

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE ENGENHARIA CIVIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ENGENHARIA DO
MEIO AMBIENTE

Daniela de Souza Silva Bufáical

EFICIÊNCIA DO LEITO DE MACRÓFITAS NA REMOÇÃO DE OVOS
DE HELMINTOS E COLIFORMES TERMOTOLERANTES E NO
DESAGUAMENTO DE LODO DE ESGOTO SANITÁRIO

Goiânia

2010

Daniela de Souza Silva Bufaiçal

**EFICIÊNCIA DO LEITO DE MACRÓFITAS NA REMOÇÃO DE OVOS
DE HELMINTOS E COLIFORMES TERMOTOLERANTES E NO
DESAGUAMENTO DE LODO DE ESGOTO SANITÁRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Engenharia do Meio Ambiente da Universidade Federal de Goiás como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia do Meio Ambiente.

Área de Concentração: Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Rogério de Araújo Almeida.

Goiânia

2010

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
GPT/BC/UFG**

B949e Bufaiçal, Daniela de Souza Silva.
 Eficiência do leito de macrófitas na remoção de ovos de
 helmintos e coliformes termotolerantes e no desaguamento de lodo
 de esgoto sanitário [manuscrito] / Daniela de Souza Silva Bufaiçal. -
 2010.
 xv, 105 f. : il., figs, tabs.

 Orientador: Prof. Dr. Rogério de Araújo Almeida.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola
 de Engenharia Civil, 2010.
 Bibliografia.
 Inclui lista de figuras, abreviaturas, siglas e tabelas.
 Apêndices.

 1. Tratamento Água e Esgoto – Avaliação 2. Atividade
 antimicrobiana I. Título.

CDU: 628

Daniela de Souza Silva Bufáçal

**EFICIÊNCIA DO LEITO DE MACRÓFITAS NA REMOÇÃO DE OVOS DE
HELMINTOS E COLIFORMES TERMOTOLERANTES E NO DESAGUAMENTO
DE LODO DE ESGOTO SANITÁRIO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Engenharia do Meio Ambiente da Universidade Federal de Goiás como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia do Meio Ambiente.

Dissertação defendida e aprovada em 31 de agosto de 2010, pela banca examinadora constituída pelos professores:

Prof. Dr. Rogério de Araújo Almeida
Presidente da Banca – PPGEMA – UFG – GO

Prof. Dr. Delvio Sandri – UEG –GO

Prof. Dr. Eraldo Henriques de Carvalho

Dedico este trabalho:

A Deus,

meu amor maior!

A minha mãe e ao meu pai,

*pelo carinho e por não medirem esforços para que eu
chegasse até aqui!*

Ao meu irmão,

que sempre me apoiou.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pelo seu amor e por me proporcionar sabedoria e saúde para a realização deste trabalho.

À Saneamento de Goiás S.A. (Saneago), em especial à Maura e à Eliete, que disponibilizaram o laboratório e me ensinaram a realizar as análises necessárias para a pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos.

Ao Eurivan, e sua equipe do laboratório de análises físico-químicas e bacteriológicas da Secretaria de Meio Ambiente e Recursos Hídricos, por disponibilizar o laboratório para análises do esgoto.

À Coming Indústria e Comércio de Couros pelo apoio e doação dos contenedores que se constituíram nos módulos experimentais.

Ao professor José Realino, do Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais da Faculdade de Farmácia-UFG, por disponibilizar o laboratório para análises de atividade antimicrobiana.

À Joelma e a Fabíola por me auxiliarem nas análises de atividade antimicrobiana no Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais.

Ao meu orientador, professor Rogério Almeida, pelas motivações e ensinamentos em aprender mais sobre tratamento de lodo com plantas.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Engenharia do Meio Ambiente (PPGEMA).

Às amigas, Lana, Belkisia e Girlene, que estiveram ao meu lado nos momentos de nervosismo.

Aos meus familiares e ao meu esposo João Luis.

Meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

BUFÁICAL, D. S. S. Eficiência do leito de macrófitas na remoção de ovos de helmintos e coliformes termotolerantes e no desaguamento de lodo de esgoto sanitário. 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Meio Ambiente) – Escola de Engenharia Civil, Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Engenharia do Meio Ambiente, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

Os objetivos deste estudo foram avaliar a eficiência do sistema de tratamento do tipo leito de macrófitas plantados com as espécies vegetais lírio do brejo (*Hedychium coronarium* J. König), taboa (*Typha angustifolia* L.) e papiro (*Cyperus giganteus*), em três taxas de aplicação de lodo da Estação de Tratamento de Esgoto de Goiânia, na redução de coliformes termotolerantes e de ovos viáveis de helmintos e no desaguamento do lodo. Realizar a caracterização do lodo e avaliar a qualidade do filtrado, bem como investigar a ocorrência de liberação de substâncias excretadas pelas raízes das macrófitas, que possam auxiliar na redução dos patógenos. O experimento foi conduzido na ETE Goiânia (GO). Para avaliação da redução dos patógenos, desaguamento do lodo e avaliação do filtrado foram utilizados 12 contenedores plásticos de 1 m³ cada, preenchidos com meio suporte contendo 5 cm de brita nº 1, manta geotextil e 20 cm de areia. Na brita foi instalado um sistema de drenagem de gases, constituído por um tubo de PVC de 25 mm de diâmetro, em formato de “ele”, cuja parte horizontal foi perfurada com furos de 4 mm de diâmetro. Na areia foram plantadas mudas das espécies vegetais, oito mudas por contenedor. Três contenedores não foram plantados, servindo de tratamento testemunha. Nos contenedores o lodo foi aplicado em taxas de 43, 140 e 248 kg ST m⁻² ano, perfazendo as taxas de 20, 70 e 120 L m⁻² semana, respectivamente. As aplicações do lodo foram realizadas duas vezes por semana, metade na terça-feira e metade sexta-feira. Após três meses de aplicação, foram realizadas coletas do lodo desaguado a cada 14 dias, e enviadas ao laboratório para realização das análises de sólidos totais, coliformes termotolerantes e ovos viáveis de helmintos. Durante três semanas foi coletado o filtrado de cada contenedor para realização das análises de sólidos totais e coliformes termotolerantes. Para investigação da liberação de toxinas pelas macrófitas foram utilizados quatro baldes de 20 L contendo meio suporte de areia lavada. Os baldes foram plantados com cada espécie de macrófita e um não foi plantado. As macrófitas plantadas nos baldes foram irrigadas com água sem cloro durante quatro meses, mantendo-se o nível de água a 5 cm da superfície do substrato. Após esse período foram coletados 2 L de amostra de efluente de cada balde e enviadas para o laboratório de pesquisa de produtos naturais para a realização de ensaios de investigação de atividade antimicrobiana. Os resultados foram analisados pelo *Statistical Analysis System (SAS)*, realizando-se os testes F e de Tukey – Kramer, a 5% de probabilidade. No filtrado não houve diferença significativa na remoção de sólidos totais e coliformes termotolerantes nas taxas 70 L m⁻² semana e 120 L m⁻² semana e a taxa 20 L m⁻² semana não apresentou filtrado. No lodo não houve diferença significativa na remoção de coliformes termotolerantes, ovos viáveis de helmintos e concentração de sólidos entre os tratamentos. A concentração de sólidos totais foi menor na taxa de aplicação de 120 L m⁻² semana. O desenvolvimento das plantas foi prejudicado pela aplicação do lodo e na taxa 120 L m⁻² semana, após 3 meses de aplicação, as espécies vegetais taboa e papiro morreram. Os extratos encontrados na água em contato com as raízes das macrófitas não inibiram a atividade microbiana. O lodo submetido ao tratamento do tipo leito de macrófitas atende à Resolução Conama 375 para o lodo tipo A para ovos viáveis de helmintos e lodo tipo B para coliformes termotolerantes.

Palavras-chave: zona de raízes, desaguamento de lodo, atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

BUFÁIÇAL, D. S. S. Efficiency of constructed wetlands on removing helminths eggs and thermotolerant coliforms and sewage sludge dewatering. 2010. 92 p. Dissertation (Masters in Environmental Engineering) – School of Civil Engineering, Masters Program in Environmental Engineering, Federal University of Goiás, Goiânia, 2010.

This study aimed to evaluate the efficiency of a constructed wetlands planted with the vegetal species white ginger (*Hedychium coronarium* J. König), narrow leaf cattail (*Typha angustifolia* L.) and papyrus sedge (*Cyperus giganteus*) under three charges application of the sludge from the sewage treatment station of Goiânia, Goiás, Brazil, in the reduction of thermotolerant coliforms and viable helminths eggs and sludge dewatering. It also aimed to characterize the sludge and to evaluate the quality of the filtrate, and to investigate the occurrence of substances excreted by the macrophytes roots, which may help reduce pathogens. The experiment was conducted at the Goiânia sewage treatment station. To evaluate the reduction of pathogens, the sludge dewatering and the filtrate quality were used 12 plastic containers, each one with 1 m³ of volumetric capacity, filled with support media containing 5 cm of gravel number one, a geotextile blanket and 20 cm of sand. In the gravel was installed a drainage system of gases, consisting of a PVC tube with 25 mm in diameter, in an "L" format, whose horizontal portion was drilled with holes of 4 mm in diameter. The sludge was applied at application rates of 43, 140 and 248 kg TS m⁻² year, bringing the rates of 20, 70 and 120 L m⁻² week, respectively. The applications of sludge were divided into two times a week, half on Tuesdays and half on Fridays. After three months of application, samples were taken from the dewatered sludge every 14 days, and sent to the laboratory for solids, thermotolerant coliforms and viable helminths eggs determination. During three weeks the filtrate was collected in each container and submitted to analysis of solids and thermotolerant coliforms. To investigate the release of toxins by macrophytes roots were used four 20 L buckets containing sand as support medium. Three buckets were planted with the species of macrophytes and one wasn't planted. The buckets were irrigated with dechlorinated water for four months, keeping the water level inside the buckets at 5 cm from the substrate surface. After this period 2 L samples of effluent from each bucket were collected and sent to the laboratory to investigate the antimicrobial activity. The results were analyzed using the Statistical Analysis System (SAS), performing F and Tukey – Kramer (5% probability) tests. About the filtrate there was no significant difference in the removal of solids and thermotolerant coliforms in the rates of 70 L m⁻² week and 120 L m⁻² week. At the rate of 20 L m⁻² week there was no filtrated material. For the dewatered sludge there was no significant difference in the removal of thermotolerant coliforms, viable helminths eggs and solids concentration among the treatments. The total solids were lower at the application rate of 120 L m⁻² week. Plant development was hampered by sludge application and at the application rate of 120 L m⁻² week, the species narrow leaf cattail and papyrus sedge had died after three months of sludge application. The extracts found at the water in contact with the macrophytes roots didn't inhibit microbial activity. The dewatered sludge treated by the constructed wetlands attended the 375 Conama Resolution for type A sludge for viable helminthes eggs and for type B sludge for thermotolerant coliforms.

Keywords: root zone, sludge dewatering, antimicrobial activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Percentual de pessoas em domicílios particulares permanentemente urbanos com esgotamento por rede coletora ou fossa séptica, segundo regiões geográficas, 1992 e 2007.....	24
Figura 2	Ovo viável de helminto em estágio avançado de formação da larva.....	26
Figura 3	Estrutura de leito de macrófitas de fluxo vertical.....	30
Figura 4	Variedades de macrófitas passíveis de utilização no tratamento de esgotos.....	31
Figura 5	Detalhe da rizosfera e do transporte de oxigênio pelas raízes.....	32
Figura 6	Toxinas produzidas por plantas como mecanismo de defesa.....	34
Figura 7	Localização da Estação de Tratamento de Esgoto de Goiânia, onde foi realizada a pesquisa de tratamento de lodo em leito de macrófitas.....	40
Figura 8	Fluxograma da Estação de Tratamento de Esgoto de Goiânia.....	42
Figura 9	Localização dos contenedores utilizados na pesquisa dentro da ETE.....	43
Figura 10	Procedimento experimental de amostragem do lodo não desaguado.....	45
Figura 11	Contenedor utilizado para montagem do meio suporte e disposição do lodo.....	46
Figura 12	Esquemas dos contenedores utilizados na pesquisa.....	46
Figura 13	Tubo perfurado na parte horizontal utilizado na drenagem de gases dos leitos de macrófitas.....	47
Figura 14	Espécies vegetais plantadas nos contenedores com sistema leitos de macrófitas para tratamento de lodo de esgoto.....	48
Figura 15	Aplicação do lodo nos contenedores por um funcionário da ETE.....	49
Figura 16	Esquema de aplicação semanal do lodo nos contenedores.....	50
Figura 17	Etapas da montagem do meio suporte e plantio das mudas para investigação de presença de substância antibacteriana na água em contato com as macrófitas.....	53
Figura 18	Microplaca utilizada na investigação de atividade antibacteriana com esquema geral após diluições e inoculações.....	56
Figura 19	Desenvolvimento das macrófitas, papirus (a,b,c), taboa (d,e, f) e lírio (g, h, i) após o primeiro mês de aplicação do lodo para as diferentes taxas de aplicação.....	66
Figura 20	Desenvolvimento das macrófitas, papirus (a,b,c), taboa (d, e, f) e lírio (g, h, i) após o segundo mês de aplicação do lodo para as diferentes taxas de aplicação.....	67
Figura 21	Desenvolvimento das macrófitas, papirus (a,b,c), taboa (d, e, f) e lírio (g, h, i) após o terceiro mês de aplicação do lodo para as diferentes taxas de aplicação.....	68
Figura 22	Desenvolvimento de plantas invasoras nos contenedores.....	69
Figura 23	Atividade microbiana na placa com concentrações de inóculo do extrato proveniente da água em contato com o papirus.....	70
Figura 24	Atividade microbiana na placa com concentrações de inóculo do extrato proveniente da água em contato com o lírio.....	70
Figura 25	Atividade microbiana na placa com concentrações de inóculo do extrato proveniente da água em contato com a taboa.....	71
Figura 26	Atividade microbiana na placa com concentrações de inóculo do extrato proveniente da água do balde não plantado coletada na data 14/05/2010.	71
Figura 27	Atividade microbiana na placa com concentrações de inóculo do extrato proveniente da água do balde não plantado coletada na data 31/06/2010.	72

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Requisitos mínimos de qualidade do lodo de esgoto ou produto derivado para que possa ser destinado à agricultura	28
Quadro 2	Plano de amostragem do lodo não desaguado, para fins de análises de caracterização	44
Quadro 3	Plano de amostragem do lodo desaguado nos contenedores	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Níveis de atendimento com água e esgotos dos prestadores de serviços participantes do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento em 2007, segundo a região geográfica.....	23
Tabela 2	Contribuição diária de despejos e de carga orgânica de lodo de acordo com o tipo de fonte geradora.....	25
Tabela 3	Concepções e condições de funcionamento de dois locais para tratamento de lodo em leito de macrófitas de fluxo vertical.....	38
Tabela 4	Dados meteorológicos observados no período do experimento.....	41
Tabela 5	Características microbiológicas do lodo da ETE Goiânia, desaguado em centrífugas, anteriormente a adição de cal.....	42
Tabela 6	Caracterização do lodo primário coletado da elevatória da ETE Goiânia no período de realização do experimento.....	57
Tabela 7	Qualidade do esgoto filtrado em leito de macrófitas.....	59
Tabela 8	Valores médios, de coliformes termotolerantes e sólidos totais, verificados no esgoto filtrado, no tratamento de lodo da ETE Goiânia em leito de macrófitas, em duas taxas de aplicação de lodo.....	61
Tabela 9	Qualidade do lodo desaguado nos contenedores de um sistema de tratamento do tipo leito de macrófitas.....	63
Tabela 10	Valores médios, de coliformes termotolerantes, ovos viáveis de helmintos e sólidos totais, verificados no lodo primário tratado em leitos de macrófitas, com três taxas de aplicação de lodo.....	64
Tabela 11	Valores médios, de coliformes termotolerantes, ovos viáveis de helmintos e sólidos totais, verificados no lodo primário tratado em leitos de macrófitas, com três espécies vegetais.....	65
Tabela 12	Quantidade dos extratos obtidos na investigação de presença de substância antibacteriana na água em contato com as macrófitas.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas

ATCC: *American Type Culture Collection*

CIM: Concentração Inibitória Mínima

CLSI: *Clinical and Laboratory Standard Institute*

CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente

DBO₅: Demanda Bioquímica de Oxigênio, medida a cinco dias e 20°C (mg O₂.L⁻¹)

DMSO: Dimetilsulfóxido

DQO: Demanda Química de Oxigênio (mg O₂.L⁻¹)

EPIs: Equipamentos de Proteção Individual

ETE: Estação de Tratamento de Esgotos

ETEs: Estações de Tratamento de Esgotos

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IPEA: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada

LM: Leito de Macrófita

LMs: Leitos de Macrófitas

MH: Muller Hinton

MS: Massa Seca

NBR: Norma Brasileira

NMP: Número Mais Provável

PAC: Plano de Aceleração do Crescimento

PVC: Cloreto de Polivinila

RPM: Rotações por Minuto

SANEAGO: Saneamento de Goiás S.A.

SNIS: Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento

SS: Sólidos Suspensos

ST: Sólidos Totais

TTC: Trifenil Tetrazolium

UASB: Digestor Anaeróbio de Fluxo Ascendente

UFC: Unidade Formadora de Colônia

UFG: Universidade Federal de Goiás

USEPA: *United States Environmental Protection Agency*

UV: Ultra Violeta

LISTA DE SÍMBOLOS

%: Percentagem

µg: Micrograma

µg: Micrograma

cm: Centímetro

d: Dia

g: Grama

h: Hora

kg: Quilograma

L: Litro

m: Metro

m²: Metro quadrado

m³: Metro cúbico

mg: Miligrama

min: Minuto

mL: Mililitro

mm: Milímetro

NaCl: Cloreto de Sódio

nm: Nanômetro

nº: Número

NO₃⁻: Nitrato

O₂: Oxigênio

°C: Grau Celsius ou Centígrado

t: Tonelada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
1.2	JUSTIFICATIVA.....	20
1.3	OBJETIVOS.....	20
1.3.1	Objetivo Geral.....	20
1.3.2	Objetivos Específicos.....	20
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
2.1	PRODUÇÃO DE LODO.....	22
2.2	QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DOS LODOS.....	25
2.3	TRATAMENTO DE LODO EM LEITO DE MACRÓFITAS.....	29
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3.1	LOCALIZAÇÃO DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO DE GOIÂNIA E DADOS METEOROLÓGICOS NO PERÍODO DO EXPERIMENTO.....	40
3.2	CARACTERIZAÇÃO DO LODO.....	43
3.3	MONTAGEM DO MEIO SUPORTE E PLANTIO DAS MUDAS.....	45
3.4	APLICAÇÃO DO LODO.....	49
3.5	AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO FILTRADO.....	51
3.6	AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO LODO DESAGUADO.....	51
3.7	INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DE SUBSTÂNCIA ANTIBACTERIANA NA ÁGUA EM CONTATO COM AS MACRÓFITAS.....	52
3.7.1	Partição das amostras.....	54
3.7.2	Determinação da Concentração Inibitória Mínima.....	54
3.8	ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	56
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	57
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO LODO.....	57
4.2	QUALIDADE DO ESGOTO FILTRADO.....	58
4.3	QUALIDADE DO LODO DESAGUADO NOS CONTENEDORES.....	62
4.4	DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS.....	65
4.5	INVESTIGAÇÃO DE PRESENÇA DE SUBSTÂNCIA ANTIBACTERIANA NA ÁGUA EM CONTATO COM AS RAÍZES DAS MACRÓFITAS.....	69
5	CONCLUSÕES.....	73

6	RECOMENDAÇÕES.....	74
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75
8	REFERÊNCIAS	76
	APÊNDICE A	82
	ANEXO A – Determinação de Coliformes Termotolerantes em amostra de lodo e esgoto	83
	ANEXO B – Determinação de ovos viáveis de helmintos em lodo de esgoto	86
	ANEXO C – Determinação de sólidos totais em amostra de esgoto	89
	ANEXO D – Atividade Antibacteriana – Determinação da concentração inibitória mínima (CMI)	90

1 INTRODUÇÃO

As atividades humanas produzem resíduos líquidos, dentre os principais o esgoto doméstico, que se não tratados, ou tratados inadequadamente, poluem águas superficiais e subterrâneas. O tratamento destes, que normalmente envolve processos físicos, químicos e biológicos, necessita de rede coletora de esgoto e produz resíduos, no entanto, é indispensável para a preservação de ecossistemas aquáticos, a prevenção de doenças de veiculação hídrica e para preservar os pontos de abastecimento de água para uso doméstico, industrial e agrícola.

O setor de saneamento enfrenta dificuldades crescentes com o gerenciamento de resíduos gerados nos processos de tratamento de esgoto. Durante os últimos anos vem sendo realizados investimentos no Brasil visando a ampliação destes serviços, atendendo a pressões cada vez maiores da sociedade e das agências ambientais pela preservação ambiental, qualidade de vida e bem estar social (ANDREOLI; PEGORINI, 2006).

O lodo produzido em Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs) é um resíduo que necessita de uma adequada disposição final para não causar problemas ambientais. Embora represente apenas de 1% a 2% do volume de esgoto tratado, a produção de lodos já se tornou um problema, que pode representar de 40% a 60% dos custos operacionais de uma ETE (ANDREOLI; PEGORINI, 2003).

Uma das alternativas para a disposição do lodo pode ser o transporte para aterros sanitários para a co-disposição com os resíduos sólidos urbanos. No entanto, a realidade de grande parte dos municípios no Brasil é a inexistência de local adequado para disposição de seus resíduos sólidos, inviabilizando essa alternativa para o setor de saneamento. Por outro lado, a maioria dos sistemas de tratamento de esgotos existentes não contemplou o tratamento desse resíduo visando à reciclagem. Assim, os lodos têm sido dispostos em aterros ou lixões, ou têm se acumulado nas áreas das ETEs. Outra forma passível de disposição do lodo é a utilização na agricultura, desde que não ofereça riscos à saúde e ao meio ambiente.

A crescente produção de lodo devido à implantação de novas ETEs, bem como provenientes de fossas sépticas, causa preocupação em relação ao tratamento e disposição adequada destes resíduos.

A Resolução nº 375 (CONAMA, 2006) estabelece parâmetros de qualidade para a utilização agrícola do lodo, bem como faz referência a alguns processos de

redução de patógenos como: compostagem, tratamento térmico, digestão aeróbia e irradiação com raios Beta. Dentre os processos de higienização existentes, o tratamento alcalino com a utilização da cal (denominado calagem ou estabilização química), também tem demonstrado eficiência na remoção de patógenos.

Apesar do conhecimento dos tratamentos, os lodos provenientes de sistema de tratamento de esgotos são muitas vezes dispostos em solo agrícola sem nenhum tratamento de higienização, podendo causar contaminação dos solos e de mananciais. A Resolução nº 375 (CONAMA, 2006) estabelece que apenas o lodo tipo A, cuja concentração de patógenos não ofereça riscos ambientais, poderá ser utilizado na agricultura brasileira a partir de 2011.

Os processos usuais de higienização do lodo são dispendiosos, fora da realidade econômica do país, o que torna necessário o desenvolvimento de tecnologias que sejam eficientes, mas, que necessitem de baixos investimentos para implantação e operação.

Uma alternativa é o tratamento do lodo em leitos de macrófitas, que resulta de reações físicas, químicas e biológicas que ocorrem nos leitos devido à presença do meio suporte, das comunidades bacterianas e das plantas que liberam toxinas e oxigênio no meio.

O sistema de tratamento do tipo leito de macrófitas (LM), tem sido amplamente utilizado para tratamento de efluentes líquidos desde a década de 60. No entanto, somente em 1988 é que foi aplicado ao tratamento de lodos, nos Estados Unidos, num sistema experimental que, posteriormente, foi ajustado para tratar 5 m³ de lodo por dia (KADLEC; KNIGHT, 1996).

Desde então, a utilização desse sistema tem sido pesquisada em diversos países, apresentando eficiências satisfatórias com baixo custo de implantação e operação, além de possibilitar o tratamento dos resíduos de forma descentralizada.

Diversos autores defendem a viabilidade do uso de sistemas descentralizados de tratamento de esgotos, como uma alternativa frente à construção de grandes e caras ETEs. Os sistemas de tratamento descentralizados são instrumentos para o desenvolvimento sustentável da sociedade, explicitando um caminho para a construção de sociedades responsáveis (PHILIPPI, 2000).

Apesar do Brasil possuir uma grande variedade de macrófitas e clima favorável ao seu desenvolvimento, até o presente momento não se tem conhecimento de pesquisas com a utilização de leito de macrófitas no tratamento de lodo no país.

Acredita-se que a utilização dessa tecnologia possa trazer benefícios econômicos e ambientais ao país. Embora os estudos em outros países apresentem eficiências satisfatórias para redução de patógenos e desaguamento do lodo, é preciso adequar o sistema de leito de macrófitas às características do lodo e às condições climáticas específicas de cada localidade.

Sendo assim, o presente estudo visa avaliar a eficiência do sistema leito de macrófitas na redução de patógenos e no desaguamento do lodo proveniente da Estação de Tratamento de Esgotos Hélio Seixo de Britto (ETE Goiânia), utilizando plantas macrófitas regionais, com o fim de estabelecer critérios para a utilização desse sistema para o tratamento de lodos na região.

1.2 JUSTIFICATIVA

Este trabalho se justifica por buscar um sistema alternativo de higienização do lodo de esgoto que seja eficiente, econômico e de simples operação.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

O presente trabalho objetivou avaliar a eficiência do sistema de tratamento do tipo leito de macrófitas na redução de patógenos e no desaguamento do lodo do decantador primário da Estação de Tratamento de Esgotos de Goiânia (ETE Goiânia).

1.3.2 Objetivos Específicos

Especificamente objetivou:

- a) Realizar a caracterização do lodo primário da ETE Goiânia.
- b) Avaliar a eficiência de três espécies vegetais, na redução de coliformes termotolerantes e de ovos viáveis de helmintos, em três taxas de aplicação do lodo do decantador primário da ETE Goiânia, num sistema do tipo leito de macrófitas;
- c) Avaliar a influência de três espécies vegetais, no desaguamento do lodo do decantador primário da ETE Goiânia;

d) Verificar se o lodo do decantador primário da ETE Goiânia, submetido a tratamento num sistema do tipo leito de macrófitas, atende ao estabelecido pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente, para a disposição de resíduos no solo;

e) Avaliar a qualidade do filtrado resultante do tratamento do lodo do decantador primário da ETE Goiânia, num sistema do tipo leito de macrófitas;

f) Observar o desenvolvimento das plantas durante o período aplicação do lodo.

g) Investigar a ocorrência de liberação de substâncias excretadas pelas raízes das macrófitas, que possam auxiliar na redução dos patógenos do lodo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PRODUÇÃO DE LODO

Segundo Van Haandel e Pedro (2006), o tratamento de lodo de Estações de Tratamento de Esgoto, vem ganhando cada vez mais expressão no Brasil, devido ao aumento do número de estações instaladas e a necessidade de se atender às exigências ambientais. Os lodos gerados nos processos de tratamento de esgotos são: o lodo primário, representando os sólidos gerados por processo de tratamento primário do esgoto (material sedimentável no esgoto bruto), e o lodo secundário, gerado por processo secundário de tratamento do esgoto, também denominado processo biológico, com alto teor de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo.

De acordo com a Saneago (2009a), em Goiânia há cinco estações de tratamento de esgotos em funcionamento. A maior delas, a ETE Dr. Hélio de Seixo Brito, também conhecida como ETE Goiânia, atende 50% da população operando com uma vazão média de 1.200 L s^{-1} e eficiência média de 50%. A produção de lodo é de 80 t diárias, com teor de sólidos de 35% (mais informações ver item 3.1).

Nas ETEs de menor porte, localizadas na grande Goiânia, a produção de lodo é menos frequente e com menor volume, porém, não menos preocupante. Na ETE Lajes, localizada em Aparecida de Goiânia e operada com vazão média afluente de 20 L s^{-1} , composta por dois reatores anaeróbios, o descarte de lodo é realizado de forma alternada, ou seja, num mês descarta-se de um reator e no próximo, do segundo. Em cada descarte são retirados 113 m^3 de lodo com teor de sólidos de 7%. Este lodo é direcionado para leitos de secagem e depois de desaguado gera um volume de 30 m^3 , com teor de sólidos de 43% (SANEAGO, 2009a). Já na ETE Campos Dourados, que trabalha com vazão média afluente de 4 L s^{-1} e é composta por reator digestor anaeróbio de fluxo ascendente (UASB), biofiltro aerado submerso, decantador secundário e lâmpada ultra violeta (UV), para desinfecção do efluente, retiram-se em média* $25,5 \text{ m}^3$ de lodo por ano do decantador.

À medida que cresce o percentual da população atendida por sistema de tratamento de esgoto, eleva-se a produção de lodo. Esta crescente produção de lodo tem levado ao desenvolvimento de novos processos de tratamento de lodos, de modo a

*Valor estimado baseado nas primeiras retiradas de lodo da ETE, que iniciou o descarte em 2009.

atender aos requisitos ambientais, de segurança e saúde pública, determinados pelo Conama.

O último levantamento do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SINIS), que considera a população total e os índices médios de atendimento da população com serviços de saneamento, verificou índice de 42% para coleta de esgotos e, 32,5% para tratamento de esgotos gerados (BRASIL, 2007). No caso do tratamento de esgotos, houve um pequeno acréscimo de 0,3% em relação ao ano de 2006, que apresentou um índice de 32,2%. Segundo o Instituto de Pesquisa Econômica e Aplicada (IPEA, 2007), essa melhoria nos indicadores reflete a maturação e a ampliação dos investimentos em saneamento. Com o aumento substancial no montante de recursos destinados a saneamento básico previsto pelo Plano de Aceleração do Crescimento (PAC) de R\$ 40 bilhões entre 2007 e 2010, é de se esperar que os indicadores de esgoto venham a apresentar melhorias ainda mais significativas nos próximos anos.

É importante destacar os índices de atendimento de coleta e tratamento de esgotos para a população total verificado pelo SNIS, segundo a distribuição por regiões geográficas, de acordo com o qual a Região Centro-Oeste possui o segundo melhor índice brasileiro de atendimento para coleta de esgotos, e o primeiro para tratamento dos esgotos gerados - Tabela 1 (BRASIL, 2007).

Tabela 1 Níveis de atendimento com água e esgotos dos prestadores de serviços participantes do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento em 2007, segundo as regiões geográficas.

Regiões	Índice de Atendimento (%)	
	Coleta de esgotos	Tratamento dos esgotos gerados
Norte	5,1	9,6
Nordeste	18,9	29,8
Sudeste	65,3	33,8
Sul	31,5	29,5
Centro-Oeste	43,9	41,8

Fonte: Brasil (2007).

Ressalte-se que os dados do SNIS são fornecidos por prestadores de serviços de abastecimento de esgoto sanitário atuantes em todos os estados e no Distrito Federal, e que, portanto, não consideram outras formas de disposição do esgoto que não as estações de tratamento (BRASIL, 2007). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia

e Estatística (IBGE, 2006), 9,56% dos domicílios particulares permanentes de Goiás são atendidos por serviços de fossa séptica.

De acordo com o IPEA (2007), no que tange ao acesso a esgotamento sanitário do tipo rede geral de esgoto ou fossa séptica, a região que apresenta o pior desempenho é o Centro-Oeste, onde pouco mais de 52% da população urbana possui algum tipo de tratamento de esgoto, enquanto a cobertura no Nordeste é de 68,4%, no Norte é de 64%; e no Sul acima de 85% (Figura 1). Isso se deve ao fato de muitos recorrerem a soluções não adequadas, tais como: fossas rudimentares, valas e despejo do esgoto diretamente nos rios e lagos.

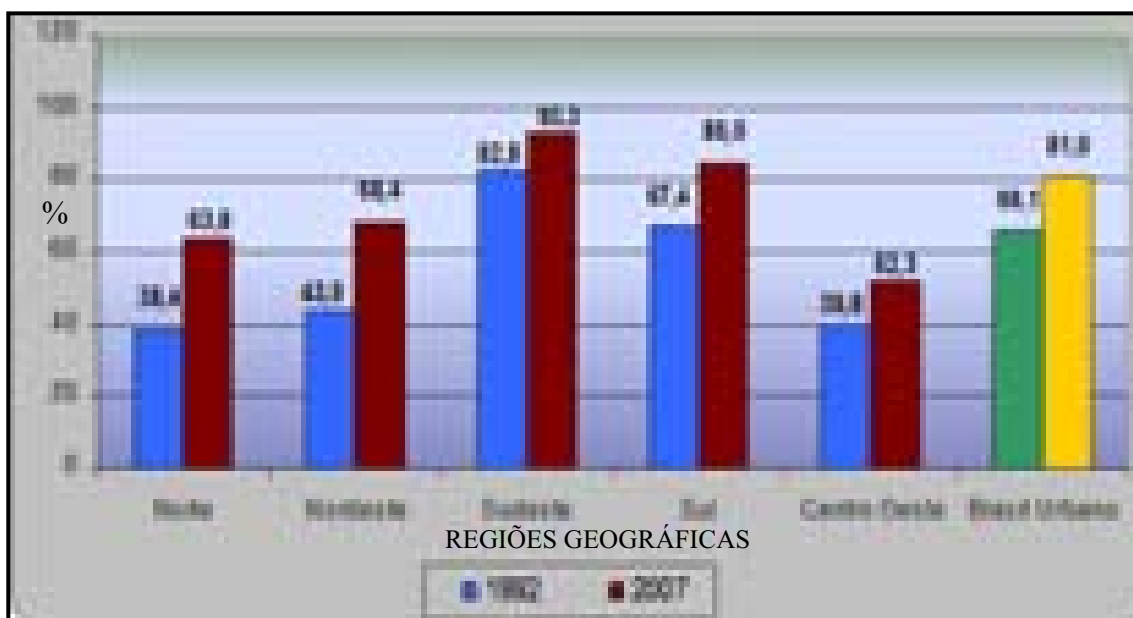


Figura 1 Percentual de pessoas em domicílios particulares permanentemente urbanos com esgotamento por rede coletora ou fossa séptica, segundo regiões geográficas, em 1992 e 2007 (IPEA, 2007).

É necessário que os lodos gerados nas ETEs e nas fossas sépticas sejam destinados adequadamente, a fim de minimizar os impactos ambientais causados pela produção do esgoto.

A norma brasileira NBR 7.229 (ABNT, 1993) estima a taxa de produção de lodo em fossa séptica de acordo com o tipo de efluente da fonte geradora. A taxa de acumulação do lodo é uma função do volume de lodo digerido e dos intervalos entre limpezas. Na Tabela 2 tem-se a contribuição diária de despejos e de carga orgânica produzida de lodo, em função da fonte geradora.

Tabela 2 Contribuição diária de despejos e de carga orgânica de lodo de acordo com o tipo de fonte geradora.

Prédio	Unidade	Contribuição		
		Despejo (L d ⁻¹)	Lodo fresco (L d ⁻¹)	Carga Orgânica DBO (g d ⁻¹)
Ocupantes permanentes				
Padrão alto	pessoa	160	1	50
Padrão médio	pessoa	130	1	45
Padrão baixo	pessoa	100	1	40
Hotéis (sem cozinha e lavanderia)	pessoa	100	1	30
Alojamentos provisórios	pessoa	80	1	30
Ocupantes temporários				
Fábricas em geral	pessoa	70	0,30	25
Escritórios	pessoa	50	0,20	25
Edifícios públicos ou comerciais	pessoa	50	0,20	25
Escolas – externatos e locais de longa permanência	pessoa	50	0,20	20
Restaurantes e similares	refeição	25	0,10	25
Cinemas, teatros e locas de curta permanência	pessoa	2	0,02	1
Sanitários públicos ¹	bacia sanitária	480	4	120

¹ apenas de acesso aberto ao público (estação rodoviária, ferroviária, logradouro público, estádio de esportes, locais para eventos, etc) Fonte: (ABNT, 1993).

2.2 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DOS LODOS

Nos esgotos sanitários, geralmente estão presentes cinco principais grupos de organismos patogênicos: helmintos, protozoários, bactérias, vírus e fungos. Estes microorganismos aderem às partículas sólidas durante o tratamento do esgoto, e são removidos junto com o lodo (ANDREOLI; LEITE; MARIA, 2006).

Segundo USEPA (1992, apud BONNET; LARA; DOMASZAK, 2000), dentre os helmintos mais frequentes em lodos de esgoto estão: *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris suum*, *Toxocara* sp. *Trichuris trichiura*, *Taenia solium*, *T. saginata*, *Necator americanus* e *Hymenolepis nana*. Os agentes bacterianos mais frequentes são: *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Leptospira* sp.

Em relação aos ovos de helmintos, não basta apenas avaliar-se o aspecto quantitativo de sua presença nos resíduos. Também o aspecto qualitativo, referente à viabilidade destes, adquire grande relevância do ponto de vista epidemiológico.

Segundo Koneman et al. (2001), os ovos viáveis medem cerca de 60 x 45 µm, são amarelos-amarronzados (corados com biliar), ovais ou esféricos e tipicamente possuem envoltório hialino, transparente e espesso, coberto por uma camada albuminosa. Os ovos embrionários em estágio avançado de formação de larvas apresentam-se descorticados, ou seja, desprovidos da camada albuminosa.

A Figura 2 apresenta um ovo viável de helminto em estágio avançado de formação da larva.



Figura 2 Ovo viável de helminto em estágio avançado de formação da larva (SOUZA et al., 2007).

A viabilidade de um ovo de helminto é uma característica de primordial importância, já que de acordo com o ciclo de vida da maioria destes parasitas, os ovos fertilizados que são eliminados nas fezes do hospedeiro não serão infecciosos até que se tornem embriões ativos. Ou seja, não são capazes de causar enfermidade até que se transformem, dentro do ovo, em larvas de segundo estágio. Somente esses ovos, ao serem ingeridos por um novo hospedeiro, liberam suas larvas no intestino delgado e continuam seu ciclo normal para formar parasitas adultos. A etapa de desenvolvimento, desde o embrião até a larva infectiva, ocorre no solo ou nos cultivos, sendo que esta capacidade infectiva pode permanecer latente durante anos, se as condições ambientais forem adequadas (GALVÁN; VICTORICA, 1998 apud ZERBINE; CHERNICHARO; VIANA, 1999).

De acordo com estudos da Agência Americana de Proteção Ambiental (USEPA, 1985), o tempo de sobrevivência máximo comum de patógenos no solo é de até 75 dias para bactérias e dois anos para ovos de helmintos. Para este último grupo, o tempo máximo pode chegar a sete anos, o que o torna o grupo de agentes patogênicos de maior preocupação.

Segundo Bonnet; Lara e Domaszak (2000), a persistência de patógenos no solo é diretamente influenciada pelas condições ambientais. A perda de umidade eventualmente destrói ovos de helmintos, mas algumas formas e particularmente *Ascaris spp.*, são notavelmente resistentes à dessecação. As bactérias são organismos típicos mais frágeis, e sua incidência é fortemente reduzida pela radiação solar e pelo desaguamento do lodo.

Andreoli; Ferreira e Chernicharo (2003) citaram resultados de pesquisas em que foram submetidos ovos de *Ascaris suum* e *Ascaris Lumbricoides* às temperaturas de 22, 30 e 40°C e que estes foram inativados à temperatura de 30°C, após um período de 14 dias em meio alcalino (pH=11,9), e a 40° C, após 7 dias em meio alcalino ou neutro.

Estudos desenvolvidos por Comparini (2001), que partiu do princípio da perda de umidade do lodo para a redução da concentração de microrganismos, indicaram resultados bastante expressivos com a secagem em estufas agrícolas para higienização do lodo. Com a secagem natural o lodo perde uma percentagem muito grande de umidade, reduzindo também os ovos de helmintos e coliformes termotolerantes (PEIXOTO et al., 2005).

A influência do clima e da estação do ano na redução da umidade e na redução significativa dos ovos de helmintos foi verificada em várias pesquisas relativas aos processos de higienização de lodo no sul, sudeste e nordeste do Brasil (PEGORINI; HARTMANN; ANDREOLI, 2007).

A quantidade de patógenos presentes no lodo de esgoto de uma determinada localidade é bastante variável, e depende das condições sócio-econômicas da população, da região geográfica e do tipo de tratamento a que o esgoto foi submetido (SOCCOL; PAULINO; CASTRO, 2000).

Segundo Godinho; Chernicharo e Honório (2003), uma fêmea de *Ascaris* pode eliminar cerca de 200 mil ovos, ou mais por dia que, somados à frequência de parasitismo da população, grande tempo de sobrevivência no meio externo e as condições precárias de saneamento da população, torna a ascaridíase uma das helmintoses mais disseminadas no mundo.

A norma brasileira NBR 10.004 (ABNT, 2004), que trata da classificação dos resíduos sólidos, exclui o lodo gerado em ETEs da classe dos resíduos perigosos. Segundo a Resolução nº 375 (CONAMA, 2006), por se tratar de um lodo que constitui fonte de matéria orgânica e de nutrientes para as plantas, sua aplicação no solo pode trazer benefícios à agricultura. No entanto, o lodo pode conter concentrações de patógenos nocivas à saúde e ao meio ambiente, o que exige cuidados no seu manuseio e utilização, só podendo ser utilizado após higienização adequada.

A aplicação do lodo de esgoto no solo depende das condições de segurança ambiental e sanitária. Por isso, o monitoramento dos patógenos no lodo e nos solos fertilizados é fundamental a um plano de valorização agrícola do lodo (BONNET; LARA; DOMASZAK, 2000).

A resolução nº 375 (CONAMA, 2006) estabelece requisitos mínimos para a utilização de lodos para fins agrícolas. Esses requisitos de qualidade do lodo estão relacionados aos limites de algumas substâncias inorgânicas (arsênio, bário, cádmio, chumbo, cobre, mercúrio, molibdênio, níquel, selênio e zinco) e da concentração de patógenos (coliformes termotolerantes, ovos viáveis de helmintos, salmonella e vírus entéricos). Essa resolução classifica o lodo em “A” e “B”, segundo a concentração de patógenos (Quadro 1), e estabelece que, decorridos cinco anos a partir da data da resolução, somente será permitida a aplicação do lodo tipo “A”, mais restritivo, salvo propostas de novos critérios, que demonstrem a segurança do uso do lodo tipo “B”. Isso ressalta a necessidade de maiores pesquisas na área, fundamentadas nas condições e realidades locais, para garantir os aspectos sanitários e ambientais, o potencial agrônomo e a viabilidade econômica da reciclagem agrícola do lodo.

Quadro 1 Requisitos mínimos de qualidade do lodo de esgoto ou produto derivado de lodo, para que possa ser destinado à agricultura (CONAMA, 2006)

Tipo de lodo de esgoto ou produto derivado	Concentração de patógenos
A	Coliformes Termotolerantes $< 10^3$ NMP g ⁻¹ de ST Ovos viáveis de helmintos $< 0,25$ ovo g ⁻¹ de ST
B	Coliformes Termotolerantes $< 10^6$ NMP g ⁻¹ de ST Ovos viáveis de helmintos < 10 ovos g ⁻¹ de ST

A referida resolução estabelece os seguintes Processos de Redução Adicional de Patógenos (CONAMA, 2006):

- a) compostagem confinada ou em leiras aeradas (3 dias a 55°C no mínimo) ou com revolvimento das leiras (15 dias a 55°C no mínimo, com revolvimento mecânico da leira durante pelo menos 5 dias ao longo dos 15 dias do processo);
- b) secagem térmica direta ou indireta para reduzir a umidade do lodo de esgoto ou produto derivado a 10% ou menos, devendo a temperatura das partículas de lodo de esgoto ou produto derivado superar 80°C ou a temperatura de bulbo úmido de gás, em contato com o lodo de esgoto ou produto derivado no momento da descarga do secador, ser superior a 80°C;
- c) tratamento térmico pelo aquecimento do lodo de esgoto ou produto derivado líquido a 180°C, no mínimo, durante um período de 30 minutos;
- d) digestão aeróbia termofílica a ar ou oxigênio, com tempos de residência de 10 dias a temperaturas de 55°C a 60°C;
- e) processos de irradiação com raios Beta a dosagens mínimas de 1 megarad a 20°C, ou com raios Gama na mesma intensidade e temperatura, a partir de isótopos de Cobalto 60 ou Césio 137;
- f) processos de pasteurização, pela manutenção do lodo de esgoto ou produto derivado a uma temperatura mínima de 70°C, por um período de pelo menos 30 minutos.

Entretanto, muitas dessas técnicas não são acessíveis a regiões com pouco desenvolvimento. Por isso, o desafio consiste em conceber opções de tratamento do lodo de baixo custo e fácil operação, ao mesmo tempo em que garanta desempenho satisfatório (KOOTTATEP et al., 2004b).

O uso de LMs tem sido estudado em outros países, com o fim de viabilizar o tratamento de lodos com baixo custo em regiões com ausência de estrutura adequada para realizar algum processo já usual de redução de patógenos.

2.3 TRATAMENTO DE LODO EM LEITO DE MACRÓFITAS

Segundo Barreto (2005), os LMs são sistemas naturais de tratamento de efluentes líquidos, inspirados nas várzeas, que proporcionam remoção de matéria

orgânica e nutrientes. As várzeas são áreas de solo inundadas por águas superficiais ou subterrâneas onde estão plantas que se alimentam dos nutrientes presentes nesta água.

Ainda segundo o autor acima os LMs se classificam de acordo com o tipo de fluxo adotado: superficial, vertical e sub-superficial. Para se definir qual o tipo de fluxo que deve ser adotado pelo leito de macrófitas em uma determinada região, deve-se verificar o objetivo do tratamento (secundário ou terciário) e as condições locais de topografia, infra-estrutura e macrófitas disponíveis. No fluxo superficial, o líquido flui sobre uma área definida com uma lâmina que geralmente varia de 10 a 30 cm de altura. No fluxo sub-superficial semelhante a um filtro lento horizontal, o meio filtrante é o local onde se forma e desenvolve o biofilme, e onde as plantas se apóiam. O nível d'água sempre está abaixo da superfície do meio filtrante, fator que reduz a proliferação de insetos. No fluxo vertical o sistema é muito semelhante a um filtro de vazão vertical, preenchido com material filtrante, operado por batelada e nível d'água abaixo da altura da camada filtrante (BARRETO, 2005).

A Figura 3 apresenta a estrutura de um LM de fluxo vertical.

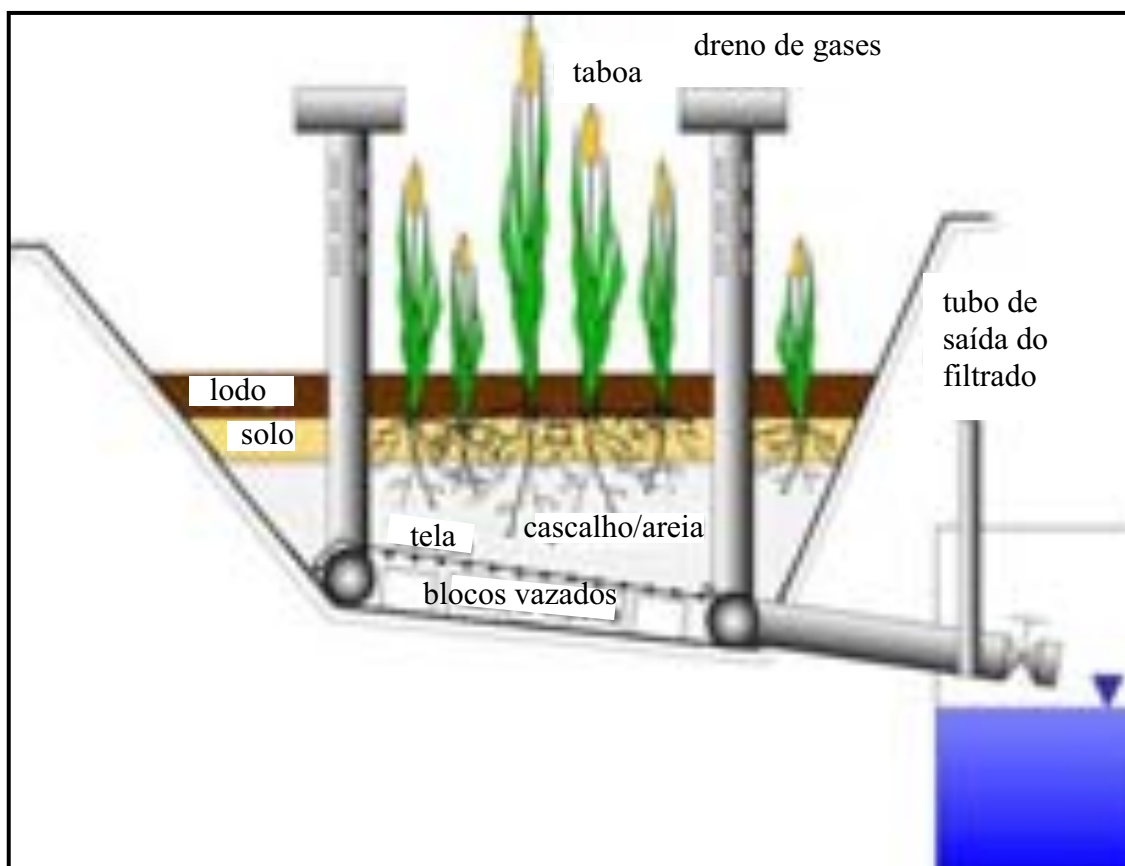


Figura 3 Estrutura de um leito de macrófitas de fluxo vertical (Adaptado de KOOTTATEP et al., 2002).

De acordo com Barreto (2005), as macrófitas são divididas em três tipos:

a) Flutuantes: podem estar fixadas ou não ao fundo e sua folhagem principal flutua na superfície da água, ex: *Nymphaea* sp., *Nymphoides* sp.

b) Submergentes: crescem sob a água e podem ou não estar fixas por raízes, ex: *Egeria densa*, *Mayaca* sp. *Utricularia* sp.

c) Emergentes: sua folhagem principal está em contato com o ar e as suas raízes estão fixadas ao solo, ex: *Hedychium coronarium* J. König, *Typha angustifolia* e *Cyperus giganteus*.

A Figura 4 apresenta algumas variedades de macrófitas passíveis de utilização no tratamento de esgotos.

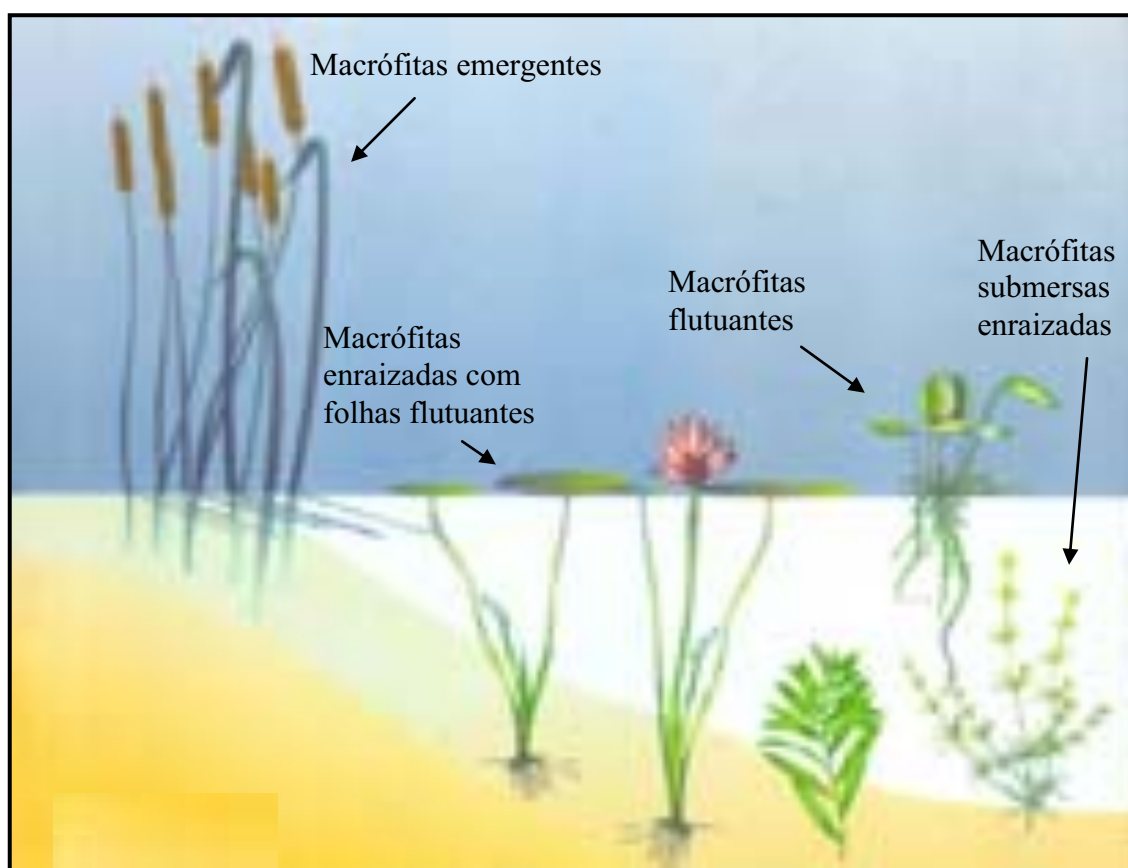


Figura 4 Variedades de macrófitas passíveis de utilização no tratamento de esgotos (Adaptado de BINI; THOMAZ, 2003).

Segundo Brix (1994), o tratamento de esgotos com plantas é o resultado das reações físicas, químicas e biológicas que ocorrem nos leitos por causa da presença do meio suporte, das comunidades bacterianas e das plantas (macrófitas). Entre estes itens, as bactérias merecem destaque, pois são os principais protagonistas da degradação da

matéria orgânica ainda presente no efluente, por meio de processos anaeróbios, anóxicos e aeróbios. Como o ambiente dos leitos cultivados é predominantemente anaeróbio, as condições aeróbias e anóxicas somente são conseguidas graças ao fornecimento de oxigênio pelas raízes das plantas.

O transporte do oxigênio para as partes inferiores das plantas serve para suprir a demanda respiratória dos tecidos das raízes e também para oxigenar a rizosfera (região no contorno das raízes). A presença de oxigênio nesta região cria condições de oxidação, que juntamente com as condições anóxicas aí presentes, estimulam a decomposição aeróbia do material orgânico e o desenvolvimento de bactérias. Portanto, além da liberação do oxigênio, outro processo importante que ocorre é a simbiose entre as plantas e os microrganismos na rizosfera. Nesta região ocorre a justaposição de uma zona aeróbia com outra anóxica (contém a presença de nitrato), envoltas em uma grande zona anaeróbia (Figura 5). Assim, tem-se o desenvolvimento de diferentes tipos de bactérias que auxiliam os processos de nitrificação e desnitrificação.

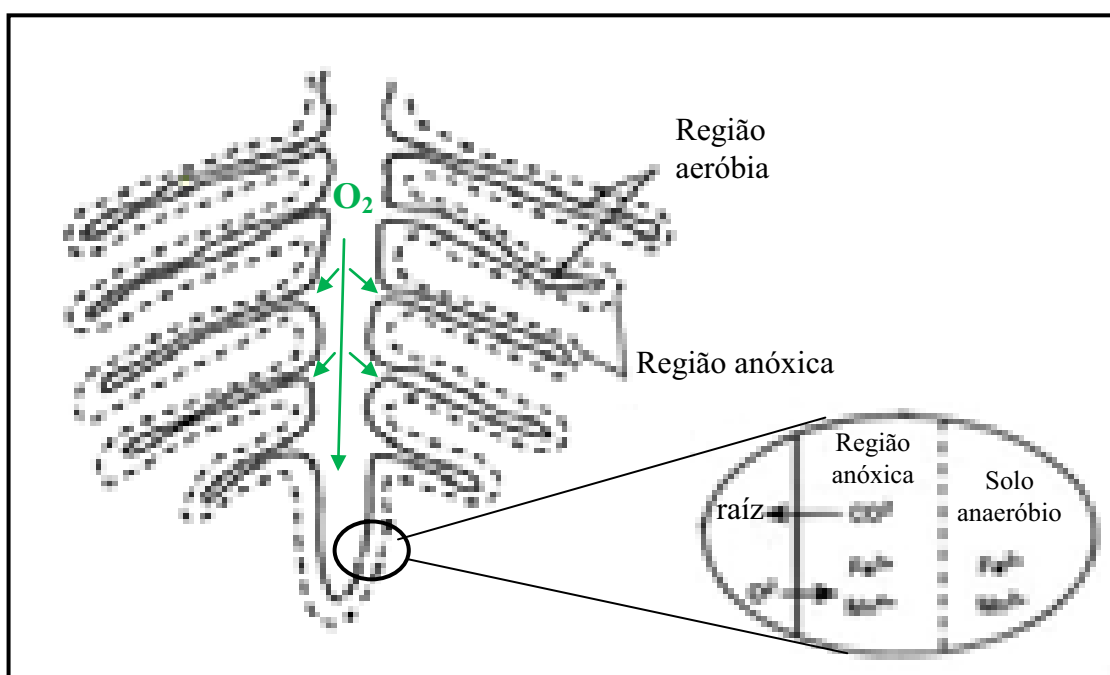


Figura 5 Detalhe da rizosfera e do transporte de oxigênio pelas raízes (Adaptado de KADLEC; KNIGHT, 1996).

Segundo De Vos (1997), o tratamento de lodo utilizando leitos de macrófitas é baseado na produção de uma biomassa conseguida por plantas especiais em locais e condições apropriados. Ao aplicar o lodo nas zonas de raízes das plantas, estas desempenham várias funções, como:

a) Desaguamento dos lodos, que é altamente acelerado pela ação das plantas através do processo de evapotranspiração. Ao redor da área mediterrânea, estima-se que o balanço da evapotranspiração (tendo em conta a precipitação) pode ultrapassar os 1.500 milímetros de água por ano.

b) Mineralização da matéria orgânica, sendo que as unidades de lodos ativados removem somente 45% da matéria orgânica contida nos efluentes, enquanto as plantas permitem terminar esta degradação.

c) Modificação da estrutura físico-química que se realiza devido à ação conjunta de bactérias.

Esse sistema de tratamento é uma tecnologia que aproveita as energias renováveis para estabilizar, homogeneizar, desaguar e higienizar os lodos e apresenta um baixo custo de manutenção e de exploração, promovendo a redução de patógenos evitando o risco de contaminação dos mananciais, bem como promovendo uma integração paisagística.

De acordo com Brix (1993), patógenos são removidos em LMs durante a passagem do esgoto através do sistema de decantação e filtração e, como consequência da morte natural de agentes patogênicos em um ambiente desfavorável. A radiação ultravioleta tem efeito significativo na redução de patógenos. Além disso, os metabólitos das raízes das macrófitas têm sido relatados por possuírem um efeito antibiótico sobre as bactérias, embora nenhuma evidência real para isso tenha sido relatada.

De acordo com Ottava et al. (1997 apud STOTTMEISTER et al., 2003), os fatores importantes de influência na redução de patógenos são: físicos (filtração, sedimentação, adsorção e agregação), biológicos (consumo por protozoários, bactérias líticas, bacteriófagos e a morte natural das bactérias), químicos (influência das toxinas de outros microorganismos e das plantas).

Segundo Stegeman (1995 apud KAICK, 2002), as plantas produzem toxinas que atuam na eliminação de coliformes e outros microorganismos patogênicos.

Brett e Waldron (1996) afirmam que as plantas possuem sistema de defesa que liberam toxinas. A produção dessas toxinas é desencadeada em resposta a substâncias liberadas por patógenos, ou em situação de estresse da planta, como variações de temperatura ou danos à estrutura dos tecidos. A Figura 6 apresenta algumas toxinas produzidas por plantas como defesa.

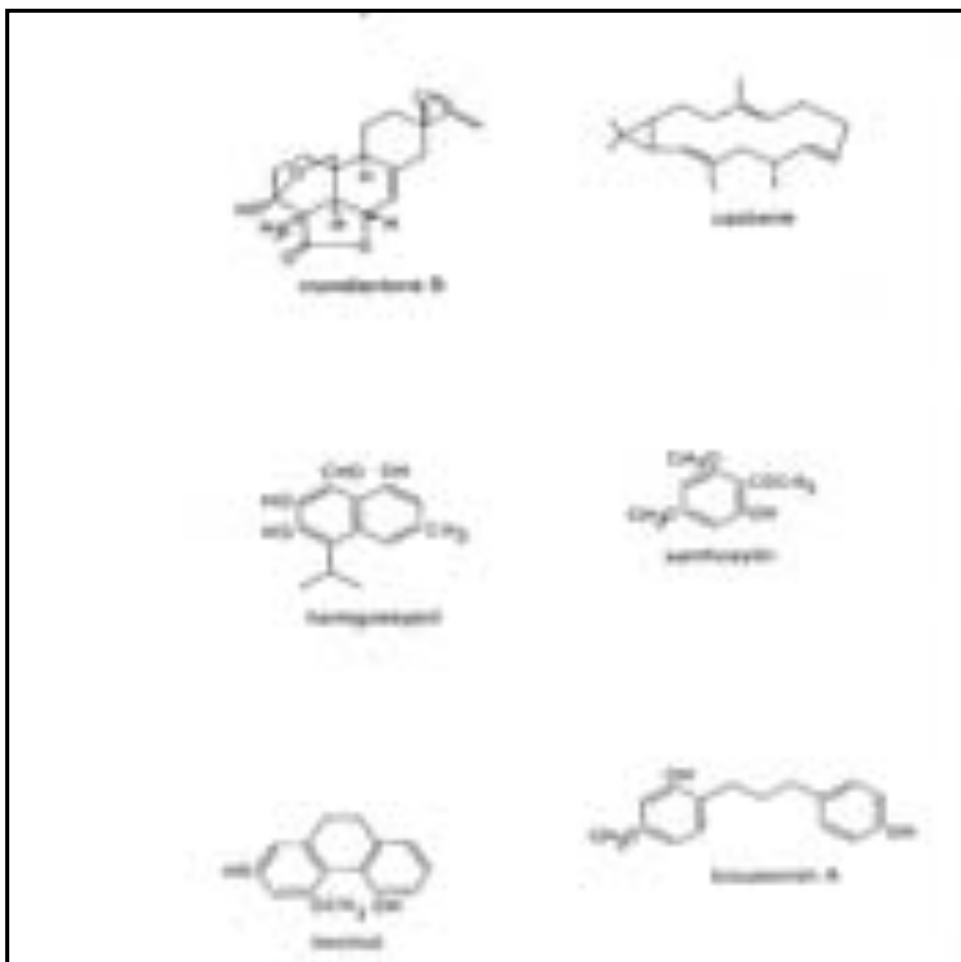


Figura 6 Toxinas produzidas por plantas como mecanismo de defesa (BRETT; WALDRON, 1996).

De acordo com Santos; Santos e Simões (2007), a presença de flavonóides nos vegetais parece estar relacionada com funções de defesa (proteção contra raios ultravioleta, ações antifúngicas e antibacterianas). Essas substâncias constituem um grupo de pigmentos vegetais de ampla distribuição na natureza.

Koottatep et al. (1999) avaliaram alguns mecanismos que influenciam na operação dos LMs. Em razão do substrato das plantas ser montado com solo, brita e areia, os principais mecanismos que contribuem para o desaguamento e degradação do lodo são: filtração, sedimentação, compactação e interceptação. Além disso, durante o transporte através da filtração, poderá haver outras remoções por mecanismo de aderência, adsorção química, física e floculação, dependendo das características das

partículas e do meio suporte. Além desses mecanismos de remoção, outra vantagem do leito de macrófitas é a realização do processo de evapotranspiração pela planta.

Ainda de acordo com o autor acima citado, foi verificado que as tecnologias de tratamento de lodos utilizadas em grandes sistemas de tratamento nos países industrializados (por exemplo: digestores anaeróbios e desidratação mecânica) revelaram-se insustentáveis no desenvolvimento do país. Os custos de investimento e funcionamento desses sistemas são tipicamente superiores à acessibilidade econômica. Em Bangucoque, na Tailândia, os LMs já provaram ser um sistema eficiente e de baixo custo para tratamento de lodos e de efluentes.

As raízes das plantas abrem o lodo formando canais que melhoram a drenagem da água. Com base em investigações científicas, a taxa de aplicação para tratamento de lodos da Europa oscila entre 30 a 80 kg ST m⁻² ano, com aplicação uma vez por semana. Em regiões tropicais, a taxa de aplicação oscila entre 40 a 250 kg ST m⁻² ano. No entanto, sugere-se uma aplicação de 80 a 125 kg ST m⁻² ano e aplicação uma vez por semana (KOOTTATEP et al., 1999).

Koottatep et al. (2001) utilizaram LMs de fluxo vertical para tratar lodo proveniente de fossa séptica. Em seu estudo apresentam uma abordagem dos potenciais de LMs de fluxo vertical para o tratamento de lodo em regiões tropicais, em que as reações microbiológicas e as taxas de crescimento das plantas são substancialmente altas. Foram utilizados três LMs com dimensão de 5 x 5 metros. O meio suporte consistiu de 65 cm de substrato arenoso, apoiado por um sistema de drenagem de gases. Durante um ano, os LMs foram operados com taxas de aplicação de 80 a 500 kg ST m⁻² ano e aplicação de 1 ou 2 vezes por semana. A taxa de aplicação de 250 kg ST m⁻² ano, resultou num ótimo desempenho. A eficiência na remoção de ST, DQO e Nitrogênio foram de 80%; 96%; e 92%; respectivamente. Ao aumentar a quantidade de sólidos, sem realizar remoção do lodo no ano, a permeabilidade da câmara diminuiu.

Ficou também evidente que ocorreram altos graus de nitrificação pois os percolados tinham nitrato de 120 a 250 mg L⁻¹ enquanto conteúdos de NO₃ no lodo cru foram menores que 10 mg L⁻¹. Entretanto, devido ao rápido fluxo dos percolados, havia pouco líquido retido nas câmaras, fazendo com que as plantas murchassem, especialmente durante a estação seca. Para que as plantas crescessem mais saudáveis, as condições de operação no segundo ano foram reformadas no sentido de reter o percolado nas câmaras por períodos de 2 a 6 dias, antes de descartá-lo, mas mantendo a aplicação de 250 kg ST m⁻² ano. Essa condição de operação mostrou-se obviamente

benéfica, não apenas para mitigar o murchamento das plantas, mas para melhorar a remoção de Nitrogênio pela desnitrificação, resultando em concentrações de NO_3 de 20-50 mg L^{-1} . A partir desses desempenhos a porção de área necessária para a construção de LMs de fluxo vertical foi calculada para ser de apenas 0,035 m^2 por habitante, com capital de operação e manutenção de baixo custo (KOOTTATEP et al., 2001).

Koottatep et al. (2002) estudaram LMs de 5 x 5 m, tendo como material suporte 40 cm de cascalho grosso, 15 cm de cascalho fino e 10 cm de areia fina. Nestes LMs, foram plantadas oito mudas por metro quadrado da espécie *Typha augustifolia*. O sistema de drenagem consistiu de blocos de concreto perfurados, com dimensões de 20 x 40 x 16 cm, e tubos de PVC perfurados, com diâmetro de 20 cm, instalados no fundo do tanque. Conectado ao sistema de drenagem, utilizaram tubos de ventilação do mesmo diâmetro e extensão de 1 m ao longo da borda superior da unidade. As taxas de aplicação utilizadas foram de 140 a 360 kg ST m^{-2} ano. Os resultados mostraram que no tratamento dos lodos com LMs, o percolado atingiu eficiências de remoção de ST, DBO, Nitrogênio, amônia que variaram de 76% a 88%, 88% a 98%, 82% a 99%, e 52% a 98%, respectivamente.

A qualidade biológica do lodo avaliado após 4,5 anos de acumulação foi satisfatória, e em nenhuma das amostras o número de ovos viáveis de helmintos foi superior a seis ovos viáveis por grama de sólidos totais, independentemente da camada em que foi coletada, sendo que o lodo aplicado ao sistema de leito de macrófitas variou entre concentrações de helmintos de 30 a 40 ovos g^{-1} ST. Durante a operação constatou-se que a taxa de aplicação ideal foi de 250 kg ST m^{-2} ano, uma vez que acima dessa taxa as plantas começaram a murchar. O intervalo ideal de aplicação de lodo foi de uma vez por semana. Os LMs foram operados durante quatro anos, sem prejuízo de permeabilidade do percolado. O lodo acumulado apresentou quantidade de ovos viáveis de helmintos satisfatória para o uso agrícola local (equivalente à classificação do lodo tipo B previsto na resolução brasileira). Em comparação com o desaguoamento de lodo em leitos de secagem, os LMs requerem uma frequência muito reduzida da necessidade de descarte do lodo (KOOTTATEP et al., 2002).

Ogden (1993) realizou tratamento de 492 m^3 de lodo durante um ano. O sistema foi constituído por um tanque de equalização aerado e uma lagoa de aguapé, e posteriormente bombeado para LMs. Os LMs foram plantados com diversos tipos de macrófitas, com aproximadamente 350 plantas. À medida que o lodo passava pelos LMs, os sólidos ficavam expostos ao ar, resultando na sua secagem. Com o material

desaguado, diferentes organismos o colonizaram e começaram a digerir os lodos, tornando-se um meio eficaz de estabilização de lodo.

Estudos realizados por Koottatep et al. (2004b) apresentaram resultados após sete anos de operações de tratamento de lodo em LMs. Foram montados três LMs de 5 x 5 m e neles adicionado substrato e plantada a espécie *Typha augustifolia*. Foram utilizadas de 10 a 15 mudas por metro quadrado. Foram utilizados blocos cerâmicos e tubos de PVC para a drenagem do líquido e dos gases. A ventilação foi considerada necessária para evitar a filtração em condições anaeróbicas e consequentemente provocar danos as plantas. As taxas de aplicação utilizadas foram de 300, 230 e 180 kg ST m⁻² ano. Em relação ao período de aplicação, a variação da frequência de aplicação de lodo nos LMs de uma ou duas vezes por semana revelou-se insignificante no que se refere à eficiência do tratamento. Todavia, a aplicação uma vez por semana foi considerada preferível para minimizar a carga de trabalho de aplicação do lodo. Durante todo o tempo de operação, observou-se que a taxa de aplicação não deve exceder a 250 kg ST m⁻² ano, pois taxas elevadas provocam o murchamento das plantas. Em taxas de aplicações de 500 kg ST m⁻² ano, o desenvolvimento das plantas foi afetado.

Em relação à qualidade microbiológica do lodo, foram encontradas maiores concentrações de ovos de helmintos na camada superior do lodo (até 15 cm) ocorrendo 80 ovos g⁻¹ ST, possivelmente devido ao fato de que muitos dos ovos nas camadas mais profundas poderiam ter sido completamente destruídos durante os vários anos de armazenamento. No entanto, a camada inferior (45 cm) apresentou 40 ovos g⁻¹ ST. Em todas as amostras foram encontradas quantidades de ovos viáveis de helmintos menores que 6 ovos g⁻¹ ST (índice de viabilidade inferior a 10%); o que pode ser considerado seguro para uso agrícola (KOOTTATEP et al., 2004a). Essa concentração atende à legislação brasileira no que tange ao lodo tipo B, que poderá ser utilizado na agricultura até 2011.

Voisin e Paing (2005) estudaram o tratamento de lodos em LMs provenientes de Beaumont-la-Ronce e Athée-sur-Cher, na França. Foram construídos 3 e 6 LMs de fluxo vertical. O leito filtrante foi constituído por 50 cm de cascalho pequeno, 20 cm de médio e 20 cm de cascalho grande. O sistema de alimentação foi constituído por tubos de PVC e o sistema de ventilação por tubos de PVC perfurados. Os LMs foram plantados com *Phragmites australis*. O estudo foi realizado de acordo com as concepções e condições de operação apresentadas na Tabela 3.

De acordo com Voisin e Paing (2005) o tempo de aplicação do lodo foi de 34 meses em Beaumont-la-Ronce e 20 meses em Athée-sur-Cher. Após este período em ambos os experimentos foram realizadas as medições do acúmulo de lodo e do teor de sólidos. Em Beaumont-la-Ronce o acúmulo de lodo foi de 18 cm com teor de sólidos de 38%. E em Athée-sur-Cher o acúmulo de lodo foi de 60 cm com teor de sólidos de 20%. Os resultados obtidos para o tratamento de lodo em LMs de fluxo vertical mostraram a eficiência do sistema. Verificou-se que uma taxa de aplicação de 50 kg ST m⁻² ano com 6 LMs é uma boa concepção.

Tabela 3 Concepções e condições de funcionamento de dois locais para tratamento de lodo em LMs de fluxo vertical.

	Beaumont-la-Ronce	Athée-sur-Cher
Data de início	Abril 2001	Junho 2002
Volume de lodo (m ³ /ano)	1.000	1.000
Concentração média de ST (g. L ⁻¹)	28	20
Pré-tratamento químico do lodo	não	sim
Superfície dos leitos de fluxo vertical (m ²)	612	184
Taxa de aplicação (kg SS m ⁻² ano)	46	109
Número de leitos	6	3
Período de alimentação dos leitos (dia)	7	3,5
Período de descanso para cada leito (semanas)	5	1
Carga hidráulica durante o período de alimentação (cm)	19	16
Volume de cada lote de alimentação (m ³)	5,2	10
Nº de lotes de alimentação durante o período	4	1

Fonte: Voisin e Paing (2005).

Koottatep et al. (2004a), afirmam que os LMs de fluxo vertical, constituem um sistema promissor para o tratamento de lodos oferecendo eficiências satisfatórias e um baixo custo de operação. Três unidades experimentais plantadas com *Typha augustifolia*, operando no fluxo vertical com uma taxa de aplicação de 250 kg ST m⁻² ano, retiveram 80 cm de lodo após 7 anos de aplicação sem remoção do lodo. Os sólidos retidos apresentaram concentrações variando de 60% a 70% e ovos de helmintos em todas as amostras apresentaram concentração inferior a 60 a 70 ovos g⁻¹ ST. Os valores nutricionais foram compatíveis com os de outros adubos orgânicos.

Segundo De Vos (1997), o sistema de tratamento de lodos por meio de LMs não só propicia uma elevada eficiência na remoção de uma grande variedade de poluentes presentes nos lodos, como constitui também a tecnologia que mais se aproxima da natureza, tendo por consequência um baixo custo. Dessa forma, o sistema

de tratamento por LMs é inteiramente ecológico e fundamenta-se perfeitamente na necessidade de se orientar cada vez mais para um desenvolvimento sustentável, em que a reciclagem dos lodos num produto com valor agregado apresenta um desafio importante.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCALIZAÇÃO DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO DE GOIÂNIA E DADOS METEOROLÓGICOS NO PERÍODO DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado na ETE Goiânia, localizada na Avenida Perimetral Norte, no Setor Goiânia II, que iniciou sua operação em 2004 (Figura 7).

O clima do local, segundo Köppen, é do tipo Aw (quente e semi-úmido com estação seca bem definida, de maio a setembro, e regime pluviométrico tropical, com temperatura média anual de 23,2°C, com as médias mínimas e máximas de 17,9°C e 29,8°C, respectivamente). A precipitação pluvial média anual é de 1.575,9 mm e o total anual de insolação é de 2.588,1 h (BRASIL, 1992).

Os dados meteorológicos do período de realização do experimento (outubro de 2009 a maio de 2010) foram obtidos na Estação Evaporimétrica de Primeira Classe da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos (convênio UFG/CPRM), onde foram tomados os dados de temperatura, umidade relativa do ar e precipitação (Tabela 4).



Figura 7 Localização da Estação de Tratamento de Esgoto de Goiânia, onde foi realizada a pesquisa de tratamento de lodo em leitos de macrófitas.
Fonte: <http://earth.google.com/intl/pt/>

Tabela 4 Dados meteorológicos observados no período do experimento

Etapa do experimento	Mês/ano	Temperatura média (°C)	Precipitação (mm)		Umidade relativa média (%)
			Máx.	Mín.	
-Plantio das mudas nos contenedores	Out/2009	25,6	43,4	0,0	71
-Coleta do lodo para caracterização	Nov/2009	25,3	36,6	0,0	73
-Aplicação do lodo nos contenedores					
-Coleta do lodo para caracterização	Dez/2009	24,4	69	0,0	76
-Aplicação do lodo nos contenedores					
-Plantio das mudas nos baldes					
-Coleta do lodo para caracterização	Jan/2010	25,2	31,2	0,0	73
-Aplicação do lodo nos contenedores					
-Coleta do filtrado dos contenedores					
-Aplicação do lodo nos contenedores	Fev/2010	25,9	39,2	0,0	69
-Coleta do filtrado dos contenedores					
-Aplicação do lodo nos contenedores	Mar/2010	25,6	30,6	0,0	71
-Coleta do lodo desaguado dos contenedores					
-Coleta do lodo desaguado dos contenedores					
-Coleta do lodo desaguado nos contenedores	Abr/2010	24	98,5	0,0	67
-Coleta da água em contato com as macrófitas nos baldes					
-Coleta do lodo desaguado nos contenedores	Maio/2010	21,9	0,0	0,0	63
-Coleta da água em contato com as macrófitas nos baldes					
-Coleta do lodo desaguado nos contenedores	Jun/2010	20,8	16,4	0,0	63
-Coleta da água em contato com as macrófitas nos baldes					

Fonte: UFG/CPRM

O sistema de tratamento da ETE Goiânia é constituído de grade grossa e fina, com espaçamentos entre as barras de 7,5 e 1,3 cm, respectivamente. Em seguida, há a caixa de areia aerada, unidade onde é adicionado o sulfato férrico, como coagulante. Posteriormente, é aplicado o polieletrólito aniônico como auxiliar de floculação na Calha Parshall. A decantação primária constitui-se atualmente na última unidade implantada (SILVA; CARVALHO, 2007). Conforme observado na Figura 8, o lodo primário é desaguado em centrífugas, estabilizado e higienizado quimicamente com cal virgem.

Os contenedores foram posicionados próximos ao poço de descarga do lodo (elevatória), que recebe o lodo proveniente dos decantadores (Figura 9), sendo a localização definida a fim de facilitar o transporte do lodo líquido para os contenedores, uma vez que o lodo seria coletado no poço de descarga.



Figura 9 Localização dos contenedores utilizados na pesquisa dentro da Estação de Tratamento de Esgoto de Goiânia.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO LODO

Entre Novembro/2009 e Janeiro/2010 o lodo não desaguado foi caracterizado biologicamente, mediante seis coletas, a fim de se conhecer as concentrações de coliformes termotolerantes e de ovos viáveis de helmintos, para permitir a avaliação de eficiência e suas reduções. A amostragem foi realizada de acordo com a Norma Técnica NBR 10.007 (ABNT, 2004) enfatizando o uso adequado de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs). O Plano de Amostragem é apresentado no Quadro 2 e a Ficha de Coleta pode ser visualizada no Apêndice A.

Quadro 2 Plano de amostragem do lodo não desaguado, para fins de análises de caracterização do lodo.

PLANO DE AMOSTRAGEM	
Forma de armazenamento	Frasco plástico esterilizado de 1000 ml
Ponto de amostragem	Tanque de descarga do lodo (elevatória)
Tipo de amostra	Lodo
Número de amostras a serem coletadas	1 amostra de 1000 ml composta por 4 parcelas de 250 ml
Tipo de amostrador	Jarro com cabo extensor
Método de preservação da amostra	Acondicionamento em temperatura de 4°C
EPIs a serem utilizados	Jaleco, luva, máscara, óculos.

Assim, as etapas do procedimento de amostragem do lodo foram realizadas conforme apresentado na Figura 10. As amostras de lodo foram levadas para o Laboratório da ETE Goiânia, e submetidas a análises de coliformes termotolerantes, ovos viáveis de helmintos e teor de sólidos.

As análises de coliformes termotolerantes foram realizadas de acordo com o estabelecido no *Standard methods for water and wastewater examination* (APHA, 1998). Foram pesadas 10 g das amostras, diluídos em 90 mL de água. Em seguida foram realizadas 5 diluições subseqüentes. As diluições 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} foram inoculadas em tubos múltiplos contendo meio A1 Medium. Os tubos com inóculos ficaram em estufa a $35 \pm 0,5$ °C por 3 h. Em seguida os tubos foram colocados em banho maria por 24 h a temperatura de $44,5 \pm 0,2$ °C. Após esse período foi realizada a leitura, verificando os tubos que apresentaram presença de gás (Anexo B).

As análises de ovos viáveis de helmintos foram realizadas de acordo com o Yanko (1987). Foram pesados 50 g da amostra e diluídos em 450 mL de solução tampão. Em seguida a mistura foi peneirada e recolhida em Becker de 2 L e o volume foi completado com água destilada, ficando em sedimentação durante 24 h. O sobrenadante foi desprezado e o material decantado foi transferido para tubos de centrífuga de 100 mL e centrifugados a 2.500 rpm por 3 minutos. O sobrenadante foi desprezado e o sedimento ressuspensionado com solução de sulfato de zinco com densidade de 1,18 a 1,30 kg L⁻¹. A mistura foi equalizada e centrifugada a 2.500 rpm por 3 minutos e o sobrenadante foi passado por uma peneira e o sedimento desprezado. A peneira foi lavada recolhendo o filtrado em um Becker de 1.000 mL, onde foi acrescentada água destilada até completar 800 mL. A amostra ficou em sedimentação durante 24 h, depois o sobrenadante foi desprezado e o sedimento transferido para tubos

de centrífuga de 15 mL e centrifugados a 2.500 rpm por 3 minutos. O sobrenadante foi desprezado e o rendimento ressuspendido em 7 mL de solução álcool-ácido-água e 3 mL de éter. O tubo foi tampado, homogeneizado e centrifugado a 2.500 rpm por 3 minutos. O sobrenadante foi desprezado e foi adicionado 2,5 mL de ácido sulfúrico a 0,1 N colocando a tampa no tubo. A amostra foi incubada a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 21 a 28 dias, sendo realizada leitura em microscópio óptico (Anexo C).

Os teores de sólidos totais foram medidos utilizando o equipamento balança Sartorius (Modelo MA45).

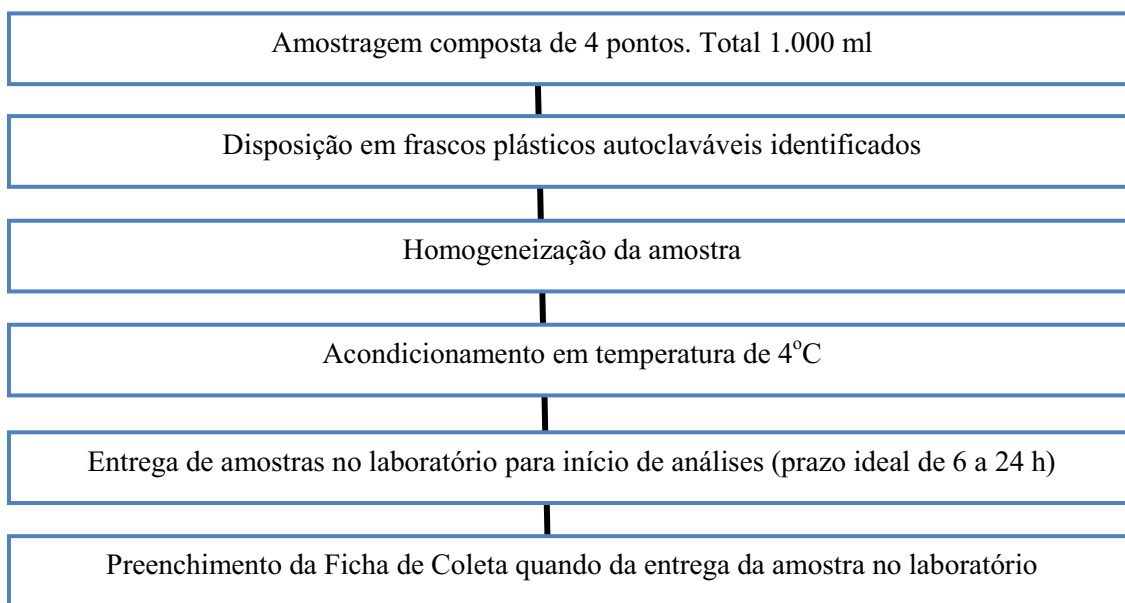


Figura 10 Procedimento experimental de amostragem do lodo não desaguado.

3.3 MONTAGEM DO MEIO SUPORTE E PLANTIO DAS MUDAS

Foram utilizados doze contenedores plásticos com volume de 1 m^3 cada, contendo dispositivo de registro no fundo (Figura 11). Em cada contenedor foi montado um meio suporte composto por uma camada de cinco centímetros de altura de brita nº 1 (zona de drenagem), coberta por uma manta de geotextil (Bidim RT 10 2,30 x 200). Acima da manta de geotextil foram plantadas mudas das espécies vegetais, utilizando uma camada de vinte centímetros de areia lavada para fixação de suas raízes (Figura 12). O registro, de cada contenedor, foi ligado a uma mangueira que leva o percolado para uma canaleta, por onde escoar para o poço de bombeamento, que o direciona de volta ao início da linha de tratamento da ETE.



Figura 11 Contenedor utilizado para montagem do meio suporte e disposição do lodo.

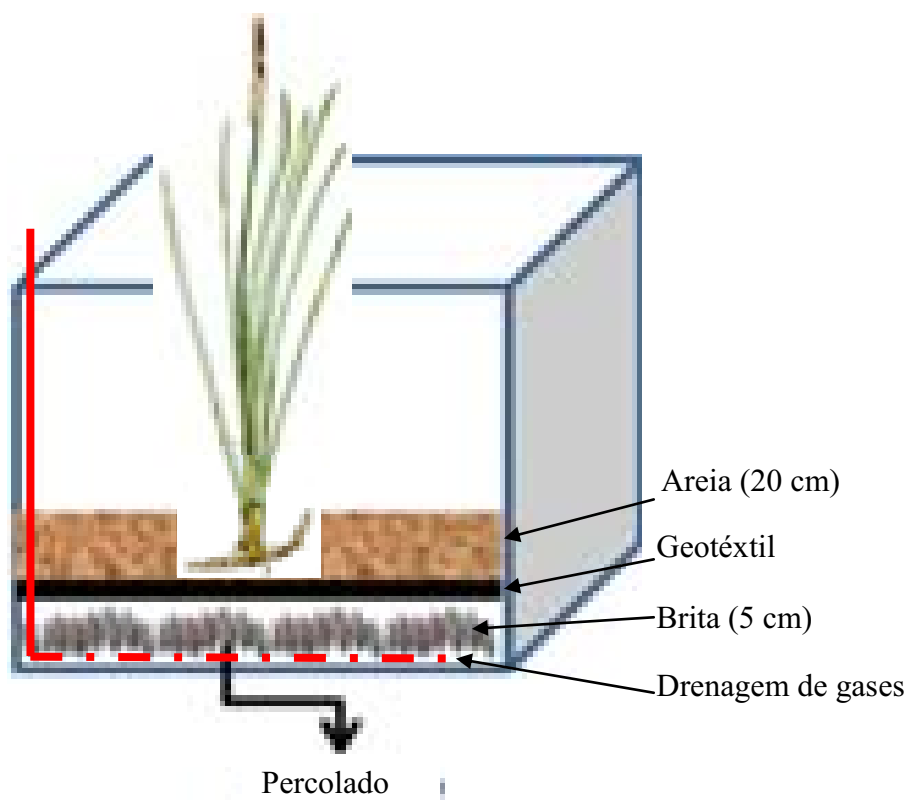


Figura 12 Esquema dos contenedores utilizados na pesquisa.

Na camada de brita do meio suporte foi instalado um sistema de drenagem de gases, constituído por um tubo de PVC de 25 mm de diâmetro, em formato de “ele”, cuja parte horizontal foi intensamente perfurada com furos de 4 mm de diâmetro (Figura 13).



Figura 13 Tubo perfurado na parte horizontal utilizado na drenagem de gases dos leitos de macrófitas.

No interior dos contenedores foram plantadas mudas das espécies vegetais lírio do brejo (*Hedychium coronarium* J. König), taboa (*Typha angustifolia* L.) e papiro (*Cyperus giganteus*) (Figura 14), em população de oito plantas por contenedor. A disposição do plantio nos contenedores foi definida de forma aleatória, mediante sorteio. Três contenedores não foram plantados, servindo de tratamento testemunha.

As mudas de taboa e lírio-do-brejo utilizadas na pesquisa foram retiradas das margens do córrego Samambaia, em área do Campus II da Universidade Federal de Goiás; em seguida, cortadas a meia altura, ficando com aproximadamente 40 cm, e imediatamente plantadas nos contenedores. De acordo com Brasil, Matos e Soares (2007), o plantio de *Typha angustifolia* com as folhas podadas a meia altura, mas ainda mantendo a capacidade fotossintética das plantas, proporcionaram um estabelecimento de 97% das mudas, em contrapartida, os plantios das mudas sem a poda proporcionou o estabelecimento de apenas 40% das mudas. As mudas de papiro foram adquiridas em um viveiro da região, em sacolas plásticas.

Após o plantio, os meios suportes foram saturados com água, fechando-se o registro de drenagem do percolado para manter a umidade necessária ao desenvolvimento das mudas. Os contenedores, inclusive aqueles sem plantas, foram irrigados com água do serviço público até se verificar o pegamento das mudas, mediante a observação de brotações novas. Somente após é que iniciaram as aplicações de lodo.



Figura 14 Espécies vegetais plantadas nos contenedores com sistema leito de macrófita, para tratamento de lodo de esgoto.

3.4 APLICAÇÃO DO LODO

Após verificado o pegamento das mudas, o lodo foi aplicado no centro dos contenedores durante três meses, com três taxas de aplicação para cada planta, e contenedores testemunha. De acordo com Koottatep et al. (1999) em regiões tropicais a taxa de aplicação oscila entre 40 e 250 kg ST m⁻² ano. Segundo a Saneago (2009b) a média do teor de sólidos do lodo não desaguado é de 4,5%. As taxas de aplicação foram calculadas a partir deste teor de sólidos e foi fixado um volume de aplicação semanal. As taxas de aplicação definidas foram: 43, 140 e 248 kg ST m⁻² ano, perfazendo as taxas de lodo de 20, 70 e 120 L m⁻² semana, respectivamente. As aplicações do lodo foram realizadas duas vezes por semana, nas terças e sextas-feiras. Nas terças-feiras foram aplicados 10, 35 e 60 L e nas sextas-feiras a mesma quantidade. O esquema de aplicação do lodo é apresentado na Figura 16.

Foi utilizado um balde plástico graduado para coletar e dispor o lodo nos contenedores. O balde foi preso a uma corda para descer no poço de descarte de lodo da ETE. A cada 14 dias de aplicações de lodo nos contenedores foi coletada uma amostra de lodo líquido, para fins de caracterização.

No centro de cada contenedor foi colocado um bloco de concreto, para que o lodo fosse aplicado sobre ele, evitando a dispersão da areia que compõe o material suporte. A Figura 15 apresenta a forma de aplicação do lodo nos contenedores.



Figura 15 Aplicação do lodo nos contenedores por um funcionário da ETE.

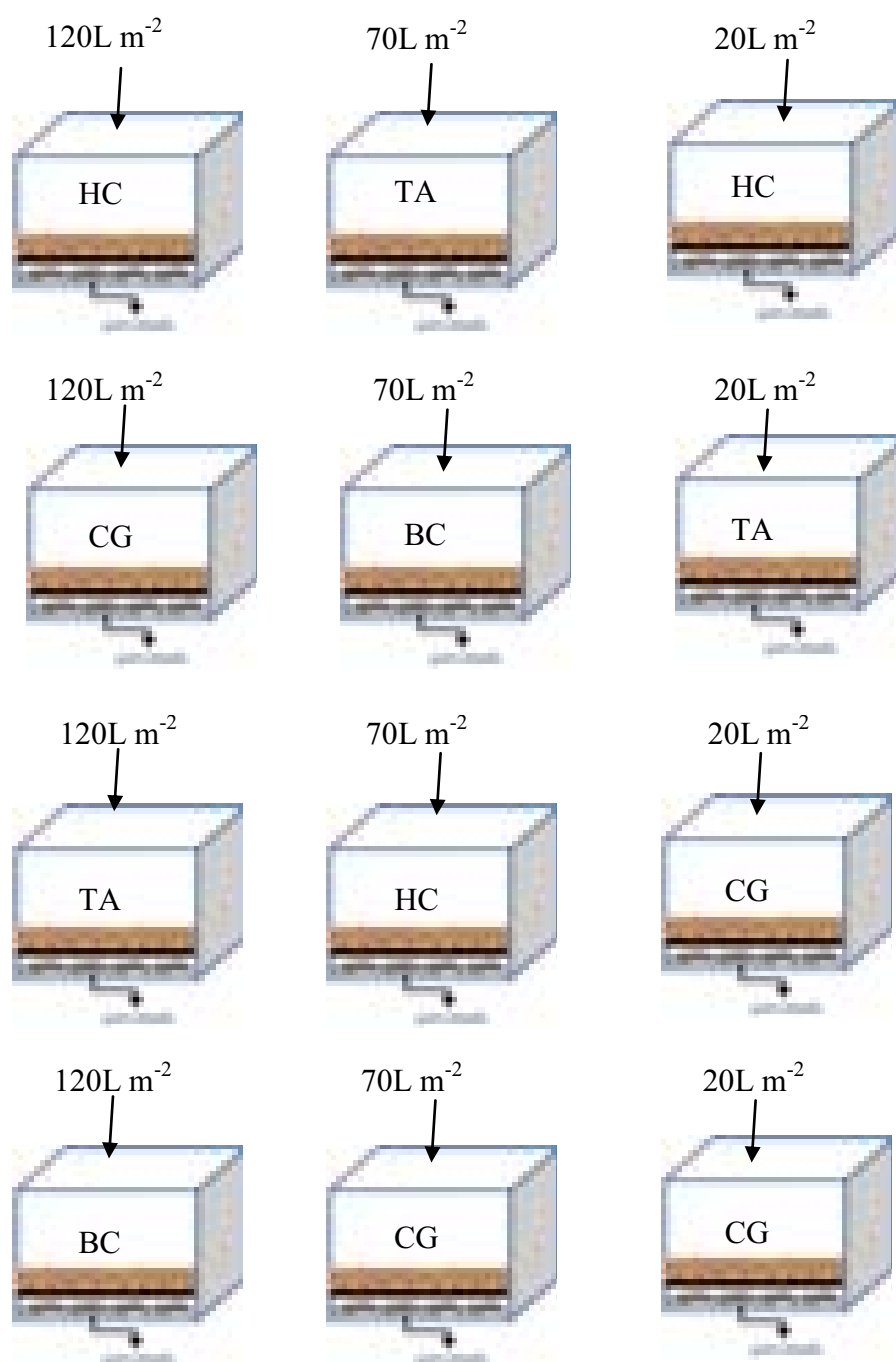


Figura 16 Esquema da aplicação semanal do lodo nos contenedores. TA: *Typha angustifolia*; HC: *Hedychium coronarium*; CG: *Cyperus giganteus*; BC: testemunha sem planta (testemunha).

3.5 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO FILTRADO

Ao realizar a aplicação do lodo nos contenedores, verificou-se a presença de filtrado logo em seguida à aplicação. Foram coletados filtrados dos 12 contenedores durante três semanas e enviados ao laboratório da Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos a fim de avaliar coliformes termotolerantes e sólidos totais, conforme metodologias estabelecidas pelo *Standard Methods for Water and Wastewater Examination* (APHA, 1998). As amostras foram diluídas a 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} e posteriormente inoculadas em tubos múltiplos contendo meio A1 Medium. Os tubos com inóculos ficaram em estufa a $35\pm0,5^{\circ}\text{C}$ por 3 h. Em seguida os tubos foram colocados em banho maria por 24 h a temperatura de $44,5\pm0,2^{\circ}\text{C}$. Após esse período foi realizada a leitura, verificando os tubos que apresentaram presença de gás (Anexo A).

A metodologia utilizada para análise de sólidos foi da *Standard Methods for Water and Wastewater Examination* (APHA, 1998). As cápsulas de porcelana foram preparadas incinerando-as em forno mufla a 550°C durante 30 minutos. Posteriormente foram resfriadas em dessecador e pesadas. Foi adicionada 50 mL da amostra na cápsula. A amostra foi evaporada até dessecação em banho-maria. Em seguida as cápsulas foram secadas em mufla a $103-105^{\circ}\text{C}$. As cápsulas foram esfriadas em dessecador e posteriormente pesadas (Anexo C).

3.6 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO LODO DESAGUADO

Após três meses de aplicação do lodo nos contenedores foram coletadas mostras de lodo desaguado a cada 14 dias durante três meses. A amostragem foi realizada de acordo com a NBR 10.007 (ABNT, 2004), como apresentado no Quadro 3.

Quadro 3 Plano de amostragem do lodo desaguado nos contenedores.

PLANO DE AMOSTRAGEM	
Forma de armazenamento	Frasco plástico com boca larga, esterilizado de 1.000 mL
Pontos de amostragem	Contenedores
Tipo de amostra	Lodo
Número de amostras a serem coletadas	1 amostra de 1.000 mL composta por 4 parcelas de 250 mL
Tipo de amostrador	Pá de jardineiro
Método de preservação da amostra	Acondicionamento em temperatura de 4°C
EPIs a serem utilizados	Jaleco, luva, máscara, óculos.

Os procedimentos de amostragem são os mesmos apresentados na Figura 10 (Item 3.2). Para retirada da amostra uma pá de jardineiro foi introduzida na camada de lodo até atingir a areia. A superfície da camada de lodo foi dividida em quatro partes. De cada parte, foi retirada uma amostra, que juntas e homogeneizadas formaram a amostra composta que foi utilizada na análise.

As amostras de lodo coletadas nos contenedores foram enviadas para o laboratório da ETE Goiânia, a fim de realizar análises de coliformes termotolerantes, ovos viáveis de helmintos e teor de sólidos, de acordo com as metodologias do *Standard Methods for Water and Wastewater Examination* (APHA, 1998) – (Anexo A), Yanko, (1987) – (Anexo B) e balança Sartorius (Modelo MA45), respectivamente.

3.7 INVESTIGAÇÃO DE PRESENÇA DE SUBSTÂNCIA ANTIBACTERIANA NA ÁGUA EM CONTATO COM AS MACRÓFITAS.

Embora a literatura faça referência à liberação de substância anti-bacteriana pelas raízes das macrófitas, os trabalhos não comprovam tal afirmação. Assim, foi realizado um ensaio para verificar se as raízes das plantas utilizadas liberam, na água, substâncias que possuem ação antibacteriana.

Para tanto, utilizaram-se quatro baldes de 20 L, onde foram plantadas mudas das espécies vegetais lírio do brejo (*Hedychium coronarium* J. König), taboa (*Typha angustifolia* L.) e papirus (*Cyperus giganteus*).

Os baldes foram perfurados no fundo para instalação de torneiras de jardim (Figura 17a). Colocou-se um pedaço de tela de nylon internamente, em cada balde, com objetivo de impedir a entrada de material grosseiro na torneira (Figura 17b). Acima da tela foi colocada uma camada de brita nº 1, de aproximadamente cinco centímetros, para auxiliar na drenagem de líquidos. Nas extremidades das torneiras foram conectadas mangueiras plásticas, cujo posicionamento permitiu regular o nível de líquidos dentro do balde (Figura 17c). Em seguida preencheram-se os baldes com areia lavada até cerca de cinco centímetros da borda superior (Figura 17d). Em cada balde foi plantado uma muda das espécies selecionadas e um balde não foi plantado. O plantio foi realizado em dezembro de 2009.

Os baldes foram colocados no pátio interno do laboratório de mecanização agrícola da UFG. Procedeu-se a irrigação por gotejamento (Figuras 17e), utilizando-se água proveniente do córrego Samambaia (isento de cloro). O nível interno de líquidos

foi mantido na metade da profundidade do substrato, pelo posicionamento da mangueira plástica de nível (Figura 17f). Os baldes foram colocados no pátio interno do laboratório de mecanização agrícola da UFG.



Figura 17 Etapas da montagem do meio suporte e plantio das mudas para investigação de presença de substância antibacteriana na água em contato com as macrófitas.

3.7.1 Partição das Amostras

Em maio de 2010 foram coletados dois litros de amostras de água de cada balde e enviados para o laboratório de pesquisa de produtos naturais da Faculdade de Farmácia da UFG. No dia 14/05/2010 foram amostrados o balde com taboa e o testemunha (Testemunha1). No dia 30/06/2010 foram amostrados os baldes com papiirus, lírio e novamente o testemunha (Testemunha 2).

As amostras foram submetidas a partições líquido/líquido em acetato de etila, conforme Ferri (1996). De acordo com Santos; Santos e Simões (2007) as substâncias que parecem estar relacionadas com funções de defesa (ações antifúngica e antibacteriana) são flavonóides. Segundo Falkenberg; Santos e Simões (2007) os solventes utilizados para extração de flavonóides são acetato de etila ou n-butano.

Cada amostra foi transferida para um funil de separação onde adicionaram-se 200 mL de acetato de etila, agitou-se, deixou-se o funil em repouso até ocorrer a separação entre as fases, sendo que a fase acetato de etila foi recolhida em um recipiente limpo e seco. Realizaram-se mais duas extrações subseqüentes com 100 mL de acetado de etila. O solvente de cada amostra foi retirado em rotaevaporador e dessecado até peso constante. Os extratos obtidos foram identificados e armazenados em recipientes esterilizados para a determinação da concentração inibitória.

3.7.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

As amostras foram submetidas ao teste de microdiluição em caldo para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Este ensaio foi realizado conforme recomendações do *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI) para testes de susceptibilidade antimicrobiana de bactérias que crescem aerobicamente (CLSI, 2009).

Foram utilizadas cepas padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) e isolados clínicos mantidos nos Laboratórios de Bacteriologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da UFG. Os microrganismos Gram (-) utilizados foram *Escherichia coli* (ATCC – 8.739) e *Escherichia coli* (ATCC – 11.229). Antes da realização do ensaio, a fim de reativar as culturas microbianas, as bactérias foram repicadas para caldo Casoy e incubadas a 37°C por 24 h, em seguida repicadas para Agar Casoy inclinado e incubadas a 37°C, por mais 24 h.

Na determinação da CIM para bactérias utilizou-se como meio de cultura o caldo Müller Hinton (MH), duas vezes concentrado. As amostras foram solubilizados em 1 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) a 10% e diluídos em 9 mL de caldo MH resultando nas concentrações de $320 \mu\text{g mL}^{-1}$ para papirus, $1.840 \mu\text{g mL}^{-1}$ para Lírio, $870 \mu\text{g mL}^{-1}$ para Taboa, $3.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ para Testemunha 1 e $740 \mu\text{g mL}^{-1}$ para Testemunha 2.

Em microplacas esterilizadas de 96 orifícios com fundo em “U”, providas de tampa, foram colocados 100 μL de caldo MH em todos os orifícios da coluna 2 até a coluna 12 (Figura 18). Na coluna 1, da letra A até G foram colocados 200 μL da amostra na concentração específica de cada planta e na linha H foram colocados 200 μL de uma solução de DMSO a 10% em caldo MH (sem amostra). Com o auxílio de uma pipeta multicanal foram realizadas as diluições seriadas, ou seja, foram retirados 100 μL da coluna 1 e transferidos para a coluna 2. Após homogeneização foram retirados 100 μL da coluna 2 e transferidos para a coluna 3. Procedeu-se desta maneira até a coluna 11 de onde foram descartados 100 μL . Os inóculos bacterianos foram preparados, a princípio, suspendendo-os em solução salina estéril (NaCl 0,85%) até obtenção de uma turvação correspondente a 0,5 da escala de McFarland, para isso realizou-se leitura em espectrofotômetro a 625 nm (79,4% a 83,2% de transmitância). Em seguida, preparouse uma diluição 1:10 em salina, de forma a obter uma concentração de células de 10^7 UFC mL^{-1} . Quantidades de 5 μL de cada inóculo foram inoculados, em duplicata, em todos os orifícios da microplaca, exceto nos orifícios da linha G que serviram como controle da esterilidade do meio e das amostras. A diluição final dos inóculos nos orifícios ficou em torno de $5 \times 10^5 \text{ UFC mL}^{-1}$ ou $5 \times 10^5 \text{ UFC/orifício}$. A linha H foi destinada ao controle do DMSO e a coluna 12 ao controle do crescimento microbiano. A Figura 18 apresenta um esquema geral da microplaca após as diluições e inoculações.

As microplacas foram tampadas e incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 16-20 h. Uma hora antes do término do período de incubação acrescentou-se, em todos os orifícios, 20 μL de cloreto de trifetil tetrazolium (TTC) a 0,5%, em seguida foram reincubadas por aproximadamente 30 min. O TTC, um reagente comumente utilizado para detecção de metabolismo em células eucarióticas, reduz-se na presença de H^+ , formando o trifetil formazan, de cor vermelha. Portanto, o aparecimento da cor avermelhada foi considerado prova de crescimento bacteriano. A CIM foi definida como a menor concentração da amostra, em $\mu\text{g mL}^{-1}$, capaz de inibir totalmente o crescimento bacteriano. Os experimentos foram realizados em duplicata.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Figura 18 Microplaca utilizada na investigação de atividade antibacteriana com esquema geral após diluições e inoculações. Linha A e B: Inóculos de *Escherichia coli* (ATCC – 8.739), Linha C e D: Inóculos de *Escherichia coli* (ATCC – 11.229), Linha G: Controle do meio e extratos (extrato + MH, sem inóculo), Linha H: Controle do DMSO (DMSO diluído no MH + inóculo), Coluna 12: Controle do crescimento microbiano (MH + inóculo).

3.8 ANÁLISE DOS RESULTADOS

As análises de caracterização do lodo foram compiladas em valores médios, utilizados como valores iniciais para comparação com os resultados de análise do lodo desaguado dos contenedores, para avaliar a eficiência do tratamento.

Os resultados das análises laboratoriais do filtrado e do lodo tratado foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey-Kramer. Na análise dos dados do material drenado foi excluída a taxa de 20 L m^{-2} semana, pois não houve drenado. Os dados de coliformes termotolerantes foram transformados por $\log_{10}(x)$; em que x é a concentração de coliformes termotolerantes em NMP 100 mL^{-1} . Na análise dos dados do lodo desaguado os dados de coliformes termotolerantes também foram transformados por $\log_{10}(x)$ e os dados de ovos viáveis de helmintos foram transformados por $\text{SQRT}(x + 0,5)$, em que SQTR = raiz quadrada e x = número de ovos viáveis por grama de sólidos totais do lodo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO LODO

O lodo primário da ETE Goiânia durante o período de realização do experimento apresentou concentração média de coliformes termotolerantes de $1,9 \times 10^8$ NMP g⁻¹ ST, seis ovos viáveis de helmintos por grama de sólidos totais e 4% de sólidos totais (Tabela 6).

Tabela 6 Caracterização do lodo primário coletado na elevatória da ETE Goiânia no período de realização do experimento.

Data da coleta	Coliformes Termotolerantes (NMP g ⁻¹ ST)	Ovos viáveis de Helmintos (Ovos g ⁻¹ ST)	Sólidos Totais (%)
30/11/2009	$4,8 \times 10^8$	9,54	3,35
14/12/2009	$2,0 \times 10^8$	1,69	0,60
11/01/2009	$1,9 \times 10^8$	1,45	8,20
19/01/2010	$9,6 \times 10^7$	11,20	2,50
26/01/2010	$8,7 \times 10^6$	10,03	5,60
Médias	$1,9 \times 10^8$	6,00	4,00

Segundo Fernandes et al. (2001), o lodo da ETE Belém em Curitiba-PR após passar por duas prensas desaguadoras resultou em um lodo com teor de sólidos de 13,5%, concentração de coliformes termotolerantes de $8,64 \times 10^5$ NMP g⁻¹ ST e de ovos viáveis de helmintos de 4,2 ovos g⁻¹ ST.

A caracterização do lodo proveniente da ETE da cidade de Pato Testemunha, Paraná, realizada por Augustini e Onofre (2007) apresentou coliformes termotolerantes de $3,2 \times 10^2$ e sólidos totais de 1,2%.

A quantidade de coliformes termotolerantes no lodo primário da ETE Goiânia apresenta-se maior do que os valores observados na literatura, o que evidencia a necessidade de um adequado tratamento anterior à sua disposição. Apesar de o lodo da ETE Pato Testemunha-PR atender à resolução Conama n° 375 no parâmetro coliformes para o lodo tipo A e a ETE Belém-PR, atender a resolução para lodo tipo B, o lodo proveniente da ETE Goiânia não atende a resolução para as duas classificações do lodo. Isso pode ser devido ao fato do lodo da ETE Goiânia ser proveniente apenas de tratamento primário e o das ETES citadas serem provenientes de tratamento secundário.

Os resultados para sólidos totais são semelhantes aos demonstrados por Saneago (2009b), em que a média de ST do lodo não desaguado foi de 4,5%.

De acordo com Nuvolari (2003), o lodo da ETE Jesus Neto, São Paulo, ao ser retirado do fundo dos decantadores primários e secundários, passa geralmente por unidades adicionais de espessamento e digestão (normalmente digestores anaeróbios). Após passar pelos digestores, o lodo apresenta teor de sólidos totais da ordem de 2% a 10%. Já o lodo da ETE Belém, de Curitiba-PR, ao sair do tanque de aeração passa por um adensador, de onde sai com aproximadamente 3% de sólidos totais (FERNANDES et al., 2001). Por sua vez, o teor de sólidos do lodo da ETE Goiânia apresentou resultados semelhantes aos relatados acima e está compatível à descrição de Metcalf e Eddy (1991, apud MACHADO, 2001), em que lodos brutos apresentam sólidos totais entre 2% a 8%.

O lodo da ETE Goiânia apresentou maior concentração de ovos viáveis de helmintos do que o da ETE Belém. A concentração de ovos viáveis de helmintos nos lodos é muito variável. O *Ascaris lumbricoides* é o nematóide que apresenta maior incidência na população, podendo variar de 2% a 80% conforme a região do Brasil e a classe social da população (SILVA et al., 2001).

4.2 QUALIDADE DO ESGOTO FILTRADO

Os valores de coliformes termotolerantes e sólidos totais encontrados no filtrado das três espécies vegetais e da testemunha, nas três taxas de aplicações durante três semanas de coletas, são apresentados na Tabela 7.

Observa-se que nos contenedores com as três espécies de macrófitas não houve filtrado na taxa de aplicação de 20 L m^{-2} semana. O processo de evapotranspiração realizado pelas plantas consumiu todo o efluente proveniente do lodo. Dessa forma o tratamento do lodo em leito de macrófitas proporciona o benefício da isenção de custos com tratamento do efluente, na taxa de aplicação de 20 L m^{-2} semana. Os resultados confirmam uma vantagem do tratamento de lodo em leito de macrófitas, que é a realização do processo de evapotranspiração pelas plantas (KOOTTATEP et al., 1999). Apesar de não ter sido realizada a medição da quantidade de filtrado nas outras taxas, observou-se que a quantidade foi pequena em relação à quantidade de lodo aplicado. De acordo com Koottatep et. al (2004b) em um ano de aplicação do lodo em LMs observou-se que metade da água do lodo aplicada nos LMs foi evapotranspirada e 45% foi drenada, enquanto os 5% restantes foram mantidos nos sólidos acumulados. Koottatep et al. (2002) observaram que após quatro anos de

aplicação de lodo em LMs a produção de filtrado é 65% do que foi aplicado, enquanto que 35% é evapotranspirado.

Tabela 7 Qualidade do esgoto filtrado em leito de macrófitas.

Data	Taxa de Aplicação (L m ⁻² semana)	Contenedor	Coliformes Termotolerantes (NMP 100 mL ⁻¹)	Sólidos Totais (mg L ⁻¹)
13/01/2010 DAI: 69	20	Testemunha	2,4 x 10 ⁵	789
		Lírio	sa	sa
		Papírus	sa	sa
		Taboa	sa	sa
	70	Testemunha	2,4 x 10 ⁵	1.556
		Lírio	1,4 x 10 ⁴	1.589
		Papírus	2,4 x 10 ⁵	1.503
		Taboa	2,4 x 10 ⁵	2.989
	120	Testemunha	2,4 x 10 ⁵	1.408
		Lírio	2,4 x 10 ⁵	1.943
		Papírus	2,4 x 10 ⁵	1.710
		Taboa	2,4 x 10 ⁵	2.467
20/01/2010 DAI: 76	20	Testemunha	7,9 x 10 ³	1.395
		Lírio	sa	sa
		Papírus	sa	sa
		Taboa	sa	sa
	70	Testemunha	1,3 x 10 ⁴	1.480
		Lírio	2,4 x 10 ⁵	1.845
		Papírus	2,4 x 10 ⁵	2.167
		Taboa	pd	pd
	120	Testemunha	2,4 x 10 ⁵	1.218
		Lírio	2,4 x 10 ⁵	2.438
		Papírus	2,4 x 10 ⁵	1.156
		Taboa	2,4 x 10 ⁵	pd
24/02/2010 DAI: 111	20	Testemunha	2,4 x 10 ⁵	1.782
		Lírio	sa	sa
		Papírus	sa	sa
		Taboa	sa	sa
	70	Testemunha	1,7 x 10 ⁴	1.840
		Lírio	2,0 x 10 ²	2.359
		Papírus	2,4 x 10 ⁵	2.296
		Taboa	2,4 x 10 ⁵	1.717
	120	Testemunha	2,4 x 10 ⁵	2.364
		Lírio	2,4 x 10 ⁵	1.797
		Papírus	2,4 x 10 ⁵	ai
		Taboa	1,6 x 10 ⁵	ai
Valor médio do lodo líquido			1,9 x 10 ⁸	40.000

DAI: dias após o início da aplicação do lodo nos contenedores. **sa:** sem amostra **ai:** amostra insuficiente **pd:** perda da amostra

No tratamento testemunha na taxa de 20 L m⁻² semana houve uma significativa redução de coliformes termotolerantes do lodo líquido para o filtrado, perfazendo uma média de redução de 99,92%, sendo que o valor médio geral de saída

foi de $1,6 \times 10^5$ NMP 100 mL⁻¹. Nos tratamentos com as três espécies de macrófitas e a testemunha, na taxa de 70 L m⁻² semana, a média de redução de coliformes termotolerantes do lodo líquido para o filtrado foi 99,92%, ou seja, igual à redução apresentada no tratamento testemunha com taxa 20 L m⁻² semana. Isso demonstra que o sistema de tratamento em leito de macrófitas gera o benefício de uma redução significativa de coliformes no efluente filtrado. O valor médio de saída de coliformes termotolerantes nessa taxa de aplicação foi de $1,5 \times 10^5$ NMP 100 mL⁻¹.

Nos tratamentos com as três espécies de macrófitas e a testemunha, na taxa de 120 L m⁻² semana, a média de redução de coliformes termotolerantes do lodo líquido para o filtrado foi 99,88%, sendo que valor médio de saída de coliformes termotolerantes nessa taxa de aplicação foi de $2,4 \times 10^5$ NMP 100 mL⁻¹.

Não houve diferença significativa entre as taxas de aplicação para o parâmetro coliformes termotolerantes (Tabela 7).

Avaliando o efeito das plantas em cada taxa de aplicação, verifica-se que a redução de coliformes termotolerantes, na taxa de 70 L m⁻² semana, foi maior no tratamento com lírio do brejo (99,97%), seguido pelo testemunha (99,95%) e posteriormente pelo papirus e taboa, que apresentaram resultados iguais (99,88%). Na taxa de 120 L m⁻² semana a redução foi de 99,88% nos quatro tratamentos. Apesar da contribuição do lírio na remoção de coliformes termotolerantes na taxa 70 L m⁻² semana, o mesmo não ocorreu na taxa de 120 L m⁻² semana, o que pode ser devido a influência da taxa, que comprometeu o desenvolvimento das plantas (ver item 4.4).

Dessa forma, os resultados apontam que a melhor eficiência na remoção de coliformes termotolerantes ocorre com lírio do brejo na taxa de aplicação de 70 L m⁻² semana.

A legislação brasileira não determina limite de coliformes para os efluentes de estações de tratamento de esgoto. Entretanto, a Resolução Conama nº 357 determina que não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mL em 80% ou mais de pelo menos seis amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral, em corpos receptores de classe 2, respectivos à região de Goiás. Verifica-se, portanto, que o limite máximo de coliformes termotolerantes permitido ao efluente da estação será determinado pelas vazões do efluente, do corpo receptor e pela concentração de coliformes termotolerantes já existentes no corpo receptor (ALMEIDA, 2005; CONAMA, 2005). Apenas a amostra coletada no dia

24/02/2010 na taxa de 70 L m⁻² semana, no leito plantado com Lírio, apresentou valor inferior a 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mL (Tabela 6).

No tratamento testemunha, na taxa de 20 L m⁻² semana, houve uma significativa redução de sólidos totais do lodo líquido para o filtrado perfazendo uma redução média de 96,70%, sendo que o valor médio geral de saída foi de 1.322 mg L⁻¹.

Nos tratamentos com as três espécies de macrófitas e testemunha, na taxa de 70 L m⁻² semana, a média de redução de sólidos totais do lodo líquido para o filtrado foi de 94,77%, sendo que o valor médio geral de saída de sólidos totais foi de 1.974 mg L⁻¹. Nessa taxa de aplicação a redução foi maior do que a encontrada por Koottatep (2001), que obteve 80% na remoção de sólidos totais.

Nos tratamentos com as três espécies de macrófitas e a testemunha, na taxa de 120 L m⁻² semana, a redução média de sólidos totais do lodo líquido para o filtrado foi 95,35%, sendo que o valor médio geral de saída de sólidos totais foi de 1.861 mg/L.

Não houve diferença significativa entre as taxas de 70 e 120 L m⁻² semana para sólidos totais (Tabela 8). No entanto, na taxa de 120 L m⁻² semana o teor de sólidos totais foi menor, permitindo considerar que a camada mais espessa de lodo contribuiu na filtração e consequente melhora nos resultados de sólidos totais. Sendo assim, espera-se que a eficiência se eleve à medida em que aumentar a espessura da camada de lodo.

Tabela 8 Valores médios¹ de coliformes termotolerantes e sólidos totais, no esgoto filtrado do lodo da ETE Goiânia em leito de macrófitas, em duas taxas de aplicação de lodo

	70 L m ⁻² semana	120 L m ⁻² semana
Coliformes ²	4,77 a	5,38 a
D. M. S ³	1,70	1,70
CV ⁴ (%)	16,01	16,01
ST ⁵	1.940,1 a	1.840,7 a
D. M. S	215,17	215,17
CV (%)	25,05	25,05

¹Médias seguidas por mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste Tukey-Kramer a 5% de probabilidade; ²Coliformes: Coliformes termotolerantes, dados transformados por log₁₀(x) em que x= concentração de coliformes em NMP 100 mL⁻¹; ³DMS: Diferença mínima significativa; ⁴ CV: Coeficiente de Variação; ⁵ST: Sólidos Totais.

4.3 QUALIDADE DO LODO DESAGUADO NOS CONTENEDORES

Os valores de coliformes termotolerantes, sólidos totais e ovos viáveis de helmintos no lodo primário desaguado em leito de macrófitas são apresentados na Tabela 9.

Nos tratamentos com as três espécies de macrófitas e testemunha, nas taxas de 20 L m⁻² semana, 70 L m⁻² semana e 120 L m⁻² semana, as médias de redução de coliformes termotolerantes do lodo líquido para o lodo desaguado foram respectivamente de 99,99%, 99,88% e 99,80%. Os valores médios de coliformes termotolerantes do lodo foram respectivamente 1,3 x 10⁴ NMP 100 mL⁻¹, 2,3 x 10⁵ NMP 100 mL⁻¹ e 3,8 x 10⁵ NMP 100 mL⁻¹.

Em todos os tratamentos, em todas as taxas de aplicação, os resultados médios de coliformes termotolerantes atendem o padrão para lodo tipo B da resolução Conama n° 375.

Considerando os tratamentos, não houve diferença significativa na redução de coliformes termotolerantes. Todavia, os tratamentos com plantas proporcionaram maiores reduções (Tabela 10).

Todos os tratamentos com as três taxas de aplicações apresentaram lodo tipo A para o padrão ovos viáveis de helmintos, de acordo com a resolução Conama n° 375, que determina que o lodo deve apresentar valores < 0,25 ovo g⁻¹ de ST. Este estudo com tempo de aplicação de lodo de três meses apresentou melhores resultados do que os observados por Koottatep et al. (2002), em que após quatros anos e meio de acumulação de lodo, em todas as amostras foram encontradas quantidades de ovos de helmintos menores que 6 ovos g⁻¹ ST. Contudo, deve-se considerar que o lodo aplicado apresentava de 30 a 40 ovos g⁻¹ ST, enquanto o lodo da ETE Goiânia apresentou média de apenas 6 ovos g⁻¹ ST.

Nos tratamentos com as três espécies de macrófitas e testemunha as médias de sólidos totais foram de 91% para aplicação de 20L m⁻² semana, 89% para aplicação de 70L m⁻² semana, e 72,9% para aplicação de 120L m⁻² semana. A concentração de sólidos totais atingida nesse estudo foi melhor do que as apresentadas por Koottatep et al. (2004b), que variaram de 60% a 70% após sete anos de aplicação do lodo de uma taxa equivalente a 70 L m⁻² semana. Verificou-se que a concentração de sólidos diminuiu com o aumento da taxa de aplicação, o que era esperado.

Tabela 9 Qualidade do lodo desaguado nos contenedores de um sistema de tratamento do tipo leito de macrófitas.

Data	Taxa de Aplicação (L m⁻² semana)	Tratamento	Coliformes Termotolerantes (NMP g⁻¹ de ST)	Ovos viáveis de helmintos (Ovos g⁻¹ de ST)	Sólidos Totais (%)
12/04/10 DAF:17	20	Testemunha	1,1 x 10 ⁴	0,0	88,08
		Lírio	7,1 x 10 ⁴	0,0	68,99
		Papírus	1,6 x 10 ⁴	0,04	89,55
		Taboa	5,2 x 10 ³	0,04	86,68
19/04/10 DAF:24	70	Testemunha	5,4 x 10 ⁵	Dp	63,77
		Lírio	9,7 x 10 ³	0,04	80,47
		Papírus	2,0 x 10 ⁵	0,0	84,21
		Taboa	1,9 x 10 ⁶	0,0	82,80
26/04/10 DAF:29	120	Testemunha	2,7 x 10 ⁴	0,0	80,27
		Lírio	3,1 x 10 ⁴	0,0	70,68
		Papírus	3,1 x 10 ⁴	0,0	54,39
		Taboa	4,6 x 10 ⁴	0,0	58,95
03/05 DAF:38	20	Testemunha	1,8 x 10 ⁴	0,0	94,34
		Lírio	8,2 x 10 ³	0,0	94,56
		Papírus	2,4 x 10 ⁴	0,0	94,34
		Taboa	1,9 x 10 ³	0,0	95,71
10/05 DAF:45	70	Testemunha	5,2 x 10 ⁴	0,0	94,97
		Lírio	1,4 x 10 ⁴	0,04	94,26
		Papírus	1,5 x 10 ⁴	0,04	93,04
		Taboa	8,3 x 10 ⁴	0,0	94,99
17/05/10 DAF:52	120	Testemunha	2,1 x 10 ³	0,0	94,92
		Lírio	1,5 x 10 ⁴	0,0	94,44
		Papírus	1,1 x 10 ⁴	0,05	69,06
		Taboa	2,4 x 10 ³	0,0	81,26
25/05/10 DAF:60	20	Testemunha	2,3 x 10 ³	0,0	94,63
		Lírio	4,6 x 10 ²	0,0	96,16
		Papírus	7,2 x 10 ²	0,0	94,38
		Taboa	4,7 x 10 ²	0,0	95,29
31/05/10 DAF:66	70	Testemunha	7,0 x 10 ³	0,0	96,37
		Lírio	4,2 x 10 ³	0,0	95,12
		Papírus	7,1 x 10 ³	0,0	94,86
		Taboa	8,3 x 10 ³	0,0	93,77
07/06 DAF:73	120	Testemunha	2,1 x 10 ⁶	0,0	67,44
		Lírio	7,3 x 10 ⁵	0,0	73,94
		Papírus	3,5 x 10 ⁵	0,0	66,92
		Taboa	1,3 x 10 ⁶	0,0	dp

DAF: dias após o final da aplicação do lodo nos contenedores **dp:** dado perdido

Para coliformes termotolerantes e ovos viáveis de helmintos, não houve diferença significativa entre as taxas de aplicação (Tabela 10).

Tabela 10 Valores médios¹ de coliformes termotolerantes, ovos viáveis de helmintos e sólidos totais, verificados no lodo primário tratado em leitos de macrófitas, com três taxas de aplicação de lodo.

	20 L m⁻² semana	70 L m⁻² semana	120 L m⁻² semana
Coliformes ²	3,68 a	4,54 a	4,73 a
DMS ³	2,93	2,93	2,93
CV ⁴ (%)	10,52	10,52	10,52
ST ⁵	91,05 a	89,05 a	72,93 b
DMS	15,93	15,93	15,93
CV (%)	7,78	7,78	7,78
OVH ⁶	0,71 a	0,71 a	0,70 a
DMS	0,01	0,01	0,01
CV (%)	1,33	1,33	1,33

¹Médias seguidas por mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste Tukey-Kramer a 5% de probabilidade; ²Coliformes: Coliformes termotolerantes, dados transformados por $\log_{10}(x)$ em que x= concentração de coliformes em NMP 100 mL⁻¹; ³DMS: Diferença mínima significativa; ⁴CV: Coeficiente de Variação; ⁵ST: Sólidos Totais; ⁶OVH: Ovos viáveis de helmintos.

Para sólidos totais não houve diferença significativa entre as taxas 20 e 70 L m⁻² semana, no entanto a taxa 120 L m⁻² semana foi inferior às demais. Isso pode ser devido ao fato de que dois dias antes das últimas coletas das amostras das taxas de 120 L m⁻² semana, no dia 07/06, houve precipitação, aumentando a umidade do lodo e influenciando os resultados de teor de sólidos totais, ou pode ser decorrente da maior taxa aplicada.

A Tabela 11 apresenta a avaliação estatística dos tratamentos com três espécies de macrófitas e testemunha para coliformes termotolerantes, ovos viáveis de helmintos e sólidos totais. Para ovos viáveis de helmintos e sólidos totais, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Os resultados observados não permitem concluir se a redução de ovos viáveis de helmintos no lodo desaguado ocorreu em função da liberação de substâncias antibióticas pelas raízes das macrófitas, nos leitos plantados, ou pelo efeito da radiação solar, nos leitos sem plantas. Entretanto, considerando a semelhança entre as concentrações de sólidos totais, que pode ser devido a incidência de radiação solar no testemunha e à evapotranspiração nos tratamentos com plantas, e ainda, a pequena camada de lodo acumulada a cada aplicação, é possível atribuir a redução dos ovos viáveis de helmintos às condições adversas a que os ovos foram submetidos, principalmente pelos alternados processos de hidratação e

desidratação. Peixoto et al. (2005) verificaram que com a secagem natural do lodo houve redução nos ovos viáveis de helmintos.

Outro fator que pode ser considerado é o clima na ETE, pois de acordo com Pegorini; Hartmann e Andreoli (2007) a influência do clima da ETE na redução de umidade do lodo e consequente redução de ovos viáveis de helmintos foi evidenciada em várias pesquisas relativas aos processos de higienização do lodo no sul, sudeste e nordeste do Brasil. Andreoli, Ferreira e Chernicharo (2003) verificaram que ovos de *Ascaris lumbricoides* submetidos à temperatura de 30°C foram inativados. Segundo Bonnet; Lara e Domaszak (2000), a persistência de patógenos no solo é diretamente influenciada pelas condições ambientais e a perda de umidade eventualmente destrói ovos de helmintos.

Tabela 11 Valores médios¹ de coliformes termotolerantes, ovos viáveis de helmintos e sólidos totais, verificados no lodo primário tratado em leitos de macrófitas, com três espécies vegetais.

Tratamentos	Testemunha	Lírio	Papirus	Taboa
Coliformes ²	4,44 a	4,19 a	4,31 a	4,32 a
DMS ³	0,51	0,51	0,51	0,51
CV ⁴ (%)	10,52	10,52	10,52	10,52
ST ⁵	86,08 a	85,40 a	82,30 a	83,60 a
DMS	7,98	7,98	7,98	7,98
CV (%)	7,78	7,78	7,78	7,78
OVH ⁶	0,70 a	0,71 a	0,72 a	0,71 a
DMS	0,01	0,01	0,01	0,01
CV (%)	1,33	1,33	1,33	1,33

¹Médias seguidas por mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste tukey-Kramer a 5% de probabilidade; ²Coliformes: Coliformes termotolerantes, dados transformados por $\log_{10}(x)$ em que x= concentração de coliformes em NMP 100 mL⁻¹; ³DMS: Diferença mínima significativa; ⁴CV: Coeficiente de Variação; ⁵ST: Sólidos Totais; ⁶OVH: Ovos viáveis de helmintos.

4.4 DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS

Durante os três meses de aplicação do lodo houve influência das taxas de aplicação no desenvolvimento das plantas. As Figuras 19, 20 e 21 apresentam o desenvolvimento das plantas após o primeiro, segundo e terceiro mês de início da aplicação do lodo, respectivamente.

Após o terceiro mês de aplicação as três macrófitas morreram na taxa de aplicação de 120 L m⁻² semana, provavelmente devido às características do lodo primário quimicamente assistido. Koottatep et al (2001) operou um sistema de

tratamento com leito de macrófitas por um ano, aplicando lodo de fossa séptica nas taxas 80 a 500 kg ST m⁻² ano, onde também houve murchamento das plantas ao longo do tempo, no entanto sem ocorrência de morte das plantas.

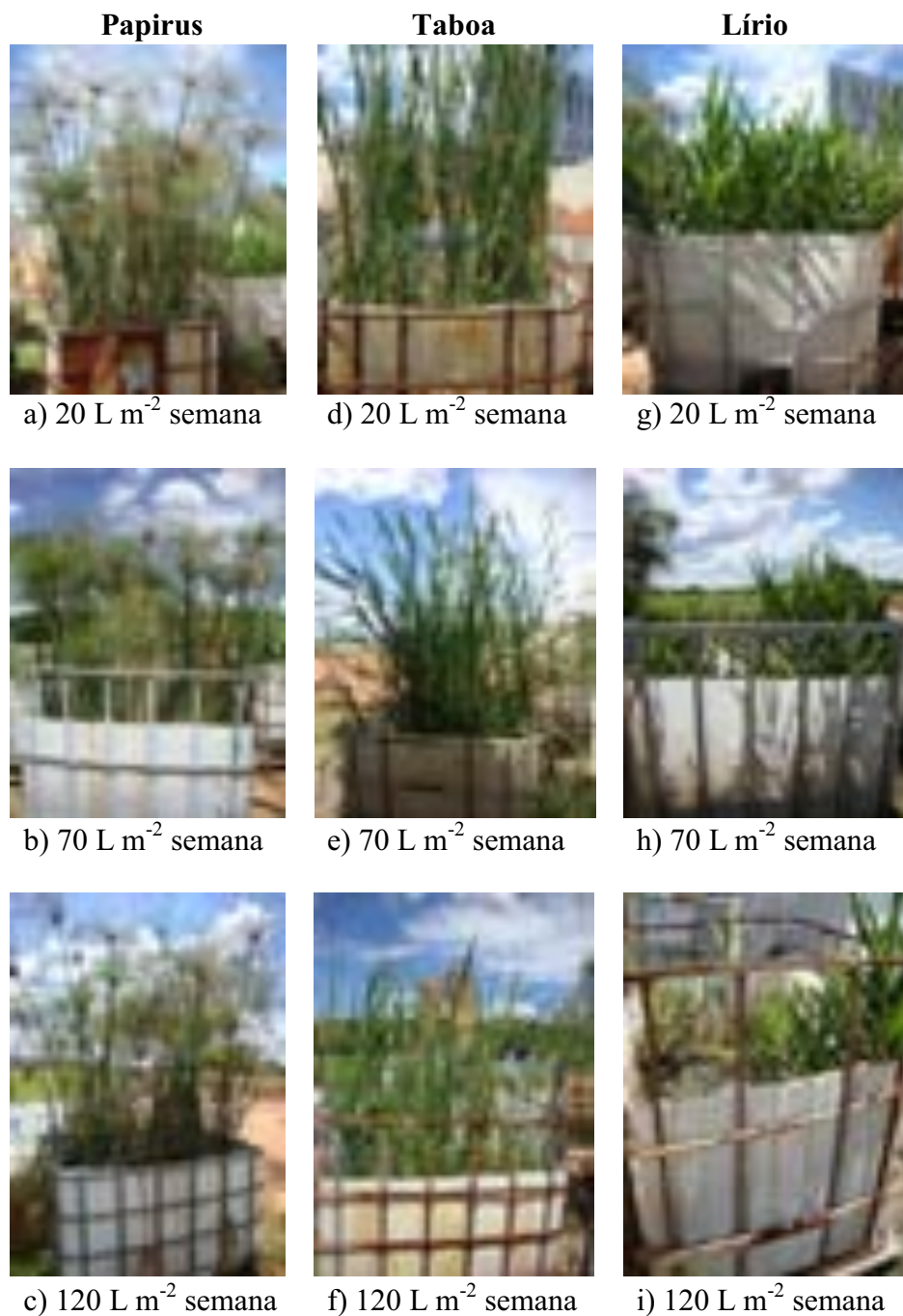


Figura 19 Desenvolvimento das macrófitas, papirus (a,b e c), taboa (d, e e f), e lírio (g, h e i) após o primeiro mês de aplicação do lodo para as direntes taxas de aplicação.

Nas taxas de 20 L m^{-2} semana, e 70 L m^{-2} semana, as plantas sentiram os efeitos das aplicações de forma semelhante, confirmando a observação de Koottatep (2002), que durante a operação constatou-se que a taxa de aplicação ideal foi de 250 kg ST m^{-2} ano, ou seja, equivalente a aplicação de 70 L m^{-2} semana, do lodo da ETE Goiânia, pois acima desta taxa as plantas começaram a murchar. Nessas taxas, a macrófita que apresentou maior resistência à aplicação do lodo foi o lírio do brejo.



Figura 20 Desenvolvimento das macrófitas, papirus (a,b e c), taboa (d, e e f), e lírio (g, h e i) após o segundo mês de aplicação do lodo para as diretas taxas de aplicação.



Figura 21 Desenvolvimento das macrófitas, papirus (a,b e c), taboa (d, e e f), e lírio (g, h e i) após o terceiro mês de aplicação do lodo para as direntes taxas de aplicação.

Durante a aplicação do lodo desenvolveram-se plantas invasoras nos contenedores, sendo necessário removê-las periodicamente (Figura 22).



Figura 22 Desenvolvimento de plantas invasoras nos contenedores

4.5 INVESTIGAÇÃO DE PRESENÇA DE SUBSTÂNCIA ANTIBACTERIANA NA ÁGUA EM CONTATO COM AS RAÍZES DAS MACRÓFITAS

Após realizar o procedimento de partição das amostras foram obtidas as quantidades das frações dos extratos apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 Quantidade dos extratos obtidos na investigação de presença de substância antibacteriana na água em contato com as macrófitas.

Data da coleta da água	Macrófita	Quantidade de extrato obtido
14/05	Taboa	0,0087g
14/05	Testemunha	0,0300g
30/06	Lírio	0,0184g
30/06	Papirus	0,0032g
30/06	Testemunha	0,0074g

Na definição da concentração inibitória mínima de ação do extrato na atividade antimicrobiana, todas as amostras apresentaram crescimento microbiano em todas concentrações do extrato. As Figuras 23, 24, 25, 26 e 27 apresentam a atividade microbiana nas placas e as concentrações dos extratos inoculados para as espécies Papirus, Lírio, Taboa e Testemunha, respectivamente.

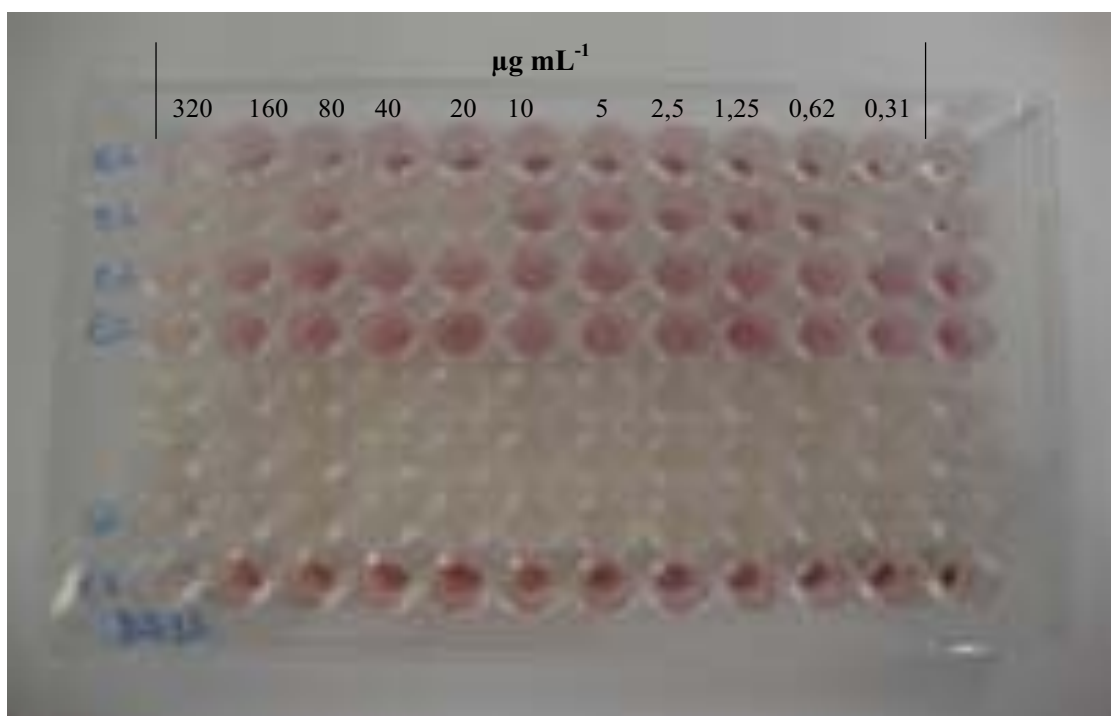


Figura 23 Atividade microbiana na placa com concentrações de inóculo do extrato proveniente da água em contato com raízes do Papirus (cor vermelha indica atividade microbiana).

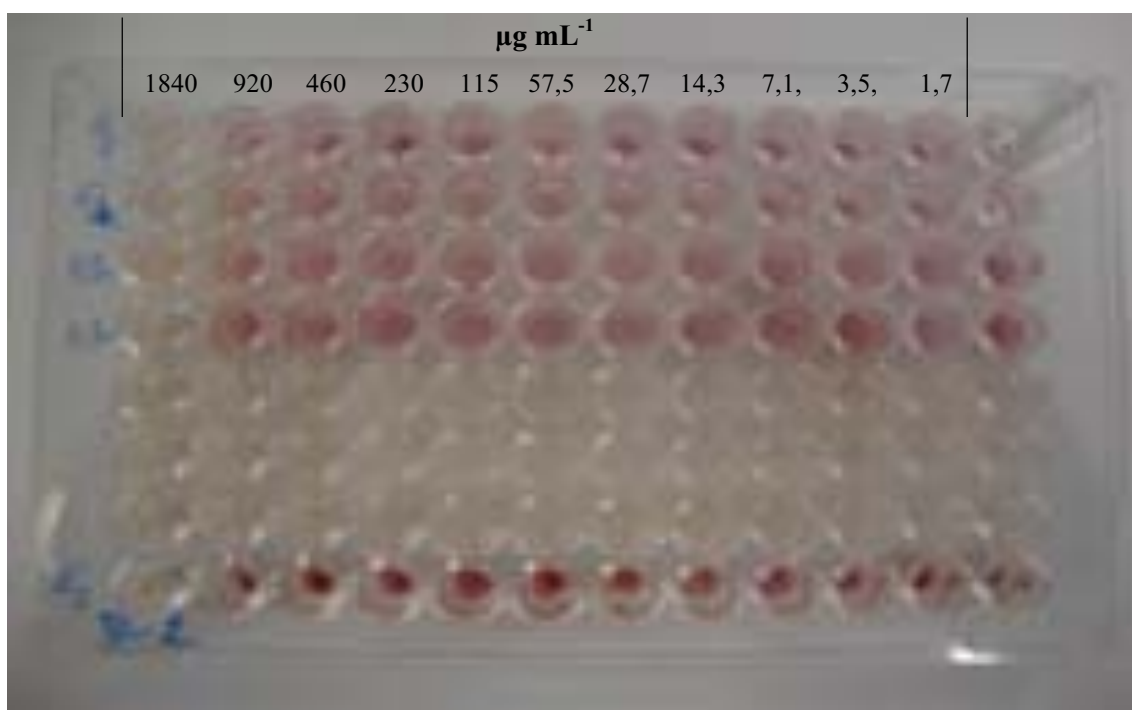


Figura 24 Atividade microbiana na placa com concentrações de inóculo do extrato proveniente da água em contato com raízes do Lírío (cor vermelha indica atividade microbiana).

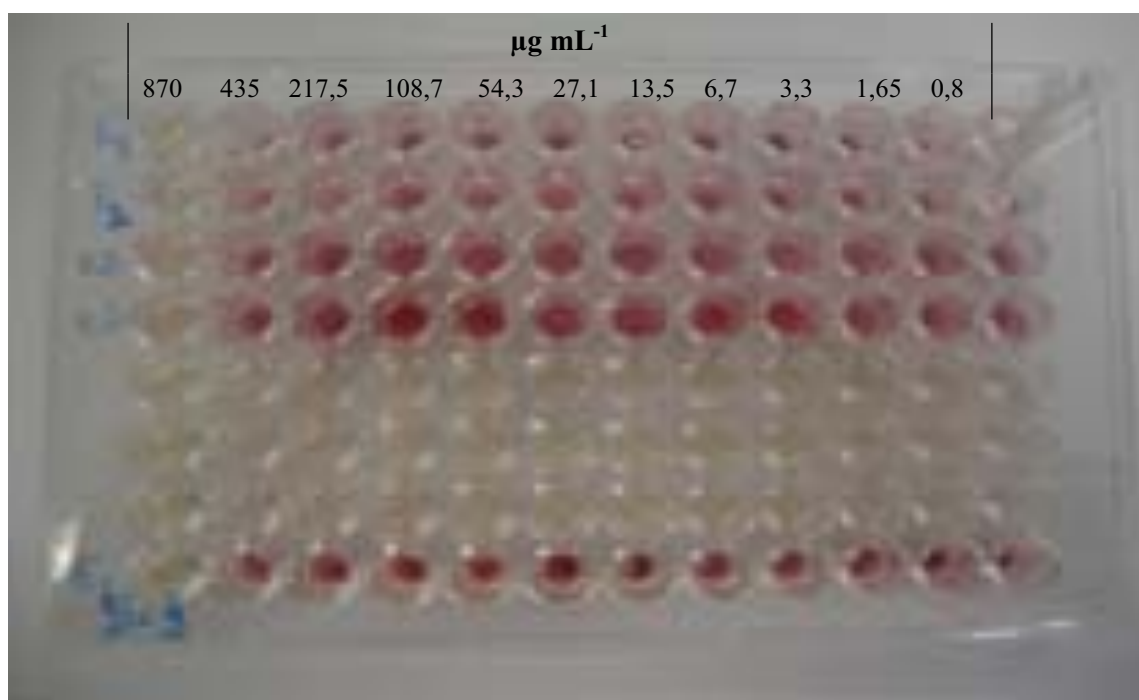


Figura 25 Atividade microbiana na placa com concentrações de inóculo do extrato proveniente da água em contato com raízes da Taboa (cor vermelha indica atividade microbiana).

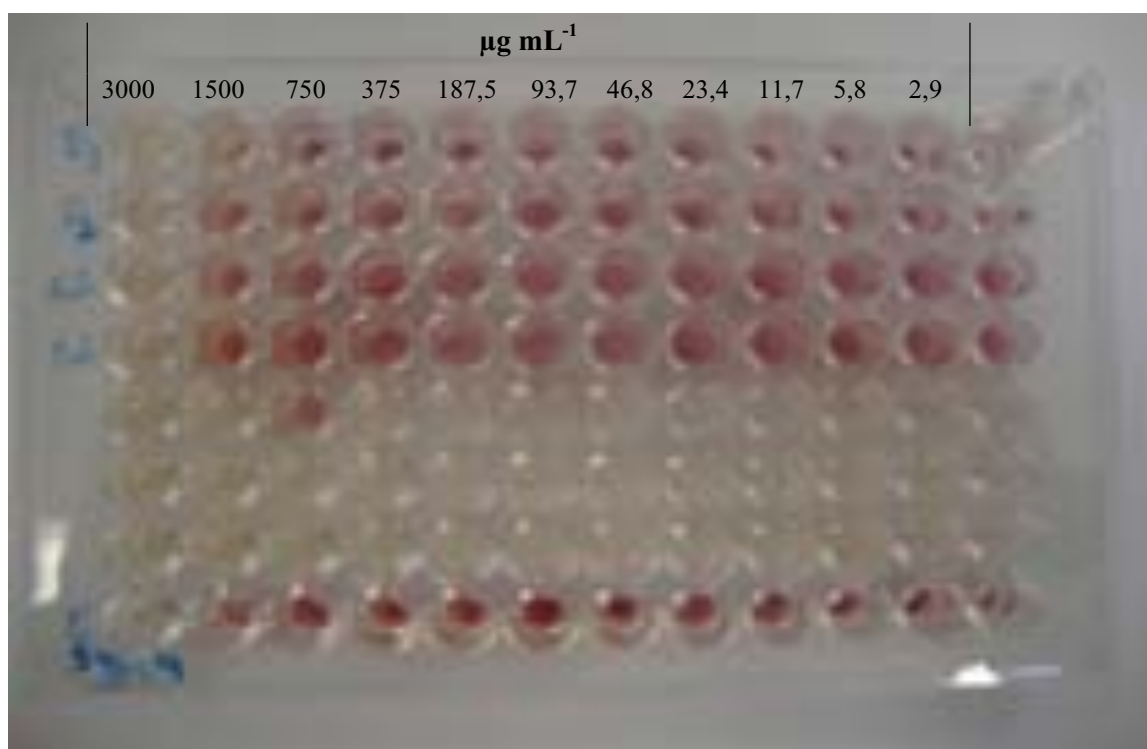


Figura 26 Atividade microbiana na placa com concentrações de inóculo do extrato proveniente da água do balde não plantado coletada na data 14/05/2010 (cor vermelha indica atividade microbiana).

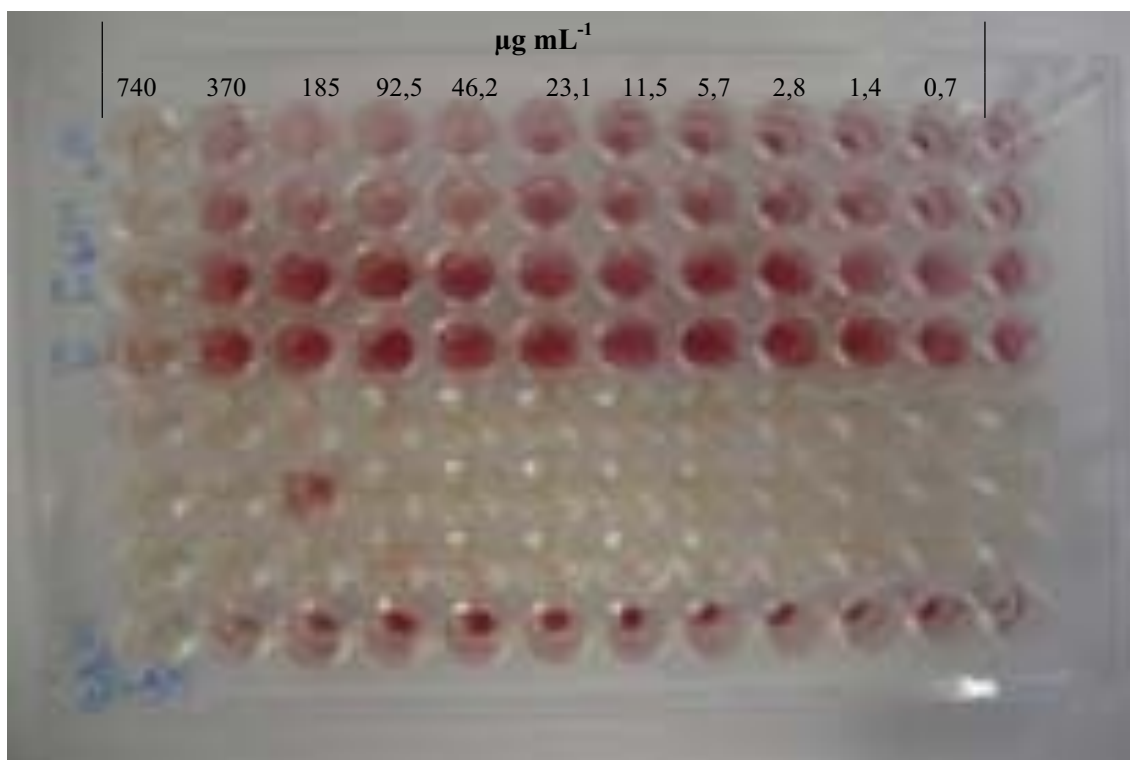


Figura 27 Atividade microbiana na placa com concentrações de inoculo do extrato proveniente da água do balde não plantado coletada no dia 31/06/2010 (cor vermelha indica atividade microbiana).

Houve crescimento microbiano nas concentrações $\leq 160 \mu \text{ mL}^{-1}$ para papirus, $\leq 920 \mu \text{ mL}^{-1}$ para lírio, $\leq 435 \mu \text{ mL}^{-1}$ para taboa, $\leq 1500 \mu \text{ mL}^{-1}$ para testemunha 1 e $\leq 370 \mu \text{ mL}^{-1}$ para Testemunha 2. Isso evidencia que nessas concentrações os extratos não inibem o crescimento microbiano.

Sendo assim, os resultados confirmam a afirmação de Brix (1993), que embora os metabolitos das raízes das macrófitas tem sido relatadas por possuírem um efeito antibiótico sobre as bactérias, nenhuma evidência real para isso foi descrita.

Segundo Stottmeister et al. (2003) o uso de leito de macrófitas demonstra o potencial desta tecnologia na limpeza do efluentes, mesmo que os mecanismos de redução de patógenos não sejam totalmente compreendidos.

5. CONCLUSÕES

1. As concentrações de sólidos totais (4,5%) e de ovos de viáveis de helmintos (6 ovos g^{-1} ST) do lodo da ETE Goiânia, apresentaram características semelhantes ao relatado na literatura. No entanto, os valores de coliformes termotolerantes foram maiores ($1,9 \times 10^8$ NMP 100 mL^{-1}).
2. Para a eficiência na remoção de coliformes termotolerantes, ovos viáveis de helmintos e sólidos totais do lodo, não houve diferença significativa entre os tratamentos.
3. Para ovos viáveis helmintos e coliformes termotolerantes do lodo não houve diferença significativa entre as taxas de aplicações.
4. Para sólidos totais a taxa de aplicação de lodo de 120 L m^{-2} semana resultou em lodo desaguado com menor teor de sólidos.
5. O lodo submetido ao tratamento do tipo leito de macrófitas atendeu à classificação do lodo tipo A para ovos viáveis de helmintos e de lodo tipo B para coliformes termotolerantes.
6. A aplicação de lodo em leito de macrófitas na taxa 20 L m^{-2} semana não apresentou filtrado.
7. Não houve influência das taxas de aplicação na remoção de sólidos totais e coliformes termotolerantes do filtrado.
8. As macrófitas tiveram o desenvolvimento prejudicado pela aplicação do lodo, sendo a planta mais resistente o Lírio do brejo.
9. Os substratos encontrados nas águas em contato com as raízes das macrófitas não apresentaram atividade anti-microbiana.

6. RECOMENDAÇÕES

Visando ampliar os conhecimentos sobre estações de tratamento de lodos por plantas sugere-se:

1. Medir a espessura da camada de lodo desaguado resultante de cada aplicação de lodo líquido.
2. Avaliar a eficiência do sistema de tratamento de lodo melhor digerido, incluindo de tanques sépticos.
3. Avaliar a eficiência de sistema com aplicações de lodo em período de tempo superior a um ano.
4. Realizar testes de reuso agrícola do lodo desaguado e higienizado pelo sistema leito de macrófitas.
5. Realizar teste de atividade antimicrobiana em água em contato com as raízes das macrófitas por períodos superiores a seis meses.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O sistema de tratamento de lodo em leito de macrófitas não apresentou diferenças significativas de redução de coliformes termotolerantes, ovos viáveis de helmintos e na concentração de sólidos totais entre as três espécies vegetais e o testemunha. No entanto, ficou evidente que as macrófitas além de contribuírem com o fator estético em uma ETE, também reduzem o volume de filtrado, proporcionando um benefício na redução com os custos de tratamento do filtrado.

Como a literatura apresenta eficiências satisfatórias do uso de leito de macrófitas no tratamento de esgoto, seria interessante utilizar o sistema de forma integrada, onde, outro leito de macrófitas completaria o tratamento do filtrado produzido na aplicação do lodo nas macrófitas, ou ainda, os leitos de tratamento de lodo poderiam ter uma maior espessura na camada de areia, de modo a aumentar a eficiência do sistema no tratamento do líquido filtrado.

Os leitos de macrófitas mostraram ser uma alternativa tecnológica viável ao tratamento de lodo de esgoto, para as condições climáticas do Estado de Goiás, devendo, portanto, ser melhor estudados para que possam ser adaptados de forma segura e consciente.

8 REFERÊNCIAS

AGUSTINI, D.; ONOFRE, S. B. Caracterização físico-química e microbiológica do lodo de esgoto produzido pela Estação de Tratamento de Esgoto de Pato Testemunha-PR. **Revista de Biologia e Saúde da UNISEP**. v. 1, n 1, 2007. ISSN: 1982-2774.

ALMEIDA, R. A. **Substratos e plantas no tratamento de esgoto por zona de raízes**. Tese (Doutorado em A: Produção Vegetal)-Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2005. 108 f.

ANDREOLI, C. V.; LEITE, B. Z.; MARIA, P. I. Lodo de decanto digestores. In: ANDREOLI, C. V. **Alternativas de uso de resíduos de saneamento**. 4 Biossólidos. PROSAB. Rio de Janeiro, ABES, 2006. p. 361-396.

ANDREOLI, C. V.; PEGORINE, E. S. Reciclagem agrícola de biossólidos: impactos e regulamentação. XXIX CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. Ribeirão Preto, 2003. p. 02.

ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E.; S. **Alternativas de uso de resíduos de saneamento**. 4 Biossólidos. PROSAB. Rio de Janeiro, ABES, 2006. p. 01-03.

ANDREOLI, C.V.; FERREIRA, A.C.; CHEERNICHARO, C.A. Secagem e higienização de lodos com reaproveitamento do biogás. In: CASSINI, S.T. **Digestão de resíduos sólidos orgânicos e aproveitamento do biogás**. Projeto PROSAB, Rio de Janeiro: ABES/RJ, cap.5, p.121-165, 2003.

APHA. **Standard methods for water and wastewater examination**. 21^a ed. 1998.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 10.004**: resíduos sólidos – classificação. Rio de Janeiro: ABNT, 2004, 71 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 10.007**: amostragem de resíduos sólidos. Rio de Janeiro: ABNT, 2004, 21 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **NBR 7.229**: projeto, construção e operação de sistemas de tanques sépticos. Rio de Janeiro: ABNT, 1993.

BARRETO, C. O. **Eficiência do leito de macrófitas como unidade de polimento de efluente de indústria de aditivos para ração**, Campinas, 2005. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, 2005. p. 11-26. Disponível em: < <http://libdigi.unicamp.br/document/?code=vtls000385412>>. Acesso em: 13 abr. 2009.

BINI, L. M.; THOMAZ, S. M. **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. 2003. 341 p. Disponível em: < http://www.peld.uem.br/peld-Infra_estrutura_campus_sede.htm>. Acesso em 13 jun. 2009.

BONNET, B. R. P.; LARA, A. I.; DOMASZAK, S. C. Indicadores biológicos de qualidade sanitária do lodo de esgoto. In: ANDREOLI, C. V.; BONNET, B. R. P.

Manual de métodos para análises microbiológicas e parasitológicas em reciclagem agrícola de lodo de esgoto. SANEPAR. 2000. 86p.

BRASIL, M. S.; MATOS, A. T.; SOARES, A. A. **Plantio e desenvolvimento fenológico da taboa (*Typha sp.*) utilizada no tratamento de esgoto doméstico em sistema alagado construído.** ABES. Revista de Engenharia Sanitária Ambiental. Vol.12 - Nº 3 - jul/set 2007, 266-272.

BRASIL, Ministério das Cidades. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. **Diagnóstico dos serviços de água e esgoto.** 2007. Disponível em: < <http://www.snis.gov.br> >. Acesso em: 13 jun. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Irrigação. Departamento Nacional de Meteorologia. **Normais climatológicas** : 1961-1990. Brasília, DF, 1992. 84 p.

BRETT, C. T.; WALDRON, K. W. **Physiology and biochemistry of plant cell walls.** 1996, p. 173-186.

BRIX, H. **Function of macrophytes in constructed wetlands.** Wat. Sci. and Tech., vol 29, no 4, p. 71-78, 1994. Disponível em: <<http://mit.biology.au.dk/~biohbn/hansbrix/publ.htm>>. Acesso em: 20 maio 2009.

BRIX, H. Wastewater Treatment in constructed wetland: system desing, removal processes, and treatment performance. In: MOSHIRI, Gerald A. **Constructed wetlands for water quality improvemet.** 1993. p. 9–23. Disponível em: < http://books.google.com.br/books?id=_PQJ7wGG_2cC&pg=PA525&lpg=PA525&dq=wetlands+se+ptage&source=bl&ots=C3Ftj0EmPZ&sig=81cdb5XbpjCYqGych_3p_4F3UtE&hl=pt-BR&ei=VmgYStWaBZPKMIP89f0J&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=5#PP23,M1 >. Acesso em: 03 jun. 2009.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INSTITUTE CLSI 2009. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically.** 8rd edn. Approved Standard M07-08. Wayne, PA: clinical and Laboratory Standards Institute, 2009

COMPARINI, J.B. **Estudo do decaimento de patógenos em bio sólidos estocados em valas e em bio sólidos submetidos à secagem em estufa agrícola.** São Paulo: Tese (Doutorado em Engenharia) Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2001, 278p.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos d'água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, ano 142, n. 53, 18 mar. 2005. Seção 1, p. 58-63.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. **Resolução nº 375.** Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. Brasília: Conama, 2006. 32 p.

DE VOS, J. **Secagem e tratamento biológico de lodos em leitos de macrófitas**. Portugal, 1997.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. In: Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre. 2007. p.229-232.

FERNANDES, F. et al. **Reciclagem de lodo de esgoto: experiência na região metropolitana de Curitiba**. In: 21º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. João Pessoa. Jul 2010. Disponível em: <<http://www.cepis.org.pe/bvs/aidis/aresidua/brasil/ii-023.pdf>>. Acesso em: 01 jul 2010.

FERRI, P. H. Química de produtos naturais: métodos gerais. In: DI STASI, L. C. (Org.). **Plantas medicinais: arte e ciência**. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1996. p.129-156.

GODINHO, V.M.; CHERNICHARO, C.A.L.; HONÓRIO, K.B. Caracterização de lodos gerados em sistemas de tratamento de esgotos quanto à presença de helmintos. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 22, 2003, Joinville, SC, **Anais Eletrônicos**: ABES/SC, 2003, CD-ROM.

INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA - IPEA. **Saneamento e habitação**. Pnad 2007. Disponível em: <http://www.ipea.gov.br/sites/000/2/pdf_release/19_Saneamento_e_Habitacao.pdf>. Acesso em: 09 maio 2009.

INTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Síntese**. 2006. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=go>>. Acesso em: 09 maio 2009.

KADLEC, R. H.; KNIGHT, R. L. **Treatment wetlands**. 1996. p.77. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=Y1XFb94MioUC&pg=PA400&lpg=PA400&dq=wetlands+enzymes+septage&source=bl&ots=I5YTr8n7Zo&sig=5epxk4fAEHUM7w3s65wjyCnxI&hl=pt-BR&ei=HZEySsCEPKakNaLG1PYJ&as=X&oi=book_result&ct=result&resnum=2#PPP1,M1>. Acesso: 03 jun. 2009

KAICK, T.S.V. **Estação de tratamento de esgoto por meio e zona de raízes: uma proposta de tecnologia apropriada para saneamento básico no litoral do Paraná**. Curitiba, 2002.

KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico microbiológico**. Rio de Janeiro, 2001. p. 1109-1110.

KOOTTATEP, T. et al. **Constructed wetlands for septage treatment**. Department for water and sanitation in developing countries, SANDEC, 2002. Disponível em: <http://www.eawag.ch/organisation/abteilungen/sandec/publikationen/publications_ewm/ewm_drying>. Acesso em: 20 jan. 2009.

KOOTTATEP, T. et al. **Design considerations of constructed wetlands for septage treatment at the ait pilot plant**. Department for water and sanitation in developing countries, SANDEC, 1999. Disponível em: <http://www.eawag.ch/organisation/abteilungen/sandec/publikationen/publications_ewm/ewm_drying>. Acesso em: 11 maio 2009.

KOOTTATEP, T. et al. **Material fluxes in constructed wetlands treating septage and their polishing systems.** Department for water and sanitation in developing countries, SANDEC, 2004b. Disponível em: <http://www.eawag.ch/organisation/abteilungen/sandec/publikationen/publications_ewm/ewm_drying>. Acesso em: 10 fev. 2009.

KOOTTATEP, T. et al. **Treatment of septage in constructed wetlands in tropical climate - Lessons learnt after seven years of operation.** Department for water and sanitation in developing countries, SANDEC, 2004a. Disponível em: <http://www.eawag.ch/organisation/abteilungen/sandec/publikationen/publications_ewm/ewm_drying>. Acesso em: 15 abr. 2009.

KOOTTATEP, T. et al. **Potentials of vertical-flow constructed wetlands for septage treatment in tropical regions.** Department for water and sanitation in developing countries, SANDEC, 2001. Disponível em: <http://www.eawag.ch/organisation/abteilungen/sandec/publikationen/publications_ewm/ewm_drying>. Acesso em: 12 maio 2009.

MACHADO, M. F. S. **A situação brasileira dos bio sólidos.** Campinas, SP, 2001. p. 22

NUVOLARI, A. **Utilização de lodos de esgoto sanitário e suas cinzas em tijolos cerâmicos maciços: resultados dos ensaios de caracterização do solo e dos lodos.** In: 22º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. Joinville - SC. Set. 2003

OGDEN, M. H. The Treatment of septage using natural systems. In: MOSHIRI, G. A. **Constructed wetlands for water quality improvemet.** 1993. p. 525-533. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=_PQJ7wGG_2cC&pg=PA525&lpg=PA525&dq=wetlands+septage&source=bl&ots=C3Ftj0EmPZ&sig=81cdb5XbpjCYqGych_3p_4F3UtE&hl=pt-BR&ei=VmgyStWaBZPKMIP89f0J&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=5#PPP23,M1>. Acesso em: 03 jun. 2009.

PEGORINI, E.S.; HARTMANN, C.M.; ANDREOLI, C.V. Avaliação do processo de higienização do lodo de esgoto em estufas plásticas instaladas em ETE's da Sanepar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 24, 2007, Belo Horizonte, **Anais Eletrônicos**: ABES/MG, 2007, CD-ROM.

PEIXOTO, J.I.G. et al. Secagem e higienização natural do bio sólido gerado na estação de tratamento de esgotos de Brasília Sul (ETE Sul). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 23, 2005, Campo Grande, MS. **Anais Eletrônicos**. ABES/MS, 2005, CD-ROM.

PHILIPPI, L. S. **Saneamento descentralizado: instrumento para o desenvolvimento sustentável.** In: IX SILUBESA – SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, Porto Alegre, 2000. Disponível em: <<http://www.gesad.ufsc.br/download/PHILIPPI,%20L.S.%20IX%20SILUBESA.pdf>>. Acesso em: 24 jun. 2009.

SANEAMENTO DE GOIÁS S. A. - SANEAGO. **ETEs Impactos locais e geração de resíduos.** Gerência de Tratamento de Esgotos PGTE. 2009a.

SANEAMENTO DE GOIÁS S. A. - SANEAGO. **Laudos de análises de lodo.** Laboratório. 2009b.

SANT'ANA, M. P.; SILVA, M. O. S. A.; SILVA, M. F. **Desidratação e estabilização alcalina do lodo primário da ETE Goiânia.** In: . In: 24º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA AMBIENTAL. Belo Horizonte. Set. 2007. Disponível em: < <http://www.saneamento.poli.ufrj.br/documentos/24CBES/II-353.pdf>>. Acesso em: 15 maio 2009.

SANTOS, R. I.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. In: Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento.** Porto Alegre. 2007. p.421.

SILVA, M. F.; CARVALHO, E. H. **Otimização do tratamento preliminar da ETE de Goiânia.** In: 24º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, Belo Horizonte. Set. 2007. Disponível em: < <http://www.saneamento.poli.ufrj.br/documentos/24CBES/II-451.pdf>>. Acesso em: 15 maio 2009.

SILVA, S.M.C.P. et al. Principais contaminantes do lodo. In: ANDREOLI, C.V.; SPERLING, M.V.; FERNANDES, F. **Lodos de esgotos: tratamento e disposição final.** Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFMG, 2001, cap. 3, p. 69-121.

SOCCOL, V. T.; PAULINO, R. C.; CASTRO, E. A. Metodologia para análise parasitológica em lodo de esgoto. In: : ANDREOLI, C. V.; BONNET, B. R. P. **Manual de métodos para análises microbiológicas e parasitológicas em reciclagem agrícola de lodo de esgoto.** SANEPAR. 2000. 86p.

SOUZA, C. A. et al. **Sobreviência de ovos de helmintos na reciclagem agrícola do lodo de esgoto em *Brachiaria brizantha* no Distrito Federal.** In: XX Congresso Brasileiro de Parasitologia, Recife, 2007.

SPERLING, M.V.; GONÇALVES, R.F. Lodo de esgotos: características e produção. In: ANDREOLI, C.V.; SPERLING, M.V.; FERNANDES, F. (eds) **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias** - Volume 6. Editora FCO, 483 p, Curitiba, 2001.

STOTTMEISTER, U. et. al. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. **Biotechnology advances** v.22, p.93– 117, 2003.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. **Health effects of land application of municipal sludge.** Research and Development. Cincinnati: USEPA/600/1-85/015, 1985. 78p.

VAN HAANDEL, A.; PEDRO, A. S. Produção, composição e constituição de lodo de esgoto. In: ANDREOLI, C. **Alternativas de uso de resíduos de saneamento.** 4 Biosólidos. PROSAB. Rio de Janeiro: ABES/RJ, 2006, p. 07-28.

VOISIN, J.; PAING, J. Vertical flow constructed wetlands for municipal wastewater and septage treatment in French rural area. **Water science and technology.** vol. 51. 2005. p. 145-155.

YANKO, W.A., 1987. Occurrence of pathogens in distribution and marketing municipal sludges IN: **Environmental regulation and technology : control of pathogens and vector attraction in sewage sludge**. Rapport U.S. EPA 625/R-92/013, 149. Washington : EPA, 1992.

ZERBINI, A. M.; CHERNICHARO, C. A. L.; VIANA, E. M. **Estudo da remoção de ovos de helmintos e indicadores bacterianos em um sistema de tratamento de esgotos doméstico por reator anaeróbio e aplicação superficial no solo**. In: 20º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA. Rio de Janeiro. Maio 1999. Disponível em: < <http://www.cepis.ops-oms.org/bvsaidis/brasil20/i-159.pdf>>. Acesso em: 17 jun. 2009.

APÊNDICE A

FICHA DE COLETA	
Local	ETE Goiânia
Data:	Hora:
Ponto de coleta	() elevatória () contenedores
Tipo de amostra	() lodo líquido () lodo desaguado () esgoto
Temperatura ambiente:	Temperatura da amostra:
Responsável pela coleta	Daniela Souza Silva Bufaiçal – Mestranda em Engenharia do Meio Ambiente UFG
Análises a serem realizadas	() sólidos totais () coliformes termotolerantes () ovos viáveis de helmintos
Data e hora de recepção no laboratório	
Responsável pela recepção no laboratório	

ANEXO A

DETERMINAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM AMOSTRA DE LODO E ESGOTO

1 PRINCÍPIO DO MÉTODO

Técnica dos tubos múltiplos

O método baseia-se no princípio de que as bactérias presentes em uma amostra podem ser separadas umas das outras por agitação, resultando uma suspensão de células bacterianas individuais uniformemente distribuídas na amostra original, com inoculação de volumes decrescentes da amostra em meio de cultura adequado ao crescimento dos microorganismos pesquisados.

2 EQUIPAMENTOS

- Estantes.
- Frascos de coleta com capacidade de 125 mL.
- Tubos de ensaios 18 x 150 mm.
- Tubos de Duhran.
- Autoclave.
- Destilador.
- Estufa de esterilização.
- Incubadora bacteriológica para a temperatura de $35 \pm 0,5$ °C.
- Banho Maria para a temperatura de $44,5 \pm 0,2$ °C.
- Pipetas.
- Pipetador.
- Bico de Bunsen.
- Balanças.
- Becker de vidro.

3 EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO E SEGURANÇA NO TRABALHO

- Jaleco.
- Luvas.
- Máscara.
- Gorro.
- Óculos.

4 REAGENTES/SOLUÇÕES

Caldo A-1 Medium

5 PREPARO DA SOLUÇÃO

- Pesar e diluir conforme especificado no rótulo do produto.
- Distribuir 10 mL em tubos de ensaio 18 x 150mm, colocar tubos de Duhran invertidos e tampar com chumaços de algodão.
- Proceder a autoclavagem a 121 °C por 10 minutos. Após autoclavagem o pH deverá ser $6,9 \pm 0,2$ ou conforme especificado no rótulo do produto.

6 REALIZAÇÃO DO ENSAIO

- Ordenar em uma estante os tubos de ensaio contendo meio de cultura (caldo A-1 Medium, em 3 séries, ou mais, de 5 tubos.
- Proceder a marcação dos tubos, identificando-os.

Para Lodo

- Pesar 10 gramas da amostra e dissolve-lá em um frasco de polietileno esterilizado (capacidade para 125 mL) com 90 ml de água tamponada; obtendo uma amostra líquida.
- Para obter a diluição 10^{-1} , acrescentar 10 mL da amostra líquida em 90 mL de água tamponada (homogeneizar).
- Proceder dessa forma na sequência de diluição desejada. (OBS: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}).
- Agitar vigorosamente o frasco com as últimas diluições e inocular 1 mL das diluições em cada um dos tubos das séries de 5 tubos com caldo A-1 medium.(OBS: 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}).
- Incubar por 3 horas a $35 \pm 0,5$ °C e em seguida transferir os tubos para o banho maria a $44,5 \pm 0,2$ °C por 21 ± 2 h.
- Proceder a leitura considerando resultados positivos para o teste todos os tubos que apresentaram presença de gás no tubo de Duhran.

Para Esgoto

- Homogeneizar a amostra no mínimo 25 vezes inclinando o frasco até formar um ângulo de 45° aproximadamente entre o braço e antebraço.
- Colocar 10 mL da amostra em um frasco de polietileno com 90 mL de água tamponada (1ª diluição).
- Na diluição de 10^{-2} (homogeneizar o tubo contendo a 1ª diluição 10^{-1}) e transferir 10 mL para outro contendo 90 mL de água tamponada, obtendo-se assim a 2ª diluição 10^{-2} .
- Proceder dessa forma na sequencia de diluição desejada. (OBS: até 10^{-3}).
- Agitar vigorosamente o frasco com a últimas diluições e inocular 1mL das diluições em cada um dos tubos das séries de 5 tubos com caldo A-1 medium.(OBS: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3})
- Incubar por 3 horas a $35 \pm 0,5$ °C e em seguida transferir os tubos para o banho maria a $44,5 \pm 0,2$ °C por 21 ± 2 h.
- Proceder a leitura considerando resultados positivos para o teste todos os tubos que apresentaram presença de gás no tubo de Duhran.

7 FÓRMULA E CÁLCULO DA EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

A densidade de coliformes é expressa como NMP/100 mL. O NMP (Número mais provável) de coliformes é obtido através da tabela que fornece várias combinações de resultados positivos e negativos quando são inoculados 5 tubos para cada

diluição (10 mL, 1mL e 0,1mL) porções de 1 mL e 5 porções de 0,1mL ou então quando utilizados outros volumes decimais. O NMP/100 mL de coliformes será dado aplicando a seguinte fórmula:

$$\text{NMP}/100\text{mL} = \text{valor do NMP (da tabela)} \times \frac{10}{\text{Maior volume inoculado na série de diluição para compor o código}}$$

8 – TABELA DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL DE COLIFORMES EM 100 mL

Combinação positiva	NMP/100 mL	Limite confiança 95% inferior	superior	Combinação positiva	NMP/100 mL	Limite confiança 95% inferior	superior
000	<1,8	-	6,8	430	27	9,9	70
001	1,8	0,090	6,8	431	33	10	70
010	1,8	0,090	6,9	440	34	14	100
020	3,7	0,70	10	500	23	6,8	70
100	2,0	0,1	10	501	31	10	70
101	4,0	0,70	10	502	43	14	100
110	4,0	0,71	12	510	33	10	100
111	6,1	1,8	15	511	46	14	120
120	6,1	1,8	15	512	63	22	150
200	4,5	0,79	15	513	84	34	220
201	6,8	1,8	15	520	49	15	150
210	6,8	1,8	17	521	70	22	170
211	9,2	3,4	22	522	94	34	230
220	9,3	3,4	22	530	79	22	220
230	12	4,1	26	531	110	34	250
300	7,8	2,1	22	532	140	52	400
301	11	3,5	23	533	170	70	400
310	11	3,5	26	540	130	36	400
311	14	5,6	36	541	170	58	400
320	14	5,7	36	542	220	70	440
321	17	6,8	40	543	280	100	710
400	13	4,1	35	544	350	100	710
401	17	5,9	36	550	240	70	710
410	17	6,0	40	551	350	100	1100
411	21	6,8	42	552	540	150	1700
412	26	9,8	70	553	920	220	2900
420	22	6,8	50	554	1600	400	4600
421	26	9,8	70	555	>1600	700	

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater – 21ª Edição

ANEXO B

DETERMINAÇÃO DE OVOS VIÁVEIS DE HELMINTOS EM LODO DE ESGOTO

1 PRINCÍPIO DO MÉTODO

Consiste em trabalhar a amostra permitindo identificar, quantificar e determinar a viabilidade de vários tipos de ovos de parasitas intestinais presentes no lodo de esgoto.

2 EQUIPAMENTOS/MATERIAIS

- Microscópio óptico.
- Câmara Sedgwick-Rafter ou McMaster.
- Becker de 2 L e 1 L.
- Centrífuga.
- Peneira plástica.
- Espátula.
- Incubadora programada para $26^{\circ}\text{C} \pm 1$.
- Tubos para centrífuga de 15 e 100 mL.
- Pipetas Pasteur.
- Mangueira para sifonagem ou aparelho de aspiração à vácuo.
- Pissetas.
- Peras.
- Pipetas graduadas para 10 mL.
- Vórtex.

3 EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO E SEGURANÇA DO TRABALHO

- Luvas.
- Máscara.
- Gorro.
- Jaleco.

4 REAGENTES/SOLUÇÕES

- Éter.
- Triton 0,01% (solução tampão).
- Sol. Sulfato de zinco, $d = 1,18$ a $1,30$.
- Sol. de álcool etílico a 35%.
- Ácido sulfúrico 0,1 N.
- Tween 80.

5 REALIZAÇÃO DO ENSAIO

- Em um Becker com capacidade para 1000 mL, pesar 50 g da amostra de lodo e diluir 450 mL de solução tampão. Mistura bem ou use um agitador magnético por um minuto.

- Passar o homogeneizado por uma peneira e recolher o filtrado em um becker de 2L, lavando a peneira com água várias vezes para remover sólidos. Completar o volume para 2 L em média.
- Deixar a amostra sedimentar de um dia para outro.
- Desprezar o sobrenadante com o auxílio de uma mangueira flexível (sifão).
- Misturar o material decantado e transferi-lo para tubos de centrífuga de 100 mL. Lavar o becker com água destilada de 2 a 3 vezes e verter nos tubos.
- Equalizar os tubos com água destilada e centrifugar a 2.500 rpm por 3 minutos.
- Desprezar o sobrenadante e ressuspender o sedimento com solução de sulfato de zinco ($d= 1,18$ a $1,30$). Adicionar 2 vezes o volume do sedimento de sulfato, agitando vigorosamente em vórtex ou à mão.
- Equalizar os tubos com sulfato e centrifugar a 2.500 rpm por 3 minutos.
- Passar o sobrenadante por uma peneira, para que a sujeira fique retida e posteriormente desprezada. Lavar a peneira direcionando o jato de água (pisseta) para cima dela, recolhendo o filtrado em um bquer de 1000mL. Acrescentar água destilada até completar em média 800 mL.
- Deixar sedimentar de um dia para outro.
- Desprezar o sobrenadante com auxílio de uma mangueira flexível (sifão). Verter o sedimento em tubos de centrífuga de 15 mL. Repetir a centrifugação até que toda amostra fique em um só tubo, utilizando água destilada para auxiliar na transferência dos tubos.
- Centrifugar por 3 minutos a 2500 rpm.
- Desprezar o sobrenadante e ressuspender o sedimento em 7 mL de solução álcool-ácido-água em 3 mL de éter.
- Tampar o tubo e inverter várias vezes, abrindo o tubo cada vez que invertê-lo; homogeneizar bem e centrifugar a 2.500 rpm por 3 minutos.
- Durante a centrifugação serão formadas 3 fases acima do sedimento: uma camada líquida de éter, uma sólida de gordura e outra líquida da solução de ácido, que deverão ser desprezadas deixando apenas o sedimento do fundo do tubo. Caso a camada sólida de gordura fique presa (aderida as paredes do tubo), introduza uma haste de madeira para soltá-la antes de verter o tubo.
- Ressuspender o sedimento em 2,5 mL de ácido sulfúrico 0,1 N colocando a tampa no tubo.
- Incubar o tubo a 26 ± 1 por 21 a 28 dias.
- Para leitura, examine microscopicamente o concentrado usando câmara Sedgwick-Rafter para identificar, quantificar e determinar a viabilidade dos ovos encontrados.

6 FÓRMULA DE CÁLCULOS PARA CÂMARA SEDGWICK-RAFTER

$$\text{N}^\circ \text{ ovos/g ST} = \frac{\text{N. Vf. } 100}{\text{m(g)} \cdot \text{ST (\%)}}$$

em que:

N = n° de ovos observado da câmara Sedgwick-Rafter

Vf = volume final da amostra

100 = total da amostra (100%)

m = massa inicial da amostra em g

ST = % de sólidos totais

7 SOLUÇÕES UTILIZADAS

- Solução de álcool etílico 35%

Em um balão volumétrico de 500 mL, colocar 175 mL de álcool etílico, 1,4 mL de ácido sulfúrico P. A. e completar o volume com água.

- Solução de sulfato de zinco $d=1,2$

Pesar 600g de sulfato de zinco e adicionar 1000 mL de água. Para acertar a solução:

Se $d > 1,2$ acrescentar água

Se $d < 1,2$ acrescentar o sulfato de zinco

- Solução tampão

Solução estoque A – 2,5 mL

Solução estoque B – 10 mL

Tween 80 – 2mL

Água até 2000 mL

pH final = $7,2 \pm 5$

ANEXO C

DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS TOTAIS EM AMOSTRA ESGOTO

1 OBJETIVO

- Padronizar os procedimentos para determinação de sólidos totais.

2 EQUIPAMENTOS/MATERIAIS

- Banho-maria.
- Balança analítica de precisão.
- Cápsula.
- Dessecador.
- Estufa.
- Mufla.

3 – EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL

- Jaleco.
- Luvas.
- Máscara.

4 DESCRIÇÃO DO ENSAIO

- Incinerar as cápsulas a serem utilizadas em forno mufla a 550 °C durante 30 minutos. Esfrie em dessecador, pese (peso B) e conserve em local conhecido até hora de uso.
- Agite a amostra.
- Meça 50 mL da amostra na cápsula.
- Evapore até dessecação em banho-maria.
- Seque a 103-105 °C durante uma hora.
- Esfrie para equilibrar a temperatura em um dessecador individual com dessecante ativo (sílica gel) e pese a cápsula (peso A).

5 CÁLCULO

$$\text{Sólidos totais (mg/L)} = \frac{(A-B) \times 1.000.000}{\text{mL de amostra}}$$

ANEXO D

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CMI)

1 REPIQUE DAS BACTÉRIAS

- Antes de serem utilizadas nos ensaios, as culturas bacterianas de isolados clínicos ou ATCC, devem ser reativadas. Para isso, repicá-las em Caldo Casoy e incubá-las por 24 h a $35^{\circ}\text{C} \pm 2$.

2 PREPARO DO MEIO DE CULTURA – CALDO MULLER HINTON (MH)

- Utilizar o caldo Muller Hinton duas vezes concentrado, ou seja, multiplicar por dois a concentração de preparo indicada no rótulo.

3 DISTRIBUIÇÃO DO MEIO DE CULTURA NAS PLACAS DE MICRODILUIÇÃO

- Em microplacas estéreis de 96 orifícios com fundo em forma de U, providas de tampa, colocar 100 μL de caldo MH da coluna 2 até a coluna 12. Deixar a coluna 1 vazia.
- O trabalho pode ser facilitado com uso de uma pipeta multicanal, nesse caso o meio deve ser vertido em uma placa de petri estéril a fim de facilitar o enchimento das ponteiros. Verificar sempre se todas as ponteiros possuem o mesmo volume.
- Para distribuição do caldo MH, a tampa da placa de microdiluição deve ser removida aos poucos, de forma a expor a fileira que receberá o meio. Isso evita a contaminação da placa e ajuda a orientar a pessoa que está distribuindo o meio.
- Assim que terminar a distribuição do meio, fechar a placa com a tampa apropriada ou, no caso de placas sem tampa, usar filme plástico.
- Empacotá-las em sacos plásticos vedados com fita adesiva plástica ou papel craft, identificar os pacotes e armazená-los em freezer até o uso.

4 PREPARO DAS DILUIÇÕES DOS EXTRATOS

- Solubilizar o extrato em 1 mL de DMSO (passá-lo previamente em filtro milipore 0,45 μm).
- Agitar em vórtex.
- Acrescentar 9 mL de caldo MH.
- Agitar novamente em vórtex.
- Identificar os tubos e guardá-los no freezer até a utilização.

5 DISTRIBUIÇÃO DOS EXTRATOS DILUÍDOS NAS PLACAS DE MICRODILUIÇÃO

- Colocar 200 μL do extrato diluído na primeira coluna da placa (a que havia ficado vazia).
- Não colocar na linha H, pois esta será o controle do DMSO.
- Com o auxílio de uma pipeta multicanal, realizar as diluições seriadas, ou seja, retirar 100 μL da coluna 1 e transferir para a coluna 2, homogeneizar;

retirar 100 μL da coluna 2 e transferir para a 4 e assim sucessivamente até a coluna 11 de onde serão descartados 100 μL .

- O volume de cada orifício é, portanto, 100 μL .
- As placas podem ser tampadas com a tampa apropriadas ou com filme plástico, embaladas e congeladas até a utilização.

6 PREPARO DO INÓCULO

- O inóculo deve ser preparado de acordo com a escala 0,5 de McFarland, para isso pode-se utilizar a comparação visual com um tubo de referência ou o espectrofotômetro.
- Com o auxílio de uma alça, retirar uma pequena alíquota da cultura bacteriana, obtida conforme item 1, e passar para um tubo contendo 3 mL de salina estéril (NaCL 0,85%). Homogeneizar em vórtex por 15 segundos e ler em espectrofotômetro a 625 nm (0,08 a 0,1 de absorbância ou 79,4 a 83,2% de transmitância), usando solução salina como testemunha.
- Fazer diluição 1:10, ou seja, retirar 500 μL do inóculo anterior e colocar em um tubo contendo 4,5 mL de salina.
- Essa diluição permite obter uma concentração de células de 10^7 UFC/mL.
- Os inóculos assim preparados devem ser utilizados em no máximo 15 minutos, ou até 2h, se mantido a 4 °C.

7 CONTROLES, INOCULAÇÃO E INCUBAÇÃO DAS PLACAS

Controles

No esquema utilizado nesse protocolo são reservadas as linhas G e H e a coluna 12 para os controles, sendo:

- Linha G: controle da contaminação do meio de cultura e dos extrato. Recebe extrato e caldo MH, mas não recebe inóculo;
- Linha H: Controle do DMSO. No primeiro orifício da linha H coloca-se 200 μL de uma solução de DMSO 10% em caldo MH, retira-se 100 μL desse orifício e passa-se para o orifício seguinte, homogeneiza-se e segue-se a sua diluição seriada até o último orifício, desprezando-se 100 μL ao final. Os orifícios dessa linha deverão receber o inóculo.
- Coluna 12 : controle do crescimento microbiano. Não recebe os extratos, mas recebe meio de cultura e inóculo.

8 INOCULAÇÃO

- Colocar 5 μL de cada inóculo, preparado, nos orifícios, em duuplicata. Assim, o inóculo será diluído chegando-se à concentração final desejada de 5×10^5 UFC/ mL.

9 INCUBAÇÃO DAS PLACAS

- Após colocar os inóculos, as placas devem ser tampadas e incubadas a 35 °C por 16-20 h.
- Empilhar no máximo 4 placas para garantir que a temperatura atinja todas as placas.

10 LEITURA DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

- Uma hora antes do término do período de incubação acrescentar, a cada um dos orifícios, 20 μL de cloreto de trifênil tetrazolium (TTC) a 0,5%.

- Reincubar as placas a 35 °C por aproximadamente 30 minutos. A presença de uma coloração vermelha é considerada prova do crescimento microbiano.
- A concentração inibitória mínima será a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano, ou seja, o orifício de menor concentração onde não se verificar coloração vermelha.