton dos reatores encontra-se e na Figura 21. Verifica-se que não houve muitas diferenças nas frequências de organismos. No plâncton de todos os reatores, representantes das Clorophyta e Cianobactérias estiveram presentes em 100% do período, as Bacillariophyceae e os protozoários não clorofilados também, exceto no C2 e no C0 onde ambos ocorreram em 87% das amostras. Euglenophyta e Dinophyta foram os grupos que apresentaram menores frequências. Em todo o período, detectou-se micrometazoários nos reatores C0 e C2 enquanto nos C1 e C3 estes foram observados em 75% das amostras.

A frequência relativa dos grandes grupos de organismos presentes nos suportes de PVC (B1), acrílico (B2) e de fibra de vidro (B3) durante os 60 dias de experimento foi igual (Figura 22). Os gêneros com maior frequência e também abundância foram *Chlorella* spp, *Planktotrix* sp, *Oscillatoria* sp e *Navicula* sp (Tabela 28). Todas estas estiveram presentes em todas as amostras

e em todos os suportes em densidades elevadas. O ciliado *Ciclidium* sp foi o predador de bactérias e algas mais abundante e freqüente no suporte de fibra de vidro, enquanto *Litonotus* sp e *Vorticella* sp predominaram nos suportes de PVC e acrílico. Os rotíferos foram visualizados em baixa densidade, mas em todas as amostras do perifiton após o 14º dia de contato do suporte com o esgoto pré tratado.

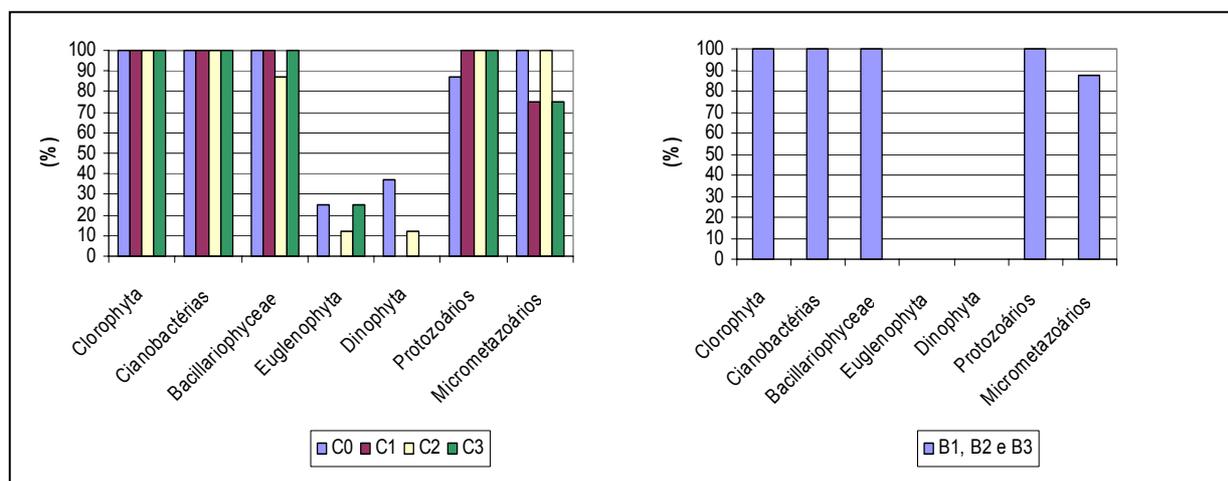


Figura 21: Freqüência relativa dos organismos plantônicos e perifíticos presentes nos reatores com diferentes materiais suportes.

A densidade de organismos foi maior nas amostras do perifiton em relação às amostras do plâncton, no entanto, a diversidade foi maior no plâncton. A alga verde *Chlorella* foi a única do grupo das Cloroficeas visualizada em abundância nas amostras retiradas dos suportes. Nas amostras do perifiton não foram detectadas representantes das Euglenophyta, Dinophyta e grandes ciliados natantes. Os suportes serviram de substrato de fixação, principalmente, a organismos com baixa motilidade e capacidade própria de fixação.

Os microrganismos presentes nas amostras são indicativos de ambiente favorável aos processos de ciclagem dos componentes do esgoto por metabolismo aeróbio. *Chlorella* spp apresenta rápido crescimento e alta velocidade fotossintética, produzindo rapidamente biomassa (incorporando C, N e P) e liberando grandes quantidades de O₂ no meio líquido, sendo apontada em literatura como o principal gênero de algas presente nas lagoas de estabilização secundárias (Hoseti e Frost, 1998). A presença de integrantes de diferentes níveis da cadeia alimentar, sem afetar a predominância das algas, contribuiu para o equilíbrio ecológico do meio e consequentemente para uma eficiente degradação dos compostos orgânicos e inorgânicos (N-NH₄⁺) do esgoto afluente.

Tabela 28: Identificação e quantificação dos organismos (categorias) plantônicos e perifíticos presentes nas amostras dos efluentes das células e do material raspado dos suportes.

Identificação Taxomômica	Plâncton C0	Plâncton C1	Plâncton C2	Plâncton C3	Perifiton B1	Perifiton B2	Perifiton B3
CHLOROPHYTA							
<i>Chlorella</i> spp (Fig. 22 A)	4	4	4	4	4	4	4
<i>Ankistrodesmus</i> sp	1	2	1	1	0	0	0
<i>Scenedesmus</i> sp (Fig. 22 M)	1	1	1	1	0	0	0
<i>Chlamydomonas</i> sp	0	1	0	2	0	0	0
<i>Micractinium</i> sp	0	1	1	0	0	0	0
<i>Carteria</i> sp	1	0	0	2	0	0	0
Clorophyta NI	0	0	1	1	0	0	0
<i>Coenococcus</i> cf	0	0	1	0	0	0	0
CYANOBACTÉRIAS							
<i>Planktotrix</i> sp (Fig. 22 A)	4	4	3	3	4	4	4
<i>Oscillatoria</i> sp (Fig. 22 H)	2	2	2	2	4	4	4
Oscillatoriale NI	1	1	1	1	2	3	4
<i>Synechocystis</i> sp	0	0	1	1	1	1	2
<i>Chroococcus</i> sp	0	0	0	0	2	2	2
CHRYSOPHYTA – BACILLARIOPHYCEAE							
<i>Navícula</i> sp	3	3	4	4	4	4	4
<i>Nitzschia</i> sp	2	0	1	1	4	3	4
Diatomácea penada NI 1	1	2	2	1	3	2	2
Diatomácea penada NI 2	1	1	0	1	2	2	3
Diatomácea penada NI 3	0	1	1	1	2	2	2
EUGLENOPHYTA							
<i>Euglena</i> spp (Fig. 22 J)	1	1	0	1	0	0	0
<i>Leptocinclis</i> sp	2	0	0	0	0	0	0
<i>Phacus</i> sp	1	0	0	0	0	0	0
<i>Trachelomonas</i> sp	1	0	0	0	0	0	0
DINOPHYTA							
Dinoflagelado NI	1	0	1	0	0	0	0
PROTOZOÁRIOS NÃO CLOROFILADOS							
Ameba nua	2	2	1	1	3	3	3
<i>Arcella</i> sp	0	0	1	1	1	1	1
<i>Euglypha</i> sp	0	0	0	1	1	1	1
<i>Ciclidium</i> sp (Fig. 22 G)	2	3	2	3	3	1	1
<i>Litonotus</i> sp	1	2	2	2	0	3	3
<i>Vorticella</i> sp	1	1	1	0	1	3	3
Ciliado NI 1	1	1	1	0	0	0	0
Ciliado NI 2 (Fig. 22 E)	1	1	1	1	0	0	0
Ciliado NI 3	0	2	0	0	0	0	0
<i>Paramecium</i> sp	2	2	1	0	0	0	0
<i>Euplotes</i> sp	1	1	1	0	0	0	2
<i>Tokophrya</i> sp (Fig. 22 D)	0	1	0	0	1	1	2
<i>Condylostoma vorticella</i> cf	0	0	1	0	0	0	0
<i>Aspidisca</i> sp	0	0	1	0	2	2	2
MICROMETAZOÁRIOS							
<i>Brachionus</i> sp (Fig. 22 C)	2	0	1	1	1	1	1
<i>Lecane</i> sp	1	0	0	0	0	0	0
Ovos de rotíferos	1	0	1	0	1	1	1
Rotífero NI	0	1	1	0	1	1	2
Nematóide NI (Fig. 22 B)	0	1	1	0	1	1	1

Convenções: NI: Não identificado. Categorias: 0 = nenhum organismo observado, 1 = raros organismos observados, 2 = poucos organismos observados, 3 = comum a observação de organismos, 4 = muitos organismos observados.



Figura 22: Micrografias de alguns dos organismos detectados nas amostras.

Em: A - Filamentos de *Planktotrix* sp e *Chlorella* sp (aumento 400 vezes); B - Nematóide NI (aumento 100 vezes); C - *Brachionus* sp (aumento 200 vezes) ; D - *Tokophrya* sp (aumento 200 vezes); E - Ciliado NI 2 (aumento 400 vezes); F - ameba predando cianobactéria (aumento 400 vezes); G - *Cyclidium* sp sobre ameba (aumento 400 vezes); H - *Oscillatoria* sp (aumento 400 vezes); I - *Vorticella* sp (aumento 400 vezes); J - *Euglena* sp (aumento 400 vezes); L - Diatomáceas penadas (aumento 400 vezes); M - *Scenedesmus* sp (aumento 400 vezes).

Em relação as cianobactérias, dois fatos foram relevantes, as toxinas produzidas por muitas espécies são tóxicas a *E. coli* mesmo em baixas concentrações, contribuindo dessa forma, para a redução dos microrganismos patogênicos presentes nos esgotos, indicados por essa bactéria (Mezrioui *et al.*, 1994). Por outro lado, muitas toxinas produzidas por cianobactérias são tóxicas ao homem, reduzindo a potencialidade de reúso do esgoto tratado. Por esse motivo, nos últimos anos têm-se enfatizado a necessidade de remoção dos SS (principalmente algas) dos efluentes de LEEs. Esses organismos são encontrados com maior frequência nas lagoas terciárias. Os gêneros filamentos *Planktotrix* spp e *Oscillatoria* spp foram abundantes nas amostras analisadas, com destaque para as de origem perifítica. No estudo de Vasconcelos e Pereira (2001) estas mesmas espécies estiveram presentes mas não foram associadas à presença de toxinas no efluente de lagoas.

3.4. CONCLUSÕES

O principal objetivo dessa etapa do experimento foi o estudo preliminar, em escala laboratorial, da 1ª e 2ª hipóteses deste trabalho (possibilidade do aumento da atividade nitrificante nas lagoas), bem como a escolha de um material suporte para adesão de biofilme em lagoas facultativas a fim de utilizá-lo na seqüência da pesquisa. Dessa forma, a análise dos dados obtidos em reatores de bancada que simularam uma porção da zona fótica de lagoas facultativas contendo suportes de PVC, acrílico e fibra de vidro, permite concluir que o suporte de acrílico seguido pelo de PVC foi o que melhor contribuiu para a melhoria da qualidade do esgoto tratado em relação à concentração de matéria orgânica, nitrogênio e sólidos em suspensão.

Pela análise de variância (ANOVA), verificou-se que as diferenças entre o tratamento de esgoto obtido nos reatores com suportes de PVC e acrílico não foram significativas. Devido a este fato somado a menor variabilidade da concentração de SS na massa líquida do reator com suporte de PVC, optou-se pelo PVC como material suporte para biofilme microbiano em lagoas facultativas, por este apresentar custo de aproximadamente cinco vezes inferior ao acrílico, o que representa uma importante economia na implantação da técnica em escala real.

Com as informações obtidas nesta etapa da pesquisa pode-se, concluir que:

- Os principais mecanismos de transformação do $N-NH_4^+$ nos reatores foram: a incorporação à biomassa algal suspensa e aderida aos suportes e a nitrificação;
- A nitrificação ocorreu em todos os reatores, porém, mais intensamente naqueles com suportes de acrílico e PVC, fato este evidenciado pela elevada concentração de NO_x na massa líquida desses reatores;
- O $N-NO_2^-$ correspondeu a 50% ou mais do NO_x nas unidades de tratamento indicando algum(s) problema(s) no desenvolvimento das bactérias oxidadoras desse íon;
- As maiores concentrações de Norg observadas no reator controle e no reator com suporte de fibra de vidro, indicaram maior concentração de biomassa suspensa nestas unidades;
- Na massa líquida dos reatores com suportes de acrílico e de PVC ocorreram menores oscilações de SS e clorofila *a* atribuídos a maior aderência e permanência da biomassa nestes suportes. No suporte de fibra de vidro, houve variação mais acentuada desses parâmetros, devido a um ciclo mais rápido de crescimento e desprendimento da biomassa no suporte;
- No reator com suporte de fibra de vidro a maioria da biomassa suspensa foi composta por algas (68%) enquanto nos outros reatores, as algas corresponderam aproximadamente 50% dos SS;

- Os gêneros de diferentes níveis sucessionais encontradas no plâncton e no biofilme evidenciaram uma colonização madura e condições de aerobiose;
- A Chlorophyta *Chlorella* foi a mais abundante durante todo o período no plâncton e no perifiton;
- Na comunidade perifítica estiveram em alta densidade as cianobactérias filamentosas e as diatomáceas penadas;
- Os ciliados livre natantes foram os principais predadores visualizados nas amostras. No biofilme destacam-se, também, as amebas nuas.

CAPÍTULO 4 – Etapa de Laboratório 2

Este capítulo refere-se à segunda fase do estudo, em escala de laboratório - denominada Etapa de Laboratório 2, contemplando os objetivos específicos, os procedimentos metodológicos adotados, os resultados obtidos, a discussão e as conclusões.

4.1. OBJETIVOS

Esta etapa da pesquisa contemplou os seguintes objetivos:

- Avaliar a remoção de material carbonáceo, nitrogênio e sólidos de esgoto doméstico pré-tratado em módulos de bancada representando lagoas de tratamento secundário com suporte de PVC para o desenvolvimento de biofilme;
- Comparar os tratamentos obtidos no módulo com biofilme e no módulo representando uma lagoa facultativa convencional (sem suportes para biofilme);
- Testar duas diferentes áreas de suportes para biofilmes, com relação ao volume e a área dos reatores, a primeira de $1,7\text{m}^2\text{PVC}/\text{m}^3$ e $0,5\text{m}^2\text{PVC}/\text{m}^2$ e outra com $5,2\text{m}^2\text{PVC}/\text{m}^3$ e $1,5\text{m}^2\text{PVC}/\text{m}^2$;
- Analisar a composição algal e da microfauna do plâncton e do biofilme nos módulos pela análise microscópica;
- Identificar relações entre a área do material suporte necessária ao desenvolvimento de biofilme em lagoas facultativas e o volume e/ou a área superficial da lagoa e as cargas de DQO e nitrogênio aplicadas, a fim de fornecer subsídios à ampliação do sistema experimental, na etapa de campo.

4.2. METODOLOGIA

Na etapa de laboratório 2, utilizou-se a mesma estrutura de madeira descrita anteriormente na etapa 1, para o controle de dois módulos simulando lagoas facultativas. Os módulos foram construídos em acrílico com dimensões de 0,79m, 0,19m e 0,29m de comprimento, largura e altura, respectivamente, totalizando um volume útil de $0,0435\text{m}^3$, área superficial de $0,15\text{m}^2$ e 4,2 de relação comprimento/largura para tender ao escoamento tubular (Figura 23). Os módulos de acrílico foram revestidos externamente com papelão para evitar a penetração de luz através das laterais dos mesmos. Esta etapa foi subdividida em duas fases:

- **Fase 1:** os módulos operaram como lagoas facultativas, sendo o módulo de laboratório 1 (ML1_a) acrescido de $0,075\text{m}^2$ de suporte de PVC para biofilme microbiano (5 placas de PVC de $0,015\text{m}^2$ cada) e o módulo de laboratório 2 (ML2_a) mantido sem suporte, o

controle. No dia 14/01/2003 ambas as unidades foram completadas com efluente da LA e mantidas sem alimentação até o dia 29/01/2003 para o estabelecimento da condição facultativa. Do dia 29/01/2003 ao dia 14/04/2003, o sistema foi operado e monitorado continuamente.

- **Fase 2:** os módulos operaram como lagoas facultativas, sendo o ML1_b acrescido de 0,225m² de suporte de PVC para biofilme microbiano (15 placas de PVC de 0,015m² cada) e o ML2_b, o controle. No dia 05/04/2003 ambas as unidades foram completadas com efluente da LA e mantidas sem alimentação até o dia 20/04/2003 para o estabelecimento da condição facultativa. No período de 20/04/2003 a 14/07/2003, o sistema foi operado e monitorado continuamente.

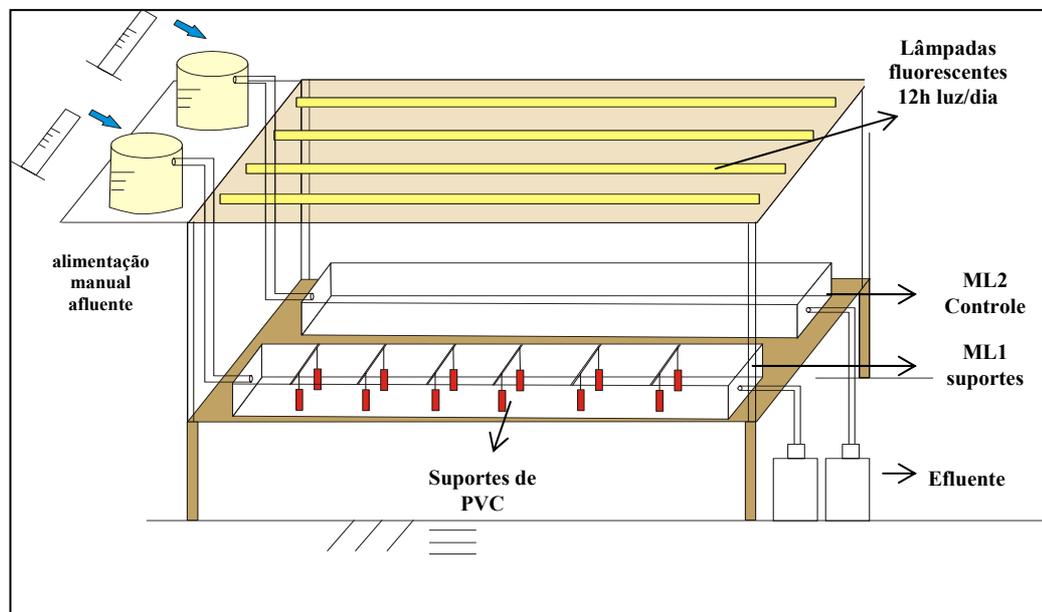


Figura 23: Esquema representativo dos módulos laboratoriais utilizados na etapa de laboratório 2.

Os módulos, instalados no laboratório da DIOES/CASAN, onde o experimento foi conduzido, estiveram sob condições controladas de temperatura e iluminação conforme descrito para etapa de laboratório 1. O sistema foi alimentado com efluente da lagoa anaeróbia do sistema continental de Florianópolis. Os dados operacionais encontram-se descritos na Tabela 29.

Diariamente, monitorou-se a temperatura, OD e pH na massa líquida dos módulos, pela introdução direta de oxímetro e pHmetro, e realizou-se a alimentação do sistema (colocação de 2,9L em cada módulo) para a manutenção de um TRH de 15 dias. Tal como realizado na etapa de laboratório 1, o efluente da lagoa anaeróbia (afluente aos reatores) foi coletado duas vezes por semana e acondicionado na geladeira a 4°C, de onde se retirava diariamente o volume necessário

à alimentação dos módulos experimentais. Semanalmente, por meio de coletas pontuais às 9:00 h da manhã, monitorou-se o efluente de cada módulo, analisando-se variáveis biológicas e físico-químicas da massa líquida e ao final de cada fase, do biofilme aderido nos suportes. Os métodos utilizados nas determinações físico-químicas e biológicas são os mesmos descritos para a etapa de laboratório 1, entretanto, o biofilme foi caracterizado apenas no final do período experimental de cada fase.

Tabela 29: Principais características operacionais do sistema nas fases 1 e 2 da etapa de laboratório 2.

VARIÁVEIS (unidades)	FASE 1		FASE 2	
	ML1 _a	ML2 _a	ML1 _b	ML2 _b
Período	85 dias 13/01/03 – 14/04/03		92 dias 20/04/03 – 14/07/03	
Tempo de retenção hidráulico (dias)	15		15	
Volume (m ³)	0,0435		0,0435	
Área total dos suportes (m ²)	0,075	0	0,225	0
Relação área do suporte e volume do reator	1,7	0	5,2	0
Relação área do suporte e área do módulo	0,5	0	1,5	0
Fotoperíodo (horas/d)	12		12	
Temperatura média do líquido (°C)	27,4 ± 2,5		20,9 ± 2,2	
Grau de tratamento	Secundário			
Afluente	Efluente da lagoa anaeróbia – LA (ETE Continental de Florianópolis)			
Vazão afluente (L/d)	2,9		2,9	
Taxa de aplicação superficial: gNTK/m ² .d	0,8 ± 0,2		0,7 ± 0,1	
Carga: gNTK/m ³ .d	2,8 ± 0,4		2,8 ± 0,4	
Taxa de aplicação superficial: gN-NH ₄ /m ² .d	0,5 ± 0,1		0,5 ± 0,1	
Carga: gN-NH ₄ /m ³ .d	1,8 ± 0,3		1,8 ± 0,4	
Taxa de aplicação superficial: gDQO/m ² .d	6,3 ± 1,0		7,6 ± 2,1	
Carga: gDQO/m ³ .d	21,8 ± 3,4		26,2 ± 7,4	

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Fase 1

Parâmetros físico-químicos – análise descritiva e teste ANOVA

As variáveis físico-químicas expressas pelo número de amostragens (n), a média, a mediana, o desvio padrão (DP), o valor mínimo e o máximo, o 1º quartil e o 3º quartil determinados para o afluente aos módulos (LA) e aos efluentes dos módulos 1 (ML1_a) e módulo 2 (ML2_a) estão descritos nas Tabelas 30, 31 e 32, respectivamente.

O efluente da lagoa anaeróbia (Tabela 30) apresentou elevada concentração de NTK (41,6mg/L) e houve acentuada variabilidade nas concentrações de sólidos e fosfato reativo dissolvido ao longo do período. Os altos níveis de ST presentes em todas as unidades de tratamento que compõem o sistema experimental e as unidades da ETE Continental, são provenientes da

influência da água do mar que infiltra na rede coletora de esgoto afluyente a ETE continental de Florianópolis, aumentando a concentração de sólidos dissolvidos (cloretos) .

Tabela 30: Resultados das análises físico-químicas verificadas no efluente da lagoa anaeróbia (LA), afluyente aos módulos de laboratório.

Parâmetros	n	média	DP	mínimo	1° quartil	mediana	3° quartil	máximo
pH	23	7,8	0,3	7,4	7,6	7,8	7,9	8,6
Alcalinidade total (mg/L)	23	225,9	56,7	165,8	179,4	195,0	290,5	321,3
Temperatura da amostra (°C)	23	28,4	2,9	23,0	26,0	29,0	31,0	33,0
DQOt (mg/L)	23	318,4	79,1	151,0	272,0	307,0	385,0	484,0
NTK (mg/L)	23	41,6	9,0	28,7	32,9	42,5	48,0	59,9
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	23	25,8	5,1	16,1	22,5	26,1	30,0	34,4
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	23	3,1	1,6	1,0	1,6	2,7	4,8	6,1
ST (mg/L)	23	2528,3	1228,0	1020,0	1270,0	2388,0	3802,0	4586,0
SS (mg/L)	23	119,7	142,7	24,0	64,0	80,0	100,0	620,0

Pela análise dos dados descritivos constata-se a similaridade das características dos efluentes do ML1_a e ML2_a. O parâmetro que apresentou maior variação foi a clorofila *a*, a qual foi cerca de três vezes maior no ML2_a, indicando que no módulo sem suporte houve maior desenvolvimento da comunidade fitoplantônica. No ML1_a as concentrações de DQOt e DQOs variaram menos e foram inferiores as mensuradas no ML2_a. Para o 3° quartil, obteve-se valores de DQOt de 180mg/L e 218mg/L para o ML1_a e o ML2_a, respectivamente, e maiores diferenças nas concentrações de DQOs, com valores do 3° quartil de 95mg/L para o ML1_a e 121mg/L para o ML2_a (Tabelas 31 e 31).

Tabela 31: Resultados das análises físico-químicas verificadas no ML1_a.

Parâmetros	n	Média	DP	mínimo	1° quartil	mediana	3° quartil	máximo
pH	11	7,6	0,1	7,4	7,4	7,6	7,6	7,8
Alcalinidade total (mg/L)	11	151,5	23,7	119,3	132,6	150,4	172,4	193,0
Temperatura da amostra (°C)	11	27,4	2,6	22,5	24,5	27,7	29,0	30,5
OD (mg/L)	11	1,1	0,3	0,8	0,9	0,9	1,4	1,8
DQOt (mg/L)	11	149,5	42,2	59,0	130,0	150,0	180,0	205,0
DQOs (mg/L)	11	79,2	29,6	10,0	57,0	89,0	95,0	123,0
NT (mg/L)	11	28,9	9,5	15,5	22,1	27,0	40,6	42,0
NTK (mg/L)	11	25,9	7,7	14,5	21,0	24,9	32,9	38,7
Norg. (mg/L)	11	10,1	6,0	1,2	7,8	8,9	12,9	19,7
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	11	15,8	4,9	6,6	13,9	17,1	19,9	20,0
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	11	1,21	1,10	0,23	0,28	0,88	1,70	3,30
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	11	1,72	1,40	0,48	0,70	1,10	2,90	4,40
Nox (mg/L)	11	2,9	2,5	0,8	1,1	1,8	4,3	7,7
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	11	6,1	1,4	3,8	5,4	6,8	7,2	8,2
ST (mg/L)	11	2347,4	1038,6	1114,0	1286,0	2862,0	3330,0	3672,0
SS (mg/L)	11	25,0	20,6	10,0	12,0	18,0	33,0	80,0
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	11	0,0347	0,0472	0,0050	0,0080	0,0130	0,0320	0,1570

Tabela 32: Resultados das análises físico-químicas verificadas no ML2_a.

Parâmetros	n	média	DP	mínimo	1º quartil	mediana	3º quartil	máximo
pH	11	7,5	0,1	7,3	7,5	7,5	7,6	7,8
Alcalinidade total (mg/L)	11	148,1	28,9	90,2	136,4	144,7	178,6	183,0
Temperatura da amostra (°C)	11	27,3	2,6	22,5	24,5	27,7	29,0	30,5
OD (mg/L)	11	0,8	0,3	0,4	0,6	0,8	1,0	1,5
DQOt (mg/L)	11	172,4	63,9	80,0	126,0	177,5	218,0	290,0
DQOs (mg/L)	11	94,4	37,0	10,0	77,0	108,0	121,3	130,0
NT (mg/L)	11	28,1	6,0	19,2	23,6	28,2	32,4	39,3
NTK (mg/L)	11	26,0	5,5	18,5	19,5	25,9	30,3	34,7
Norg. (mg/L)	11	9,0	4,5	2,1	6,8	8,2	13,2	15,8
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	11	17,0	5,8	7,3	10,5	18,8	22,5	23,8
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	11	0,79	0,71	0,13	0,16	0,31	1,70	1,70
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	11	1,38	1,11	0,33	0,57	0,70	2,90	3,20
Nox (mg/L)	11	2,2	1,8	0,6	0,7	0,9	4,6	4,9
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	11	5,6	1,3	3,3	5,1	5,8	5,9	8,1
ST (mg/L)	11	2414,5	987,1	1264,0	1294,0	2788,0	3292,0	3676,0
SS (mg/L)	11	33,5	21,2	14,0	18,0	26,0	52,0	76,0
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	11	0,0910	0,1095	0,0000	0,0110	0,0470	0,1980	0,3230

As concentrações de OD foram reduzidas em ambos os módulos com médias de 1,1mg/L e 0,8mg/L para o ML1_a e o ML2_a, respectivamente. A nitrificação ocorreu mas não foi expressiva, conforme demonstrado na Figura 24 pelas proporções das frações nitrogenadas detectadas no afluente e efluente aos módulos. A remoção de cerca de 30% do nitrogênio total afluente foi atribuída a síntese e a precipitação da biomassa nas unidades.

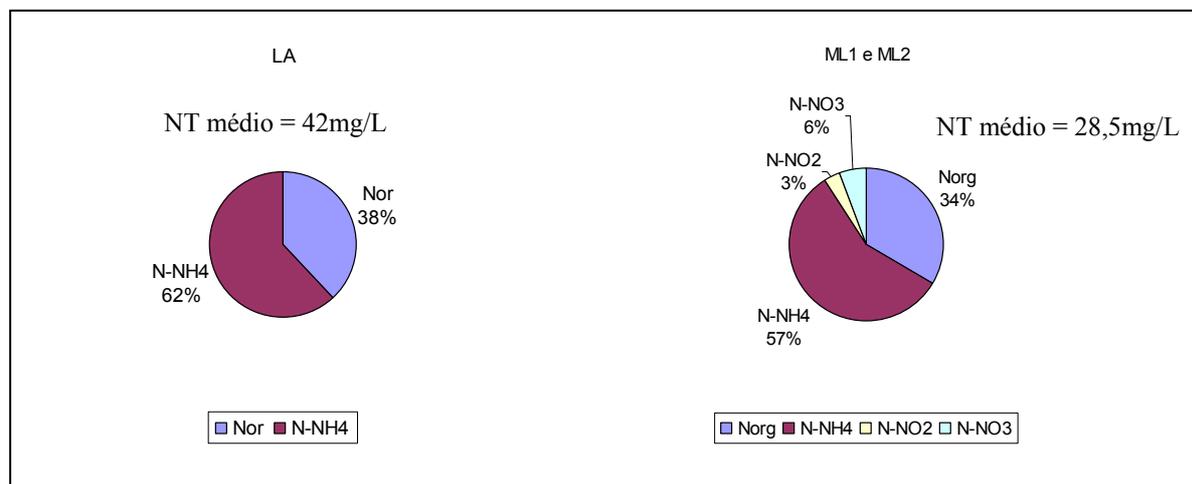


Figura 24: Proporções médias das frações de nitrogênio verificadas no afluente e efluente dos módulos.

Pelo teste de hipóteses de igualdade ANOVA, não houve diferença significativa entre o tratamento de esgotos no ML1_a e no ML2_a.

Massa do Biofilme

A biomassa nos suportes foi de 0,95g/m² sendo que as algas, com a massa estimada pela clorofila *a*, constituíram 34% desse valor (Tabela 33). A baixa biomassa nos suportes foi atribuída a elevada predação exercida por microcrustáceos presentes em abundância em ambos os módulos. Em ambiente lótico com alta concentração de nutrientes, Bento (1997) observou massa perifítica variando de 1,1g/m² a 7,9g/m². No mesmo estudo, o ápice do crescimento perifítico ocorreu após 4 meses da introdução dos suportes no rio. Nos estudos realizados em lagoas de estabilização com biofilmes (Scott *et al.*, 1994; Polprasert e Agarwalla, 1995; Rakkoed *et al.*, 1999; Maclean *et al.*, 2000; Craggs *et al.*, 2000) não são fornecidas informações sobre a concentração da massa biológica aderida aos suportes.

O incremento de biomassa no ML1_a, supostamente ativa no tratamento de esgotos, foi baixo, cerca de 16mg/L (Tabela 33).

Tabela 33: Estimativa da massa do biofilme no suporte de PVC e no ML1_a no 77º dia.

Medidas de massa Fase 1 (5 suportes)	Massa do biofilme por unidade de área de suporte	Incremento da biomassa no ML1
	g/m ² PVC	g/m ³
PS	1,6	21,7
PSV	1,2 (75% PS)	16,3
PSF ou Cinzas	0,4	5,3
Clorofila <i>a</i> (1% PSA)	0,0041	0,0949
Estimativa do peso seco algal (PSA)	0,41 (34%PSV)	7,00
Estimativa da massa de bactérias + microfauna (PSV – PSA)	0,68	9,3

Performance dos módulos de laboratório – ML1_a e ML2_a

O tratamento secundário dos esgotos nos dois módulos foi eficiente na remoção de DQOs e SS (Figura 25). No entanto, não houve diferenças significativas entre as performances nas duas unidades.

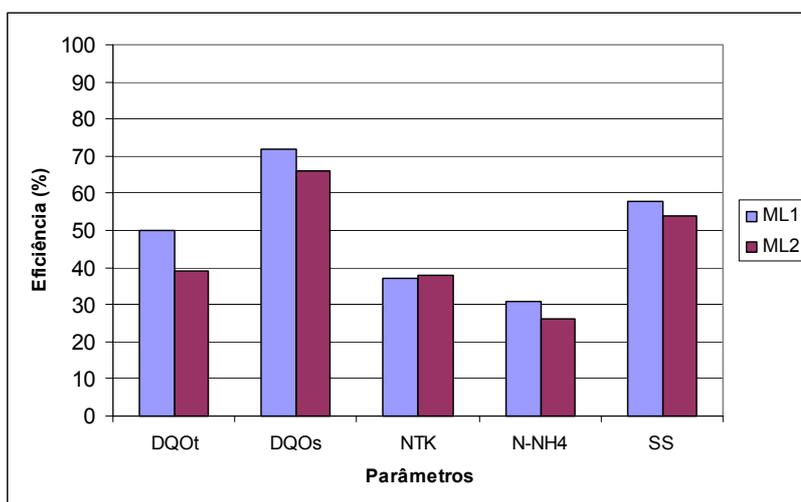


Figura 25: Remoções médias dos parâmetros avaliados nas células durante o experimento.

Análise de Microscopia

Após 15 dias de operação (14/01 – 29/01/2003), os módulos foram colonizados por elevada densidade de copepódos (microcrustáceos) (Figura 26), os quais, por serem vorazes predadores de fitoplâncton, foram responsáveis pela reduzida biomassa plantônica e perifítica presente nas unidades. Os suportes serviram de habitat a muitas larvas de quironomídeos que exerceram predação à biomassa perifítica, principalmente.



Figura 26: Microcrustáceo presente na massa líquida dos módulos de laboratório (aumento de 50 vezes).

A análise de microscopia do biofilme retirado no 77º dia de operação evidenciou que este foi colonizado principalmente pelas cianobactérias filamentosas *Planktotrix* sp, *Oscillatoria* sp e *Lingbya* spp, quatro gêneros de diatomáceas penadas sendo duas delas *Navicula* sp e *Nitzschia* sp, *Chlorella* sp e grandes ciliados natantes. Os microrganismos menos abundantes foram *Ankistrodesmus* sp, *Spirulina* sp, *Vorticella* sp e amebas nuas. Na massa líquida dos dois módulos, a densidade de organismos foi baixa, sendo predominante, durante todo o período, os pequenos fitoflagelados pigmentados e não pigmentados.

4.3.2. Fase 2

Parâmetros físico-químicos – análise descritiva e teste ANOVA

As variáveis físico-químicas expressas pelo número de amostragens (n), a média, a mediana, o desvio padrão (DP), o valor mínimo e o máximo, o 1º quartil e o 3º quartil determinados para o afluente aos módulos (LA) e aos efluentes dos módulos 1 (ML1_b - PVC) e módulo 2 (ML2_b – controle) estão descritos nas Tabelas 34, 35 e 36, respectivamente. O afluente aos módulos esteve mais concentrado em termos de DQOt comparado à fase 1.

Tabela 34: Resultados das análises físico-químicas verificadas no efluente da lagoa anaeróbia (LA), afluente aos módulos de laboratório.

Parâmetros	n	média	DP	mínimo	1º quartil	mediana	3º quartil	máximo
pH	21	8,0	0	7,3	7,5	8,0	8,0	9,0
Alcalinidade total (mg/L)	21	293	15	264,3	283,3	295	305	316
Temperatura da amostra (°C)	21	21	3	17,0	19,0	20	22	26
DQOt (mg/L)	21	399	132	274,0	303,0	379	426	856
NTK (mg/L)	21	34	6	24,6	29,5	33	37	45
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	21	26	5	18,4	23,5	28	30	34
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	21	5	2	0,9	4,6	6	6	8
ST (mg/L)	21	2076	587	1327,0	1762,0	1922	2108	3387
SS (mg/L)	21	155	263	48,0	65,0	70	80	960

As análises descritivas mostram que o aumento de três vezes a área do suporte de PVC no ML1_b (comparando-se com a fase 1) conduziu a uma melhoria nas características do efluente nesta unidade em relação ao módulo controle – ML2_b para os parâmetros de SS, DQOt e DQOs, (Tabela 35 e 36).

As concentrações de OD nos módulos foram extremamente baixas (média de 0,4mg/L) não favorecendo a nitrificação. No entanto, houve remoção maior que 40% do nitrogênio total afluente. Os valores de pH, mensurados as 9:00 h, indicaram que durante esse horário não houve uma significativa perda de N-NH₃ por volatilização.

Considerando que a clorofila *a* constitui 1% do peso seco algal e as algas têm cerca de 10% de nitrogênio em sua constituição, estima-se que no ML1_b a assimilação média de nitrogênio pelo fitoplâncton foi de 2,4mgN-NH₄⁺/L e no ML2_b, 3,7mgN-NH₄⁺/L (compatível com a concentração de Norg detectada nas unidades, ML1_b = 2,5mgNorg/L e no ML2_b = 5,1mgNorg/L). Esses valores significam que uma porção inferior a 20% do N-NH₄⁺ foi capturada pelo fitoplâncton..

Tabela 35: Resultados das análises físico-químicas verificadas no ML1_b.

Parâmetros	n	média	DP	mínimo	1º quartil	mediana	3º quartil	máximo
pH	11	7,6	0,1	7,5	7,5	7,6	7,6	7,7
Alcalinidade total (mg/L)	11	194,9	16,3	176,7	178,0	190,2	207,3	226,6
Temperatura da amostra (°C)	11	20,9	2,2	16,2	20,3	21,3	22,1	24,3
OD (mg/L)	11	0,4	0,4	0,1	0,2	0,2	0,8	1,1
DQOt (mg/L)	11	180,1	27,6	126,0	170,0	182,0	191,0	240,0
DQOs (mg/L)	11	111,3	24,0	83,0	92,0	107,0	131,0	166,0
NT (mg/L)	11	15,8	3,7	10,4	12,9	15,8	19,0	22,4
NTK (mg/L)	11	15,3	3,9	10,4	12,0	15,1	19,0	22,4
Norg. (mg/L)	11	2,5	1,6	0,7	1,0	2,3	3,6	5,9
N-NH ₄ (mg/L)	11	12,8	4,5	7,9	8,4	11,3	16,4	20,5
N-NO ₂ (mg/L)	11	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,2	0,3
N-NO ₃ (mg/L)	11	0,3	0,4	0,0	0,0	0,0	0,8	0,9
Nox (mg/L)	11	0,4	0,5	0,0	0,0	0,1	0,9	1,2
P-PO ₄ (mg/L)	11	2,9	0,9	1,5	2,5	2,6	3,6	4,7
ST (mg/L)	11	1917,6	684,5	378,0	1649,0	1864,0	2540,0	2944,0
SS (mg/L)	11	28,0	23,5	10,0	12,0	18,0	44,0	88,0
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	11	0,242	0,2161	0,0930	0,112	0,185	0,216	0,810

Tabela 36: Resultados das análises físico-químicas verificadas no ML2_b.

Parâmetros	n	média	DP	mínimo	1º quartil	mediana	3º quartil	máximo
pH	11	7,6	0,1	7,5	7,6	7,6	7,7	7,8
Alcalinidade total (mg/L)	11	198,3	10,4	183,0	189,7	196,1	206,2	215,5
Temperatura da amostra (°C)	11	20,9	2,2	16,2	20,1	21,3	22,0	24,2
OD (mg/L)	11	0,4	0,3	0,2	0,2	0,3	0,7	0,8
DQOt (mg/L)	11	233,9	45,7	171,0	194,0	235,0	261,0	340,0
DQOs (mg/L)	11	135,1	36,5	83,0	111,0	129,0	162,0	212,0
NT (mg/L)	11	20,0	3,6	14,3	16,6	21,2	23,0	25,3
NTK (mg/L)	11	19,7	3,9	13,3	16,5	21,1	23,0	24,9
Norg. (mg/L)	11	5,1	3,3	1,5	2,3	3,9	6,4	12,2
N-NH ₄ (mg/L)	11	14,7	4,1	9,4	10,7	14,8	18,5	21,5
N-NO ₂ (mg/L)	11	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2
N-NO ₃ (mg/L)	11	0,2	0,3	0,0	0,0	0,0	0,6	0,9
Nox (mg/L)	11	0,3	0,4	0,0	0,0	0,1	0,6	1,0
P-PO ₄ (mg/L)	11	2,4	0,9	1,1	1,8	2,4	2,9	4,2
ST (mg/L)	11	2029,7	545,7	954,0	1702,0	1949,0	2522,0	2898,0
SS (mg/L)	11	47,8	33,0	14,0	20,0	36,0	72,0	120,0
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	11	0,372	0,2332	0,1680	0,214	0,265	0,681	0,812

No teste de igualdade de hipóteses, verificou-se que algumas variáveis avaliadas no efluente do ML1_b e ML2_b apresentaram diferenças significativas (Tabela 37), demonstrando que o biofilme alterou as características do esgoto tratado em termos de pH, DQOt e frações de nitrogênio.

Tabela 37: Resultados de ANOVA que apresentaram diferenças significativas entre o tratamento no ML1_b e ML2_b.

Parâmetros	ML1 x ML2 (p)
pH	0,0464
DQOt (mg/L)	0,0032
NT (mg/L)	0,0138
NTK (mg/L)	0,0155
Norg. (mg/L)	0,0327
SS (mg/L)	0,0451

Os parâmetros que apresentaram diferenças significativas em nível de significância de 5% entre os tratamentos estão plotados nas Figuras 27 e 28. Para o pH a diferença de cerca de 1 unidade foi significativa devido à baixa variabilidade dos resultados ao longo do período.

No ML1_b ocorreram menores concentrações de DQOt e também menores variações deste parâmetro em relação ao ML2_b.

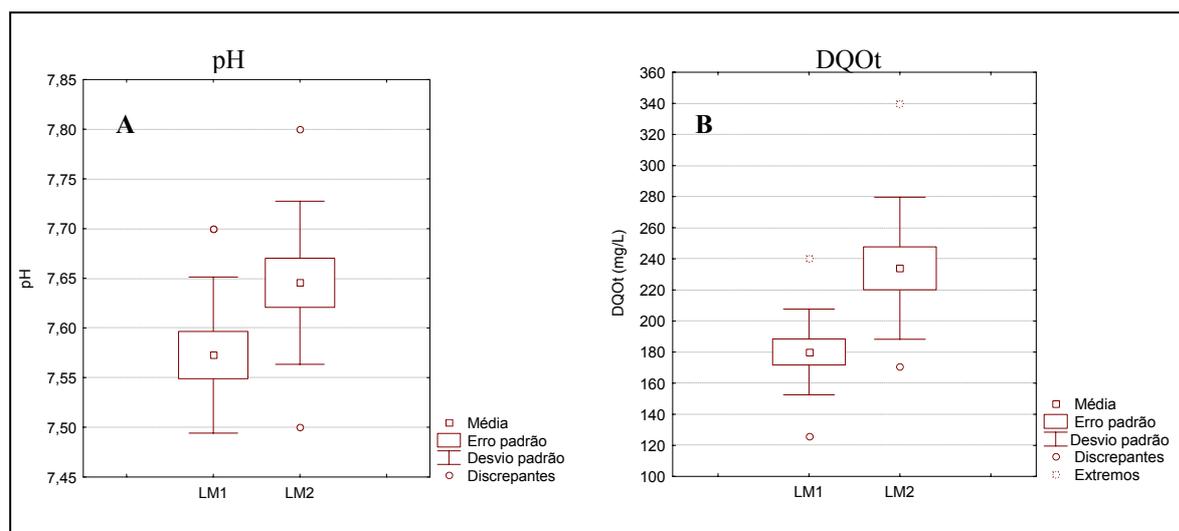


Figura 27: Comparações nas concentrações de pH (A) e DQOt (B) entre os tratamentos com material suporte (ML1_b) e controle (ML2_b).

A maior fração do nitrogênio presente nos efluentes corresponde ao N-NH₄⁺, no entanto foi a fração de Norg responsável pela diferença entre os tratamentos (Figura 28).

As concentrações de SS nos efluentes dos módulos estão descritas na Figura 29. O módulo com biofilme apresentou menores concentrações de material suspenso em relação ao tratamento sem suporte para biofilme. Nos poucos estudos existentes em lagoas com suportes para biofilmes, um dos raros consensos entre os autores, consiste na redução na concentração de SS e turbidez

dessas unidades em relação às lagoas convencionais (Craggs *et al.*, 2000; Mclean *et al.*, 2000; Sukias *et al.*, 2002, Zancan Filho *et al.*, 2004). Os microrganismos crescem preferencialmente aderidos em superfícies (Henrici, 1933 *apud* Toole *et al.*, 2000), então, quando estas estão disponíveis nas lagoas, ocorre uma competição dos microrganismos pelos suportes com consequente redução do plâncton. Craggs *et al.* (2000) considera relevante o efeito do sombreamento causado pelos suportes na redução do fitoplâncton (diminuição da incidência de luz).

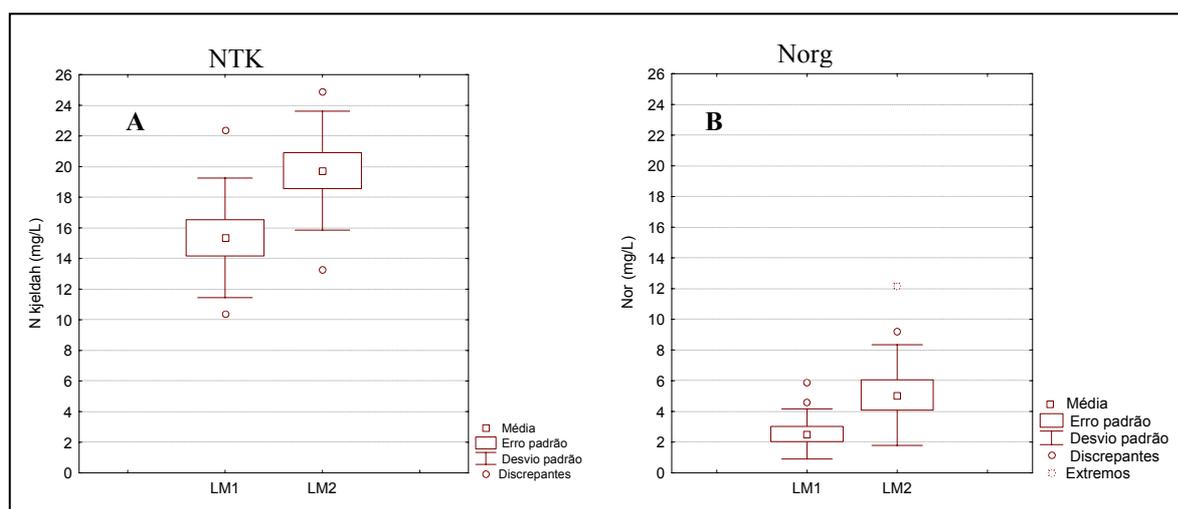


Figura 28: Comparações nas concentrações de NTK (A) e Norg. (B) entre os tratamentos com material suporte (ML1_b) e controle (ML2_b).

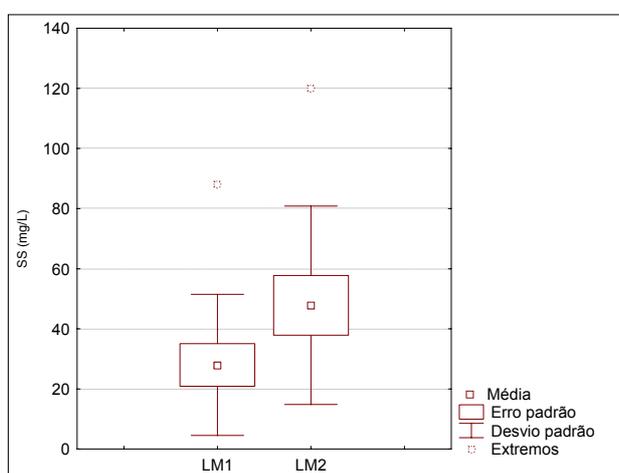


Figura 29: Comparações nas concentrações de SS entre os tratamentos com material suporte (ML1_b) e controle (ML2_b).

Massa do Biofilme

Ao término do experimento (70º dia), a biomassa retirada dos suportes de PVC apresentou elevada concentração de algas (Tabela 38), perfazendo 67% da massa biológica. O biofilme contribuiu para um incremento de 45,5g de biomassa/m³ do ML1_b.

Tabela 38: Estimativa da massa do biofilme no suporte de PVC no ML1_b no 70° dia.

Medidas de massa Fase 2 (15 suportes)	Massa do biofilme por unidade de área de suporte	Incremento da biomassa no ML1
	g/m ² PVC	g/m ³
PS	10	52,9
PSV	8,6 (86% PS)	45,5
PSF ou Cinzas	1,4	7,1
Clorofila <i>a</i> (1% PSA)	0,0587	0,3036
Estimativa da massa de produtores primários (PSA)	5,87 (67% PSV)	30,4
Estimativa da massa de bactérias + microfauna (PSV – PSA)	2,73	15,1

Análise de Microscopia

O biofilme, ao 70° dia de contato na lagoa, apresentou elevada densidade de cianobactérias filamentosas e Chlorophyta (Figura 30 A e B), destacando-se *Planktotrix*, *Oscillatoria*, *Lingbya*, uma grande Chlorophyta não identificada, *Chlorella*, *Micractinium*, *Ankistrodesmus*, *Chlamydomonas* e *Carteria*. Os protozoários foram abundantes no biofilme, destacando-se os ciliados (Figura 30 C). Várias espécies de ciliados exerceram predação sobre o perifíton. Também, foram visualizados rotíferos e nematóides em menores densidades. Na massa líquida de ambos os módulos houve predomínio das algas verdes *Chlorella* e as flageladas *Chlamydomonas* e *Carteria*.

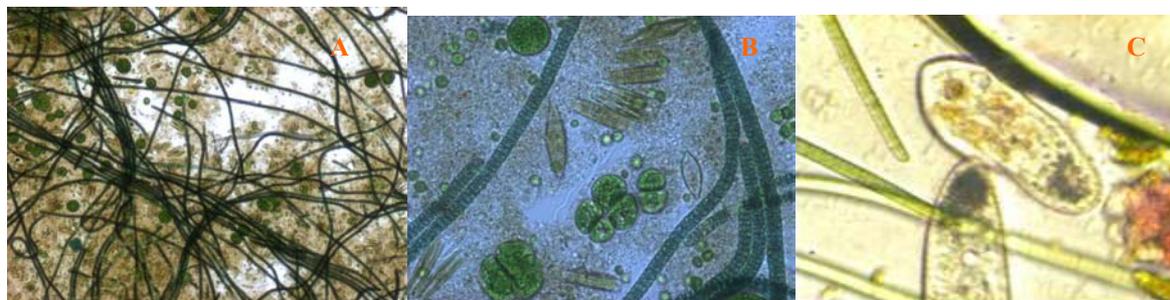


Figura 30: Fotos de microscopia do biofilme no 70° dia operação do ML1_b.

Em A e B – visão geral da massa de organismos (aumento de 100 e 400 vezes, respectivamente e em contraste de fase). Filamentos de cianobactérias (*Planktotrix* sp), diatomáceas, *Chlorella* sp, alga verde não identificada e muitas bactérias; C – Grandes ciliados e filamentos de *Oscillatoria* sp (aumento 400 vezes).

Durante todo o período desta fase do experimento retirou-se, mecanicamente com uma rede de zooplâncton (diâmetro de 50µm), grandes quantidades de microcrustáceos da massa líquida dos dois módulos para evitar a interferência negativa destes no experimento conforme ocorrido na fase 1. Este fato contribuiu para a maior concentração de biomassa plantônica e perifítica verificada nas unidades de tratamento em relação àquelas mensuradas na etapa anterior (fase 1).

Performance dos módulos de laboratório – ML1_b e ML2_b

Na Figura 31 descreve-se as reduções médias dos principais parâmetros avaliados nos dois tratamentos. No módulo com biofilme a remoção média dos SS afluente foi 30% superior a verificada no módulo controle. Para os demais parâmetros, houve pequena diferença entre as eficiências médias em cada unidade de tratamento, sendo estas maiores no ML1_b.

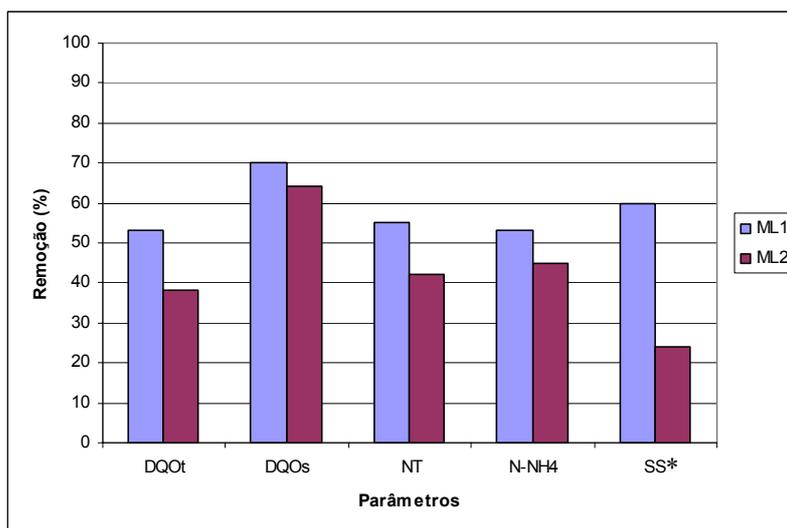


Figura 31: Remoções médias dos parâmetros avaliados nas duas lagoas, com material suporte (ML1_b) e controle (ML2_b), durante o experimento.

* Para o cálculo da remoção de SS, foram desprezados dois resultados obtidos na LA (SS = 960mg/L e 930mg/L), os quais foram considerados estatisticamente extremos e conduziam a um aumento não real da performance das unidades.

4.4. CONCLUSÕES

Operando módulos de laboratório como lagoas facultativas com suporte para biofilmes em duas fases, na primeira com 1,7m²PVC/m³ e 0,5m²PVC/m² e na segunda com 5,2m²PVC/m³ e 1,5m²PVC/m², cargas de 6,3gDQO/m².d e 7,6gDQO/m².d respectivamente para a 1^o e 2^o fase do experimento e TRH de 15 dias, conclui-se que:

- Na fase 1 não houve diferença estatisticamente significativa entre o tratamento de esgotos no módulo com suporte para biofilme e no módulo controle;
- A grande densidade de microcrustáceos presente na massa líquida dos módulos durante a 1^o fase do experimento prejudicou a manutenção de algas plantônicas e perifíticas, influenciando negativamente no processo de depuração dos esgotos, inclusive conferindo cor amarelada ao efluente;

- O aumento da área de suporte de $0,5\text{m}^2\text{PVC}/\text{m}^2$ para $1,5\text{m}^2\text{PVC}/\text{m}^2$ na 2ª fase da etapa de laboratório 2 conduziu a um tratamento diferenciado, estatisticamente, entre os módulos ML1_b e o ML2_b em relação a SS, DQO_t e NTK;
- A biomassa no suporte ao final do período experimental foi de $0,95\text{g}/\text{m}^2$ de PVC na fase 1 e $8,8\text{g}/\text{m}^2$ de PVC na fase 2 sendo que destes, 34% e 67% foram de origem algal, respectivamente. Na fase 2, a maior parte do biofilme foi composta por organismos fotoautotróficos;
- As concentrações de OD na massa líquida dos módulos foram extremamente baixas dificultando a ocorrência da nitrificação;
- Os suportes de PVC, numa proporção aproximada de duas vezes a área superficial da lagoa (fase 2), conduziram a uma redução bastante significativa na concentração de SS no efluente (ML1_b 60% e ML2_b 23%);

Com os resultados obtidos nesta etapa da pesquisa, decidiu-se por testar em mais uma etapa de laboratório, um tratamento terciário de lagoas com suporte de PVC para crescimento de biofilme. A intenção é reduzir a relação DQO/NH_4^+ na lagoa para diminuir a competição das bactérias quimioheterotróficas oxidadoras de DQO com as bactérias quimiolitotróficas, aumentar a concentração de OD disponível e dessa forma, obter nitrificação.

CAPÍTULO 5 – Etapa de Laboratório 3

Este capítulo refere-se a terceira e última fase do estudo em escala de laboratório - denominada Etapa de Laboratório 3, contemplando os objetivos específicos, os procedimentos metodológicos adotados, os resultados obtidos, a discussão e as conclusões.

5.1. OBJETIVOS

Esta etapa da pesquisa contemplou os seguintes objetivos:

- Avaliar a remoção de material carbonáceo, nitrogênio, sólidos e coliformes termotolerantes de esgoto doméstico tratado em módulos de bancada representando lagoas de tratamento terciário com suporte de PVC para desenvolvimento de biofilme;
- Obter condições favoráveis a nitrificação no módulo com suportes para biofilme;
- Comparar os resultados obtidos no módulo com biofilme e no módulo representando uma lagoa de maturação convencional (sem suportes para biofilme);
- Analisar a composição algal e da microfauna do biofilme aderido nos suportes e da biomassa em suspensão através de análises microscópicas;
- Identificar e quantificar as bactérias nitrificantes presentes no suporte de PVC e na massa líquida dos módulos pela análise de *Fluorescence In Situ Hybridization* – FISH.

5.2. METODOLOGIA

Nesta etapa utilizou-se a mesma estrutura e os mesmos módulos utilizados na etapa de laboratório 2. No ML1_c foi introduzido 0,225m² de suporte de PVC para aderência de biofilme e no ML2_c não foram colocados suportes (controle). O TRH foi calculado em função da equação de dimensionamento de lagoas de maturação, considerando-se, fluxo pistão, adotando-se coeficiente de decaimento bacteriano – Kb de 0,3/d. O sistema foi alimentado com efluente de lagoa facultativa piloto instalada em campo junto a ETE continental de Florianópolis. Os dados operacionais encontram-se descritos na Tabela 39.

Da mesma forma que efetuado nas etapas anteriores, os módulos de laboratório foram preenchidos com o efluente da LF piloto, instalada na ETE continental de Florianópolis, e deixados estabilizar por 15 dias. Após esse período, adicionou-se 15 suportes de PVC (área de 0,225m²) no módulo 1 - ML1_c e iniciou-se a alimentação contínua.

A operação e monitoramento do sistema foram realizados da mesma forma que citado nas etapas anteriores, exceto pelo controle bacteriológico de coliformes totais e *Escherichia coli* e as

análises de FISH para detecção e identificação de bactérias nitrificantes. No monitoramento físico-químico foi adicionado o controle da DBO₅ efetuado pelo método respirométrico – manométrico (APHA, 1995) com garrafas da Digimed[®], e da turbidez utilizando-se o turbidímetro 2100 P da Hach[®].

Tabela 39: Principais características operacionais do sistema na etapa de laboratório 3.

PARÂMETRO	FASE 3	
	ML1	ML2
Período do ensaio	113 dias (14/07 a 03/11/03)	
Tempo de detenção hidráulico (dias)	15	
Volume (m ³)	0,0435	
Área total dos suportes (m ²)	0,225	0
Relação área do suporte e volume do reator	5,2	0
Relação área do suporte e área do módulo	1,5	0
Fotoperíodo (horas/d)	12	
Temperatura média do líquido (°C)	22,3±2,3	
Grau de tratamento	Terciário	
Afluente	Efluente da lagoa Facultativa piloto (LF)	
Vazão afluente (L/d)	2,9	
Taxa de aplicação superficial: gNTK/m ² .d	0,4±0,1	
Carga: gNTK/m ³ .d	1,3±0,2	
Taxa de aplicação superficial: gN-NH ₄ /m ² .d	0,2±0,1	
Carga: gN-NH ₄ /m ³ .d	0,7±0,2	
Taxa de aplicação superficial: gDQO/m ² .d	4,5±1,2	
Carga: gDQO/m ³ .d	15,5±4,2	

Determinação de coliformes totais e *E. coli*

As estimativas das densidades de coliformes totais e *Escherichia coli* do afluente e dos efluentes dos módulos foram obtidas utilizando-se o método do substrato cromogênico (Colilert, da Indextx), baseado na ativação de enzimas presente nessas bactérias por meio de substratos específicos, conforme descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1995). A enzima utilizada pelos coliformes totais é a β-galactosidase e o indicador é o ONPG que confere cor amarelada. *E. coli* utiliza β-glucuronidase, metaboliza o indicador MUG e cria fluorescência azul (APHA, 1995).

Método da *Fluorescence in situ Hybridization* – FISH

As análises de FISH foram realizadas durante o estágio de Doutorado em Munique/Alemanha, no Laboratório de Microbiologia do *Institute of Water Quality Control and Waste Management – Technische Universität (TU) – Munich* no período de Fevereiro a Junho de 2004.

As amostras do biofilme, do ML1_c e ML2_c provenientes do 113º dia de funcionamento do sistema (03/11/2003 – último dia do experimento) foram fixadas com paraformaldeído 4% e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do *Institute of Water Quality Control and Waste Management* para a identificação dos microrganismos presentes pela aplicação da técnica de FISH (Amann *et al.*, 1992). Para tanto, utilizaram-se sondas de elevado nível taxonômico, UNI1389a, EUK1195, EUB338, Ntspa712 e ARC915, níveis intermediários, os quais: DELTA495a, BETA42a, GAM42a e ALF1b e os específicos para as bactérias que oxidam a amônia e o nitrito. Estes níveis taxonômicos encontram-se representados na Figura 32. Um maior detalhamento sobre as características das sondas utilizados no estudo estão na Tabela 40.

O procedimento adotado nas análises de FISH, realizadas em laboratório de microbiologia molecular em Munique, segue a seqüência abaixo descrita, sendo o item 1 efetuado no LIMA (Laboratório Integrado de Meio Ambiente) da UFSC:

1. Fixação das amostras com paraformaldeído 4% e conservação das amostras congeladas em temperaturas de -20°C;
2. Imobilização e desidratação das células sobre a lâmina;
3. Hibridização das células com oligonucleotídeos fluorescentes (sondas);
4. Lavagem das lâminas para otimização da estringência;
5. Coloração das células com *DNA intercalating dye 4,6 diamino-2 phenylindole* (DAPI) (não específico, cora bactérias e eucariontes; não cora Archaea);
6. Cobertura da lâmina com lamínula e adição de um anti “fading” (CitiFluor) entre ambas;
7. Observação em microscópio epifluorescente.

Figura 32: Microrganismos analisados e suas respectivas sondas.

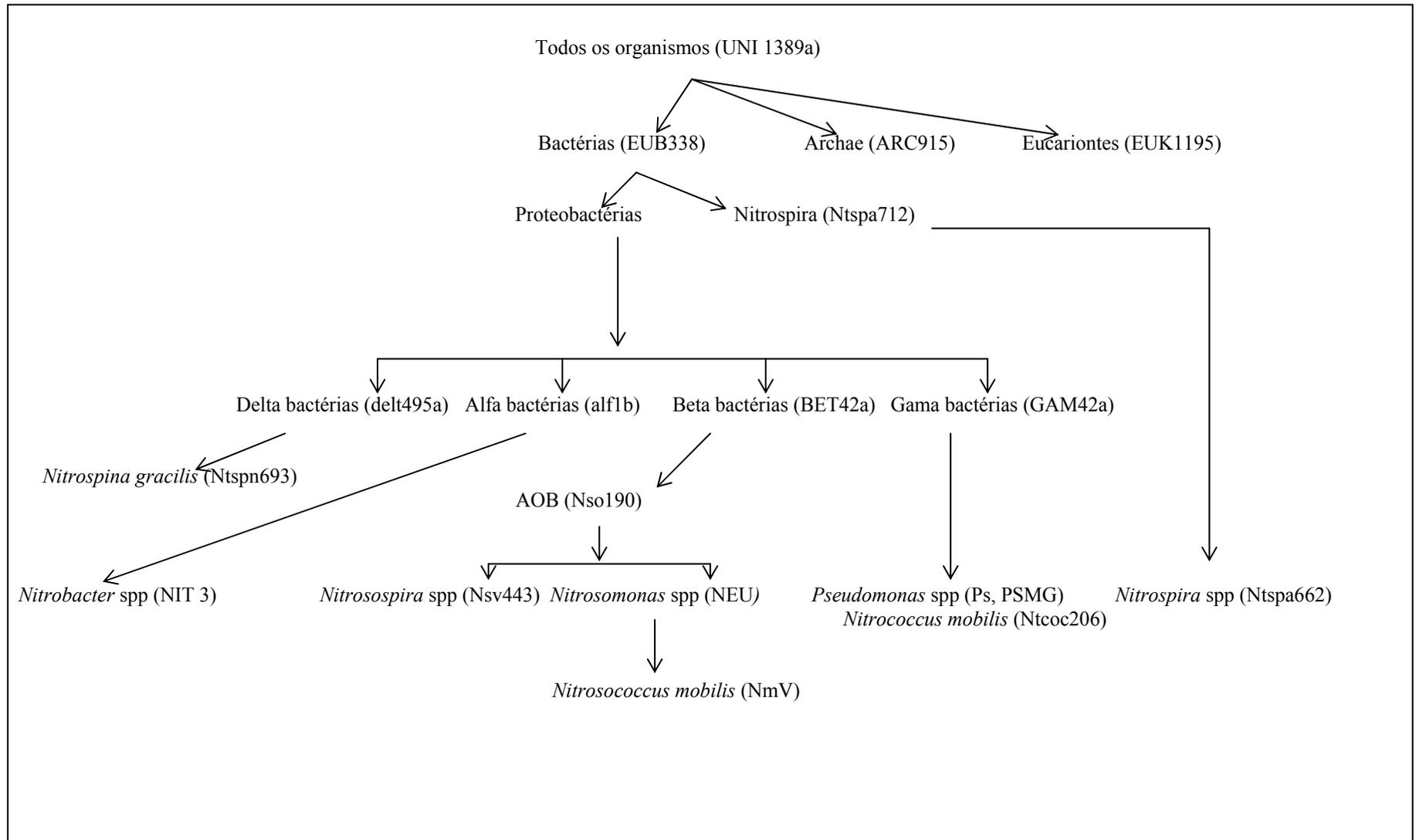


Tabela 40: Grupos de microrganismos analisados pela técnica de FISH e respectivas sondas utilizadas.

Sonda	Especificidade	Origem	Sequência	FA (%) ⁽¹⁾	REFERÊNCIA
UNI1389a	Bactéria, não Epsilonproteobacteria	16S rRNA	5'-ACGGGCGGTGTGTACAAG-3'	ND	Loy <i>et al.</i> (2002).
EUK1195	Eucariontes	18S rRNA	5'-GGGCATCACAGACCTG-3'	ND	Giovanoni <i>et al.</i> (1990).
EUB338	todas as bactérias	16S rRNA	5'-GCTGCCTCCCGTAGGAGT-3'	0-50 (20)	Amann <i>et al.</i> (1990).
ARC915	todas Archae	16S rRNA	5'-GTGCTCCCCGCCAATTCCT-3'	ND	Stahl <i>et al.</i> (1991).
Delta495a	A maioria das Delta bactérias	16S rRNA	5'-AGTTAGCCGGTGCTTCCT-3'	ND (20)	Loy <i>et al.</i> (2002).
Alf1b	Alphaproteobacteria, some Deltaproteobacteria, Spirochaetes	16S rRNA	5'-CGTTCGYTCTGAGCCAG-3'	20	Manz <i>et al.</i> (1992).
BET42a	Beta bactérias	23S rRNA	5'-GCCTTCCCACTTCGTTT-3' *5'-GCCTTCCCACATCGTTT-3'	35	Manz <i>et al.</i> (1992).
Competidor	Beta bactérias	23S rRNA	5'-GCCTTCCCACATCGTTT-3' *5'-GCCTTCCCACATCGTTT-3'	35	Manz <i>et al.</i> (1992)..
GAM42a	Gamma bactérias	23S rRNA	5'-GCCTTCCCACATCGTTT-3' *5'-GCCTTCCCACATCGTTT-3'	35	Manz <i>et al.</i> (1992)..
Ntspa712	A maioria dos membros do Filo Nitrospira	16S rRNA	5-CGCCTTCGCCACCGCCTTCC-3 *5-CGCCTTCGCCACCGGTGTCC-3	50	Daims <i>et al.</i> (2001).
Competidor					
Nso190	Todas as AOB beta	16S rRNA	5-CGATCCCCTGCTTTTCTCC-3	55	Mobarry <i>et al.</i> (1996).
Nso1225	Todas as AOB beta	16S rRNA	5-CGCCATTGTATTACGTGTGA-3	35	Mobarry <i>et al.</i> (1996).
NIT3 (alfa)	<i>Nitrobacter</i> sp	16S rRNA	5-CCTGTGCTCCATGCTCCG-3 *5-CCTGTGCTCCATGCTCCG-3	40	Wagner <i>et al.</i> (1996).
Competidor					
Nsv443	<i>Nitrosolobus multiformis</i> <i>Nitrospira briensis</i> <i>Nitrosovibrio tenuis</i>	16S rRNA	5'-CCGTGACCGTTTCGTTCCG-3'	30	Mobarry <i>et al.</i> (1996).
NEU	A maioria das <i>Nitrosomonas</i> sp haloficas e halotolerantes	16S rRNA	5'-CCCCTCTGCTGCACTTA-3' *5'-TTCCATCCCCCTCTGCCG-3'	40	Wagner <i>et al.</i> (1995).
Competidor					
Nmv (espécie de Nitrosomonas)	<i>Nitrosococcus mobilis</i>	16S rRNA	5-TCCTCAGAGACTACTACGGG-3	35	Juretschko <i>et al.</i> (1998).
Ntcoc206 (gama)	<i>Nitrococcus mobilis</i>	16S rRNA	5-CGGTGCGAGCTTGCAAGC-3	10	Juretschko S. (2000).
Ntspn693	<i>Nitrospina gracilis</i> (delta)	16S rRNA	5-TTCCCAATATCAACGCATTT-3	20	Juretschko S. (2000).
Ntspa 662	<i>Nitrospira</i> sp (filo Nitrospira)	16S rRNA	5'-GGAATTCGCGCTCTCT-3' * 5'-GGAATTCGCGCTCTCT-3'	35	Daims <i>et al.</i> (2001).
Ps Ag1	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Ag1 (gama)	23S rRNA	5'-GATAACTCGTCATCAGCTC-3'	30	Boye <i>et al.</i> (1995).

(1) FA = concentração de paraformaldeído.

A seguir uma descrição sintetizada das principais etapas realizadas na análise de FISH:

i. Fixação das Amostras

Na hibridização, as células são expostas a elevadas temperaturas, detergentes e gradientes osmóticos. Por esta razão, a fixação é essencial para a manutenção da integridade morfológica das células. Para as bactérias gram negativas utiliza-se uma solução 4% de paraformaldeído em PBS (*phosphate buffered saline*) (Amann *et al.*, 1992). A autofluorescência da matéria orgânica pode ser reduzida se a fixação for realizada num período inferior a 24 horas após a coleta da amostra.

Segundo Amann, *et al.* (1995) a fixação para bactérias gram negativas abrange as seguintes etapas:

- 1 – Centrifugar as células durante 2min a 5.000g;
- 2 – Lavar e ressuspender em PBS (1 volume);
- 3 – Centrifugar novamente 2min a 5.000g e descartar o sobrenadante;
- 4 – Adicionar 1 volume de PBS e ressuspender em vortex;
- 5 - Adicionar 3 volumes de paraformaldeído 4%;
- 6 – Incubar a 4°C durante um período de 3 até no máximo 18 horas;
- 7 – Centrifugar as células durante 2min em velocidade máxima;
- 8 – Remover o sobrenadante;
- 9 - Ressuspender com 1 volume de PBS agitando em vortex;
- 10 – Centrifugar novamente durante 2min em velocidade máxima;
- 11 – Ressuspender com 1 volume de PBS;
- 12 – Agregar igual volume de etanol;
- 13 – Manter em congelador a -20°C.

ii. Preparação das Lâminas

Foram utilizadas lâminas de teflon com 10 orifícios (Figura 33) dentro dos quais a hibridização ocorreu. Estas lâminas possuem uma superfície hidrofóbica de teflon que previne a mistura de sondas aplicadas em diferentes orifícios. As lâminas devem ficar imersas em solução de 0,1% de gelatina e 0,01% CrK (SO₄)₂ por um minuto antes de serem utilizadas.

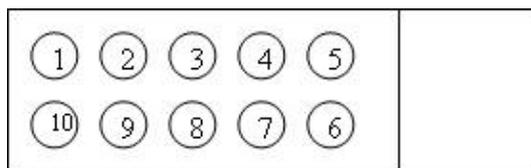


Figura 33: Representação da lâmina de teflon utilizada na técnica de FISH.

iii. Fixação e desidratação das células na lâmina

- Em cada orifício da lâmina de teflon foi colocada uma alíquota da amostra fixada em paraformaldeído. Para amostras do biofilme utilizou-se 2 μ L e para a massa líquida dos módulos, 10 μ L. A lâmina foi colocada em estufa a 46°C por 10min;
- Após esse período, as células foram desidratadas através de imersão em soluções de etanol, 3min em etanol 50%, 3min em etanol 80% e 3min em etanol 100% e secas em temperatura ambiente.

iv. Hibridização e lavagem das células

- Após descongelar as sondas de oligonucleotídeos em local protegido da luz e preparar as soluções de hibridização na concentração recomendada para cada sonda, adicionou-se 8 μ L desta solução em cada orifício contendo as células desidratadas;
- Em seguida foi adicionado 1 μ L de cada sonda (contendo marcador Cy3);
- A hibridização ocorreu em tubo eppendorf 50mL contendo papel embebido em solução tampão de hibridização onde cada lâmina foi disposta e incubada por 1,5 horas a 46°C;
- Após a hibridização, adicionou-se em cada orifício da lâmina, 2 μ L de DAPI (concentração de 10 μ g/mL) e a lâmina foi exposta mais 20min a 46°C;
- As células foram lavadas com solução de lavagem para retirada do excesso da solução de hibridização. Para tanto, foram adicionados 20 μ L da solução de lavagem com concentração específica para cada sonda e as lâminas foram incubadas por 20min em banho pré-aquecido de 48°C;
- O tampão de lavagem foi removido com água destilada a 4°C e as lâminas foram secas em local desprovido de iluminação e em temperatura ambiente.

Para sondas com seqüências similares (menos de três bases diferentes) foram utilizadas sondas competidoras evitando o resultados falso-positivo.

v. **Preparação das lâminas para microscopia**

- Sobre as lâminas foi adicionado gotas de CitiFluor (anti-*fading*) e estas foram cobertas com lamínulas;
- Para a microscopia utilizou-se óleo imersão com anti-*fading*.

Para a visualização das amostras e a captura de imagens utilizou-se o microscópio óptico da Axioplan[®] 2 Imaging e o software LSM 510 0.

Na quantificação dos microrganismos com sinais positivos, optou-se por método subjetivo de contagem sendo atribuídas as categorias descritas na Tabela 41. A contagem relativa foi inviabilizada devido às características das amostras, tais como a presença de muitas colônias apresentando células em várias camadas e a elevada densidade de algas e cianobactérias filamentosas.

Tabela 41: Categorias utilizadas para estimar a quantidade de células hibridizadas durante as análises de FISH.

CATEGORIA	CONCENTRAÇÃO
0	Nenhuma célula hibridizada foi observada quando comparada com DAPI
1	Raras células hibridizadas foram observadas quando comparadas com DAPI
2	Poucas células hibridizadas foram observadas quando comparadas com DAPI
3	Algumas células hibridizadas foram observadas quando comparadas com DAPI
4	Freqüente quantidade de células hibridizadas foi observada quando comparadas com DAPI
5	Muitas células hibridizadas foram observadas quando comparadas com DAPI
6	Excessiva quantidade de células hibridizadas foi observada quando comparadas com DAPI

Obtiveram-se imagens para cada categoria utilizada na quantificação das células hibridizadas para a manutenção de uma classificação padrão (sonda específica e DAPI). Os resultados correspondem a média de 20 campos microscópicos observados para cada sonda utilizada em cada amostra.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parâmetros físico-químicos e de colimetria – análise descritiva e teste ANOVA

As variáveis físico-químicas expressas pelo número de amostragens (n), a média, a mediana, o desvio padrão (DP), o valor mínimo e o máximo, o 1º quartil e o 3º quartil determinados para o afluyente aos módulos (Lagoa Facultativa piloto - LF), e aos efluentes do módulo 1 (ML1_c) e ao módulo 2 (ML2_c) estão descritos nas Tabelas 42, 43 e 44, respectivamente. O

afluente as lagoas de laboratório apresentou baixas concentrações de DBOs (média de 30mg/L) e de N-NH₄⁺ (média de 10mg/L), conferindo uma relação DBO₅/N-NH₄⁺ de 3:1. O esgoto afluente às unidades estudadas apresentou boas características para uma posterior nitrificação, com elevado pH (9), boa alcalinidade (236mg/L), altos níveis de OD (média de 17mg/L), com concentrações inferiores a 2,2mg/L em menos de 25% do período (1º quartil).

Tabela 42: Resultados das análises físico-químicas verificadas no efluente da lagoa facultativa piloto (LF) coletado as 9:00 h, afluente aos módulos de laboratório durante a etapa de laboratório 3.

Parâmetros	N*	média	DP	mínimo	1º quartil	mediana	3º quartil	máximo
pH	16	9,0	0,4	8,2	8,8	9,0	9,3	9,8
Alcalinidade total (mg/L)	16	235,6	26,8	177,9	228,3	237,7	250,3	272,0
Temperatura da amostra (°C)	16	23,6	4,1	16,5	19,3	23,9	27,6	29,0
OD (mg/L)	16	16,7	24,1	0,3	2,2	10,1	20,0	31,0
Disco de Sechi (cm)	16	13,9	9,3	5,0	7,0	11,5	17,5	40,0
DQOt (mg/L)	16	234,6	56,1	115,0	203,5	233,0	259,5	360,0
DQOs (mg/L)	16	117,6	42,6	71,0	81,0	108,0	148,50	204,0
DBOt (mg/L)	5	143,1	25,9	102,0	120,7	125,2	139,0	172,0
DBOs (mg/L)	5	29,6	23,9	8,0	20,0	20,0	30,0	70,0
NTK (mg/L)	12	19,3	4,0	13,600	16,400	18,20	22,65	25,7
Norg. (mg/L)	12	7,4	3,7	1,6	4,8	7,0	9,7	13,2
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	16	10,3	4,0	2,2	8,9	10,5	12,3	17,5
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	16	0,12	0,28	0,000	0,000	0,00	0,05	1,0
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	16	0,26	0,57	0,000	0,000	0,00	0,00	1,8
Nox (mg/L)	16	0,38	0,72	0,000	0,000	0,00	0,52	2,4
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	16	2,3	1,9	0,0	0,7	1,7	3,3	5,9
ST (mg/L)	15	2759,9	989,4	1696,0	1990,0	2203,0	3767,0	4663,0
STF (mg/L)	16	1606,9	785,0	657,0	1340,0	1478,0	1543,0	3980,0
STV (mg/L)	15	1138,5	890,8	368,0	440,0	683,0	1531,0	3260,0
SS (mg/L)	16	104,1	52,9	19,0	60,0	104,5	142,5	200,0
Turbidez (NTU)	16	176,7	97,7	36,0	84,5	178,0	262,0	323,0
Cor (HAZEN)	16	168,7	77,1	66,0	89,5	177,0	235,0	282,0
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	10	0,46	0,45	0,012	0,076	0,38	0,70	1,4
Coli. Totais (NMP/100mL)	10	4,77E+04	7,44E+04	2,40E+03	2,40E+03	2,40E+04	2,40E+04	2,40E+05
<i>E. coli</i> (NMP/100mL)	10	8,48E+03	9,49E+03	3,64E+02	7,40E+02	4,85E+03	1,60E+04	9,49E+05

*n variável conforme o parâmetro analisado.

Os resultados descritivos das análises efetuadas nos módulos de laboratório (Tabelas 43 e 44) indicam que os tratamentos foram similares para a maioria dos parâmetros. Diferenças ocorreram para os SS, a turbidez, a clorofila *a*, a DQOs e a densidade de *E. coli*, sendo todos estes detectados em menores concentrações no módulo contendo suporte para biofilme (ML1c).

Tabela 43: Resultados das análises físico-químicas verificadas no ML1c.

Parâmetros	n	média	DP	mínimo	1º quartil	mediana	3º quartil	máximo
pH	13	7,7	0,2	7,3	7,7	7,7	7,8	8,2
Alcalinidade total (mg/L)	13	207,2	26,7	171,1	187,8	193,8	238,5	244,9
Temperatura da amostra (°C)	13	22,3	2,3	18,9	20,2	22,3	24,7	25,1
OD (mg/L)	13	1,5	0,7	0,7	1,1	1,2	2,3	2,9
DQOt (mg/L)	13	148,9	45,9	85,0	123,0	150,0	163,0	250,0
DQOs (mg/L)	13	83,9	33,8	33,0	68,0	84,0	98,0	170,0
DBOt (mg/L)	11	23,9	13,7	5,0	10,0	20,0	35,0	45,0
NT (mg/L)	12	13,3	2,8	8,5	11,9	12,5	15,4	19,2
N kjeldah (mg/L)	12	8,1	4,2	3,5	4,8	6,4	11,2	15,9
Nor (mg/L)	12	3,2	1,5	1,0	2,2	3,0	4,2	5,8
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	13	4,5	4,2	0,5	0,8	2,1	8,3	10,5
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	13	2,81	1,78	0,15	1,60	2,40	3,70	5,40
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	13	2,80	2,30	0,90	1,50	1,80	2,90	7,80
Nox (mg/L)	13	5,21	2,92	1,05	3,30	4,20	8,10	11,20
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	13	4,4	1,4	1,4	3,4	4,3	5,6	6,0
ST (mg/L)	12	2066,1	764,5	1132,0	1556,5	1901,0	2510,5	3468,0
SS (mg/L)	13	15,8	9,2	6,0	7,0	15,0	20,0	33,0
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	13	0,015	0,0213	0,004	0,005	0,008	0,011	0,078
Cor (HAZEN)	13	67,2	21,1	41,0	51,0	55,0	92,0	98,0
Turbidez (NTU)	13	38,1	22,7	11,0	20,0	31,0	55,0	75,0
Coli Totais (NMP/100mL)	12	2,08E+03	7,48E+02	4,10E+02	2,40E+03	2,40E+03	2,40E+03	2,40E+03
<i>E. coli</i> (NMP/100mL)	12	5,43	9,63	1,00	1,00	1,00	2,55	26,00

Tabela 44: Resultados das análises físico-químicas verificadas no ML2c.

Parâmetros	n	média	DP	mínimo	1º quartil	mediana	3º quartil	máximo
pH	13	7,9	0,3	7,2	7,8	7,8	8,0	8,5
Alcalinidade total (mg/L)	13	210,8	21,7	167,1	195,6	211,1	223,6	242,3
Temperatura da amostra (°C)	13	22,3	2,3	18,9	20,2	22,4	24,7	25,1
OD (mg/L)	13	1,9	1,3	0,7	0,8	1,4	2,5	4,3
DQOt (mg/L)	13	161,0	46,9	102,0	131,0	163,0	189,0	270,0
DQOs (mg/L)	13	104,3	17,2	80,0	89,0	106,0	112,0	142,0
DBOt (mg/L)	10	39,9	23,8	9,0	22,0	39,5	54,0	77,0
NT (mg/L)	12	13,1	2,2	8,6	12,2	13,5	14,7	16,1
N kjeldah (mg/L)	12	9,4	3,3533	4,900	6,400	10,300	12,800	13,500
Nor (mg/L)	12	3,6	1,2	1,2	3,1	3,6	4,0	6,4
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	13	5,5	3,7	0,9	2,6	5,0	10,0	10,3
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	13	1,88	1,41	0,10	0,70	1,80	2,70	4,50
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	13	1,75	1,82	0,30	0,80	1,00	1,50	5,80
Nox (mg/L)	13	3,631	2,73	0,80	2,20	3,00	3,70	9,80
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	13	5,1	1,7	1,4	4,1	5,9	6,4	6,9
ST (mg/L)	12	2099,8	621,3	1274,0	1701,0	1933,0	2558,0	3320,0
SS (mg/L)	13	27,5	17,7	7,0	14,0	23,0	40,0	58,0
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	13	0,0400	0,0671	0,000	0,004	0,012	0,043	0,243
Cor (HAZEN)	13	77,4	24,9	46,0	60,0	70,0	84,0	134,0
Turbidez (NTU)	13	52,0	29,6	13,0	30,0	55,0	62,0	110,0
Coli Totais (NMP/100mL)	12	2,40E+03	0,00E+00	2,40E+03	2,40E+03	2,40E+03	2,40E+03	2,40E+03
<i>E. coli</i> (NMP/100mL)	12	102,13	203,38	1,00	1,00	10,40	52,55	560

Segundo os resultados do teste ANOVA, os efluentes dos dois módulos podem ser considerados estatisticamente iguais exceto pela concentração de SS ($p = 0,0448$) que apresentou médias de 16mg/L e 28mg/L para o ML1_c e o ML2_c, respectivamente.

No efluente do ML1_c as concentrações de SS foram inferiores e sofreram menores variações quando comparadas àquelas mensuradas no ML2_c (Figura 34). O máximo obtido no efluente do ML1_c foi de 33mgSS/L, enquanto no ML2_c foi de 58mgSS/L.

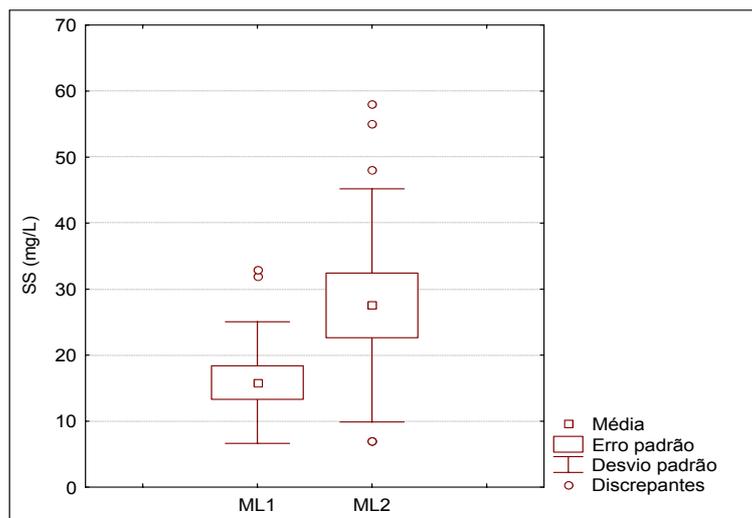


Figura 34: Comparações entre as concentrações de SS entre os tratamentos com biofilme (ML1_c) e controle (ML2_c).

A nitrificação ocorreu durante todo o período, aumentando subitamente entre o 35º dia e o 56º dia quando o efluente no ML1_c atingiu a máxima concentração de Nox (11mg/L). A partir do 77º dia houve redução de praticamente todo o N-NH₄⁺ em ambos os experimentos (Figura 35).

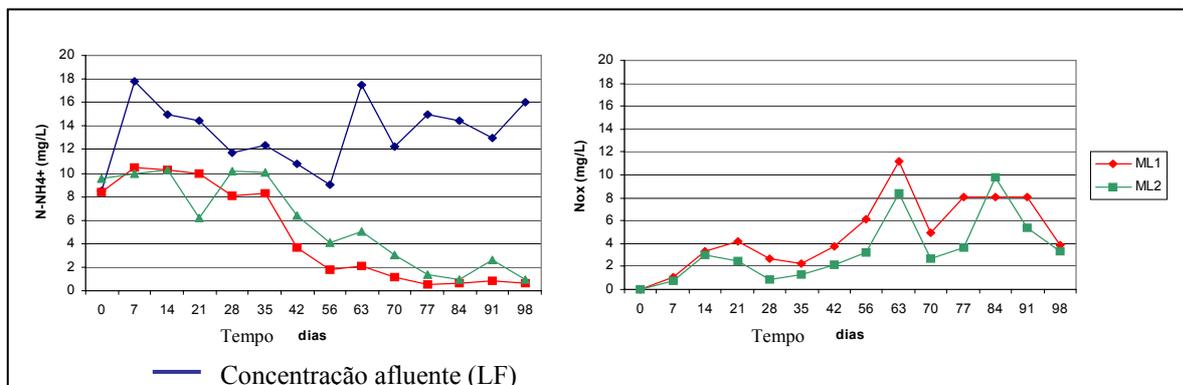


Figura 35: Comportamento das concentrações de N-NH₄⁺ e Nox nas unidades com biofilme (ML1_c) e controle (ML2_c) durante o período de estudo.

Massa do Biofilme

Ao término do experimento (98º dia), a massa algal representava 42% da biomassa total do biofilme (Tabela 45). O peso seco da comunidade perifítica foi de 74g/m²PVC, valor notadamente superior àqueles verificados nas etapas de laboratório 1 e 2. Ressalta-se que possivelmente grande parte da biomassa não algal foi constituída por bactérias autotróficas, devido à baixa concentração de DBO₅ solúvel afluente.

Tabela 45: Estimativa da massa do biofilme no suporte de PVC (ML1_c) no 98º dia.

Medidas de massa Fase 3 (15 suportes)	Massa do biofilme por unidade de área de suporte	Incremento da biomassa no ML1
	g/m ² PVC	g/m ³
PS	87	450
PSV	74 (85% PS)	384
PSF ou Cinzas	13	66
Clorofila <i>a</i> (1% do PSA)	0,31	1,61
Estimativa do peso seco algal (PSA)	31 (42% PSV)	161
Estimativa da massa de bactérias + microfauna (PSV – PSA)	43	223

Performance dos módulos de laboratório – ML1_c e ML2_c

Apesar de não diferirem estatisticamente para a maioria dos parâmetros, o tratamento no ML1_c foi mais eficiente que no ML2_c para todos os parâmetros com destaque para os SS, o qual foi reduzido, em média, 85% no ML1_c e 70% no ML2_c (Figura 36).

A performance global de ambos os módulos laboratoriais foi superior as performances citadas em literatura para as lagoas de maturação (Von Sperling, 1996; Maynard *et al.*, 1999), exceto para a colimetria, que esteve de acordo com a maioria dos estudos realizados em lagoas de maturação em regiões de clima tropical e subtropical, reduzindo a densidade de *E. coli* afluente para níveis inferiores a 1.000NMP/100mL.

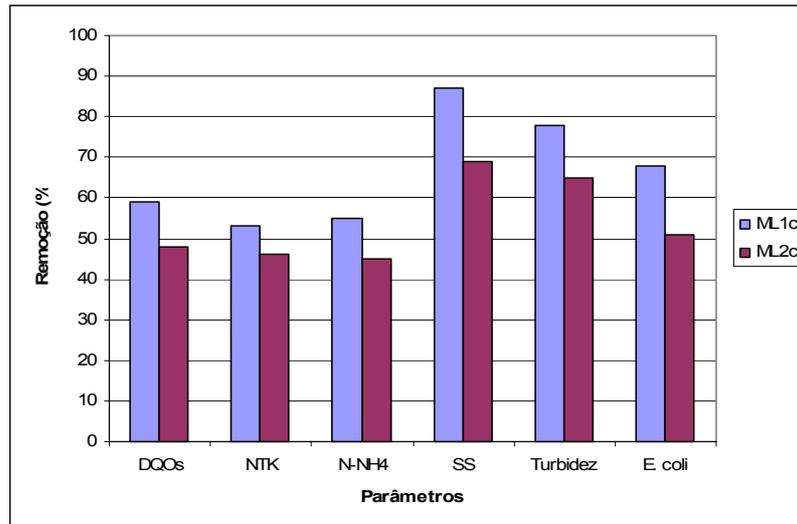


Figura 36: Remoções médias dos parâmetros avaliados nas duas lagoas durante o experimento.

Análise de Microscopia

Nas análises microscópicas da massa líquida ao longo do período verificou-se uma colonização inicial de fitoflagelados, dentre os quais *Euglena*, *Chlamydomonas*, *Phacus* e *Lepocinclis* até aproximadamente o 21º dia de operação dos módulos, sendo esta substituída pelas cianobactérias filamentosas dos gêneros *Oscillatoria* e *Planktotrix* e em menores densidades, as algas verdes *Staurastrum*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Micractinium*, entre outras. O zooplâncton foi composto por grandes ciliados e rotíferos.

No biofilme, ao final do período experimental, visualizou-se densa colonização por filamentos, de no mínimo três espécies de cianobactérias, com predomínio de *Planktotrix*, muitas diatomáceas penadas com predomínio de *Navicula*, e algas verdes filamentosas (*Oedogonium*). A microfauna perifítica foi constituída de ciliados pedunculados (*Vorticella*, *Tokophrya*), predadores de flocos (*Aspidisca*, *Euplotes*), grandes ciliados livres, rotíferos e nematóides.

Análise de Fluorescence in situ Hybridization - FISH

Os resultados das análises de FISH realizadas na amostra do biofilme no 98º dia de operação dos sistemas são mostrados nas Figuras 37, 38 e 39.

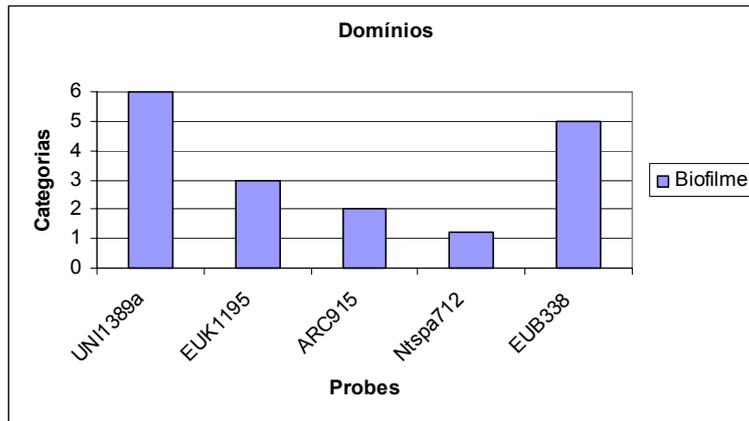


Figura 37: Quantificação dos grandes grupos detectados na amostra do biofilme no ML1_c com 98 dias de operação.

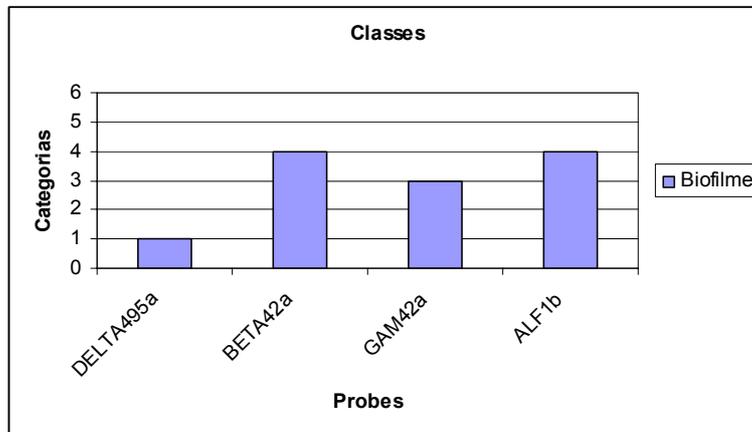


Figura 38: Quantificação das classes de proteobactérias detectados na amostra do biofilme no ML1_c com 98 dias de operação.

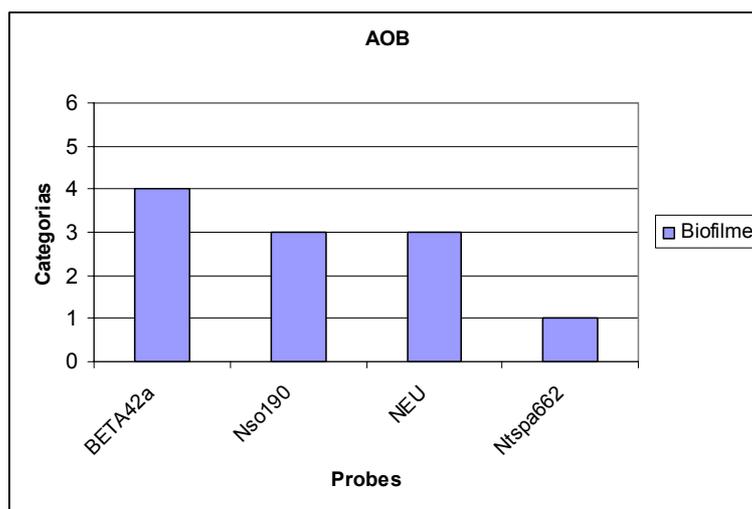


Figura 39: Relação entre todas as bactérias da classe Betaproteobactéria, as Betaproteobactérias oxidantes de amônia (Nso 190), o grupo das *Nitrosomonas* (NEU) e *Nitrospira* sp (Ntspa662) detectados no biofilme com 98 dias de operação.

A oxidação de $N-NH_4^+$ para $N-NO_2^-$ foi mediada por *Nitrosomonas* spp e a de $N-NO_2^-$ para $N-NO_3^-$ por *Nitrospira* spp presentes no biofilme, sendo o primeiro grupo muito mais abundante, o que poderia ajudar a esclarecer o aparecimento de nitrito neste experimento. Na amostra do biofilme não houve hibridização com as sondas Nmv, Nsv443 e NIT3.

Na Figura 40 encontram-se os resultados das análises de FISH realizadas nos efluentes do ML1c e ML2c.

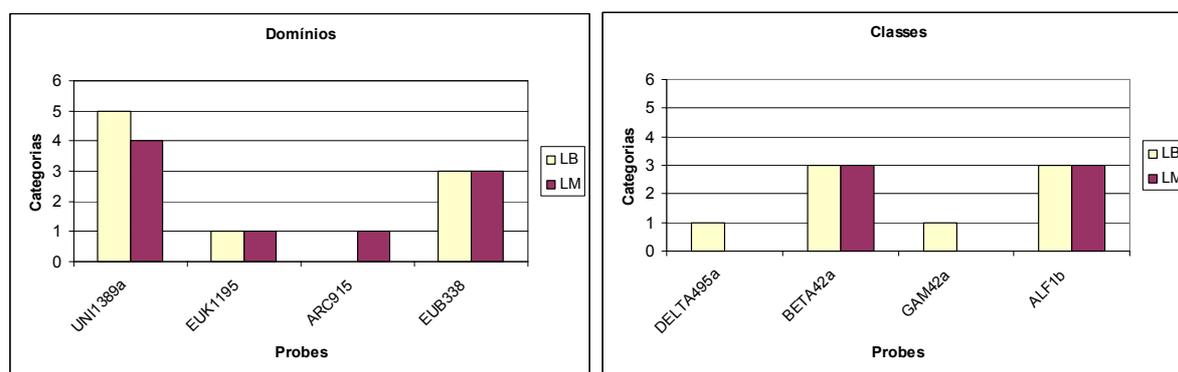


Figura 40: Quantificação dos organismos detectados nos efluentes do ML1c (LB) e do ML2c (LM) após 98 dias de funcionamento.

Para as sondas Nso190, NEU, Nmv, Nsv443, NIT3 e Ntspa662, testadas nos efluentes dos módulos, não se observou hibridização.

Em sistemas de lodos ativados, as betaproteobactérias são as mais abundantes, seguidas pelas deltaproteobactérias (Wagner e Amann, 1997). Pelas análises de FISH nas amostras do biofilme e do plâncton do ML1c e ML2c, diferentemente da biomassa dominante em lodos ativados, verificou-se a predominância de Alfacaproteobacteria (Figura 41) e Betaproteobacteria (Figura 42).

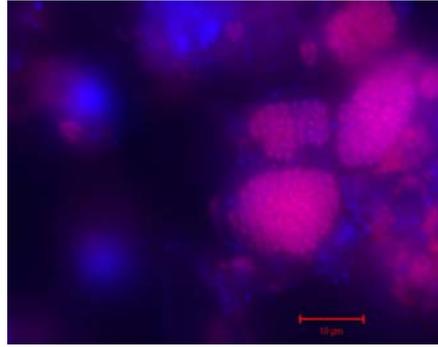


Figura 41: Microfotografia de células hibridizadas em amostra do biofilme. DAPI em azul e alfa1b em vermelho (escala 10 μ m)

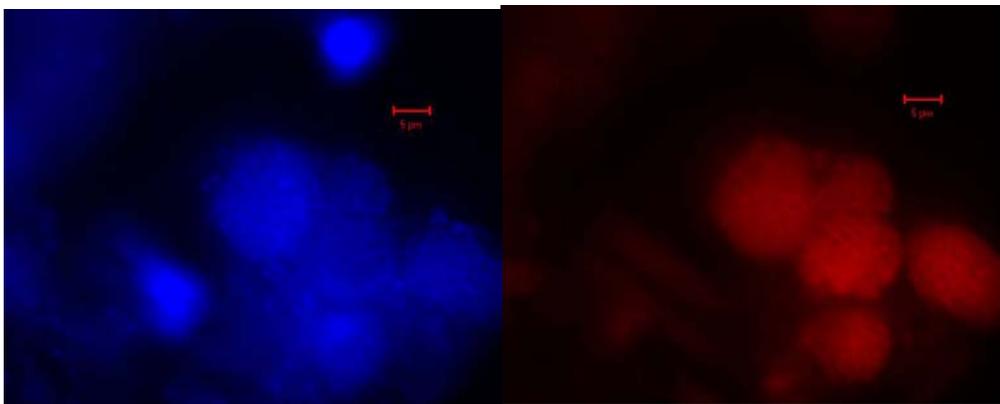


Figura 42: Microfotografia de células hibridizadas em amostra do biofilme. DAPI em azul e Beta 42a em vermelho (escala 5 μ m)

Apesar da ocorrência da nitrificação no ML1_c e no ML2_c, as bactérias nitrificantes foram observadas somente nas amostras do biofilme (Figura 43), provavelmente pela baixa concentração celular desses organismos nos efluentes dos módulos impossibilitando a detecção por FISH.

Segundo Wagner e Amann (1997), a relação entre as células hibridizadas com a sonda EUB e as células coradas com o DAPI fornece uma indicação da atividade metabólica das bactérias presentes em sistemas biológicos de tratamento de esgotos. No biofilme, essa relação foi de aproximadamente 80% enquanto para as bactérias suspensas nas lagoas foi de apenas 50%, sugerindo que as bactérias aderidas aos suportes estavam com o metabolismo mais ativo. Em sistemas de lodos ativados com baixa e elevada carga orgânica aplicada, Wagner *et al.* (1993) descrevem relações EUB/DAPI de 70 ± 7 e 89 ± 7 , respectivamente, dessa forma os 80% encontrados na lagoa com biofilme é comparável a um sistema de lodos ativados.

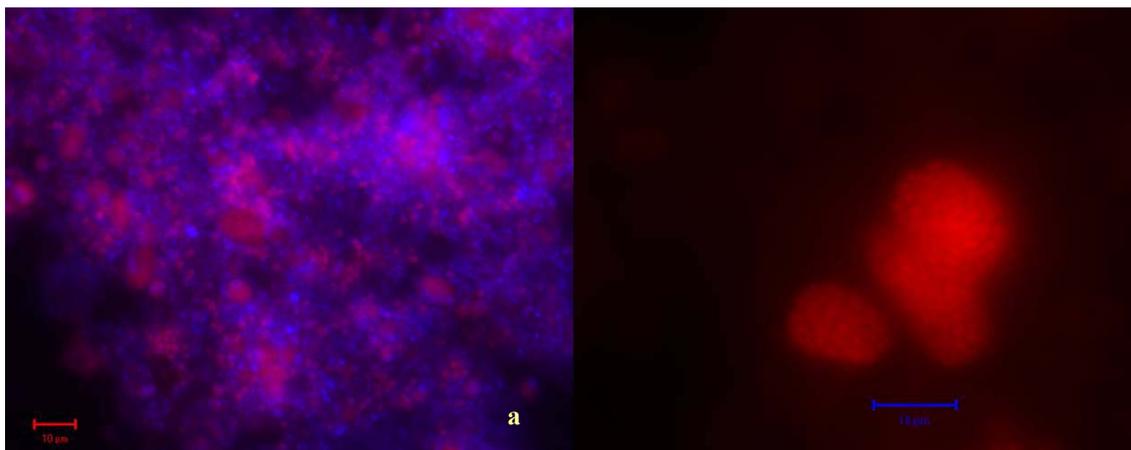


Figura 43: Microfotografias de células hibridizadas em amostra do biofilme. Em a: células coradas com DAPI em azul e células hibridizadas com a sonda Nso 190 em vermelho (escala 10µm). Em b, células hibridizadas com a sonda NEU (escala 10µm).

5.4. CONCLUSÕES

De maneira geral o tratamento nos dois módulos de bancada simulando lagoas de maturação, foi eficiente, destacando-se o módulo com biofilme na remoção de SS. Praticamente toda a amônia afluente foi oxidada nas duas unidades a partir do 77º dia de experimento, no entanto, as bactérias responsáveis pelo processo foram verificadas, pela técnica de FISH, apenas em amostras do biofilme. Ressalta-se que as características físico-químicas e biológicas do efluente produzido no módulo com biofilme apresentaram menor variabilidade durante o período estudado em detrimento do efluente produzido no módulo controle.

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que:

- No tratamento de esgoto em módulos de bancada simulando lagoas de maturação com e sem suportes para a adesão de biofilme microbiano, obteve-se eficiência maior na redução dos SS, DQO, N, turbidez e *E. coli* no módulo contendo biofilme (ML1_c) em relação ao módulo controle (ML2_c);
- Estatisticamente houve diferença significativa entre as características dos efluentes do ML1_c e do ML2_c apenas em termos de concentração de SS;
- No 98º dia de operação do módulo com biofilme, o suporte apresentou 74g de biomassa/m² sendo 42% desta composta por biomassa algal, representando um incremento de 384g de biomassa/m³ do reator 1 em relação ao controle;
- A qualidade do efluente do ML1_c apresentou menor variação em relação à qualidade do efluente da ML2_c;

- As bactérias nitrificantes do gênero *Nitrosomonas* e oxidadoras de nitrito do gênero *Nitrospira* foram detectadas na amostra do biofilme;
- A atividade bacteriana foi maior no biofilme/perifiton em relação ao bacterioplâncton;
- A densidade de *E. coli* foi cerca de vinte vezes inferior no ML1_c em relação ao ML2_c. Também, no ML1_c houve menores oscilações deste parâmetro durante o período de estudo. Dessa forma, o biofilme, por possíveis mecanismos de predação, liberação de toxinas algais, entre outros, auxiliou na melhoria da qualidade do efluente tratado.

CAPÍTULO 6 – Etapa de Campo

Este capítulo refere-se a parte do estudo que foi realizada em campo - denominada Etapa de Campo, contemplando os objetivos específicos, os procedimentos metodológicos adotados, os resultados obtidos, a discussão e as conclusões.

6.1. OBJETIVOS

- Avaliar a remoção de material carbonáceo, nitrogênio, sólidos e coliformes totais e *E. coli* de esgoto doméstico em lagoa com suportes para crescimento de biofilme e lagoa facultativa convencional em escala piloto, dispostas sob condições ambientais e climatológicas da região da Grande Florianópolis;
- Comparar os resultados obtidos na lagoa com biofilme e na lagoa facultativa convencional;
- Analisar a composição algal e da microfauna do biofilme aderido nos suportes e da biomassa em suspensão através de análises de microscopia;
- Identificar e quantificar as bactérias nitrificantes presentes no suporte de PVC e na massa líquida dos módulos pela análise de *Fluorescence In Situ Hybridization* - FISH;
- Determinar a variação diária, entre as 8:00 h e 18:00 h, nas características do efluente das lagoas;
- Identificar as variações das características do esgoto ao longo da lagoa – perfil longitudinal para verificação do regime hidráulico;
- Verificar as correlações entre os parâmetros climatológicos, físico-químicos e biológicos mensurados nas lagoas;
- Avaliar a viabilidade de implantação de lagoas com suportes para crescimento de biofilme para o tratamento secundário de esgotos;
- Apresentar as vantagens e desvantagens do tratamento na lagoa com biofilme em detrimento do tratamento na lagoa facultativa convencional.

6.2. METODOLOGIA

Para realização do estudo em campo foram construídas duas lagoas em escala piloto, de 17,5m³ de volume, 15m² de área superficial e 1,15m de profundidade cada (Figura 44). As

lagoas foram construídas de blocos de concreto revestidos com argamassa de cimento sendo impermeabilizadas com produtos do tipo “sela água”. Ambas as unidades estão localizadas junto a ETE continental de Florianópolis, próximas a lagoa anaeróbia (LA) da qual bombeou-se o efluente para a alimentação do sistema que se deu por meio de uma caixa de nível constante. A vazão foi regulada utilizando-se duas cubas graduadas pelas quais o efluente foi distribuído para as lagoas. Diariamente fez-se a verificação da vazão afluente e quando necessário, sua correção.

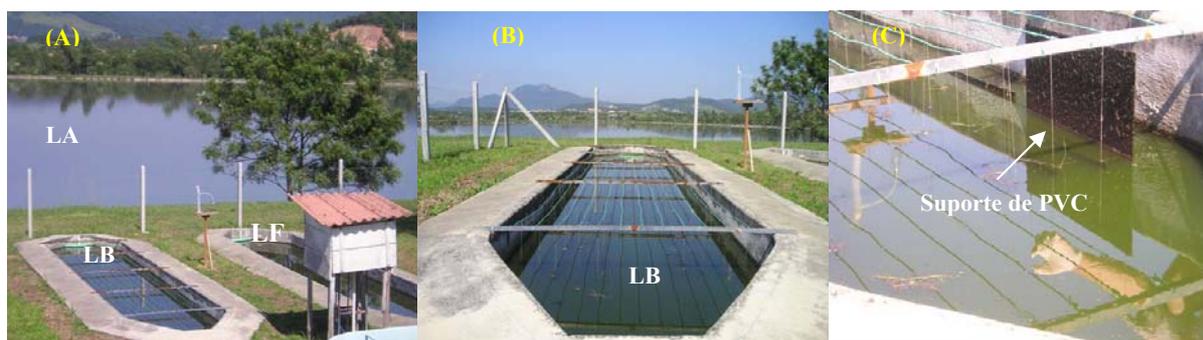


Figura 44: Sistema de campo. Foto panorâmica (A); lagoa com biofilme (B) e detalhe do suporte de PVC revestido por biomassa (C).

Convenções: LA – Lagoa Anaeróbia; LB – Lagoa com Biofilme; LF – Lagoa facultativa sem biofilme - controle.

As lagoas foram operadas e monitoradas sob diferentes condições experimentais. Numa primeira etapa, ambas unidades funcionaram como lagoas facultativas convencionais (LF - sem suporte para biofilme). O TRH das unidades foi modificado ao longo do estudo devido a alterações na qualidade do efluente, resultantes das variações climáticas, tais como a redução da transparência da água e da concentração de OD nos meses de menores temperaturas. Na Tabela 46, estão descritos os períodos, o TRH e a nomenclatura utilizada para as lagoas nesta etapa do estudo.

Em 26/01/2004, adicionou-se, em uma das unidades, 120 suportes de PVC de 0,5m x 0,5m cada um, totalizando 30m² de área de suporte para aderência de biofilme, correspondente a duas vezes a área superficial da lagoa. Os suportes foram colocados verticalmente imediatamente abaixo da superfície de água e no sentido longitudinal da lagoa. Foi necessária a utilização de bolinhas de chumbo para vencer o empuxo e assim manter as placas de PVC na posição vertical (Figura 45).

O monitoramento do sistema foi realizado da mesma forma que citado para etapa de laboratório 3, com coletas e análises semanais de amostras pontuais, coletadas as 9:00h, do afluente, efluente da lagoa com biofilme – LB e efluente da lagoa facultativa convencional – LF. Mensalmente, coletou-se amostra do biofilme correspondente a uma placa de PVC, situada na região central da lagoa. Amostras do efluente das lagoas e do biofilme foram fixadas e mantidas a -20°C para análises de FISH (Tabela 47) na detecção de bactérias nitrificantes.

Tabela 46: Períodos de estudo nas lagoas piloto na etapa de campo.

Período	Lagoa 1	Lagoa 2
14/07/2003 – 02/12/2003 (141 dias)	TRH 20 dias – LF1	TDH 20 dias – LF2
03/12/2003 – 20/01/2004 (42 dias)	TRH 10 dias – LF1	TDH 10 dias – LF2
26/01/2004	Introdução de suportes de PVC (relação duas vezes a área superficial da lagoa). TRH 10 dias - LB	TDH 10 dias – LF
26/01/2004 – 28/06/2004 (154 dias)	TRH 10 dias – LB	TDH 10 dias – LF
28/06/2004 – 25/10/2004 (58 dias)	TRH 20 dias – LB	TDH 20 dias – LF
25/10/2004 – 20/12/2004 (56 dias)	TRH 10 dias - LB	TDH 10 dias - LF

Convenções: LF1 = lagoa 1 operando como facultativa; LF2 = lagoa 2 operando como facultativa; LB = lagoa 1 após a introdução dos suportes de PVC = lagoa com biofilme; LF = lagoa 2 após a introdução dos suportes de PVC na lagoa 1 = lagoa facultativa convencional.

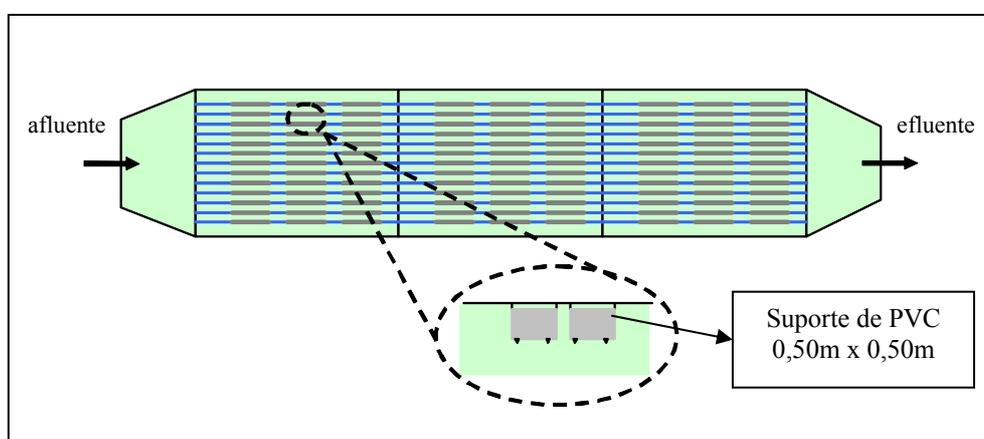


Figura 45: Representação da disposição dos suportes de PVC na lagoa (LB).

Nas lagoas de campo, mediu-se a transparência da água através da leitura do Disco de *Secchi* – DC (Esteves, 1998), próximo à saída do efluente das lagoas. A profundidade de desaparecimento do DS corresponde à transparência do líquido a qual é inversamente proporcional à quantidade de compostos orgânicos e inorgânicos no caminho óptico. A profundidade do DS pode ser utilizada na avaliação da extensão da zona eufótica, para tanto, multiplica-se o valor da transparência pelo fator 2,7. O valor é admitido como correspondente a 1% da radiação da superfície (Esteves, 1998).

Tabela 47: Procedência das amostras fixadas para análises de FISH

DATA	PROCEDÊNCIA
20/01/2004	Efluente LF ₁ Efluente LF ₂
01/02/2004	Biofilme com 6 dias Efluente LB Efluente LF
29/03/2004	Biofilme com 34 dias Efluente LB Efluente LF
27/04/2004	Biofilme com 64 dias Efluente LB Efluente LF
17/05/2004	Biofilme com 84 dias Efluente LB Efluente LF

Algumas medições referentes às condições climáticas foram efetuadas e outras obtidas, conforme descrito a seguir:

- **Intensidade da luz visível** - A intensidade de luz visível foi medida em termos de lux durante as coletas (9:00h da manhã) com um luxímetro digital, da INSTRUTHERN[®], modelo LD-209, com uma precisão relativa de $\pm 5\%$. Os resultados foram expressos em cal/m².d (1lux = 1,3cal/m².d);
- **Temperatura do ar** – Um termômetro de mercúrio (sensibilidade 0,1°C) foi fixado próximo ao experimento;
- **Insolação** – a duração das horas de luz solar diária foi obtida junto à estação de meteorologia de São José (Latitude 27°35'S, Longitude 48°34'O e altitude 2m - Epagri/INMET);

- ***Precipitação e Evaporação*** – os dados de precipitação e evaporação diários também foram obtidos junto à estação de meteorologia de São José (Latitude 27°35'S, Longitude 48°34'O e altitude 2m - Epagri/INMET). Para ambos os parâmetros, os valores correspondem a média de três leituras diárias, as 9:00h, 15:00h e 21:00h;

Baseando-se nos dados da precipitação e evaporação, foi calculado o balanço hídrico nas lagoas com intuito de verificar a influência do regime hidrológico sob o tratamento de esgotos nas unidades estudadas. O balanço hídrico resulta das diferenças entre o volume de água precipitado e o volume de água evaporado diariamente nas lagoas.

Perfil diário e perfil longitudinal da qualidade do esgoto nas lagoas

A variação diária das características físico-químicas e biológicas dos efluentes nas lagoas foi analisada em três datas, 11/08/2004, 18/08/2004 e 08/09/2004 no período das 8:00h as 18:00h. O monitoramento dos efluentes ocorreu a cada hora, exceto no 1º dia, quando alguns parâmetros foram mensurados a cada 30'. Analisou-se a temperatura do ar, da massa líquida na lagoa, o OD, pH, DS, a DQOt, DQOs, as frações de nitrogênio inorgânico, o fosfato, a turbidez e a intensidade de luz solar visível. As metodologias utilizadas seguem os mesmos critérios das etapas experimentais anteriores citadas.

No dia 30/08/2004 realizou-se um perfil longitudinal das lagoas (LF e LB), com coletas e análises da massa líquida superficial e do biofilme (exceto ponto 5) nos seguintes locais:

Ponto 1: distando 1,8m do início das lagoas;

Ponto 2: distando 3,6m do início das lagoas;

Ponto 3: distando 5,4m do início das lagoas;

Ponto 4: distando 7,2m do início das lagoas;

Ponto 5: efluente das lagoas.

As determinações efetuadas no perfil longitudinal da massa líquida das lagoas foram as mesmas citadas anteriormente para o perfil diário do efluente, com adição dos SS e da clorofila *a*. O biofilme dos pontos 1, 2, 3 e 4 foi extraído (uma placa de PVC para cada ponto de amostragem) e determinado o PS, PSV, PSF e a clorofila *a*.

Os resultados obtidos nos perfis foram submetidos ao tratamento estatístico para a verificação de diferenças significativas entre as características dos efluentes ao longo do dia na mesma lagoa, a comparação dos tratamentos nas duas lagoas, a verificação das diferenças das características da massa líquida ao longo das lagoas.

Na avaliação dos resultados de campo, além das análises descritiva e inferencial, obteve-se, adicionalmente, a análise de correlação multivariada com o software STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., 2001). Este tipo de análise permite a correlação simultânea de várias variáveis entre si. Esta ferramenta estatística foi utilizada para verificação das influências de um parâmetro sobre os demais. Consideraram-se dois parâmetros fortemente correlacionados quando o coeficiente de correlação (r) foi maior ou igual a 0,5 (correlação positiva, relação diretamente proporcional entre as variáveis) ou menor ou igual que -0,5 (correlação negativa, relação inversa entre as variáveis).

6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parâmetros físico-químicos e de colimetria – análise descritiva e teste ANOVA

As variáveis físico-químicas expressas pelo número de amostragens (n), a média, o desvio padrão (DP) e os valores mínimos e máximos para o afluente aos módulos (Lagoa anaeróbia - LA), estão descritas nas Tabela 48.

As concentrações de DQOt e DBOt foram similares às observadas no afluente as unidades estudadas durante as etapas de laboratório. A lagoa anaeróbia foi eficiente no tratamento primário dos esgotos, apresentando reduções médias de 40% para a DQOt e cerca de 55% para a DBO₅, considerando as médias obtidas por Bento *et al.* (2002) para o esgoto bruto afluente a lagoa anaeróbia. Bento *et al.* (2002) estudando esse sistema de tratamento (ETE continental de Florianópolis) nos anos de 1999, 2000 e 2001, verificaram reduções similares de DQOt e maior eficiência na eliminação da DBO₅ na lagoa anaeróbia, cerca de 65%. No entanto, a qualidade do efluente da lagoa anaeróbia, afluente as lagoas pilotos, assemelha-se às diversas faixas de concentrações citadas em literatura (Von Sperling, 1996; Galvão e Magalhães, 1999). Variações expressivas foram observadas na concentração de nutrientes na LA, com concentrações de N-NH₄⁺ variando de 19mg/L a 64mg/L e de P-PO₄³⁻ de 0,4mg/L a 16,8mg/L

Tabela 48: Caracterização do efluente da LA durante todo o período (14/07/2003 a 20/12/2004).

Parâmetros	n	Média	DP	mínimo	máximo
Temperatura amostra (°C)	56	22,7	3,5	16,5	29,2
pH	69	7,7	0,4	6,1	8,4
Alcalinidade total (mg/L)	69	271,2	71,6	101,0	470,0
DQOt (mg/L)	70	268,3	69,3	143,0	435,5
DBOt (mg/L)	43	144,6	43,7	75,0	224,0
N kjeldah (mg/L)	13	37,1	5,8	28,6	46,3
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	70	35,4	10,0	19,3	64,5
N orgânico (mg/L)	13	7,7	3,8	1,9	14,6
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L) dissolvido	69	5,7	4,1	0,4	16,8
ST (mg/L)	70	2430	1163	676	6990
STF (mg/L)	70	1746	884	370	4364
STV (mg/L)	70	662	804	147	5656
SS (mg/L)	70	85	45	30	228
Coliformes Totais (NMP/100mL)	31	1,10E+07	7,42E+06	2,61E+06	2,40E+07
<i>Escherichia coli</i> (NMP/100mL)	31	2,72E+06	2,98E+06	1,00E+05	1,30E+07

A análise descritiva dos resultados verificados na LF e LB operando com TRH de 20 dias está demonstrada na Tabela 49. A transparência de *Secchi* média foi similar nas duas lagoas, aproximadamente 14,5cm, conferindo uma zona eufótica média de 40cm de profundidade da lagoa, cerca de 1/3 da profundidade total. Nessa zona predominam os processos aeróbios de fotossíntese e oxidação aeróbia da matéria orgânica carbonácea afluyente durante o dia.

Pelos dados descritivos não se observa diferenciação acentuada na qualidade do efluente nas duas lagoas, exceto para a concentração de OD que foi maior na LF (média de 10,2mgOD/L) em relação à LB (média de 3mg/L); de N-NH₄⁺ (LB média de 21mg/L e na LF média de 15mg/L) e para os SS (média de 93mg/L na LF e 67mg/L na LB). A elevada performance das lagoas é evidenciada nas concentrações efluentes de DBOs, 27,9mg/L na LB e 34,5mg/L na LF (Tabela 49).

Quando as lagoas operaram com TRH de 10 dias (Tabela 50), o efluente produzido na LB apresentou melhor qualidade que o efluente produzido na LF, conforme demonstrado pela análise descritiva dos resultados. As diferenças observadas referem-se as concentrações de DBOs, SS e *E. Coli*, as quais foram inferiores na lagoa contendo biofilme (LB).

Tabela 49: Medidas climatológicas e resultados obtidos durante o tratamento de esgoto na LF e na LB em TRH de 20 dias.

DADOS OPERACIONAIS E AMBIENTAIS EM TRH 20d				
Parâmetros	Lagoa Facultativa – LF e Lagoa com Biofilme - LB			
	28/06 – 25/10/2004			
	n	Média ± desvio padrão (mínimo-máximo)		
carga gN-NH ₄ ⁺ /m ³ .d	18	2,3 ± 0,4 (1,4-2,8)		
carga gN- NH ₄ ⁺ /m ² .d	18	2,6 ± 0,5 (1,7-3,2)		
carga gDQO/ m ³ .d	18	11,5 ± 1,7 (7,5-15,6)		
carga gDQO/ m ² .d	18	13,4 ± 2,0 (8,8-18,1)		
Temperatura do ar (°C) as 9:00h	18	19,0 ± 3,4 (11-23)		
Intensidade de luz (cal/m ² .h) as 9:00h	17	49628 ± 42400 (2899-139100)		
PARÂMETROS AVALIADOS NOS EFLUENTES DAS LAGOAS EM TRH 20d				
Parâmetros	n	LF	n	LB
		Média ± desvio padrão (mínimo-máximo)		Média ± desvio padrão (mínimo-máximo)
Temperatura da amostra (°C) as 9:00h	16	21,7 ± 4,6 (14,5-34,7)	16	19,2 ± 2,5 (14,6-23,1)
OD (mg/L) as 9:00	16	10,2 ± 17,9 (0,2-24,0)	16	3,0 ± 2,9 (0,1-9,0)
pH as 9:00h	18	8,8 ± 0,6 (7,7-9,9)	18	8,3 ± 0,4 (7,8-9,1)
Disco de <i>Secchi</i> (cm) as 9:00h	18	14,7 ± 9,0 (5,0-41)	18	14,4 ± 7,1 (5,0-28)
Alcalinidade total (mg/L)	18	242,0 ± 36,6 (140-310)	18	258,3 ± 59,2 (181-356)
DQOt (mg/L)	18	202,6 ± 68,4 (76,5-360)	18	163,6 ± 56 (92,5-318)
DQOs (mg/L)	18	89,4 ± 43,8 (16,1-204)	18	69,6 ± 22,8 (14-108)
DBOt (mg/L)	7	64,3 ± 37,4 (58-131)	7	78,6 ± 17,9 (54-98)
DBOs (mg/L)	16	27,9 ± 16,7 (15-80)	16	34,5 ± 13,2 (20-62)
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	18	14,8 ± 8,8 (2,2-34,4)	18	21,1 ± 9,7 (4,4-33,5)
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	18	1,3 ± 3,1 (0,0-14,5)	18	1,9 ± 2,8 (0,0-9,4)
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	18	0,3 ± 0,62 (0,0-2,2)	18	0,3 ± 0,4 (0,0-1,3)
Noxidado (mg/L)	18	1,7 ± 3,5 (0,0-15,7)	18	2,2 ± 3,0 (0,0-10,6)
P-PO ₄ ³⁻ dissolvido reativo (mg/L)	18	2,7 ± 2,1 (0,0-9,7)	18	3,3 ± 1,9 (1,4-9,5)
SS (mg/L)	18	93 ± 49 (17-200)	18	67 ± 31 (16-132)
Turbidez (NTU)	18	158 ± 102 (12-379)	18	140 ± 106 (24-291)
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	15	0,4297 ± 0,3929 (0,012-1,384)	15	0,4821 ± 0,4862 (0,015-1,399)
Coliformes Totais (NMP/100mL)	4	1,17E+05 ± 1,88E+05 (2,40E+03-7,30E+05)	4	6,58E+05 ± 5,57E+05 (2,20E+05-1,40E+06)
<i>Escherichia coli</i> (NMP/100mL)	4	2,62E+04 ± 5,24E+04 (1,00E+02 ± 1,99E+05)	4	8,66E+04 ± 1,12E+05 (3,10E+03-2,40E+05)

Tabela 50: Medidas climatológicas e resultados obtidos durante o tratamento de esgoto na LF e na LB em TRH de 10 dias.

DADOS OPERACIONAIS E AMBIENTAIS EM TRH 10d				
Parâmetros	Lagoa Facultativa – LF e Lagoa com Biofilme – LB 26/01 – 28/06/2004 e 25/10 – 20/12/2004			
	n	Média ± desvio padrão (mínimo-máximo)		
carga gN-NH ₄ ⁺ /m ³ .d	28	3,8 ± 1,1 (1,9-6,5)		
carga gN- NH ₄ ⁺ /m ² .d	28	4,4 ± 1,3 (2,3-7,5)		
carga gDQO/ m ³ .d	29	21,8 ± 9,9 (14-44)		
carga gDQO/ m ² .d (Ls)	29	25,5 ± 11,6 (16-51)		
Temperatura do ar (°C) as 9:00h	29	23,6 ± 3,6 (14-30)		
Intensidade de luz (cal/m ² .h) as 9:00h	29	64907 ± 31000 (2626-117000)		
PARÂMETROS AVALIADOS NOS EFLUENTES DAS LAGOAS EM TRH 10d				
Parâmetros	n	LF	n	LB
		Média ± desvio padrão (mínimo-máximo)		Média ± desvio padrão (mínimo-máximo)
Temperatura da amostra (°C) as 9:00h	27	23,9 ± 3,8 (15,2-30,6)	27	23,1 ± 3,4 (15,1-28,1)
OD (mg/L) as 9:00h	28	5,9 ± 17,5 (0,1-20,2)	28	2,3 ± 3,9 (0,1-14,1)
pH as 9:00h	29	8,3 ± 0,5 (7,5-9,8)	29	8,2 ± 0,4 (7,4-9,0)
Disco de <i>Secchi</i> (cm) as 9:00h	28	9,4 ± 3,0 (5-18)	28	9,9 ± 3,9 (5-17)
Alcalinidade total (mg/L)	29	185,1 ± 56,6 (97-345)	29	188,4 ± 52,9 (95-357)
DQOt (mg/L)	29	228,7 ± 74,7 (138-449)	29	206,9 ± 62,5 (119-342)
DQOs (mg/L)	29	90,8 ± 44,2 (30,2-207)	29	85,7 ± 45,8 (37-199)
DBOt (mg/L)	6	147,4 ± 42,8 (81-226)	6	130 ± 12,5 (101-148)
DBOs (mg/L)	29	60,5 ± 37,2 (15-150)	29	45,8 ± 34,4 (10-118)
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	29	19,9 ± 9,1 (1,0-35,4)	29	20,3 ± 9,4 (3,6-38,5)
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	29	0,8 ± 0,9 (0,0-4,4)	29	1,1 ± 1,6 (0,2-6,7)
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	29	0,2 ± 0,5 (0,0-2,3)	29	0,3 ± 0,8 (0,0-4,1)
Noxidado (mg/L)	29	1,0 ± 1,1 (0,0-5,0)	29	1,4 ± 2,4 (0,3-10,8)
P-PO ₄ ³⁻ dissolvido reativo (mg/L)	29	1,9 ± 1,4 (0,5-5,9)	29	2,4 ± 1,7 (0,3-6,9)
SS (mg/L)	7	107 ± 45 (40-232)	7	88 ± 41 (44-222)
Turbidez (NTU)	7	189 ± 100 (49-454)	7	209 ± 124 (50-463)
Clorofila <i>a</i> (mg/L)	28	0,7244 ± 0,6 (0,01-2,52)	28	1,0529 ± 2,5010 (0,0-13,5)
Coliformes Totais (NMP/100mL)	10	2,57E+05 ± 3,47E+05 (2,30E+03±1,20E+06)	10	5,49E+05 ± 8,16E+05 (2,40E+05±2,40E+06)
<i>Escherichia coli</i> (NMP/100mL)	10	1,12E+05 ± 2,16E+05 (1,00E+03±6,90E+05)	10	6,66E+04 ± 8,21E+04 (1,00E+03±2,40E+05)

O comportamento da DQO nas unidades de tratamento (Figura 46) ao longo do período de estudo mostra que os efluentes da LF e da LB apresentaram concentrações similares entre si em todas as condições operacionais e climáticas. Maiores diferenças entre a DQO afluente e efluente ocorreram em TRH de 20 dias. A menor temperatura atmosférica registrada no período (13°C) coincide com a maior concentração de DQO afluente. Não se verifica, pelo gráfico (Figura 46) uma relação entre a temperatura do ar (às 9:00h) e a concentração de DQO nos efluentes das lagoas secundárias. Independentemente do TRH e da temperatura do ar, a DQOs nas lagoas secundárias foi inferior a 100mg/L a partir de março/2004 até o final do experimento.

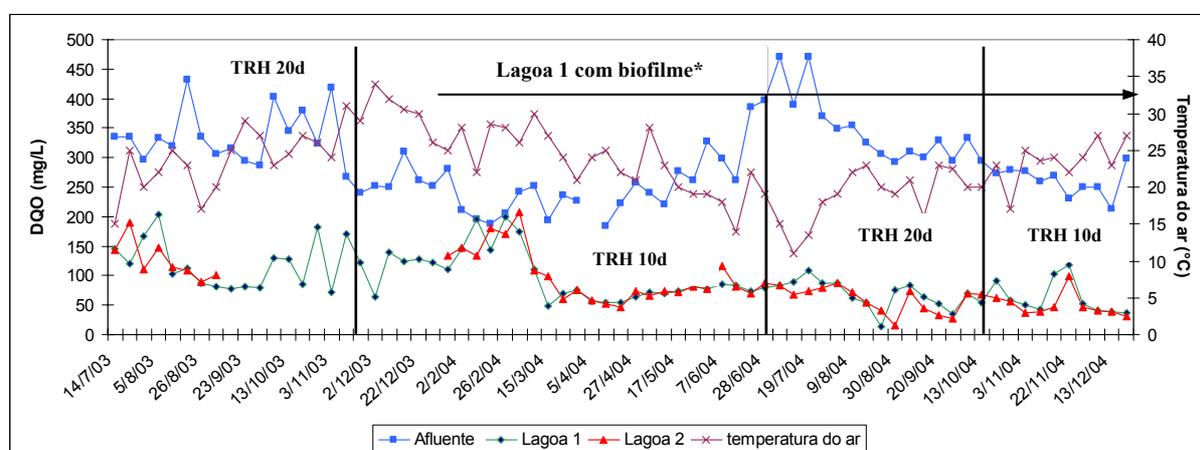


Figura 46: Comportamento da DQO afluente e efluente as lagoas e temperatura do ar observada no período de 17 meses de estudo sob diferentes condições operacionais.

* no dia 26/01/2004 foram colocados os suportes de PVC na lagoa 1 (LB). Antes desse período, essa unidade foi operada com lagoa facultativa convencional.

Na Figura 47, verificam-se as concentrações de DBO₅ solúvel efluente das lagoas ao longo do ano de 2004. Na LF, verificou-se o aumento da concentração da DBOs com a redução da temperatura atmosférica em TRH de 10d (fevereiro a junho). A LB foi capaz de manter mais estável a qualidade do efluente em termos de DBO₅ solúvel quando maiores cargas foram aplicadas (TRH de 10d), sugerindo que uma maior densidade de microrganismos ativos na lagoa (biofilme + plâncton) foi obtida, acelerando o processo de biodegradação dos compostos orgânicos afluentes e tornando o sistema mais estável em caso de variações nas cargas aplicadas.

Em TRH de 20 dias, os comportamentos das concentrações de DBOs efluente nas lagoas foram similares (Figuras 47 e 48).

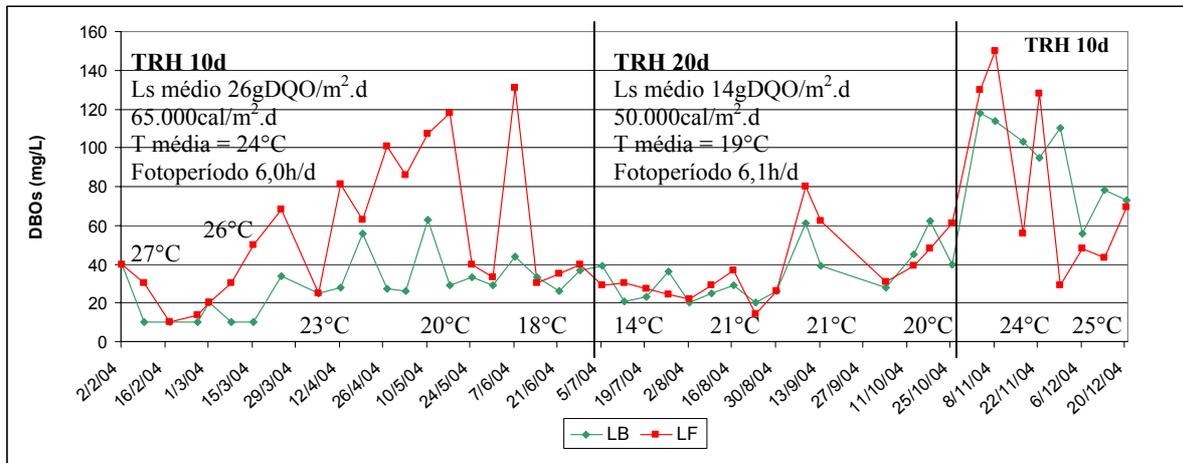


Figura 47: Comportamento da DBO₅ sólúvel no efluente da LB e na LF no ano de 2004

A distribuição dos resultados da DBOs nas lagoas durante os dois TRHs aplicados está demonstrada na Figura 48, onde se evidencia a melhor qualidade do efluente da LB em TRH de 10 dias comparada às demais condições. Além da maior eficiência de remoção de DBOs, a LB apresentou menor variação de DBOs, em relação à LF, quando as lagoas operaram em TRH de 10 dias. Este resultado indicaria que a lagoa com biofilme pode ser operada em TRH menores, ou seja, com cargas mais elevadas de DBO₅, que a Lagoa Facultativa convencional, com uma eficiência comparável ou até mesmo melhor que esta última. A partir deste resultado pode-se sugerir que os parâmetros de projeto aplicados para a LF mudariam pela introdução de material suporte nas mesmas, isto é, cargas mais elevadas de DBOs poderiam ser aplicadas, em conseqüência áreas menores seriam necessárias para a instalação destas lagoas

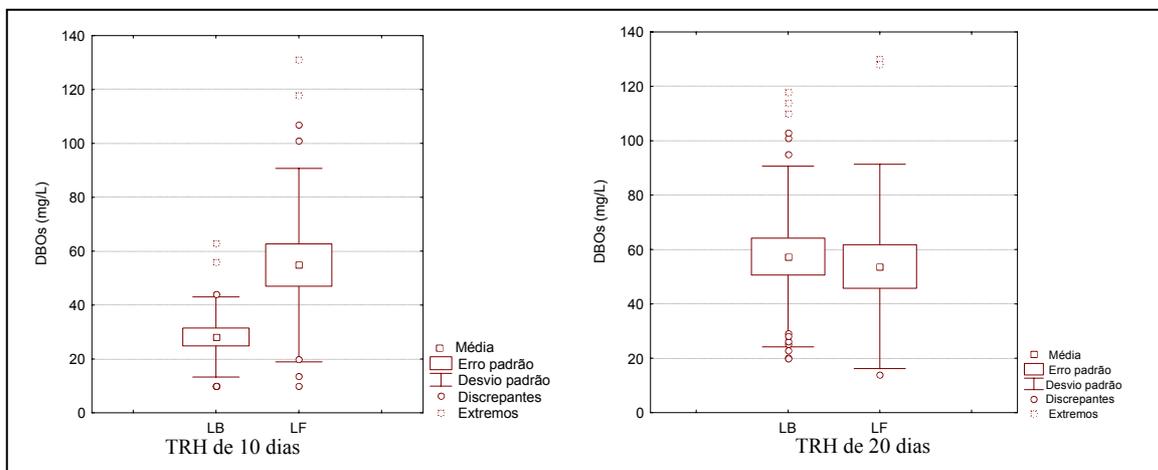


Figura 48: Concentrações de DBOs efluente na LB e LF durante TRH de 10 e 20 dias.

A concentração de $N-NH_4^+$ no efluente das lagoas apresentou maiores concentrações no período de dezembro/2003 a setembro/2004 quando as concentrações de OD foram menores, independentemente do TRH aplicado (Figura 49). A nitrificação, avaliada pelas concentrações de nitrogênio oxidado (Nox) e de $N-NH_4^+$ no efluente das lagoas não ocorreu de forma relevante nas lagoas na maioria do período, no entanto a partir do final de setembro de 2004 até dezembro/2004, foram observadas concentrações de Nox de até 16mg/L na LF e até 11mg/L na LB (Figura 50) e reduções de amônio. Ressalta-se que a maior fração de Nox foi composta por $N-NO_2^-$.

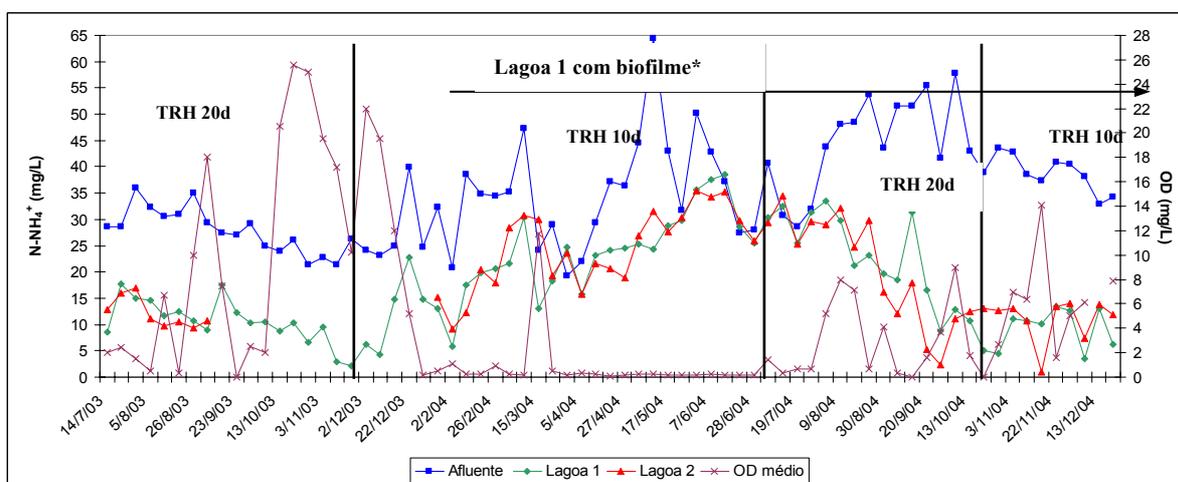


Figura 49: Comportamento do $N-NH_4^+$ afluente e efluente as lagoas e OD médio nas lagoas no período de 17 meses de estudo.

* no dia 26/01/2004 foram colocados os suportes de PVC na lagoa 1 (LB). Antes desse período, essa unidade foi operada com lagoa facultativa convencional.

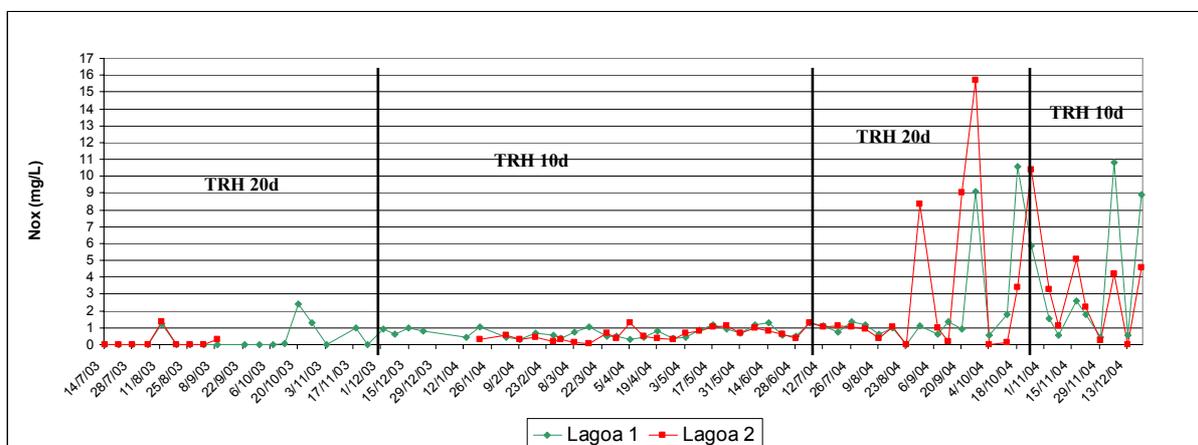


Figura 50: Comportamento do nitrogênio oxidado nos efluentes das lagoas durante o estudo.

As concentrações de amônia (NH_3) volatilizada nas lagoas de campo em diferentes condições operacionais foram estimadas com base nas proposições de Stratton (1969), Clement e Merlin (1995) e Schnnor (1996). Os resultados obtidos foram similares nas unidades exceto na LF quando em TRH de 20 dias (Tabela 51). Nesta fase, verificaram-se os maiores valores de pH de todo o experimento (9,9) e temperaturas na massa líquida de até 35°C (as 9:00h). Para ambas as condições operacionais, na LF ocorreram melhores condições para a volatilização da amônia em detrimento da LB.

Tabela 51: Cálculo da concentração de amônia perdida por volatilização nas unidades estudadas durante as diferentes condições operacionais.

Lagoa	$[\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3]$ afluente (mg/L)	$[\text{NH}_3]$ estimada na lagoa			$[\text{NH}_3]$ volatilizada estimado		
		mg/L ⁽¹⁾	%	Amplitude ⁽²⁾ (mg/L)	mg/L.d	% ⁽³⁾	amplitude (mg/L.d)
LF TRH 20d	35,3 ± 11,3	8,0±2,5	22	0,3 – 74,1	0,61	27	0,01 – 12,9
LB TRH 20d		3,1±0,8	6,8	0,4 – 31,8	0,14	8	0,01 – 2,3
LF TRH 10d		4,3±1,1	9,5	0,2 – 69,5	0,35	10	0,01 – 6,45
LB TRH 10		3,3±0,8	7,3	0,2 – 34,2	0,24	7	0,01 – 4,8

(1) Valor calculado a partir da concentração afluente média de $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$, pH médio e temperatura média da massa líquida.

(2) Variação calculada a partir dos valores extremos (máximos e mínimos) da concentração afluente de $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$, pH e temperatura da massa líquida.

(3) Cálculo baseado na remoção de carga aplicada afluente ($\text{mgN-NH}_4^+/\text{L.d}$) por volatilização

OBS: Todas as medidas utilizadas como base para o cálculo da amônia volatilizada foram mensuradas as 9:00h.

Considerando que as medidas de pH e temperatura do líquido efetuadas as 9:00h são inferiores as detectadas no decorrer do dia, a volatilização, em determinadas épocas do ano, quando o pH das lagoas se mantem entre 9 e 10 e as temperaturas superiores a 35°C na maior parte do dia, pode constituir no principal mecanismo de remoção de amônia da fase líquida, tal qual sugerem Pano e Middlebrooks (1982).

Na Tabela 52 apresentam-se as estimativas da remoção de N-NH_4^+ por diferentes mecanismos e a remoção calculada pelas diferenças nas concentrações média afluente e efluente às lagoas durante os diferentes TRHs aplicados. Verifica-se que a remoção estimada aproximou-se da calculada, principalmente quando o TRH foi de 10 dias.

A redução média de amônia observada nas lagoas foi superior a redução estimada, indicando que houve uma subestimação das proporções dos mecanismos atuantes nesse processo (Tabela 52). Picot *et al.* (2004) sugeriram a ocorrência de nitrificação/desnitrificação para explicar a remoção adicional de amônia em lagoas de maturação na França durante o verão. No presente estudo, as maiores diferenças entre a remoção calculada e a estimada aconteceram em maiores TRH (20 dias), com menores cargas aplicadas e menores temperaturas.

Tabela 52: Estimativa da remoção média de N-NH₄⁺ afluente nas lagoas por diferentes mecanismos e comparação da estimativa da remoção total com a remoção média verificada pelas análises físico-químicas.

Remoção média do N-NH ₄ ⁺ afluente (%)						
Tratamento	Volatilização	Nitrificação	Sedimentação ⁽¹⁾	Assimilação fitoplânctonica ⁽²⁾	Remoção total estimada	Remoção observada
LF TRH 20d	27	5	0,4	12	45	58
LB TRH 20d	8	4	0,4	13	25	40
LF TRH 10d	10	6	0,2	20	36	44
LB TRH 10d	7	4	0,2	28	39	43

(1) Considerando: a) taxa de acúmulo de lodo de 0,06m³/hab/ano (Arceivala, 1981 apud Von Sperling, 1996); b) contribuição de esgoto por pessoa = 160L/d ; c) 1L de lodo = 1kg de lodo.

(2) O peso seco algal corresponde a aproximadamente 1% da clorofila *a* e 10% do peso seco algal corresponde ao nitrogênio incorporado (Branco, 1986; APHA, 1995; Esteves, 1998).

A assimilação pelo fitoplâncton constituiu na principal forma de remoção de amônia nas lagoas durante todo o período, exceto na LF com TRH de 20 dias, onde a volatilização foi maior que a incorporação à biomassa.

De maneira geral, a concentração de fosfato nos efluentes das lagoas ao longo do período de estudo apresentou o mesmo comportamento da concentração de fosfato afluente, a qual variou expressivamente (0,4mg/L a 17mg/L) (Figura 51). Dessa forma, verifica-se relação diretamente proporcional entre as concentrações de P-PO₄³⁻ afluente e efluente as lagoas. Não foi observada relação direta entre a concentração de nutrientes nos efluentes após a introdução dos suportes de PVC na lagoa 1. No período de maio/2004 a outubro/2004 observaram-se as maiores concentrações de fosfato no afluente as unidades experimentais.

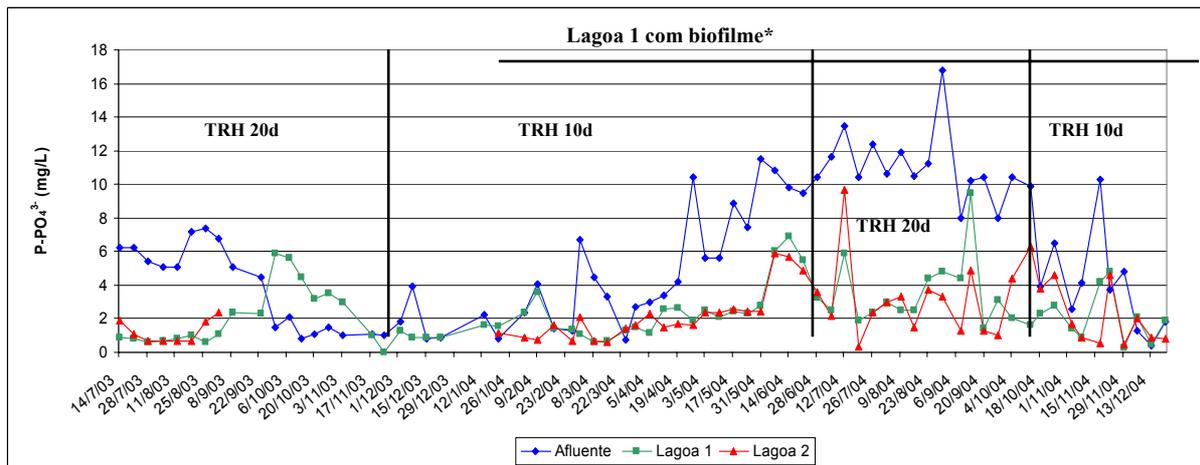


Figura 51: Comportamento do $P-PO_4^{3-}$ afluente e efluente as lagoas no período experimental sob diferentes condições operacionais.

* no dia 26/01/2004 foram colocados os suportes de PVC na lagoa 1 (LB). Antes desse período, essa unidade foi operada com lagoa facultativa convencional.

A densidade de *E. coli* nas unidades de tratamento durante o período de estudo está descrita na Figura 52. Percebe-se uma mesma tendência no comportamento das concentrações afluente e efluente, indicando uma remoção praticamente constante de 2 a 3 unidades logarítmicas nas lagoas secundárias. No TRH de 20 dias a densidade de *E. coli* nos efluentes foram inferiores às verificadas para TRH de 10 dias, comprovando o efeito de redução de bactérias termotolerantes quando expostas por maiores tempos nas lagoas.

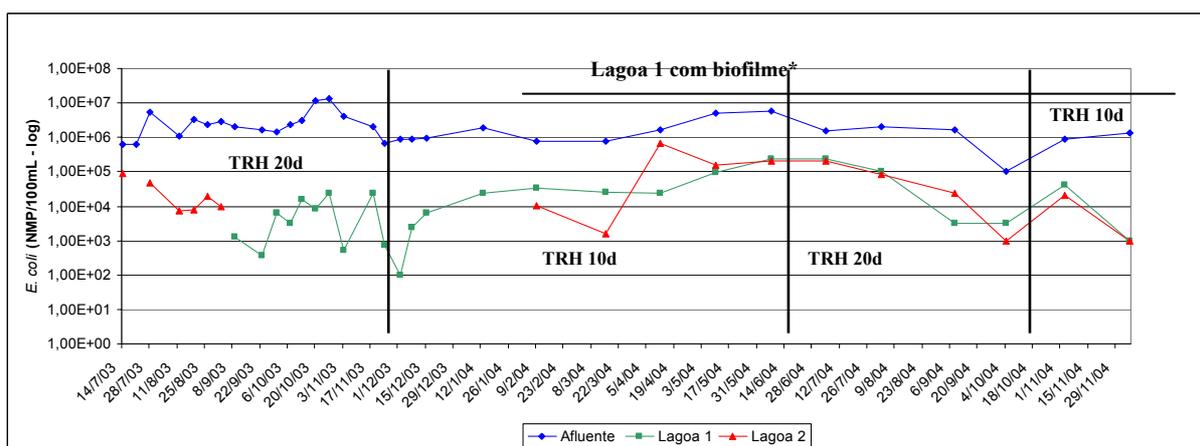


Figura 52: Densidade de *E. coli* no afluente e efluente das lagoas ao longo do período de estudo.

* no dia 26/01/2004 foram colocados os suportes de PVC na lagoa 1 (LB). Antes desse período, essa unidade foi operada com lagoa facultativa convencional.

Em relação aos SS verificou-se grande variabilidade nas concentrações em todas as unidades de tratamento. Na LB as concentrações dessa variável ao longo do período de estudo foram menores que as observadas na LF, especialmente após a introdução dos suportes para o desenvolvimento de biofilme (Figura 53). Este fato coincide com as observações feitas por Muttamara e Puetpaiboon, 1997; Rakkoed *et al.*, 1999; Craggs *et al.*, 2000; Sukias *et al.*, 2002, Zancan filho *et al.*, 2004). Na presença de suportes para a fixação, a biomassa planctônica compete pelo crescimento perifítico, reduzindo a densidade de microorganismos em suspensão.

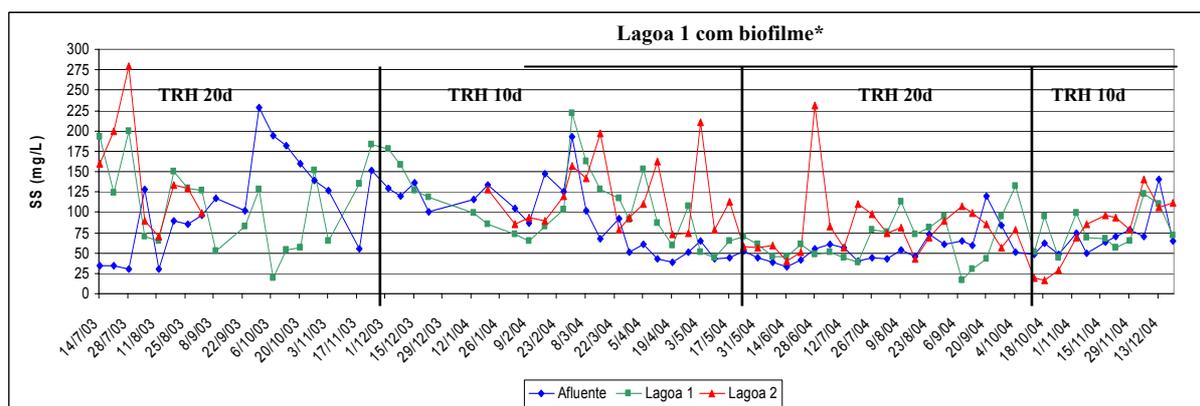


Figura 53: Concentrações de SS no afluente e efluente as lagoas ao longo do estudo.

* no dia 26/01/2004 foram colocados os suportes de PVC na lagoa 1 (LB). Antes desse período, essa unidade foi operada com lagoa facultativa convencional.

A maior fração dos SS nas lagoas foi promovida pela biomassa fitoplantônica, conforme evidenciado nas Figuras 53 e 54, considerando que a biomassa algal corresponde a cem vezes a concentração de clorofila *a*.

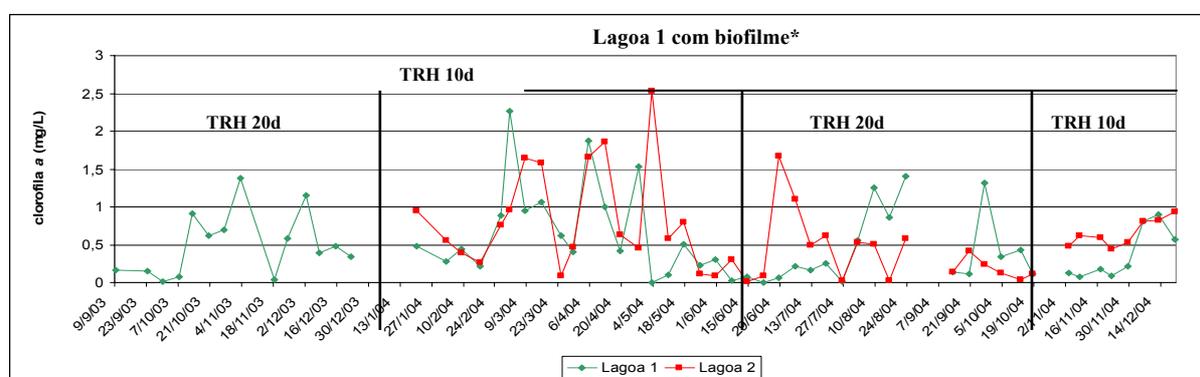


Figura 54: Concentrações de clorofila *a* nos efluentes das lagoas ao longo do estudo.

* no dia 26/01/2004 foram colocados os suportes de PVC na lagoa 1 (LB). Antes desse período, essa unidade foi operada com lagoa facultativa convencional.

Performance média das lagoas de campo – LB e LF

As remoções médias de DQO, DBO₅, N-NH₄⁺ e *E. coli* nas lagoas durante os dois períodos de operação encontram-se descritas na Figura 57. Os resultados nas duas lagoas foram similares. Em TRH de 10 dias, a LB foi mais eficiente na remoção de DBO₅, conforme anteriormente destacado. Com base nos resultados representados na Figura 55, poder-se-ia propor o estudo de TRH ainda menores para este tipo de experimento, a fim de verificar a diferença entre o comportamento de uma lagoa com biofilme e uma convencional, quando submetidas a cargas superiores às usualmente aplicadas as lagoas facultativas.

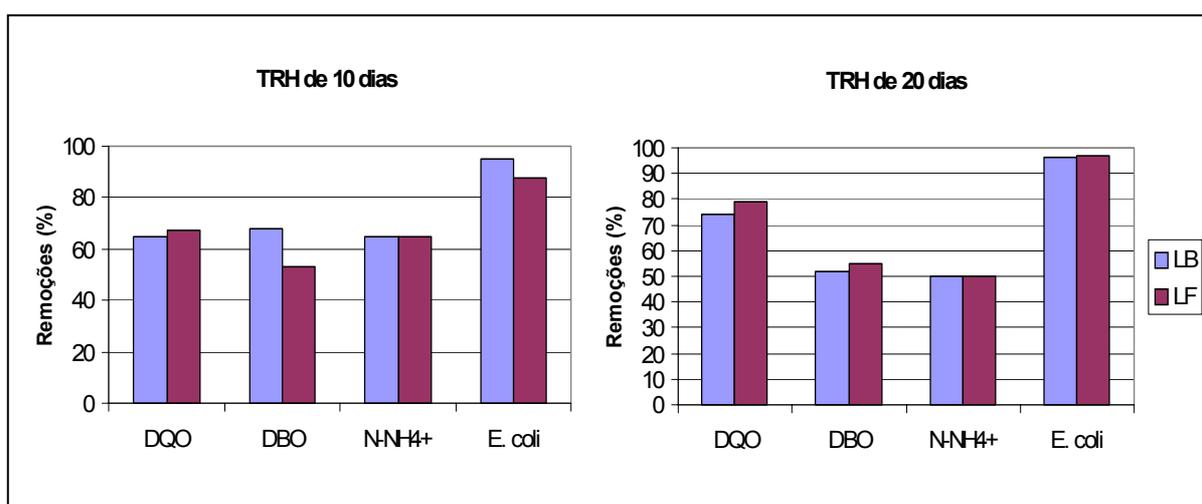


Figura 55: Remoções médias verificadas na LB e na LF.

Dados Climatológicos locais

A contribuição do regime hidrológico local no tratamento dos esgotos nas lagoas está demonstrada na Tabela 53. A maior interferência ocorreu em janeiro, mês com maior índice pluviométrico (365mm) ao longo do ano 2004 (Figura 56). No referido mês, a média da intensidade pluviométrica contribuiu para uma diluição do esgoto nas lagoas, proporcional a 3,3% da vazão afluente diária. A maior evaporação da água nas lagoas foi observada em julho e agosto, meses em que o volume de chuvas foi baixo (87mm e 89mm, respectivamente) (Tabela 53).

O regime hidrológico da região (Figuras 56 e 57) não influenciou significativamente no aumento ou redução do TRH das lagoas estudadas.

Tabela 53: Balanço hídrico nas lagoas, calculado a partir da diferença entre volume médio de água precipitado e a evaporação média diária mensal e da área e vazão das lagoas.

ANO DE 2004	CONTRIBUIÇÃO MÉDIA DIÁRIA DO REGIME HÍDRICO NAS LAGOAS*	
	MÉDIA DO GANHO (+) OU PERDA (-) DE ÁGUA DIARIAMENTE NAS LAGOAS (L/lagoa.dia)	Influência do regime hídrico na vazão diária das lagoas (% da vazão afluyente diária)
Janeiro	+ 117,0	+ 3,3
Fevereiro	+ 38,4	+ 1,1
Março	+ 3,8	+ 0,1
Abril	+ 17,3	+ 0,5
Maio	+ 63,0	+ 1,8
Junho	+ 8,8	+ 0,3
Julho	- 3,3	- 0,2
Agosto	- 29,8	- 1,7
Setembro	+ 18,9	+ 1,1
Outubro	+ 8,0	+ 0,5
Novembro	- 15,3	- 0,9

* Calculado a partir das entradas (chuva) e saídas (evaporação) de água na área das lagoas.

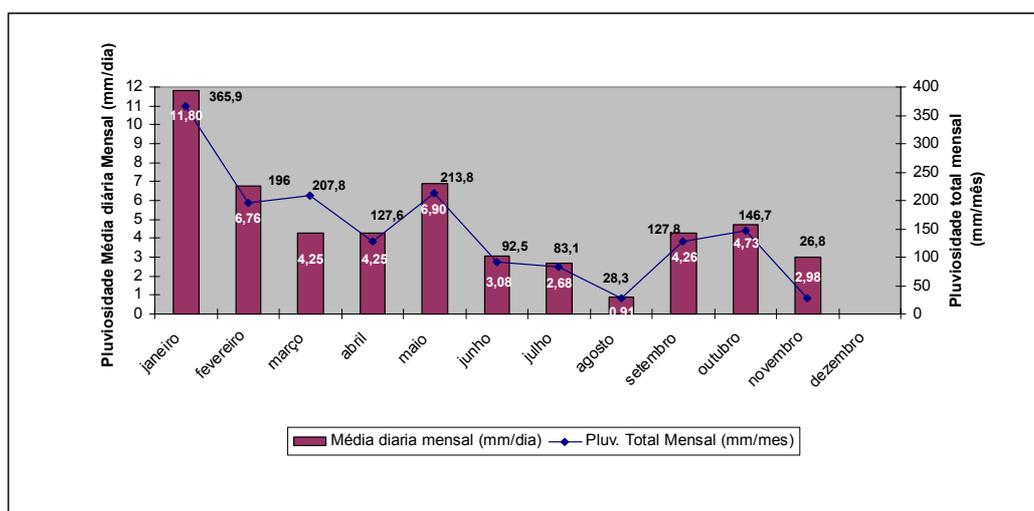


Figura 56: Dados pluviométricos observados no ano de 2004 na região do estudo (dados da Epagri/INMET).

A insolação média foi maior nos meses de fevereiro (7,7horas/dia) seguido por agosto e novembro (6,5horas/dia) e Março (6,3horas/dia), com média anual de 5,8 horas de sol /dia e intensidade média de 71.500cal/m².d as 9:00h (Figura 58). Segundo Esteves (1998), de 2% a 100% da radiação incidente num corpo d'água pode ser refletida dependentemente das condições da superfície da água (plana ou ondulada) e, principalmente, do ângulo de

incidência da radiação sobre esta. Por exemplo, quando o ângulo de incidência é 0° apenas 2% da radiação é refletida.

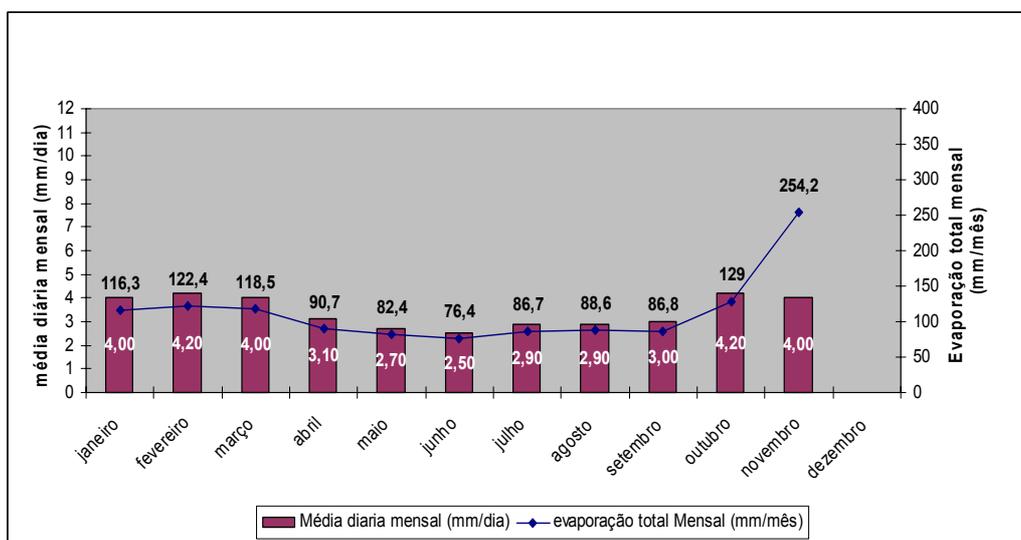


Figura 57: Evaporação média diária e evaporação total mensal em 2004 (dados da Epagri/INMET).

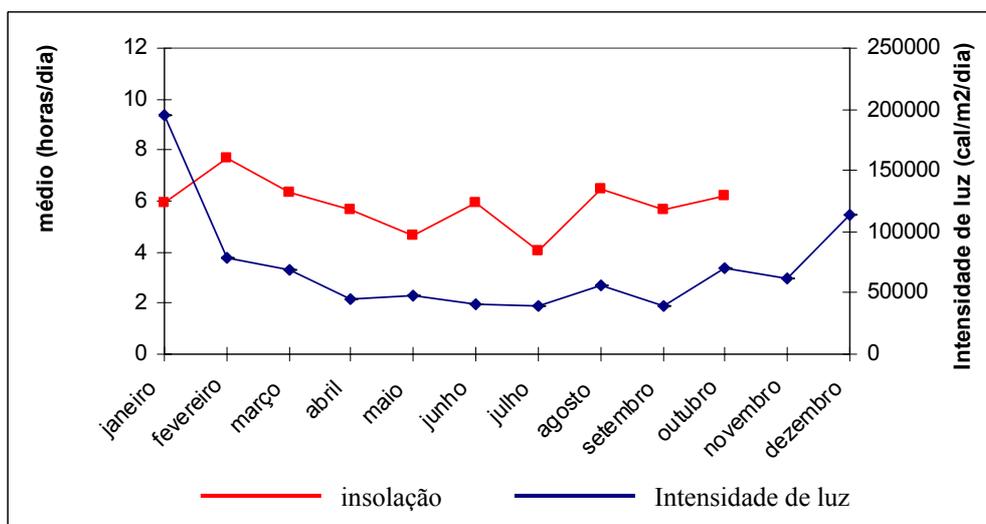


Figura 58: Insolação média diária (dados da Epagri/INMET) e intensidade de luz média as 9:00h.

A análise dos dados climatológicos obtidos no ano de 2004 permite afirmar que na região de Florianópolis as condições são convenientes ao tratamento biológico dos esgotos por sistemas de lagoas de estabilização, sendo o melhor período, de Outubro a Março. A temperatura atmosférica se manteve superior a 20°C em 75% do ano de 2004 (Figura 59), sendo que nos meses mais frios (maio, junho, julho e agosto), a média foi de 18,2°C.

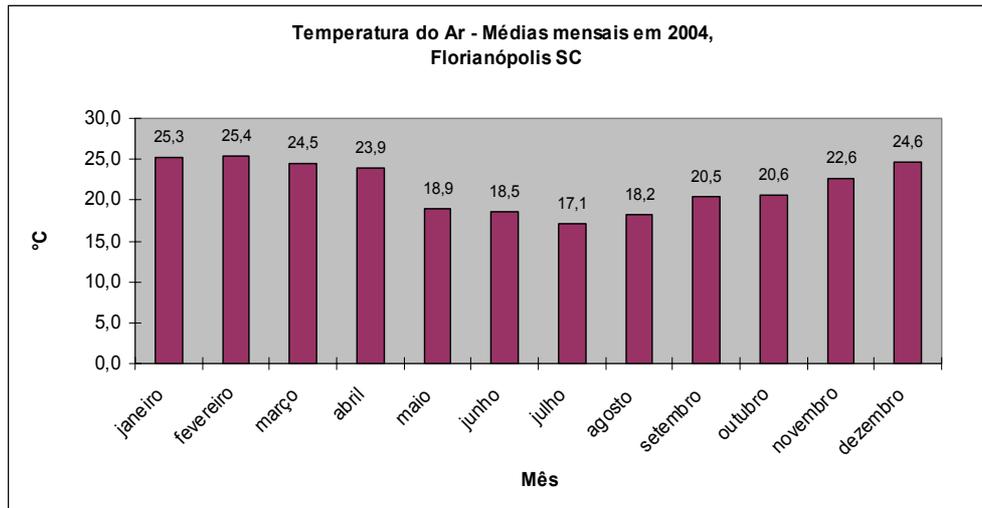


Figura 59: Médias mensais da temperatura do ar em 2004 (dados da Epagri/INMET).

O teste de variância ANOVA foi utilizado na comparação dos tratamentos obtidos na LB e na LF, em TRH de 10d e 20d, quando as lagoas operaram paralelamente, sujeitas às mesmas condições climáticas (26/01/2004 a 20/12/2004). Os resultados do teste, com nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), comprovaram a existência de diferença significativa estatisticamente entre os tratamentos na LB e na LF apenas para a DBOs quando as lagoas operaram em TRH de 10 dias ($p = 0,0036$). Quando o TRH foi de 20 dias não houve diferenças entre as características dos efluentes nas duas lagoas, reforçando o resultado de que cargas de DBO₅ maiores podem ser utilizadas nas lagoas de biofilme.

Massa do Biofilme

Após a introdução dos suportes de PVC na lagoa 1 (26/01/2004), denominada a partir daí de lagoa com biofilme – LB, a biomassa perifítica foi composta predominantemente por algas até o 125° dia (Figura 60). Com o maior tempo de contato dos suportes na lagoa, a biomassa heterotrófica foi predominante, constituindo mais de 70% do PS do biofilme. O crescimento microbiano nos suportes foi crescente até o 273° dia de exposição dos suportes na lagoa atingindo o máximo de 503gPS/m³ quando a lagoa operou com TRH de 20 dias. Percebeu-se uma relação inversa entre a biomassa suspensa e a biomassa aderida nos suportes, quando as cargas aplicadas na lagoa foram maiores, as concentrações de SS e clorofila *a* também foram maiores enquanto que o PS do biofilme foi menor.

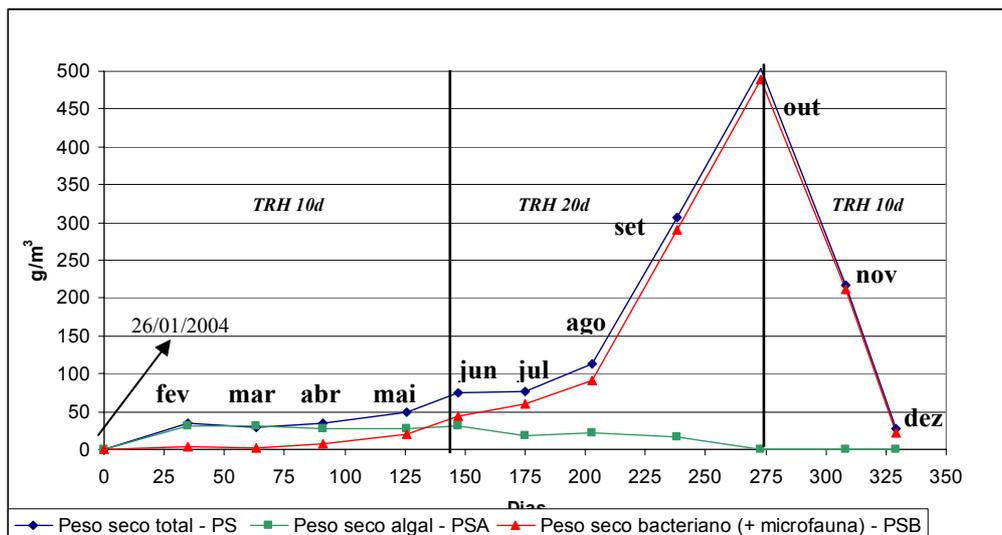


Figura 60: Quantificação e composição da biomassa perifítica na LB ao longo do estudo.

A biomassa perifítica não manteve um comportamento influenciado pelas condições climáticas, inclusive os maiores valores de massa perifítica ocorreram em períodos de menores temperaturas e insolação. Considerando que o crescimento disperso da biomassa nas lagoas facultativas atinge valores médios de 150mgSS/L, um incremento de 503mg/L de biomassa corresponde a um aumento de 75% da concentração de organismos no sistema de tratamento. Apesar deste fato, o período de maior concentração de biomassa no biofilme não corresponde ao período onde a lagoa com biofilme apresentou performance superior à performance da lagoa facultativa.

Durante a maior parte do experimento, incluindo um pequeno período com TRH de 10 dias e todo o período com TRH de 20 dias, o biofilme foi predominantemente heterotrófico.

Comunidade planctônica e comunidade perifítica nas lagoas

No início da colonização dos suportes de PVC observou-se, macroscopicamente, uma cobertura homogênea das placas por uma coloração esverdeada indicando a presença de algas. Após um período de funcionamento, ocorreu uma estratificação nas placas, onde uma área mais próxima à superfície da água era esverdeada e abaixo desta camada a biomassa apresentava aspecto de lodo com partes levemente rosadas, provavelmente compostas por sulfobactérias. Por último, os suportes foram recobertos por biomassa escura – lodo que apresentou resistência física, ou seja, ao retirar as placas da lagoa, a biomassa continuava aderida.

A frequência média da microbiota presente no plâncton e no perifiton das lagoas durante o período estudado pode ser verificada na Figura 61. Observa-se que no biofilme a frequência de organismos foi maior que em suspensão nas lagoas. Também, no biofilme houve presença constante de cianobactérias, diatomáceas e protozoários e em mais de 50% das amostras foram encontradas espécies de micrometazoários, clorofíceas e euglenofíceas. O biofilme manteve suas características biológicas por um tempo maior que o plâncton, modificando-se mais lentamente quando sujeito às variações ambientais. Os grupos mais frequentes no fitoplâncton das lagoas foram as euglenofíceas e as clorofíceas enquanto os menos frequentes foram as criptofíceas e os dinoflagelados, ambas representadas por espécies providas de flagelos.

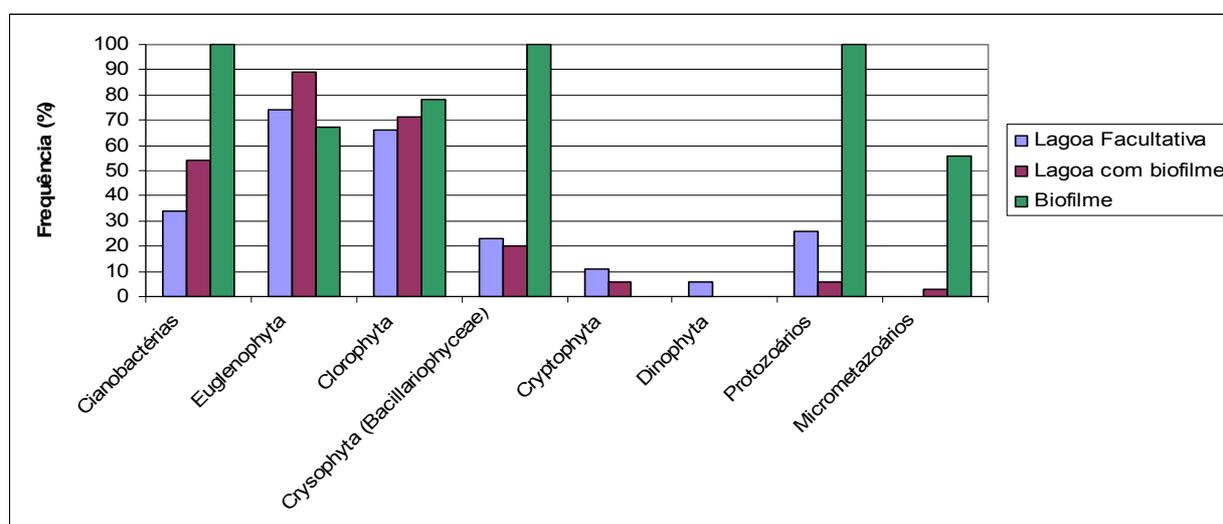


Figura 61: Frequência média dos microrganismos encontrados em suspensão nas lagoas e no biofilme da lagoa com suportes de PVC.

Os organismos mais frequentes no plâncton e no perifiton são mostrados na Tabela 54. Nas lagoas foram mais frequentes e também mais abundantes, durante todo o período, os fitoflagelados *Euglena* spp, *Phacus* spp (Figura 62) e *Chlamydomonas* spp, as quais possuem metabolismo heterotrófico alternativo, podendo subsistir em condições de elevada turbidez, baixo OD, etc (Esteves, 1998). A alga verde *Chlorella* spp também foi muito frequente na LF. Esta alga é comumente associada a lagoas de alta taxa e lagoas facultativas com alta taxa de aplicação superficial por apresentar elevada velocidade de crescimento (Canovas *et al.*, 1996).

Tabela 54: Gêneros com maiores freqüências na lagoa facultativa, na lagoa com biofilme e no biofilme.

Organismos	Lagoa Facultativa (LF)	Lagoa com biofilme (LB)	Biofilme
Cianobactérias			<i>Planktotrix</i> e <i>Ocellatoriales</i>
Euglenofíceas	<i>Euglena</i> e <i>Phacus</i>	<i>Euglena</i> e <i>Phacus</i>	
Clorofíceas	<i>Chlorella</i>	<i>Chlamydomonas</i>	
Diatomáceas			<i>Navicula</i>
Protozoários	ciliados	ciliados	Amebas nuas
Micrometazoários			rotíferos

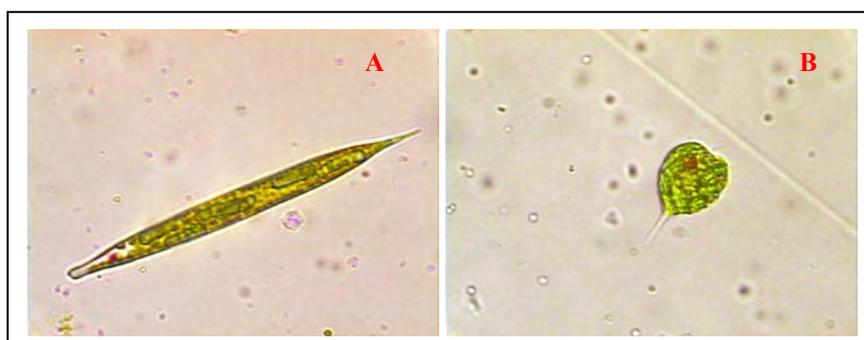


Figura 62: Microfotografias de espécies de euglenofíceas. Em A: *Euglena* sp e B: *Leptocinclis* sp (aumento 400 vezes).

No perifiton, houve maior freqüência de cianobactérias filamentosas não fixadoras de nitrogênio, tais como *Planktotrix* spp e a diatomácea *Navicula* spp, associada a ambientes com elevadas concentrações de nutrientes (Streble e Krauter, 1987) (Figura 63). Os organismos fotossintetizantes com maiores freqüências no biofilme, possuem estruturas próprias de fixação em meios suportes. Em ambientes lóticos naturais, o perifiton normalmente é composto por cianobactérias e clorofíceas filamentosas e diatomáceas (Chamixaes, 1991), organismos que por apresentarem estruturas de adesão a superfícies conseguem permanecer nos suportes por períodos prolongados de tempo se comparados aos organismos que não possuem estruturas de fixação e são levados junto com a corrente de água.

O zooplâncton das duas lagoas foi composto por protozoários ciliados em maior freqüência, enquanto no biofilme, as amebas nuas e os rotíferos foram observados num período maior de tempo. Todos esses organismos se alimentam de bactérias, algas e protozoários. As amebas nuas apresentam maior velocidade de crescimento comparada aos ciliados e aos rotíferos, os

ciliados são os mais velozes, podendo buscar o alimento com maior facilidade e os rotíferos, os mais lentos.

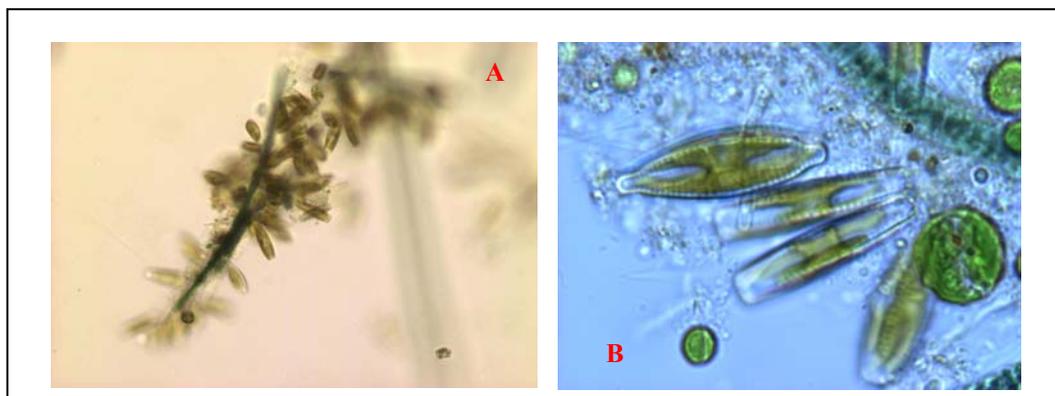


Figura 63: Microfotografias de amostras do biofilme. Em A: crescimento perifítico de diatomáceas (*Navicula* sp) sobre filamento de *Oscillatoria* sp (aumento 100 vezes); B: detalhe de diatomáceas, *Chlorella* sp, uma parte do filamento de *Planktotrix* sp (aumento 1000 vezes).

O número mínimo de gêneros identificados no perifíton e no plâncton das duas lagoas ao longo do período de estudo, foi similar (Tabela 55). As amostras do plâncton das lagoas apresentaram similaridades em relação ao número de gêneros dos diferentes grupos de organismos, ambas com maior diversidade de cianobactérias e clorofíceas. No perifíton houve maior distribuição de gêneros entre os grupos, com predominância de cianobactérias, clorofíceas e protozoários.

Tabela 55: Número mínimo de gêneros de algas, protozoários e micrometazoários encontrados no plâncton e no perifíton da LB e da LF durante as duas condições operacionais.

Organismos	Número de gêneros					
	TDH 10 dias			TDH de 20 dias		
	biofilme	LB	LF	biofilme	LB	LF
cianobactérias	9	10	13	4	5	6
Clorofíceas	6	10	10	2	5	5
Euglenofíceas	3	4	4	2	3	3
Diatomáceas	3	3	2	3	2	2
Subtotal (fotossintetizantes)	21	27	29	11	15	16
Protozoários	6	3	3	6	3	3
Micrometazoários	2	2	2	2	3	3
Subtotal (microfauna)	8	5	5	8	6	6
TOTAL	29	32	34	19	21	22

A diversidade de espécies em uma lagoa é característica de uma série de fatores, dentre os quais destaca-se a carga orgânica aplicada e as condições climáticas locais. De maneira geral, quanto maior a diversidade e menor a densidade de organismos, melhor a qualidade do efluente, pois há menor concentração de substratos orgânicos (nível sapróbio) e quanto menor a diversidade e maior a abundância de organismos, pior a qualidade do efluente produzido, indicando que no meio líquido existe elevadas concentrações de substratos orgânicos que induzem ao crescimento acelerado de determinadas espécies (Branco, 1996). No plâncton e no perifiton das lagoas, verificou-se maior diversidade quando as lagoas operaram com maiores cargas aplicadas (TRH de 10 dias). Nesta mesma época as condições climáticas foram mais favoráveis ao crescimento de microrganismos.

Em Indiana (EUA), aproximadamente 21 gêneros de algas foram detectados em um ciclo diário de uma lagoa facultativa operando com alto TDH (30 dias) (Palmer, 1966), praticamente o dobro do observado na LB e LF com TDH de 20 dias. Na Polônia, Klekot (1985), identificaram 58 espécies de fitoplâncton em três lagoas de tratamento de esgotos domésticos operadas em série, sendo que o maior número de espécies foi observado na última lagoa.

A abundância e a diversidade de organismos perifíticos fotoautotróficos foi maior nos primeiros meses de contato do suporte de PVC na lagoa (fevereiro a abril), no mesmo período em que a biomassa fotoautotrófica foi mais elevada.

A abundância de organismos fotoautotróficos perifíticos e planctônicos ao longo do período (Figura 64) evidencia que os maiores valores ocorreram até maio, exceto no fitoplâncton da LF, onde a abundância total se manteve, aproximadamente, na categoria 3, de abril a agosto/2004. No perifiton, observou-se um período inicial, de fevereiro a abril, com elevada colonização de cianobactérias, clorofíceas, euglenofíceas e diatomáceas com redução expressiva das clorofíceas e euglenofíceas no período de junho a outubro. As cianobactérias seguidas pelas diatomáceas foram as mais abundantes no biofilme enquanto no plâncton das lagoas, as euglenofíceas estiveram presentes em maiores densidades que os demais grupos.

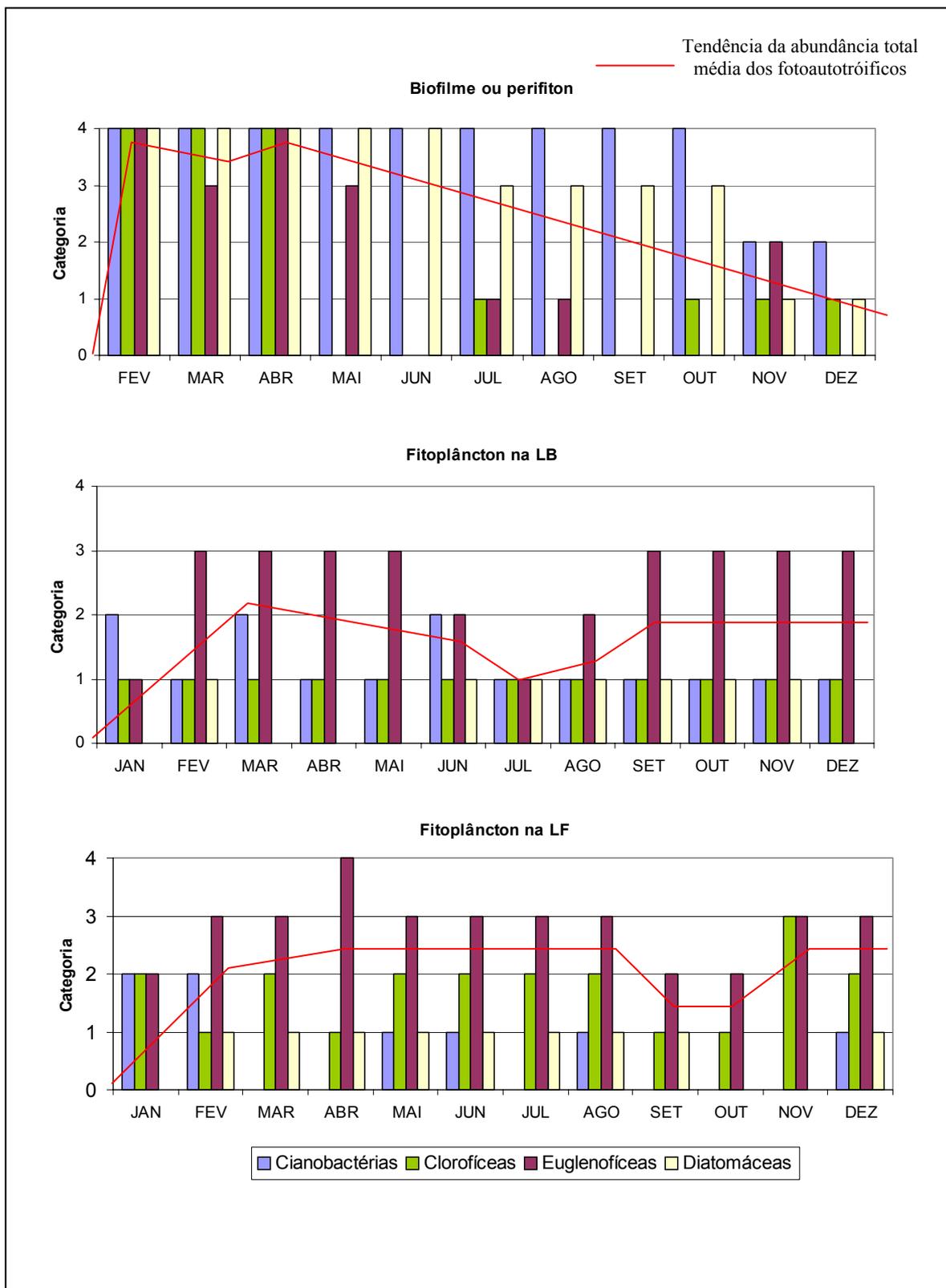


Figura 64: Média mensal da abundância, representada por categorias, dos organismos fotoautotróficos aderidos nos suportes de PVC (perifiton) e compondo o fitoplâncton das lagoas LB e LF durante o ano de 2004.

A melhor qualidade do efluente tratado na LB, em termos de DBO₅ solúvel, foi verificada no período de maior abundância dos organismos perifíticos.

A manutenção de cianobactérias e diatomáceas no perifiton e a exclusão, quase completa, das clorofíceas e euglenofíceas a partir de maio, podem ter sido originadas por dois fatores principais: (i) a redução da temperatura do ar e da intensidade de luz; (ii) a maturidade da comunidade perifítica com presença de organismos com estruturas próprias de fixação (Chamixaes, 1991).

Os principais predadores de bactérias e algas observados no plâncton foram os ciliados, tais como *Paramecium* sp, *Ciclidium* spp, *Trachelophilum* spp e outros gêneros não identificados. Estes organismos também estiveram presentes em maiores densidades no perifiton, no entanto, as maiores freqüências de zooplâncton nesse ambiente foram das amebas nuas e dos rotíferos (Figura 65).



Figura 65: Microfotografias de protozoários e rotíferos presentes nas amostras analisadas. Em A: *Paramecium* sp no plâncton (aumento de 100 vezes); B: rotíferos planctônicos (aumento de 250 vezes); C: ameba nua com *Chlorella* sp em seu interior e *Navicula* sp (aumento de 400 vezes) observadas no biofilme.

Análise de Fluorescence in situ Hybridization - FISH

Os resultados das análises de FISH nas amostras da lagoa facultativa – LF, da lagoa com biofilme – LB e do biofilme estão nas Tabelas 56, 57 e 58, respectivamente. Não foram visualizadas hibridizações para as bactérias nitrificantes, corroborando com as concentrações de nitrogênio inorgânico nos efluentes das lagoas (baixa concentração de Nox e elevadas de amônio). A alfaproteobactéria do gênero *Pseudomonas* foi detectado em baixas densidades apenas na LF.

Tabela 56: Estimativa da quantidade de células hibridizadas para amostras da lagoa facultativa controle.

Sonda	LF₁ (20/01/2004)	LF₂ (20/01/2004)	LF (01/03/2004)	LF (29/03/2004)	LF (27/04/2004)	LF (17/05/2004)
UNI1389a	5,15	5,00	5,00	6,00	5,00	5,00
EUK1195	3,00	2,60	3,00	1,0	2,00	2,00
ARC915	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00
EUB338	3,00	3,00	4,00	5,00	4,50	4,50
DELTA495a	1,45	1,60	0,25	1,25	1,25	1,25
BETA42a	2,06	1,90	2,00	2,00	2,25	2,25
GAM42a	1,40	1,60	1,50	1,25	1,50	1,50
ALF1b	2,00	2,00	2,25	2,50	1,25	1,50
Nso190	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ps	1,0	1,0	1,0	1,00	1,00	0,5

OBS: Para as sondas Ntspa, Nso190, NEU, Nmv, Nsv443, NIT3, Ntspa662 e Ntco206 não houve hibridização (Categoria 0).

Tabela 57: Estimativa da quantidade de células hibridizadas para amostras da lagoa com biofilme (LB).

Sonda	LB (01/03/2004)	LB (29/03/2004)	LB (27/04/2004)	LB (17/05/2004)
UNI1389a	6,00	6,00	5,20	5,20
EUK1195	4,00	2,00	2,50	2,50
ARC915	0,70	0,00	1,00	1,00
EUB338	5,00	4,40	5,00	5,00
DELTA495a	1,50	1,50	0,00	0,00
BETA42a	1,00	0,00	1,00	1,00
GAM42a	0,00	0,50	0,00	0,00
ALF1b	3,20	2,40	4,00	4,00
Ps	0,00	0,00	0,00	0,00

OBS: Para as sondas Ntspa, Nso190, NEU, Nmv, Nsv443, NIT3, Ntspa662 e Ntco206 não houve hibridização (Categoria 0).

Nas Figuras 66 e 67 estão descritos os valores médios obtidos na quantificação de organismos detectados nas análises de FISH para as amostras do biofilme, da LF e da LB. Os eucariontes estiveram presentes em todas os locais analisados e as Archae foram raras, ocorrendo em densidades sutilmente superiores nas amostras do biofilme.

Tabela 58: Estimativa da quantidade de células hibridizadas (categorias) para amostras do biofilme da lagoa com biofilme.

Sonda	Biofilme 6 dias (01/03/2004)	Biofilme 34 dias (29/03/2004)	Biofilme 64 dias (27/04/2004)	Biofilme 84 dias (17/05/2004)
UNI1389a	6,00	6,00	6,00	6,00
EUK1195	2,50	2,00	1,00	1,00
ARC915	1,00	1,00	1,00	1,00
EUB338	3,60	4,00	4,00	4,00
DELTA495a	2,00	2,50	2,00	2,00
BETA42a	1,00	1,50	1,50	1,50
GAM42a	1,20	1,50	1,00	1,00
ALF1b	3,00	2,50	2,50	2,50
Ps	0,00	0,00	0,00	0,00

OBS: Para as sondas Ntspa, Nso190, NEU, Nmv, Nsv443, NIT3, Ntspa662 e Ntco206 não houve hibridização (Categoria 0).

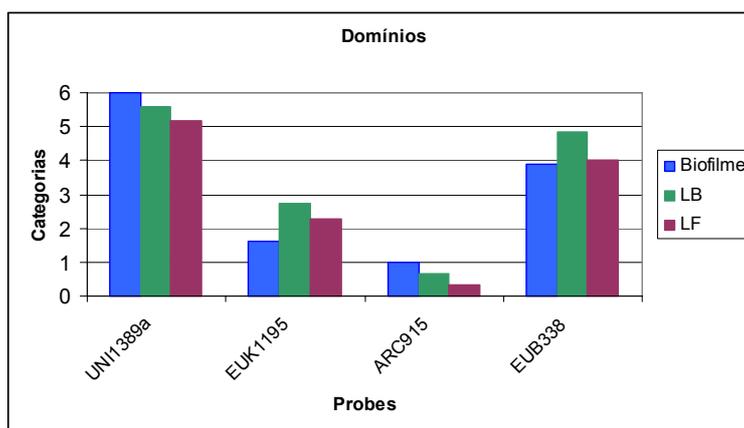


Figura 66: Resultados médios obtidos para os organismos presentes nas amostras do biofilme e do plâncton da LB e da LF.

Segundo Wagner e Amann (1997) uma alta relação EUB/DAPI em sistemas de tratamento de esgotos indica que a maioria das bactérias está crescendo e está metabolicamente ativa. Os organismos que coram com DAPI, mas não hibridizam com a sonda EUB estão metabolicamente inativos ou não permeáveis para os oligonucleotídeos presentes na sonda (problemas na fixação). Pelos valores médios, verifica-se relação EUB/DAPI de 63%, 80% e 67% para as amostras do biofilme, da LB e da LF respectivamente. Os mesmos autores citam valores de 70% a 89% em ETes de lodos ativados com bom desempenho, sendo os menores valores associados à baixa carga de lodo nos reatores. No entanto, para a sonda UNI 389a que

abrange todos os organismos, verificou-se relações UNI/DAPI de 95% para amostras do biofilme, 93% para LB e 87% para LF, indicando que a biomassa ativa foi composta por outros organismos além das proteobactérias, destacando-se os eucariontes (algas).

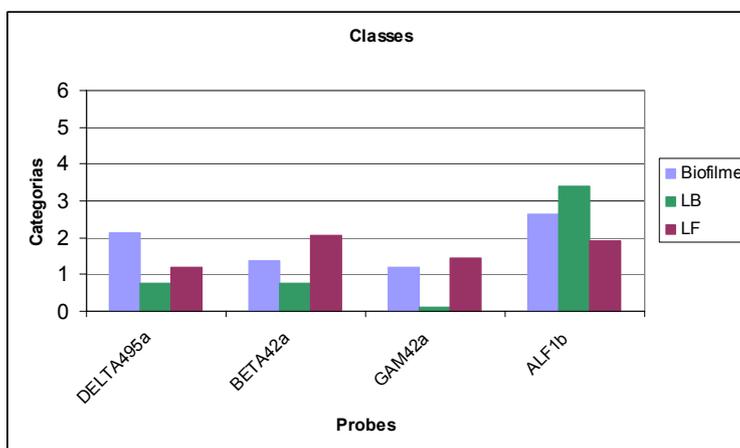


Figura 67: Resultados médios da quantificação das proteobactérias detectadas as amostras do biofilme e do bacterioplâncton da LB e da LF.

Pelas análises de FISH têm-se demonstrado que as proteobactérias dominam os sistemas de tratamento de esgotos e dentre estas, as betaproteobactérias (Manz *et al.*, 1994). Segundo os mesmos autores, as menos abundantes são as alfa proteobactérias e as gama proteobactérias. Entretanto, a maioria dos estudos tem sido desenvolvidos em sistemas de lodos ativados, não havendo informações disponíveis sobre a aplicação da técnica de FISH em lagoas de estabilização. No presente estudo, as amostras de diferentes origens foram compostas por diferentes proteobactérias, no biofilme e na LB as alfa proteobactérias foram predominantes enquanto na LF foram equivalentes em densidade as alfa proteobactérias e as betaproteobactérias. As lagoas de estabilização de esgotos constituem ambientes abertos com menor concentração de biomassa, mas maior diversidade biológica que os sistemas de lodos ativados.

Correlação entre os parâmetros

A análise de correlação multivariada permitiu a identificação da influência de uma variável sobre as outras durante o tratamento dos esgotos. Nas Tabelas 59 e 60 estão descritas as correlações positivas e negativas observadas durante o tratamento na LF e na LB respectivamente. Verificou-se que o TRH e as cargas aplicadas às lagoas influenciaram o

tratamento de esgotos, quando maiores cargas foram aplicadas, menor foi a qualidade do efluente final em termos de DBO₅ e SS. Em TRH de 20d, a nitrificação foi mais expressiva na LF.

Tabela 59: Resumo da análise multivariada para principais correlações fortes entre os parâmetros mensurados nas lagoas sem biofilmes - LF.

PARÂMETROS OPERACIONAIS		
Parâmetro	Correlação positiva (p>0,5)	Correlação negativa (p<0,5)
TRH	Nox	DBOt, DBOs, clorofila <i>a</i> , SS T ar, T amostra, <i>E. coli</i>
Carga afluyente de N-NH ₄ ⁺	DBOs, N-NO ₃ ⁻ , Nox, P-PO ₄ ³⁻ , ST, STV, CT	DQOt, DQOs, SS, turbidez, T ar, T amostra
Carga afluyente de DQO	DBOs	T ar, T amostra, alcalinidade, N-NO ₂ ⁻
PARÂMETROS DE CONTROLE DA QUALIDADE DO EFLUENTE		
Parâmetro	Correlação positiva	Correlação negativa
Temperatura do ar	P-PO ₄ ³⁻ , SS, clorofila <i>a</i>	N-NH ₄ ⁺
Intensidade de luz	P-PO ₄ ³⁻ , SS, clorofila <i>a</i>	DBOs
Insolação	SS, N-NH ₄ ⁺ , P-PO ₄ ³⁻	<i>E. coli</i> , N-NO ₂ ⁻ , N-NO ₃ ⁻ , Nox
Disco de Secchi	SS, clorofila <i>a</i> , DQOs	N-NH ₄ ⁺ , CT, <i>E. coli</i>
OD	N-NO ₂ ⁻	N-NH ₄ ⁺ , CT, <i>E. coli</i>
pH		N-NH ₄ ⁺ , <i>E. coli</i>
Clorofila <i>a</i>	SS, N-NH ₄ ⁺	
% Remoção de N-NH ₄ ⁺	T amostra, OD, pH, Nox	ST, STF, CT
% Remoção de DBO ₅	T amostra, OD, pH, Nox	N-NH ₄ ⁺ , CT, P-PO ₄ ³⁻
Nox	alcalinidade, DBOs, N-NO ₂ ⁻ , N-NO ₃ ⁻ , STV	DQOt, DQOs, STF, SS, turbidez
SS	DQOt, turbidez, clorofila <i>a</i>	N-NO ₂ ⁻ , N-NO ₃ ⁻ , Nox, P-PO ₄ ³⁻ , STV
<i>E. coli</i>	ST, STF	DQOs

Na LF, as condições climatológicas (temperatura do ar, intensidade de luz e fotoperíodo) apresentaram correlação positiva com a concentração de SS, clorofila *a*, P-PO₄³⁻ e N-NH₄⁺ no efluente e negativamente com as concentrações de DBOs, Nox e *E. coli*, indicando que em maiores temperaturas, intensidade luminosa e insolação ocorreram as menores concentrações de DBOs e *E. coli* no efluente.

A análise dos resultados da correlação multivariada permite indicar as seguintes influências para a LF:

- A nitrificação ocorreu quando as concentrações de OD na lagoa foram maiores;
- A remoção de amônia foi maior quando a temperatura do ar esteve mais elevada, o fotoperíodo e a transparência de *Secchi* foram maiores, e as concentrações de OD, pH e Nox foram maiores no efluente final;
- A desinfecção dos esgotos, avaliada pela remoção de *E. coli* nas lagoas, foi diretamente proporcional ao TRH, a insolação, a transparência de *Secchi* e ao OD,

comprovando as informações obtidas em literatura sobre os mecanismos de desinfecção nessas unidades;

- Nesta lagoa, a concentração de OD influenciou a nitrificação e a redução de $N-NH_4^+$ e *E. coli* no efluente.

Tabela 60: Resumo da análise multivariada para principais correlações fortes entre os parâmetros mensurados na lagoa com biofilme - LB.

PARÂMETROS OPERACIONAIS		
Parâmetro	Correlação positiva ($p > 0,5$)	Correlação negativa ($p < 0,5$)
TRH	alcalinidade	DBOs, T ar, T amostra
Carga afluyente de $N-NH_4^+$	P- PO_4^{3-} , ST, STV, <i>E. coli</i>	T ar, T amostra
Carga afluyente de DQO	DBOs	T ar, T amostra
PARÂMETROS DE CONTROLE DA QUALIDADE DO EFLUENTE		
Parâmetro	Correlação positiva	Correlação negativa
Temperatura do ar	SS	$N-NH_4^+$, P- PO_4^{3-} , pH, <i>E. coli</i>
Intensidade de luz	SS, CT	$N-NH_4^+$, <i>E. coli</i>
Insolação	SS, clorofila <i>a</i> , P- PO_4^{3-}	DBOs, DQOs
Disco de Secchi	SS, CT	$N-NH_4^+$, P- PO_4^{3-} , pH, <i>E. coli</i>
OD	SS	$N-NH_4^+$, <i>E. coli</i>
pH	$N-NO_2^-$, $N-NO_3^-$, Nox, SS, CT	$N-NH_4^+$
Clorofila <i>a</i>		DBOs
% Remoção de $N-NH_4^+$	T ar, OD, pH, DS, alcalinidade, $N-NO_3^-$, CT, intensidade de luz	SS
% Remoção de DBO_5	STV, clorofila <i>a</i> , P- PO_4^{3-}	$N-NH_4^+$
Nox	pH, CT	$N-NH_4^+$
SS		ST, STF, <i>E. coli</i>
<i>E. coli</i>	Alcalinidade, ST, STF, turbidez	T amostra, SS

Na LB, correlações similares àquelas descritas para a LF foram verificadas. Entretanto, os parâmetros climatológicos influenciaram um número menor de variáveis. A intensidade de luz e a transparência de *Secchi* contribuíram, adicionalmente, para a remoção de amônia.

Perfil horário das características dos efluentes da LB e da LF

Nos três dias de realização do perfil horário das características do efluente das duas lagoas, houve predominância de sol, com algumas nuvens cobrindo o céu as 14:00h do dia 11 de agosto, mas em seguida voltando a condição inicial de sol. A temperatura do ar média foi menor no dia 18 de Agosto/04 (19,5°C) e maior no dia 08 de setembro/04 (22,7°C) (Tabela 61), enquanto a intensidade de luz média foi praticamente a mesma nos dois dias de agosto (43.800cal/m².d) e superior em setembro (53.745cal/m².d). Os valores máximos ocorreram entre 12:00h e 13:00h e mínimos as 8:00h e as 18:00h para ambas as variáveis.

Tabela 61: Valores médios, DP, máximo, hora do máximo, mínimo e hora do mínimo da temperatura atmosférica e da intensidade de luz visível nos dias de realização do perfil horário.

Temperatura do ar (°C)						
Data	média	DP	Máxima	hora	mínima	Hora
11 de agosto	21,0	4,4	27,0	13:00	13,0	08:00
18 de agosto	19,5	2,7	24,0	12:00	15,0	08:00
08 de setembro	22,7	1,9	25,0	12:00	19,0	18:00
Intensidade de luz (cal/m ² .d)						
Data	média	DP	máxima	hora	mínima	hora
11 de agosto	43.830	28.679	83.000	12:00	326	18:00
18 de agosto	43.732	25.308	80.000	12:00	750	18:00
08 de setembro	53.745	27.589	90.300	13:00	3.600	18:00

Na Figura 68 verifica-se a temperatura do ar e a intensidade de luz visível entre as 8:00h e 18:00h dos dias de realização do perfil horário nas lagoas de estabilização experimentais. O comportamento dessas variáveis foi similar sendo observada maior intensidade de luz após as 12:00h no dia 08 de setembro em relação às amostragens de agosto. Neste mesmo dia houve menores variações da temperatura do ar ao longo do dia.

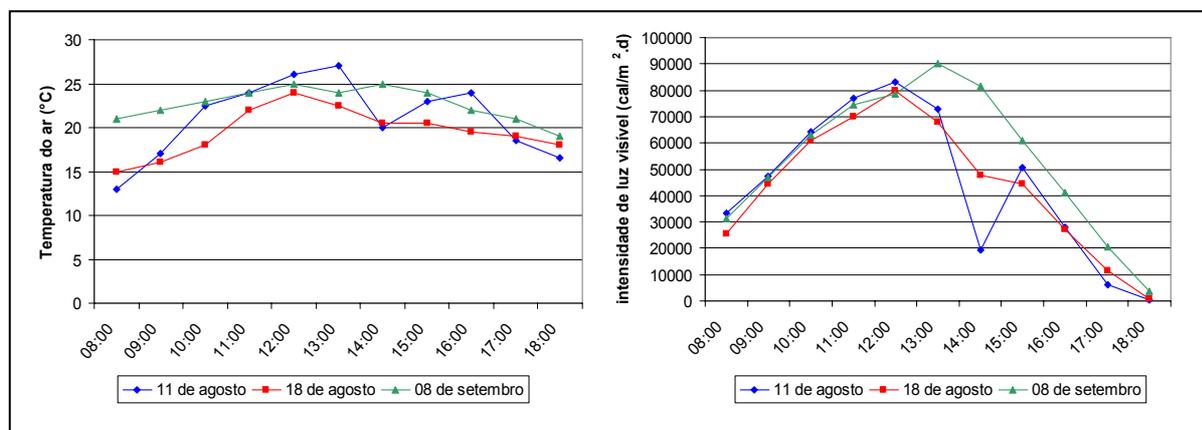


Figura 68: Variações diárias na temperatura do ar e na intensidade de luz visível nos dias 11 e 18 de agosto e 08 de setembro de 2004 na estação experimental.

A concentração de OD nas duas lagoas ao longo dos dias foi diferenciada conforme demonstrado na Figura 69 e Tabela 62. As maiores concentrações ocorreram no período entre 12:00h e 14:00h e mínimo as 8:00h estando estes dependentes da temperatura atmosférica e da intensidade de luz. Uma queda a concentração de OD as 16:00h do dia 11 de agosto foi verificada em ambas unidades de tratamento. Atribui-se a este fato como sendo um efeito

retardatário referente ao surgimento de nuvens e conseqüentemente queda da intensidade de luz visível as 14:00h.

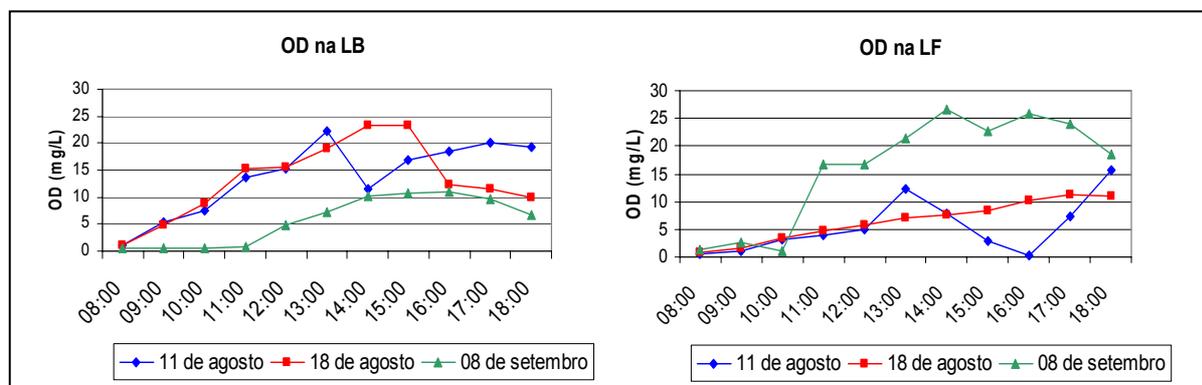


Figura 69: Variações diárias na concentração de OD nos dias 11 e 18 de agosto e 08 de setembro de 2004 na LB e na LF.

Tabela 62: Valores médios da OD nas lagoas durante a realização do perfil diário das características dos efluentes.

Datas	LB Média OD (mg/L)	LF Média OD (mg/L)
11 de agosto de 2004	13,8 ± 6,7	5,4 ± 4,9
18 de agosto de 2004	13,2 ± 7,1	6,5 ± 3,7
08 de setembro de 2004	5,7 ± 4,4	16,1 ± 9,8

Na lagoa com biofilme a transparência das águas (transparência de *Secchi*) foi superior a mensurada na LF em todas as amostragens exceto no dia 18 de agosto após as 12:00h quando houve uma redução de 20cm para 7cm em 3 horas (Figura 70 e Tabela 63). Também foi verificado que ocorreram maiores variações diárias na transparência de *Secchi* na LB em relação à LF a qual apresentou transparência praticamente constante ao longo do dia. Segundo Rakkoed *et al.* (1999), nas lagoas com suportes para biofilmes há redução na concentração da biomassa suspensa e conseqüente aumento da transparência da água pelo fato dos microrganismos preferirem o crescimento perfítico ao planctônico.

Pela transparência média, estimou-se a profundidade da zona eufótica, segundo Esteves (1998), obtendo-se valores de 45cm e 31cm de profundidade para a LB e a LF respectivamente, inferior a metade da profundidade útil da lagoa (115cm) (Tabela 63). Este fato indica a ocorrência de zonas anóxicas e anaeróbias em praticamente metade da profundidade das lagoas.

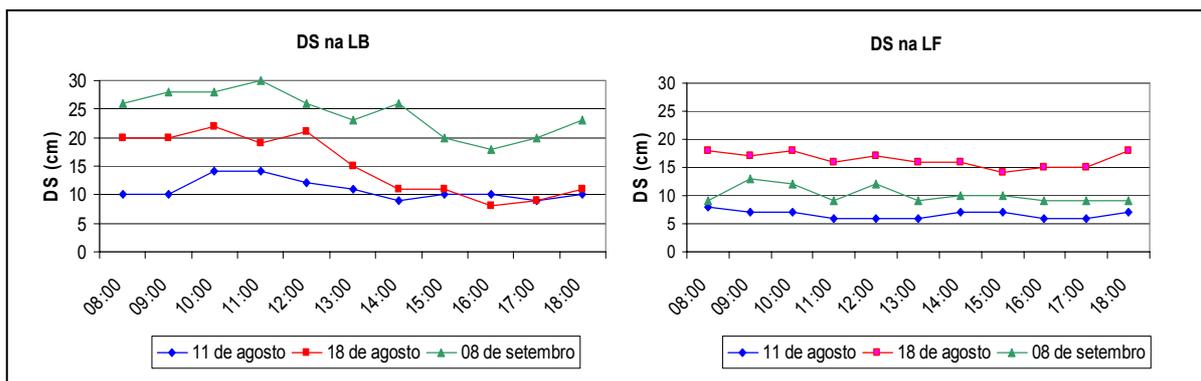


Figura 70: Variações diárias na transparência da água (DS) na LB e LF em 11 e 18 de agosto e 08 de setembro de 2004.

Tabela 63: Valores médios da leitura do DS e estimativa da zona eufótica nas lagoas durante a realização do perfil diário das características dos efluentes.

Datas	LB		LF	
	Média DS (cm)	Média Zona Eufótica (cm)	Média DS (cm)	Média Zona Eufótica (cm)
11 de agosto de 2004	11 ± 2	30 ± 5	7 ± 1	19 ± 3
18 de agosto de 2004	15 ± 5	40 ± 13	16 ± 1	43 ± 3
08 de setembro de 2004	24 ± 4	65 ± 11	10 ± 2	30 ± 5
Média	17 ± 4	45 ± 10	11 ± 1	31 ± 4

O comportamento do pH ao longo do dia pode ser visualizado na Figura 71 e as médias e desvio padrão, na Tabela 64. As variações deste parâmetro estiveram diretamente relacionadas as variações da temperatura do ar, da intensidade de luz, do OD e concentração de clorofila *a*, atingindo valores máximos na LF em 8 de setembro (pH= 10).

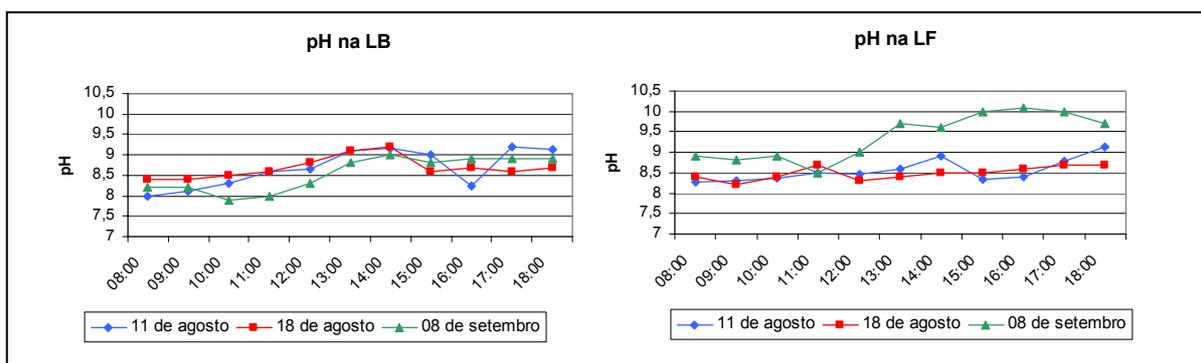


Figura 71: Variações horárias no pH no efluente da LB e da LF em 11 e 18 de agosto e 08 de setembro de 2004.

O perfil horário do pH foi similar na LB nos três dias de monitoramento com variação de 7,0 a 9,2. O valor máximo ocorreu sempre as 14:00h. Na LF o comportamento foi similar nas amostragens de agosto com variação de 8,2 a 9,2 mas, em 08 de setembro a variação foi de 8,5 a 10,1. Neste dia o máximo do pH ocorreu as 16:00h.

Tabela 64 Valores médios de pH nas lagoas durante a realização do perfil diário das características dos efluentes.

Datas	LB Média pH	LF Média pH
11 de agosto de 2004	8,7 ± 0,5	8,6 ± 0,3
18 de agosto de 2004	8,7 ± 0,3	8,5 ± 0,2
08 de setembro de 2004	8,5 ± 0,4	9,4 ± 0,6

Em pH 9 e temperatura de 20°C, considerando a concentração afluente de 35mgN-NH₄⁺/L, têm-se cerca de 10mg/L de N-NH₃ (Schnnor, 1996) passível de volatilização. Também, este pH propicia a formação de sais de hidroxapatita e de biomassa algal floculada que sedimentam na lagoa reduzindo a concentração de P-PO₄³⁻ e de SS no efluente.

Anteriormente aplicou-se o teste ANOVA para comparar o tratamento nas duas lagoas pela análise do efluente de ambas coletado as 9:00h. Não foram verificadas diferenças entre os tratamentos quando as lagoas operaram com um TRH de 20 dias. No entanto, para essa mesma condição de operação, comparando-se a qualidade do efluente da LB e LF ao longo do dia (das 8:00h as 18:00h), obtiveram-se diferenças estatisticamente significativas para alguns parâmetros (Tabela 65). O N-NH₄⁺ e o OD foram as únicas variáveis que apresentaram concentrações distintas nas duas lagoas durante os três dias da realização do perfil diário e o N-NO₃⁻ e DS, somente no primeiro dia. Os parâmetros de pH, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, Nox, P-PO₄³⁻ e turbidez apresentaram-se diferentes nas duas lagoas ao longo de dois dias de amostragem.

O comportamento das frações de nitrogênio inorgânico ao longo do dia na LB e na LF está demonstrado na Figura 72 e as médias verificadas em ambas as lagoas nos três dias da realização do perfil, na Tabela 66. Nos dias 11 e 18 de agosto a concentração de N-NH₄⁺ no efluente da LB ao longo do dia foi inferior ao mensurado na LF nestes mesmos dias. Entretanto, em 8 de setembro as concentrações de N-NH₄⁺ foram inferiores na LF em relação à LB apresentando nesta unidade um decréscimo com tendência linear no perfil horário (8:00h as 18:00h). Neste período ocorreu aumento crescente na concentração de N-NO₂⁻ e de pH com

pico máximo as 16:00h (12,7mgN-NO₂⁻/L e pH = 10,1) quando foi menor a concentração de N-NH₄⁺ (6mg/L), evidenciando que a redução adicional de N-NH₄⁺ na LF foi ocasionada pela nitrificação e volatilização da amônia.

Tabela 65: Valores de *p* obtidos no teste ANOVA comparando os parâmetros mensurados nas duas lagoas (diferenças significativas quando *p* < 0,05).

LB x LF			
Parâmetros	11 de agosto de 2004 (valor de p)	18 de agosto de 2004 (valor de p)	08 de setembro de 2004 (valor de p)
DS	0,0000		
pH		0,0446	0,0007
OD	0,0401	0,0115	0,0044
N-NH ₄ ⁺	0,0002	0,0002	0,0000
N-NO ₂ ⁻		0,0002	0,0000
N-NO ₃ ⁻	0,0019		
Nox	0,0124		0,0000
P-PO ₄ ³⁻		0,0000	0,0000
DQO			
Turbidez	0,0000		0,0000

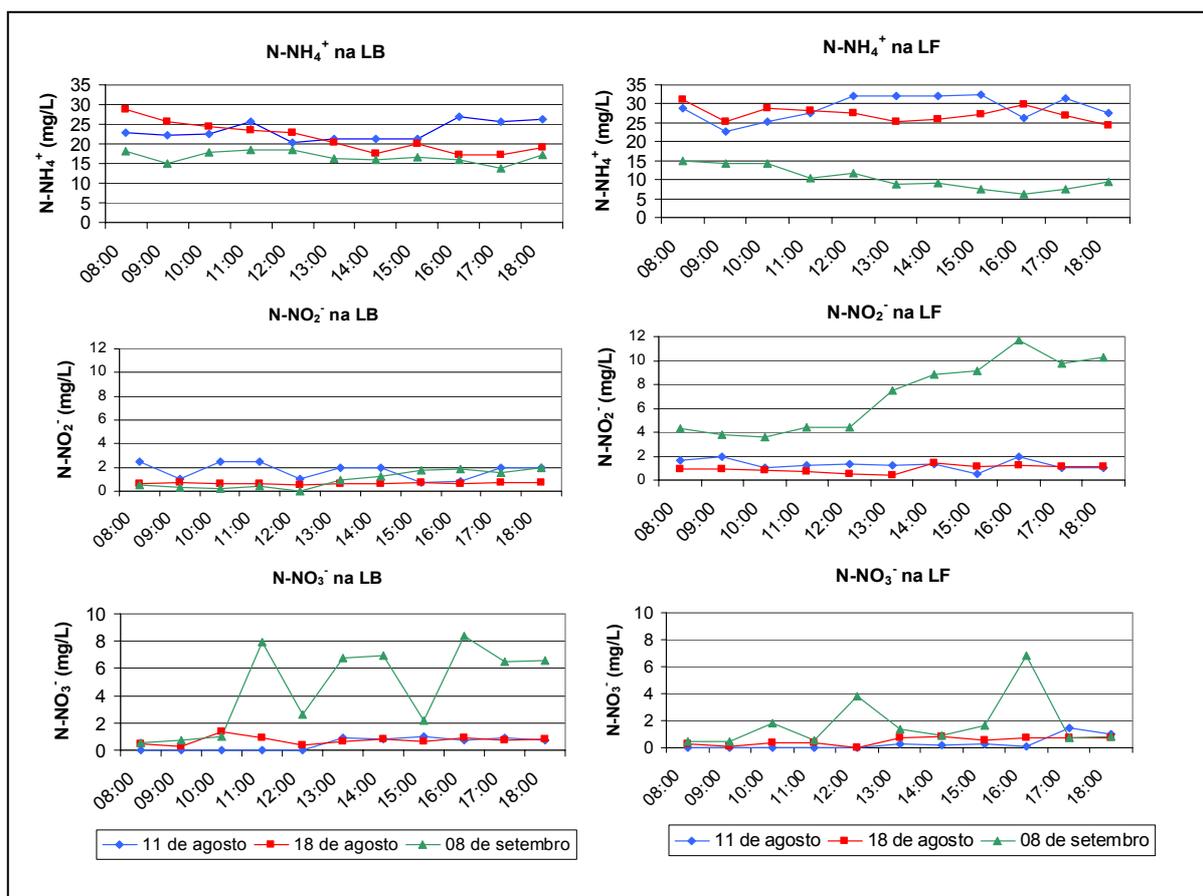


Figura 72: Variações horárias nas concentrações das frações de nitrogênio inorgânico nos efluentes da LB e da LF em 10 e 10 de agosto e 08 de setembro.

Tabela 66: Valores médios e desvio padrão das diferentes frações do nitrogênio inorgânico verificadas ao longo do dia nas lagoas.

Datas	N-NH ₄ ⁺ (mg/L)		N-NO ₂ ⁻ (mg/L)		N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	
	LB	LF	LB	LF	LB	LF
11 de agosto de 2004	23,3 ± 2,4	29,0 ± 3,3	1,7 ± 0,7	1,3 ± 0,4	0,5 ± 0,5	0,3 ± 0,5
18 de agosto de 2004	21,5 ± 3,8	27,0 ± 2,0	0,7 ± 0,1	0,9 ± 0,3	0,7 ± 0,3	0,5 ± 0,3
08 de setembro de 2004	16,7 ± 1,5	10,3 ± 3,1	1,0 ± 0,7	7,1 ± 3,0	4,6 ± 3,1	1,8 ± 1,9

O nitrato nos efluentes das lagoas foi menor que 1mg/L nas amostragens de agosto. Em 8 de setembro a LB apresentou maiores concentrações deste íon comparado a LF e, também, na LB ocorreram variações abruptas de até 6mg/L de uma hora para outra.

A nitrificação foi mais intensa entre as 11:00h e as 16:00h do dia 8 de setembro, quando as concentrações de OD, descritas anteriormente, foram mais elevadas. Inclusive, as maiores concentrações de Nox na LF em 8 de setembro coincidem com as maiores concentrações de OD verificadas em ambas unidades.

As informações obtidas a partir do perfil diário das concentrações inorgânicas de nitrogênio indicam a possibilidade da presença e atividade das bactérias que oxidam o nitrito estarem presentes no biofilme, tendo em vista a formação de maiores concentrações de nitrato no efluente da LB. Apesar destes indícios, nas análises de FISH não foram detectadas bactérias nitrificantes nos efluentes e no biofilme. Duas justificativas podem ser apontadas para tal fato, as quais:

- (i) a limitação do método de FISH – detecta bactérias em densidades mínimas proporcionais a 1/1000 células totais (Amman, 1990_b);
- (ii) análises realizadas em diferentes períodos – a última amostragem para FISH foi em maio enquanto o perfil das lagoas foi feito em agosto e setembro.

O fosfato reativo apresentou padrão similar nos diferentes dias de amostragem, exceto para o dia 11 de agosto quando ocorreram variações horárias expressivas (Figura 73 e Tabela 67).

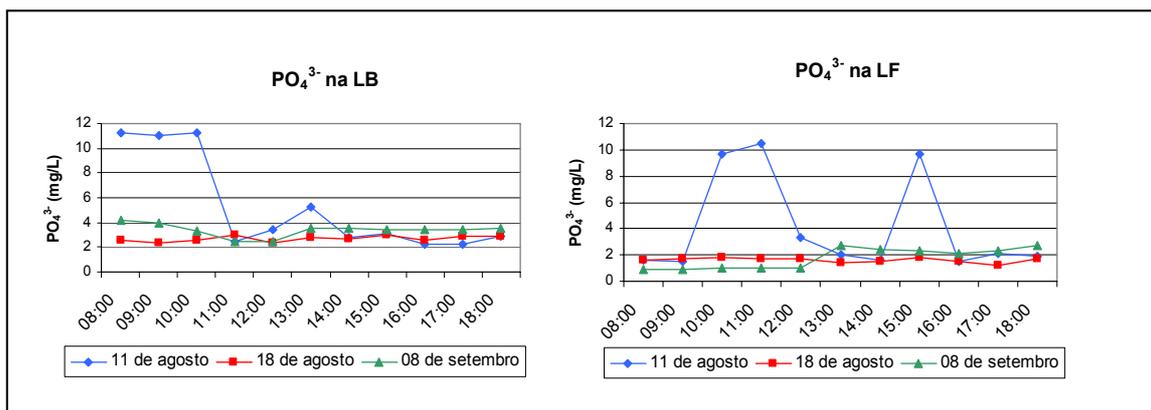


Figura 73: Variações horárias nas concentrações de $P-PO_4^{3-}$ na LB e LF em 11 e 18 de agosto e 08 de setembro de 2004.

Tabela 67: Valores médios de $P-PO_4^{3-}$ nas lagoas durante a realização do perfil diário das características dos efluentes.

Datas	LB Média $P-PO_4^{3-}$ (mg/L)	LF Média $P-PO_4^{3-}$ (mg/L)
11 de agosto de 2004	$5,3 \pm 3,9$	$4,1 \pm 3,8$
18 de agosto de 2004	$2,7 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,2$
08 de setembro de 2004	$3,4 \pm 0,5$	$1,8 \pm 0,8$

Oscilações de DQO foram observadas ao longo dos dias (Figura 74), sendo que as maiores concentrações ocorreram nas primeiras horas do dia, exceto em 18 de agosto na LB. De maneira geral, a DQOs do efluente da LF foi inferior a DQOs do efluente da LB (Tabela 68).

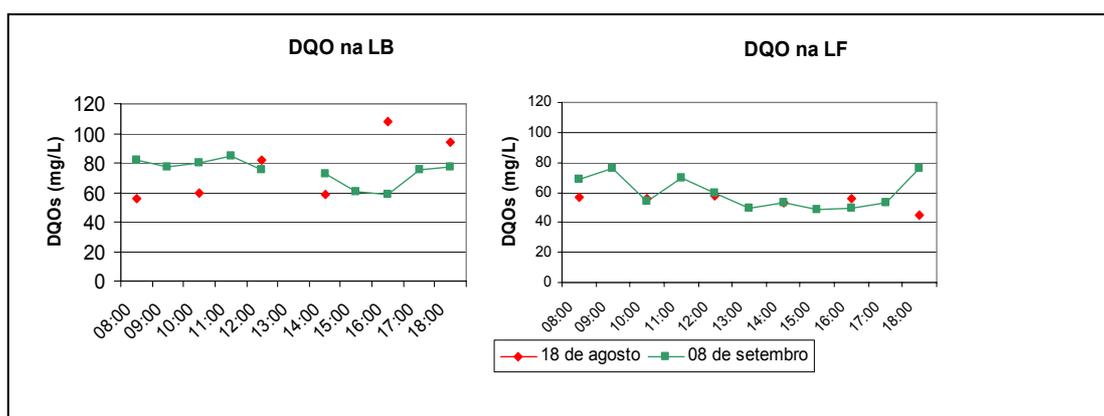


Figura 74: Variações horárias nas concentrações de DQOs na LB e LF em 18 de agosto e 08 de setembro de 2004.

Tabela 68: Valores médios de DQOs nas lagoas durante a realização do perfil diário das características dos efluentes.

Datas	LB Média DQOs (mg/L)	LF Média DQOs (mg/L)
18 de agosto de 2004	76 ± 22	54 ± 5
08 de setembro de 2004	74 ± 8	60 ± 11

A turbidez do efluente foi menor na LB em 18 de agosto e 08 de setembro comparada a turbidez mensurada na LF (Figura 75). Em 11 de agosto a LF apresentou elevada turbidez durante todo o dia (média de 385 NTU) comparada com a turbidez da LB (média de 137 NTU).

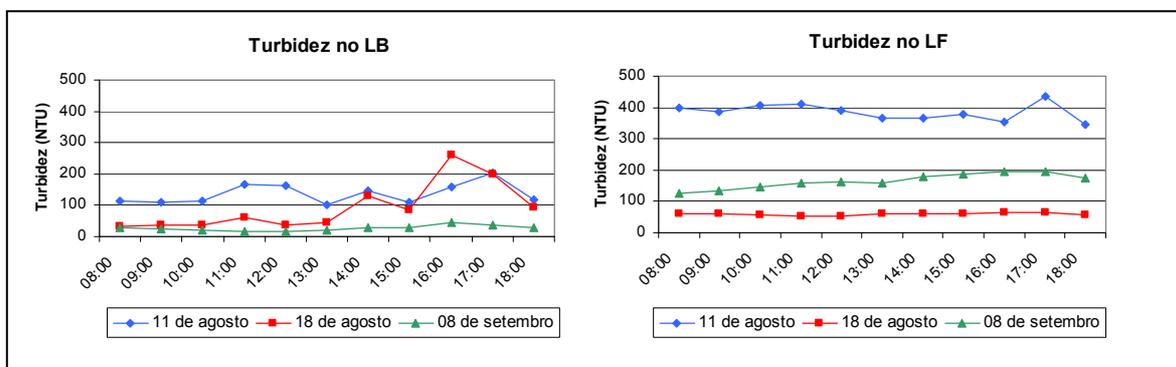


Figura 75: Variações horárias na turbidez do efluente na LB e LF em 11 e 18 de agosto e 08 de setembro de 2004.

As eficiências médias obtidas LB no tratamento de esgotos ao longo dos dias nas duas lagoas, não demonstram diferenças entre os tratamentos nas duas unidades (Figura 76). A eficiência na remoção de DQO e $N-NH_4^+$, considerando as concentrações ao longo do dia, foram similares aquelas verificadas nas análises de amostras coletadas as 9:00h, no entanto, maiores reduções de $P-PO_4^{3-}$ ocorreram durante o perfil horário, indicando que o $P-PO_4^{3-}$ está mais susceptível as variações diárias que ocorrem nas lagoas.

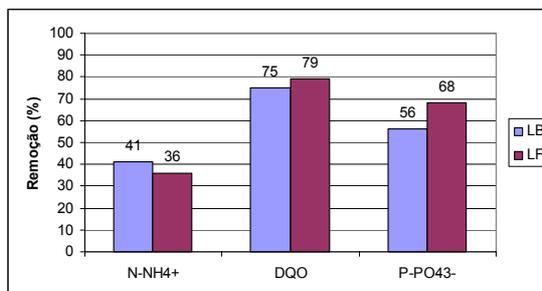


Figura 76: Médias das reduções de $N-NH_4^+$, DQO e $P-PO_4^{3-}$ na LB e na LF durante os três dias de realização do perfil horário da qualidade do efluente final.

Perfil longitudinal das características dos efluentes da LB e LF

O perfil longitudinal das lagoas, realizado no dia 30 de agosto de 2004 entre 9:15h e 10:00h, sob temperatura atmosférica de 22°C e intensidade de luz de 86.450cal/m².d, demonstrou que não ocorreram variações significativas nas características do esgoto ao longo de cada lagoa, coletado na superfície, exceto para o OD e o N-NO₂⁻, este último apenas na LF, conforme resultados descritos nas Tabelas 69 e 70.

Comparando-se o perfil longitudinal das duas lagoas, verificaram-se diferenças na concentração de OD, na transparência de *Secchi*, nas concentrações de DQOt, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, SS e turbidez.

Tabela 69: Resultados obtidos no perfil longitudinal realizado na LB em 30 de agosto de 2004.

Ponto	P1 (1,8m)	P2 (3,6m)	P3 (5,4m)	P4 (7,2m)	P5 (efluente)	Média	DP
Temp. amostra (°C)	18,5	18,9	18,8	18,8	18,4	18,7	0,2
OD (mg/L)	3,5	6,1	5,3	9	4,1	5,6	2,2
pH	8,5	8,7	8,5	8,5	8,6	8,6	0,1
DS (cm)	21	24	23	17	22	21,4	2,7
DQOt (mg/L)	105,4	102,1	91	99,1	105,5	102,6	4,3
DQOs (mg/L)	59	70	69,1	66,2	76,2	68,1	6,1
N-NH ₄ ⁻ (mg/L)	19,3	19,7	20,3	19,9	19,6	19,8	0,4
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	1,03	1,17	0,72	0,9	1,12	1,0	0,2
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	0	0	0	0	0	0,0	0,0
Nox (mg/L)	1,03	1,17	0,72	0,9	1,12	1,0	0,2
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	4,4	4,6	4,7	4,5	4,8	4,6	0,2
SS (mg/L)	20,5	28	22	21,5	24,4	23,3	3,8
Turbidez (NTU)	10,1	10,5	11,9	11,2	13,1	11,4	1,2

Convenções: Células cinza para parâmetros que variaram ao longo da lagoa; Células amarelas para parâmetros que variaram entre as duas lagoas.

A DQOt e a DQOs foram praticamente constantes nos locais amostrados em cada lagoa, não demonstrando variações esperadas para um reator tendendo ao fluxo em pistão.

As maiores concentrações de DQOt, OD, SS e turbidez na LF indicam que nessa unidade a concentração de fitoplâncton foi superior em relação à LB.

Tabela 70: Resultados obtidos no perfil longitudinal realizado na LF em 30 de agosto de 2004.

Ponto	P1 (1,8m)	P2 (3,6m)	P3 (5,4m)	P4 (7,2m)	P5 (efluente)	Média	DP
Temp. amostra (°C)	18,9	18,8	18,9	19,7	18,2	18,9	0,5
OD (mg/L)	12,4	13,3	18,7	19,3	10,5	14,8	3,9
pH	9	9	9	9	9	9,0	0,0
DS (cm)	11	10	10	10	10	10,2	0,4
DQOt (mg/L)	178,6	165,4	186,2	179,3	177,6	177,4	7,5
DQOs (mg/L)	70	69	59,8	70,9	70,3	68,0	4,6
N-NH ₄ ⁻ (mg/L)	17,7	18,2	18	17,5	16,1	17,5	0,8
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	6,85	7,31	10,19	8,05	7,8	8,0	1,3
N-NO ₃ (mg/L)	0	0	0,64	0	0,55	0,2	0,3
Nox (mg/L)	6,85	7,31	10,83	8,05	8,35	8,3	1,5
P-PO ₄ ³⁻ (mg/L)	3,3	3,3	3,2	3,3	3,3	3,3	0,0
SS (mg/L)	90	80	106	100	89,5	93,1	10,1
Turbidez (NTU)	135	134	133	127	135,0	132,8	3,3

Convenções: Células cinza para parâmetros que variaram ao longo da lagoa; Células amarelas para parâmetros que variaram entre as duas lagoas.

A lagoa sem suportes para biofilme – LF esteve mais aerada que a lagoa com biofilme – LB, sendo que na primeira, concentrações de aproximadamente 20mg/L ocorreram no centro da lagoa enquanto na LB, o máximo de 9mg/L foi verificado na última porção da da lagoa (Figura 77).

Conforme demonstrado na Figura 77, as concentrações de N-NH₄⁺ nas duas lagoas foram similares, com médias de 19,8mg/L e 17,5mg/L para a LB e a LF, respectivamente e variações insignificantes ao longo de cada unidade. No entanto, as concentrações de N-NO₂⁻ foram diferenciadas entre as lagoas, sendo expressivamente superiores na LF (média de 8mg/L) comparado a LB (1mg/L). Baixas concentrações de N-NO₃⁻ ocorreram apenas na LF, no centro e no final da lagoa. As frações do nitrogênio inorgânico detectadas nas duas lagoas evidenciam a ocorrência da nitrificação na lagoa sem biofilme, entretanto, os valores similares de N-NH₄⁺ nas unidades são sugestivos de que na LB outros mecanismos de conversão do N-NH₄⁺ tenham ocorrido, possivelmente uma nitrificação/desnitrificação.

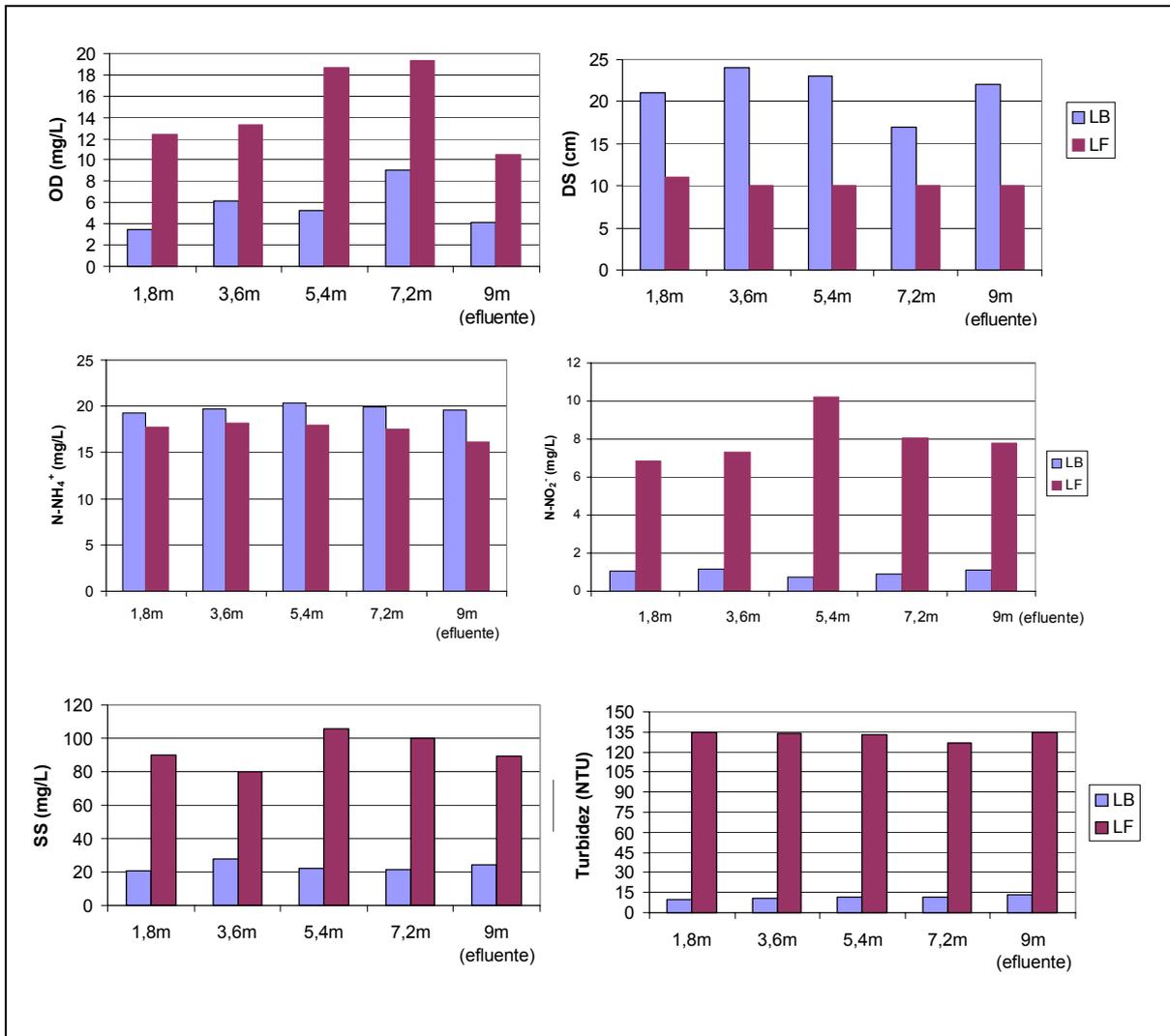


Figura 77: Comparações das concentrações de OD, da transparência de *Secchi*, das concentrações de N-NH_4^+ , N-NO_2^- , SS e da turbidez ao longo da lagoa LB e da LF no dia 30 de agosto de 2004.

As concentrações de OD nas duas lagoas foram diferenciadas mas o comportamento no perfil longitudinal foi similar, com aumento crescente até o $\frac{3}{4}$ do comprimento das unidades e depois uma redução nas concentrações efluentes.

O perfil longitudinal de OD apresentou tendência similar ao perfil de N-NO_2^- e de SS na LF indicando que nas áreas com maiores concentrações de algas (SS), houve maior concentração de OD oriundo da fotossíntese e com isso, maior atividade das bactérias nitrificantes.

A massa perifítica apresentou comportamento esperado, decaindo linearmente ao longo do perfil longitudinal. As maiores concentrações de substratos próximas à alimentação da lagoa permitem uma maior fixação da biomassa nessa região. A concentração do biofilme variou de 68g/m² de PVC a 96g/m² (Figura 78). A média de 83g de biomass/m² de PVC fornece um incremento na biomassa da lagoa de aproximadamente 142g de biomassa por m³.

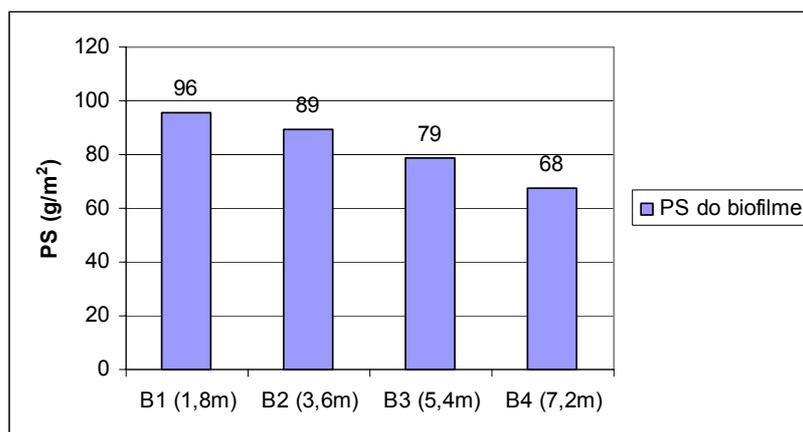


Figura 78: Massa do biofilme ao longo da lagoa.

Os resultados do perfil longitudinal mostram uma maior homogeneidade nas características do esgoto na lagoa com biofilme, com variações apenas na concentração de OD. Destaca-se também, na LB, a melhor qualidade do efluente em termos de SS, turbidez e DQOt comparada à qualidade do efluente obtida na LF.

6.4. CONCLUSÕES

Com base nas informações obtidas nos 17 meses de monitoramento semanal, no perfil horário e no perfil longitudinal de lagoas de tratamento secundário de esgotos domésticos em escala piloto, uma facultativa convencional – LF e uma com suportes de PVC para o desenvolvimento de perifiton/biofilme – LB, conclui-se que:

- O tratamento de esgotos na lagoa anaeróbia (LA) da ETE continental de Florianópolis, unidade que forneceu efluente às lagoas secundárias, foi eficiente no tratamento primário dos esgotos, removendo cerca de 40% da DQO e 55% da DBO₅ do esgoto bruto;

- O efluente da lagoa anaeróbia apresentou grandes variações nas concentrações de N-NH_4^+ (19mg/L a 64mg/L) e P-PO_4^{3-} (0,4mg/L a 17mg/L) durante um ciclo anual;
- Em TRH de 20 dias as duas lagoas foram eficientes produzindo efluentes com concentrações de DBOs inferiores a 60mg/L em um período maior que 75% do estudado e redução constante de 2 unidades \log_{10} para *E. coli*; nesta condição não houveram diferenças estatísticas entre o tratamento na LB e na LF;
- Os processos de fotossíntese e oxidação aeróbia da DBO_5 ocorreram no primeiro terço da profundidade (40cm) das lagoas na maioria do período;
- Em TRH de 10 dias a lagoa com biofilme foi mais eficiente na redução de DBO_t , DBOs, SS e *E. coli* comparada à lagoa controle, no entanto, estatisticamente somente a DBOs foi diferenciada nas duas lagoas;
- A temperatura e a intensidade de luz influenciaram o comportamento da DBOs no efluente das lagoas quando maiores cargas foram aplicadas (TRH de 10 dias); em maiores temperaturas e intensidade de luz, menores foram as concentrações de DBOs nos efluentes;
- A nitrificação, verificada pelas concentrações de NO_x nos efluentes, não ocorreu de forma constante e efetiva durante o estudo, sendo responsável apenas pela redução de 5% do N-NH_4^+ afluente, exceto no período entre setembro e dezembro de 2004, quando as concentrações de NO_x atingiram 16mg/L na LB e 12mg/L na LF e a nitrificação correspondeu a cerca de 40% da remoção de N-NH_4^+ ;
- A LF foi mais eficiente na remoção de N-NH_4^+ em TRH de 20d, apresentando redução média de 58% enquanto a LB atingiu 40%;
- Os principais mecanismos envolvidos na remoção de N-NH_4^+ foram a assimilação planctônica seguida pela volatilização, exceto na LF no TRH de 20d, onde a volatilização foi responsável por aproximadamente 27% da remoção da amônia afluente;
- No período de maior concentração da biomassa perifítica nos suportes de PVC houve maior nitrificação na LB (setembro e outubro/2004);

- O biofilme contribuiu na redução da concentração de SS no efluente da lagoa comprovando a preferência dos microrganismos pelo crescimento perifítico;
- O biofilme promoveu uma absorção do material orgânico afluyente quando maiores cargas foram aplicadas nas lagoas;
- O regime hidrológico local não interferiu de forma significativa no tratamento de esgotos nas lagoas. No mês com maior índice pluviométrico (janeiro), as chuvas contribuíram com um volume de 3,3% da vazão afluyente diária e, no mês com maior índice de evaporação (agosto), a lagoa perdeu um volume correspondente a 1,7% da vazão afluyente diária;
- A região de Florianópolis/SC possui características favoráveis ao tratamento de esgotos nas lagoas, com temperaturas superiores a 20°C em 75% do ano e os meses mais frios (maio, junho, julho e agosto) apresentam média de 18,2°C;
- Os suportes de PVC foram primeiramente colonizados por uma comunidade fotoautotrófica predominante até o 125º dia de contato na lagoa. Após esse período, os organismos heterotróficos cresceram exponencialmente até o 273º dia, quando a concentração de biomassa atingiu o máximo de 503gPS/m³ da lagoa;
- As eubactérias foram os seres vivos mais abundantes no perifiton e no plâncton, com predomínio das alfa-proteobactérias no biofilme e das alfa-proteobactérias e beta-proteobactérias no plâncton das lagoas;
- Não foram encontradas bactérias nitrificantes nas amostras analisadas por FISH;
- Os fitoflagelados predominaram no plâncton das lagoas indicando uma instabilidade no ambiente, enquanto no perifiton, as cianobactérias filamentosas e as diatomáceas penais foram mais freqüentes e abundantes;
- A diversidade de espécies de fotoautotróficos e heterotróficos eucariontes foi influenciada pelas condições climáticas e não com o nível de saprobicidade do meio;

- A maior abundância dos organismos eucariontes no biofilme proporcionou menor concentração de DBOs no efluente da LB;
- Os predadores de bactérias e algas mais abundantes e freqüentes foram os ciliados e os rotíferos;
- A remoção de 2 a 3 \log_{10} de *E. coli* nas lagoas foi proporcionada pela ação conjunta de vários fatores (temperatura, TRH, fotoperíodo, DS e OD);
- As características dos efluentes das duas lagoas variaram entre si num ciclo diário em termos de concentração efluente de nutrientes (N-NH₄⁺, pH, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, NO_x, P-PO₄³⁻), OD e pH;
- Apenas as concentrações de OD e N-NO₂⁻ variaram ao longo das lagoas (perfil longitudinal).

CAPÍTULO 7 – CONCLUSÕES GERAIS E RECOMENDAÇÕES

Durante um período de aproximadamente 3 anos de envolvimento com atividades relacionadas a essa pesquisa, buscou-se, primeiramente, a identificação do potencial do biofilme/perifiton em lagoas de estabilização de esgotos em escala de laboratório sob condições ambientais parcialmente controladas. As lagoas de laboratório são convenientes quando se deseja isolar variáveis ou identificar a influência de um parâmetro sobre outro(s), contudo, não reproduzem com fidelidade as lagoas de campo em escala real, as quais estão sujeitas, e mais susceptíveis, as características climáticas locais, a hidrodinâmica do sistema e aos fatores biológicos. Outro problema relacionado ao estudo de lagoas em pequenas escalas, constitui na impossibilidade de manutenção de tempos de retenção hidráulicos associados às cargas aplicadas sugeridas em literatura para o tratamento dos esgotos nessas unidades.

A condução dos trabalhos em escala de laboratório forneceu importantes subsídios à ampliação dos estudos em escala de campo, destacando-se a escolha do material suporte com características adequadas ao crescimento e manutenção da biomassa perifítica na lagoa por um maior período de tempo; a determinação de uma relação entre a área de suporte requerida para biofilme e a área superficial ou o volume da lagoa e, o conhecimento das espécies dominantes que compõem a comunidade de organismos perifíticos eucariontes.

A análise dos resultados obtidos em campo, após 17 meses de monitoramento semanal das unidades implantadas, revelou a grande dificuldade na correlação das inúmeras variáveis atuantes no tratamento dos esgotos nas lagoas facultativas. A maioria das ferramentas estatísticas é ineficiente para a análise desse tipo de informação.

Com base nos experimentos realizados em laboratório e em campo para a verificação do potencial do biofilme/perifiton na melhoria da performance das lagoas de estabilização de esgotos, conclui-se:

- O PVC foi escolhido, dentre outros materiais (acrílico, PVC e fibra de vidro), como suporte para o desenvolvimento de biofilme em lagoas de estabilização de esgotos por conferir diferenças significativamente positivas ao tratamento dos esgotos, maior

aderência e permanência da biomassa no reator e apresentar menor custo de aquisição em relação aos demais materiais;

- O tratamento de esgotos na lagoa anaeróbia da ETE continental de Florianópolis, unidade que forneceu efluente às lagoas secundárias estudadas, foi eficiente no tratamento primário dos esgotos, no entanto foram verificadas grandes amplitudes nas concentrações de N-NH_4^+ e P-PO_4^{3-} , durante um ciclo anual;
- O biofilme proporcionou um aumento na concentração da biomassa na lagoa. Em 50% das etapas experimentais, as unidades com suportes mantiveram biomassa adicional correspondente a faixa entre 25% a 57% da biomassa presente nas lagoas sem biofilme. No tratamento terciário, o incremento de biomassa foi de 14 vezes e em TRH de 10 dias, em campo, o acréscimo foi de 4 vezes;
- A colocação das placas de PVC nas lagoas de campo provocou o crescimento de organismos aderidos aos suportes, mas reduziu a concentração de organismos fitoplanctônicos, o que resultou em menores concentrações de OD e diminuição do pH na massa líquida, limitando os processos de volatilização da amônia e precipitação dos fosfatos;
- A nitrificação ocorreu durante alguns períodos nas lagoas com biofilmes e nas lagoas convencionais. Em laboratório, esse processo bioquímico foi mais expressivo nas lagoas com biofilmes, provavelmente pelo maior controle das condições ambientais;
- A nitrificação foi o principal processo de conversão do N-NH_4^+ dos esgotos durante o tratamento terciário em lagoa com biofilme (etapa de laboratório 3), quando ocorreram menores relações $\text{DBO}_5:\text{N-NH}_4^+$ afluente (média de 3:1);
- No tratamento terciário dos esgotos, a nitrificação, verificada na lagoa com biofilme e na lagoa de maturação, foi mediada por *Nitrosomonas* e *Nitrospira*, ambas detectadas, pela técnica de FISH, apenas no biofilme;
- Não houve suficiente adesão e crescimento de bactérias nitrificantes nos suportes introduzidos nas lagoas de campo;

- Teoricamente, existe a possibilidade, especialmente nas lagoas com biofilmes, de nitrificação da amônia dos esgotos nas lagoas de estabilização, entretanto, este processo ocorre de maneira descontínua e, no caso desse estudo, de forma incompleta (até N-NO_2^-), sugerindo a existência de fatores limitantes ao desenvolvimento das bactérias oxidadoras de nitrito nessas unidades, tais como as oscilações diárias nas concentrações de OD e pH;
- O biofilme promoveu uma absorção do material orgânico afluyente de fácil degradação (DBO_5) quando maiores cargas orgânicas foram aplicadas nos sistemas;
- A introdução de material suporte nas lagoas permitiu que essas fossem operadas com maior carga aplicada, sem grande interferência na qualidade do efluente final em termos de DBOs;
- A qualidade dos efluentes produzidos nas lagoas com biofilme apresentou-se mais estável em relação às lagoas convencionais;
- A maior vantagem das lagoas com biofilmes no tratamento de esgotos foi a expressiva redução na concentração de SS no efluente produzido. Em 50% das etapas experimentais, o efluente da LB apresentou concentrações de SS significativamente inferiores às observadas no efluente da LF (Tabela 72 em anexo), comprovando a hipótese de competição dos organismos pelo crescimento perifítico;
- Com maiores áreas de suporte introduzidas nas lagoas ($7,5\text{m}^2/\text{m}^3$ e $5,2\text{m}^2/\text{m}^3$), menores foram as concentrações de SS no efluente produzido;
- Em lagoas terciárias de tratamento de esgotos, a comunidade perifítica promoveu um acréscimo na remoção de SS, DQO, nitrogênio e *E. coli*, indicando ser esta uma boa possibilidade de uso de lagoas com biofilmes;
- O aumento da concentração de biomassa nas lagoas com biofilme foi comprovado no estudo, porém, o significado deste incremento no tratamento de esgotos não ficou nitidamente elucidado. Indubitavelmente, as lagoas com biofilmes produzem efluentes com menores concentrações de SS, no entanto em relação à remoção de DBO_5 , N-NH_4^+ , P-PO_4^{3-} , e *E. coli*, não se pode afirmar o mesmo;

- O regime hidrológico da localidade, não influenciou o tratamento nas unidades experimentais de campo;
- A máxima concentração de biomassa perifítica na etapa de campo foi verificada após 273 dias da introdução dos suportes de PVC na lagoa, evidenciando que períodos prolongados de tempo são necessários para o estudo do comportamento dessas unidades;
- Em laboratório a colonização dos suportes foi predominantemente fotoautotrófica enquanto em campo, a biomassa heterotrófica foi dominante;
- As placas de PVC foram colonizadas por bactérias, algas, protozoários e micrometazoários que agiram positivamente no tratamento dos esgotos;
- A composição da comunidade perifítica e planctônica das lagoas foi diferenciada. No perifiton, espécies com estruturas próprias de fixação em substratos estiveram presentes durante todo o período, com predomínio de cianobactérias filamentosas dos gêneros *Oscillatoria* spp e *Planktotrix* spp e diatomáceas Penales, enquanto em suspensão nas lagoas, as espécies flageladas (*Euglena* spp, *Phacus* spp, *Leptocinclis* spp e *Chlamydomonas* spp) e com cílios foram mais freqüentes e abundantes, juntamente com a clorofíceia *Chlorella* spp;
- As espécies fitoplantônicas móveis, de rápido crescimento e heterotróficas facultativas, indicaram que nas lagoas prevaleceram condições instáveis, altas concentrações de macronutrientes e elevada turbidez;

Os suportes artificiais para adesão de microrganismos constituem uma interessante alternativa aplicada à melhoria do tratamento em sistemas de lagoas de estabilização que se encontram sobrecarregados – sistemas subdimensionados; Os suportes devem ser introduzidos em áreas das lagoas (aeróbias) com maior transparência da água a fim de obter uma colonização biológica diversificada.

Na continuidade dos estudos em lagoas com suportes artificiais para o desenvolvimento de uma comunidade perifítica que contribua ao tratamento dos esgotos, algumas recomendações são sugeridas, dentre as quais:

- A utilização de lagoas com biofilmes em escalas piloto, de campo, no tratamento terciário dos esgotos para implementação da nitrificação;
- A realização de estudos em lagoas com biofilmes para o tratamento secundário de esgotos empregando maiores taxas de aplicação superficial e conseqüentemente reduzidos TRHs, para a comprovação da maior capacidade de depuração dessas unidades em relação às lagoas facultativas;
- A utilização de suportes dispostos no sentido transversal ao fluxo do esgoto na lagoa para aumentar o contato do esgoto com o biofilme.

BIBLIOGRAFIA

- ABDEL-RAZIK, M. H. (1991). *Dynamic modelling of facultative waste stabilization ponds*. PhD Thesis. Imperial College. In: VON SPERLING, M. (1996). *Lagoas de Estabilização*. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 134 p.
- ABELIOVICH, A. (1987). Nitrifying bacteria in wastewater reservoirs. *Appl. Envir. Microbiol.*, 53: 754- 760. In: DIAB, S.; KOCHBA, M. AVNIMELECH, Y. (1993). Nitrification pattern in a fluctuating anaerobic-aerobic pond environment. *Wat. Res.*, 27(9), 1469-1475.
- ABREU, A. A. V. (2004). *Identificação de bactérias filamentosas em processos de lamas activadas através da técnica de Hibridização in situ Fluorescência (FISH)*. Dissertação. Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Portugal. 142p.
- ALBIS, K. L.; MARA, D. D. (2003). Research on waste stabilization ponds in the United Kingdom - initial results from pilot-scale facultative ponds. *Wat. Sci. Tech.*, 48(2): 1-7.
- AMANN, R. I.; BLINDER, B. J.; OLSON, R. J.; CHISHOLM, S. W.; DEVEREUX, R.; STAHL, D. A. (1990a). Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 1919-1925.
- AMANN, R. I.; KRUMBHOLZ, L.; STAHL, D. A. (1990b). Fluorescent-oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology. *J. Bacteriol.* 176: 762-770.
- AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. (1992). Identification and in situ detection of individual bacterial cells. *FEMS Micobiol. Lett.*, 100: 45-50.
- AMANN, R. I. (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* 59: 143-169.
- ARCEIVALA, S. J. (1981). *Waste treatment and disposal*. Marcel Dekker, New York, 892 p. In: VON SPERLING, M. (1996). *Lagoas de Estabilização*. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 134 p.
- APHA (1995). *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 19th ed. Washington, DC, USA.
- ARCEIVALA, S. J. (1973). *Simple wate treatment methods aerated lagoons, oxidation ditches, stabilization ponds in warm and temperate climates*, Middle East Technical University, ankara, Turquia. In: MENDONÇA, S. R. *Lagoas de estabilização e aeradas mecanicamente: novos conceitos*. (1990) CIP-Brasil. Catalogação na fonte. Sindicato nacional dos editores de livros, Rio de Janeiro/RJ. 388p.
- AYRES, R. M.; ALABASTER, G. P.; MARA, D. D.; LEE, D. L. (1992). A design equation for human intestinal nematode egg removal in stabilization ponds. *Wat. Res.*, 26: 863-865. In: MARA, D. D.; ALABASTER, G. P.; PEARSON, H. W.; MILLS, S. W. (1992). *Waste Stabilization Ponds: A design manual for eastern Africa*. Lagoon Technology International Ltda. England. 121p.
- ARCEIVALA, S. J. (1981). *Wastewater treatment and disposal – engineering and ecology in pollution control*. New York, Marcel Dekker, 892p.
- BASKARAN, K.; SCOTT, P. H.; CONNER, M. A. (1992). Biofilms as na nitrogen removal in sewage treatment lagoons. *Wat. Sci. Tech.*, 26(7-8): 1707-1716.
- BENTO, A. P. (1997). *O emprego da comunidade perifítica como indicador biológico da qualidade das águas da microbacia do Baixo Cubatão e da Estação de Tratamento de Água (ETA) de Florianópolis, SC*. Trabalho de Conclusão de Curso. Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina. 71 p.

- BENTO, A. P.; LAPOLLI, F. R.; SARTORATO, J.; RIBEIRO, L. F. (2002). Wastewater Treatment Using Stabilization Ponds: Florianópolis Experience, South Brazil. In: *V International Conference on Waste Stabilisation Ponds, 2002*, Auckland. Volume 2. p. 679-684.
- Bio (2001). Saneamento – A indústria mais descentralizada do país. *Revista Brasileira de Saneamento e Meio Ambiente*, 17 (01-03), 18-36.
- BOYE M., AHL T. AND MOLIN S. (1995). Application of a strain-specific rRNA oligonucleotide probe targeting *Pseudomonas fluorescens* AgI in a mesocosm study of bacterial release into the environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1384-1390.
- BOUHOUM, K.; AMAHMID, O.; ASMAMA, S. (2000). Occurrence and removal of protozoan cysts and helminth eggs in waste stabilization ponds in Marrakech. *Wat. Sci. Tech.* 42(10-11): 159-164.
- BRISSAUD, F.; TOURNOUD, M. G.; DRAKIDES, C.; LAZAROVA, V. (2003). Mixing and its impact on faecal coliform removal in a stabilization pond. *Wat. Sci. Tech.*, 48(2): 75-80.
- CANOVAS, S.; PICOT, B.; CASELLAS, C.; ZULKIFI, H.; DUBOIS, A.; BONTOUX, J. (1996). Seasonal development of phytoplankton and zooplankton in a high-rate algal pond. *Wat. Sci. Tech.*, 33(7): 199-206.
- CAVALCANTI *et al.* Pós tratamento de efluentes de reatores anaeróbios por lagoas de polimento. Capítulo 3. In: CHERNICHARO (coordenador) (2001). *Pós tratamento de reatores anaeróbios*. PROSAB 2. Belo horizonte-MG. 544p.
- CHAMIXAES, C. B. C. B. (1991). *Variação temporal e espacial da biomassa perifítica em pequenos rios da Bacia Hidrográfica do ribeirão do Lobo (Itirapina – SP)*. Tese. São Paulo, UFSCar. 333 p.
- CHARACKILIS, W. G., MARSHALL, K. C. (1990). *Biofilms*. New York: John Wiley & Sons, Inc. 796p.
- CHEN, P.; ZHOU, Q.; PAING, J.; LE, H.; PICOT, B. (2003). Nutrient removal by the integrated use of high rate algal ponds and macrophyte systems in China. *Wat. Sci. Tech.*, 48(2): 251-257.
- CHERNICHARO, C. A. L. (1997). *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias – Reatores Anaeróbios*. Volume 5. 1ª ed. Departamento de engenharia sanitária e ambiental, UFMG. Belo Horizonte, MG. 245 p.
- CLEMENT, B.; MERLIN, G. (1995). The contribution of ammonia and alkalinity to landfill leachate toxicity to duckweed. *Sci. Total Environ.* 170: 71-79.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. (2005). *Resolução CONAMA N°357/2005*, de Março de 2005.
- CONSTABLE, J. D.; SCOTT, P. H.; CONNER, M. A. (1989). *The comparative importance of different nitrogen removal mechanisms in 5 west lagoon, Werribee Treatment Complex*. 13th Australian Water and Wastewater Association Conference, Canberra.
- COSTA, R. H. R., MEDRI, W.; PERDOMO, C. C. (2000). High-rate pond for treatment of piggery wastes. *Wat. Sci. Tech.*, 42(10-11): 357-362.
- CRAGGS, R. J.; TANNER, C. C.; SUKIAS, J. P. S.; DAVIES-COLLEY, R. J. (2000). Nitrification potential of attached biofilms in dairy farm waste stabilization ponds. *Wat. Sci. Tech.*, Vol.42, No.10-11, pp. 195-202.
- CURDS, C. R.; COCKBURN, A.; Vandyke, J. M. (1968). An experimental study of the role of the ciliated protozoa in the activated-sludge process. *Wat. Pollut. Control*, 67: 312-329.
- CURDS, C. R.; COCKBURN, A.; Vandyke, J. M. (1970). Protozoa in biological sewage-treatment process. *Wat. Res.*, 4: 239-249.

- CURTIS, T. P.; MARA, D. D.; SILVA, S. A. (1992). Influence of pH, oxygen, and humic substances on ability of sun-light to damage faecal coliforms in waste stabilization pond water. *Appl. Environ. Microbiol.* 58(4): 1335-1343.
- CUSHING, C. E. (1967). Periphyton productivity and metals accumulation in the Columbia River. *Hydrobiologia*, 29: 125-139.
- DAIMS, H.; NIELSEN, J. L.; NIELSEN, P. H.; SCHLEIFER, K. H.; WAGNER, M. (2001). In situ characterization of Nitrospira-like nitrite-oxidizing bacteria active in wastewater treatment plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 5273-5284.
- DAVEY, M. E.; TOOLE, G. A. (2000). Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Dec. 2000, p. 847-867.
- DAVIES-COLLEY, R. J.; DONNISON, D. J.; SPEED, D. J.; ROSS, C. M.; NAGELS, J. W. (1999). Inactivation of faecal indicator microorganisms in waste stabilization ponds: interactions of environmental factors with sunlight. *Wat. Res.*, 33(5): 1220-1230.
- DAVIES-COLLEY, R. J.; DONNISON, D. J.; SPEED, D. J. (1997). Sunlight wavelengths inactivating faecal indicator micro-organisms in waste stabilization ponds. *Wat. Sci. Technol.*, 35(5): 219-225.
- DIAB, S.; KOCHBA, M. AVNIMELECH, Y. (1993). Nitrification pattern in a fluctuating anaerobic-aerobic pond environment. *Wat. Res.*, 27(9), 1469-1475.
- DIONISI, H. M.; LAYTON, A. C. HARMS, G.; GREGORY, I. R.; ROBINSON, K. G.; SAYLER, G. S. (2002). Quantification of Nitrosomonas oligotropha-like ammonia-oxidizing bacteria and Nitrospira spp. From full-scale wastewater treatment plants by competitive PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 245-245.
- EL HAMOURI, B.; RAMI, A.; VASEL, J. L. (2003). The reasons behind the performance superiority of high rate algal pond over three facultative ponds in series. *Wat. Sci. Tech.*, 48(2): 269-276.
- EPA (1983). *Design manual: Municipal wastewater stabilization ponds*. United States Environmental Protection Agency. 327 p.
- ESTEVEZ, F. A. (1998). *Fundamentos de Limnologia*. 2º edição. Editora Interciência. 602 p.
- FERNANDEZ, A.; TEJEDOR, C.; CHORDI, A. (1992). Effect of different factors on the die-off of faecal bacteria in a stabilization pond purification plant. *Wat. Res.* 26(8): 1093-1098. In: MAYNARD, H. E.; OUKI, S. K.; WILLIAMS, S. C. (1999). Tertiary Lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *Wat. Res.* 33 (7): 1-13.
- FERRARA, R. A. (1982). Nitrogen dynamics in waste stabilization ponds. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 54 (4): 361-369.
- FERRARA, R. A.; HARLEMAN, D. R. F. (1981). Dynamic nutrient cycle model for waste stabilization ponds. *Eng. Div. ASCE 107(EE4): 817-830*. In: MAYNARD, H. E.; OUKI, S. K.; WILLIAMS, S. C. (1999). Tertiary Lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *Wat. Res.* 33: 1-13.
- FUNDERBERG, S.; MOORE, B. E.; SORBER, C. A.; SAGIK, B. P. (1978). Survival of poliovirus in model wastewater holding ponds. *Progr. Wat. Tech.* 10(5-6): 619-629. In: MAYNARD, H. E.; OUKI, S. K.; WILLIAMS, S. C. (1999). Tertiary Lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *Wat. Res.* 33 (7): 1-13.
- FUKUNAGA, I.; TAKAMIZAWA, K.; INOUE, Z.; HASEBE, T.; KONAE, M.; HATANO, K.; MORI, S. (1992). Appearance of plankton and its correlation with water quality in the stabilization ponds at a sea-based dredged sludge disposal site. *Environ. Technol.*, 13(5): 449-460.
- GALVÃO, Jr, A. C.; MAGALHÃES, C. A. C. (1999). Avaliação dos sistemas de tratamento por lagoas de estabilização em cidades operadas pela unidade de negócio do médio Tietê. SABESP. *Cd room do 20º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental*, I-078, 333-341. Rio de Janeiro, RJ.

- GARRITY, G. M.; WINTERS, M.; SEARLES, D. B. (2001). Taxonomic outline of the prokaryotic genera. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. 2° ed. 39p.
- GEESEY, G. G.; RICHARDSON, W. T.; YEOMANS, H. G.; IRVIN, R. T.; COSTERTON, J. W. (1977). Microscopic examination of natural sessile bacterial population from an alpine stream. *Can. J. Microbiol.* 23 (12): 1733-1736.
- GIANOTTI, E. P. (1994). *Denitrificação em uma lagoa marginal do rio Mogi-Iguaçu, Lagoa do Infernã* (Estação Ecológica do Jataí – Luiz Antônio – SP). Tese. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- GIOVANNONI S. J., DELONG E. F., OLSEN G. J. AND PACE N. R. (1988). Phylogenetic group-specific oligodeoxynucleotide probes for identification of single microbial cells. *J. Bacteriol.* 170: 720-726
- GLÖCKNER, F. O.; AMANN, R.; ALFREIDER, A.; PERNTHALER, J.; PSENNER, R.; TREBESIU, K.; SCHLEIFER, K. H. (1996). In situ hybridization protocol for detection and identification of planktonic bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* 19: 403-406.
- GLOYNA, E. F. (1971). *Waste Stabilization Ponds*. Geneva, World Health Organization. In: KELLNER, E.; PIRES, E. C. (1998). *Lagoas de Estabilização: Projeto e Operação*. Rio de Janeiro: ABES. 244p.
- GOMEZ, E.; CASELLAS, C.; PICOT, B.; BONTOUX, J. (1995). Ammonia elimination processes in stabilization and high-rate algal pond systems. *Wat. Sci. Tech.*, 31(12): 303-312.
- GRIMASON, A. M.; WIANDT, S.; BALEUX, B.; THITAI, W. N.; BONTOUX, J.; SMITH, H. V. (1996). Occurrence and removal of *Giardia* sp csts by Kenyan and French waste stabilization pond systems. *Wat. Sci. Tech.* 33 (7): 83-89.
- HAMOURI, B. El.; JELLAL, J.; OUTABIHT, H.; NEBRI, B.; KHALLAYOUNE, K.; BENKERROUM, ^a HAJLI, A.; FIRADI, R. (1995). The performance of high-rate algal pond in the Moroccan climate. *Wat. Sci. Tech.*, 31(12): 67-74.
- HENRICI, A. T. (1933). Studies of freshwater bacteria. I. A direct microscopic technique. *J. Bacteriol.*, 25: 277-287.
- HENSEN, V. (1988). Über die bestimmung des planktons oder in meer treibenden material an pflanzen und Tiere. *Ber. Komm. Wiss. Unters. Meere*, 5: 1-9. In: ESTEVES, F. A. (1998). *Fundamentos de Limnologia*. 2° edição. Editora Interciência. 602 p.
- HENZE, M.; HARREMOES, P.; JANSEN, J. C.; ARVIN, E. (1997). *Wastewater treatment – Biological and chemical process*. Springer Verlag, 2° Edição, Alemanha.
- HOFFMANN, J. (1998). Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae. Minireview. *J. Physicol.* 34: 757-763.
- HORSTKOTTE, G. A. *et al.* (1974). Full-scale testing of a water reclamation system. *Wat. Poll. Cont. Fed.*, 45: 181. In: WPC. (1983). *Nutrient Control*. Manual of Practice FD-7 Facilities Design. Water Pollution control Federation. 203p.
- HOSETTI, B.; FROST, S. (1998). A review of the control of biological waste treatment in stabilization ponds. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 28(2): 193-218.
- HUANG, H. J. S.; GLOYNA, E. F. (1984). Phosphorus models for waste stabilization ponds. *Journal of Environmental Engineering Division*, ASCE., 110: 550-561. In: MARA, D. D.; ALABASTER, G. P.; PEARSON, H. W.; MILLS, S. W. (1992). *Waste Stabilization Ponds: A design manual for eastern Africa*. Lagoon Technology International Ltda. England. 121p.
- IBGE. Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2000. www.ibge.gov.br. 27 de Março de 2003.

- IFU (2000). Internationale Frauenuniversität GmbH. *Wastewater Treatment Part 1*.
- JERIS, J. S.; OWENS, R. W. (1974). *Pilot scale high rate biological denitrification at Nassau County*. NY. Press. Winter meeting of New York Water Pollution Control Association. In: WPC. (1983). *Nutrient Control*. Manual of Practice FD-7 Facilities Design. Water Pollution control Federation. 203p.
- JETTEN, M. S. M.; STROUS, M.; VAN PAS-SHOONEM, A.; SCHALK, J.; VAN DONGEN, U. G. J. M.; VAN GRAAF, A.A.; LOGEMANN, A.; MUYZER, G. VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; KUENEN, J. GIBS. (1999). The anaerobic oxidation of ammonium. *Microbiology Reviews* 22: 421-437.
- JORDÃO, E. P.; SOBRINHO, P. A. (1994). *Lagoas de estabilização: conceitos de projeto e operação*. Curso ABES. Florianópolis, 09-11 de Junho de 1994.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. (1991). *Biologia Celular e Molecular*. 5ª edição, editora Guanabara. Rio de Janeiro-RJ. 260p.
- JURETSCHKO S. (2000). Mikrobielle Populationsstruktur und -dynamik in einer nitrifizierenden/denitrifizierenden Belebtschlammanlage. *Doctoral thesis* (Technische Universität München).
- JURETSCHKO, S.; TIMMERMANN, G. SHIMID, M.; SCHLEIFER, K-H.; POMMERENING-ROSER, A.; KOOPS, HP.; WAGNER, M. (1998). Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge: *Nitrosococcus mobilis* and *Nitrospira*-like bacteria as dominant populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 3042-3051.
- KELLNER, E.; PIRES, E. C. (1998). *Lagoas de Estabilização: Projeto e Operação*. Rio de Janeiro: ABES. 244p.
- KLEKOT, T. L. (1985). Chemical and biological changes in model ponds supplied with post wastewater. III. Plankton, periphyton and benthos. *Ekol. Pol.*, 33: 149-164.
- KONÉ, D., BRISSAUD, F., VASEL, J-L. (2004). State of art of facultative ponds in Western África: removal performances and design criteria. *Cd-rom - 6th International Conference on Waste Stabilization Ponds and 9th International Conference on Wetland Systems*. Avignon (France). pp 103-110.
- KÖNIG, A. Biologia de lagoas de estabilização, capítulo 2. In: MENDONÇA, S. R. (1990) *Lagoas de estabilização e aeradas mecanicamente: novos conceitos*. João Pessoa/PB. 388p.
- LAYBOURN-PARRY, J.; BOYALL, J.; ROGERS, P. (1999). The role of flagellated and ciliated protozoa in lagoon and grass filter sewage treatment systems. *Wat. Res.* 33(13): 2971-2977.
- LAKATOS, G. (1989). Composition of reed periphyton (biotecton) in the Hungarian part of lake Fertő. *Biol. Forschun. für Burg.*, 71: 125-134.
- LECHNER, M., TELHADA, M. (1994). Expressão dos genes. Transcrição. In: AZEVEDO, C. *Biologia Celular*. Ed. Lidel – Edições Técnicas, pp 159-172.
- LEMA, J. M. (1997). Curso de digestão anaeróbia aplicada a resíduos sólidos e líquidos. Recife, PE. In: SANTANA, F. B. (2002) *Tratamento anaeróbio de águas residuárias da indústria de curtume*. Dissertação. Curso de pós graduação em Engenharia Química, UFSC. 99p.
- LETTINGA, G.; HULSHOF POL, L. W.; ZEEMAN, G. (1996). *Biological wastewater treatment*. Part 1: Anaerobic wastewater treatment. Lecture notes. Wageningen Agricultural University. Janeiro. In: CHERNICHARO, C. A. L. (1997). *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias – Reatores Anaeróbios*. Volume 5. 1ª ed. Departamento de engenharia sanitária e ambiental, UFMG. Belo Horizonte, MG. 245p.

- LETTINGA, G. e RINZEMA (1985). Anaerobic treatment of sulfate containing wastewater. *Bioenvironmental Systems*.5: 34-41.
- LEWIS, G. D.; AUSTIN, F. J.; LOUTIT, M. W.; SHARPLES, K. (1986). Enterovirus removal from sewage. *Wat. Res.* 20(10): 1291-1297.
- LINDEMAN, R. (1942). The trophic – dynamic aspect of ecology. *Ecology* 23: 399-418 apud RICKLEFS, R. E. (1996). A economia da natureza. Traduzido para o Português por BUENO, C.; SILVA, P. P. de Lima. Editora Guanabara Koogan S. A. Rio Janeiro/RJ. 470p.
- LOY A., LEHNER A., LEE N., ADAMCZYK J., MEIER H., ERNST J., SCHLEIFER K.-H. AND WAGNER M. (2002). Oligonucleotide microarray for 16S rRNA gene-based detection of all recognized lineages of sulfate-reducing prokaryotes in the environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 5064-5081.
- LOY, A., HORN, M., WAGNER, M. (2003) probeBase - an online resource for rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Nucleic Acids Res.* 31, 514-516.
- LOPES, E. M. da C. (1996). *Microrganismos filamentosos em sistemas de lodos ativados e sua relação com parâmetros físico-químicos e operacionais*. Relatório de Estágio. Laboratório Nacional de Engenharia Civil, Departamento de Hidráulica, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa. 130 p.
- LOPRETO, E. C.; TELL, G. (1995) *Ecossistemas de Águas Continentais. Metodologias para seu estudo*. Vol. II. La Plata, Ediciones SUR, 895p.
- MADIGAN, T. M.; MATINKO, J. M.; PARKER, J. (1997). *Brock biology of microorganisms*. Prendice Hall, Inc., 8ª Edição, New York, EUA.
- MALINA, J. F.; POHLAND, F. G. (1992). *Design of anaerobic processes for treatment of industrial and municipal wastes*. Technomic Publishing Company, Inc – Volume 7. Pensylvania, USA. 213p.
- MANZ W., AMANN R., LUDWIG W., WAGNER M. AND SCHLEIFER K.-H. (1992). Phylogenetic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of Proteobacteria: problems and solutions. *Syst. Appl. Microbiol.*15: 593 - 600.
- MANZ, W., AMANN, R., WAGNER, M., SCHLEIFER, K. H. (1994). In situ characterization of the microbiol consortia active in two wastewater treatment plants. *Wat. Res.* 28: 1715-1723.
- MARA, D. D. (2003). *Speakers Notes*. In: 5th IWA/NZWWA International Conference on Waste Stabilization Ponds. Pre- conference Workshop – 2nd April 2002, New Zealand:
- MARA, D. D.; ALABASTER, G. P.; PEARSON, H. W.; MILLS, S. W. (1992). *Waste Stabilization Ponds: A design manual for eastern Africa*. Lagoon Technology International Ltda. England. 121p.
- MARA, D. D.; PEARSON, H. W. (1986). Waste stabilization pond research: experimental methods and data analysis. In: Seminário regional de investigacion sobre lagunas de estabilizacion. *Anais*, Lima. Centro Panamericano de Ingenieria Sanitária y Ciencias del ambiente. Pp145-157.
- MARA, D. D. (1976). *Sewage treatment in hot climates*. New York, John Wiley & Sons Ltda. 176p.
- MARAIS, G. v. R. (1974). Faecal bacterial kinetics in waste stabilization ponds. *Journal of the Environmental Engineering Division, ASCE*, 100(EE1): 119-139. In: MARA, D. D.; ALABASTER, G. P.; PEARSON, H. W.; MILLS, S. W. (1992). *Waste Stabilization Ponds: A design manual for eastern Africa*. Lagoon Technology International Ltda. England. 121p.
- MARAIS, G. v. R.; SHAW, V. A. (1961). A rational theory for the design of sewage stabilization ponds en central and South Africa. *Trans. S. African Inst. Civ. Eng.* 13(11): 205-227. In: MAYNARD, H. E.; OUKI, S. K.; WILLIAMS, S. C. (1999). Terciary Lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *Wat. Res.* Vol. 33(7): 1-13.

- MASSOL-DEYA, A. A.; A. J. WHALLON; R. F. HICKEY; J. M. TIEDJE. (1995). Channel structure in aerobic biofilms of fixed film reactors treating contaminated groundwater. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 769-777.
- MATTHIENSEN, A. (2002). *Introdução às florações por cianobactérias tóxicas em corpos d'água e previsão normativa (Portaria nº 1469/MS/2000)*. Apostila de curso.
- MAYNARD, H. E.; OUKI, S. K.; WILLIAMS, S. C. (1999). Tertiary Lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *Wat. Res.* 33 (7): 1-13.
- MAYO, A. W.; DONDWE, E. S. (1989). Quality changes in ponds with different pond depths and hydraulic retention times. *Wat. Qual. Bull.* 14(3): 155-159. In: MAYNARD, H. E.; OUKI, S. K.; WILLIAMS, S. C. (1999). Tertiary Lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *Wat. Res.* 33 (7): 1-13.
- MAYO, A. W.; NOIKE, T. (1996). Effects of temperature and pH on the growth of heterotrophic bacteria in waste stabilization ponds. *Wat. Res.* 30(2): 447-455.
- MAYO, A. W. (1995). Modelling coliform mortality in waste stabilization ponds. *J. Environ. Eng. ASCE* 12: 119-139. In: MAYNARD, H. E.; OUKI, S. K.; WILLIAMS, S. C. (1999). Tertiary Lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *Wat. Res.* 33 (7): 1-13.
- MCLEAN, B. M.; BASKARAN, K.; CONNOR, M. A. (2000). The use of algal-bacterial biofilms to enhance nitrification rates in lagoons: experience under laboratory and pilot-scale conditions. *Wat. Sci. Tech.*, 42(10-11): 187-194.
- MENDONÇA, S. R. *Lagoas de estabilização e aeradas mecanicamente: novos conceitos*. (1990) CIP-Brasil. Catalogação na fonte. Sindicato nacional dos editores de livros, Rio de Janeiro/RJ. 388p.
- METCALF & EDDY, Inc. (1991). *Wastewater engineering: treatment, disposal, reuse*. 3ed. Mc Graw-Hill.
- MEZRIOUI, N.; OUDRA, B.; OUFDOU, K.; HASSANI, L.; LOUDIKI, M.; DARLEY, J. (1994). Effect of micro-algae growing on wastewater batch culture on *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* survival. *Wat. Sci. Technol.* 30(8): 295-302.
- MIDDLEBROOKS, E. J.; MIDDLEBROKS, C. H.; REYNOLDS, J. H.; WALTERS, G. Z.; REED, S. C.; GEORGE, D. B. (1982). *Wastewater stabilization lagoon design, performance and upgrading*. New York: Macmillan Publishing Co. In: MARA, D. D.; ALABASTER, G. P.; PEARSON, H. W.; MILLS, S. W. (1992). *Waste Stabilization Ponds: A design manual for eastern Africa*. Lagoon Technology International Ltda. England. 121p.
- MILLS, S. W.; ALABASTER, G. P.; MARA, D. D.; PEARSON, H. W.; THITAI, W. N. (1992). Efficiency of faecal bacterial removal in waste stabilization ponds in Kenya. *Wat. Sci. Technol.* 26(7-8): 1739-1748. In: MAYO, A. W. (1995). Modelling coliform mortality in waste stabilization ponds. *J. Environ. Eng. ASCE* 12: 119-139. In: MAYNARD, H. E.; OUKI, S. K.; WILLIAMS, S. C. (1999). Tertiary Lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *Wat. Res.* 33 (7): 1-13.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE - Portaria Nº 1469 de 29 de Dezembro de 2000.
- MIRANDA, A. L. B. (1996). *Análise estrutural da comunidade perifítica sobre *Laersia hexandra* em ambientes lóticos da região carbonífera do Baixo Jacuí, Rio Grande do Sul, Brasil*. Dissertação. Instituto de Biotecnologia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 113 p.
- MOBARRY B. K., WAGNER M., URBAIN V., RITTMANN B. E. AND STAHL D. A. (1996). Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 2156-2162.
- MONTEGGIA, L. O.; ZANCAN FILHO, L. (2002). Remoção de algas de lagoas de alta taxa por filtração biológica para pós-tratamento de reatores biológicos. PROSAB 1ª edição: *Pós tratamento de reatores*

- anaeróbios*. 2001. www.finep.gov.br/prosab/livros/coletanea2/ART12 (consultado em 05 de Março de 2005).
- MUTTAMARA, S.; PUETPAIBOON, U. (1997). Roles of baffles in waste stabilization ponds. *Wat. Sci. Tech.* 35(8): 275-284.
- MUTTAMARA, S.; PUETPAIBOON, U. (1996). Nitrogen removal in baffled waste stabilization ponds. *Wat. Sci. Tech.* 33(7): 173-181.
- NURDOGAN, Y.; OSWALD, W. (1995). Enhanced nutrient removal in high-rate ponds. *Wat. Sci. Tech.*, 31(12): 33-43.
- ODUM, E. P. (1988). *Ecologia*. Tradução TRIBE, C. J. Editora Guanabara Koogan S. A Rio de Janeiro, RJ. 434 p.
- OHGAKI, S.; KETRATANAKUL, A.; PRASERTSOM, U. (1986). Effect of sunlight on coliphages in an oxidation pond. *Wat. Sci. Technol.* 18(10): 37-46.
- OLSEN, G. J.; LANE D. J.; GIOVANNONI, S. J.; STAHL, D. A. (1986). Microbial ecology and evolution: A ribosomal RNA approach. *Ann. Rev. Microbial.* 40: 337-365.
- OSWALD, W. J. (1988). Microalgae and wastewater treatment. In: *Microalgae Biotechnology*, Borowitzka, M. A. Borowitzka, L. J. (eds). Cambridge Uni .Press., UK, pp310-325.
- OSWALD, W. J.; GOTAAS, H. B.; LUDWIG, H. F.; LYNCH, V. (1953). Growth characteristics of *Chorella pyrenoidosa* cultured in sewage, In: *Algae symbiosis in oxidation ponds. Sew. Ind. Wastes*, 25: 26-37. In: KÖNIG, A. *Biologia de lagoas de estabilização*, capítulo 2. In: MENDONÇA, S. R. *Lagoas de estabilização e aeradas mecanicamente: novos conceitos*. João Pessoa/PB. 388p.
- PALMER, C. M. (1966). *Algae in Water supplies*, Washington, D.C. USPHS, Publ. N° 657.
- PANITZ, C. M. N. (1980). *Estudo comparativo do perifiton em diferentes substratos artificiais na Represa Lobo (Broa), São Carlos/SP*. Dissertação. UFSCar. 224 p.
- PANO, A. MIDDLEBROOKS, E. J. (1982). Ammonia nitrogen removal in facultative wastewater stabilization ponds. *Water Pollution Control Federation*, 54(4): 344-351.
- PEARSON, H. W.; MARA, D. D.; CAWLEY, L. R.; ARRIDGE, H. M.; SILVA, S. A. (1996). The performance of an innovative tropical experimental waste stabilization pond system operating at high organic loadings. *Wat. Sci. Technol.* 33(7): 63-73.
- PEARSON, H. W.; MARA, D. D., MILLS, S. W.; SMALLMAN, D. J. (1987). Physico-chemical parameters influencing faecal bacterial survival in waste stabilization ponds. *Wat. Sci. Technol.* 31(12): 129-139.
- PESSÔA, C. A., JORDÃO, E. P. (1982). *Tratamento de Esgotos Domésticos*. 2 ed. Rio de Janeiro: ABES-BNH, v. 62, no. 2.
- PICOT, B.; BAHLAOUI, A., MOERSIDIK, S.; BALEUX, B.; BONTOUX, J. (1992). Comparison of the purifying efficiency of high rate algal pond with stabilization pond. *Wat. Sci. Tech.*, 25(12): 197-206.
- PICOT, B.; ANDRIANARISON, T.; GOSSELIN, J. T.; BRISSAUD, F. (2004). Twenty years monitoring of Mèze stabilisation ponds. I – removal of organic matter and nutrients. *Cd-rom - 6th International Conference on Waste Stabilization Ponds and 9th International Conference on Wetland Systems*. Avignon (France). pp 65-72.
- PINTO, M. A. T.; ONOYAMA, M. T. (1991). Remoção de matéria orgânica, fósforo e nitrogênio de esgotos domésticos utilizando o processo de lagoas de alta taxa. *Revista DAE*, 161: 6-13.

- PIPES, W. O.; GOTAAS, H. B. (1960). Utilization of organic matter by *Chlorella* grow in sewage. *Appl. Microb.*, 8: 163-169. In: KÖNIG, A. *Biologia de lagoas de estabilização*, capítulo 2. In: MENDONÇA, S. R. *Lagoas de estabilização e aeradas mecanicamente: novos conceitos*. João Pessoa/PB. 388p.
- POLPRASERT, C.; AGARWALLA, B. K. (1995). Significance of biofilm activity in facultative pond design and performance. *Wat. Sci. Tec.*, 31(12): 119-128.
- PÔMPEO, M. L. M.; MOSCHINI-CARLOS. (2003). *Macrófitas Aquáticas e Perifitom: Aspectos ecológicos e metodológicos*. São Carlos, SP. 134p.
- PRATT, J. F. (1940). Studies on *Chlorella vulgaris* II. Further Evidence that *Chlorella* Cells form a Growth-Inhibiting substance. *American Journal of Botany*, 27: 431-436.
- RAKKOED, A.; DANTERAVANICH, S.; PUETPAIBOON (1999). Nitrogen removal in attached growth waste stabilization ponds of wastewater from a rubber factory. *Wat. Sci. Tech.*, 40(1): 45-52.
- REED, S. C. (1985). Nitrogen removal in wastewater stabilization ponds. *Journal of water Pollution Control Federation*, 57(1): 39-45. In: MARA, D. D.; ALABASTER, G. P.; PEARSON, H. W.; MILLS, S. W. (1992). *Waste Stabilization Ponds: A design manual for eastern Africa*. Lagoon Technology International Ltda. England. 121p.
- REGAN, J. M.; HARRINGTON, G. W.; NOGUEIRA, D. R. (2002). Ammonia-and-nitrite oxidizing bacterial communities in a pilot-scale chloraminated drinking water distribution system. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 73-81.
- RICKLEFS, R. E. (1996). *A Economia da Natureza*. Traduzido para o Português por BUENO, C.; SILVA, P. P. de Lima. Editora Guanabara Koogan S. A. Rio Janeiro/RJ. 470 p.
- RIBEIRO, L. F. (2001). Aplicação de Dióxido de Cloro como Alternativa para Desinfecção de Esgotos Sanitários Tratados Através de Lagoa de Estabilização. *Dissertação*. UFSC.
- ROCHA, C. (2005). Proposta para o gerenciamento da ETE de Jarivatuba , Joinville, SC. *Dissertação*. UFSC, Agosto de 2005.
- SAENS, R. (1992). *Posibles medidas para controlar o atenuar el deterioro de la calidad microbiológica de los recursos hidricos en la america Latina y el Caribe*. OPS/OMS, Washington. In: JORDÃO, E. P.; SOBRINHO, P. A.. (1994). Lagoas de estabilização: conceitos de projeto e operação. *Curso ABES*. Florianópolis, 09-11 de Junho de 1994.
- SANTANA, F. B. (2002) Tratamento anaeróbico de águas residuárias da indústria de curtume. *Dissertação*. Curso de pós graduação em Engenharia Química, UFSC. 99 p.
- SATO, M. I.; MONTEIRO, C. K.; MARQUES, E.; ALVES, M.N.; CASTRO, N. SANCHEZ, P. S. (1989). *Microbiologia Ambiental*. Manual de curso da CETESB. 148 p.
- SAUCH, J. F. (1984). Purification of *Giardia muris* cysts by velocity sedimentation. *Appl. Env. Microbiol.* 48: pp 454-455. BOUHOUM, K.; AMAHMID, O.; ASMAMA, S. (2000). Occurrence and removal of protozoan cysts and helminth eggs in waste stabilization ponds in Marrakech. *Wat. Sci. Tech.* 42(10-11): 159-164.
- SCHNNOR, J. L. (1996). *Environmental Modeling: Fate and transport of pollutants in water, air and soil*. New York: John Wiley & Sons, Inc. 682p.
- SCOTT, P. h.; GROSS, P. M.; BASKARAN, K.; CONNOR, M. A. (1994). Experimental studies for improved nitrification in shallow lagoon systems. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 29, No. 4, pp. 305-308.

- SHELEF, G.; AZOV, Y. (1987). High rate oxidation ponds. The Israel experience. *Wat. Sci. Tech.*, 19(12): 249-255. In: PINTO, M. A. T.; ONOYAMA, M. T. (1991). Remoção de matéria orgânica, fósforo e nitrogênio de esgotos domésticos utilizando o processo de lagoas de alta taxa. *Revista DAE*, 161: 6-13.
- SHUVAL, H. I.; ADIN, A.; FATTAL, B.; RAWITZ, E.; YEKUTIEL, P. (1986). Wastewater irrigation in developing countries: health effects and technical solutions. *World Bank Tech. Paper* n°51. Washington, DC: World Bank. In: BOUHOUM, K.; AMAHMID, O.; ASMAMA, S. (2000). Occurrence and removal of protozoan cysts and helminth eggs in waste stabilization ponds in Marrakech. *Wat. Sci. Tech.* 42(10-11): 159-164.
- SILVA, F. C. M. (1996). *Tratamento dos dejetos suínos utilizando lagoa de alta taxa de degradação em batelada*. Dissertação. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFSC.
- SILVA, R. L. (2002). Comunidades de cianobactérias e algas em sistemas de abastecimento e tratamento de águas residuárias. Disciplina da pós-graduação em Biologia Vegetal, UFSC. *Apostila*.
- SILVA, S. A. (1982). *On the treatment of domestic sewage in Waste stabilization ponds in Northeast Brazil*. PhD, thesis, University of Dundee, Escócia. In: MENDONÇA, S. R. Lagoas de estabilização e aeradas mecanicamente: novos conceitos. (1990) CIP-Brasil. Catalogação na fonte. Sindicato nacional dos editores de livros, Rio de Janeiro/RJ. 388p.
- SILVA, S. A.; DE OLIVEIRA, R.; SOARES, J.; MARA, D. D.; PEARSON, H. W. (1995). Nitrogen removal in pond systems with different configurations and geometries. *Wat. Sci. Tech.*, 31(2): 321-330.
- SILVA, S. A.; MARA, D. D. (1979). *Tratamentos biológicos de águas residuárias: lagoas de estabilização*. Rio de Janeiro, ABES.
- SLADECKOVÁ, A. L. (1962). Limnological investigations methods for the periphyton community. *Bot. Ver.* 28(2): 286-350.
- SOARES, J.; SILVA, S. A.; DE OLIVEIRA, R.; ARAUJO, A. L. C.; MARA, D. D. PEARSON, H. W. (1996). Ammonia removal in pilot-scale waste stabilization ponds in Northeast Brazil. *Wat. Sci. Tech.*, 33(7): 165-171.
- STAHL, D. A. AND R. AMANN. (1991). Development and application of nucleic acid probes. 205-248. In E. Stackebrandt and M. Goodfellow (ed.), *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, England.
- StatSoft, Inc. (2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.
- STONE, R. W.; PARKER, D. S.; COTTERAL, J. A. (1975). Upgrading dairy shed waste stabilization pond performance using mechanical aerators. *39th NZWWA Conferência Anual*, Rotorua.
- STRATTON, F. E. (1969). Ammonia nitrogen losses from streams. *J. Sanit. Div. Am. Soc. Civil Eng.* 95(SA2):223-231.
- STREBLE, H.; KRAUTER, D. (1987). *Atlas de los Microorganismos de Agua Dulce. La vida em uma gota de água*. Ediciones Omega, S. A., Barcelona. 364p.
- SUKIAS, J. P. S.; CRAGGS, R. J.; TANNER, C. C.; COLLEY, R. J.; NAGELS, J. W. (2002) Combined photosynthesis and mechanical aeration for nitrification in dairy waste stabilization ponds. 5th International IWA specialist group conference of Waste Stabilization Ponds. *Conference papers volume 1*. Auckland, New Zealand.
- SUNDERMEYER-KLINGER, H. MAYESR, W.; WARNIGHOFF, B; BOCK, E. (1984). Membrane-bound nitrite oxidoreductase of Nitrobacter: evidence for nitrate reductase system. *Arch. Microbiol.*, 140: 153-158. In: DIAB, S.; KOCHBA, M. AVNIMELECH, Y. (1993). Nitrification pattern in a fluctuating anaerobic-aerobic pond environment. *Wat. Res.*, 27(9), 1469-1475.

- TOOLE, G.; KAPLAN, H. B.; KOLTER, R. (2000). Biofilm Formation as microbial Development. *Annu. Rev. Microbiol.* 54: 49-79.
- TROUSSELIER, M.; LEGENDRE, P.; BALEUX, B. (1986). Modelling of the evolution of bacterial densities in a eutrophic ecosystem (sewage lagoons). *Microbial. Ecol.* 12: 355-379. In: MAYNARD, H. E.; OUKI, S. K.; WILLIAMS, S. C. (1999). Tertiary Lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *Wat. Res.* 33 (7): 1-13.
- UEHARA, M. Y.; VIDAL, W. L. (1989). *Operação e Manutenção de Lagoas Anaeróbias e Facultativas*. São Paulo: CETESB – Série manuais. 91p.
- VAN HAANDEL, A. C. ; LETTINGA, G. (1984). *Tratamento Anaeróbio de Esgotos: Um manual para regiões de clima quente*.
- VAN LOOSDRECHT, M.; JETTEN, M.; ABMA, W. (2001). Improving the sustainability of nitrogen removal. *Water 21 – Magazine of the International Water Association*. December. p. 50-53.
- VASCONCELOS, V. M.; PEREIRA, E. (2001). Cyanobacteria diversity and toxicity in a wastewater treatment plant (Portugal). *Wat. Res.*, 35(5): 1354-1357.
- VASL, R. J.; KOTT, R. (1982). Differential adsorption rate of enteroviruses onto sewage solids. *Abstracts of the AGM of the American Society of Microbiology*, p. 211. In: MAYNARD, H. E.; OUKI, S. K.; WILLIAMS, S. C. (1999). Tertiary Lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *Wat. Res.* 33 (7): 1-13.
- VAZOLLER, R. F. (1999). Microbiologia de processo biológicos de tratamento. *IV Curso de Tratamento Biológico de Resíduos*. Florianópolis.
- VERSTRAETE, W.; PHILIPS, S. (1998). Nitrification-denitrification processes and technologies in new contexts. *Environmental Pollution*, 102, S1, p. 717-726.
- VOGEL, A. L. (1981). *Análise Inorgânica Qualitativa*. 4ed. Editora Guanabara. Rio de Janeiro-RJ.
- VON SPERLING, M.; JORDÃO, E.; KATO, M. T.; SOBRINHO, P. A.; BASTOS, R. K. X.; PIVELLI, R. Lagoas de Estabilização. Capítulo 7. In: GONÇALVES, R. F. (coordenador) (2003). *Desinfecção de efluentes sanitários*. PROSAB 3. Rede cooperativa de pesquisas: UFES, UFRN, UFPB, UFSC, UFPE, UFV, EPUSP/USP, UFMG, UFRGS, PUC-PR, UNICAMP. 421 p.
- VON SPERLING, M. (1996). *Lagoas de Estabilização*. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 134 p.
- VON SPERLING, M. (1995). *Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgoto*. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- WAGNER M., RATH G., KOOPS H.P., FLOOD J. AND AMANN R. (1996). In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants. *Wat Sci Techn* 34: 237-244.
- WAGNER M., RATH G., AMANN R., KOOPS H.-P. AND SCHLEIFER K.-H. (1995). In situ identification of ammonia-oxidizing bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* 18: 251-264.
- WAGNER, M.; AMANN, R. (1997). Molecular techniques for determining microbial community structures in activated sludge. In: IAWQ. *Microbial community analysis: the key to the design of biological wastewater treatment systems*. pp 61-71.
- WETZEL, R. G. (1975). *Limnology*. Philadelphia, W. B. Saunders. 743 p.
- WETZEL, R. G. (1983). Opening remarks. In: Wetzel, R. G. *Periphyton of freshwater ecosystems*. The Hague, Dr. W. Junk. P 3-4.

- WIANDT, S.; BALEUX, B.; CASELLAS, C.; BONTOUX, J. (2000). Occurrence of *Giardia* sp cysts during a wastewater treatment by a stabilization pond in the south of France. *Wat. Sci.Tech.* 31: 257-265.
- WOESE, C. R. (1987). Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51: 221-271.
- WOESE, C. R., KANDLER O., WHEELIS, M. L. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria and Eucarya. *Prac. Nat. Acad. Sci. USA* 87: 294-498. In: ABREU, A. A. V. (2004). Identificação de bactérias filamentosas em processos de lamas activadas através da técnica de Hibridização in situ Fluorescência (FISH). *Dissertação*. Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Portugal. 142p.
- WPC. (1983). *Nutrient Control. Manual of Practice FD-7 Facilities Design*. Water Pollution control Federation. 203p.
- www.biologyPages/A/Archaea. Consulta em 08 de Fevereiro de 2005.
- Yanes, F. C. (1986). Reduccion de organismos patogenos y diseño de lagunas de estabilizacion en paises en desarrollo. In: Seminario regional de investigation sobre lagunas de estabilizacion. Anais, p 40-88. In: KELLNER, E.; PIRES, E. C. (1998). *Lagoas de Estabilização: Projeto e Operação*. Rio de Janeiro: ABES. 244p.
- ZANCAN FILHO, L. C.; SCHWARZBOLD, A.; MONTEGGIA, L. O.; MALLMANN, R.; SANCHEZ, G. I.; RODRIGUEZ, M. T. R.; NASCIMENTO, E. C.; MAIZONAVE, C. R. M. (2004). The utilization of periphyto in waste stabilization ponds for effluent quality improvement. *Cd-roon - 6th International Conference on Waste Stabilization Ponds and 9th International Conference on Wetland Systems*. Avignon (France). pp 103-110.
- ZIMMO, O. R.; VAN DER STEEN, N. P.; GiJZEN, H. J. (2003). Comparison of ammonia volatilization rates in algae and duckweed-based waste stabilization ponds treating domestic wastewater. *Wat. Res.* 37: 4587-4594.