APLICAÇÃO DE TÉCNICAS DE ANÁLISE DE IMAGENS NO MONITORAMENTO DE SISTEMAS DE LODOS ATIVADOS

YOVANKA PÉREZ GINORIS

UFRJ – Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos

Orientadores: Pro^a. Maria Alice Zarur Coelho

Dr. Sc.

Prof^a. Selma Gomes Ferreira Leite Dr. Sc.

Rio de Janeiro 2006

APLICAÇÃO DE TÉCNICAS DE ANÁLISE DE IMAGENS NO MONITORAMENTO DE SISTEMAS DE LODOS ATIVADOS

Yovanka Pérez Ginoris

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS

Aprovada por:

Maria Alice Zarur Coelho, D. Sc.
(Orientador)

Selma Gomes Ferreira Leite, D. Sc. (Orientador)

Eugénio Manuel de Fafia Campos Ferreira, D. Sc

Geraldo Impel Sant'Anna, D. Ing.

Mauricio Alves da Motta Sobrinho, D. Sc.

Magali Christe Cammarota, D. Sc.

Ofélia Queiroz Fernandez Araújo, Ph D

Rio de Janeiro, R.J. – Brasil 2006

Ginoris, Yovanka Pérez

Aplicação de técnicas de análise de imagens no monitoramento / Yovanka Pérez Ginoris. – Rio de Janeiro, 2006.

xvii, 194 f.: il.

Dissertação (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) — Universidade Federal do Rio de Janeiro — UFRJ, Escola de Química — EQ, 2006.

Orientador: Maria Alice Zarur Coelho Selma Gomes Ferreira Leite

1. Análise de imagens. 2. Sistemas de lodos ativados. 3. Protozoários. 4. Metazoários. 5. Sedimentação I. Coelho, Maria Alice Zarur. II. Leite, Selma Gomes Ferreira. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Escola de Química. IV. Título (Série)

"Os ideais que iluminaram meu caminho e que sempre me deram uma nova coragem para encarar a vida, foram: a bondade, a beleza e a verdade"

Albert Einstein

DEDICO ESTE TRABALHO

A Deus A meus Pais A minhas orientadoras Alice e Selma

AGRADECIMENTOS

É o meu desejo expressar meus mais sinceros votos de agradecimento a todos aqueles que contribuíram de uma forma ou de outra para que este grande projeto da minha vida se tornasse realidade:

A Deus, criador dos Céus e da Terra, minha inspiração, meu refugio e força nos momentos de fraqueza, por ter me dado a oportunidade de alcançar mais esta vitória, obrigada Senhor. A meus amados pais, José Manuel Pérez Cruz e Aleida Ginoris Álvarez, que, desde o inicio da minha vida e mesmo distantes apoiam incondicionalmente todos meus sonhos e me encorajam a conquistá-los, pela compreensão nestes anos de ausência e pelo amor. "Esta victoria es de ustedes también".

A minha orientadora Professora Maria Alice, primeiramente por me estender a mão no momento em que precisei e me aceitar como sua aluna, confiando na minha capacidade para levar à frente este trabalho, pela sua maravilhosa orientação, pelos seus conselhos e sugestões ao longo destes 5 anos de trabalho, pela sua amizade e principalmente pela sua sensibilidade humana.

A minha orientadora Professora Selma, a qual considero como minha mãe brasileira por todo o apoio dado desde o início do trabalho e pelos preciosos ensinamentos e principalmente pelo seu amor e carinho ao longo destes anos.

Ao Professor Eugénio Campos Ferreira, primeiramente por ter me recebido de todo coração no Departamento de Engenharia Biológica da Universidade do Minho, pela sua valiosa orientação, conselhos e recomendações, pela amizade e pela confiança depositada em mim para a realização do trabalho.

Ao amigo Luís, o anjo que encontrei em Portugal, sem você, com certeza, o capítulo dos "protozoários" não teria se tornado realidade, a tua ajuda foi fundamental, obrigada amigo pelo assessoramento, horas de dedicação, esforço.

A Jersi, meu amigo, namorado, incentivador, admirador, de quem eu tive o privilegio de me tornar sua esposa no decorrer deste trabalho e a quem eu amo tanto, pelo carinho, amor, companheirismo, dedicação e compreensão ao longo destes anos.

Ao grupo de pesquisadores e alunos do Departamento de Engenharia Biológica da Universidade de Minho por ter me recebido com os braços abertos, pelo carinho demonstrado, pelo apoio e atenção dispensados em todo momento.

A *Roberta* ("*Rober*") outro anjo, verdadeira amiga cuja ajuda foi crucial para realizar aquelas bateladas intermináveis de análises. Acredite, eu sozinha não teria conseguido. Pela amizade demonstrada e pelos inúmeros momentos de apoio espiritual.

A Priscilla Amaral ("Pri") pelo companheirismo demonstrado em todos os momentos desta caminhada, pelos bolos especiais de aniversário, pela sua constante preocupação e pela companhia nas corridas no campus da UFRJ no "Expresso das 5 horas".

Aos amigos que fiz nas minhas andanças pela Escola de Química atrás de equipamentos e materiais (*Suzana*, *Giselle*, *Sandro*, *Gabriel*, *Mariana*, *Narcisa*, *Fabio*, *Ana Paula*, *Luciene*, *Claudette*) a ajuda, a amizade e o carinho demonstrados foram muito importantes para chegar até aqui.

Agradeço ao apoio da Secretaria do Programa de Pós-graduação da Escola de Química, especialmente a suas funcionárias *Roselee e Marlene*.

E como não mencionar os amigos e colegas do Laboratório 113 (*Etel, Priscilla, Tatiana, Michele, Aretha, André, Carlos, André, Bernardo*), que considero a minha própria família, pelo apoio dado, pelo carinho demonstrado, pelo companheirismo, compreensão e pelos momentos de descontração. Acreditem, a constante presença de vocês e suas contribuições e palavras me encorajaram para continuar a caminhar em busca dos meus objetivos.

A *Daniela* ("*Dani*"), potuguesa-brasileira, pela companhia, apoio e incentivo na minha estada em Portugal.

Aos casais *Priscilla Finotelli* e *Marcos* e *Liliane* e *Giuliano*, pela ajuda incondicional nos momentos finais, me oferecendo um lugar aconchegante e tranquilo para escrever as últimas linhas desta Tese.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pelo apoio financeiro e pela concessão de bolsas de estudo aos alunos e pesquisadores vinculados à este projeto de pesquisa e pela taxa de bancada para aquisição de materiais e equipamentos. Ao projeto (ALFA) pelo apoio financeiro e pela bolsa concedida para minha estadia na Universidade de Minho, Braga, Portugal.

A todos agradeço, profundamente, e dedico o resultado do trabalho.

RESUMO

Ginoris, Pérez Yovanka. Aplicação de técnicas de análise de imagens no monitoramento de sistemas de lodos ativados. Orientadoras: Maria Alice Zarur Coelho e Selma Gomes Ferreira Leite. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ; CNPq, 2006. Dissertação (Doutorado em Ciência)

O presente trabalho teve como objetivo a aplicação de técnicas de análise digital de imagem visando estimar os parâmetros morfológicos dos flocos de lodo ativado e realizar o reconhecimento de protozoários e metazoários típicos destes sistemas.

Em uma primeira fase, foi desenvolvido um procedimento de tratamento e análise de imagens dos flocos de lodo ativado a fim de correlacionar seus parâmetros morfológicos com a sedimentabilidade do lodo ativado. A metodologia obtida foi validada empregando lodo biológico proveniente de duas Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs): uma de esgotos domésticos e outra de efluentes de uma indústria de química fina. Adicionalmente, o método de discrepância empírico aplicado a imagens sintéticas foi empregado. Em etapa posterior, esta metodologia foi utilizada na avaliação dos efeitos causados por concentrações crescentes de fenol na composição de um efluente sintético sobre a desfloculação e a sedimentabilidade do lodo ativado de um reator batelada sequencial (RBS). Após a adaptação do lodo, foram realizados experimentos cinéticos para avaliar a eficiência do sistema na remoção de fenol e nos processos de nitrificação e desnitrificação adotando duas estratégias de enchimento: linear e por pulsos simétricos.

O procedimento de análise de imagens obtido se mostrou reprodutível e adequado para caracterizar a morfologia dos diferentes tipos de lodos. Foi igualmente comprovada a existência de correlações entre o tamanho dos agregados microbianos e os parâmetros morfológicos *Convexidade*, *Porosidade*, *Compacidade* e a *Dimensão Fractal*, sendo também encontrada uma correlação significativa entre a *Convexidade* dos flocos e a sua *Dimensão Fractal*.

Os resultados obtidos durante o período de aclimatação do lodo mostraram que o aumento da carga de fenol fornecida ao sistema, além de promover a desfloculação do lodo ativado,

resultou em variações das propriedades morfológicas dos flocos, levando a diminuição do IVL e ao aumento gradual da relação dos constituintes poliméricos até atingir um valor praticamente constante a partir de 500 ppm de fenol. A desfloculação promoveu o aumento gradual da turbidez do efluente com o aumento da carga de fenol, indicativo de perda de sólidos.

Os ensaios cinéticos mostraram, que independentemente da estratégia de enchimento adotada, os níveis de remoção de fenol, amônia, nitrato e matéria orgânica apresentaram-se na faixa de 80 a 100% até o limite de 500 ppm, exceto para a remoção de DQO cujo valor foi de 20% nesta condição experimental adotando o enchimento linear. O desempenho do processo foi consideravelmente prejudicado ao elevar-se a concentração inicial de fenol para 1000 ppm verificando-se acúmulo de fenol, DQO e nitrogênio amoniacal ao longo do processo bem como oscilações nos níveis de NO₃-, indicando instabilidade do sistema e alteração considerável dos processos de nitrificação e desnitrificação frente a este teor de fenol.

Em uma segunda fase, um procedimento de análise de imagens dos protozoários e metazoários típicos de sistemas por lodos ativados, previamente programado em *Visilog*, foi estendido ao reconhecimento de outros grupos microbianos e adaptado ao ambiente *Matlab*. Os parâmetros morfológicos obtidos após a análise das imagens foram tratados aplicando técnicas de estatística multivariável para a classificação dos diferentes grupos microbianos.

O programa obtido mostrou-se robusto para distinguir entre os grupos principais de protozoários e metazoários assim como entre grupos de protozoários ciliados, com índices de reconhecimento e classificação errônea satisfatórios. Foi possível incluir no reconhecimento dos grupos as formas laterais de *Aspidisca* e *Arcella*, bem como o gênero *Coleps*, aumentando o número de organismos indicativos de ETEs com boas condições de purificação e nitrificação.

Os resultados globais referentes às condições operacionais das ETEs como qualidade do efluente, aeração, idade do lodo e nitrificação também mostraram níveis de reconhecimento e classificação errônea satisfatórios. Contudo, os níveis de reconhecimento e classificação errônea dos grupos indicadores das condições críticas de funcionamento foram somente razoáveis. Em relação ao uso das técnicas multivariáveis, os resultados globais foram similares para Análise Discriminante e Redes Neurais, a exceção dos níveis de reconhecimento e classificação errônea dos grupos indicadores das condições críticas de funcionamento, os quais foram melhores para a análise discriminante em relação com os valores alcançados com as redes neurais.

ABSTRACT

Ginoris, Pérez Yovanka. Aplicação de técnicas de análise de imagens no monitoramento de sistemas de lodos ativados. Orientadoras: Maria Alice Zarur Coelho e Selma Gomes Ferreira Leite. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ; CNPq, 2006. Dissertação (Doutorado em Ciência)

The present work deals with the application of image analysis techniques in order to estimate the morphological parameters of activated sludge flocs and effectuate the recognition of protozoa and metazoa typical of these treatment systems.

In a first stage, a procedure for treatment and image analysis of activated sludge flocs was developed in order to correlate their morphological parameters with the sludge settleability. The obtained methodology was validated using biological sludge from two Wastewater Treatment Plants (WWTP): a domestic one and from an industry producing fine chemicals. Additionally, the method of empirical discrepancy applied to synthetic images was also employed in the validation step. Later, this methodology was used in the evaluation of the effects caused by increasing concentrations of phenol in the composition of a synthetic wastewater on the activated sludge deflocculation and settleability in a Sequenting Batch Reactor (SBR). After sludge adaptation, kinetic assays were performed to assess the system efficiency concerning phenol removal as well as nitrification and denitrification efficiency, adopting two filling strategies: linear and symmetric pulses.

The obtained image analysis procedure proved to be reproducible and adequate to morphologically characterize different types of activated sludge. Similarly, the existence of correlations between microbial aggregates sizes and the morphological parameters *Convexity*, *Porosity*, *Compactness* and *Fractal Dimension* was demonstrated, being also detected a significative relationship between flocs *Convexity* and the respective *Fractal Dimension*.

The results obtained during the acclimation period of the sludge showed that the increasing of phenol concentration fed to the system, besides to promote de activated sludge deflocculation,

resulted in changes on flocs morphological properties, leading to a decreasing of SVI value, which was accompanied by the gradual increase of the relation among polymeric constituents until to attain a value practically constant. The defloculation promoted a gradual increase on the effluent turbidity with the rising of the phenol load, indicating solids lost.

The kinetic assays showed that, independently of the filling strategy, the removal indexes of phenol, ammonia, nitrate and organic load were in the range of 80 to 100% up to the limit of 500 ppm, except for COD removal whose value was 20% in this experimental condition using the linear fill. The process performance was considerably hindered when the phenol concentration was increased to 1000 ppm, since phenol, COD and ammonia accumulated in the system as well as nitrate levels oscillated, indicating system instability and notable alterations in the nitrification and denitrification processes at this phenol content.

In a second stage, a procedure for image analysis of protozoa and metazoa, typically present in activated sludge systems, previously programmed in *Visilog*, was extended to the recognition of others microbial groups and adapted to *Matlab* language. The morphological parameters achieved after image analysis were treated applying the multivariable statistical techniques for the classification of different microbial groups.

The obtained program proved to be robust for distinguishing between main protozoa and metazoa groups as well as between ciliated protozoa groups, with satisfactory recognition and misclassification levels. It was possible to include in the main group's recognition the lateral forms of *Aspidisca cicada* and *Arcella*, as well as *Coleps* sp., increasing the organisms' number indicators of good WWTP conditions

The overall results referring to the operational conditions of the WWTP effluent quality, aeration, sludge age and nitrification presence were also satisfactory. However, the recognition and misclassification levels of groups indicating the critical conditions of performance were barely reasonable. Concerning the use of multivariable techniques, the overall results were similar for both techniques utilized, excepting for the recognition and misclassification levels of groups indicating critical conditions of operation, which were better for discriminant analysis in relation with the values attained with neural networks.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. TRATAMENTO DE ESGOTOS SANITÁRIOS	5
2.2. PROCESSOS DE TRATAMENTO AERÓBIO POR LODOS ATIVADOS	
2.2.1 Variantes do processo de Lodos Ativados: Reator Batelada Següencial (RBS)	11
2.2.2 Etapa de biotransformação no processo aeróbio por lodos ativados	14
2.2.3 Etapa de Sedimentação no processo por Lodos Ativados	21
2.2.4 Composição biológica do lodo ativado	24
2.2.5 Estrutura e propriedades dos flocos de lodo-ativado	27
2.2.6 Problemas de sedimentação	30
2.3. PROTOZOÁRIOS E METAZOÁRIOS DO LODO ATIVADO	34
2.3.1 Sistemática dos protozoários e metazoários	34
2.3.2 Dinâmica das populações de protozoários e metazoártos	38
2.4. TÉCNICAS DE ANÁLISE E PROCESSAMENTO DE IMAGENS DIGITAIS	41
2.4.1 Aplicações das técnicas de análise de imagens	41
2.4.2 Conceitos básicos sobre aquisição, análise e processamento digital de imagens	43
2.5. ESTUDO DE CASO: INFLUÊNCIA DO FENOL NA SEDIMENTABILIDADE E NA	
COMUNIDADE BIOLÓGICA DO LODO ATIVADO	49
2.6. PERSPECTIVAS E OBJETIVOS DO TRABALHO	
CAPÍTULO 3. MATERIAIS E MÉTODOS	
3.1. METODOLOGIAS EXPERIMENTAIS	
3.1.1 Sistema de lodo ativado	
3.1.2 Identificação de protozoários ciliados	33
3.2. MÉTODOS ANALÍTICOS	66
3.2.1 Análises off-line para determinação da eficiência de remoção	66
3.2.2 Determinação dos Polímeros Microbianos Extracelulares	68
3.3. PROCESSAMENTO DE IMAGEM	69
3.3.1 Processamento das imagens dos flocos de lodo ativado	69
3.3.2 Processamento das imagens dos protozoários e metazoários	76
3.4. VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO DE PROCESSAMENTO E ANÁLISE DAS	
IMAGENS DOS FLOCOS-DE LODO ATIVADO	88
3.4.1 Coleta das amostras de lodo ativado	88
3.4.2 Validação do procedimento de Análise Digital de Imagens	88
3.5. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS	91
3.5.1 Tratamento estatístico dos resultados da análise digital de imagens dos flocos de	
lodo ativado	91
3.5.2 Tratamento estatístico dos resultados do processamento das imagens dos	
protozoários e metazoários	92
CAPÍTULO 4. ANÁLISE DIGITAL DE IMAGENS PARA CARACTERIZA	R
SEDIMENTARII IDADE DO LODO ATIVADO	101

4.1. VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO DE ANÁLISE DIGITAL DE IMAGENS DOS	
FLOCOS DE LODO ATIVADO	
poros/floco	102
4.2. ESTUDOS PRELIMINARES PARA A AQUISIÇÃO DAS IMAGENS DIGITAIS DOS	
FLOCOS DE LODO ATIVADO	107
4.2.2 Determinação do número de imagens a serem aquiridas	100
4.2.5 Determinação da distribuição de tamanho dos flocos microbianos	110
4.2.4 Morjologia aos flocos microbianos	113
4.3. CONCLUSÕES PARCIAIS	116
CAPÍTULO 5. ESTUDO DE CASO: REMOÇÃO DE FENOL NO SISTEMA RBS	117
5.1. ACLIMATAÇÃO DO RBS COM CARGAS CRESCENTES DE FENOL	117
5.1.1 Resultados da actimatação do lodo durante o período de acompanhamento do	
sistema	•
5.2. AVALIAÇÃO COM O TEMPO DA BIODEGRADAÇÃO DO FENOL NO RBS EM DISTINTAS CONCENTRAÇÕES INICIAIS	
5.3. CONCLUSÕES PARCIAIS	130
CAPÍTULO 6. IDENTIFICAÇÃO DE PROTOZOÁRIOS E METAZOÁRIOS	140
6.1. ANÁLISE DISCRIMINANTE	149
6.2. REDES NEURAIS	.149
6.3. CONCLUSÕES PARCIAIS	.15/
CAPÍTULO 7. CONCLUSÕES E SUGESTÕES	.163
7.1. RESULTADOS RELEVANTES E CONCLUSÕES	.165
7.2 SUCCETÕES DADA TRADALHOS EVITUROS	.165
7.2. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	.167
EFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	.168
PÊNDICE A: PARÂMETROS MORFOLÓGICOS	
PÊNDICE B: BREVE GUIA DE PROTOZOÁRIOS E METAZOÁRIOS	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 – Processo aeróbio de tratamento de esgotos por lodos ativados.
Figura 2.2,- Etapas de um ciclo no RBS.
Figura 2.3 - Remoção Biológica de nitrogênio.
Figura 2.4 - Curva de sedimentação típica para o lodo ativado
Figura 2.5 - Principais relações tróficas no tanque de aeração
Figura 2.6 - Morfologia de floco dos problemas mais comuns encontrados nos sistemas por
lodos ativados: (a) flocos normais (100x), (b) flocos tipo crescimento pulverizado (100x), (c
intumescimento filamentoso (100x); (d) intumescimento não filamentoso (zoogleal) (200x).30
Figura 2.7 - Dinâmica de colonização dos lodos ativados em ETEs desde o início do seu
funcionamento. (1 - Bactérias; 2 - Protozoários flagelados; 3 - Ciliados nadadores e ciliados
móveis de fundo; 4 - Ciliados sésseis; 5 - Rotíferos)
Figura 3.1 - Reator Batelada Seqüêncial utilizado para a realização dos experimentos 56
Figura 3.2 - Controle Supervisório - Tela de Operação do Processo
Figura 3.3 - Gráfico de Tendências do Processo em Tempo Real60
Figura 3.4 – Sistema de aquisição das imagens digitais dos flocos de lodo ativado
Figura 3.5 – Sistema de aquisição de imagens dos protozoários e metazoários64
Figura 3.6 - Técnica de Thresholding utilizada para segmentar as imagens dos flocos71
Figura 3.7 - Representação esquemática do procedimento de processamento e análise das
imagens dos flocos de lodo ativado74
Figura 3.8 - Imagens resultantes dos passos principais do procedimento de processamento e
análise das imagens dos flocos de lodo ativado
Figura 3.9 – Programa de processamento das imagens digitais Protozoa.m
Figura 3.10 – Programa de análise das imagens digitais Protozoa-param.m
Figura 3.11 – Seleção manual da RIO80
Figura 3.12 – Mapa de Distância Euclidiano do Objeto
Figura 3.13 – Relação das áreas do objeto desgastado e antes da erosão (RTer)84
Figura 3.14 – Representação esquemática do programa ProtoRec v.4
Figura 3.15 – Imagens resultantes dos passos principais do programa ProtoRec v.4

Figura 4.1 - Imagens microscópicas em campo claro (aumento total 120x) dos flocos
microbianos correspondentes às três amostras estudadas, (a) RBS, (b) ETE Ilha do
Governador, (c) ETE CIBA101
Figura 4.2 - Número de poros/floco detectados automaticamente pelo procedimento de ADI
em função dos poros/floco identificados manualmente para as três amostras de lodo avaliadas:
(a) SBR, (b) ETE Ilha do Governador, (c) ETE CIBA103
Figura 4.3 - Influência do tamanho do objeto na PRUM da Área (PRUM-A), do Perímetro
(PRUM-P) e do Fator de Forma (PRUM-FF*)105
Figura 4.4 - Influência da forma na PRUM da Área (PRUM-A) e
Figura 4.5 - Influência do tamanho do objeto fractal na PRUM
Figura 4.6 - Evolução do Erro Padrão dos parâmetros Convexidade (Conv),
Figura 4.7 - Histograma de distribuição de frequências para o Diâmetro Equivalente (Deq)
das amostras de lodo ativado dos sistemas em estudo: (a) sistema RBS, (b) ETE CIBA,112
Figura 5.1 - Crescimento da biomassa do lodo ativado durante o
Figura 5.2 - Evolução da remoção biológica de fenol durante o período de aclimatação 119
Figura 5.3 - Evolução da remoção biológica de DQO durante o período de aclimatação 120
Figura 5.4 - Evolução da turbidez específica do sobrenadante no período de aclimatação em
função da carga de fenol aplicada ao sistema
Figura 5.5 - Comportamento da distribuição de tamanho dos flocos do lodo ativado durante o
período de 8 dias de aclimatação com 25 ppm de fenol
Figura 5.6 - Comportamento da distribuição de tamanho dos flocos do lodo ativado durante o
período de 8 dias de aclimatação com 500 ppm de fenol
Figura 5.7 - Comportamento da distribuição de tamanho dos flocos do lodo ativado durante o
período de 8 dias de aclimatação com 1000 ppm de fenol
Figura 5.8 - Comportamento da concentração de biomassa ao final de 8 dias de aclimatação
com as cargas de fenol testadas
Figura 5.9 - Variação da turbidez especifica do efluente aos 8 dias de adaptação126
Figura 5.10 - Distribuição de frequências do Deq dos flocos microbianos do controle e após o
período de aclimatação com as diferentes cargas de fenol avaliadas127
Figura 5.11 - Comportamento dos componentes dos PEC extraídos do lodo ativado aos 8 dias
de aclimatação para as diferentes cargas de fenol testadas
Figura 5.12 - Comportamento do IVL durante o período de aclimatação de 8 dias com as
cargas de fenol avaliadas129

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1 - Composição típica dos esgotos domésticos brutos
Tabela 2.2 - Valores típicos de DBO5 e carga orgânica diária de vários esgotos industriais9
Tabela 2.3 - Benefícios e vantagens da tecnologia RBS.
Tabela 2.4 - Diferentes Índices do Lodo.
Tabela 2.5 - Protozoários ciliados comuns nas plantas de tratamento de águas residuais 38
Tabela 2.6 - Situações particulares do funcionamento de estações de tratamento biológico de
esgotos por lodos ativados
Tabela 3.1 - Descrição das Estratégias de Enchimente utilizadas no Experimento com o
Reator em Batelada Seqüêncial. 58
Tabela 4.1 - Efetividade do procedimento de ADI para identificar os flocos microbianos102
Tabela 4.2 - Valores médios do Deq dos flocos resultante das diluições das amostras de licor
misturado em estudo
Tabela 4.3 - Influência da diluição no tamanho dos flocos para a amostra de licor do RBS:
ANOVA univariável
Tabela 4.4 - Influência da diluição no tamanho dos flocos para a amostra de licor da ETE Ilha
do Governador: ANOVA univariável
Tabela 4.5 - Valores de tamanho médio e desvio padrão dos flocos microbianos que compõem
os sistemas de tratamento estudados
Tabela 4.6 - Matriz de correlação para os parâmetros morfológicos medidos por ADI dos
flocos de lodo ativado
Tabela 5.1 - Frequência relativa (%) do tamanho dos flocos microbianos após 8 dias de
adaptação do lodo ao fenol nas cargas avaliadas
Tabela 5.2 - Valores médios do Deq dos flocos obtidos após a aclimatação do lodo ativado
com as distintas cargas de fenol aplicadas ao sistema RBS
Tabela 5.3 - Influência da carga de fenol no tamanho dos flocos de lodo ativado: ANOVA
univariável
Tabela 5.4 - Níveis de remoção alcançados para os componentes analisados face a variação da
carga de fenol aplicada ao sistema para a estratégia de enchimento linear144
Tabela 5.5 - Níveis de remoção alcançados para os componentes analisados face a variação da
carga de fenol aplicada ao sistema para a estratégia de enchimento por pulsos simétricos145
Tabela 6.1 - Reconhecimento de microrganismos pela técnica de Análise Discriminate151

Tabela 6.2 - Níveis de reconhecimento e desclassificação dos grupos microbianos alcançad	0
pela técnica de AD.	
Tabela 6.3 - Reconhecimento dos principais grupos de protozoários e metazoários	
Tabela 6.4 – Reconhecimento dos principais grupos de ciliados	
Tabela 6.5 – Avaliação da qualidade do efluente.	
Tabela 6.6 – Avaliação da aeração.	
Tabela 6.7 – Avaliação da idade do lodo	
Tabela 6.8 – Avaliação da nitrificação.	
Tabela 6.9 - Reconhecimento de microrganismos pela-téenica de Redes Neurais	
Tabela 6.10 - Níveis de reconhecimento e desclassificação dos grupos de protozoários	
metazoários	
Tabela 6.11 - Reconhecimento dos principais grupos de protozoários e metazoários pe	
técnica de RN	
Tabela 6.12 - Reconhecimento dos principais grupos de ciliados pela técnica de RN 16	
Tabela 6.13 – Avaliação da qualidade do efluente pela técnica de RN	
Tabela 6.14 – Avaliação da aeração pela técnica de RN	
Tabela 6.15 – Avaliação da idade do lodo pela técnica de RN	
Tabela 6.16 – Avaliação da nitrificação pela técnica de RN.	

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os problemas ambientais têm se tornado cada vez mais críticos e freqüentes, principalmente devido ao desmedido crescimento populacional e ao aumento da atividade industrial, trazendo modificações ao meio ambiente de tal grandeza que se prevê, para os próximos anos, a perda total de recursos não-renováveis e a utilização indiscriminada de outros, colocando em risco a segurança das formas de vida e, portanto, o equilíbrio ecológico do planeta. Este fenômeno, conhecido como crise ambiental, é hoje um dos grandes desafios da sociedade moderna. Deste modo, é fundamental desenvolver e implantar mecanismos de gerenciamento e controle dos ecossistemas terrestres, principalmente naqueles em que a ação do homem se faz de maneira inadequada, degradando água, solo e ar.

As preocupações das entidades comprometidas com a preservação do meio ambiente quanto à deterioração dos recursos ambientais voltam-se hoje para a importância da água como recurso natural renovável mais intensamente utilizado.

Fundamental para a existência e manutenção da vida, a água potável começa a tornar-se escassa em vários pontos do planeta. Especificamente no caso do Brasil, esta situação tem se agravado nos últimos anos como resultado do crescimento desordenado das cidades. Apesar de ter uma posição privilegiada perante a maioria dos países quanto ao seu volume de recursos hídricos, retendo 13,7% da água doce do mundo, o Brasil apresenta uma disponibilidade desigual de água. Mais de 73% da água doce disponível no País encontra-se na bacia Amazônica, que é habitada por menos de 5% da população. Portanto, apenas 27% dos recursos hídricos brasileiros estão disponíveis para 95% dos habitantes. A concentração da população nos grandes centros urbanos agrava mais este problema, com 75% da população habitando em áreas urbanas e uma parcela considerável em regiões metropolitanas (braga et al., 2002). Esta aglomeração populacional ocorreu principalmente ao longo dos últimos 30 a 40 anos sem que a infraestrutura urbana (transporte, saneamento e habitação) acompanhasse o ritmo de crescimento observado, o qual tem trazido graves problemas como a poluição dos sistemas hídricos no país por diferentes tipos de contaminações: poluição por esgotos domésticos; poluição industrial; disposição dos resíduos sólidos; poluição difusa de origem agrícola; poluição acidental; eutrofização de lagos e represas; salinização de rios e açudes; poluição por mineração; falta de proteção dos mananciais superficiais e subterrâneos.

Segundo dados publicados pelo instituto brasileiro de geografia e estatística IBGE em 2004, 47,8% dos municípios brasileiros não tinha coleta de esgoto, 32% só coletavam e apenas 20,2% coletavam e tratavam seus dejetos. Entretanto, 79,8% dos municípios brasileiros lançavam seu esgoto diretamente em cursos d'água, deteriorando assim não só o meio ambiente e as reservas de água potável brasileiros, mas também provocando inúmeras doenças pelo contacto humano com água contaminada.

Neste sentido, o desenvolvimento e a aplicação de tecnologias eficientes e economicamente viáveis para o tratamento das águas residuais provenientes dos diversos usos, que permitam sua reutilização com fins menos restritivos, junto com a melhoria da eficiência do uso e o controle da demanda deste recurso natural de grande valor, constitui hoje a estratégia básica para a solução do problema da falta universal de água doce.

Dentre as tecnologias que têm sido desenvolvidas para o tratamento das águas residuárias destacam-se os tratamentos biológicos, baseados no uso prático e controlado de microrganismos. Tais tecnologias vêm sendo utilizadas com sucesso na remoção de diversos compostos químicos com elevado potencial poluidor, principalmente os sistemas baseados em lodos ativados, considerados atualmente as tecnologias de tratamento biológico mais utilizadas a nível mundial para o tratamento de esgotos domésticos e industriais, uma vez que permitem remover com elevada eficiência uma ampla variedade de compostos orgânicos e inorgânicos.

O tratamento neste tipo de sistema pode ser efetuado em processo contínuo (ex., lodo ativado convencional) ou em batelada (como o Reator Batelada Seqüencial, RBS). Recentemente tem se ampliado o interesse na aplicação do RBS devido, principalmente, à facilidade de adaptação desta tecnologia ao tratamento dos mais variados efluentes tais como os provenientes das indústrias alimentícia, de laticínios, papel e celulose, couros, bem como esgotos municipais e domésticos, além de ser altamente eficiente na remoção de fósforo e nitrogênio.

Em geral, os sistemas de tratamento por lodos ativados constam de duas etapas de processamento da corrente líquida: a etapa de biotransformação e a etapa de separação dos sólidos do efluente líquido tratado. A etapa de biotransformação tem sido estudada em profundidade e os resultados destes estudos têm contribuído à otimização e ao controle dessa etapa. Entretanto, a separação da biomassa do efluente purificado por sedimentação é considerada a etapa crítica do processo, devido a uma série de problemas que afetam a sedimentabilidade e a compactação do lodo. Como consequência, ocorrem alterações consideráveis na qualidade do tratamento e na economia do processo.

Vários estudos têm mostrado que a sedimentabilidade e a compactação do lodo ativado estão diretamente relacionadas com o fenômeno de floculação da biomassa, o qual, por sua vez, é governado por um conjunto de fatores químicos, físicos e biológicos que incidem no tamanho e nas propriedades morfológicas dos flocos que compõem o lodo (Wilén *et al.*, 1999; Wilé *et al.*, 2000; Jin *et al.*, 2003; Casellas *et al.*, 2004). Desta forma, é possível estabelecer correlações entre os índices de sedimentabilidade do lodo e uma série de parâmetros que caracterizam a morfologia dos agregados microbianos, o que constitui uma alternativa atrativa para monitorar a etapa de sedimentação neste tipo de sistema. Uma técnicas que tem sido utilizada para quantificar morfologicamente os flocos de lodo ativado é a análise digital de imagens, a qual tem encontrado grande utilidade no campo das ciências ambientais. Os trabalhos realizados até o momento incluem a determinação de diversos parâmetros, que caracterizam a morfologia dos flocos, baseados na geometria Euclidiana e também na análise fractal do contorno, além de incluir aspectos tais como detecção e medição de filamentos a fim de monitorar problemas de intumescimento filamentoso nas plantas de tratamento de águas residuárias por lodos ativados.

Um dos aspectos que vêm sendo objeto de vários estudos, a fim de melhorar a eficiência de tratamento de efluentes nos sistemas de lodos ativados encontra-se relacionado com o uso da comunidade biológica presente no ecossistema das Estações de Tratamento como indicadores biológicos da eficiência do tratamento das águas residuárias, sendo os protozoários e metazoários considerados microrganismos importantes que refletem a qualidade do efluente líquido tratado. Os trabalhos realizados até o momento centram-se no estudo da associação entre a estrutura da comunidade de protozoários e os parâmetros físico-químicos e operacionais comumente usados para caracterizar o sistema, tais como Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) removida, carga orgânica alimentada ao sistema, tempo de retenção celular, turbidez do efluente líquido tratado, entre outros. Os resultados destes estudos, de modo geral, têm mostrado que a densidade e a diversidade desta comunidade está altamente correlacionada com o funcionamento da planta, sendo possível identificar e agrupar os organismos componentes em grupos positivos e negativos em função das condições operacionais prevalecentes no sistema (POOLE, 1984; ESTEBAN *et al.*, 1991; AL-SHAHWANI & HORAND, 1991; LEE *et al.*, 2002; MADONI, 1994a)

Recentemente, o uso da técnica de análise digital de imagens combinada com técnicas estatísticas de análise multivariável tem sido implementadas para efetuar o reconhecimento e a identificação de diferentes espécies de protozoários através da caracterização morfológica destes organismos (forma do corpo e presença de estruturas externas, tais como pedúnculo,

cirros e flagelos). Os resultados destes estudos têm se mostrado promissores, já que permitem a classificação e a identificação destes organismos de forma automática e não subjetiva, otimizando o tempo de reconhecimento e classificação, e fornecendo o diagnóstico rápido do funcionamento das ETEs e da qualidade do efluente tratado.

Tendo em vista todos estes aspectos, o presente trabalho perseguiu os seguintes objetivos:

- Em uma primeira etapa, desenvolver, usando a técnica de análise digital de imagens, um procedimento de tratamento e análise das imagens dos flocos de lodo ativado para estimar os parâmetros morfológicos destes agregados microbianos, incluindo aqueles que determinam a porosidade, a fim de correlacioná-los com as propriedades de sedimentabilidade do lodo ativado. O procedimento obtido foi utilizado para avaliar os efeitos causados pelas concentrações crescentes de fenol sobre a desfloculação do lodo ativado durante o tratamento de efluente sintético em um Reator Batelada Seqüencial (RBS).
- Em uma segunda etapa, pretendeu-se estender o procedimento de análise digital de imagens previamente desenvolvido em *Visilog* por Amaral (2003) ao reconhecimento de outros grupos de protozoários e metazoários e adaptá-lo ao ambiente *Matlab*, assim como aplicar as técnicas de *Análise Discriminante* (AD) e Redes Neuronais (RN), para efetuar a identificação dos grupos de protozoários e metazoários comumente presentes nos tanques de aeração das ETEs por lodos ativados.

CAPÍTULO 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. TRATAMENTO DE ESGOTOS SANITÁRIOS E INDUSTRIAIS

O tratamento de esgotos teve suas origens na Inglaterra no final do século XIX e início do século XX, dada a necessidade de controlar um elevado número de epidemias e doenças infecciosas em larga escala provocadas pela poluição das águas de consumo e o contato humano com os esgotos gerados pela própria atividade humana.

Os primeiros sistemas de tratamento visavam unicamente a remoção de sólidos sedimentáveis presentes nos esgotos domésticos. Somente nas primeiras décadas do século XX se iniciou o desenvolvimento de processos biológicos de tratamento visando a remoção mais completa do material orgânico presente nos esgotos.

De forma geral, os esgotos sanitários que chegam às ETEs são basicamente originados de quatro fontes distintas (METCALF & EDDY, 1991):

- Esgotos Domésticos: tendo como principais fontes áreas residenciais, instituições, comércios e unidades recreativas;
- Despejos Industriais: variam com o tipo e tamanho da indústria bem como com o grau de reuso da água e com o método interno de tratamento desses efluentes, caso haja algum;
- Infiltração: águas que penetram na rede coletora de maneira indireta;
- Águas Pluviais: águas provenientes de chuva. No Brasil, estas águas são coletadas separadamente.

Os esgotos sanitários variam amplamente, tanto no que diz respeito à sua composição quantitativa, quanto à sua composição qualitativa em função dos hábitos e das condições sócio-econômicas da população bem como do nível de industrialização da região (BRAGA *et al.*, 2002). Os principais constituintes dos esgotos incluem compostos orgânicos voláteis ou não, sólidos suspensos, nutrientes tais como o nitrôgenio e o fósforo assim como diferentes metais.

Os poluentes podem ser classificados de acordo com sua natureza e com os principais impactos causados pelo seu lançamento no meio aquático em (BRAGA *et al.*, 2002):

Poluentes orgânicos biodegradáveis: Constituídos pela matéria orgânica que pode ser degradada pelos organismos decompositores presentes no meio aquático. São constituídos principalmente por proteínas, carboidratos e gorduras.

Poluentes orgânicos recalcitrantes ou refratários: São aqueles compostos não biodegradáveis ou cuja taxa de degradação é muito lenta. O impacto introduzido por compostos orgânicos desse tipo está associado à sua toxicidade e não ao consumo de oxigênio utilizado para sua decomposição. Dentre eles podem ser citados os defensivos agrícolas, detergentes sintéticos e o petróleo.

- Metais: Todos os metais podem ser solubilizados pela água, podendo gerar danos à saúde em função da quantidade ingerida, devido à sua toxicidade, ou de seus potenciais carcinogênicos, mutagênicos ou teratogênicos. Exemplos de metais tóxicos são o arsênico, bário, cádmio, cromo, chumbo e mercúrio.
- Nutrientes: O excesso de nutrientes nos corpos de água pode levar ao crescimento excessivo de alguns organismos aquáticos acarretando prejuízo a determinados usos dos recursos hídricos superficiais e subterrâneos. Esses nutrientes, notadamente os sais de nitrogênio e fósforo, são comumente responsáveis pela proliferação acentuada de algas, que podem prejudicar a utilização de mananciais de água potável.
- Organismos patogênicos: Estes organismos são responsáveis por um grande número de doenças que podem causar incapacitação temporária ou mesmo a morte. Os organismos patogênicos mais comuns e algumas doenças transmitidas pela água e esgoto ao homem são bactérias, vírus, protozoários, helmintos.
- Sólidos em suspensão: Aumentam a turbidez da água, isto é, diminuindo sua transparência, reduzindo as taxas de fotossíntese e prejudicando a procura de alimento por algumas espécies, levando a desequilíbrios na cadeia alimentar.

O nível de poluição de um esgoto é comumente definido em termos dos compostos orgânicos que afetam a concentração de oxigênio dissolvido (OD) do corpo receptor, tipicamente estimados através dos parâmetros Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Carbono Orgânico Total (COT), assim como pela concentração dos sólidos presentes no esgoto. Estes últimos podem ser classificados de acordo com seu tamanho e estado (Sólidos em Suspensão – SS, Sólidos Dissolvidos – SD), suas características químicas (Sólidos Voláteis – SV ou Sólidos Fixos – SF) e sua

decantabilidade (Sólidos em Suspensão Sedimentáveis e Sólidos em Suspensão não Sedimentáveis).

As **Tabelas 2.1** e **2.2** apresentam informações gerais acerca da poluição orgânica presente nos esgotos domésticos e/u os provenientes de várias indústrias, respectivamente. No caso dos esgotos industriais também estão incluídos os equivalentes populacionais e as cargas de DBO por unidade produzida.

O propósito geral do tratamento de esgotos baseia-se na remoção, de forma eficiente e econômica, daqueles constituintes que impedem que o esgoto alcance os padrões de qualidade vigentes na legislação para seu lançamento nos corpos receptores ou que causem danos ao ambiente aquático (ANDERSON, 2000). O grau de eficiência necessário a ser alcançado em um determinado tratamento de esgotos sanitários varia de um lugar para outro e depende dos seguintes requisitos (BRAGA *et al.*, 2002):

- Usos preponderantes das águas receptoras a jusante do ponto de lançamento dos esgotos;
- Capacidade do corpo de água em assimilar, por diluição e auto depuração, o líquido tratado;
- Exigências legais estabelecidas pelos órgãos de controle da poluição para o corpo receptor; e
- Usos específicos do efluente tratado (reuso industrial ou agrícola, recarga de aquíferos, etc.)

O tratamento de esgotos geralmente é efetuado através da remoção física, química e biológica dos compostos orgânicos e inorgânicos assim como da matéria orgânica solúvel e coloidal presente nos esgotos. O tratamento dos esgotos usualmente é classificado pelos seguintes níveis: Preliminar, Primário, Secundário e Terciário (Avançado).

O tratamento **Preliminar** objetiva apenas a remoção de sólidos grosseiros em suspensão tais como materiais de maiores dimensões, gordura e areia, enquanto que o tratamento **Primário** visa a remoção de sólidos em suspensão sedimentáveis e parte da matéria orgânica integrante destes sólidos.

Em ambos tratamentos predominam os mecanismos físicos de remoção de poluentes (ex. gradeamento, floculação, sedimentação, flotação e filtração). Já no tratamento **Secundário**, no qual predominam os processos de tratamento biológico, o objetivo é principalmente a remoção da matéria orgânica carbonácea não removida no tratamento

Primário e a matéria orgânica dissolvida, sendo também possível efetuar-se a remoção de nutrientes como nitrogênio e fósforo.

Tabela 2.1 – Composição típica dos esgotos domésticos brutos (adaptado de Von SPERLING, 1995).

Parâmetro	Contribuição per capita (g/hab. dia)	Concentração (mg/L)
DBO_5	40 - 60	200 - 500
DQO	80 - 130	400 - 800
Carbono Orgânico Total (COT)	30 - 60	350 - 600
Sólidos Totais (ST)	120 - 220	700 - 1.350
Sólidos em Suspensão (SS)	35 -70	200 - 450
Sólidos Dissolvidos (SDT)	85 - 150	500 - 900
Nitrogênio Total	6 - 112	35 - 70
Fósforo Total	1 – 4,5	5 - 25

O tratamento **Terciário**, também conhecido como **Avançado**, tem como fim a remoção de poluentes específicos (usualmente tóxicos ou compostos não biodegradáveis), ou ainda a remoção complementar de poluentes não suficientemente removidos no tratamento Secundário (von SPERLING, 1995; DAVIS &CORNWELL, 1991).

A essência do tratamento secundário de esgotos é a inclusão de uma etapa biológica, na qual a matéria orgânica é removida por intermédio de reações bioquímicas realizadas por microrganismos em condições aeróbias, anaeróbias ou anóxicas (TCHOBANOGLOUS & BURTON, 1991).

Estes microrganismos podem crescer aderidos a um suporte formando um biofilme (ex. filtros biológicos, biodisco, biofiltro aerado submerso, filtro anaeróbio, etc.) ou como biomassa dispersa no meio líquido (lagoas de estabilização, lodos ativados), utilizando a matéria orgânica para o crescimento e removendo dos esgotos os compostos orgânicos dissolvidos ou em suspensão bem como os compostos coloidais com alto potencial poluidor (ANDERSON, 2000).

Os processos anaeróbios e aeróbios de oxidação biológica têm encontrado amplas aplicações na purificação tanto de esgotos domésticos quanto industriais (METCALF & EDDY, 1991; TCHOBANOGLOUS & BURTON, 1991)

Tabela 2.2 - Valores típicos de DBO₅ e carga orgânica diária de vários esgotos industriais (adaptado de Von SPERLING, 1995).

Gênero	Tipo	Unidade de produção	Carga específica de DBO (Kg./unid)	Equiv. popul. de DBO (hab./unid)	Concentração de DBO (mg/L)	Carga especifica de SS (Kg/unid)
Alimentícia	Açúcar de cana	1 ton açúcar	2,5	90	250 - 5.000	4
	Laticínios	1000 L leite	5 - 40	90 - 700	500 - 4.000	300 - 400
Bebidas	Destilação de álcool	l ton	220	4.000	3.500	260
	Cervejaria	l m³	8-20	150 - 350	500 - 4.000	1.400
Têxtil	Algodão	1 ton	150	2.800	200 – 1.500	70
	Tinturaria	I ton	100 - 200	2.000 - 3.500	2.000 - 5.000	i
Polpa e Papel	Fabricação de polpa sulfatada	l ton	30	009	300	18
	Polpa e papel integrados	l ton	99 - 200	1.000 - 10.000	300 - 10.000	400 - 1.000
dústria Química	Indústria Química Refinaria de petróleo	1 barril	0,05	-	120 - 250	•
	PVC	l ton	10	200	800	1,5
Siderúrgica	Fundição	l ton	0,6-1,6	12 - 30	100 - 300	
	Laminação	l ton	0,4-2,7	8 - 50	30 - 200	

2.2. PROCESSOS DE TRATAMENTO AERÓBIO POR LODOS ATIVADOS

O sistema por lodos ativados constitui, atualmente, o processo biológico secundário mais amplamente utilizado em nível mundial para o tratamento de esgotos domésticos e industriais, em situações em que são necessários elevada qualidade do efluente e reduzidos requisitos de área. (von SPERLING, 2000).

Desde 1914, quando foi instalada a primeira unidade em escala real na Inglaterra para o tratamento de esgotos por Ardern e Lockett, o processo de lodo ativado ganhou grande difusão mantendo-se no mercado de processos de tratamento de efluentes, principalmente, pela capacidade que o mesmo tem para remover eficientemente das águas residuais uma ampla variedade de compostos orgânicos dissolvidos, compostos coloidais biodegradáveis, sólidos suspensos não sedimentáveis, bem como outros constituintes que podem ser adsorvidos ou retidos no sistema. Nitrogênio e fósforo são também removidos podendo ocorrer ainda volatilização de alguns compostos orgânicos durante o tratamento (GANCZARCZYCK, 1983).

O processo deve seu nome ao fato dos microrganismos crescerem sob a forma de flocos originando uma massa, ou lodo biológico ativo, que se mantém em suspensão no efluente aerado que se pretende tratar.

Assim, o princípio geral deste processo consiste no fornecimento constante de matéria orgânica e oxigênio a uma comunidade de microrganismos que, através do seu metabolismo, transformam essa matéria orgânica em nova biomassa microbiana, CO₂, H₂O, e minerais. O processo convencional é resumido de acordo com CANLER *et al.* (1999) na **Figura 2.1**.

O sistema de lodos ativados não exige grandes requisitos de áreas como por exemplo as lagoas. No entanto há um alto grau de mecanização e um elevado consumo de energia elétrica. O tanque de aeração ou reator, o tanque de decantação e a recirculação de lodo são partes integrantes deste sistema. O efluente passa pelo reator, onde ocorre a remoção da matéria orgânica e depois pelo decantador, de onde sai clarificado após a sedimentação dos sólidos (biomassa) que formam o lodo de fundo. Este é formado por bactérias ainda ávidas por matéria orgânica que são enviadas novamente para o reator (através da recirculação de lodo). Com isso há um aumento da concentração de bactérias em suspensão no tanque de aeração. Porém uma taxa equivalente ao crescimento das bactérias (lodo biológico excedente)

deve der retirada, pois se fosse permitido que as bactérias se reproduzissem continuamente, alguns problemas poderiam ocorrer. A presença de biomassa no efluente final devido a dificuldade de sedimentar em um decantador secundário sobrecarregado e a dificuldade de transferência de oxigênio para todas as células no reator são exemplos destes. A alta eficiência deste sistema é em grande parte devido a recirculação de lodo. Esta permite que o tempo de detenção hidráulico seja pequeno e consequentemente também o reator possua pequenas dimensões. A recirculação de sólidos também ocasiona com que os sólidos permaneçam mais tempo no sistema que a massa líquida. Este tempo de permanência da biomassa no sistema é chamado de Idade do Lodo.

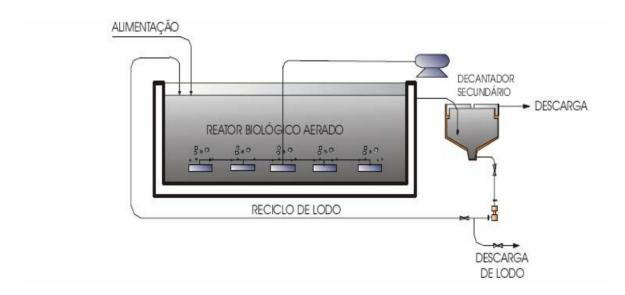


Figura 2.1 – Processo aeróbio de tratamento de esgotos por lodos ativados (PEREIRA-RAMIREZ *et al.*, 2003).

2.2.1 Variantes do processo de Lodos Ativados: Reator Batelada Seqüencial (RBS)

Nos processos por lodo ativado o tratamento pode ser efetuado em processo contínuo (como lodo ativado convencional ou por aeração prolongada) ou em batelada (como o Reator Batelada Seqüencial, RBS) (von SPERLING, 2000). Nas últimas décadas tem-se ampliado o interesse no uso do RBS devido, principalmente, à simplicidade de projeto e à facilidade de automação que o mesmo oferece.

O princípio dos processos de lodos ativados, com operação intermitente no RBS consiste na incorporação de todas as unidades, processos e operações normalmente associadas ao tratamento convencional de lodos ativados, quais sejam, oxidação biológica e decantação

secundária, em um único tanque, onde esses processos e operações passam a ser simples seqüências no tempo, e não unidades separadas como ocorre nos processos convencionais de fluxo contínuo (MACE & MATA-ALVAREZ, 2002). Os detalhes sobre a operação deste sistema são apresentados na próxima seção.

2.2.1.1 Descrição e vantagens do processo de tratamento em Reator Batelada Seqüencial (RBS)

De acordo com Schroeder (1985), na sua versão original o sistema de lodo ativado operava como um processo em bateladas, porém a partir de da década de 20, devido às dificuldades inerentes ao controle do processo e à decantabilidade do lodo biológico, o RBS foi sendo gradualmente esquecido e substitído por sistemas contínuos de tratamento. No entanto, a partir da década de 70 os trabalhos desenvolvidos por Irvine *et al.* (Irvine *et al.*, 1979; Irvine, 1982; Irvine *et al.*, 1989) revitalizaram a utilização do RBS, uma vez que solucionaram o problema da decantabilidade do lodo e da consequente turbidez dos efluentes tratados através do emprego de condições anóxicas durante o processo aumentando, assim, a competitividade entre os microrganismos floculentos e os filamentosos. Simultaneâmente, a tecnologia de controle de processos se desenvolveu empregando sistemas automatizados que facilitam a operacionalidade do sistema em batelada.

No Brasil, a simplicidade conceitual dos sistemas em batelada encontra um grande potencial para aplicação, acarretando um aumento cada vez maior do número de estações que utilizam este processo (von SPERLING, 2000).

Entre as vantagens que têm sido atribuídas ao RBS destaca-se a relacionada com a facilidade de adaptação desta tecnologia a variações contínuas de concentrações de poluentes, o que permite sua utilização para o tratamento de efluentes variados tais como os provenientes das indústrias alimentícia, petroquímica, papel e celulose, couros, esgotos municipais e domésticos. Além de sua flexibilidade, esta tecnologia tem provado ser altamente eficiente na remoção de fósforo e nos processos de nitrificação/desnitrificação, relatando-se na literatura valores de até 85,7% de remoção de fósforo e 99% de conversão de amônia a nitrogênio gasoso. (MACE & ALVAREZ, 2002). Outras vantagens desta tecnologia citadas na literatura são resumidas na **Tabela 2.3**.

Tabela 2.3 - Benefícios e vantagens da tecnologia RBS (MACE & ALVAREZ, 2002).

Menor custo operacional que os métodos de tratamento biológico convencionais

Menor espaço requerido que os métodos convencionais

Capacidade para manipular amplas variações nas cargas hidráulica e orgânica

Maior controle do crescimento de organismos filamentosos e problemas de sedimentação

Menos equipamentos para manutenção

Menor atenção requerida pelo operador

Maior flexibilidade da operação do sistema

Menor possibilidade de arraste da biomassa de dentro do reator

Problemas de sedimentabilidade podem ser reconhecidos e corrigidos

De modo geral, o processo consiste de um reator de mistura completa onde ocorrem todas as etapas do tratamento, o que é conseguido através do estabelecimento de ciclos de operação com durações definidas, realizando cinco etapas distintas: enchimento, reação, sedimentação, descarga e tempo de repouso, eliminando-se assim o uso de estruturas múltiplas e bombas necessárias nos procedimentos de fluxo contínuo convencionais. O RBS possui versatilidade para estabelecer condições aeróbias ou anóxicas através da variação de estratégias operacionais. A **Figura 2.2** apresenta esquematicamente a operação de um ciclo completo em um único tanque cujas etapas são detalhadas a seguir.

Enchimento: Durante esta fase, o material a ser tratado é adicionado à biomassa presente no reator, proveniente de um ciclo anterior. O volume de líquido no reator aumenta de um volume inicial (V₀) até um valor máximo, podendo este variar de 25 a 70% do volume total do reator. Os parâmetros que definem este volume são: carga a ser tratada, tempo de residência desejado e características de sedimentação dos agregados microbianos. O período de enchimento é encerrado quando se atinge o nível máximo, dado em geral, pelo volume útil do reator. Durante esta etapa o uso de aeração é facultativo, contudo é essencial a agitação para promover mistura adequada no interior do reator.

Reação: O propósito desta etapa é completar as reações que se iniciaram durante a etapa de enchimento, as quais são conduzidas a volume constante. O final desta etapa é dado pelo tempo necessário para que as transformações atinjam os níveis de qualidade desejados, de acordo com as estratégias operacionais pré-determinadas, o qual pode variar de zero, se todas as transformações se completarem na etapa de enchimento, até aproximadamente 50% do tempo total do ciclo.

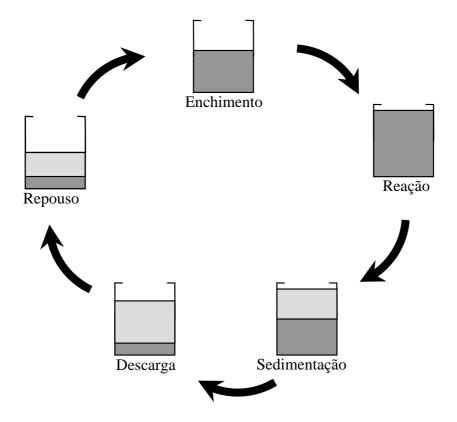


Figura 2.2 – Etapas de um ciclo no RBS (MACE & ALVAREZ, 2002)

Sedimentação: Nesta fase ocorre a separação dos sólidos do efluente tratado. Esta separação se dá de forma quiescente no próprio tanque, que tem um volume aproximadamente 10 vezes menor que o de um sedimentador secundário utilizado nos processos de lodo ativado convencionais. O tempo de sedimentação típico varia entre 0,5 e 1,5 horas.

Descarga: Nesta fase é retirado despejo tratado e clarificado do reator. O tempo dedicado para efetuar esta etapa pode variar entre 5 e 30% do tempo total do ciclo. Este não deve ser excessivamente prolongado devido a possíveis problemas relativos ao arraste dos microrganismos do reator e à produtividade do sistema.

2.2.2 Etapa de biotransformação no processo aeróbio por lodos ativados

2.2.2.1 Degradação da matéria orgânica carbonácea

Como mencionado anteriormente, na etapa de biotransformação o afluente a tratar entra em contato com o floco microbiano na presença de oxigênio, favorecendo a oxidação pelas bactérias aeróbias e facultativas da matéria orgânica a compostos de baixa energia, sendo a energia liberada nas reações de oxidação/redução utilizada para a síntese de material celular.

Como resultado, são obtidos nitratos, sulfatos e dióxido de carbono, além de outros produtos intermediários do catabolismo oxidativo.

A avaliação da eficiência dos sistemas de tratamento de esgoto é normalmente feita com base no potencial de depleção de oxigênio causado pela matéria orgânica presente na água residuária em questão. Embora seja uma simplificação do potencial poluidor, esse método é considerado o modo mais prático de se medir a 'força' da água residuária ou a carga orgânica que é lançada no ambiente. A demanda de oxigênio pode ser avaliada como uma demanda bioquímica (DBO) ou demanda química (DQO). Embora as duas técnicas tenham vantagens e desvantagens, a DQO talvez seja o parâmetro mais usado por ser mais rápido e relativamente simples, e será, portanto, o objeto de consideração neste artigo.

A demanda química de oxigênio (DQO) é definida como a quantidade de oxigênio necessária para oxidar os componentes de uma amostra que sejam oxidáveis por um agente oxidante forte (normalmente dicromato de potássio) em uma solução ácida (APHA, 1992).

Quando uma fonte de alimento orgânica biodegradável é fornecida a uma população de microrganismos heterótrofos (organismos que utilizam a matéria para obter energia, a diferença dos autótrofos que empregam CO₂ como fonte de carbono) em um ambiente bem aerado, ocorrem os seguintes fenômenos (adaptado de Kiely, 1997):

A DQO particulada solúvel biodegradável atravessa a parede celular sendo rapidamente metabolizada.

A DQO particulada lentamente biodegradável é absorvida pelos flocos microbianos e posteriormente é decomposta e transferida ao interior da célula para ser metabolizada.

Uma parte da DQO metabolizada é convertida em novas células, enquanto a DQO restante perde-se como calor nos processos energéticos requeridos para a síntese de novas células.

Ao mesmo tempo, existe uma perda de biomassa, conhecida como perda endógena de massa, em que alguns dos organismos utilizam como alimento os próprios materias armazenados além de células mortas.

As células em fase de crescimento usam o substrato e os nutrientes adicionais externos necessários para o crescimento e obtenção de energia. A equação bioquímica para a respiração celular bacteriana e a síntese no uso da matéria orgânica como susbtrato no processo de lodos ativados é:

Os organismos têm desenvolvido variados biomecanismos que possibilitam sua sobrevivência por longos períodos na ausência de substrato externo. Diferentes vias metabólicas e biomecanismos que permitem sua sobrevivência têm sido reconhecidos (ECKENFELDER & GRAU, 1992). Por um lado, as bactérias são capazes de armazenar produtos ricos tanto em energia como nutrientes. Por outro lado, alguns materiais celulares podem ser utilizados para satisfazer várias necessidades, tais como crescimento celular, se as condições nutricionais e ambientais são favoráveis, ou podem ser usados como fonte de energia interna (substrato endôgeno) durante os períodos de carência de nutrientes. Estes fenômenos são de considerável importância uma vez que são utilizados em várias tecnologias modernas de tratamento de esgotos por lodos ativados.

2.2.2.2 Remoção biológica de nitrogênio

Nos esgotos sanitários, o nitrogênio está essencialmente presente na forma orgânica (peptídeos, purinas, aminas, aminoácidos), amoniacal e, em menor quantidade, como nitrato (NO₃⁻) e nitrito (NO₂⁻); este último muito instável e rapidamente oxidado a nitrato. A decomposição bacteriana do material protéico e a hidrólise da uréia transformam nitrogênio orgânico em amônia. A amônia (matéria nitrogenada inorgânica) pode apresentar-se tanto na forma de íon (NH₄⁺) como na forma livre não ionizada (NH₃), segundo um equilíbrio dinâmico.

A remoção do nitrogênio no processo de tratamento biológico de esgotos compreende dois processos: a nitrificação e a desnitrificação. A remoção também pode ser via utilização do nutriente para o crescimento celular ou assimilação (SEDLAK, 1991; NOWAK *et al.*, 1999; POCHANA & KELLER, 1999). A **Figura 2.3** apresenta as reações envolvidas na remoção biológica de nitrogênio.

Nitrificação

A nitrificação é o processo em que ocorre a oxidação biológica de compostos nitrogenados reduzidos, como por exemplo o íon amónio (NH_4^+) , tendo como produto final o nitrato (NO_3^-) e pode ser realizada por bactérias heterotróficas ou autotróficas.

Tem sido relatado na literatura que vários gêneros de bactérias, fungos e actinomicetos podem efetuar a nitrificação heterotrófica, tendo-se postulado diferentes vias bioquímicas de nitrificação heterotrófica (STENSEL & BANARD, 1992). Contudo, é duvidoso que quantidades significativas sejam removidas por organismos heterotróficos já que as taxas de

nitrificação dos organismos autotróficos são, aproximadamente, dez vezes maiores. Assim, a nitrificação autotrófica tem sido considerada mais significativa quando comparada à heterotrófica.

Os microrganismos encontrados frequentemente nos processos de tratamento biológico aeróbio são bactérias estritamente aeróbias, quimioautotróficas obrigatórias, que utilizam como fonte de energia química os compostos reduzidos de nitrogênio, notadamente NH₄⁺, além de CO₂ como fonte de carbono. Esses organismos têm a capacidade de crescer utilizando doadores inorgânicos simples de elétrons, na ausência de luz. Por isto também são denominados quimiolitotróficos (SOUSA, 1996 apud GASPAR, 2003).

Segundo TORRES *et al.* (1997) o processo de nitrificação ocorre em duas etapas: primeiro a amônia é oxidada a nitrito (nitritação) pelas bactérias do gênero *Nitrosomonas*, entre elas *N. europea* e *N. monocella* e por *Nitrosococcus*. Depois, os nitritos são oxidados a nitratos pelas bactérias do gênero *Nitrobacter*, incluindo *N. winogradsky*, *N. agilis*, *Nitrocystis* sp., *Nitrococcus* sp. e *Nitrospina* sp..

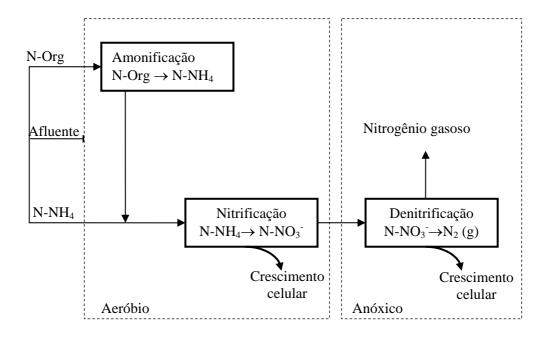


Figura 2.3 – Remoção Biológica de nitrogênio (JEYANAYAGAM, 2005)

As reações de nitrificação desenvolvidas por estes organismos são:

$$NH_3 + 3O_2$$
 \longrightarrow $2NO_2^- + 2H_2O + 4H^+ + novas células + energia$
 $2NO_2^- + O_2$ \longrightarrow $2NO_3^- + novas células + energia$

A conversão de amônia em nitrito é considerada a etapa limitante do processo de nitrificação. No entanto, o acúmulo deste intermediário tem sido evidenciado em vários estudos (ANTHONISEN *et al.*, 1976; BALMELLE *et al.*, 1992; YANG & ALLEMAN, 1992; MAURET *et al.*; 1996; SORIANO *et al.*, 1997), fato este atribuído à inibição de microrganismos do gênero *Nitrobacter*, responsáveis pela oxidação do nitrito a nitrato (nitratação). Esta inibição está associada à elevada concentração de amônia livre (GASPAR, 2003 apud SOUSA, 1996), bruscas variações de temperatura, baixas concentrações de oxigênio dissolvido e altas concentrações de sólidos em suspensão.

Como ocorre em qualquer processo fermentativo, as condições do meio reacional e da alimentação afetam o processo de nitrificação, sendo os fatores mais importantes o tempo de retenção dos sólidos no sistema, o pH, a temperatura, a concentração de oxigênio dissolvido e a toxicidade do meio (FERRAZ & GOBBI, 1991; ISOLDI, 1998; JEYANAYAGAM, 2005; SARAIVA, 2000).

Conforme relatado por JEYANAYAGAM (2005), as bactérias nitrificantes possuem velocidades de crescimento baixas quando comparadas com os organismos heterotróficos que degradam a matéria orgânica carbonácea, devido, principalmente, ao baixo rendimento energético das reações de oxidação. Por isto são necessários tempos de retenção que garantam que o processo de nitrificação se verifique em toda sua extensão.

A taxa de nitrificação é função direta da temperatura na faixa de 5-35 °C, verificando-se alterações no processo a temperaturas acima deste valor. Adicionalmente, tem sido evidenciado que mudanças de temperatura na faixa de 10 a 20 °C podem provocar uma diminuição na taxa de nitrificação de até 30% (JEYANAYAGAM, 2005).

Quanto à influência da concentração de oxigênio dissolvido sobre o processo de nitrificação, tem sido verificado que a demanda de oxigênio durante o processo é de aproximadamente 4,6 mg de oxigênio por mg de nitrogênio amoniacal oxidado. Entretanto, a

diminuição da concentração de oxigênio para valores menores que 2 mg.L⁻¹ por períodos de tempo prolongados pode afetar o processo (JEYANAYAGAM, 2005; EPA, 1975 apud GASPAR, 2003).

De acordo com JEYANAYAGAM (2005), a nitrificação resulta na neutralização de 7,1 mg de alcalinidade (CaCO₃) por mg de nitrogênio amoniacal oxidado. Segundo HENZE *et al.* (1987), o pH ótimo para a nitrificação encontra-se na faixa de 8,0 a 9,0. Se o afluente apresentar uma alcalinidade inadequada, o processo de nitrificação pode ser comprometido. Na medida que a alcalinidade do meio é neutralizada, o pH diminui afetando potencialmente a taxa de nitrificação. Segundo EPA (1975) (apud GASPAR, 2003), valores de pH menores que 7,0 reduzem a taxa de nitrificação em cerca de 50%.

HARREMOËS & SINKJAER (1998) observaram inibição da nitrificação em plantas de tratamento de esgotos em Copenhagen. Ao investigar as possíveis fontes de substâncias inibidoras apontaram os efluentes industriais como causa da inibição, uma vez que os mesmos frequentemente contêm uma gama de compostos orgânicos e metais pesados que inibem a atividade das bactérias nitrificantes. Alguns polímeros empregados no condicionamento do lodo também podem ser inibidores da nitrificação. Estes autores também constataram que o lodo ativado pode adaptar-se a tais situações e atingir taxas de nitrificação significativas.

<u>Desnitrificação</u>

A desnitrificação biológica consiste na redução do nitrato (NO₃⁻) previamente formado no processo de nitrificação a gás nitrogênio por um grupo de bactérias heterotróficas em condições anóxicas e na presença de uma fonte de matéria orgânica rapidamente biodegradável (MORB). As condições anóxicas são criadas quando existe no meio oxigênio combinado na forma de nitrato e nitrito e ausência de oxigênio livre ou dissolvido.

Os produtos formados durante a desnitrificação, a partir do nitrato, são nitrito (NO_2^-) , óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O) e nitrogênio gasoso (N_2) , conforme a sequência (COPP & DOLD, 1998):

$$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$$

Este processo pode ser representado pela seguinte equação:

$$NO_3 + MORB$$
 \longrightarrow $N_2 + CO_2 + H_2O + OH^2 + novas células$

Tem sido verificada a capacidade de diversas bactérias, heterotróficas e autotróficas, para promover a desnitrificação (STENSEL & BANARD, 1992). Entre os organismos heterotróficos STENSEL & BANARD (1992) listam os seguintes gêneros: Achromobacter, Acinetobacter, Agrobacterium, Alcaligenes, Arthrobacter, Bacillus, Chromobacterium, Corynebacterium, Flavobacterium, Hyphomicrobium, Moraxella, Neisseria, Paracoccus, Propionabacterium, Rhyzobium, Rhodopseudomonas, Spirillum, e Vibrio. A maioria destas bactérias podem usar tanto oxigênio quanto nitrato e algumas podem realizar fermentação na ausência de oxigênio ou nitrato. Na desnitrificação autotrófica, as bactérias utilizam dióxido de carbono como fonte de carbono. As bactérias desnitrificantes Paracoccus e Thiobacillus denitricans usam compostos reduzidos de hidrogênio e enxofre, respectivamente, como doadores de elétrons durante a desnitrificação. Ambos os gêneros podem crescer como heterotróficas, se houver fonte de carbono orgânico.

Como na nitrificação, existem também fatores ambientais que influenciam na desnitrificação (EPA, 1975 apud GASPAR, 2003). Porém, a velocidade de desnitrificação, que determina a quantidade de nitrato desnitrificado depende, primariamente, da disponibilidade de matéria orgânica rapidamente biodegradável e da temperatura.

Segundo relatado por JEYANAYAGAM (2005), para que o processo de desnitrificação tenha lugar requer-se uma razão C:N mínima de 3:1 a qual está sujeita às condições de operação e à biodegradabilidade do substrato. Segundo este autor, altas razões alimento:microrganismo (A:M) na zona anóxica resultam em velocidades de desnitrificação maiores devido à presença de elevadas concentrações de matéria orgânica rapidamente biodegradável. De igual forma tem sido constatado que a fonte de carbono utilizada também influencia na taxa de desnitrificação. BILANOVIC *et al.* (1999) estudaram a desnitrificação em reatores batelada sequencial testando como fonte de carbono acetato de sódio, metanol e efluente de reator anaeróbio. Como tendência geral, a ordem de preferência dos microrganismos pelos substratos (os que promovem maiores taxas de desnitrificação) foi descrita como acetato > efluente anaeróbio > metanol.

O processo de desnitrificação é consideravelmente afetado quando a temperatura diminui de 20 a 10°C com diminuição da taxa de nitrificação em torno de 75% (JEYANAYAGAM, 2005).

2.2.3 Etapa de Sedimentação no processo por Lodos Ativados

A etapa de separação no processo de tratamento por Lodos Ativados é efetuada comumente por sedimentação gravitacional dos sólidos (biomassa). Esta operação é efetuada em tanques com uma geometria que favorece a operação de sedimentação, denominados decantadores. Os principais objetivos da sedimentação são (von SPERLING, 2000):

- Clarificação → produção de um efluente isento de sólidos em suspensão (separação das fases sólida e líquida do "licor misto");
- Adensamento → Aumento da concentração dos sólidos em suspensão que devem retornar ao tanque de aeração ou serem descartados do sistema.

A sedimentação de partículas discretas pode ser descrita através da lei clássica de Stokes. Segundo esta lei, a sedimentação de partículas sólidas, em especial as esféricas, em um meio continuo e infinito (gás ou líquido), pode ser descrita e quantificada com base na atuação de duas forças: inicialmente a partícula é acelerada pela força de flutuação resultante da força de densidade entre a partícula e o fluido, a qual resulta da força de gravidade; em um segundo instante, a partícula sofre a redução da aceleração devido ao atrito entre ela e o fluido. Quando as duas forças igualam-se a partícula passa a apresentar velocidade constante de sedimentação, a qual será função das características da partícula e do fluído, e da aceleração da gravidade.

Diferente da sedimentação discreta de partículas em suspensão, a sedimentação no tratamento de esgotos apresenta basicamente três períodos de: Refloculação, Sedimentação Zonal e Compressão (LEE *et al.*, 1983) conforme mostrado na **Figura 2.4**.

Refloculação: Ocorre tipicamente na parte superior dos decantadores no início da etapa de sedimentação, onde as partículas se aglomeram, formando flocos que tendem a crescer à medida em que sedimentam. Com o aumento do tamanho das partículas (flocos), aumenta a velocidade de sedimentação. Assim na refloculação, a velocidade não é constante, como na sedimentação discreta, mas tende a crescer.

Zona de decantação: A uma determinada altura no decantador, a sedimentação floculenta cessa e a elevada concentração de sólidos favorece a formação de uma matriz de flocos interligados que sedimenta como uma massa única de partículas com a mesma velocidade. Essa velocidade é conhecida como velocidade de sedimentação em zona (VSZ), assim a sedimentação passa a ocorrer pela ação das forças que agem sobre o conjunto de flocos interligados e não sobre cada floco individualmente. Nesta etapa observa-se uma nítida interface de separação entre a fase sólida e a fase líquida, e o nível da interface se move para

baixo como resultado da sedimentação do manto de lodo. A VSZ é tipicamente utilizada no dimensionamento dos decantadores.

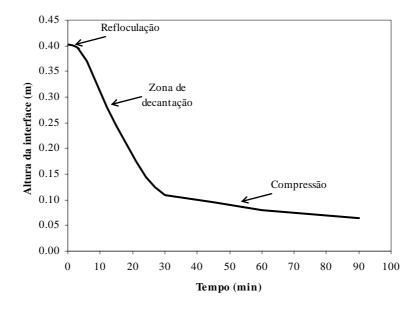


Figura 2.4 – Curva de sedimentação típica para o lodo ativado

<u>Compressão</u>: Ocorre no fundo dos decantadores e adensadores, devido à concentração de sólidos ainda mais elevada nesta zona. A sedimentação ocorre principalmente por compressão da estrutura das partículas adicionadas sobre a camada de lodo. Com a compressão, parte da água é removida da matriz do floco, reduzindo seu volume.

A sedimentabilidade do lodo ativado pode ser quantificada pela estimação da Velocidade de Sedimentação em Zona (VSZ). Esta velocidade é determinada geralmente através da tangente da curva de sedimentação no trecho correspondente à zona de decantação, realizando o teste de sedimentação, tal como a apresentada na **Figura 2.4**.

No entanto, muitas vezes na ETE se deseja apenas uma avaliação mais simplificada da sedimentabilidade, com vista principalmente ao levantamento de dados para o controle operacional da estação. Nestas condições, pode-se adotar o conceito de Índice Volumétrico do Lodo (IVL) proposto por MOLHMAN (1934). O IVL é definido como o volume ocupado por 1g de lodo após uma decantação de 30 minutos. Assim, ao invés de se determinar o nível da interface a vários intervalos de tempo, faz-se apenas uma medição aos 30 minutos de sedimentação. O IVL é calculado através da expressão apresentada na **Tabela 2.4**. Em boas condições de operação, o valor deste parâmetro encontra-se na faixa de 150-170 mL.g⁻¹ (Von SPERLING, 1995).

Embora amplamente utilizado, em vários estudos tem sido demonstrado que o IVL varia de maneira imprevisível com a concentração dos sólidos suspensos (DICK & VESILIND, 1969; FITCH & KOS, 1976). Estes autores ainda constataram que os valores de IVL variam com as características físicas do lodo tais como a viscosidade plástica. Tendo em vista estes aspectos é possível que vários tipos de lodos com o mesmo valor de IVL mostrem diferentes propriedades de sedimentação. Segundo DICK & VESILIND (1969), o IVL pode ser um parâmetro útil para o controle em ETEs, porém não deve ser utilizado para efetuar comparações de sedimentabilidade do lodo de diferentes ETEs nem para inferir a concentração de sólidos presente no decantador com vista a determinar a velocidade de retorno do lodo ativado ao tanque de aeração.

Várias modificações do IVL foram sugeridas para superar estas limitações, incluindo teste com diluição do licor misto, teste com agitação a concentração padronizada de sólidos em suspensão de 3500 mg.L⁻¹, teste com agitação suave durante o período de sedimentação, entre outros (**Tabela 2.4**).

Tabela 2.4 – Diferentes Índices do Lodo (Adaptado de HULTMAN *et al.*, 1991)

Índice Volumétrico	Cálculo do Índice	Nota
Índice Volumétrico do Lodo (IVL)	$_{CVI}$ VS	Recomendado por
	$SVI = \frac{VS}{SS}$	APHA (1992)
Índice Volumétrico do Lodo Diluído		STOBBE (1969)
(IVLD)	$IVLD = \frac{VS}{SS}$	
	$VS < 250 \text{ mL.L}^{-1}$	
Índice de Qualidade do Lodo (IQL)	$IQL = \frac{VS}{SS}$	FITCH & KOS
	$IQL = \frac{1}{SS}$	(1976)
	Para VS < 300 mL.L ⁻¹	
	$IQL = \frac{(200 + VS/3)}{SS}$	
	SS	
,	Para 300 mL.L ⁻¹ < SV <800 mL.L ⁻¹	
Índice Volumétrico com agitação e	$IVLA_{3,5} = \frac{VLA}{SS}$	WHITE (1975)
padronizado para $SS = 3.5 \text{ g.L}^{-1} (IVLA_{3.5})$	SS	
Índice Volumétrico do Lodo Modificado	$I_{FV} = \frac{(1 - FV)IQL}{FV}$	HULTMAN &
$(I_{ m VF})$	$I_{FV} \equiv {FV}$	MOLINA (1987)

Notação:

VS = Volume do Lodo (mL.L⁻¹) após 30 minutos de sedimentação em uma coluna de sedmentação de 1L.

VLA = Volume especifico do Lodo Agitado (mL.L⁻¹) após 30 minutos de sedimentação

SS = Concentração inicial de Sólidos Suspensos (g.L⁻¹)

 $FV = \text{Fração Volátil } (g.L^{-1})$

Apesar destas insuficiências, o IVL é ainda amplamente aceito como método padrão (APHA, 1992) devido à facilidade de condução da análise pelo pessoal menos especializado nas ETEs.

Além do teste do IVL, a sedimentabilidade do lodo ativado pode ser caracterizada pela altura da camada de lodo no clarificador e a concentração de Sólidos Suspensos no efluente. Estes parâmetros são comumente estimados através de medições *on-line* empregando-se sensores desenvolvidos para estes fins.

Em geral, todos estes parâmetros caracterizam quantitativamente e macroscopicamente a sedimentabilidade do lodo ativado sem considerar a composição e a dinâmica da biomassa típica do sistema. Dentre os fatores que influenciam na sedimentabilidade do lodo ativado ressalta-se o fenômeno de floculação o qual está diretamente relacionado com a atividade microbiana, cuja composição é dependente das condições operacionais da ETE. De acordo com BERGH & OLSSON (1995), o desenvolvimento de diversas espécies microbianas durante a operação das ETEs determina a estrutura do floco microbiano, e isto por sua vez é diretamente refletido na sedimentabilidade do lodo.

Estas variações lentas constituem um problema especial na operação das ETEs uma vez que as mesmas são de difícil detecção na sua etapa inicial, o que dificulta a correção e o controle quando estas se tornam óbvias, podendo resultar em consequências desastrosas nas características de sedimentabilidade do lodo ativado. Por este motivo, torna-se necessário o conhecimento da estrutura e natureza do floco na caracterização da sedimentabilidade do lodo ativado.

2.2.4 Composição biológica do lodo ativado

Nos sistemas de tratamento de águas residuárias, a remoção da matéria orgânica depende, principalmente, da cultura bacteriana heterotrófica mantida em suspensão durante a etapa de biotransformação. Quando o objetivo do tratamento inclui a conversão de amônia em nitrogênio, as bactérias nitrificantes autotróficas passam a ser também significativas para o processo.

No entanto, o lodo ativado não pode ser considerado unicamente uma cultura bacteriana. RICHARD (1989) define o lodo ativado como um cultivo microbiano enriquecido que consiste de um consórcio de micro e macro-organismos misturados que removem (metabolizam) os compostos orgânicos e inorgânicos presentes nas águas residuárias ou transformam esses compostos em formas ambientalmente aceitáveis.

De fato, a microfauna que se desenvolve no lodo ativado é constituída por aproximadamente 95% de bactérias e 5% de organismos superiores predadores incluindo protozoários, metazoários e invertebrados superiores (GANZARCZYCK, 1983). De acordo com CANLER *et al.* (1999), as concentrações típicas destes organismos em uma ETE operando em condições estáveis são:

```
Bactérias \rightarrow 10^9 \text{ ind.mL}^{-1}

Protozoários \rightarrow 10^4 \text{ ind.mL}^{-1}

Metazoários \rightarrow 1\text{--}5 \times 10^2 \text{ ind.mL}^{-1}
```

Conforme relatado por VAZÓLLER *et al.* (1989), a presença da microfauna é conseqüência direta das características específicas do processo de lodo ativado, tais como turbulência e turbidez do meio, sendo que a turbulência não permite o desenvolvimento de organismos maiores e a turbidez provoca ausência de luz, evitando a proliferação de algas.

Durante o processo biológico de tratamento aeróbio se estabelece uma verdadeira série trófica, existindo uma competição constante entre as diferentes populações que compõem a microfauna do lodo. Desta forma, o crescimento dos organismos que degradam a matéria orgânica (principalmente as bactérias heterotróficas) depende da qualidade e da disponibilidade deste substrato no efluente a ser tratado. Enquanto que para os predadores a disponibilidade de presas promove o crescimento destes organismos, resultando em um ciclo que pode resumir-se da seguinte forma: as bactérias dispersas no meio são consumidas pelos flagelados bacteriófagos e pelos protozoários ciliados, os quais, por sua vez, constituem o alimento dos organismos carnívoros e dos metazoários. Estas relações de competição (I), predação (II) e canibalismo (III) determinam a oscilação e a sucessão das diferentes populações até atingir uma estabilidade dinâmica dependente dos parâmetros operacionais da planta e do tipo de efluente. Estas relações tróficas complexas podem ser resumidas no diagrama ilustrado na Figura 2.5.

A microbiota do lodo ativado é tipicamente composta por duas classes predominantes de bactérias: as floculantes e as filamentosas (GANZARCZYCK, 1983), sendo constatado através de observações microscópicas e medições físicas que ambas as classes desempenham um papel fundamental na formação dos níveis estruturais dos flocos do lodo ativado (JENKINS *et al.*, 1993).

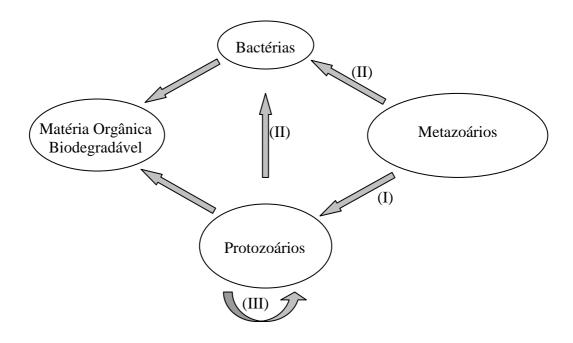


Figura 2.5 - Principais relações tróficas no tanque de aeração (da MOTTA *et al.*, 2001b).

Dentre as bactérias floculantes destacam-se as do gênero *Zooglea*, especificamente *Zooglea ramigera*, a qual produz exopolissacarídeos na forma de uma camada gelatinosa (WALLEM & DAVIS, 1972). No passado atribuía-se o fenômeno de aderência apenas a este microrganismo, mas há indícios de que a produção da camada gelatinosa ocorra através do metabolismo de diversos gêneros, incluindo *Pseudomonas* (von SPERLING, 2000).

Nos sistemas de lodo ativado onde tem lugar a remoção biológica de nitrogênio e fósforo a microflora bacteriana é também composta pelas espécies responsáveis por estes processos (GANZARCZYCK, 1983).

As bactérias filamentosas crescem formando uma rede ou "esqueleto", sobre o qual se desenvolvem as demais bactérias, favorecendo assim a formação de flocos grandes e resistentes. Têm sido isoladas e identificadas várias espécies de bactérias filamentosas nos sistemas de lodos ativados, sendo as mais freqüentes: *Microthrix parvicella*, *Gordona Amarae*, *Spaherotilus natans*, e várias espécies de *Thiothrix*, *Leucothrix*, *Beggiatoa* e *Nocardia* (KÄMPFER, 1997).

2.2.5 Estrutura e propriedades dos flocos de lodo ativado

A habilidade dos microrganismos de formar flocos é vital para o tratamento biológico de esgotos em sistemas por lodos ativados. A estrutura do floco possibilita não só a absorção de substratos solúveis mas também a absorção de matéria coloidal e macromoléculas frequentemente encontradas nos esgotos. Além disso, a capacidade adsortiva dos flocos facilita a oxidação de esgotos complexos. No entanto, também é importante a sua habilidade de sedimentar em um tempo relativamente curto sob condições quiescentes, caso contrário a biomassa produzida como resultado do processo de oxidação do esgoto poderia passar diretamente aos cursos de água aportando uma grande carga de poluição.

Os flocos de lodo ativado típicos consistem de partículas orgânicas e inorgânicas produzidas no floco ou absorvidas do esgoto, microcolônias bacterianas, e bactérias individuais todas embebidas em uma matriz tridimensional de polímeros microbianos extracelulares (PEC), onde os microrganismos filamentosos formam um esqueleto dando integridade estrutural ao floco (JORAND *et al.*, 1995; SANIN &VESILIND, 1999).

Têm sido sugeridos vários modelos na tentativa de descrever a disposição de tais constituintes na estrutura dos agregados microbianos que compõem o lodo ativado. Sobre a base de observações visuais e medições físicas, JENKINS *et al.* (1993) sugeriram que os flocos de lodo ativado apresentam dois níveis estruturais denominados micro e macroestrutura. A microestrutura considerada a base de formação do floco, é o resultado dos processos de adesão, agregação, e biofloculação microbiana, enquanto a macroestrutura é fornecida pelas bactérias filamentosas, que formam uma rede ou "esqueleto" sobre o qual se desenvolvem as bactérias floculantes.

Um modelo estrutural dos flocos de lodo ativado baseado na disposição dos microflocos de diferentes tamanhos em três níveis estruturais foi proposto por JORAND *et al.* (1995). Segundo estes autores, o primeiro nível estrutural é formado por partículas primárias de 2,5 µm, o segundo nível é formado por partículas secundárias (13 µm) unidas a outras por ligações poliméricas, dando lugar ao terceiro nível constituído de estruturas terciárias de 125 µm de diâmetro, sendo os polímeros do nível secundário diferentes em natureza dos polímeros que intervêm no terceiro nível estrutural.

Estudos posteriores efetuados por SNIDARO *et al.* (1997) sobre análise fractal dos agregados microbianos permitiram concluir que os mecanismos envolvidos nos processos de agregação são bem diferentes. Estes autores constataram que a divisão celular foi o

mecanismo de formação no interior das microcolônias de 13 μm, enquanto que a formação dos microflocos de 125 μm segue um mecanismo de agregação / difusão-limitada.

KEIDING & NIELSEN (1997) propuseram um novo modelo do floco de lodo ativado tendo em conta a estabilidade coloidal dos agregados. Segundo estes autores, a massa de macromoléculas orgânicas e bactérias simples estão unidas por forças muito fracas a um esqueleto mais rígido que consiste de fibras, bactérias filamentosas e colônias bacterianas, cuja estabilidade é alcançada por variações no ambiente químico que rodeia os flocos microbianos.

Um dos fatores intimamente ligados à estabilidade dos flocos de lodo ativado é o relacionado com as espécies de bactérias formadoras de floco presentes no sistema. Investigações efetuadas recentemente por KLAUSEN *et al.* (2004) usando um método de desfloculação combinado com variações na força iônica, substrato e oxigênio dissolvido, mostraram grandes diferenças na estabilidade e nas interações intermoleculares das microcolônias de diferentes grupos filogenéticos de bactérias típicas do lodo ativado, o que sugere, como apontado anteriormente, que as espécies bacterianas podem afetar a estrutura do floco de formas completamente diferentes, ou seja, quantidades relativas de diferentes grupos bacterianos podem determinar tanto a estrutura quanto as propriedades dos flocos nas ETEs.

Nas investigações realizadas sobre os mecanismos de floculação no lodo ativado, tem sido apontado que o fenômeno de agregação depende em grande medida do material exopolimérico proveniente da atividade lítica ou da síntese biológica, sendo este material considerado o principal componente da matriz do floco (PAVONI *et al.*, 1972). Estes polímeros extracelulares (PEC) são formados principalmente por polissacarídeos, proteínas, ácidos nucléicos ou também podem ser complexos formados a partir dos compostos antes mencionados. Os PEC localizam-se na superfície celular ou fora desta e sua produção é máxima durante a fase endógena de crescimento (PAVONI *et al.*, 1972)

Consideráveis esforços têm sido feitos para compreender as funções dos polímeros extracelulares no processo de agregação microbiana, sendo possível identificar as seguintes (LIU & FANG, 2003):

- Adesão a superfícies;
- Agregação das células bacterianas nos flocos;
- Estabilização da estrutura do floco;
- Formação de uma barreira protetora resistente aos biocidas ou outros efeitos prejudiciais à célula;

- Retenção de água;
- Sorção de compostos orgânicos exógenos para acúmulo de nutrientes obtidos do meio;
- Atividades enzimáticas, tais como digestão de macromoléculas exógenas para assimilação de diferentes nutrientes.

Um novo conceito sobre os PEC foi dado por WINGENDER *et al.* (1999). De acordo com estes autores, os PEC permitem o crescimento contínuo dos microrganismos a altas densidades celulares em comunidades de populações mistas estáveis. Em outras palavras, a matriz de PEC é um meio que permite a cooperação e a comunicação entre as células que compõem os agregados microbianos.

Inúmeros estudos têm demonstrado que os PEC desempenham uma função primordial na floculação e na sedimentabilidade do lodo ativado. (MORGAN *et al.*, 1990; URBAIN *et al.*, 1993; JORAND *et al.*, 1998, LIAO *et al.*, 2001). Segundo LI & GANCZARCZYK (1986), a natureza adesiva dos PEC torna os flocos de lodo ativado mais estáveis e resistentes que os flocos minerais. Esta natureza adesiva deve-se aos diferentes tipos de interações intermoleculares que se estabelecem entre estes polímeros e o resto dos constituintes dos agregados microbianos, tais como as interações eletrostáticas e as interligações entre os cátions multivalentes como Ca⁺ Mg⁺, Cu²⁺ e Fe³⁺ e os componentes dos PEC (KEIDING & NIELSEN, 1997), bem como as interações hidrofóbicas (URBAIN *et al.*, 1993; ZITA & HERMANSSON, 1997).

Tem sido verificado que os cátions minerais tendem a formar complexos com os PEC, influenciando diretamente a biofloculação e a sedimentabilidade do lodo ativado. Segundo HIGGINS & NOVAK (1997), os cátions servem como ponte entre os PEC de células microbianas vizinhas carregados negativamente. Tais pontes estabilizam a estrutura do floco melhorando a biofloculação e as propriedades de sedimentabilidade do lodo ativado.

Os PEC podem exercer efeitos sobre a carga superficial e a hidrofobicidade das células que compõem o floco microbiano e, consequentemente, influenciar na biofloculação e sedimentabilidade do lodo ativado. MORGAN *et al.* (1990) relataram que a eletronegatividade da superfície do floco aumentou com o conteúdo de PEC. No entanto, LIAO *et al.* (2001) constataram que a hidrofobicidade e carga superficial dos agregados microbianos não foram afetadas pela quantidade total de PEC, mas pelos constituintes individuais destes polímeros.

ERICKSON & ALM (1991) estudaram as interações eletrostáticas entre as superfícies bacterianas, os PEC e os íons de metais polivalentes, adicionando diferentes concentrações de

EDTA (agente complexante) a amostras de lodo ativado. Os testes de sedimentabilidade indicaram que os polímeros interatuam com os flocos primários por meio dos íons metálicos e que este processo tem lugar na superfície externa dos flocos primários.

2.2.6 Problemas de sedimentação

Idealmente, um floco de lodo ativado deve ter um tamanho razoável e apresentar um balanço adequado entre os organismos formadores de floco e os organismos filamentosos, promovendo assim a formação de flocos densos e resistentes com boa habilidade para sedimentar (**Figura 2.6a**). Esta característica dos flocos de lodo ativado é extremamente importante para a eficiência da operação de separação biosólido-líquido efetuada por sedimentação, o que repercute diretamente na qualidade do efluente líquido clarificado e na eficiência global da estação de tratamento.

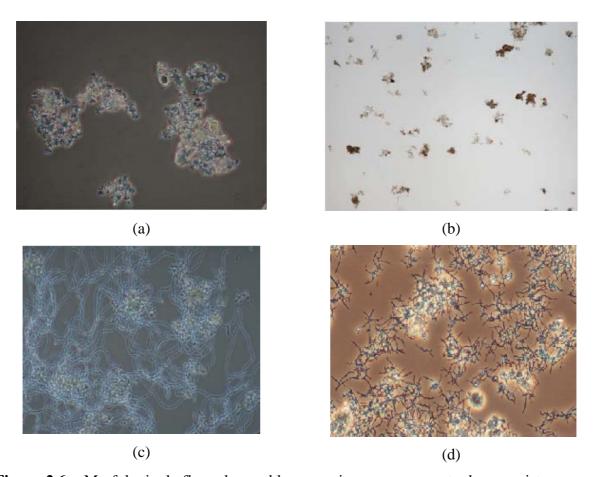


Figura 2.6 – Morfologia de floco dos problemas mais comuns encontrados nos sistemas por lodos ativados: (a) flocos normais (100x), (b) flocos tipo crescimento pulverizado (100x), (c) intumescimento filamentoso (100x); (d) intumescimento não filamentoso (zoogleal) (200x).

No entanto, o balanço entre os organismos filamentosos e os floculantes é muito delicado e dele depende boa parte do sucesso da operação da estação de lodos ativados, sendo as condições operacionais da planta fatores que influenciam consideravelmente este balanço.

WILÉN & BALMÉR (1999) evidenciaram que altas concentrações de oxigênio dissolvido permitiram a formação de grandes flocos compactos, enquanto que as condições de baixa concentração de oxigênio dissolvido favoreceram o crescimento das bactérias filamentosas provocando problemas de intumescimento filamentoso (*bulking*). De fato, as condições de concentração de oxigênio dissolvido e nutrientes, bem como a relação alimento/microrganismo (A:M) dentro do tanque de aeração são os parâmetros de maior importância no controle do intumescimento filamentoso, sendo a relação A:M apontada como a principal causa deste tipo de problema de sedimentação nas plantas de tratamento de esgotos (JENKINS *et al.*, 1993).

Por outro lado, variações na produção e composição dos PEC podem resultar em problemas de sedimentação. BARBUSINSKI & KOSCIELNIAK (1995) observaram um aumento no tamanho do floco de lodo ativado com incremento da carga orgânica alimentada ao sistema, devido principalmente à maior produção de exopolissacarídeos. Estes autores também constataram que cargas orgânicas elevadas alimentadas ao sistema por períodos de tempo prolongados provocaram problemas de sedimentação. Entretanto, JIN *et al.* (2003) comprovaram que altas concentrações de PEC estiveram associadas à pobre sedimentabilidade e compressibilidade do lodo. De forma semelhante, LIAO *et al.* (2001), verificaram que maiores valores de IVL estiveram associadas com maiores quantidades de PEC.

A alteração do balanço entre os organismos filamentosos e formadores de flocos pode causar problemas na sedimentação do lodo ativado (JENKIS *et al.*, 1993), dentre eles o intumescimento filamentoso (**Figura 2.6c**), o qual ocorre como consequência da predominância dos organismos filamentosos, afetando a microestrura do floco. Nestas condições, os filamentos se projetam para fora do floco, impedindo a aderência de outros flocos e interferindo na compactação (altos valores de IVL) e na velocidade de sedimentação do lodo ativado. Este tipo de problema é característico de condições de carência de nutrientes no efluente como nitrogênio e fósforo, presença de substâncias tóxicas e/ou limitação de oxigênio (JENKINS *et al.*, 1993).

Por outro lado, tem sido observado que quando o lodo ativado é submetido a choques ambientais pode experimentar uma variação na habilidade para sedimentar. Sob tais condições, os microrganismos que compõem o lodo não se aglomeram para formar flocos

sedimentáveis, ocorrendo principalmente na forma de sólidos em suspensão não sedimentáveis, conhecidos como flocos "*pin-point*". Em geral, os efluentes destes sistemas são altamente turvos e apresentam elevados valores de DBO e DQO (**Figura 2.6b**)

As causas do crescimento disperso podem ser divididas em dois grupos (CHUDOBA, 1989). Um grupo inclui parâmetros do processo tecnológico como concentração de MLSS e Tempos de Retenção Hidraúlica (TRH). Usualmente, TRH menores resultam em maior quantidade de lodo na forma de uma dispersão não sedimentável. Tais condições resultam em altas cargas orgânicas que permitem que as bactérias vivam em um ambiente contendo altas concentrações de substrato. Como conseqüência, cessa a produção de PEC pelas bactérias responsáveis pela floculação da biomassa suspensa.

O outro grupo envolve fatores relacionados com a composição do esgoto. A desfloculação temporária também ocorre em conseqüência das mudanças bruscas na temperatura, salinidade, pH do meio, condições anaeróbias, baixas temperaturas, entre outros. (PIPES, 1969; WILÉN *et al.*, 2000). A desfloculação permanente pode ocorrer devido à ausência de macro e micronutrientes ou à presença de compostos tóxicos no processo. Segundo WILÉN *et al.*(2000) todos estes fatores podem afetar diretamente a matriz de PEC que suporta os componentes do floco.

A formação de flocos de tipo "pin-point" nos sistemas por lodos ativados pode ser também causada pelos seguintes fatores (ECKENFELDER & GRAU, 1992):

- Ausência absoluta de organismos filamentosos;
- Desintegração por efeitos mecânicos (Ex. turbulência excessiva provocada pelos aeradores mecânicos ou outros distúrbios operacionais).

As alterações na produção dos PEC também podem conduzir ao intumescimento viscoso, um problema de sedimentação relacionado com a formação excessiva de espuma nos tanques de aeração (NOVAK *et al.*, 1994) e efluentes altamente biodegradáveis, baixas concentrações de oxigênio dissolvido no meio e insuficiente quantidade de certos nutrientes no tanque de aeração tais como nitrogênio, fósforo ou ainda metais traços como ferro. O intumescimento viscoso resulta em efluentes viscosos devido à produção em excesso de PEC, resultando em flocos microbianos com pobre sedimentabilidade (RICHARD *et al.*, 2003).

Um caso especial de intumescimento viscoso é o intumescimento "zoogleal" (**Figura 2.6d**). Neste caso as bactérias do gênero *Zooglea* proliferam no lodo ativado em uma extensão tal que afeta a sedimentabilidade do lodo ativado. O organismo responsável é

Zooglea ramigera, um organismo floculante "clássico". As grandes massas desta espécie floculante podem interferir na sedimentação e compactação do lodo. Bactérias do gênero Zooglea prolifera nos tanques de aeração em condições de alta relação A:M e na presença de altas concentrações de ácidos graxos e álcoois ou baixa concentração de oxigênio dissolvido (RICHARD et al., 2003).

Outro problema de sedimentação frequente nas ETEs é o lodo ascendente o qual ocorre devido ao excesso de desnitrificação, resultando em condições anóxicas nos tanques de aeração devido a tempos de retenção celular muito prolongados. Neste caso, os flocos se unem às bolhas de nitrogênio produzidas durante a desnitrificação elevando-se à superfície do tanque e formando um manto de lodo. Como resultado, o efluente final apresenta uma elevada turbidez e altos valores de DBO (AMARAL, 2003).

Finalmente, a formação de espuma é outro problema que afeta consideravelmente a sedimentabilidade do lodo ativado. Esta deficiência consiste na formação de uma camada de espuma na superfície dos tanques de aeração devido ao crescimento excessivo de bactérias filamentosas hidrofóbicas como *Nocardia* sp. e algumas vezes *Microthrix parvicella*, sendo também provocada pela presença de surfactantes. As bactérias filamentosas retêm pequenas bolhas de ar, diminuindo assim a densidade dos flocos, que tendem a flotar no meio. (AMARAL, 2003).

Embora todos estes problemas de sedimentação sejam de grande importância, dada a freqüência com que os mesmos ocorrem nas ETEs, os problemas de crescimento disperso e formação de flocos "pin-point" têm sido menos avaliados, existindo poucos estudos abordando os fatores que o causam, bem como os efeitos e os métodos adotados para prevenir e solucionar estes problemas.

O crescimento disperso afeta severamente não só a quantidade de biomassa no sistema, mas também pode deteriorar consideravelmente a qualidade do efluente final e afetar o funcionamento global da estação de tratamento. Conforme relatado por WILÉN *et al.* (2000), a desfloculação de apenas 2% dos flocos microbianos pode resultar em uma concentração de sólidos suspensos no efluente de 80 mgL⁻¹, valor este que se encontra acima do limite permissível no efluente de acordo com os padrões da maioria dos países (15 - 20 mg.L⁻¹).

2.3. PROTOZOÁRIOS E METAZOÁRIOS DO LODO ATIVADO

A importância e o papel da microfauna nos processos de purificação das águas são bem conhecidos há vários anos (CURDS & CUCKBURN, 1970a,b; CURDS et al., 1968). Segundo estes estudos, a população típica de protozoários e metazoários nos sistemas de tratamento biológico por lodos ativados desempenha várias funções importantes para a obtenção de um efluente tratado de alta qualidade, sendo a mais importante aquela relacionada com a remoção de bactérias não-floculadas do efluente através de suas atividades de alimentação, resultando em um efluente melhor clarificado. Adicionalmente, estes organismos podem contribuir com a floculação da biomassa através da produção de pellets fecais e mucus, bem como para a remoção da matéria orgânica, dada sua natureza heterotrófica (JENKINS et al., 1993). Tem sido relatado que, na ausência destes organismos, o efluente abandona o sistema com uma alta carga orgânica e uma elevada turbidez devido à presença de muitas bactérias dispersas (CURDS et al., 1992).

Os protozoários e metazoários mais frequentes nas ETEs são principalmente aeróbios e bacterióvoros. Estes organismos são representados por aproximadamente 200 espécies. Estudos realizados nos últimos anos demonstraram, inclusive, que a estrutura da comunidade que se desenvolve no tanque de aeração é um valioso instrumento de diagnóstico e avaliação do desempenho das ETEs (ESTEBÁN *et al.*, 1991; MADONI, 1994a, b; SALVADÓ *et al.*, 1995).

2.3.1 Sistemática dos protozoários e metazoários

Os protozoários são classificados dentro de um grupo muito maior de organismos unicelulares denominado Reino Protista. Nestes organismos, a parede celular encontra-se freqüentemente ausente. Embora não apresentem diferenciação celular, alguns possuem uma estrutura relativamente complexa, com algumas regiões diferenciadas na célula para a execução de diversas funções. A maioria é representada por organismos heterotróficos, aeróbios estritos e sua reprodução ocorre principalmente por divisão binária JAHN *et al.*, 1999). Conforme relatado por JAHN *et al.* (1999) e FENCHEL (1999), menos de 50.000 espécies de protozoários já foram identificadas.

A classificação dos protozoários geralmente é feita com base no mecanismo de locomoção destes organismos, existindo três categorias principais (RICHARD, 1989; MADONI, 1994b):

- *Flagelados:* são pequenos protozoários (5-20μm) com forma oval ou alongada, que se movem ativamente por um ou mais flagelos. Normalmente dominam a microfauna durante a fase inicial de operação da planta quando a concentração de bactérias formadoras de flocos é baixa. Sua presença indica lodos frescos, repentino aumento da carga orgânica ou carência de oxigênio. São resistentes às condições anóxicas e/ou tóxicas, indicativas de pobre qualidade do efluente final.
- Sarcodinas: Estes organismos variam em forma e tamanho (10-200 µm) e sua locomoção ocorre por pseudopodes. As pequenas amebas nuas se correlacionam bem com pequenos flagelados sendo associadas a fenômenos transitórios e efluente final de má qualidade. As amebas grandes nuas também estão associadas a fenômenos transitórios, porém indicam uma boa qualidade do efluente final. As amebas com teca são representativas de baixas cargas orgânicas, lodos maduros, boa qualidade do efluente final e nitrificação.
- Ciliados: Estes protozoários se movem através de pequenas estruturas de locomoção dispersas em todo seu corpo denominadas cílios. Estes organismos representam 70% dos protozoários presentes nas plantas de tratamento de águas residuais e são muito sensíveis às variações nas condições operacionais da planta. Os ciliados desempenham um papel fundamental no processo de purificação da água, principalmente na redução da turbidez do efluente, podendo ser estabelecida uma relação entre seu número e a qualidade do efluente final.

Nos ciliados, por sua vez podem ser distinguidas quatro sub-classes (CANLER *et al.*, 1999):

• Holotrichia: neste grupo a ciliatura está distribuída uniformemente pela superfície do corpo. Seus indivíduos nadam livremente no sistema. Quando dominam, indicam fenômenos transientes. As espécies menores estão associadas a tempos de retenção hidraúlica baixos ou condições de sub-aeração, enquanto as espécies de maior tamanho se relacionam com altas cargas orgânicas no meio.

- Peritrichia: estes ciliados possuem ciliatura somente no nível da cavidade bucal e um pedúnculo que lhes permite se fixar ao floco microbiano. Estes organismos podem estar presentes nos sistemas por lodos ativados a diferentes níveis de carga orgânica, porém são dominantes em condições de baixa carga ou lavagem do sistema.
- *Spirotrichia*: Este grupo divide-se em duas ordens:
 - Heterotrichia: a ciliatura é relativamente regular e possuem uma zona provida de membranellas.
 - o *Hypotrichia*: A ciliatura destes organismos agrupa-se formando cirros que lhes permitem se movimentarem sobre a superfície do floco microbiano, alimentando-se essencialmente das bactérias fixas à superfície do floco.
- *Suctoria*: Seus indivíduos possuem ciliatura unicamente na etapa embrionária. No estágio adulto fixam-se ao floco por um pedúnculo (à exceção do gênero *Sphaerophria*) apresentando tentáculos distribuídos em diversas formas na superfície do corpo. Estes organismos não são muito comuns nos sistemas por lodos ativados, mas quando presentes indicam boa qualidade do efluente final.

A maior parte dos ciliados presentes nas ETEs alimenta-se de bactérias, mas uma pequena parte preda outros ciliados ou flagelados. No que diz respeito aos ciliados bacteriófagos dos lodos ativados, MADONI (1994) os dividiu em três grupos, de acordo com o seu comportamento:

- Nadadores ou "free swimmers": movem-se livremente na fração líquida e permanecem em suspensão no tanque de aeração. Estes organismos são indicadores de fenômenos transientes e de um efluente final medíocre. As espécies de pequeno tamanho revelam baixos TRH ou sub-aeração, enquanto as espécies de maior tamanho indicam altas cargas orgânicas.
- *Móveis de fundo ou "crawlers":* Habitam a superfície dos flocos e indicam qualidade média a boa do efluente final. Seu número aumenta em plantas bem estáveis e carga orgânica de média a baixa.
- Sésseis ou "attached": estão fixos por um pedúnculo aos flocos, precipitando no tanque de sedimentação. Eles ocorrem no sistema em todos os níveis de carga

orgânica, porém dominam em baixas cargas ou em condições de lavagem do sistema.

Os metazoários são animais pluricelulares e, diferentemente dos protozoários, cada célula é incapaz de realizar todas as funções fisiológicas. Estes organismos se nutrem de protozoários e bactérias em suspensão ou fixas ao floco. Possuem maior complexidade biológica que os protozoários e seu ciclo reprodutivo é mais lento. Assim, a sua presença nos lodos ativados é limitada apenas a algumas formas mais simples e com tempos de geração menores que a idade dos lodos. Os metazoários contribuem para o processo de floculação pela excreção de muco no qual novas bactérias filamentosas e floculantes podem aderir-se e pela fragmentação de flocos grandes durante seu movimento. Estes organismos são considerados bons indicadores da eficiência do tratamento nas ETEs (CANLER *et al.*, 1999).

Os metazoários comuns nas ETEs por lodos ativados são (RICHARD, 1989; MADONI, 1994):

- *Rotíferos:* São os mais freqüentes nos tanques de aeração e indicam um lodo com idade avançada com bom nível de aeração e alta qualidade do efluente final.
- Nematódeos (Gastrotrichia): Presentes em pequeno número em todas as cargas orgânicas. São resistentes a períodos de sub-aeração, mas não estão associados com a qualidade do efluente.
- Anélidos (Oligotrichia): Presentes só em sistemas bem estáveis com baixos valores de carga orgânica indicando uma qualidade boa do efluente final e nitrificação.

Embora tenham sido identificadas umas 230 espécies de protozoários nos diferentes tipos de sistemas de tratamento aeróbio, somente umas poucas têm sido observadas com freqüência em tais sistemas (CURDS & COCKBURN, 1970a; MADONI & GHETTI, 1981). A **Tabela 2.5** mostra as espécies de protozoários ciliados mais freqüentemente encontradas no lodo ativado.

2.3.2 Dinâmica das populações de protozoários e metazoários

Pesquisas efetuadas sobre a dinâmica de colonização e sobre a sucessão de populações nos tanques de aeração nos sistemas por lodos ativados evidenciaram que as comunidades de protozoários e metazoários se desenvolvem no licor misto de acordo com as condições operacionais prevalecentes no sistema. Em tanques de aeração idênticos em termos de construção e de funcionamento (carga orgânica, vazão, aeração, etc.) encontram-se comunidades de protozoários e metazoários muito semelhantes em estrutura e espécies.

Tabela 2.5 – Protozoários ciliados comuns nas plantas de tratamento de águas residuais (adaptado de MADONI, 1994a).

Carnívoros		Bacteriófagos	
	Nadadores	Móveis de Fundo	Sésseis
Acineria incurvata	Acineria uncinata	Aspidisca cicada	Carchesium spp.
Acineta spp.	Colpidium capylum	Aspidisca lynceus	Epistylis spp.
Amphiletus sp.	Colpidium colpoda	Chilodonella uncinata	Opercularia coarctata
Coleps hirtus	Colpoda sp.	Euplotes affinis	Opercularia microdiscus
Litonus spp.	Cyclidium glaucoma	Euplotes moebiusi	Opercularia minima
Matacineta spp.	Drepanomonas revoluta	Euplotes patella	Stentor spp.
Podophrya spp.	Glaucoma scintilans	Stylonychia spp.	Vaginicola crystallina
Spathidium spp.	Paramecium spp.	Trithigmostoma cucullus	Vorticella aquadulcis
Tokophrya spp.	Pseudocohnilembus pusillus	Trochilia minuta	Vorticella convalaria
	Spirostomum teres		Vorticella microstoma
Tetrahymena pyriformis			Zoothamnium spp.
	Thrachelophyllum pusillum		
	Uronema nigricans		

Um outro resultado importante, obtido nas pesquisas sobre a dinâmica de colonização da microfauna, é a identificação de três fases distintas que se sucedem desde a fase de partida do sistema até a fase de estabilização no tanque de aeração (CANLER *et al.*, 1999). Estas fases são ilustradas na **Figura 2.7**.

A fase inicial é caracterizada por espécies que são típicas no líquido a tratar: flagelados e ciliados nadadores, independentes dos lodos ativados e que estão entrando continuamente ao

sistema. A segunda fase surge com a formação dos lodos ativados, dando-se o rápido declínio das espécies pioneiras, apresentando a comunidade um máximo de riqueza específica; as formas nadadoras são rapidamente substituídas pelas formas sésseis e móveis de fundo. Finalmente, a terceira fase caracteriza-se por uma microfauna cuja composição e estrutura reflete as condições estáveis decorrentes do balanço entre carga orgânica e os lodos produzidos, removidos e reciclados.

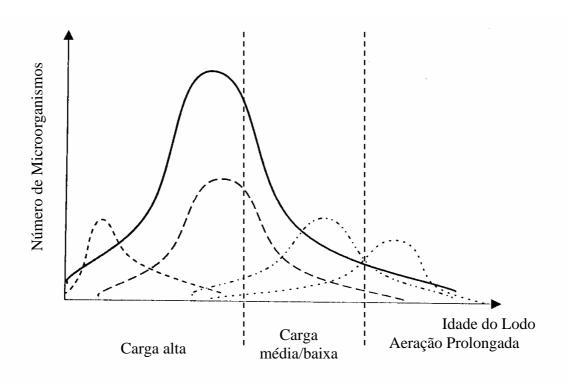


Figura 2.7 – Dinâmica de colonização dos lodos ativados em ETEs desde o início do seu funcionamento (adaptado de CANLER *et al.*, 1999) (1 – Bactérias; 2 – Protozoários flagelados; 3 – Ciliados nadadores e ciliados móveis de fundo; 4 – Ciliados sésseis; 5 – Rotíferos).

Uma estação de tratamento em pleno funcionamento não deve conter, em número significativo, espécies características da fase de colonização, pois indicará um mau funcionamento. Se isto acontecer transitoriamente poderá significar perda de lodo devido à remoção exagerada, falta de oxigenação, carga orgânica excessiva ou muito variável no tempo, variações significativas dos TRH ou presença de substâncias tóxicas (MADONI, 1994b).

De um modo geral, um sistema de lodos ativados eficiente deve apresentar: (1) elevada densidade da microfauna, isto é, pelo menos 10^6 células.mL⁻¹; (2) composição específica baseada em formas sésseis e móveis de fundo, estando os flagelados quase ausentes; (3) uma comunidade particularmente diversificada, onde nenhum grupo ou espécie domine numericamente os (as) outros(as) em mais do que um fator de 10 (MADONI, 1994b). Quando tal não acontece, a identificação do grupo dominante permite o diagnóstico da situação particular do funcionamento da estação, como apresentado na **Tabela 2.6**.

Tabela 2.6 – Situações particulares do funcionamento de estações de tratamento biológico de esgotos por lodos ativados (adaptado de MADONI, 1994b)

Grupo Predominante	Eficiência	Causa Possível
Pequenos flagelados	má	Lodos pouco oxigenados, entrada de substâncias em vias de fermentação
Pequenas amebas nuas e flagelados	má	Carga elevada e/ou dificilmente degradável
Pequenos ciliados nadadores (<50 μm)	medíocre	Permanência breve, lodos pouco oxigenados
Grandes ciliados nadadores (>50 µm)	medíocre	Carga demasiado elevada
Ciliados sésseis	baixa	Fenômenos transitórios
Ciliados móveis de fundo	boa	
Ciliados sésseis e móveis de fundo	boa	
Amebas com teca	boa	Carga baixa e/ou diluída, boa nitrificação

2.4. TÉCNICAS DE ANÁLISE E PROCESSAMENTO DE IMAGENS DIGITAIS

2.4.1 Aplicações das técnicas de análise de imagens

A revolução da informática, na segunda metade do século XX, tornou a digitalização e o processamento de imagens em computadores extremamente acessíveis, causando um impacto muito grande sobre os métodos de análise quantitativa.

No início do século XX surgiram as primeiras referências do envio de imagens digitais via cabo submarino, entre Londres e Nova Iorque, para publicação em jornais. A partir de 1964, as técnicas de análise de imagens desenvolveram-se vertiginosamente, sendo atualmente utilizadas em diversas áreas de aplicação do conhecimento humano para resolver uma ampla variedade de problemas que, normalmente, requerem métodos capazes de melhorar a informação visual para análise e interpretação humana ou a percepção automática por máquinas. Como exemplo de análise e interpretação humana de imagens melhoradas por tratamento digital, tem-se as aplicações na área médica com imagens de raios-X e medicina nuclear, na geologia no estudo de imagens de satélites, na restauração de figuras em arqueologia, na melhoria de imagens físicas, entre outras (GONZÁLEZ & WOOD, 1992). Como exemplo da percepção por máquinas, temos o reconhecimento automático de caracteres, processamento automático de impressões digitais, reconhecimento automático de rostos, visão computacional, guiagem de robôs, processamento automático de imagens de satélites para reconhecimento de queimadas, etc.

No campo da biotecnologia, a análise de imagens tem se tornado um complemento bem estabelecido das modernas técnicas microbiológicas, como é o caso da microscopia ótica, de grande utilidade nesta área, uma vez que permite efetuar classificações e quantificações rotineiras, objetivas e automáticas de microrganismos. Especificamente, na tecnologia microbiana, o uso desta técnica tem crescido consideravelmente, com aplicações que incluem a detecção e enumeração de bactérias e leveduras, análise de texturas de colônias, caracterização morfológica de colônias e micélios fúngicos, quantificação do crescimento de hifas (THOMAS & PAUL, 1996), quantificação do crescimento e da viabilidade celular em culturas em estado sólido ou submersas, adesão microbiana, estudos de mobilidade (VECHT-LIFSHITZ & ISON, 1992), entre outras aplicações.

Em biotecnologia ambiental o interesse pelo uso da análise de imagens tem crescido surpreendentemente nos últimos anos, devido à possibilidade de implementação desta técnica nos processos de tratamento de águas residuárias e efluentes industriais para a monitoração dos parâmetros operacionais.

Nos processos de tratamento anaeróbio, é relatada a aplicação dos procedimentos de análise de imagens na caracterização morfológica dos grânulos, no estabelecimento de correlações entre a atividade metanogênica, sedimentabilidade e parâmetros morfológicos dos agregados microbianos, bem como estudos sobre correlação das atividades metanogênicas e a fluorescência de um consórcio de microrganismos em um digestor anaeróbio (AMARAL *et al.*, 1998). Recentemente, AMARAL (2003) estudou o conteúdo de filamentos e as mudanças nas propriedades morfológicas dos agregados microbianos durante o processo de granulação da biomassa presente em um reator anaeróbio, e a influência do ácido oléico na quantidade de filamentos e na deterioração dos grânulos.

Em relação aos processos de tratamento aeróbio, os trabalhos centram-se no uso da análise de imagens para caracterizar a estrutura (SNIDARO *et al.*, 1997) e a morfologia dos flocos de lodo ativado, através da estimação de dimensões fractais e parâmetros morfológicos baseados na geometria euclidiana (convexidade, compactação, esfericidade, área e volume de partícula, entre outros) (ZARTARIAN *et al.*, 1997, AMARAL *et al.*, 1997; THILL *et al.*, 1998). As relações entre os parâmetros que caracterizam a morfologia dos flocos aeróbios e as propriedades de sedimentabilidade do lodo ativado também têm sido abordadas na literatura através de alguns trabalhos, como o conduzido por GANCZARCZYK (1994), sobre a relação entre a velocidade de sedimentação do lodo ativado e os parâmetros comprimento, largura e diâmetro equivalente dos agregados.

De igual forma, GRIJSPEERDT E VERSTRAETE (1996) implementaram um sensor em uma estação de tratamento de efluentes constituído por um sedimentador secundário acoplado a um sistema de análise de imagens a fim de monitorar a operação de sedimentação através da estimação dos parâmetros morfológicos diâmetro equivalente, fator de forma e relação de aspecto, e correlacionando estes parâmetros com o Índice Volumétrico do Lodo (IVL). Mais tarde (1997), estes mesmos autores realizaram estudos adicionais incluindo os parâmetros esfericidade e dimensão fractal na caracterização da morfologia dos flocos e investigaram as relações existentes entre os parâmetros morfológicos, assim como a correlação entre estes parâmetros e o IVL do sistema em estudo. da MOTTA *et al.* (2001c) também desenvolveram um procedimento de análise de imagens para a caracterização simultânea do lodo ativado quanto à morfologia dos flocos através da estimação das

dimensões fractais e quanto ao conteúdo de bactérias filamentosas, durante a monitoração de uma planta de tratamento de efluentes realizada por um ano, e constataram a relação existente entre os eventos de intumescimento filamentoso e o IVL a partir das variações do comprimento de filamentos, número de filamentos por imagem e proporção de bactérias filamentosas no lodo ativado.

A caracterização morfológica por análise de imagens para a identificação e reconhecimento de espécies de protozoários associada a várias técnicas estatísticas de análise multivariável tem sido objeto de estudo. AMARAL et al. (1999a) desenvolveram um procedimento para o tratamento de imagens de protozoários presentes em estações de tratamento de águas residuais auxiliado pela Análise de Componentes Principais (ACP) para a identificação das diferentes espécies destes organismos. Este procedimento permitiu o reconhecimento e separação dos diferentes grupos de ciliados, incluindo aqueles apontados como indicadores de baixa eficiência de tratamento, podendo este procedimento ser implementado para detectar anomalias no funcionamento de estações de tratamento de águas residuárias. Nos seus estudos, da MOTTA et al. (2001a) utilizaram a Análise Discriminante (AD) com o mesmo propósito. Estudo mais recente foi conduzido por AMARAL (2003), que empregou a Análise Discriminante (AD) e Redes Neurais (RN) para efetuar o reconhecimento dos protozoários e metazoários a partir dos parâmetros morfológicos correspondentes a cada espécie. Ambas as técnicas avaliadas se mostraram promissoras para o reconhecimento e a monitoração das populações de protozoários típicos das plantas de tratamento de águas residuárias.

2.4.2 Conceitos básicos sobre aquisição, análise e processamento digital de imagens

O termo Análise de Imagens refere-se não só à análise de imagens propriamente dita, mas também às etapas prévias de aquisição e processamento das mesmas, consideradas de grande importância (RUSS, 1995). Esta técnica permite o melhoramento das imagens bem como o reconhecimento e identificação automáticos de padrões, tais como arranjos ou conjuntos de elementos que seguem determinadas características, proporcionando assim redução de tempo e trabalho ao investigador.

A primeira etapa é a aquisição da imagem digital, considerada crucial para o sucesso do processamento posterior das imagens. Para efetuar esta etapa são necessários dois elementos básicos: um dispositivo físico que seja sensível à uma banda do espectro eletromagnético

(como raios X, ultravioleta, visível ou banda infravermelha), capaz de produzir um sinal elétrico de saída proporcional a um nível de energia percebida, e um dispositivo para realizar a conversão da saída elétrica do dispositivo de sensor físico para a forma digital, denominado conversor analógico-digital ou digitalizador. Estes dois elementos podem combinar-se resultando em um módulo de aquisição. Alguns exemplos de módulos de aquisição são as câmeras fotográficas ou de vídeo, os *scanners* ou ainda alguns sensores dedicados (como sistemas de infravermelho, mapeamento magnético de uma superfície, sensores de radares, etc.) (GONZÁLEZ & WOOD, 1992).

As câmeras de vídeo analógicas ou digitais são os elementos de aquisição de imagens mais freqüentemente usados para aquisição destas, sendo possível acoplá-las aos microscópios estéreo, óptico ou eletrônico. As mesmas são disponíveis em dois tipos principais: a de tubo, como as câmeras Vidicom, e as de estado sólido baseadas em dispositivos detectores como CCD (*Charge-Coupled Devices*), CID (*Charge-Injection Device*), CMOS (*Complementary Metal Oxide Silicon*) ou CMD (*Charged Modulated Device*) (PONS & VIVIER, 1999), sendo atualmente as câmeras CCD as mais amplamente difundidas.

O CCD é um circuito integrado (chip) composto de elementos discretos de imagem de silício chamados foto-sítios que operam convertendo a energia luminosa na forma de fótons em carga elétrica, de tal forma que a intensidade da corrente criada é proporcional a intensidade da luz recebida. Os elétrons gerados pela interação dos fótons são armazenados em acumuladores de potencial e subseqüentemente transferidos através de registradores até saírem para um amplificador. (GONZÁLEZ & WOOD, 1992)

O sinal analógico, na forma de diferença de potencial, gerado pelo CCD é alimentado a uma placa digitalizadora que converte este sinal em informação digital "legível" pelo computador. O processo é efetuado pelas tabelas de conversão conhecidas como *Look-Up Table (LUT)*, cuja função é transformar a diferença de voltagem de cada sensor do CCD em um valor igual ao valor médio de cada um. Finalmente, estes valores são dispostos em uma matriz de elementos pixels (*picture elements*) com valores diretamente proporcionais à intensidade recebida por cada sensor. A precisão do valor digital do pixel é diretamente proporcional ao número de bit (*binary digits*) do dispositivo de digitalização conhecido como *bits-por-pixel (BPP)* o qual, por sua vez, determina a classe da imagem. Para a aquisição de imagens em escala de cinza ou monocromáticas a maioria dos dispositivos digitalizadores encontrados nas câmeras digitais empregam conversores A/D de 8 bit, com 256 níveis discretos de cinza (entre 0 e 255) para representar as amplitudes de voltagem. Nas imagens

coloridas, cada componente de cor é digitalizada a uma resolução equivalente ao número de bits utilizado nas imagens monocromáticas (8 bits). As componentes resultantes são então combinadas para produzir pixels de 24 bit, conhecido como triplete RGB, correspondendo às cores primárias da luz (Vermelho, Verde, Azul), muito utilizado por uma ampla classe de câmeras de vídeo a cores. Além do modelo RGB, podem ser utilizados outros modelos de cor para a aquisição das imagens coloridas: o modelo CMYK (ciano, magenta, amarelo, preto) e o modelo HSI (Matiz, Saturação, Intensidade). (RUSS, 1995)

Uma vez obtida a imagem digital, esta é armazenada, podendo ser o sistema de armazenamento da câmera do tipo interno ou externo. Algumas câmeras permitem guardar as imagens internamente através de uma memória local, enquanto outras transferem as imagens a memórias externas como cartões removíveis. No primeiro caso uma vez que se atinge a capacidade de armazenamento da câmera, as imagens devem ser transferidas a um computador antes desta ser novamente utilizada. Para o caso das câmeras com dispositivos de memória removíveis, os mesmos podem ser reutilizados após haver gravado as imagens e descarregado em um computador. (GONZÁLEZ & WOOD, 1992)

Dado que as imagens digitais ocupam normalmente uma quantidade razoável de espaço, estas podem ser estocadas em formatos de arquivos de compressão incluindo o conhecido *JPEG (Joint Photographic Experts Group)*, que reduz consideravelmente os requerimentos de armazenamento mantendo um grau razoável de qualidade na imagem. No entanto, para propósitos de processamento posterior, não é recomendável que as imagens sejam armazenadas nestes formatos, pois a quantidade de dados que representam a imagem é reduzida nos processos de compressão, tornando-se assim necessário armazenar as imagens em formatos de arquivos tais como *TIFF (Tagged Image File Format)* ou *BMP (Windows Image Bitmaps)*. (GONZÁLEZ & WOOD, 1992)

Após a obtenção e o armazenamento das imagens digitais, a próxima etapa trata do processamento das mesmas. Esta etapa envolve uma série de procedimentos que são geralmente expressos em forma de algoritmos, que na sua maioria, são implementados em software. A implementação hardware especializado só ocorre em casos nos quais há necessidade de altas velocidades de processamento. A etapa de processamento pode ser subdividida em dois estágios conhecidos como pré-processamento, segmentação e pósprocessamento (RUSS, 1995).

Frequentemente, durante o processo de aquisição se produz certa degradação das imagens. Devido aos problemas mecânicos, manchas e sujeiras fora de foco, movimentos vibratórios da câmera na hora da aquisição da imagem, iluminação inadequada e ruído, a

qualidade da imagem digitalizada pode ser inferior à imagem original. O objetivo do *pré- processamento* é, precisamente, melhorar a imagem através da aplicação de técnicas para o realce de contraste, definição dos contornos dos objetos, remoção de ruído e distorções, bem como isolamento de regiões cuja textura indique a probabilidade de informação alfanumérica (RUSS, 1995).

Uma das técnicas bastante utilizada no *pré-processamento* das imagens digitais é a relacionada com a aplicação de algoritmos de correção do plano de fundo. Esta técnica é útil, principalmente, para corrigir os defeitos da imagem associados com gradientes de brilho comumente atribuídos à iluminação irregular dos instrumentos de visualização como o microscópio óptico, bem como sujeiras e manchas que podem afetar seriamente o contraste da imagem e mascarar detalhes do objeto. Existem duas alternativas principais para realizar a correção do plano de fundo: pela divisão da imagem por uma imagem do fundo ou pela subtração da imagem da imagem de fundo. A imagem de fundo pode ser obtida, previamente, a partir da aquisição de uma imagem com o objeto removido do caminho óptico do microscópio ou, posteriormente, pela aplicação de uma série de operações de fechamento e abertura. (RUSS, 1995)

Uma vez corrigido o fundo da imagem, o próximo passo consiste em melhorar o brilho e o baixo contraste provocado pela iluminação insuficiente e as limitações da escala dinâmica no sensor de imagem, ou mesmo devido ao estabelecimento incorreto da abertura da lente durante a aquisição da imagem. Estas deficiências são corrigidas manipulando o histograma da imagem através de operações de transformação de intensidade que são algoritmos desenhados para transformar cada valor de brilho de entrada em um valor de brilho de saída via uma função de transferência. Estas operações são tipicamente denominadas operações no histograma e dentre elas pode-se citar o alargamento do contraste, a equalização do histograma, e as operações de normalização e linearização. (RUSS, 1995)

O ruído causado pelos diferentes dispositivos de aquisição de imagem normalmente aparece como variações discretas de pixels isolados sem correlação espacial. Em geral, estes pixels são diferentes dos pixels vizinhos, sendo esta a base de muitos algoritmos de eliminação ou atenuação de ruídos. Para contornar estes defeitos têm sido desenvolvidas as operações de suavização lineares (*smoothing*), entre as que podem ser distinguidos os algoritmos lineares e não-lineares, sendo os primeiros desenvolvidos no domínio da freqüência (Fourier) e os últimos no domínio do espaço. No caso dos filtros lineares, como o filtro *Gaussiano* ou o filtro no domínio da freqüência *Passa-baixo*, os valores de saída são combinações lineares dos valores originais da imagem. Entretanto, nos filtros não-lineares, os

valores de saída não são combinações lineares dos valores originais da imagem, tal é o caso do filtro de mediana ou dos filtros adaptativos espacialmente como o filtro de Lee ou o filtro de variância mínima. Se a natureza do ruído é periódica, como no ruído eletrônico, este pode ser eliminado pelo uso da Transformada de Fourier ou Transformada Rápida de Fourier (FFT). (GONZÁLEZ & WOOD, 1992)

Uma das conseqüências da aplicação de filtros de suavização é o "borramento" da imagem provocado pela atenuação dos componentes de alta freqüência da transformada de Fourier, sendo, portanto, necessário definir ou realçar as bordas e outros detalhes finos dos objetos na imagem. Para isto, são também utilizados filtros lineares e não-lineares de alta freqüência conhecidos como filtros *Passa-altas* que atenuam os componentes de baixa freqüência sem alterar as informações de alta freqüência na Transformada de Fourier. Exemplos de filtros lineares de alta freqüência são o filtro Laplaciano e o filtro *Unsharp masking*. Os filtros não-lineares de alta-frequência incluem filtros de bordas simples (filtro de *Robert*) e os filtros de gradiente (filtro de *Sobel*) (GONZÁLEZ & WOOD, 1992).

A próxima etapa no processamento das imagens digitais trata da *segmentação*, considerada uma das tarefas mais difíceis no processamento de imagens digitais. Definida em termos gerais, a segmentação subdivide uma imagem em suas partes ou objetos constituintes. Mais especificamente, a segmentação pode ser definida como o processo de partição de uma imagem em diferentes regiões sendo cada região uniforme e homogênea com respeito a alguma propriedade, tal como valor do nível de cinza ou textura, e diferindo significativamente das regiões vizinhas. Desta forma é possível distinguir os objetos de interesse do resto da imagem. Existem três métodos diferentes para efetuar a segmentação da imagem: (1) os baseados em regiões (designa pixels a regiões ou objetos), (2) os baseados em fronteiras (localiza a fronteira entre regiões), e (3) os baseados em bordas (identifica os pixels da borda e os une para formarem fronteiras) (GONZÁLEZ & WOOD, 1992).

A forma mais simples de efetuar a segmentação é através da seleção do *threshold*, definido como o valor de nível de cinza que permite efetuar a divisão dos pixels que passarão a ter valores 0 e 1 a partir da binarização. Este processo é conhecido como *Thresholding* e a seleção do *threshold* é realizada pixel a pixel, pela comparação do nível de cinza de cada ponto com o valor de *threshold* previamente estabelecido. Em dependência da interação do usuário com o processo de segmentação, o valor do *threshold* pode ser obtido de forma manual, automática, e semi-automática ou interativa e as principais técnicas para selecionar o valor ótimo de *threshold* incluem as baseadas no histograma da imagem (valor médio, o valor mediano, a primeira derivada mínima, a primeira derivada máxima, valores de ponto de

inflexão do histograma e o algoritmo de Otsu), nos métodos classificadores multivariáveis (método de discriminação linear) e nos métodos classificadores contextuais (método de suavização pós-classificação). Os métodos de segmentação baseados em bordas requerem o uso prévio de filtros morfológicos para poderem distinguir entre os pixels que pertencem à borda dos que não pertencem e compreende métodos tais como o algoritmo dos componentes conectados ou filtro LoG. Finalmente, a segmentação baseada em regiões é efetuada iterativamente pelo agrupamento de pixels vizinhos com valores similares e inclui métodos tais como o algoritmo de entropia e algoritmo *split-and-merge* (RUSS, 1995).

Uma vez que a imagem tenha sido segmentada em regiões por alguns dos métodos anteriormente citados, os agrupamentos de pixels segmentados são usualmente representados e descritos em um formato apropriado para o processamento subseqüente. Comumente esta representação é feita atribuindo à imagem dois níveis de cinza (branco/preto) obtendo-se o que se conhece como imagem binária, onde geralmente o valor de 0 corresponde ao fundo da imagem e o valor de 1 corresponde aos objetos de interesse. Esta imagem pode ser ainda processada para adaptá-la a determinação dos parâmetros necessários e efetuar as medições morfológicas. O pós-processamento da imagem pode compreender operações tais como preenchimento de zonas, remoção de objetos das bordas da imagem, união e separação de objetos, entre outras. As operações mais utilizadas para este propósito são operações de forma e tamanho e as de conectividade. Dentre as operações de forma e tamanho encontram-se as morfológicas tais como erosão, dilatação, abertura, fechamento, transformada de distância, entre outras. Entretanto, as operações de conectividade incluem esqueletização, e as denominadas thinning, thickening, prunning e watershed (RUSS, 1995).

Após o processamento, a próxima etapa é precisamente a relacionada com a análise da imagem final obtida. Nesta etapa são realizadas as medições em função do tipo de imagem final obtida (binária ou em escala de cinza) bem como dos dados requeridos. Em imagens binárias, tipicamente são determinados os seguintes parâmetros morfológicos Euclidianos: Área, Diâmetro Equivalente, Perímetro, Comprimento, Largura, Excentricidade, Esfericidade, entre outros. Também podem ser determinadas as dimensões fractais dos objetos como Dimensão Fractal de Massa e Dimensão Fractal de Superfície, entre várias outras dimensões. Nas imagens em escala de cinza é comum determinar os parâmetros: momentos mássicos de primeira, segunda e terceira ordem, valores de níveis de cinza máximo e mínimo (AMARAL, 2003; GRIJSPEERDT E VERSTRAETE, 1997; da MOTTA *et al.*, 2001a,b,c).

2.5. ESTUDO DE CASO: INFLUÊNCIA DO FENOL NA SEDIMENTABILIDADE E NA COMUNIDADE BIOLÓGICA DO LODO ATIVADO

O fenol é um dos poluentes ambientais comumente presentes em uma variedade de efluentes industriais tais como aqueles provenientes da indústria petroquímica em geral, farmacêutica, madeireira, entre outras. (KUMARAN & PARUCHURI, 1997)

O potencial poluidor deste composto aromático deve-se principalmente à sua toxicidade (o limite de toxicidade aos peixes é de 40 mg.L⁻¹ de fenol) e persistência à biodegradação. Além de conferir um odor característico indesejável à água, tem sido comprovado que a ingestão contínua de fenol através da água contaminada por períodos prolongados de tempo, em concentrações entre 10-240 mg.L⁻¹, causa diarréia, tremor nos músculos e perda da coordenação (KUMARAM & PARUCHURI, 1997). Por este motivo os padrões de potabilidade da água do Ministério da Saúde do Brasil estabelecem 0,1 mg.L⁻¹ como nível máximo permitido deste composto na água potável. Entretanto, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) na resolução nº 357 de 2005 estabelece 0,5 mg.L⁻¹ como limite máximo de lançamento de fenol nos corpos de água. Deste modo torna-se necessária a remoção deste composto dos efluentes industriais para preservar a qualidade do meio ambiente.

A biodegradação de fenol tem sido estudada em profundidade, sendo comprovada a capacidade de uma variedade de microrganismos, incluindo bactérias, leveduras e fungos filamentosos para degradar os efluentes industriais contendo este e outros compostos aromáticos (ANNACHHATRE & GHEEWALA, 1996; WATANABE *et al.*, 1996; KAHRU *et al.*, 1998). Diferentes processos biológicos de tratamento são empregados na indústria para o tratamento de resíduos fenólicos (ANNACHHATRE & GHEEWALA, 1996), sendo o processo de tratamento por lodos ativados um dos sistemas biológicos mais amplamente aceitos para o tratamento deste tipo de resíduos (KUMARAN E PARUCHURI, 1997).

Embora presente em baixas concentrações, o fenol é um potente inibidor das espécies microbianas com capacidade metabólica para usá-lo como substrato de crescimento. Como resultado, são afetados não só os processos de degradação, mas também a biofloculação e sedimentação do lodo ativado, o que incide diretamente na qualidade do efluente e no custo do tratamento.

Estudos distintos mostraram que a presença de fenol acarretou instabilidade na remoção de carbono orgânico e promoveu desfloculação em sistemas RBS. BITTON (1994) cita como

efeitos causados pela presença de fenol a redução na remoção de DQO e DBO, inibição da nitrificação, dificuldade na separação de sólidos e modificação das propriedades de compactação do lodo.

GALIL *et al.* (1988) relataram que o derramamento do efluente proveniente de um complexo petroquímico contendo altas concentrações de compostos fenólicos afetou consideravelmente o processo de lodo ativado, prejudicando primeiramente a biofloculação e posteriormente inibindo o processo de biodegradação.

Durante estudos efetuados por YU & GU (1996), para avaliar a influência do modo de enchimento do RBS na eficiência de remoção de fenol, sedimentabilidade do lodo ativado e concentração de SS no efluente, para concentrações de fenol no afluente variando de 90 a1500 mg.L⁻¹, verificou-se que, independente do modo de enchimento empregado, o aumento da carga de fenol no afluente afetou a eficiência de remoção biológica deste composto em concentrações maiores que 400 mg.L⁻¹. De igual forma, as concentrações crescentes de fenol no afluente provocaram um aumento considerável na concentrações de SS no efluente para concentrações de fenol acima de 625 mg.L⁻¹. Este aumento esteve associado ao aparecimento do fenômeno de crescimento disperso com formação de flocos do tipo "*pin-point*", verificado através de observações microscópicas da biomassa durante os ensaios.

Entretanto, em estudos realizados por SILVA *et al.* (2002), constatou-se que concentrações de fenol no efluente de até 100 mg.L⁻¹ não inibiram a remoção de nitrogênio amoniacal, nem influenciaram na biodegradação deste poluente, cuja remoção foi praticamente completa. No entanto, evidenciou-se que o aumento da carga de fenol no intervalo estudado provocou a elevação do Índice Volumétrico do Lodo (IVL), indicativo da influência negativa deste composto sobre a sedimentabilidade dos flocos de lodo ativado. De igual forma, as observações microscópicas da biomassa revelaram dispersão e variações morfológicas dos flocos associadas às concentrações crescentes de fenol no afluente. De forma similar, GALIL *et al.* (1998), ao estudarem o fenômeno de desfloculação da biomassa causado pela presença de fenol em concentrações de 250 a 2000 ppm, evidenciaram um aumento na turbidez específica e na concentrações de polissacarídeos (biopolímeros) no sobrenadante com o aumento do teor de fenol o que, segundo estes autores, pode ser atribuído ao fenômeno de desfloculação da biomassa suspensa na presença deste poluente.

O efeito tóxico em RBS é minimizado pelo uso de microorganismos modificados ou pela técnica de bioaumento (FUJITA *et al.*, 2000). Outra alternativa proposta é a aclimatação prévia da população. Aclimatar a biomassa é uma forma de não promover choques de carga e conseqüentemente perda dos catalisadores biológicos do reator (SILVA *et al.*, 2002).

2.6. PERSPECTIVAS E OBJETIVOS DO TRABALHO

Nesta seção são destacadas algumas justificativas que nortearam a presente Tese de Doutorado.

1. Com relação aos flocos de lodo ativado:

Vários estudos têm demonstrado que os parâmetros geométricos dos flocos como tamanho, compactação e circularidade determinam as propriedades de sedimentabilidade e compactação do lodo ativado (LI & GANCZARCZYCK, 1987, 1988).

Diferentes métodos têm sido utilizados para caracterizar os agregados microbianos quanto ao tamanho e número, incluindo a observação microscópica direta com oculares micrométricas (SADALGEKAR *et al.*, 1988; BARBUSINSKI & KOSCIELNIAK, 1995), difração de raios laser (JORAND *et al.*, 1995), técnicas fotográficas (TAMBO & WATANABE 1979; LI & GANCZARCZYK, 1985) e eletricamente através da técnica de *Coulter Counter* (ANDREADAKIS, 1993).

Por outro lado, a natureza caótica dos processos de floculação e decomposição dos flocos de lodo ativado levaram à aplicação da geometria fractal na descrição destes agregados microbianos nos processos de tratamento de esgotos através da estimação da dimensão fractal dos mesmos e sua relação com a sedimentabilidade do lodo ativado (LI & GANCZARCZYCK, 1989; SNIDARO *et al.*, 1998). A teoria fractal também tem sido utilizada para a análise das características geométricas dos agregados microbianos, transferência de substrato nos flocos biológicos e nos processos de floculação.

De igual forma, os flocos de lodo ativado têm sido caracterizados quanto aos organismos filamentosos presentes nos flocos microbianos, através da contagem manual no microscópio e de um procedimento para determinar o comprimento total das bactérias filamentosas (SEZGIN *et al.*, 1978), bem como uma técnica para quantificar as espécies de *Nocardia* (JENKINS *et al.*, 1993).

Em geral, as técnicas manuais são tediosas, imprecisas e consomem muito tempo, o que tem levado alguns autores a avaliar outras técnicas mais confiáveis e práticas a fim de caracterizar a morfologia dos flocos. Dentre elas, a análise digital de imagens tem se mostrado promissora para quantificar o tamanho dos flocos bacterianos (GRIJSPEERDT & VERSTRAETE, 1996, 1997). A análise fractal do contorno dos flocos também tem sido realizada por vários autores usando esta metodologia com o intuito de caracterizar os flocos

obtidos em diferentes condições (LI & GANCZARCZYK, 1989). Estas dimensões fractais têm sido correlacionadas com as propriedades de sedimentabilidade do lodo ativado (GRIJSPEERDT & VERSTRAETE, 1997; AMARAL, 2003), a fim de monitorar o intumescimento filamentoso nas estações de tratamento (da MOTTA et al., 2001c). Dentre as propriedades morfológicas dos flocos de lodo ativado, a porosidade tem sido apontada como um dos parâmetros que determinam características de sedimentabilidade do lodo ativado (LI & GANCZARCZYK, 1987; ANDREADAKIS, 1993). Segundo LI E YUAN (2003), os flocos de lodo ativado além de serem amorfos e de natureza fractal, também são altamente porosos. Em estudos conduzidos por ANDREADAKIS (1993) sobre as propriedades físicoquímicas dos flocos de lodo ativado, foi comprovada a correlação existente entre a sedimentabilidade do lodo ativado, determinada como Índice Volumétrico de Lodo (IVL), e os parâmetros morfológicos tamanho, densidade e área superficial dos flocos, sendo este último parâmetro indicativo de porosidade dos agregados microbianos. O crescimento e a competição microbiana podem também contribuir ao desenvolvimento de um gradiente de porosidade dentro das microcolônias. SCURAS et al. (1998) apresentaram um modelo para predizer a porosidade e difusividade das microcolônias que compõem os flocos de lodo ativado e seu impacto sobre o crescimento e competição entre os microrganismos. Estes autores evidenciaram a existência de uma progressão rápida à porosidade mínima com a expansão relativamente lenta da superfície das microcolônias.

No entanto, até o presente momento os trabalhos sobre aplicação da análise digital de imagens para caracterizar a morfologia dos flocos microbianos não têm incluído a estimação de parâmetros morfológicos como número de poros, relação entre área de poros e área geométrica do floco, entre outros.

Desta forma, um dos objetivos deste trabalho foi o desenvolvimento de um procedimento de tratamento e análise das imagens dos flocos de lodo ativado com vista a estimar os parâmetros morfológicos dos agregados microbianos incluindo aqueles que determinam a porosidade destes agregados, a fim de correlacioná-los com o Índice Volumétrico do Lodo (IVL). O procedimento obtido foi utilizado para avaliar os efeitos causados por concentrações crescentes de fenol sobre a desfloculação do lodo ativado durante o tratamento de esgoto sintético em um Reator Batelada Sequencial. A metodologia foi validada empregando lodo biológico proveniente da Estação de Tratamento de Esgostos Domésticos da Ilha do Governador (Rio de Janeiro – RJ) e de uma unidade de Tratamento de Efluente Industrial, gentilmente cedido pela Ciba Especialidades Químicas Ltda. (Estrada do Colégio – RJ).

2. Com relação à comunidade biológica:

Diferentes trabalhos têm sido conduzidos com o intuito de monitorar as plantas de tratamento de águas residuais através da identificação dos grupos de protozoários, sendo encontrada em todos os casos a existência de uma relação entre as populações predominantes de protozoários e as condições de operação prevalecentes nas plantas de tratamento tais como carga orgânica, disponibilidade de oxigênio, idade do lodo, presença de nitrificação e qualidade do efluente final (POOLE, 1984; ESTEBAN *et al.*, 1991; AL-SHAHWANI & HORAND, 1991; LEE *et al.*, 2002).

Após vários anos de estudo, MADONI (1994a) desenvolveu o Índice Biótico de Lodos, IBL (SBI, "Sludge Biotic Index"), inspirado no "Extended Biotic Index" de WOODIWIS (1980), com o intuito de efetuar o diagnóstico do estado de funcionamento das ETEs empregando a microfauna do lodo ativado como indicadores biológicos. O método baseia-se na abundância e na diversidade específica da comunidade e nas diferentes sensibilidades reveladas por alguns grupos da microfauna aos fatores físico-químicos prevalecentes no sistema. A aplicabilidade deste método às ETEs por lodos ativados foi testada em 45 ETEs de diferentes áreas geográficas. Uma das vantagens do IBL reside no fato da avaliação ser feita através de valores numéricos, o que permite ao operador comparar a qualidade biológica do lodo no tanque de aeração ao longo do tempo, e consequentemente as condições operacionais da ETE em causa. No entanto, a identificação, contagem e classificação dos microrganismos para estimar o IBL são feitas através de observações microscópicas das amostras de lodo ativado o que demanda tempo e pessoal especializado, especificamente protistologistas.

A análise digital de imagens pode ser uma ferramenta útil para efetuar a classificação taxonômica e a quantificação de organismos de uma forma automática e não subjetiva. Alguns estudos já têm sido realizados, usando esta técnica combinada com técnicas estatísticas de análise multivariável como Redes Neurais, Análise Discriminante, Análise de Componentes principais, para efetuar o reconhecimento dos protozoários e metazoários presentes nos tanques de aeração das ETEs por lodos ativados, incluindo os trabalhos de AMARAL (1997, 1998, 2003) e de da MOTTA *et al.* (2001a, 2001b). Os resultados destes estudos têm se mostrado promissores, já que permitem a classificação e a identificação destes organismos de forma automática e não subjetiva, otimizando o tempo de reconhecimento e classificação, e fornecendo o diagnóstico rápido do funcionamento das ETEs e da qualidade do efluente tratado.

Desta forma, o segundo objetivo perseguido com o presente trabalho foi estender o procedimento de análise digital de imagens previamente desenvolvido em *Visilog* por AMARAL (2003) ao reconhecimento de outros grupos de protozoários e metazoários e adaptá-lo ao ambiente *Matlab*, bem como aplicar as técnicas de Análise *Discriminante* (*AD*) e *Redes Neuronais* (*RN*), para efetuar a identificação dos diferentes grupos de protozoários e metazoários comumente presentes nos tanques de aeração das ETEs por lodos ativados.

CAPÍTULO 3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. METODOLOGIAS EXPERIMENTAIS

3.1.1. Sistema de lodo ativado

Este estudo teve como propósito a estimação de parâmetros morfológicos de flocos microbianos, com o intuito de correlacioná-los com as propriedades de sedimentabilidade do lodo ativado obtido no tratamento de um efluente sintético em um Reator Batelada Seqüencial (RBS). O procedimento de tratamento e análise das imagens digitais dos flocos de lodo ativado empregou o software de processamento digital de imagens *Image-Pro Plus*.[®] v.4.5 (*Media Cybernetics, Inc.*).

O sistema alimentando com concentrações crescentes de fenol, no intervalo entre 25 e 1000 mg. L⁻¹, foi utilizado para avaliar variações nas propriedades morfológicas dos flocos microbianos, bem como para estabelecer correlações entre tais parâmetros e as propriedades de sedimentabilidade do lodo ativado.

3.1.1.1 Sistema de lodo ativado empregado

Os estudos foram conduzidos em nível de bancada empregando-se um Reator Batelada Seqüencial (RBS) com um volume de trabalho de 15L, contendo um inóculo de aproximadamente 5L (**Figura 3.1**). A unidade experimental conta com um microcomputador dedicado à obtenção *on-line* da base de dados em tempo real e à exibição das variáveis do processo através do emprego do *software* comercial de controle supervisório FIX-DMACS MMI versão 6.2 (*The Intellution Inc.*) para monitoração do sistema.

Os microrganismos utilizados neste trabalho tiveram origem em trabalhos anteriores realizados no laboratório e aclimatados para remoção de nitrogênio amoniacal (COELHO, 1998; SOUZA, 2000; SILVA, 2002). Por serem mantidos sob refrigeração, foi necessário inicialmente realizar a adaptação dos mesmos com o objetivo de reativar a atividade biológica dos organismos constituintes, após um período de conservação em refrigeração a 4°C.



Figura 3.1 - Reator Batelada Seqüencial utilizado para a realização dos experimentos.

3.1.1.2 Aclimatação do sistema RBS com concentrações crescentes de fenol

Os microorganismos foram gradualmente aclimatados, em reator, com meio sintético durante todo o período em que foram realizados os experimentos. A alimentação no período de aclimatação foi conduzida a cada dois dias.

O meio sintético tinha a seguinte composição: $NH_4Cl - 76,1 \text{ mg.L}^{-1}$; $Na_2HPO_4.12H_2O - 46,2 \text{ mg.L}^{-1}$; $NaCl - 10,1 \text{ mg.L}^{-1}$; $KCl - 4,7 \text{ mg.L}^{-1}$; $CaCl_2.H_2O - 4,7 \text{ mg.L}^{-1}$; $MgSO_4.7H_2O - 16,7 \text{ mg.L}^{-1}$; $NaHCO_3 - 243,3 \text{ mg.L}^{-1}$; $Na_2CO_3 - 162,2 \text{ mg.L}^{-1}$; glicose -300 mg.L^{-1} . Para a manutenção da biomassa, elementos traços foram adicionados em concentração inferior a $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$: $FeCl_3.6H_2O$, $ZnSO_4$, $MnSO_4.H_2O$, $CuSO_4$ (COELHO, 1998).

Durante esta etapa, o reator RBS foi alimentado a cada dois dias e operou continuamente a 25°C com agitação de 300 rpm. A fase de aeração foi mantida por um período de 9 horas seguido de uma fase anóxica de 15 horas para promover a desnitrificação. A concentração média de biomassa ao início da perturbação do sistema com fenol foi de 3,0 g.L⁻¹ (determinada em termos de Sólidos Voláteis em Suspensão, SVS). O período de aclimatação foi acompanhado retirando-se amostras após a alimentação do sistema, i.e. antes da fase aeróbia e ao final da fase anóxica. Ao final da fase anóxica procedeu-se à etapa de separação do lodo ativado do efluente tratado por sedimentação, empregando-se um tempo de sedimentação de 30 minutos.

Ao se observar, através de análises periódicas dos índices de remoção de DQO e nitrogênio amoniacal, que a biomassa apresentava atividade metabólica adequada, iniciou-se a

adição de fenol para promover a aclimatação da biomassa ao composto inibitório. O meio sintético utilizado era o mesmo citado anteriormente acrescido de fenol (25 - 1000 mg.L⁻¹).

O lodo ativado foi aclimatado por 15 dias às diferentes concentrações de fenol avaliadas. Durante os primeiros 8 dias de aclimatação, o sistema foi acompanhado para verificar a influência da carga de fenol aplicada na degradação da matéria orgânica, nos processos de nitrificação e desnitrificação. Para isto foram retiradas amostras do sistema e o sobrenadante, obtido após centrifugação (3,000 g), foi utilizado para efetuar análises de quantificação de íons amônio, nitrato (eletrodos íons seletivos), Demanda Química de Oxigênio (método refluxo fechado), fenol, Sólidos Suspensos Voláteis (gravimetria) de acordo com os métodos descritos na Seção 3.2.

Adicionalmente, foi avaliado o efeito do fenol na desfloculação e na sedimentabilidade do lodo ativado aplicando a técnica de Análise Digital de Imagens (ADI). Para tal foi desenvolvido um procedimento de tratamento das imagens digitais dos flocos de lodo ativado do sistema em estudo usando o software comercial *Image Pro Plus* com vista a estimar os parâmetros morfológicos dos agregados microbianos. Este procedimento é descrito na *Seção* 3.3.1.

De igual forma, foi realizado o teste de sedimentabilidade para estimação do IVL e foi medida a turbidez do efluente tratado após 30 minutos de sedimentação.

Coordenadas Experimentais do Reator Batelada Sequencial:

Após o período de aclimatação foram realizados os experimentos cinéticos empregando o mesmo sistema experimental. As estratégias empregadas durante os experimentos cinéticos consistiram na operação do reator batelada seqüencial, trabalhando com volume útil de 15 L, a 25°C e contendo um inóculo de aproximadamente 5 L. O reator foi operado em dois ciclos diferentes, num total de 360 minutos cada. Foi empregada a estratégia linear otimizada por Souza (2000) tendo 260 minutos em condição aeróbia e, no mínimo, 100 minutos em ambiente anóxico, sendo alimentado durante todo o ciclo (360 minutos) a uma taxa variável entre 1 e 3 L.h⁻¹. Adicionalmente, a estratégia com pulsos lineares adotada por Coelho (2000) também foi estudada, com alternância a cada 30 minutos da condição aeróbica e anóxica, bem como alternância nos 210 minutos iniciais de alimentação, na mesma taxa variável entre 1 e 3 L.h⁻¹. Nos 150 minutos finais não ocorreu alimentação. As estratégias de operação estão mostradas na **Tabela 3.1**.

Aquisição de dados on-line:

Os experimentos cinéticos foram monitorados por um controlador multi-loop (CD-600, Smar) tendo como variáveis de processo o pH (modelo MPH-BN, Actron), oxigênio dissolvido (modelo OXY300, Danfoss), potencial de óxido-redução (modelo MOR-BN, Actron) e nível (Smar). Como mencionado anteriormente, o *software* de controle supervisório comercial (FIX-DMACS MMI versão 6.2, *Intellution Inc.*) foi empregado para obtenção de dados em tempo real e visualização das variáveis. A **Figura 3.2** apresenta a tela de interface do *software* enquanto a **Figura 3.3** mostra um gráfico de tendências com as séries históricas das variáveis monitoradas.

Tabela 3.1 - Descrição das Estratégias de Enchimento utilizadas no Experimento com o Reator em Batelada Seqüêncial.

Estratégia Linear				Estratégia Pulsante			
T(min)	Amostra	Aeração.	Alimentação	T (min)	Amostra	Aeração.	Alimentação.
					Alim		
0	AM1	+	+	0	AM1	+	+
30	AM2	+	+	30	AM2	-	-
60	AM3	+	+	60	AM3	+	+
90	AM4	+	+	90	AM4	-	-
120	AM5	+	+	120	AM5	+	+
150	AM6	+	+	150	AM6	-	-
180	AM7	+	+	180	AM7	+	+
210	AM8	+	+	210	AM8	+	-
240	AM9	+	+	240	AM9	+	-
260	AM10	-	-	260	AM10	+	-
280	AM11	-	-	280	AM11	-	-
300	AM12	-	-	300	AM12	-	-
320	AM13	-	-	320	AM13	-	-
340	AM14	-	-	340	AM14	-	-
360	AM15	-	-	360	AM15	-	-

^{.+ →} corrente está ligada.

fim da fase aerada.

^{.- →} corrente está desligada

Análises off line:

Durante todos os experimentos foram realizadas análises de quantificação de íons amônio, nitrato (eletrodos íons seletivos), demanda química de oxigênio (método refluxo fechado), fosfato, fenol, sólidos suspensos voláteis (gravimetria). As amostras foram previamente tratadas por centrifugação para a separação dos sólidos.

Para a estimação dos parâmetros morfológicos dos flocos (Área, Área de Polígono, Perímetro, Diâmetro Equivalente, Relação de Aspecto, Número de Poros, Área de Poros, Razão de Áreas Poros-Floco, Percentagem de Área, Porosidade, Compacidade, Convexidade, Esfericidade, Dimensão Fratal de Superfície), os quais são adicionalmente descritos na Seção 3.4, foi utilizado o software comercial de processamento e análise digital de imagens Image-Pro Plus.® v.4.5 (Media Cybernetics, Inc.). Finalmente, os dados obtidos após o processamento digital das imagens foram processados pela técnica estatística multivariável de Mínimos Quadrados para obtenção das correlações entre os parâmetros morfológicos, assim como as correlações entre estes e o IVL, usando o software comercial Statistica versão 6.0 (StatSoft, Inc., 2001).

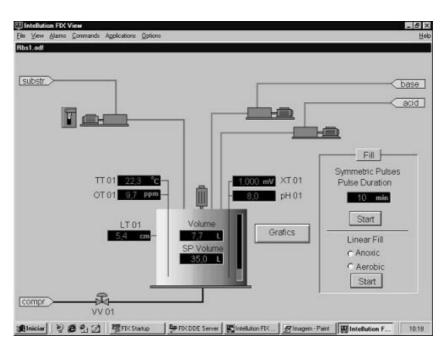


Figura 3.2 – Controle Supervisório – Tela de Operação do Processo

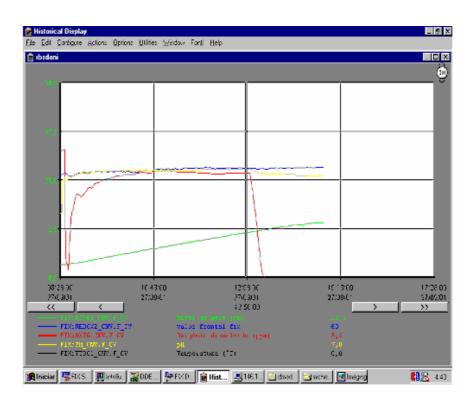


Figura 3.3 - Gráfico de Tendências do Processo em Tempo Real.

3.1.1.3 Aquisição e processamento das imagens do lodo ativado

A aquisição das imagens dos flocos de lodo ativado foi efetuada através da técnica de microscopia em campo claro com o auxílio de um microscópio fotônico (*Nikon Eclipse 200*), empregando-se um aumento total de 100 vezes para a visualização adequada dos agregados microbianos e mantendo-se constante a iluminação do sistema para todas as amostras. O microscópio foi equipado com uma câmera CCD com resolução de 3,34 MegaPixels (*Nikon Coolpix 990*) provida de um cartão de memória removível, sendo a captura das imagens realizada por uma matriz RGB com dimensões 2048 x 1536 pixels de 24 bit (16 milhões de cores aproximadamente).

Previamente à aquisição das imagens digitais, foram coletados volumes do licor de lodo ativado, mantendo-se um período de tempo máximo entre a coleta e aquisição das imagens de 30 minutos.

Estudos preliminares para a aquisição das imagens digitais dos flocos de lodo ativado

Inicialmente, foi realizado um estudo preliminar para determinar as condições de preparação das amostras de licor misto para a aquisição das imagens digitais dos flocos microbianos assim como verificar os efeitos da diluição da amostra no tamanho e outras propriedades morfológicas dos flocos de lodo ativado. Para tal, foram preparadas amostras do licor sem diluir e do licor diluído com o próprio sobrenadante nas proporções 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 e 1:5.

Outro aspecto importante avaliado preliminarmente foi o número de imagens que deveriam ser adquiridas para obter o número mínimo de flocos que garantisse resultados estatisticamente significativos. Para este estudo, foi adquirido um total de 70 imagens dos flocos microbianos do licor misto presente na unidade experimental. Estas imagens foram processadas aleatoriamente até obter 600 flocos aproximadamente. Nesta análise foram consideradas as medições correspondentes aos parâmetros *Convexidade*, *Compacidade* e *Esfericidade*.

Para visualização e aquisição das imagens, uma gota de amostra de "licor misto" foi depositada cuidadosamente em uma lâmina com o auxílio de uma pipeta Pasteur, previamente adaptada com vista a evitar deformações na estrutura original dos flocos microbianos. A seguir, a lâmina foi coberta com lamínula de dimensão (24 x 32 mm) e espessura 0,17 mm. A dimensão da unidade métrica utilizada (μm) foi calibrada ao número de pixels correspondente com ajuda de uma lâmina micrométrica. A **Figura 3.4** ilustra o sistema de aquisição empregado.

As imagens digitais adquiridas foram salvas em formato JEPG no cartão removível de memória e transferidas para o computador com o auxílio de um *driver* de leitura conectado a este, o qual transfere a representação digital das imagens para o conversor analógico-digital instalado no computador que faz a leitura do sinal magnético do cartão e armazena a representação digital em uma matriz na forma de pixels no computador.

A estação de trabalho para efetuar a análise e o processamento das imagens digitais foi um microprocessador *Pentium III*[®] com velocidade de processamento de 700 MHz e 128 MB de Memória de Acesso Randômico. As imagens digitais dos flocos de lodo ativado foram analisadas e processadas através do software comercial de processamento digital de imagens *Image-Pro®Plus·*versão 4.5 (*Media Cybernetics Inc.*).



Figura 3.4 – Sistema de aquisição das imagens digitais dos flocos de lodo ativado

3.1.2. Identificação de protozoários ciliados

Este estudo teve como objetivo central a identificação e a classificação dos protozoários e metazoários presentes em diferentes ETEs através de um procedimento semi-automático de análise digital de imagens. Este procedimento foi previamente desenvolvido em ambiente Visilog (Noesis, S.A., les Ulis) e adaptado ao ambiente Matlab (The MathWorks, Inc. Natick) para estimar os parâmetros morfológicos do corpo e das estruturas externas dos organismos estudados: Área, Perímetro, Comprimento, Fator de Forma, Convexidade, Compacidade, Esfericidade, Orientação, Solidez, Excentricidade, Forma de Feret, Robustez, Maior Concavidade, Razão de Concavidade, Largura, Largura Média, Razão de Larguras (W_{BA}W_B), Dimensão Fractal de Massa (D_{BM}) , Dimensão Fractal de Superfície (D_{BS}) , Dimensão Fractal da Área vs. Perímetro (D_{AvP}) , Dimensão Fractal da Razão das Massas (D_{MR}) , Dimensão Fractal do Mapa de Distância Euclidiano (D_{EDM}), Existência de cílios, Existência de Pedúnculo, Largura do Pedúnculo, Razão de Larguras Pedúnculo-Corpo (W_SW_{BA}), Existência de Tentáculos e Existência de Flagelo. Todos os parâmetros citados são detalhados posteriormente no APÊNDICE A. Uma vez obtidos os parâmetros morfológicos, os mesmos foram utilizados para efetuar o reconhecimento e classificação de cada grupo de protozoários e metazoários através da aplicação das técnicas estatísticas de análise multivariável: Análise Discriminante (AD) e Redes Neurais (RN).

3.1.2.1 Metodologia experimental para a identificação dos ciliados típicos do lodo ativado

O trabalho experimental para a obtenção do procedimento computacional para identificação dos grupos de protozoários e metazoários por análise de imagens foi desenvolvido no Laboratório de Imagem do Departamento de Engenharia Biológica – Universidade de Minho, Braga – Portugal.

Os protozoários e metazoários incluídos neste estudo foram coletados nos tanques de aeração de várias ETEs da região norte de Portugal, as quais tratam principalmente esgotos domésticos, e ETE de Nancy (Maxéville, França). A ETE de Nancy trata esgotos domésticos com uma vazão de afluente de 100,000 m³.dia⁻¹, DQO de 260 mg.L⁻¹ e DBO de 120 mg.L⁻¹.

3.1.2.2 Aquisição e processamento das imagens dos protozoários e metazoários

A maior parte das imagens utilizadas nesta etapa foi adquirida durante o trabalho experimental correspondente às Teses de Doutorado de Maurício da Motta e Luís António Pereira do Amaral e são completamente detalhadas em da MOTTA (2001) e AMARAL (2003).

A aquisição das imagens dos protozoários e metazoários em Nancy foi realizada pela visualização das amostras em campo claro usando um microscópio ótico *Leitz Dialux 20* (Leitz, Wetzlar) acoplado a uma câmera de vídeo em escala de cinza *Hitachi CCTV HV-720E(F)* (*Hitachi, Tokyo*). A captura das imagens foi realizada em uma matriz RGB com dimensões 768 x 576 pixels de 8 bit (256 cores) via um dispositivo de transferência *Matrox Meteor* (*Matrox, Montreal*) usando o *software* comercial *Visilog* (*Noesis S.A., Les Ulis*).

A aquisição das imagens dos protozoários e metazoários em Braga foi realizada através da visualização das amostras em campo claro empregando um microscópio ótico *Zeiss Axioscop* (Zeiss, Oberkochen) acoplado a uma câmera de vídeo CCD em escala de cinza *Sony* (*Sony, Tokyo*) a qual está conectada ao PC via um dispositivo de transferência *Data Translation DT 3155* (*Data Translation, Marlboro*), para efetuar a leitura do sinal de voltagem analógico da câmera e armazenar a representação digital em uma matriz de 768 x 576 pixels de 8-bit (256 níveis de cinza) no computador. Esta representação digital foi então exibida na tela do computador usando o software *Image-Pro® Plus* (*Media Cybernetics, Silver Spring*).

Um grupo menor de imagens de protozoários foi adquirido durante o presente trabalho usando um sistema de aquisição que constou de um microscópio ótico Leitz (*LABORLUX S*) acoplado a uma câmera de vídeo CCD *Carl Zeiss* (*Axion Cam HR*). A aquisição das imagens foi realizada em uma matriz RGB com dimensões 1300 x 1030 pixels de 8 bit (256 cores) através do software comercial de aquisição *Axion Vision* v 3.1. O sistema de aquisição utilizado é ilustrado na **Figura 3.5**.



Figura 3.5 – Sistema de aquisição de imagens dos protozoários e metazoários

As amostras foram coletadas nos tanques de aeração das ETEs citadas anteriormente e em todos os casos o período máximo entre a coleta das amostras e a aquisição das imagens não excedeu 3 horas, garantindo que as amostras não estivessem sem aeração por um período menor que 30 minutos.

Após a retirada das amostras do licor misto da unidade experimental, 20 μL das mesmas foram cuidadosamente depositados em uma lâmina e coberta com lamínula para visualização e aquisição das imagens em microscopia de contraste de fase. Foram incluídos no estudo um total de 23 grupos de protozoários e metazoários com aumento total para a visualização e aquisição das imagens de cada grupo do tamanho dos especimens. Estes grupos são listados a seguir, mostrando entre parêntese os aumentos utilizados: *Aelosoma* sp (25 e 100 vezes); *Nematoda* (100 e 250 vezes); *Digononta, Monogonta, Arcella* sp. e *Euglypha* sp. (250 e 400 vezes); *A. cicada, Carchesium* sp., *Epistylis* sp., *Euplotes* sp. *Litonotus* sp., *Coleps* sp., *Opercularia* sp., *Peranema* sp., *Suctoria, Trachellophyllum* sp., *Trithigmostoma* sp., *Trochilia* sp. *V. aquadulcis, V. microstoma, Vorticella* sp. e *Zoothamnium* sp. (400 vezes). As dimensões de unidade métrica, em μm, foram correlacionadas com o número de pixels correspondentes usando uma lâmina micrométrica.

Dentre os grupos avaliados foram adicionalmente analisadas duas espécies de *Epistylis*, e *Trachellophylum*. Ainda foi incluído um grupo de microrganismos com caracteristicas similares aos gêneros *Epystilis* sp. e *Opercularia* sp. pois quando estes organismos ocorrem com o aparelho bucal fechado não é possivel distinguir a que grupo pertencem. De igual forma foram analisadas as conformações frontal e lateral de *Arcella* sp., *Aspidisca cicada* e *Trithigmostoma* sp.

O processamento e análise das imagens dos protozoários e metazoários foi realizado por meio de programa previamente desenvolvido em ambiente Visilog (*Noesis, S.A., les Ulis*) e adaptado ao ambiente *Matlab* versão 7.0 (*The MathWorks, Inc.Natick*), procedimento este denominado *Protorec* o qual é detalhado posteriormente na Seção 3.3. A estação de trabalho empregada foi um microprocessador *Celeron M*[®] com velocidade de processamento de 1400 MHz e 512 MB de Memória de Aceso Randômico.

3.2. MÉTODOS ANALÍTICOS

3.2.1. Análises off-line para determinação da eficiência de remoção

As análises *off-line* do sistema RBS (nitrogênio amoniacal, nitrato, matéria orgânica e biomassa) foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1992). Excetuando-se a determinação da biomassa, todas as amostras foram centrifugadas a 3000 g e filtradas para posterior análise, sendo ainda conservadas sob refrigeração.

3.2.1.1 Determinação de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)

A concentração da biomassa total foi determinada por método gravimétrico padrão (Sólidos Voláteis Suspensos (SSV) - procedimento nº 2540B, *Standard Methods*) nos tempos inicial, final da etapa de enchimento e final do tempo total de batelada, sempre em duplicata.

3.2.1.2 Determinação de nitrogênio amoniacal e nitrato

As análises de nitrogênio amoniacal (sensor íon-seletivo, Orion modelo 95-12) e nitrato (sensor íon-seletivo, Denver), empregadas no acompanhamento cinético do processo, foram realizadas em duplicata (procedimento 4500F e 4500D - *Standard Methods*, respectivamente) e apresentaram curvas típicas de calibração, usando soluções padrão de cloreto de amônio para o eletrodo de nitrogênio amoniacal e de nitrato de sódio para o eletrodo de nitrato, em diferentes concentrações.

3.2.1.3 Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A concentração de matéria orgânica foi determinada através da Demanda Química de Oxigênio (DQO), seguindo o método colorimétrico e leitura de absorvância (600 nm) no espectrofotômetro (DR2000, HACH) - procedimento 5220B (*Standard Methods*), realizada em triplicata.

3.2.1.4 Determinação do teor de fenol

Esta análise foi feita baseado no procedimento 5530 D descrito no manual *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1992) e modificado por Silva (2002). A determinação é efetuada adicionando a um volume de amostra de 5 mL, 0,125 mL de NaOH seguido de ajuste do pH da amostra para 7,9 usando uma solução tampão de fosfato. Posteriormente, são adicionados 50 μL de 4-aminoantipirina e 50 μL de ferricianeto, aguardando 15minutos para, finalmente, efetuar a leitura de absorvância a 500 nm em espectrofotômetro DR4000 UV (HACH).

3.2.1.5 Determinação do Índice Volumétrico do Lodo (IVL)

As propriedades de sedimentabilidade do lodo foram determinadas através do cálculo do *Índice Volumétrico do Lodo (IVL)*. Esta determinação é realizada de acordo com a metodologia n° 2710 D descrita no *Standard Methods* (1992) e estimada usando a expressão:

$$IVL = \frac{h_{30}}{h_0 SST} \tag{3.1}$$

onde h_0 é a Altura do Lodo Sedimentado no tempo inicial de sedimentação (t=0) e h_{30} é a Altura do Lodo Sedimentado após 30 minutos de sedimentação $(t=30 \ min)$ e SST são os Sólidos Totais em Suspensão

3.2.1.6 Ìndice Volumétrico do Lodo Diluído (IVL_D)

Para o licor misto altamente concentrado ($h_{30}/h_0 > 0.25$ ou $h_{30} > 200$ mL) é utilizado o Índice Volumétrico do Lodo diluído:

$$IVL_D = \frac{h_{30}^D}{h_0^D \, STS} \, f_{Dil} \tag{3.2}$$

onde h_0^D é a *Altura do Lodo Sedimentado Diluído* no início da sedimentação (t = 0), h_{30}^D éa *Altura do Lodo Sedimentado Diluído* após 30 minutos de sedimentação (t = 30 min) e f_{Dil} é o Fator de Diluição.

3.2.1.7 Determinação da turbidez do sobrenadante

A turbidez do sobrenadante foi determinada empregando o procedimento nº 2130B detalhado no manual do espectrofotômetro DR4000 UV (*HACH*) (*Standard Methods*).

A turbidez especifica do sobrenadante também foi estimada como a relação entre a turbidez do sobrenadante e a concentração de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV).

3.2.2. Determinação dos Polímeros Microbianos Extracelulares

3.2.2.1 Extração dos Polímeros Microbianos Extracelulares (PECs)

Os PECs foram extraídos das amostras de licor misto empregando o procedimento descrito por LIU & FANG (2002) com modificações, o qual consta das seguintes etapas:

- 10 mL de licor misto são centrifugados a 3.000 g por 15 minutos, lavados e ressuspensos em 10 mL de solução tampão fosfato 0,1 M (pH = 7,0).
- são adicionados 0,06 mL de formaldeído (36,5%) e a amostra é mantida em refrigeração (4°C) por 1 hora.
- são adicionados 4 mL de NaOH 1N e a amostra é mantida novamente em refrigeração (4°C) por 3 horas.
- finalmente, os PEC extraídos são coletados por centrifugação durante 15 minutos a 3.000 g e filtração do sobrenadante obtido empregando membrana de éster de celulose (Millipore) de 0,22 μm. O sobrenadante contendo os PECs extraídos é armazenado a -4°C.

As extrações dos PEC foram realizadas em duplicata.

3.2.2.2 Determinação de polissacarídeos

O conteúdo de polissacarídeos presentes nos PECs foi medido pelo método de DUBOIS *et al.* (1956).

3.2.2.3 Determinação de proteínas

O conteúdo de proteínas presentes nos PECs foi determinado pelo método de LOWRY (1951).

3.3. PROCESSAMENTO DE IMAGEM

3.3.1. Processamento das imagens dos flocos de lodo ativado

As imagens dos flocos de lodo ativado, adquiridas a partir das amostras coletadas do RBS e das ETEs em estudo foram analisadas através do procedimento desenvolvido usando as ferramentas disponíveis no *software* comercial *Image-Pro Plus*.[®] v.4.5 (*Media Cybernetics*, *Inc.*).

As etapas principais do procedimento são:

- Pré-tratamento
- Segmentação
- Pós-tratamento das imagens binárias dos flocos e poros
- Determinação dos parâmetros morfológicos
- Registro
- 1. A aquisição da imagem RGB é realizada em formato JPEG com 16 milhões de cores aproximadamente (24 bit).
 - 2. As imagens RGB são convertidas à escala de cinza (256 tons).

• Pré-Tratamento

A primeira etapa do procedimento de tratamento e análise das imagens digitais dos flocos de lodo ativado consiste em melhorar a imagem em escala de cinza. Nesta etapa é utilizada uma imagem de fundo para eliminar as diferenças de iluminação da imagem original, seguido da operação de equalização do histograma da imagem para aumentar o contraste dos contornos e dos poros dos agregados. Finalmente, a imagem é tratada usando um filtro de mediana a fim de diminuir as diferenças entre os níveis de cinza dos pixels vizinhos, eliminando assim o ruído oriundo da etapa de aquisição. Esta etapa consta das seguintes operações:

3. Subtração da imagem de fundo

Esta operação é feita com o objetivo de uniformizar diferenças de valores dos pixels devidas à não uniformidade da iluminação. O procedimento também permite evidenciar os objetos presentes na imagem. A imagem de fundo foi obtida pela visualização da lâmina sem amostra.

4. Equalização do histograma da imagem

É feita a equalização do histograma da imagem com vista a aumentar seu contraste

5. Filtro de mediana

Emprego do filtro não-linear de mediana tamanho de caixa 3x3 para suavizar a mesma e eliminar ruídos provenientes da etapa de aquisição e da operação anterior de equalização. O filtro de mediana é um filtro não-linear que substitui o valor do pixel central pela mediana dos valores que se encontram na caixa definida à sua volta (RUSS, 1995).

• Segmentação

Esta etapa consiste, basicamente, da segmentação dos agregados pela técnica de *Thresholding*. Após esta etapa, a imagem em escala de cinza é transformada em uma imagem binária (objetos – 1, fundo – 0). A seguir, é realizado o processamento morfológico da imagem binária resultante, permitindo assim o melhoramento da segmentação. As operações envolvidas nesta etapa são descritas a seguir:

6. Segmentação

Segmentação dos flocos pela técnica de *Thresholding*. Para tal é feita a escolha manual do valor de *Threshold* ótimo, aplicando o algoritmo do triângulo sobre o histograma da imagem. Esta técnica, desenvolvida por ROSIN & PAUL *et al.* (2000), consiste em traçar uma linha reta entre os valores de cinza máximo e mínimo no histograma da imagem e encontrar o valor de intensidade θ que fornece a máxima distância (d) entre a linha traçada e o histograma, conforme mostrado na **Figura 3.6**, sendo este nível de cinza (b₀) o valor de *Threshold* a ser selecionado para segmentar a imagem.

7. Binarização

É efetuada a partir do valor de *Threshold* em que os objetos adquirem valor 1 e o fundo valor 0.

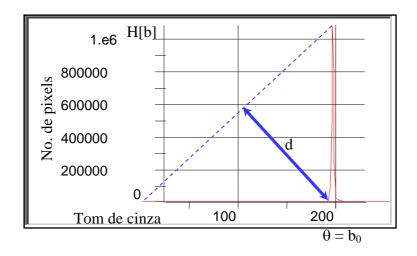


Figura 3.6 – Técnica de *Thresholding* utilizada para segmentar as imagens dos flocos.

• Pós-tratamento das imagens binárias dos flocos e poros

O objetivo principal desta etapa reside em melhorar as imagens binárias dos flocos e poros. Em uma primeira fase são aplicadas as operações morfológicas de dilatação e fechamento seguido do enchimento de zonas interiores dos flocos e eliminação de resíduos (debris). Na segunda fase desta etapa é obtida a imagem binária dos poros contidos nos flocos aplicando o operador booleano XOR às imagens binárias obtidas antes e após o enchimento. A seguir, a imagem binária dos poros é tratada para eliminar o ruído (debris) empregando as operações de abertura e erosão. Uma vez melhorada a imagem dos poros, emprega-se novamente o operador booleano XOR para conjugar as imagens dos flocos e poros obtendo-se a imagem binária final contendo os flocos e seus poros melhorados. As operações utilizadas nesta etapa são detalhadas a seguir:

8. Dilatação (ordem 2)

A operação de dilatação de segunda ordem é aplicada sobre a imagem resultante do ponto 7 empregando um elemento estruturante de tamanho 3x3.

9. Fechamento (ordem 2)

A operação de fechamento é realizada sobre a imagem resultante do ponto 8. A operação morfológica de fechamento consiste de uma dilatação seguida de uma erosão. A ordem define o número de vezes que estas operações são aplicadas na imagem (GONZÁLEZ &WOOD, 1992).

10. Enchimento dos objetos

No *software Image-Pro Plus* foi utilizada a opção *Fill Holes* para o preenchimento completo dos objetos. Esta opção encontra-se no menu de opções da janela de medições (*Measures*) do *software*. Neste passo também são eliminados os objetos menores que 0,1% do tamanho da imagem, o ruído (*debris*) presente na imagem, e os objetos em contato com as extremidades da imagem através da opção *clean borders*.

11. Erosão (ordem 2)

É aplicada a operação de erosão de segunda ordem à imagem resultante do ponto 10, com tamanho do elemento estruturante 3x3.

12. Aplicação do operador booleano XOR

A operação lógica XOR é aplicada à imagem resultante dos pontos 7 e 10, para separar os poros dos flocos. Esta operação tem o seguinte significado: "ou um ou outro, mas não os dois", ou seja, retém os pixels com valor 1 que estão presentes em uma imagem ou na outra, mas não nas duas. Deste modo, quando aplicada na imagem resultante do ponto 10 e na imagem binária do ponto 7, obtém-se uma imagem que possui apenas os poros contidos nos flocos de lodo ativado.

13. Abertura (ordem 1)

É aplicada a operação de abertura a imagem resultante do ponto 12. Esta operação consiste de uma erosão seguida de uma dilatação.

14. Erosão (ordem 1)

É efetuada uma erosão de primeira ordem na imagem resultante do ponto 13 com elemento estruturante de tamanho 3x3.

15. Conjugação de imagens

O operador booleano XOR é aplicado novamente com vista a conjugar a última imagem e a imagem resultante do ponto 11, obtendo-se uma imagem final com contornos e poros melhorados.

• Determinação dos parâmetros morfológicos

16. Identificação e Contagem dos flocos microbianos

Após o tratamento das imagens dos flocos, procedeu-se à etapa de análise da imagem propriamente dita, na qual se efetua a identificação e contagem dos flocos microbianos e o cálculo dos seguintes parâmetros morfológicos: Área, Área de Polígono, Perímetro, Diâmetro Equivalente, Relação de Aspecto, Número de Poros, Área de Poros, Razão de Áreas Poros-Floco, Percentagem de Área, Porosidade, Compacidade, Convexidade, Esfericidade, Dimensão Fratal de Superfície. Estes parâmetros são descritos no APÊNDICE A.

17. Registro

A última etapa do procedimento reside em salvar os parâmetros morfológicos estimados na etapa anterior em formato *.xls.

As **Figuras 3.7** e **3.8** resumem as etapas principais deste procedimento.

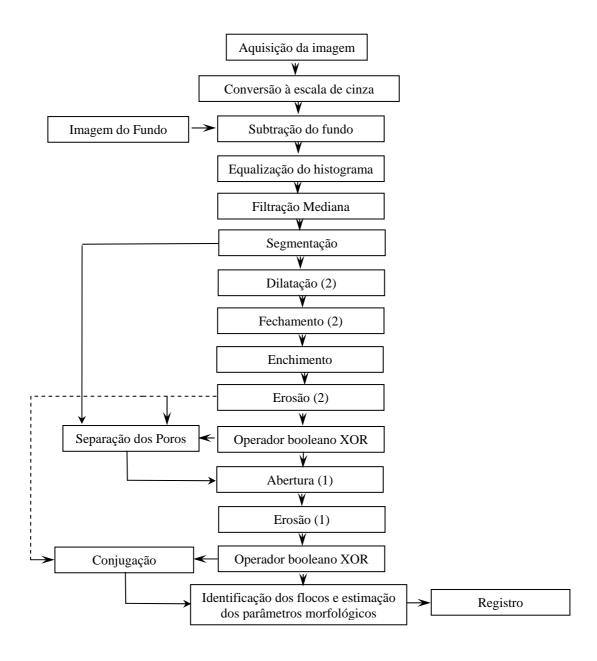


Figura 3.7 – Representação esquemática do procedimento de processamento e análise das imagens dos flocos de lodo ativado.

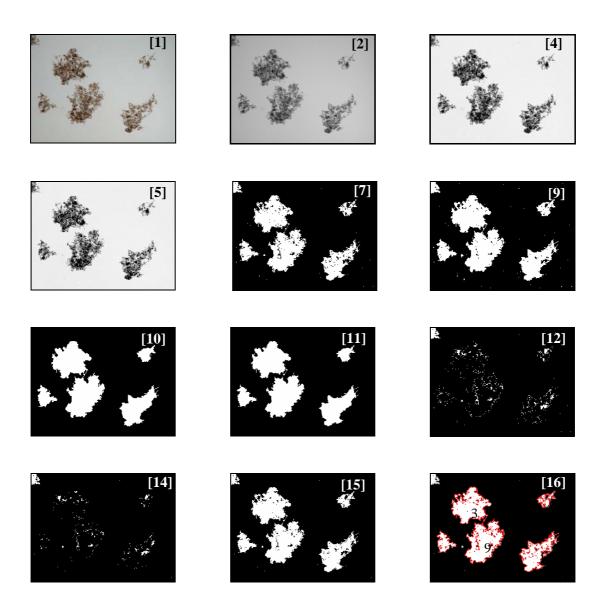


Figura 3.8 – Imagens resultantes dos passos principais do procedimento de processamento e análise das imagens dos flocos de lodo ativado. (Os números em colchetes referem-se ao número do passo)

3.3.2. Processamento das imagens dos protozoários e metazoários

O *software* desenvolvido neste trabalho, *ProtoRec* v.4, foi adaptado do programa elaborado previamente por AMARAL (2003) e programado em *Matlab* (*The MathWorks Inc., Natick*) por um esforço conjunto do grupo do Departamento de Engenharia Biológica da Universidade do Minho liderado pelo Prof. Dr. Eugénio C. Ferreira e do grupo do Laboratório de Engenharia de Sistemas Biológicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro liderado pela Profa. Dra. Maria Alice Zarur Coelho.

O programa consiste de duas sub-rotinas que podem ser aplicadas juntas ou separadamente. A primeira sub-rotina (*Protozoa.m*) é um programa semi-automático para obter as imagens binárias dos protozoários e metazoários a partir das imagens originais em escala de cinza (256 tons). A interface desta sub-rotina é mostrada na **Figura 3.9** onde pode ser observado o menu principal com 3 opções: *Imagem, Avanço, Tratamento*. A opção *Imagem* permite ao usuário abrir e fechar o programa. Entretanto, a opção *Avanço* permite selecionar o modo de tratamento das imagens contidas em um arquivo, o qual pode ser feito em série ou Imagem a Imagem. A opção *Tratamento* dá a possibilidade ao usuário de escolher o método de segmentação a ser utilizado para obter as imagens binárias dos protozoários e metazoários.

A segunda sub-rotina (*Protozoa_param.m*), cuja interface aparece na **Figura 3.10**, é um programa automático de análise de imagem para estimar e salvar os parâmetros morfológicos dos protozoários e metazoários. Esta sub-rotina possui no menu principal as opções de *Calibração* e definição do tipo de organismo *Séssil/Não-Séssil*, além das opções *Imagem* e *Avanço* descritas anteriormente.



Figura 3.9 – Programa de processamento das imagens digitais *Protozoa.m.*



Figura 3.10 – Programa de análise das imagens digitais *Protozoa-param.m.*

Estes programas têm como etapas principais as seguintes:

- Pré-Tratamento
- Definição da Região de Interesse do Objeto (RIO)
- Segmentação
- Pós-tratamento
- Determinação dos parâmetros morfológicos
- Registro

• Pré-Tratamento

A primeira etapa do programa *ProtoRec* consiste em melhorar a imagem original em escala de cinza (256 tons). Para tal, a imagem é inicialmente submetida a uma equalização do histograma para aumentar o contraste da imagem sendo subseqüentemente tratada com um filtro de mediana para suavizar o ruído presente na imagem. Finalmente, é aplicado um filtro *bottom hat* seguido de uma operação de subtração aplicada à imagem resultante, o que permite obter um fundo mais claro que facilita a posterior etapa de segmentação.

1. Aquisição de imagem

A aquisição das imagens é realizada em formato com 256 níveis de cinza (8 bit)

2. Equalização do histograma

Para aumentar o contraste da imagem foi utilizada a Equalização Adaptativa do Histograma de Contraste Limitado (EAHCL) que, diferente da operação de Equalização de Histograma, opera em pequenas regiões de dados, e não na imagem completa. O contraste de cada região é melhorado de forma que o histograma da região resultante se adapta à função de transformação de contraste especificada (exponencial, uniforme, "rayleigh"). Neste caso foi fixada a distribuição uniforme como função de transformação de contraste. Os pixels vizinhos são, então, combinados usando interpolação bilinear com vista a eliminar os contornos induzidos artificialmente. Neste tipo de equalização também é possível limitar o contraste, especialmente nas áreas homogêneas, para eliminar a amplificação do ruído presente na

imagem. Neste trabalho foi utilizado um fator de contraste igual a 0,1 para prevenir a sobresaturação da imagem.

3. Filtração mediana

Foi realizado um tratamento da imagem com um filtro de mediana de tamanho de caixa 3x3 para suavizar a imagem. Como mencionado anteriormente o filtro de mediana é um filtro não-linear que substitui o valor de cada pixel pelo valor da mediana dos pixels de uma caixa pré-definida a sua volta. (RUSS, 1995)

4. Filtração com filtro Bottom hat

O filtro *Bottom hat* é empregado com o objetivo de melhorar o contraste da imagem. Para aplicar este filtro usa-se um elemento estruturante que, neste caso, teve a forma de elipsóide.

5. Operação de Subtração

Neste passo a imagem resultante do ponto 4 foi subtraída do escalar 1, de forma a clarear o fundo da imagem e facilitar, assim, a etapa de segmentação posterior.

• Identificação da Região de Interesse do Objeto (RIO)

Esta etapa consiste na definição de uma Região de Interesse onde se encontra contido o protozoário ou metazoário (RIO). O primeiro passo desta etapa é a definição de um polígono desenhado pelo usuário sobre a imagem pré-tratada obtendo-se uma imagem binária, que é utilizada como máscara para obter uma imagem contendo a região de interesse em escala de cinza e fundo preto. O segundo passo consiste em obter uma imagem com a região de interesse em escala de cinza e fundo branco, resultante da inversão da imagem binária, obtida após a definição do polígono, seguida da adição da imagem com a RIO em escala de cinza e fundo preto. Os passos envolvidos nesta etapa são detalhados a seguir:

6. Identificação da RIO

O usuário seleciona, com ajuda do *mouse*, a região da imagem onde está localizado o protozoário ou metazoário, como ilustrado na **Figura 3.11**. Como resultado obtém-se uma imagem binária com a RIO em branco e o resto da imagem em preto.

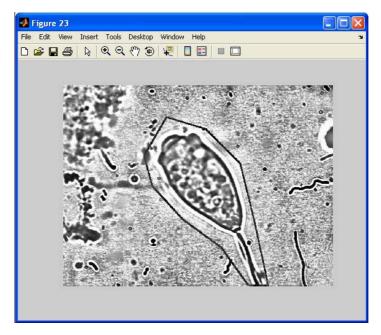


Figura 3.11 – Seleção manual da RIO

7. Obtenção da máscara

A imagem binária obtida no ponto 6 é então utilizada como máscara na imagem resultante do ponto 5. Esta técnica consiste na multiplicação pixel a pixel da imagem em escala de cinza, vezes pela imagem binária denominada imagem Máscara. Apenas os pixels na imagem original que correspondem aos pixels brancos na imagem máscara retêm seus valores enquanto que o resto dos pixels da imagem se tornam 0 (RUSS, 1995).

8. Inversão da imagem Máscara

A inversa de uma imagem é outra imagem onde cada pixel assume o valor inverso em relação aos valores extremos da imagem.

9. Adição de Imagens

Adição pixel a pixel da última imagem e da imagem resultante do ponto 7.

• Segmentação

Esta etapa consiste na segmentação dos contornos dos protozoários e metazoários usando um dado valor de *threshold*. Uma vez aplicado o valor de *threshold* em que a imagem de 256 tons de cinza é convertida à imagem binária (objetos – 1, fundo – 0) são aplicadas as operações de fechamento e enchimento de regiões para eliminar descontinuidades no contorno do objeto a fim de obter um objeto sólido. A seguir, é aplicada a operação morfológica de

abertura para remover pequenos ruídos (*debris*) na imagem. Esta etapa consta dos seguintes passos:

10. Segmentação

A segmentação é efetuada em um valor de *threshold* onde os pixels dos objetos assumem valor 1 e o fundo da imagem valor 0. As opções disponíveis neste programa são: os métodos automáticos de Otsu e de Entropia e o método manual.

No método automático de entropia, o programa encontra o valor de *threshold* que maximiza a entropia total da seguinte forma (PONS & VIVIER, 1999):

$$p_m = \frac{N_i}{N} \tag{3.3}$$

Sendo p_m a probabilidade de cada pixel ter um nível de cinza m;

Ni o número de pixels com intensidade i e N o número total de pixels.

Considerando-se o caso de segmentação em duas regiões $(w_0 e w_1)$ a probabilidade de cada pixel ter um nível de cinza igual ou menor que j ou maior que j é:

$$w_0 = \sum_{m=0}^{J} p_m {3.4}$$

$$w_1 = \sum_{m=i+1}^{255} p_m \tag{3.5}$$

A entropia total é estimada pela expressão:

$$\phi = \phi_0 + \phi_1 \tag{3.6}$$

onde ϕ_0 e ϕ_I são as entropias das regiões w_0 e w_I , respectivamente:

$$\phi_0 = \sum_{m=0}^{j} \frac{p_m}{w_0} \log \left(\frac{p_m}{w_0} \right)$$
 (3.7)

$$\phi_1 = \sum_{m=k+1}^{255} \frac{p_m}{w_1} \log \left(\frac{p_m}{w_1} \right)$$
 (3.8)

No método automático de Otsu, o programa encontra o valor de *threshold* que maximiza a variância entre as classes de pixels σ_B^2 aplicando a seguinte equação (GONZÁLEZ *et al.*, 2004):

$$\sigma_B^2 = w_0 (\mu_0 - \mu_T)^2 + w_1 (\mu_1 - \mu_T)^2$$
(3.9)

onde

$$\mu_0 = \sum_{m=0}^{j} \frac{mp_m}{w_0}$$
 (3.10)

$$\mu_T = \sum_{m=0}^{255} m p_m \tag{3.11}$$

No método manual de *threshold*, o usuário define o valor de *threshold* apropriado para segmentar a imagem.

11. Fechamento (ordem 2)

A operação morfológica de fechamento é aplicada na imagem resultante do ponto 10.

12. Enchimento da imagem

Os orifícios internos do objeto são preenchidos por uma função de enchimento

13. Abertura (ordem 3)

A operação morfológica de abertura é então aplicada a fim de remover ruídos (*debris*) de grandes dimensões.

• Determinação dos parâmetros morfológicos

A determinação dos parâmetros morfológicos dos protozoários e metazoários é feita em duas fases. Na primeira fase são estimados os parâmetros morfológicos dos organimos incluindo as estruturas externas (cirros, pedúnculos e flagelos). Na segunda fase, os parâmetros morfológicos do corpo são estimados após a remoção das estruturas externas (se encontradas). Nesta fase são recuperadas as estruturas externas dos organismos e alguns

parâmetros morfológicos são adicionalmente estimados. O processo de remoção das estruturas externas dos organismos é baseado nos seguintes passos:

a. Determinação do número máximo de erosões ERS_{Max} .

Este número pode variar no intervalo compreendido entre metade do valor máximo encontrado no mapa de distância (ou *Mapa de Distância Euclidiano*) dos protozoários e metazoários até um valor máximo de 50, estimado empiricamente (suficiente para remover estruturas externas como pedúnculo, cirros e flagelos). O *Mapa de Distância Euclidiano* (*MDE*) de uma imagem substitui o valor de cada pixel dentro do objeto pelo valor de sua distância à fronteira mais próxima do objeto, conforme ilustrado na **Figura 3.12**.

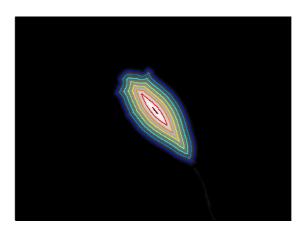


Figura 3.12 – Mapa de Distância Euclidiano do Objeto

b. Determinação do número real de erosões necessárias para remover as organelas externas através do cálculo da relação das áreas do objeto desgastado e antes da erosão, de acordo com a expressão:

$$RT_{er} = \frac{A_{er}}{A_{ant}} - \frac{(ERS_{Max} - er + 1)}{(ERS_{Max} - er)^2}$$
 (3.12)

onde *Aer* é a área do objeto após um dado número de erosões *er* e *Ant* é a área do objeto na erosão prévia.

c. Remoção das estruturas externas por erosão usando o número de erosões onde *RTer* é mínimo após o primeiro máximo local e superior a 0,0075 (estimado empiricamente) para os organismos não sésseis segundo apresentado na **Figura 3.13**.

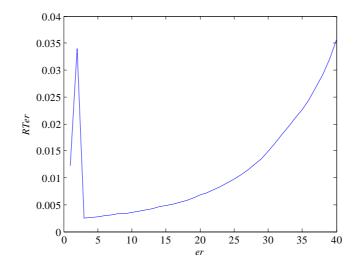


Figura 3.13 – Relação das áreas do objeto desgastado e antes da erosão (*RTer*) em função do número de erosões (*er*).

d. Recuperação das organelas externas para estimar vários parâmetros morfológicos com fins de reconhecimento dos grupos de protozoários e metazoários.

Os parâmetros morfológicos estimados neste programa são os seguintes: Área, Perímetro, Comprimento, Fator de Forma, Convexidade, Compacidade, Esfericidade, Orientação, Solidez, Excentricidade, Forma de Feret, Robustez, Maior Concavidade, Razão de Concavidade, Largura, Largura Média, Razão de Larguras (W_{BA}W_B), Dimensão Fractal de Massa (D_{BM}), Dimensão Fractal de Superfície (D_{BS}), Dimensão Fractal da Área vs. Perímetro (D_{AVP}), Dimensão Fractal da Razão das Massas (D_{MR}), Dimensão Fractal do Mapa de Distância Euclidiano (D_{EDM}), Existência de cílios, Existência de Pedúnculo, Largura do Pedúnculo, Razão de Larguras Pedúnculo-Corpo (W_SW_{BA}), Existência de Tentáculos e Existência de Flagelo. Com exceção dos parâmetros Largura do Pedúnculo e W_SW_{BA}, os demais parâmetros foram determinados para os organismos com suas estruturas externas e sem elas (apenas o corpo). Estes parâmetros são detalhados no APÊNDICE A.

• Registro

A última etapa dos programas no *ProtoRec* consiste em salvar a imagem binária final dos protozoários e metazoários bem como o arquivo com os parâmetros morfológicos estimados.

14. Registro da imagem

A imagem binária final dos protozoários e metazoários é gravada em formato TIFF com 8 bit.

15. Registro dos resultados

Os parâmetros morfológicos são gravados em arquivo de formato ASCII (*American Standard Code for Information Interchange*).

A representação esquemática do programa *ProtoRec* v.4 é apresentada na **Figura 3.14** e na **Figura 3.15** são ilustrados os principais passos do programa de processamento e análise de imagens.

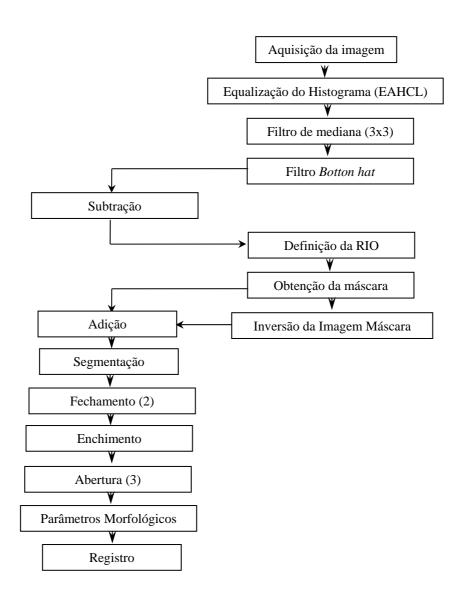


Figura 3.14 – Representação esquemática do programa ProtoRec v.4

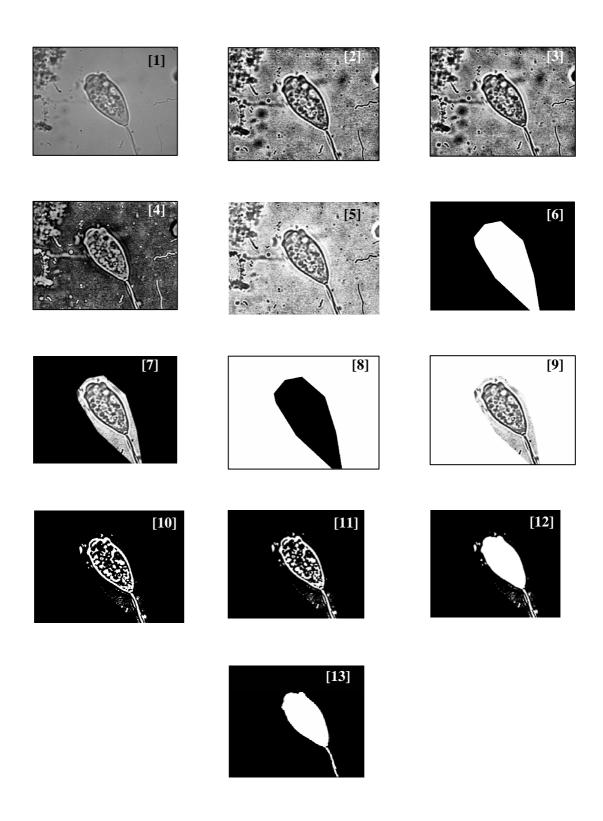


Figura 3.15 – Imagens resultantes dos passos principais do programa *ProtoRec* v.4 (os números em colchetes referem-se ao número do passo)

3.4. VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO DE PROCESSAMENTO E ANÁLISE DAS IMAGENS DOS FLOCOS DE LODO ATIVADO

O objetivo deste estudo foi a validação do procedimento desenvolvido para o processamento e análise das imagens digitais dos flocos de lodo ativado do Reator Batelada Seqüencial através do emprego de lodos ativados provenientes de duas ETE's operando em sistema contínuo: uma de esgotos domésticos e outra de efluentes de uma industria de química fina. A validação foi realizada com relação à efetividade do procedimento na identificação dos flocos microbianos e os poros/floco, bem como empregando o método de discrepância empírico aplicado a imagens sintéticas.

3.4.1. Coleta das amostras de lodo ativado

Foram coletadas amostras de lodo ativado dos tanques de aeração da ETE da Ilha do Governador e ETE da Indústria Ciba Especialidades Químicas Ltda., ambas localizadas no Rio de Janeiro, Brasil. A ETE da Ilha do Governador trata esgotos domésticos com uma vazão de influente de 33696 m³.d⁻¹, DQO de 10,8 kg.d⁻¹ e DBO de 127 mg.L⁻¹. A ETE da Ciba recebe esgotos provenientes da própria indústria com uma vazão média de 156 m³.d⁻¹, com valores médios de DQO de 428 kg.d⁻¹.

3.4.2. Validação do procedimento de Análise Digital de Imagens

3.4.2.1 Validação da efetividade do procedimento na identificação dos flocos e Poros/Floco

O procedimento desenvolvido para análise das imagens digitais foi validado de acordo com sua efetividade na identificação dos flocos microbianos e da relação poros/floco pela identificação manual e estimando o erro de identificação. Este teste foi realizado empregando as amostras de lodo avaliadas neste estudo.

3.4.2.2 Validação do procedimento de AI usando o método de discrepância empírica.

O procedimento de AI foi adicionalmente validado através do método de discrepância empírica. Este método é baseado na determinação da precisão das medições morfológicas efetuadas sobre os objetos da imagem real com relação a uma imagem de referência usando um critério de avaliação. Neste trabalho foi utilizada a *Precisão Relativa da Ultima Medição* (*PRUM*) como critério de avaliação a qual é definida como:

$$PRUM = \frac{|Ra - Sa|}{Ra} x 100\% \tag{3.13}$$

onde *Ra* denota o valor do aspecto de referência obtido da imagem de referência e *Sa* denota o valor do aspecto medido na imagem tratada.

Os valores da *PRUM* são inversamente proporcionais aos resultados do processamento de imagens, ou seja, valores menores indicam melhor qualidade do processamento digital.

Neste estudo foram utilizadas imagens sintéticas para efetuar a validação do procedimento de ADI. As imagens sintéticas (imagens teste) foram geradas baseando-se na metodologia proposta por ZHANG & GERBRANDS (1992). Dois subgrupos de imagens foram utilizados: o subgrupo Tamanho e o subgrupo Forma. Estas imagens têm dimensões similares às dimensões das imagens dos flocos microbianos (2048 x 1536 pixels), com 256 níveis de cinza. Os níveis de cinza do fundo e dos objetos foram selecionados tendo em conta os valores mais frequentes nas imagens dos flocos microbianos: 195 para o fundo e 140 para os objetos. O subgrupo Tamanho foi composto de 5 círculos com diâmetros de 200, 330, 460, 600 e 900 µm, respectivamente, sendo que estes diâmetros estão dentro do intervalo de tamanhos reais dos flocos microbianos das três amostras de lodo avaliadas neste estudo. No subgrupo Forma, a forma dos objetos variou de um círculo a uma elipse alongada com valores de excentricidade (E) de 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5, respectivamente, mantendo-se constante a área do objeto. Para tornar as imagens mais reais, um filtro passa-baixo 3x3 foi aplicado para produzir uma região de transição entre os objetos e o fundo. Para simular o efeito do ruído foi adicionado ruído gaussiano de média 0 e desvio padrão 0,02. Finalmente, para obter um efeito de borrado nas imagens foi aplicado um filtro gaussiano 11x11 e desvio padrão 2,5. A **Figura 3.16** ilustra o subgrupo Tamanho e o subgrupo Forma para o objeto de diâmetro 900 μm.

Outro grupo de imagens também foi gerado para validar a influência do procedimento de ADI no valor da Dimensão Fractal dos objetos com diferentes tamanhos. O objeto

utilizado foi o *Koch Island* cujo valor de Dimensão Fractal de Superfície é conhecido (1,5) (**Figura 3.17**). Os objetos da esquerda para a direita apresentam tamanhos (estimado como *Deq*) de 260, 400, 480 e 1070 μm. As imagens foram modificadas usando os mesmos efeitos aplicados nas imagens correspondentes aos subgrupos tamanho e forma.. Em todos os casos as medições dos parâmetros morfológicos foi efetuada 3 vezes.

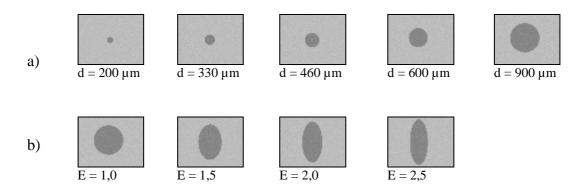


Figura 3.16 - Parte das imagens teste sintéticas: a) subgrupo Tamanho e (b) subgrupo Forma para o objeto de diâmetro 900 pixels.

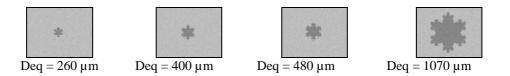


Figura 3.17 - Imagens teste sintéticas do grupo usado para avaliar a influência do procedimento sobre a dimensão fractal.

3.5. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS

3.5.1. Tratamento estatístico dos resultados da análise digital de imagens dos flocos de lodo ativado.

Os parâmetros morfológicos obtidos após o processamento e análise digital das imagens dos flocos de lodo ativado foram analisados aplicando o *software* estatístico de análise de dados *Statistica* versão 6. (*StatSoft, Inc., 2001*).

Em uma primeira etapa, o *software* foi utilizado para determinar os parâmetros estatísticos principais tais como: média, desvio padrão e variância populacional bem como as funções de distribuição de tamanho dos agregados microbianos.

Os resultados obtidos nos estudos preliminares também foram submetidos à análise estatística para verificação dos efeitos da diluição da amostra tanto no tamanho quanto em outras propriedades morfológicas dos agregados microbianos, empregando-se a técnica de análise de variância univariada (*one-way* ANOVA).

Adicionalmente, foi realizada uma análise de correlação linear univariada para identificar as principais relações entre os parâmetros morfológicos avaliados neste trabalho. Para realizar as estimações lineares entre os parâmetros morfológicos calculados, foi utilizado o coeficiente *de correlação do produto do momento*, denominado *coeficiente de Pearson (rp)*. Este coeficiente toma sempre valores entre -1 e +1, onde -1 significa uma correlação negativa perfeita e +1 uma correlação positiva perfeita, enquanto 0 indica ausência de relação. As correlações foram consideradas estatisticamente significativas ao nível de 95% de confiança (p < 0,05).

As ferramentas de análise estatística foram também aplicadas aos resultados obtidos no estudo de avaliação dos efeitos da carga de fenol sobre as propriedades morfológicas dos flocos microbianos e a sedimentabilidade do lodo ativado. Os parâmetros morfológicos calculados através da análise digital de imagens foram tratados aplicando análise de variância univariada (ANOVA) com vista a identificar o efeito significativo da carga de fenol sobre a morfologia dos agregados microbianos. De igual forma, foi utilizado o método de Mínimos Quadrados para identificar correlações entre os parâmetros morfológicos dos agregados e as condições operacionais do sistema tais como carga de fenol e sedimentabilidade.

3.5.2. Tratamento estatístico dos resultados do processamento das imagens dos protozoários e metazoários

No estudo de identificação dos protozoários e metazoários, os parâmetros morfológicos obtidos após o tratamento e análise das imagens digitais, foram tratados estatisticamente a fim de efetuar a classificação de cada espécie, para o qual foram aplicadas as técnicas estatísticas de análise multivariável tais como *Análise Discriminante* (*AD*) e *Redes Neuronais* (*RN*).

3.5.2.1 Análise Discriminante (AD)

A Análise Discriminante (AD) é utilizada para determinar as variáveis que discriminam entre dois ou mais grupos de dados. Similar à análise de fatores e à análise de componentes principais, esta técnica define novas variáveis (funções discriminantes) como combinações lineares dos parâmetros de entrada. Esta técnica aumenta a variabilidade entre as classes em vez da variabilidade dentro das classes da análise de componentes principais obtendo-se uma separabilidade maior entre as diferentes classes estudadas. Portanto, esta técnica permite modelar diferentes classes com vista à reclassificá-las com erro mínimo ou classificar novas amostras teste (EINAX et al., 1997).

Cada combinação linear constitui uma função discriminante, a qual permite classificar novos casos nos grupos em questão.

O procedimento matemático para o cálculo das funções discriminantes consiste na resolução dos autovalores γ para o quociente $B \bullet W^{-1}$, por exemplo, para determinar as raízes e os autovetores e (EINAX et al., 1997):

$$(B \bullet W^{-1}) \bullet e_i = \gamma \bullet e_i \tag{3.14}$$

onde:

$$B = \sum_{k=1}^{k_{total}} n_k (\bar{x}_k - \bar{x}) (\bar{x}_k - \bar{x})^T$$
 (3.15)

$$W = \sum_{k=1}^{k_{total}} \sum_{n=1}^{n_k} n_k \left(x_{kn} - \bar{x}_k \right) \left(x_{kn} - \bar{x}_k \right)^T$$
 (3.16)

A solução não-trivial conduz a:

$$\left| \boldsymbol{B} \bullet \boldsymbol{W}^{-1} - \boldsymbol{\gamma} \boldsymbol{I} \right| = 0 \tag{3.17}$$

Esta solução origina pares de autovalores e autovetores onde os últimos são ortogonais e os autovalores expressam a variância extraída da matriz $B \bullet W^{-1}$. O primeiro autovalor é igual à variância extraída com o primeiro autovetor, o segundo autovalor é igual à variância extraída com o segundo autovetor e assim sucessivamente, sendo a soma de todos os autovalores igual à variância em $B \bullet W^{-1}$.

As coordenadas dos objetos no novo espaço de funções discriminantes são determinadas com os parâmetros originais de cada objeto. Assumindo n_{df} funções discriminantes os novos valores n_{df} de cada objeto são dados por:

$$val_i^{df} = e_1^{df} x_{1i} + e_2^{df} x_{2i} + \dots + e_{\text{var}}^{df} x_{\text{var}i} + \dots + e_{n_{\text{var}}}^{df} x_{n_{\text{var}}i}$$
(3.18)

onde val_i^{df} é o novo valor do objeto para a função discriminante df do objeto i, e_{var}^{df} é o coeficiente da variável original var da função discriminante df e $x_{\text{var}i}$ é o valor da variável original do objeto i.

A classificação de novos objetos em uma classe é determinada pela classe na qual cai a região. Isto pode ser estimado através da expressão:

$$F_{k} = C_{2} \sum_{j=1}^{n_{df}} \left(df_{ji} - df_{j}^{k} \right)^{2}$$
(3.19)

onde df_j^k é o valor médio da função discriminante j na classe k, F_k é o valor de classificação de cada objeto na classe k e C_2 é definido como:

$$C_2 = \frac{n_{obj} - k_{total} - n_{df} + 1}{n_{df} \left(n_{obj} - k_{total} \right)} \frac{n_k}{n_k + 1}$$
(3.20)

onde ktotal é o número total de classes, nobj o número total de objetos e, nk o número de objetos da classe k.

Cada classe tem atribuído a ela uma região n_{df} dimensional. Se o valor de F_k de um objeto for menor ou igual a F(f1,f2,q) então o objeto pertence à classe k, enquanto que no caso de sobreposição de regiões, a classe com menor valor de F_k é favorecida. Os valores de F são obtidos pela tabela F de Fisher (EINAX $et\ al.$, 1997), onde:

$$f_1 = n_{df} \tag{3.21}$$

$$f_2 = n_{obj} - k_{total} - n_{df} + 1 ag{3.22}$$

Para uma probabilidade de:

$$q = 1 - a \tag{3.23}$$

Dado que a análise de fatores o novo espaço de funções discriminantes pode ter uma dimensão n_{df} menor que o número de parâmetros de entrada, considera-se na reclassificação em classes que o número necessário de funções discriminantes é (EINAX *et al.*, 1997):

$$n_{df} = \min(k_{total} - 1, n_{var}) \tag{3.24}$$

No entanto, quando são necessários todos os parâmetros de entrada para determinar as novas funções discriminantes, a *AD* não fornece uma redução de parâmetros efetiva.

3.5.2.2 Redes Neurais

As *Redes Neurais* artificiais têm-se tornado, recentemente, o foco de muita atenção, principalmente devido à sua ampla gama de aplicabilidade e à facilidade com que armazena conhecimento experimental e o torna disponível para o uso (BHAGAT, 1990).

Uma RNA é um modelo computacional inspirado em sistemas biológicos neurais teorizados, que foram desenvolvidos de modo a imitar os mecanismos de entendimento ou cognição humanos (de SOUZA Jr., 1993) e consistem de elementos de processamento (neurônios) e conexões entre eles com coeficientes associados (pesos), conforme ilustrado na **Figura 3.18**. Este conjunto denominado *estrutura neuronal*, é então treinado com ajuda de algoritmos de treino.

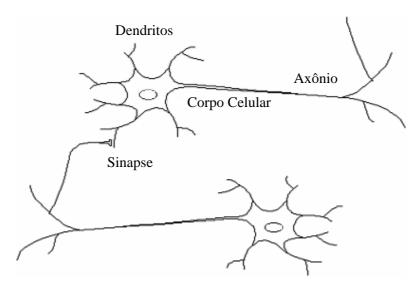


Figura 3.18 – Representação esquemática dos neurônios biológicos

Em geral, o modelo de um neurônio artificial (**Figura 3.19**) baseia-se nos seguintes parâmetros:

- Conexões de entrada (x₁, x₂,...,xₙ) → Estas entradas têm pesos (w₁, w₂,...,wₙ) associados a elas e uma entrada unitária (bias) unida a cada neurônio e com um peso associado.
- Função de entrada (f_0) \rightarrow Determina o valor do sinal de entrada líquido agregado ao neurônio como:

$$u = f(x, w) \tag{3.25}$$

A função f comumente é uma função somatória, logo:

$$u = \sum_{i=0}^{n} x_i w_i$$
 (3.26)

- Função de ativação (fa) → Determina o nível de ativação do neurônio e normalmente é uma função linear, sigmoidal ou do tipo hard-limit, conforme ilustrado na Figura 3.20.
- Função de saída (f₀) → Determina o valor do sinal de saída emitido através da saída do neurônio:

$$f_0 = f_a(u) \tag{3.27}$$

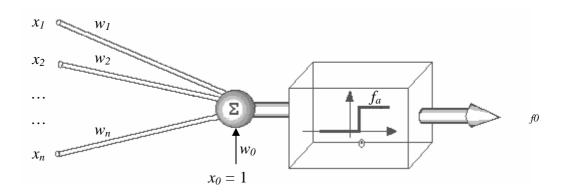


Figura 3.19 – Modelo de um neurônio artificial.

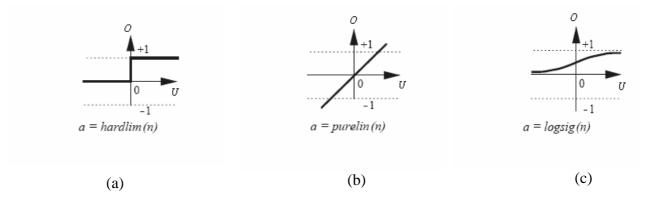


Figura 3.20 – Principais funções de ativação: (a) função *hard-limit*, (b) função linear e (c) função sigmoidal.

Frequentemente são utilizados vários tipos de neurônios diferindo nos parâmetros antes mencionados, fornecendo valores na saída que oscilam desde números binários {0,1}, bivalentes {-1,1}, contínuos [0,1] até discretos em um intervalo definido.

Embora um neurônio simples possa realizar certas funções de processamento da informação, a potencialidade das *RN* reside em conectar os neurônios em uma rede. Uma *RN* artificial é um modelo computacional composto por uma densa rede de elementos processadores, os neurônios artificiais, não lineares, dispostos em camadas e interconectados

através de canais unidirecionais – as conexões – análogos às sinapses de um neurônio biológico.

Algumas vantagens das RN são:

- As redes são inerentemente paralelas, o que permite uma possível implementação em programação paralela;
- Os dados são distribuídos, de maneira que mesmo que alguns neurônios sejam removidos, o desempenho da rede de maneira global pode ser pouco alterado.

A rede torna-se capaz de processar eficientemente dados numéricos, produzindo sinais de saída a partir de dados de entrada, após uma etapa chamada de *treinamento*, onde é submetida a diversos padrões com dados similares de entrada e saída. No treinamento (às vezes também chamado de *aprendizagem*), os pesos e "biases" da rede são modificados. Os métodos de treinamento podem ser classificados em duas categorias (SARLE, 1997):

- Supervisionado → As redes são treinadas por experiência, tal que padrões com dados de entrada e saída são apresentados à rede de modo que ela modifica as suas interconexões (pesos e "biases") a fim de obter as saídas –alvo desejadas. A rede cria um modelo interno do processo, que rege os dados que a mesma recebe, de maneira que ela possa predizer as novas entradas através de interpolações e extrapolações e reconhecer padrões mesmo para dados com ruídos (RUMELHART & MC CLELLAND, 1986; de SOUZA Jr., 1993).
- Não-supervisionado → A rede, segundo SARLE (1997), é autônoma. Ou seja, a rede é apresentada aos dados, descobre alguma propriedade sobre os mesmos e aprende como refletir estas propriedades nas suas saídas, sem ajuda alguma.

Na **Figura 3.21** é apresentada uma RNA simples contendo dois nós de entrada, oito intermediários distribuídos em duas camadas intermediárias e um nó de saída.

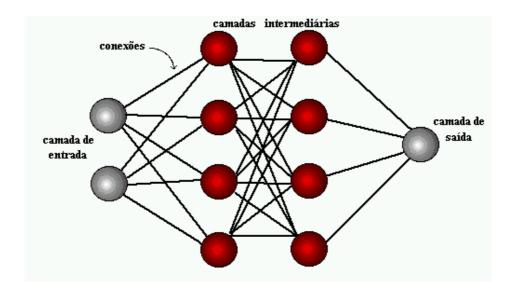


Figura 3.21 – Modelo de uma Rede Neuronal artificial simples

No final da década de 60, Frank Rosenblatt e vários pesquisadores criaram um método de aprendizagem chamado "perceptron", cujo objetivo era resolver problemas de reconhecimento de padrões. Os neurônios utilizados na rede perceptron (Figura 3.22) possuem uma função de entrada de soma simples e uma função de ativação do tipo hard-limit ou linear, enquanto os valores da entrada geralmente são números reais e a saída é binária. A estrutura da conexão de um perceptron é do tipo feed-forward e apresenta três camadas. A primeira camada (buffer) representa as entradas, a segunda (camada de aspecto) representa novos aspectos e a terceira (camada perceptron) representa as saídas. Os pesos entre a camada buffer e a camada de aspecto são fixados resultando em uma representação de duas camadas. Por ser um algoritmo supervisionado, o perceptron somente aprende quando erra na classificação de um vetor de entrada, o que leva à variações nos pesos da função. Por este motivo, os perceptrons são comumente aplicados na solução de problemas com classes linearmente separáveis uma vez que os mesmos são excelentes discriminadores lineares.

Não foi até os anos 80 que estas limitações foram superadas com Redes *Perceptron* Multicamadas (*RPM*), as quais consistem de uma camada de entrada, ao menos uma camada intermediária ou "oculta" e uma camada de saída, onde os neurônios de cada camada estão totalmente conectados aos neurônios da próxima camada. Os neurônios na *RPM* têm valores de entradas e saídas contínuos, uma função somatória de entrada, e uma função de ativação não linear.

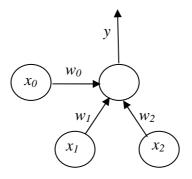


Figura 3.22 – Um perceptron com um "bias" com duas entradas simples e uma saída.

O surgimento dos *perceptrons* multicamadas requereu o desenvolvimento de novos métodos de aprendizado tais como o método de retropropagação, o qual se popularizou nos últimos quinze anos devido à simplicidade do algoritmo.

Segundo de SOUZA Jr. (1993), as redes treinadas pelo método de retropropagação são multicamadas, não apresentam conexões laterais (entre neurônios da mesma camada) e seus sinais são *feedforward*; ou seja, dado um vetor de entrada, o vetor de saída é calculado em um passo do tipo para frente ("*forward*") que calcula os níveis de atividade de cada camada por vez, usando os níveis de atividade já computados nas camadas anteriores.

Várias funções não-lineares podem ser usadas no método de retropropagação sendo a sigmoidal a mais empregada (GROSSBERG, 1976; HOPFIELD, 1984; RUMELHART & McCLELLAND, 1986)

O objetivo do treinamento pelo método de retropropagação é ajustar os pesos e "biases" da rede (pela apresentação de muitos exemplos de padrões de entrada e saída), modificandoos até que a aplicação de um conjunto de entradas produza saídas da rede que correspondam
às saídas desejadas (ou alvos). Treinar a rede, neste caso, corresponde a minimizar a função
objetivo não linear que dá o erro entre as saídas preditas pela rede e as saídas alvos para
vários padrões.

Para as redes *feedforward*, esse método calcula o gradiente do erro, aplicando de uma maneira direta (WERBOS, 1994) a regra da cadeia do cálculo elementar.

No método de retropropagação padrão, RUMELHART & MCCLELLAND (1986) minimizaram a função objetivo usando a estratégia de otimização do gradiente descendente. Através da regra do gradiente descendente, são encontrados os pesos ótimos da conexão

(whg) de todos os neurônios g em cada nó h, que minimizam o erro E. A variação do peso Δwhg , na iteração t+1 é dada por (KASABOV, 1996):

$$\Delta w_{hg}(t+1) = -lrate \left(\frac{\delta E}{\delta w_{hg}}(t) \right)$$
 (3.28)

onde lrate é a regra de aprendizado.

A regra do gradiente descendente garante que após um número de iterações o erro E alcançará um mínimo e é dado por:

$$E = \sum \sum Err_g^p \tag{3.29}$$

onde o erro Err_g^p para um exemplo p pode ser determinado como:

$$Err_g^p = \frac{(y_g^p - f_{og}^p)^2}{2}$$
 (3.30)

onde y_g^p é o valor da saída desejado e f_{og}^p o valor da saída obtido.

CAPÍTULO 4. ANÁLISE DIGITAL DE IMAGENS PARA CARACTERIZAR O LODO ATIVADO

4.1 VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO DE ANÁLISE DIGITAL DE IMAGENS DOS FLOCOS DE LODO ATIVADO

Previamente ao desenvolvimento do procedimento de processamento e análise das imagens digitais dos flocos de lodo ativado, foi realizada uma análise microscópica manual de amostras do sistema em estudo, bem como das amostras provenientes das ETEs da Ilha do Governador e da industria de química fina CIBA, com vista a conhecer o estado morfológico dos agregados microbianos em cada uma delas, o qual é crucial para desenvolver um procedimento suficientemente robusto capaz de processar imagens digitais de flocos de lodo ativado independente do seu aspecto físico.

A **Figura 4.1** ilustra as imagens digitais dos flocos microbianos pertencentes às amostras de lodo ativado avaliadas.

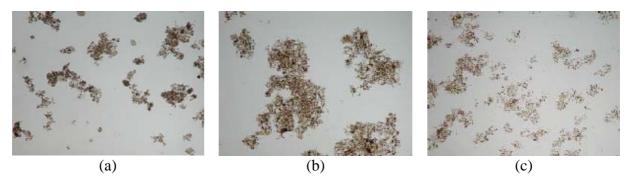


Figura 4.1 – Imagens microscópicas em campo claro (aumento total 120x) dos flocos microbianos correspondentes às três amostras estudadas, (a) RBS, (b) ETE Ilha do Governador, (c) ETE CIBA.

As imagens apresentadas na **Figura 4.1** revelam que os flocos de lodo ativado exibiram diferenças no aspecto físico, o qual se deve às diferenças na composição dos efluentes comumente tratados em cada um destes sistemas de tratamento e das condições operacionais. Observa-se também que os flocos de lodo da ETE municipal são mais consistentes e aparentam ser mais resistentes que os agregados microbianos oriundos dos outros sistemas em estudo. Isto pode ser explicado pelo fato de que os efluentes municipais usualmente apresentam altos teores orgânicos, o que, de acordo com BARBUSINSKI E KOSCIELNIAK

(1995), favorece o aumento do tamanho dos flocos, o qual deve-se, principalmente, à maior produção de PECs sob tais condições. JIN *et al.* (2003) durante um estudo comparativo de amostras de lodo ativado oriundas de 7 ETEs diferentes também observaram que os flocos de lodo presentes nos tanques de aeração das ETE's municipais possuem tamanho médio maior do que os flocos microbianos pertencentes aos sistemas que tratam efluentes industriais.

A menor consistência dos flocos pertencentes ao sistema em estudo (RBS) e à ETE industrial da CIBA pode ser associada à composição dos efluentes usualmente tratados nestes sistemas. No caso da ETE da CIBA os efluentes provenientes do processo industrial comumente incluem uma ampla variedade de compostos químicos (compostos estilbênicos, abrilhantadores, produtos de acabamento e processamento têxtil) os quais têm sido apontados como um dos principais fatores que afetam, não só a atividade microbiana, mas também o fenômeno de biofloculação, resultando na decomposição de grandes flocos e na formação de flocos pequenos, estruturalmente fracos, que sedimentam com grande dificuldade no clarificador, conduzindo a um efluente final com elevada turbidez e conteúdo de matéria orgânica. Entretanto, o efluente sintético alimentado ao sistema RBS apresenta em sua composição uma relação carbono:nitrôgenio baixa o que não favorece o crescimento da biomassa e leva à formação de flocos pequenos e poucos consistentes.

4.1.1 Validação da efetividade do procedimento de ADI na identificação dos flocos e poros/floco

O procedimento de ADI apresentado na **Figura 3.8**, consistindo de diferentes ferramentas de processamento de imagens, foi validado de acordo com sua efetividade na identificação dos flocos e da relação poros/floco pela identificação manual e estimando o erro de identificação. A **Tabela 4.1** mostra os resultados da validação após processar as imagens dos flocos microbianos dos três sistemas em estudo.

Tabela 4.1 – Efetividade do procedimento de ADI para identificar os flocos microbianos.

ETE	Número Total de Flocos	Efetividade de identificação (%)		
RBS	305	95.08		
Ilha Governador	300	98.00		
CIBA	315	99.00		

Os resultados indicam que o procedimento de análise de imagens desenvolvido apresentou maior erro na identificação dos agregados microbianos (4,92%) quando aplicado no tratamento das imagens do lodo ativado do sistema RBS. O erro diminuiu para 2% quando foram processadas as imagens correspondentes aos flocos da ETE municipal. O menor valor deste parâmetro (1%) foi alcançado após a aplicação do procedimento de tratamento às imagens pertencentes aos flocos da ETE da CIBA. Estes resultados sugerem que o procedimento proposto permite identificar adequadamente até 95% dos flocos incluídos no teste de validação.

A efetividade do procedimento de análise de imagens na identificação da relação poros/floco é mostrada na **Figura 4.2**, através da correlação entre a identificação manual e a automática.

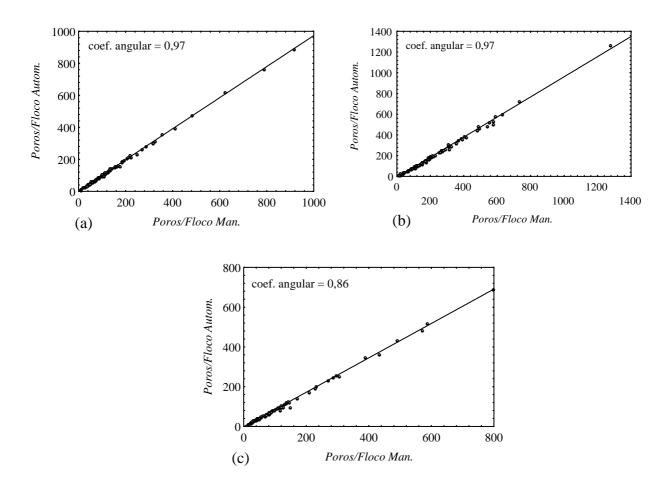


Figura 4.2 - Número de poros/floco detectados automaticamente pelo procedimento de ADI em função dos poros/floco identificados manualmente para as três amostras de lodo avaliadas: (a) SBR, (b) ETE Ilha do Governador, (c) ETE CIBA.

Verifica-se que, para as imagens digitais dos flocos microbianos correspondentes às amostras do lodo proveniente do RBS e da Ilha do Governador, os valores dos coeficientes angulares encontram-se próximos a 1 (0,97), o qual indica a elevada efetividade do método desenvolvido na identificação da relação dos poros/floco nas imagens digitais previamente processadas usando o procedimento desenvolvido. Entretanto, foi evidenciada uma diminuição no valor do coeficiente angular (0,86) da correlação linear após o processamento das imagens digitais dos flocos correspondentes ao lodo da CIBA e, portanto, na efetividade do procedimento de identificação dos poros/flocos nestes agregados.

As diferenças obtidas na identificação dos flocos microbianos e da relação poros/floco podem ser explicadas se considerarmos que estes bioagregados não só são diferentes em sua morfologia, mas também em outros aspectos físicos, tais como a cor que é função do tipo de efluente comumente tratado nas estações de tratamento avaliadas, o que pode interferir na etapa de segmentação e, portanto, na efetividade de extração dos objetos de interesse. No entanto, 86% de identificação dos poros/floco pode ser considerado um valor adequado devido à natureza complexa dos agregados microbianos originados nas ETEs.

4.1.2 Validação do procedimento de ADI usando o método de discrepância empírica.

Após o processamento e análise digital das imagens teste foi estimada a *Precisão Relativa da Última Medição (PRUM)* dos parâmetros morfológicos avaliados. A **Figura 4.3** mostra o valor médio do *PRUM* dos parâmetros *Área (PRUM-A)*, *Perímetro (PRUM-P)* e *Fator de Forma (PRUM-FF*)* em função do tamanho do objeto.

Observa-se uma tendência ao aumento do valor da *PRUM* com a diminuição do tamanho do objeto, indicando perdas na qualidade do processamento para os objetos de menor tamanho. No entanto, os valores de precisão para os três parâmetros morfológicos encontramse abaixo de 5%, podendo este valor ser considerado adequado nas condições avaliadas neste estudo.

Quanto ao efeito da forma sobre a precisão das medições, nota-se na **Figura 4.4** o aumento da *PRUM* à medida que se aumenta a excentricidade do objeto, o que sugere que o procedimento de análise de imagem desenvolvido mostra-se menos robusto na avaliação das imagens de objetos mais alongados. De forma semelhante à influência do tamanho, os valores de *PRUM* obtidos nesta avaliação são menores que 5%, indicando elevada robustez do procedimento adotado.

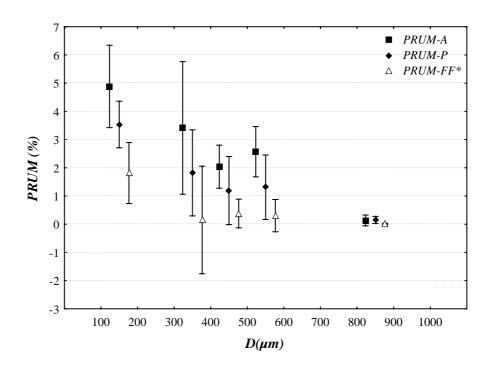


Figura 4.3 - Influência do tamanho do objeto na *PRUM* da Área (*PRUM*-A), do Perímetro (*PRUM*-P) e do *Fator de Forma* (*PRUM-FF**).

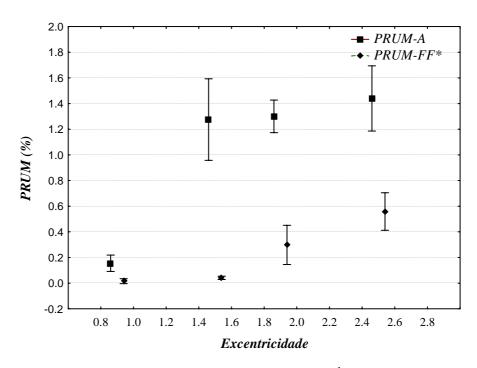


Figura 4.4 - Influência da forma na PRUM da $\acute{A}rea$ (PRUM-A) e do Fator de Forma (PRUM-FF*).

Finalmente, na **Figura 4.5** encontram-se os resultados experimentais referentes ao efeito do tamanho do objeto fractal na Precisão da Medição da *Dimensão Fractal Textural* onde pode ser constatado um comportamento similar ao observado nos resultados referentes ao efeito do tamanho na precisão dos parâmetros *Área*, *Perímetro* e *Esfericidade*. No entanto, no intervalo de tamanhos de interesse, os valores da precisão da medição deste parâmetro morfológico estão em torno de 5%, o que permite concluir que o procedimento de ADI também é suficientemente robusto no processamento das imagens digitais de objetos fractais como os flocos microbianos que compõem o lodo ativado.

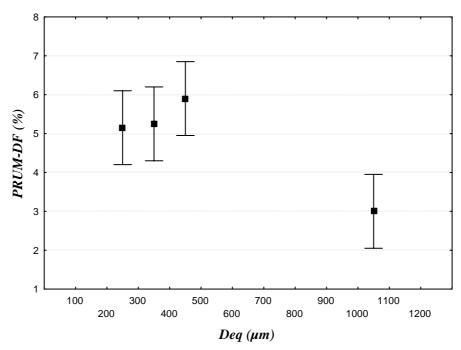


Figura 4.5 - Influência do tamanho do objeto fractal na *PRUM* da *Dimensão Fractal (PRUM-DF)*.

4.2 ESTUDOS PRELIMINARES PARA A AQUISIÇÃO DAS IMAGENS DIGITAIS DOS FLOCOS DE LODO ATIVADO

4.2.1 Efeito da diluição sobre o tamanho dos flocos microbianos

Com o intuito de conhecer a influência da diluição das amostras do licor misto na determinação dos parâmetros morfológicos dos flocos microbianos, foram preparadas várias diluições com sobrenadante das amostras do licor misto provenientes do sistema RBS e da ETE municipal antes da aquisição das imagens digitais. Como mostrado na **Tabela 4.2**, a diluição de ambas as amostras causou uma diminuição no tamanho médio estimado dos flocos como *Deq*. Este efeito foi mais pronunciado quando as amostras de licor misto originais foram submetidas a diluição 1:1 (iguais proporções de amostra e sobrenadante) o que resultou em uma diminuição no tamanho dos flocos de 24% e 30% para as amostras do sistema RBS e da ETE municipal, respectivamente.

Tabela 4.2 - Valores médios do *Deq* dos flocos resultante das diluições das amostras de licor misturado em estudo.

- Diluição	Deq (µm)			
	RBS	Ilha do Governador		
Licor não-diluído	$181,4 \pm 117.1$	$328,6 \pm 194,8$		
1:1	$138,1 \pm 58.1$	$229,5 \pm 137,7$		
1:2	$137,7 \pm 59.7$	213.0 ± 142.9		
1:3	144.2 ± 66.8	221.8 ± 104.9		
1:4	139.3 ± 77.6	$204,5 \pm 140,4$		

Os dados experimentais foram estatisticamente analisados através da variância univariável (*one-way* ANOVA) para confirmar a influência significativa da diluição das amostras no tamanho do floco. Os resultados desta análise são apresentados nas **Tabelas 4.3** e **4.4**.

Os resultados da análise de variância mostram a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as séries de diluição avaliadas ao nível de 95% de confiança indicado pelo valor de probabilidade (p < 0,05) obtido em ambas as análises. Estes resultados não coincidem com os obtidos por CARRETTE (1995), que observou que o valor

de vários parâmetros morfológicos, incluindo o tamanho dos flocos, foi independente da diluição da amostra do licor misto em uma faixa de concentração de Sólidos Totais em Suspensão (SST) entre 0,5 e 4,0 g.L⁻¹. Resultados similares aos obtidos por CARRETTE (1995) foram alcançados por GRIJSPEERDT & VERSTRAETE (1997) ao efetuar um estudo de diluição de amostras de lodo ativado com valores de SST no mesmo intervalo. Embora os níveis de SST das amostras do lodo ativado do sistema RBS e da ETE municipal encontremse no intervalo de concentração avaliado por estes autores (3,0 e 4,7 g.L⁻¹, respectivamente), o efeito considerável da diluição foi verificado logo que as amostras de lodo originais foram submetidas à primeira diluição testada (1:1).

Tabela 4.3 – Influência da diluição no tamanho dos flocos para a amostra de licor do RBS: ANOVA univariável.

Fonte de Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	p
Efeito	431926,33	4	107981,58	18,776	0,0000
Erro	8804486,02	1531	5750,81	-	-
Total	9236412,35	1535	-	-	-

Tabela 4.4 – Influência da diluição no tamanho dos flocos para a amostra de licor da ETE Ilha do Governador: ANOVA univariável.

Fonte de Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	$oldsymbol{F}$	p
Efeito	3027879,98	4	756969,9952	33,1095579	0,0000
Erro	30704448,11	1343	22862,5824	-	-
Total	33732328,09	1347	-	-	-

Deve ser ressaltado que no presente estudo as diluições das amostras foram efetuadas utilizando sobrenadante. De acordo com estudos realizados por ZITA E HERMANSSON (1994), a estabilidade de flocos de lodo ativado é consideravelmente afetada pela força iónica e a composição do meio. No presente estudo, a adição de sobrenandante para diluir as amostras de licor misto pode ter causado variações na força e na composição iônica do meio alterando a estabilidade dos flocos e provocando desfloculação.

Os resultados obtidos neste estudo permitiram concluir que as amostras de licor misto para aquisição das imagens digitais dos agregados microbianos devem ser preparadas sem diluição prévia com vista a obter resultados confiáveis nas medições de tamanho de tais agregados.

4.2.2 Determinação do número de imagens a serem adquiridas.

A **Figura 4.6** ilustra a evolução do erro padrão das medições dos parâmetros morfológicos *Convexidade* (*Conv*), *Compacidade* (*Comp*) e *Fator de Forma* (*FF**) em função do número de flocos.

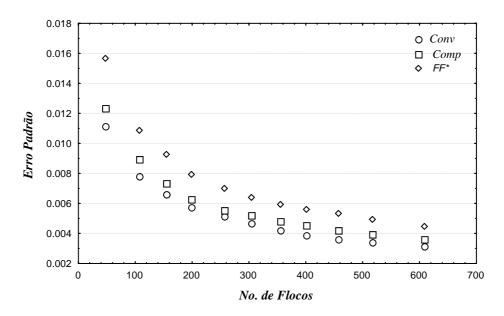


Figure 4.6 – Evolução do Erro Padrão dos parâmetros *Convexidade* (*Conv*), *Compacidade* (*Comp*) e *Fator de Forma* (*FF**) em função do número de flocos.

Constata-se da **Figura 4.6** que o erro padrão das medições atingiu um valor praticamente constante para os três parâmetros avaliados quando o número de flocos incluído na análise foi aproximadamente igual a 300. Isto significa que é necessário um número mínimo de 300 objetos para obter resultados significativos nas medições de tais parâmetros. Para obter este número de flocos é necessário processar uma média de 25 imagens dos flocos de lodo ativado do sistema RBS contendo cada uma delas cerca de 10 a 20 objetos. Um número similar de imagens deve ser processado na análise de amostras de lodo ativado da ETE industrial CIBA. Entretanto, o número de imagens requeridas para incluir 300 objetos na ADI dos agregados microbianos que compõem o lodo ativado da ETE municipal da Ilha do Governador é notavelmente superior (100 imagens), pois cada imagem contém aproximadamente de 2 a 3 flocos dado o maior tamanho que possuem tais bioagregados. Estes resultados sugerem que, dentre outros fatores, o tamanho dos flocos microbianos determina o

número de imagens a serem analisadas para se obter uma quantificação morfológica representativa destes agregados microbianos.

Entretanto, nos estudos desenvolvidos por GRIJSPEERDT E VERSTRAETE (1997) para caracterizar morfologicamente flocos de lodo ativado evidenciou-se que devem ser processados ao menos 150 flocos para se alcançar valores constantes no erro padrão das medições de vários parâmetros da geometria euclidiana e da geometria fractal. JENNÉ *et al.* (2002), desenvolveram um método de ADI automático para reconhecer flocos e filamentos em amostras de lodo ativado. Estes autores relataram que é suficiente um número de 50 imagens (correspondente a cerca de 100 objetos) para quantificar os flocos e filamentos.

As diferenças nos resultados pode ser explicada sobre a base das condições utilizadas para adquirir as imagens, tais como técnica microscópica aplicada e aumento, os quais podem exercer influências apreciáveis no erro padrão dos parâmetros morfológicos medidos. Este aspecto foi investigado por CARRETTE (1995) que verificou a influência significativa do aumento empregado para visualizar os agregados sobre as medições de vários parâmetros morfológicos, apontando a necessidade de se trabalhar com o mesmo aumento para um tipo específico de medição.

No presente trabalho, as imagens dos flocos microbianos foram adquiridas aplicando a técnica microscópica de campo claro com um aumento total de 120X, enquanto nos estudos realizados por GRIJSPEERDT E VERSTRAETE (1997) foi utilizada a técnica de campo escuro com aumento de 40x para a aquisição das imagens. JENNÉ *et al.* (2002) também usaram condições de aquisição diferentes: técnica de contraste de fase e aumento total de 100x.

É importante ressaltar que as condições de aquisição também determinam o procedimento de ADI a ser aplicado para analisar distintos tipos de imagens, o que pode resultar em diferenças notáveis nas medições finais dos parâmetros morfológicos.

4.2.3 Determinação da distribuição de tamanho dos flocos microbianos

Nas imagens digitais dos flocos de lodo ativado, geralmente aparece um número elevado de resíduos orgânicos e pequenos fragmentos de flocos. Para evitar que estes objetos de menor tamanho influenciem nas medições dos parâmetros morfológicos, foi necessário estabelecer um limite inferior a ser considerado na distribuição de tamanho dos agregados microbianos com vista a excluir tais objetos da análise. RUSS (1995) observou que objetos com um número de pixels menor que 0,1% do número total de pixels da imagem não

deveriam ser incluídos na análise morfológica dos agregados microbianos. Foram realizadas três réplicas para cada amostra de lodo avaliada e, em todos os casos, o histograma de frequências do tamanho dos flocos refletiu uma distribuição log-normal descrita pela seguinte equação:

$$f(x) = \frac{1}{\sigma_{\ln x} \sqrt{2\pi}} \exp \left[-\frac{\left(\ln x - \mu_{\ln x}\right)^2}{2\sigma_{\ln x}^2} \right]$$
 (4.1)

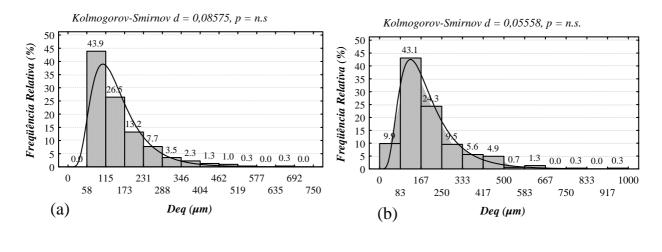
onde x é o tamanho do floco, μ_{lnx} e σ_{lnx} são a média logarítmica e o desvio padrão logarítmico do floco estimado como Deq.

O teste quantitativo de Kolmogorov-Smirnov para normalidade não foi estatisticamente significativo ao nível de 95% de confiança, indicando que os dados experimentais ajustam-se adequadamente à distribuição do tipo log-normal. A distribuição de tamanho de flocos de lodo ativado também tem sido descrita através da expressão log-normal em estudos prévios realizados por GRIJSPEERDT E VERSTRAETE (1997), BARBUSINKI & KOSCIELNIAK (1995), LI & GANCZARCZYK (1991) e NÁMER E GANCZARCZYK (1993). De acordo com LI & GANCZARCZYK (1991), este tipo de distribuição é típica de grupos de dados nos quais parte dos valores (neste caso menores que 65 µm) têm sido arbitrariamente excluídos da análise.

A **Figura 4.7** ilustra a distribuição dos flocos microbianos expressa como frequência de ocorrência obtida para os três sistemas de lodo ativado sob estudo.

Nas amostras de lodo ativado do sistema RBS os flocos microbianos apresentaram tamanhos na faixa de 64 a 650 μ m. Nas amostras referentes às ETEs CIBA e Ilha do Governador o limite superior da faixa de tamanhos dos bioagregados aumentou para 920 e 1162 μ m, respectivamente.

Verifica-se ainda na **Figura 4.7** que nas amostras do sistema RBS a maior frequência de tamanhos correspondeu ao intervalo compreendido entre 58 e 115 μ m (43,9%), enquanto que os flocos microbianos que compõem o licor misto das ETEs da CIBA e Ilha do Governador, o maior pico de frequência (43,1 e 24,1%, respectivamente) deslocou-se para intervalos de tamanho superiores: 83 – 167 μ m para a ETE da CIBA e 200-300 μ m para a ETE da Ilha do Governador.



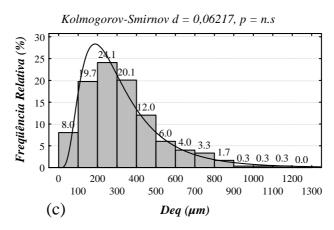


Figura 4.7 – Histograma de distribuição de frequências para o Diâmetro Equivalente (*Deq*) das amostras de lodo ativado dos sistemas em estudo: (a) sistema RBS, (b) ETE CIBA, (c) ETE Ilha do Governador

Devido à forma irregular dos flocos de lodo ativado, seus tamanhos têm sido descritos de muitas formas diferentes. GANCZARCZYK (1969) e SEZGIN *et al.* (1978) consideraram o comprimento ou a dimensão máxima como critério para estimar o tamanho destes agregados microbianos. O tamanho dos flocos também tem sido descrito pelo seu perímetro ou circunferência (MUELLER *et al.*, 1967; LI & GANCZARCZYK, 1985). A faixa de tamanhos dos flocos microbianos relatada em vários trabalhos varia entre 0,5 e 1000 μm (KNUDSON *et al.*, 1982), porém a maioria dos flocos é menor que 100 μm. Em estudos efetuados por LI & GANCZARCZYK (1988), usando o método fotográfico de multi-exposição (estroboscópico) para medir a velocidade de sedimentação e o tamanho dos flocos microbianos, verificou-se que 80% dos agregados foram menores que 100 μm, o que pode ser atribuído à técnica

utilizada por estes autores, que não permite detectar flocos com tamanhos menores que 25 µm. Os resultados referentes ao tamanho dos flocos de lodo ativado podem ser bastante alterados por procedimentos de amostragem impróprios resultando na variação da estrutura dos agregados pela decomposição ou compressão dos mesmos.

Em geral, neste trabalho, a faixa de tamanhos obtida para os três sistemas avaliados correspondeu com os valores de tamanhos usualmente obtidos nos sistemas de lodos ativados, quantificados tanto pela técnica de análise de imagens como por outros métodos. Entretanto, a percentagem de flocos com tamanhos menores que 100 µm para os três sistemas avaliados foi consideravelmente menor que os valores relatados na literatura, o que pode ser associado ao fato de que em uma etapa inicial foram excluídos da análise os flocos microbianos com tamanhos menores que 0,1% do tamanho da imagem.

A **Tabela 4.5** mostra os valores de *Deq* médio dos flocos microbianos para os três sistemas em estudo, assim como o desvio padrão das medições efetuadas. Observa-se que os flocos que compõem o lodo ativado da ETE Ilha do Governador são os maiores dentre os avaliados, seguido dos flocos pertencentes ao sistema da ETE CIBA e, finalmente, os flocos de menor tamanho são os que compõem o sistema RBS, como constatado nas observações microscópicas das amostras realizadas na etapa inicial dos estudos preliminares.

Tabela 4.5 – Valores de tamanho médio e desvio padrão dos flocos microbianos que compõem os sistemas de tratamento estudados.

ETE	Número de flocos	Deq (µm)	Desvio Padrão (µm)
RBS	310	154,9	92,5
Ilha do Governador	300	328,6	194,8
CIBA	304	195,4	125,4

4.2.4 Morfologia dos flocos microbianos

Os parâmetros morfológicos estimados nas três amostras de lodo ativado após a ADI foram estatisticamente comparados com vista a identificar as principais correlações entre eles. Para estimar as correlações lineares foi utilizado o coeficiente de Pearson de correlação do produto do momento (r_p) . Os resultados da análise de correlação estão resumidos na **Tabela 4.6**.

Tabela 4.6 – Matriz de correlação para os parâmetros morfológicos medidos por ADI dos flocos de lodo ativado.

	Deq	2-Dε	Conv	Comp	FF^*	DF
Deq	1	0,3504*	-0,3114*	-0,1218*	0,0226	0,2856*
2-Dε	0,3504*	1	-0,2718*	-0,1331*	-0,1112*	0,2994*
Conv	-0,3114*	-0,2718*	1	0,2856*	-0,0376	-0,7702*
Comp	-0,1218*	-0,1331*	0,2856*	1	-0,0413	-0,2718*
FF^*	0,0226	-0,1112*	-0,0371	-0,0413	1	-0,0366
DF	0,2856*	0,2994*	-0,7702*	-0,2718*	0,0366	1

^{*} correlação significativa para p < 0.05

Deve ser apontado que a existência de correlações entre estes parâmetros é desejável, já que as mesmas podem ser utilizadas para inferir a morfologia dos flocos microbianos e fazer predições sobre a sedimentabilidade do lodo ativado, a qual é notavelmente influenciada pela forma dos agregados microbianos, como demonstrado nos trabalhos realizados por GRIJSPEERDT & VERSTRAETE (1997), JIN *et al.* (2003), NÁMER E GANCZARCZYK (1993) e AMARAL *et al.* (2003).

Observa-se na **Tabela 4.6** a existência de uma relação significativa entre o tamanho dos agregados, estimado como Deq, e os parâmetros Porosidade (2-De), Convexidade (Conv) e Dimensão Fractal (DF) com coeficientes de correlação de Pearson de 0,3504, -0,31 e 0,2856, respectivamente. Ainda verifica-se a correlação, em menor extensão entre o Deq e a Compacidade (Comp) dos flocos (r_p = -0,1218). Estes valores indicam, como esperado, que flocos microbianos de maior tamanho tendem a ser mais irregulares e porosos. GRIJSPEERDT & VERSTRAETE (1997), ao aplicar a análise de imagens para estimar a sedimentabilidade de lodo ativado, obtiveram correlações similares entre a DF e o Fator de Forma (FF*) dos bioagregados. Em relação à porosidade, em estudos prévios realizados por LI & GANCZARCZYK (1987), usando o método fotográfico de multiexposição, foi observada a existência de uma correlação positiva entre o tamanho e a porosidade dos flocos de lodo ativado. De igual forma, NÁMER E GANCZARCZYK (1993), usando o mesmo método constataram que flocos com tamanhos maiores que 150 μ m exibiram valores de FF* maiores indicando a estrutura irregular dos mesmos. Estes autores também observaram que a densidade dos agregados diminuiu com o aumento do seu tamanho.

Contudo, deve ser ressaltado que o coeficiente de Pearson destas correlações ainda é baixo. Isto pode ser atribuído, entre outros fatores, a que a análise foi efetuada com amostras

de lodo ativado provenientes de diferentes sistemas de tratamento o qual pode ter introduzido um alto nível de ruído nas medições, sendo necessário efetuar uma análise individual de cada amostra de lodo com vista a melhorar os valores de tais coeficientes.

Constata-se ainda na **Tabela 4.6** a forte correlação negativa entre a *Convexidade* dos flocos e sua *Dimensão Fractal* ($r_p = -0.7702$), o que significa que a regularidade dos contornos dos flocos aumenta na medida que a Convexidade se aproxima ao valor 1 correspondente ao círculo. De igual forma observa-se a correlação, em menor extensão, da *Dimensão Fratal* dos agregados microbianos com a *Porosidade* ($r_p = 0.2994$) e a *Compacidade* ($r_p = -0.2718$). É bem conhecido que a estrutura altamente irregular dos bioagregados é difícil de ser descrita usando a geometria Euclidiana, a qual deve-se principalmente à sua natureza fractal. Desta forma, a *Dimensão Fractal*, originada da teoria fractal, tem sido utilizada para superar estas dificuldades sendo possível explicar alguns fenômenos que não podem ser explicados tomando como base a geometria Euclidiana. LOGAN & KILPS (1995) demonstraram que a *DF* reflete o ambiente hidrodinâmico no qual se formam os agregados, sendo possível usar este parâmetro para estudar o processo de agregação.

4.3 CONCLUSÕES PARCIAIS

- O procedimento de análise de imagens obtido para o processamento das imagens digitais dos flocos de lodo ativado se mostrou reprodutível e adequado para caracterizar a morfologia dos flocos microbianos que compõem os diferentes tipos de lodos, o que foi demonstrado através dos testes de validação realizados.
- Como mínimo, um total de 300 flocos devem ser incluídos na análise de imagens para obter resultados estatisticamente significativos na quantificação dos parâmetros morfológicos.
- O histograma de distribuição de tamanhos refletiu uma distribuição log-normal para todas as amostras de lodo ativado analisadas.
- A quantificação morfológica dos bioagregados após o processamento das imagens digitais mostrou que, de todas as amostras avaliadas, os flocos microbianos provenientes da ETE municipal apresentaram o maior *Deq* médio.
- Comprovou-se a existência de correlação do Deq com os parâmetros Porosidade,
 Convexidade e Dimensão Fractal e, em menor grau, com a Compacidade dos agregados microbianos, sendo estas correlações importantes para descrever a morfologia dos flocos e efetuar diagnósticos acerca da sedimentabilidade do lodo ativado.
- Foi encontrada uma forte correlação entre a Dimensão Fractal dos flocos e sua Convexidade, permitindo associar os parâmetros da geometria Euclidiana com os da geometria fractal para efetuar a caracterização morfológica destes agregados microbianos.
- Através da Análise de Variância foi verificado que a diluição da amostra teve influência significativa no *Deq* médio dos flocos oriundos das ETEs da Ilha do Governador e do sistema RBS, constatando-se um decréscimo no tamanho dos flocos com o aumento da diluição da amostra.

CAPÍTULO 5. ESTUDO DE CASO: REMOÇÃO DE FENOL NO SISTEMA RBS

5.1. ACLIMATAÇÃO DO SISTEMA RBS COM CARGAS CRESCENTES DE FENOL

Neste capítulo são relatados os resultados referentes às variações observadas durante a aclimatação do sistema RBS submetido a perturbação com concentrações crescentes de fenol, no intervalo entre 25 e 1000 ppm, bem como a avaliação com o tempo da biodegradação do fenol e o processo de nitrificação e desnitrificação no RBS após o período de aclimatação com as distintas concentrações de fenol avaliadas.

5.1.1 Resultados da aclimatação do lodo durante o período de acompanhamento do sistema

A **Figura 5.1** apresenta a variação da biomassa durante os 8 primeiros dias de aclimatação do sistema. O comportamento da biomassa variou em função das diferentes cargas de fenol testadas, mantendo-se praticamente constante durante a perturbação com as cargas no intervalo entre 25 e 500 ppm, demonstrando a pequena influência da carga de fenol no crescimento celular durante o período de aclimatação avaliado.

Quando o sistema foi perturbado com 1000 ppm de fenol, foram observadas oscilações da concentração celular durante a aclimatação, verificando-se um possível efeito inibidor do fenol sobre a atividade microbiana, que pode ter incidido principalmente na produção dos PEC, causando desfloculação e perdas de biomassa para o efluente tratado, resultando em uma leve diminuição na concentração de sólidos voláteis ao final do período de 8 dias (6,88 g.L⁻¹) em comparação com a concentração de biomassa presente no sistema no início da perturbação com a carga máxima de fenol (7,8 g.L⁻¹). Segundo HILL & ROBINSON (1975), o fenol pode ser inibidor do crescimento microbiano mesmo naquelas espécies que têm a capacidade metabólica de usá-lo como substrato de crescimento. Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram o possível efeito inibitório do fenol no crescimento e atividade da biomassa que compõe o lodo ativado quando presente em elevadas concentrações nos afluentes das ETEs. No entanto, também pode ser verificada a capacidade da biomassa para se adaptar às condições extremas impostas ao sistema, mantendo sua atividade metabólica.

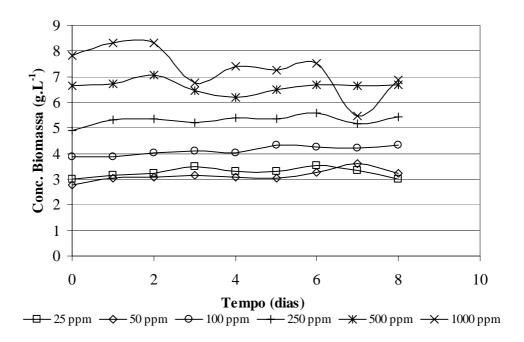


Figura 5.1 – Crescimento da biomassa do lodo ativado durante o período de operação do sistema RBS

Por outra parte, vários estudos têm mostrado que o processo de nitrificação é comumente considerado o passo limitante na remoção global do nitrogênio amoniacal. Na presença de compostos tóxicos como fenol, mesmo em baixas concentrações, tem sido relatada a inibição da nitrificação (AMOR *et al.*, 2005). No entanto, os resultados obtidos neste estudo, durante o período de adaptação às diferentes cargas de fenol aplicadas ao sistema mostraram que a biomassa degradou completamente o nitrogênio amoniacal (dados não apresentados) em todas as concentrações de fenol avaliadas, o que sugere que a atividade metabólica das bactérias nitrificantes não foi inibida pela presença de fenol no meio no intervalo compreendido entre 25 e 1000 ppm.

A **Figura 5.2** demonstra a remoção biológica de fenol ao longo dos ciclos que compõem o período de aclimatação estudado.

Observa-se que o sistema conseguiu assimilar totalmente o fenol presente no efluente alimentado na faixa de 25 a 250 ppm, não sendo evidenciada inibição da atividade biológica do lodo ativado por este composto. Entretanto, o aumento da concentração de fenol na alimentação para 500 ppm provocou inicialmente uma inibição da degradação deste composto pela biomassa, obtendo-se um mínimo no percentual de remoção de 67,2 % em 72 horas de aclimatação.

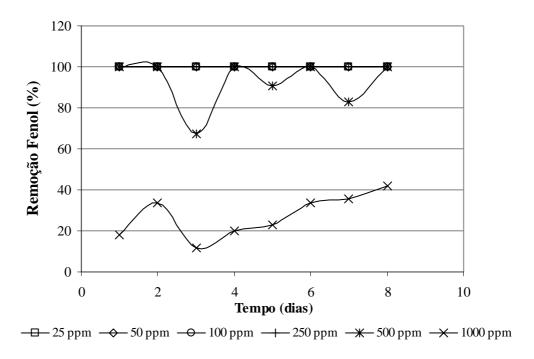


Figura 5.2 – Evolução da remoção biológica de fenol durante o período de aclimatação.

Contudo, a biomassa conseguiu recuperar gradualmente a capacidade de degradação deste poluente chegando a remover completamente o fenol do sistema ao final dos 8 dias de aclimatação. Ao dobrar a carga de fenol na alimentação (1000 ppm) constatou-se uma alteração considerável na oxidação biológica deste poluente, alcançando apenas 18,2% de remoção após as primeiras 24 horas de perturbação do sistema, fato que denota o alto efeito inibitório da carga de fenol no metabolismo oxidativo. A seguir, a biomassa conseguiu recuperar gradualmente parte da sua atividade metabólica, o que resultou na remoção de somente 42% do fenol ao final do período de 8 dias de adaptação.

A **Figura 5.3** compara os resultados obtidos para a remoção biológica da matéria orgânica nas diferentes condições experimentais testadas.

É possível verificar que quando o sistema foi perturbado com a concentração mínima de fenol testada (25 ppm) houve ligeira alteração na remoção de DQO, com percentagem média de remoção de 88% após os 8 dias de aclimatação quando comparado com o sistema sem adição de fenol na alimentação cujo valor médio de remoção foi 96,5%.

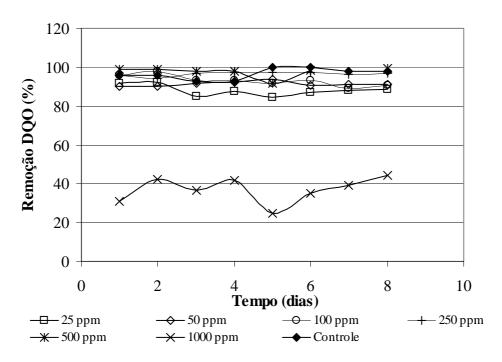


Figura 5.3 – Evolução da remoção biológica de DQO durante o período de aclimatação.

O aumento da carga a valores entre 50 e 500 ppm de fenol causou uma melhora gradual na remoção de matéria orgânica pela biomassa, atingindo após o período de 8 dias 99,3 % de remoção no sistema alimentado com 500 ppm de fenol, o que indica que houve uma adaptação progressiva da biomassa às concentrações crescentes de fenol no meio recuperando sua atividade metabólica. Entretanto, a alimentação com a máxima concentração de fenol testada (1000 ppm) influenciou notavelmente a degradação biológica da matéria orgânica. Consequentemente, o nível de remoção de DQO diminuiu até 31% após as primeiras 24 horas de perturbação do sistema. Após 8 dias de aclimatação, o lodo ativado conseguiu degradar apenas 44,4 % da matéria orgânica presente no sistema, evidenciando-se novamente o potente efeito inibidor do fenol na atividade biológica do lodo ativado quando presente no meio em uma concentração de 1000 ppm. O declínio observado na remoção de DQO esteve em correspondência com os baixos percentuais de remoção de fenol obtidos para o sistema alimentado com 1000 ppm de tal poluente.

Em relação aos efeitos do fenol na desfloculação do lodo ativado, verificou-se que de modo geral durante o período de aclimatação do lodo às distintas concentrações de fenol analisadas houve um aumento na turbidez específica do sistema nas primeiras 24 horas de perturbação do sistema, com oscilações deste parâmetro ao longo dos primeiros 8 dias de aclimatação. Estas oscilações se tornaram menos pronunciadas e de menor duração à medida que a carga de fenol na alimentação foi aumentada, constatando-se uma tendência do sistema

a alcançar um valor constante ao final do intervalo de 8 dias. Estas oscilações de turbidez se corresponderam com períodos de desfloculação e refloculação do lodo ativado o que foi comprovado através da distribuição de frequências relativas do *Deq* dos flocos de lodo ativado estimados aplicando a análise digital de imagens. Como exemplo deste comportamento, apresenta-se na **Figura 5.4** a evolução da turbidez específica do efluente no período de acompanhamento da adaptação do lodo ativado a 25, 500 e 1000 ppm de fenol, enquanto o comportamento da distribuição de tamanho dos flocos durante este período para tais condições experimentais é ilustrado nas **Figuras 5.5** a **5.7**.

Observa-se na **Figura 5.4** que a perturbação do sistema RBS com a menor concentração de fenol avaliada (25 ppm) provocou um aumento significativo na turbidez específica do efluente logo após 24 horas de aclimatação, fato este associado ao fenômeno de desfloculação do lodo ativado, conforme mostrado na **Figura 5.5**, onde é constatada uma diminuição considerável no percentual de flocos com tamanhos no intervalo entre 100 e 600 µm e o consequente aumento de 16,4% na percentagem de flocos com tamanhos menores que 100 µm. Entretanto, após 48 horas verificou-se uma diminuição na turbidez como resultado da refloculação do lodo ativado, o qual foi confirmado na **Figura 5.5**, onde é possível notar uma leve diminuição do número de flocos com tamanhos menores que 100 µm e um aumento do número de flocos com tamanhos entre 100 e 300 µm, indicativo da adaptação da biomassa à presença de fenol no sistema.

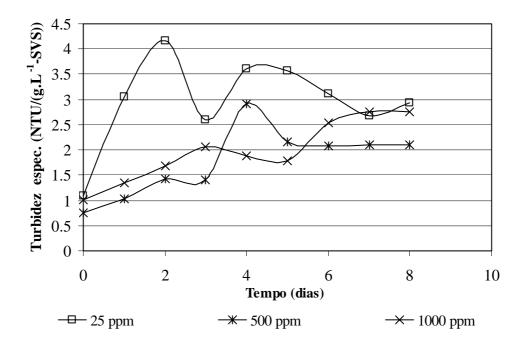


Figura 5.4 – Evolução da turbidez específica do efluente no período de aclimatação em função da carga de fenol aplicada ao sistema.

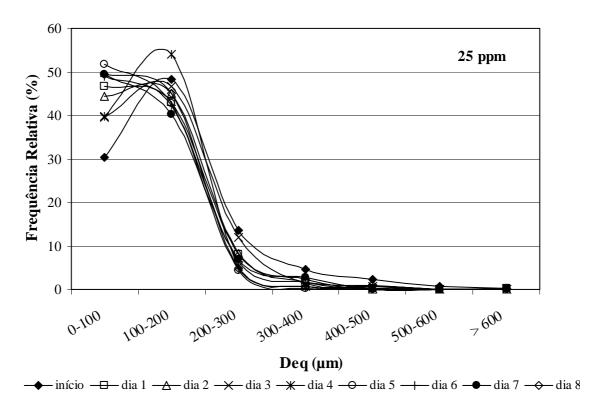


Figura 5.5 – Comportamento da distribuição de tamanho dos flocos do lodo ativado durante o período de 8 dias de aclimatação com 25 ppm de fenol.

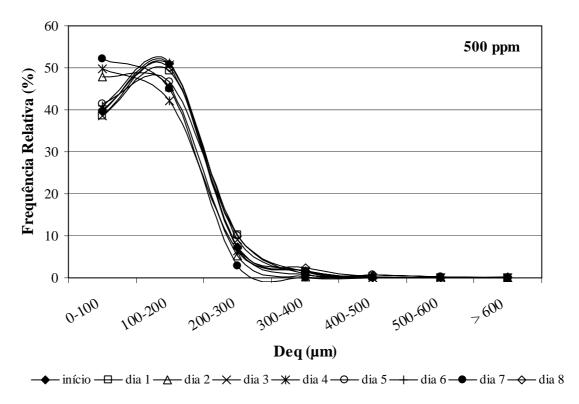


Figura 5.6 – Comportamento da distribuição de tamanho dos flocos do lodo ativado durante o período de 8 dias de aclimatação com 500 ppm de fenol.

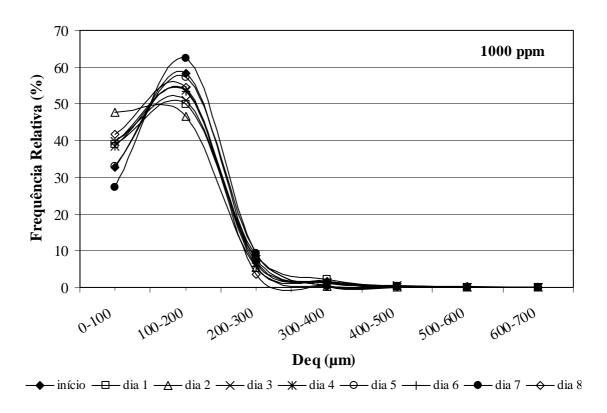


Figura 5.7 – Comportamento da distribuição de tamanho dos flocos do lodo ativado durante o período de 8 dias de aclimatação com 1000 ppm de fenol.

Deve ser apontado que a turbidez do efluente não diminuiu até seu valor inicial antes da primeira perturbação do sistema, o que demonstra que a desfloculação da biomassa pode ter sido irreversível em certa extensão e, portanto, não foi possível alcançar uma refloculação completa do lodo ativado depois de um período de desfloculação. Um comportamento similar neste parâmetro foi notado por WILÉN *et al.* (2000) em estudos sobre os processos de desfloculação-refloculação do lodo ativado. Nas perturbações subsequentes com 25 ppm de fenol ainda existiu instabilidade do sistema na presença de fenol, porém ao final do oitavo dia de aclimatação nota-se que o sistema aproximou-se de uma turbidez de equilíbrio, a qual foi sustentada pelos resultados mostrados nas **Figuras 5.4** e **5.5**. Outro aspecto que deve ser ressaltado é o relacionado com o aumento gradual da turbidez específica do efluente o qual, conforme WILÉN *et al.* (2000), deve-se à exposição do lodo a condições repetidas de desfloculação-refloculação, o que causa danos progressivos nos flocos e um acúmulo de material não floculado no sistema.

Entretanto, frente a uma concentração de 500 ppm no afluente, verificou-se a refloculação do lodo ativado no sistema com 24 horas de aclimatação (**Figura 5.6**), como sinal da capacidade do lodo de suportar tal carga deste poluente, uma vez ativado o sistema

enzimático responsável pela degradação do fenol. Este período de refloculação foi seguido de desfloculação do lodo. Porém, o aumento da turbidez específica, devido a esta desfloculação, foi consideravelmente menor que o obtido nas concentrações menores de fenol avaliadas, como consequência talvez da variação nas proporções dos constituintes dos PEC. A partir do terceiro dia de aclimatação constatou-se novamente que o sistema entrou em um período de desfloculação - refloculação até atingir uma turbidez de equilíbrio de forma análoga às condições experimentais anteriores.

Quando foi aplicada a máxima concentração de fenol avaliada no sistema RBS (1000 ppm), verificou-se desfloculação do lodo ativado logo nas primeiras 24 horas de perturbação. A desfloculação do lodo se estendeu até o terceiro dia de aclimatação com um aumento na turbidez específica do efluente. No entanto, neste caso constatou-se novamente que o aumento desta turbidez foi consideravelmente menor, para o mesmo período de aclimatação, que àquele obtido ao perturbar-se o sistema com cargas inferiores de fenol, apesar de nesta condição experimental haver presença de fenol no meio durante todo o período de aclimatação dada a incapacidade da biomassa de degradar todo o fenol alimentado. Entre o terceiro e o quinto dia de aclimatação, o sistema alcançou um certo equilíbrio no valor de turbidez específica do efluente que se correspondeu com um período de refloculação do lodo ativado, indicativo de um novo estágio de adaptação do lodo às condições impostas ao sistema. No entanto, no sexto dia de aclimatação houve uma elevação no valor de turbidez ligada ao incremento no número de flocos com tamanhos menores que 100 µm, seguido de desfloculação e refloculação do lodo ativado nos sétimo e oitavo dias de aclimatação, respectivamente, observando-se que o sistema possivelmente alcançou um novo valor de turbidez de equilíbrio.

Deve ser ressaltado que apesar da presença do fenol no meio em altas concentrações, o lodo ativado teve períodos de refloculação indicando que, contrário do esperado, sob as condições experimentais avaliadas este composto não provocou desfloculaçãodo irreversível no lodo ativado, o qual pode ser atribuído às variações nas proporções dos constituintes poliméricos como resposta da biomassa para neutralizar os efeitos causados pelas concentrações crescentes de fenol no meio. Entretanto, a desfloculação observada na presença de fenol durante o período de aclimatação pode ser devida às condições anóxicas, as quais o sistema foi submetido durante o período de aclimatação. Segundo relatado por Wilén *et al*. (2000), tais condições podem conduzir à desfloculação do lodo ativado.

5.1.2 Resultados da aclimatação do lodo ativado após o período de acompanhamento do sistema.

Uma vez analisado o comportamento do sistema RBS durante o período de adaptação do lodo ativado às distintas cargas de fenol testadas, efetuou-se uma análise global da evolução dos diferentes parâmetros avaliados após 8 dias de acompanhamento da fase de aclimatação.

A **Figura 5.8** mostra a evolução da concentração da biomassa ao final do período de acompanhamento da aclimatação para todas as cargas de fenol avaliadas no estudo. Observase que a concentração de biomassa no sistema aumentou de 3,0 g.L⁻¹ no início do período de aclimatação com a mínima carga de fenol (25 ppm) até aproximadamente 7,0 g.L⁻¹ ao final do período de adaptação com 1000 ppm de fenol, indicando que no intervalo de concentrações avaliadas este composto foi utilizado como substrato de crescimento. Em estudos realizados por Amor *et al.* (2005), também constatou-se um aumento da biomassa do lodo ativado de 3,5 g.L⁻¹ até 12 g.L⁻¹ para cargas de fenol alimentadas ao sistema entre 35 e 2800 ppm. No entanto, a velocidade de crescimento da biomassa diminuiu gradualmente com a elevação da carga de fenol até atingir um valor praticamente constante a partir de 500 ppm, constatando-se o efeito inibitório deste composto sobre o crescimento celular, o que coincidiu com o acúmulo de fenol no meio sob tais condições experimentais.

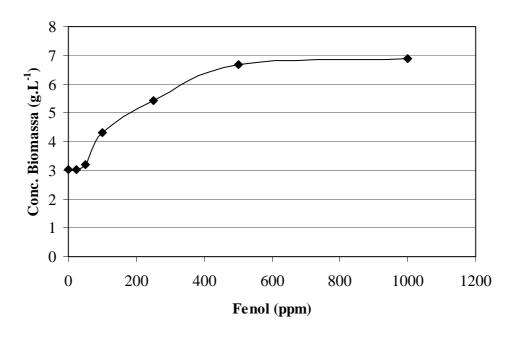


Figura 5.8 – Comportamento da concentração de biomassa ao final de 8 dias de aclimatação com as cargas de fenol testadas.

A **Figura 5.9** ilustra a variação da turbidez específica do efluente, enquanto que a **Tabela 5.1** e **Figura 5.10** mostram a distribuição de frequências relativas do *Deq* dos agregados microbianos após 8 dias de adaptação do lodo às cargas crescentes de fenol no meio. De igual forma, o comportamento da concentração dos constituintes dos PEC extraídos do lodo ao final do período de acompanhamento da aclimatação é apresentado na **Figura 5.11**.

Observa-se na **Figura 5.9** que, após 8 dias de adaptação do lodo ativado a 25 ppm de fenol, houve um aumento considerável da turbidez específica do efluente, evidenciando-se o impacto recebido pela biomassa ao perturbar-se o sistema com a mínima concentração testada deste poluente. Este impacto sobre a atividade microbiana do lodo ativado provocou perda de material para o efluente como consequência da desfloculação do lodo ativado conforme mostrado na **Figura 5.10** e **Tabela 5.1**, onde pode ser constatado que realmente houve um decréscimo no percentual de flocos com tamanhos no intervalo de 100 a 500 µm e um aumento de aproximadamente 20% no percentual de agregados com tamanhos menores de 100 µm, apontando a quebra de flocos maiores em flocos menores.

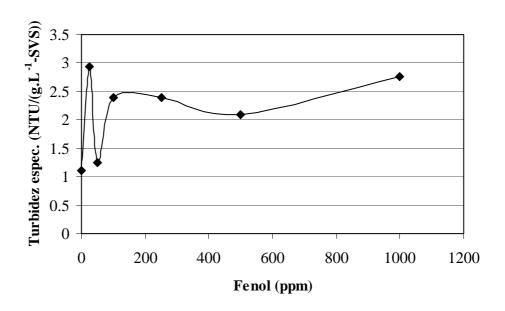


Figura 5.9 – Variação da turbidez especifica do efluente aos 8 dias de adaptação às cargas de fenol testadas.

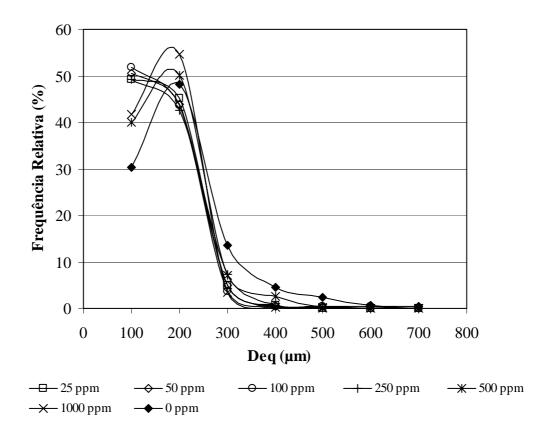


Figura 5.10 – Distribuição de frequências do *Deq* dos flocos microbianos do controle e após o período de aclimatação com as diferentes cargas de fenol avaliadas.

Na Figura 5.11 constata-se ainda a elevação da relação dos constituintes poliméricos, proteínas e polissacarídeos, ao final do período de acompanhamento do sistema, resultado da variação na proporção entre ambos os constituintes, possivelmente como resposta da biomassa à presença de fenol no meio. As proteínas têm sido apontadas como um dos constituintes poliméricos dominantes nos PEC extraídos dos lodos ativados de diferentes ETEs tanto domésticas quanto industriais. Os resultados de alguns estudos indicam que principalmente as proteínas dos PEC contribuem para a hidrofobicidade do lodo ativado enquanto que os carboidratos encontram-se mais relacionados com a sua natureza hidrofílica (HIGGINS & NOVAK, 1997; JORAND et al., 1998). Em estudos realizados por WILÉN et al. (2003) foi verificado que as concentrações elevadas de proteínas nos PEC mostraram uma correlação positiva com a habilidade de floculação do lodo ativado. Estes resultados coincidiram com os resultados obtidos por HIGGINS &NOVAK (1997), os quais observaram que a remoção de proteínas dos agregados microbianos promoveu a desfloculação do lodo ativado.

Tabela 5.1 – Frequência relativa (%) do tamanho dos flocos microbianos após 8 dias de adaptação do lodo ao fenol nas cargas avaliadas.

Deq (µm)	Concentração de Fenol (ppm)						
	0	25	50	100	250	500	1000
0-100	30,4	49,4	50,5	51,8	49,2	40,0	41,6
100-200	48,2	45,1	43,9	43,6	42,6	50,0	54,5
200-300	13,6	4,9	5,0	3,6	7,3	7,2	3,6
300-400	4,5	0,7	0,3	0,3	0,6	2,5	0,3
400-500	2,3	0,0	0,3	0,3	0,3	0,3	0,0
500-600	0,7	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0
>600	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tem sido também constatado que as proteínas que compõem os PEC são principalmente constituídas de aminoácidos hidrofóbicos que devem promover a floculação. Neste estudo em particular, é possível que a biomassa tenha variado a composição dos PEC produzidos de forma a aumentar a hidrofobicidade do lodo e, consequentemente, a habilidade para flocular sob as condições experimentais avaliadas. Esta hipótese foi confirmada através das medidas do IVL após 8 dias de perturbação do lodo com as distintas concentrações de fenol apresentadas na **Figura 5.12**, onde observa-se que a adaptação do sistema à menor carga de fenol avaliada causou um decréscimo no IVL do lodo ativado.

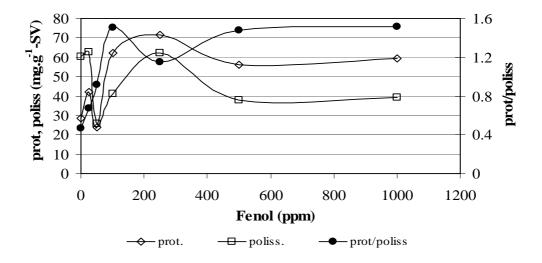


Figura 5.11 – Comportamento dos componentes dos PEC extraídos do lodo ativado aos 8 dias de aclimatação para as diferentes cargas de fenol testadas.

De acordo com estudos previamente realizados por JIN et al. (2003) sobre a relação existente entre a composição dos PEC e as propriedades de sedimentabilidade do lodo ativado de diferentes ETE's, tem sido comprovado que altas concentrações dos constituintes poliméricos aderidos ao lodo estão associadas a altos valores de IVL. Segundo estes autores, as proteínas como constituintes dominantes, possuem uma correlação mais forte com o IVL do que outros componentes dos PEC. Todavia, estes autores constataram que os lodos industriais tiveram uma composição de constituintes poliméricos diferente da composição exibida pelos PEC de lodos de ETEs municipais e que os mesmos não seguiram a tendência geral em relação ao IVL. Dentre estas ETEs, os autores ressaltaram a composição dos PEC extraídos do lodo da ETE de uma refinaria de petróleo, o qual apresentou em sua composição polimérica mais proteínas correspondendo a menores valores do IVL. Este lodo em particular era composto por flocos redondos, densos e pequenos com boas propriedades de compactação.

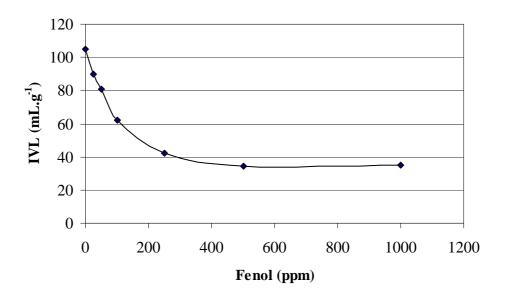


Figura 5.12 – Comportamento do IVL durante o período de aclimatação de 8 dias com as cargas de fenol avaliadas.

A perturbação com 50 ppm de fenol resultou em um decréscimo na turbidez específica do efluente ao final do intervalo de 8 dias de aclimatação do sistema segundo mostrado na **Figura 5.9**, sugerindo a adaptação da biomassa que compõe o lodo ativado à presença de fenol no meio. A distribuição de frequências relativas apresentada na **Tabela 5.1** e na **Figura 5.10**, demonstra que, nas condições experimentais avaliadas, o sistema permaneceu praticamente estável ao final dos 8 dias de aclimatação, verificando-se o equilíbrio entre os processos de desfloculação e refloculação do lodo ativado com um leve aumento do número

de flocos com *Deq* menor que 100 μm, bem como a diminuição do percentual de flocos com tamanhos na faixa de 100 – 200 μm e a formação de agregados com tamanhos entre 400 e 500 μm. Nestas condições houve ainda um aumento na relação de proteínas e polissacarídeos dos PEC extraídos do lodo ativado (**Figura 5.11**) e o consequente declínio no valor do IVL (**Figura 5.12**), indicando mais uma vez a adaptação do lodo às concentrações crescentes de fenol pela variação na composição dos PEC produzidos pela biomassa do lodo ativado.

Quando a carga de fenol foi duplicada para 100 ppm, observou-se novamente um aumento na turbidez específica do efluente ao final do período de acompanhamento da aclimatação, porém sob estas condições o impacto do fenol na atividade microbiana do lodo ativado foi menor que o obtido com a mínima carga testada, uma vez que o valor deste parâmetro não atingiu os níveis alcançados na adaptação do lodo ativado com 25 ppm de fenol o que demonstra uma vez mais o grau de adaptação da biomassa ao fenol presente no sistema. Este aumento em turbidez pode ter sido provocado pela elevação do percentual de agregados com *Deq* menor que 100 µm (**Figura 5.10**), apesar de que nestas condições também verificou-se o fenômeno de refloculação do lodo com a formação de flocos com tamanhos entre 500 e 600 µm. Semelhantemente às condições experimentais referentes à perturbação do sistema com 50 ppm de fenol, a alimentação do sistema com 100 ppm deste poluente resultou em aumento da relação proteína/polissacarídeo ligado ao decréscimo do valor do IVL sob as condições testadas, como resposta da biomassa a presença de fenol no sistema

O aumento da carga de fenol alimentada para 250 ppm praticamente não afetou o sistema RBS, o que foi comprovado pelas medidas de turbidez específica do efluente (Figura 5.9), cujo valor permaneceu quase constante após o período de 8 dias de aclimatação. Estes resultados coincidiram com a refloculação do lodo ativado nas condições estudadas segundo demonstrado na distribuição de frequências do *Deq* dos agregados microbianos (Figura 5.10), através da qual constatou-se o declínio da percentagem de flocos com dimensões menores que 200 µm e o aumento subsequente do percentual de flocos com dimensões no intervalo de 200 a 400 µm, o que prova uma vez mais a adaptação gradual do lodo ativado às concentrações crescentes de fenol no intervalo de concentrações avaliado até esse momento. No entanto, diferentemente às condições anteriores, a perturbação do sistema com 250 ppm de fenol não promoveu o aumento da relação dos constituintes poliméricos, mas verificou-se o aumento da concentração dos componentes individuais, o que também acarretou diminuição no IVL do lodo ativado.

Ao duplicar a carga de fenol no afluente do sistema (500 ppm), o lodo ativado exibiu um comportamento muito similar ao mostrado quando foi perturbado com 250 ppm de fenol. Estas evidências foram confirmadas pela medida de turbidez do efluente a qual apresentou uma pequena diminuição apontando o processo de refloculação do lodo, fenômeno que pôde ser constatado nos resultados apresentados na **Figura 5.10** e **Tabela 5.1**, em que o percentual de flocos com tamanhos menores que 100 μm diminuiu quase 10% em relação à percentagem obtida para este intervalo de tamanhos ao perturbar-se o sistema com 250 ppm de fenol. Em consequência, houve uma elevação do percentual de flocos com tamanhos na faixa de 200 a 500 μm, como mostra a refloculação do lodo ativado nas condições testadas. Nestas condições verificou-se novamente um aumento da relação dos componentes dos PEC extraídos do lodo, porém o IVL do lodo praticamente não variou mostrando uma tendência a alcançar um valor constante, conforme ilustrado na **Figura 5.12**.

Finalmente, após o período de aclimatação do sistema com a máxima carga de fenol testada (1000 ppm), constatou-se a elevação da turbidez específica do sobrenadante, evidenciando-se novamente o desequilíbrio no sistema causado pelo efeito tóxico do fenol quando presente nesta concentração sobre a atividade microbiana. Esta elevação na turbidez do efluente foi promovida pela desfloculação do lodo ativado de acordo com os resultados apresentados na **Figura 5.10** e **Tabela 5.1**, em que pode constatar-se a elevação no percentual de flocos microbianos com dimensões menores que 200 μm, associado à diminuição da percentagem de flocos com tamanhos no intervalo de 200 a 400 μm bem como a quebra total de flocos com tamanhos de 400 a 500 μm. Sob tais condições a relação dos componentes poliméricos e o IVL (**Figuras 5.11** e **5.12**, respectivamente) apresentaram valores similares aos exibidos pelo sistema para 500 ppm de fenol indicativo da tendência da biomassa em atingir um limite na capacidade de adaptação à altas concentrações de fenol na alimentação do sistema.

De modo geral, pode-se concluir que a presença de fenol no efluente alimentado ao sistema em concentrações na faixa de 25 a 1000 ppm promoveu a desfloculação do lodo ativado como pode ser constatado na **Figura 5.10** e **Tabela 5.1**, em que se observa o aumento global de 17,5% no número de flocos com *Deq* menor que 200 μm, o decréscimo de 14,3% de agregados com tamanhos no intervalo entre 200 e 400 μm, bem como a quebra total de flocos com *Deq* maior que 400 μm, o que ocasionou o aumento de sólidos no efluente tratado, o qual foi confirmado através das medidas de turbidez específica do efluente.

Com vista a conhecer a influência da concentração de fenol alimentada ao sistema RBS no *Deq* médio dos flocos microbianos foi estimado o valor médio deste para cada uma das

condições experimentais estudadas. Os resultados são apresentados na **Tabela 5.2** onde verifica-se que, imediatamente após a alimentação do sistema com a mínima carga de fenol testada (25 ppm) houve um decréscimo notável (27%) no tamanho médio dos flocos após 8 dias de aclimatação. É possível perceber ainda que a perturbação do sistema com as demais concentrações de fenol avaliadas não resultou em grandes variações no tamanho médio dos agregados microbianos, o que sugere uma vez mais a adaptação gradual do lodo ativado às cargas crescentes de fenol no meio, através da ativação do sistema enzimático para oxidação deste poluente bem como o desenvolvimento por parte da biomassa de mecanismos de proteção contra os efeitos de desfloculação provocados pelo fenol.

Tabela 5.2 - Valores médios do *Deq* dos flocos obtidos após a aclimatação do lodo ativado com as distintas concentrações de fenol aplicadas ao sistema RBS.

Carga de fenol (ppm)	Deq (µm)	Desvio Padrão
0	155.04	92.66
25	113.21	45.27
50	113.39	48.72
100	110.30	51.12
250	115.24	50.74
500	126.31	60.28
1000	116.70	40.83

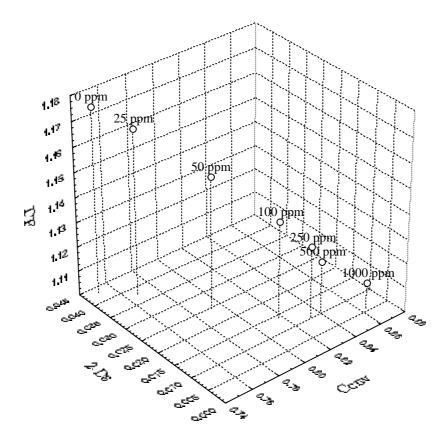
Estes dados experimentais foram tratados estatisticamente aplicando a técnica de análise de variância univariável (*one-way* ANOVA) com o intuito de corroborar a influência significativa da carga de fenol no tamanho do floco. Os resultados desta análise são apresentados na **Tabela 5.3**.

Tabela 5.3 – Influência da concentração de fenol no tamanho dos flocos de lodo ativado: ANOVA univariável.

Fonte de Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	P
Efeito	453975.8	6	75662.63	22.53332	0.0000
Erro	7279736	2168	3357.812	-	-
Total	7733711.8	2174	-	-	-

Os resultados da Análise de Variância confirmam a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as diferentes condições experimentais ao nível de 95% de confiança indicado pelo valor de probabilidade (p < 0,05), podendo comprovar a influência da concentração de fenol aplicada ao sistema.

A **Figura 5.13** mostra o comportamento dos valores médios dos parâmetros morfológicos *Porosidade* e *Dimensão Fractal* dos agregados após todo o período de aclimatação com as diferentes cargas de fenol testadas.



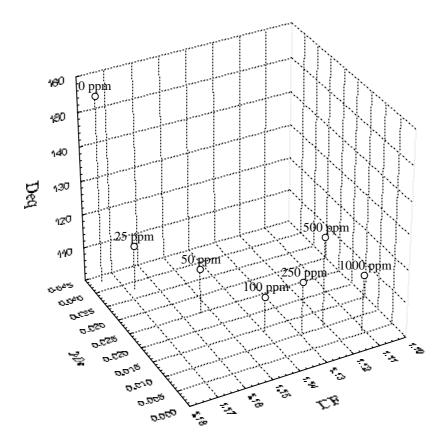
R(z/xy) Múltiple = 0.99793427, p = 0.00002

Figura 5.13 – Evolução dos parâmetros *Convexidade* (*Conv*), *Porosidade* (*2-Dɛ*) e *Dimensão Fratal* (*DF*) dos flocos após 8 dias de adaptação do sistema às cargas de fenol estudadas.

Pode ser constatado que o aumento gradual da concentração de fenol alimentada ao sistema, além de promover a desfloculação do lodo ativado, resultou na diminuição gradual dos parâmetros morfológicos *Porosidade* e *Dimensão Fractal*, bem como no aumento da *Convexidade* dos agregados microbianos, confirmando-se novamente a existência de uma correlação significativa (p < 0,05) entre tais parâmetros, cujo coeficiente de correlação foi de

0,998. Este resultado mostra que, em média, inicialmente os flocos que compunham o lodo ativado eram irregulares e porosos e que, ao final do processo de aclimatação com a máxima carga de fenol estudada, estes tornaram-se mais regulares, menos porosos e, portanto, mais densos que os flocos presentes inicialmente no sistema, o que pode ter favorecido a diminuição do valor do IVL do lodo ativado.

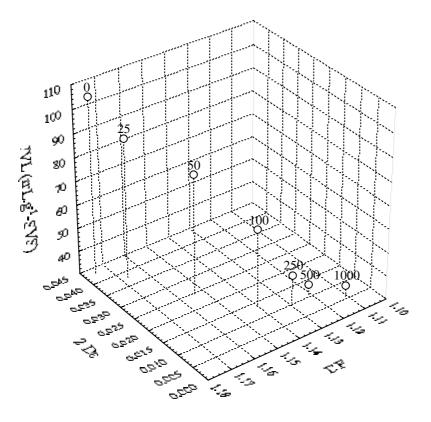
Da mesma forma, a **Figura 5.14** ilustra a evolução dos parâmetros *Porosidade*, *Dimensão Fractal* e *Deq* dos agregados microbianos após 8 dias de aclimatação do lodo ativado, na qual observa-se que, apesar de não haver uma correlação significativa entre estes parâmetros ao nível de 95% de confiança, os resultados sugerem a existência de uma tendência geral à diminuição da porosidade e irregularidade dos flocos microbianos com a diminuição do seu tamanho médio, à medida que se aumenta a concentração de fenol no afluente do sistema. Características morfológicas similares dos agregados presentes no lodo ativado da ETE de uma refinaria de petróleo foram observadas nos estudos efetuados por JIN *et al.* (2003).



R(z/xy) Múltiple= 0.669048577, p = 0.3051

Figura 5.14 – Correlação entre os parâmetros morfológicos *Porosidade* e *Dimensão Fractal* com o *Deq* dos flocos microbianos para as diferentes cargas de fenol testadas.

Na **Figura 5.15** são apresentados os valores referentes aos parâmetros morfológicos estimados e ao IVL do lodo ativado após 8 dias de adaptação do lodo ativado às cargas de fenol, cujos valores do coeficiente de correlação (0,985) e da probabilidade (p < 0,05) indicam que a relação entre estes parâmetros é significativa com 95 % de confiança.



R(z/xy) Múltiple = 0.984640354, p = 0.0009

Figura 5.15 – Relação dos parâmetros morfológicos *Porosidade* e *Dimensão Fractal* com o IVL do lodo ativado para as diferentes cargas de fenol testadas.

Os resultados obtidos demonstram que em ETEs por lodos ativados que tratam efluentes contendo poluentes que promovem a desfloculação do lodo ativado, tais como o fenol, levando à formação de flocos do tipo "pint-point", o IVL deve ser usado em combinação com outras medidas que indiquem desfloculação pelo aumento de sólidos em suspensão como a turbidez do efluente tratado, para monitorar a etapa de separação sólido – líquido, pois, como evidenciou-se neste estudo, o valor deste parâmetro tende a diminuir mostrando que em efeito a sedimentabilidade do lodo melhora, porém obtém-se um efluente com elevada turbidez e concentração de sólidos, o qual pode ser monitorado através das medidas de turbidez específica do efluente e dos parâmetros morfológicos estimados através da ADI.

5.2. AVALIAÇÃO COM O TEMPO DA BIODEGRADAÇÃO DO FENOL NO RBS EM DISTINTAS CONCENTRAÇÕES INICIAIS

De um modo geral, nos processos onde predominam fenômenos opostos como ativação e inibição, ou indução e repressão, a operação semi-contínua deve ser considerada na busca de rendimento e produtividade ótimos. Uma célula viva possui um complexo sistema de controle interno que envolve estes fenômenos expressos como inibição pelo substrato e/ou produto, repressão catabólica, dentre outros (PONS, 1991).

O emprego do nutriente limitante do crescimento celular como forma de controle do metabolismo é feito através de operações semi-contínuas, conhecidas na área biotecnológica como batelada alimentada. Por definição, a batelada alimentada tem como principal característica a existência de correntes de alimentação ou retirada, que podem ser feitas de forma contínua ou intermitente durante o processo. Assim, os bioprocessos são normalmente conduzidos em regime transiente (batelada ou batelada alimentada).

Dentre os sistemas de tratamento em batelada alimentada, o RBS tem recebido considerável atenção devido a que, entre outras vantagens, permite efetuar vários modos de enchimento, incluindo enchimento não aerado (alimentação sem aeração durante o período de enchimento), aerado (alimentação com aeração durante o enchimento) e parcialmente aerado (alternando períodos aerados e não-aerados durante o enchimento). Tem sido apontado que a estratégia de enchimento adotada tem um efeito significativo sobre a velocidade de crescimento microbiano, influenciando diretamente o desempenho do processo, particularmente a sedimentabilidade do lodo ativado, bem como os processos de nitrificação e desnitrificação (YU & GU, 1996).

Na maioria dos casos, prefere-se usar o modo de enchimento não-aerado aos modos aerado e parcialmente aerado, uma vez que estas estratégias podem ser aplicadas para a remoção simultânea de carbono orgânico, nitrogênio e fósforo sem adição de compostos químicos. No entanto, tem sido constatado que o tratamento de alguns efluentes industriais contendo compostos orgânicos altamente tóxicos em sistemas RBS com enchimento não aerado apresentam muitos problemas de operação. HSU (1986) relatou que o tratamento de efluentes da indústria petroquímica em sistema RBS com enchimento não aerado promoveu o crescimento celular disperso no reator. Os estudos desenvolvidos por BRENNER *et al.* (1992), usando reatores RBS para o tratamento de resíduos fenólicos com alta toxicidade,

mostraram que o período de enchimento não aerado prolongado resultou em altas concentrações de DQO no efluente tratado.

Tendo em vista estas evidências e visando sempre a melhoria no desempenho do bioprocesso quando se utiliza um sistema semi-contínuo, enfocando questões primordiais como a diferença nos índices de remoção de nitrogênio e fenol frente as diferentes formas de condução do processo, este trabalho avaliou duas alternativas de operação do processo de remoção biológica: o enchimento linear, otimizado por SOUZA (2000), e o enchimento com pulsos lineares apresentado por COELHO (1998).

Desta forma, o objetivo perseguido nesta etapa do trabalho foi avaliar o processo de remoção biológica de fenol, a manutenção de índices ótimos de remoção de nitrogênio e suas formas oxidadas, atendendo assim as restrições a serem cumpridas dos valores máximos de descarte permitidos pela legislação brasileira ora vigente. Foi feita uma comparação do desempenho do sistema RBS em ambas estratégias de enchimento avaliadas no tratamento do efluente sintético contendo fenol em diferentes concentrações. Os resultados obtidos a partir dos experimentos de biodegradação de fenol em distintas concentrações iniciais no efluente alimentado ao sistema RBS são apresentados a seguir.

A **Figura 5.16** apresenta os dados *on-line* obtidos para o oxigênio dissolvido em ambas as estratégias de enchimento avaliadas para os ensaios efetuados sem adição de fenol na alimentação. É possível evidenciar na estratégia de enchimento linear o declínio rápido no nível de oxigênio dissolvido logo após o início da fase anóxica, atingindo valor zero aos 290 minutos de operação e criando as condições anóxicas que promoveram o processo de desnitrificação. Entretanto, quando foi adotada a estratégia de enchimento pulsante constatouse o decréscimo lento da concentração de oxigênio no meio, não sendo possível atingir o valor zero ao final dos 360 minutos de tratamento. Consequentemente, não foram criadas as condições anóxicas no sistema, o que provavelmente afetou o processo de desnitrificação.

Adicionalmente, as **Figuras 5.17** e **5.18** comparam os perfis cinéticos dos níveis de oxigênio dissolvido adotando as duas estratégias de enchimento analisadas face a variação na concentração de fenol da alimentação.

Verifica-se que, para ambas as estratégias de enchimento estudadas, em todos os ensaios realizados o oxigênio dissolvido teve uma evolução similar em cada condição analisada, sugerindo uma adequada reprodutibilidade das condições experimentais.

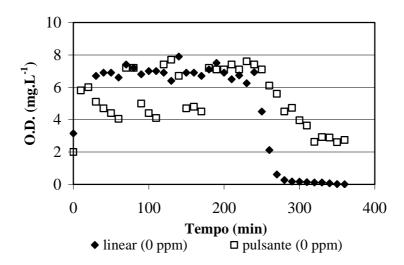


Figura 5.16 - Perfis da concentração de oxigênio dissolvido para ambas as estratégias de enchimento avaliadas durante os experimentos sem adição de fenol na alimentação.

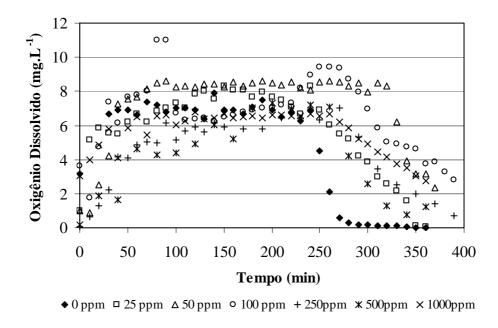
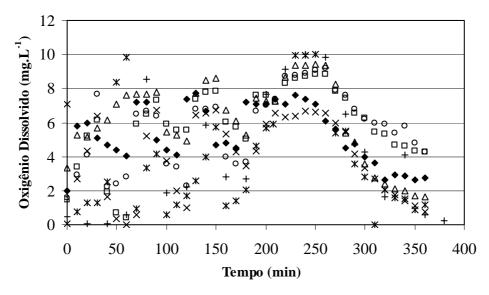


Figura 5.17 - Perfis da concentração de oxigênio dissolvido para a estratégia linear durante os experimentos com diferentes cargas iniciais de fenol.

Pode ser inferido ainda através da **Figura 5.17** que nos experimentos conduzidos aplicando a estratégia linear houve uma tendência a aumentar o tempo necessário para a saturação do meio com o oxigênio à medida que se aumentou a concentração inicial de fenol na alimentação. Isto pode ser explicado se considerarmos que a elevação gradual da carga de fenol promoveu um aumento da biomassa, atingindo-se ao final dos experimentos com a máxima carga de fenol aproximadamente duas vezes a concentração celular obtida no início

dos ensaios sem adição de fenol. Este acréscimo em biomassa promoveu a aceleração do metabolismo celular e, portanto, houve um maior consumo de oxigênio para oxidar a matéria orgânica presente no sistema. Silva *et al.* (2002) observaram o mesmo comportamento para este parâmetro durante os ensaios realizados empregando biomassa da mesma origem que a utilizada no presente trabalho e o mesmo sistema experimental aplicando concentrações de fenol na alimentação na faixa de 25 a 100 ppm. Os dados experimentais também mostraram um lento decréscimo na concentração de oxigênio dissolvido nos ensaios efetuados com as diferentes cargas iniciais de fenol ao término da aeração quando comparados com os dados referentes ao ensaio sem adição de fenol, onde observou-se um rápido decréscimo da concentração de oxigênio dissolvido no meio, o que pode ter influenciado negativamente no processo de desnitrificação na faixa de concentrações de fenol analisada.

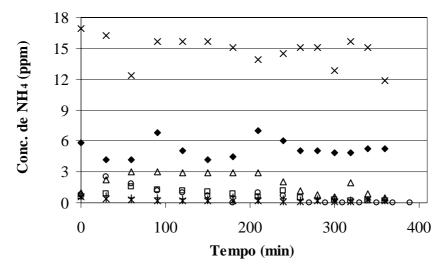
Entretanto, na **Figura 5.18** pode ser constatado que nos ensaios realizados aplicando a estratégia de enchimento pulsante à medida que se aumentou a concentração de fenol alimentada houve um decréscimo no nível máximo de oxigênio dissolvido nos intervalos de aeração do sistema, devido às mesmas causas que deram origem ao comportamento exibido pelo sistema nos ensaios efetuados aplicando o enchimento linear. Além disso, diferentemente dos ensaios efetuados aplicando o enchimento linear, na fase anóxica do processo conduzido com o enchimento por pulsos, não foi observada uma tendência definida no comportamento da concentração de oxigênio dissolvido com o aumento da carga de fenol no afluente alimentado ao sistema RBS.



♦ 0 ppm □ 25 ppm △ 50 ppm ○ 100 ppm + 250ppm × 500ppm × 1000ppm

Figura 5.18 - Perfis da concentração de oxigênio dissolvido para a estratégia pulsante durante os experimentos com diferentes cargas iniciais de fenol.

As **Figuras 5.19** e **5.20** mostram os dados referentes aos perfis cinéticos da remoção biológica de nitrogênio amoniacal para ambas as estratégias de enchimento avaliadas no presente estudo. É importante ressaltar que a adaptação da biomassa ocorreu paulatinamente, o que permitiu a adaptação do sistema enzimático microbiano para atuar em concentrações crescentes de fenol. Em todos os casos, foi utilizado no processo de aclimatação um período de, no mínimo, 15 dias para efetuar mudanças nas condições experimentais.



◆ 0 ppm □ 25 ppm △ 50 ppm ∘ 100 ppm + 250 ppm **×** 500 ppm × 1000 ppm

Figura 5.19 - Perfis da remoção de nitrogênio amoniacal obtida na estratégia de enchimento linear face a variação da concentração de fenol na alimentação em função do tempo.

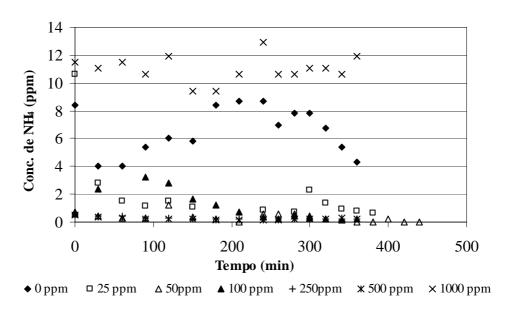


Figura 5.20 - Perfis da remoção de nitrogênio amoniacal obtidos na estratégia de enchimento pulsante face a variação da concentração de fenol na alimentação em função.

Pode ser constatado na avaliação da remoção de nitrogênio amoniacal com o tempo, que independente da estratégia de enchimento aplicada, durante a fase de aeração houve oxidação contínua deste íon nos ensaios realizados com concentrações iniciais de fenol de 25 até 500 ppm, uma vez que este composto não acumulou no sistema durante o ciclo de operação do RBS. Ainda pode ser constatado que a concentração de NH₄⁺ atingida ao final de 360 min de operação foi inferior aos níveis de descarte exigidos pelo CONAMA 357/2005 (10 ppm) para ambas as estratégias de enchimento aplicadas nos ensaios efetuados nestas condições experimentais.

Verifica-se também a partir de ambas as **Figuras 5.19** e **5.20** que, à medida que a concentração inicial de fenol aumentou de 0 a 500 ppm, a concentração de nitrogênio amoniacal diminuiu no efluente tratado. É possível que sob as condições avaliadas, a adaptação gradual da biomassa tenha promovido altos percentuais de biodegradação de nitrogênio amoniacal no sistema RBS em estudo. No entanto, observa-se que, independente da estratégia de enchimento aplicada, nos ensaios em que o sistema foi alimentado com 1000 ppm de fenol houve inibição considerável do processo de remoção biológica de NH₄⁺ na fase aerada do ciclo de operação, atingindo-se uma concentração de 12 ppm nitrogênio amoniacal ao final do tratamento que se encontra acima da concentração de descarte prescrita pela legislação brasileira (CONAMA 357/2005) nas duas estratégias de enchimento adotadas.

A **Figura 5.21** relaciona os perfis cinéticos da remoção de nitrato (NO₃⁻) obtidos nos ensaios sem adição de fenol na alimentação aplicando as duas estratégias de enchimento estudadas, onde pode ser verificado que no ensaio efetuado adotando o modo de enchimento linear durante a fase de aeração não houve acúmulo de NO₃⁻ no meio, produzindo um leve decréscimo na concentração deste íon ao final da fase anóxica, indicativo do processo de desnitrificação, sendo possível obter ao final do tratamento um nível de NO₃⁻ próximo ao valor prescrito para o lançamento deste íon nos corpos d'água (10 ppm). No ensaio adotando a estratégia pulsante observou-se um acúmulo de NO₃⁻ como indício do processo de nitrificação, porém constatou-se que a partir dos 260 minutos de operação (início da fase anóxica) houve uma produção acelerada de tal íon no sistema até quase o final do ciclo de operação comprovando-se assim a baixa eficiência do processo de desnitrificação quando se emprega este modo de enchimento, o que resultou em uma concentração de NO₃⁻ superior aos níveis de descarte prescritos pela legislação brasileira.

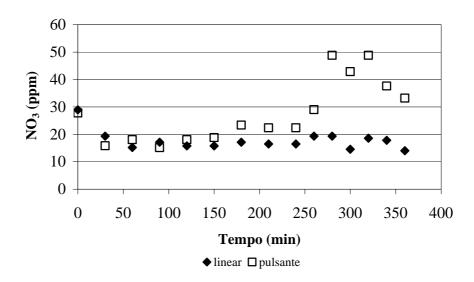
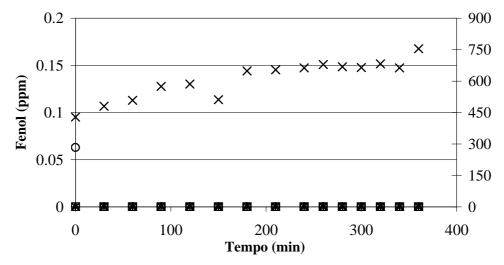


Figura 5.21 - Perfis da remoção de nitrato obtidos nas estratégias de enchimento linear e pulsante sem adição de fenol.

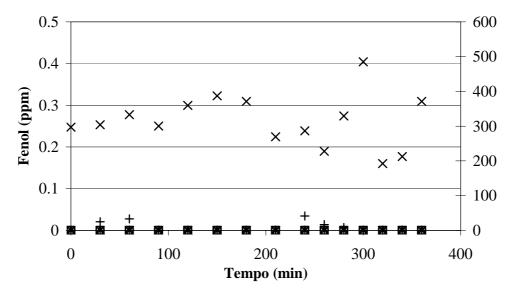
Quando os ensaios foram efetuados com cargas crescentes de fenol na alimentação (dados não apresentados) verificou-se que na estratégia pulsante em nenhuma das concentrações de fenol avaliadas o sistema conseguiu atingir o limite de descarte exigido pela resolução CONAMA 357/2005, enquanto que nos ensaios realizados adotando o modo linear de enchimento o sistema RBS mostrou-se eficiente na remoção deste íon, o qual pode ser explicado com base em que a estratégia de enchimento linear favorece o processo de desnitrificação.

A evolução da concentração de fenol nos ensaios efetuados adotando as duas estratégias de enchimento avaliadas aplicando diferentes cargas iniciais de fenol é mostrada nas **Figuras 5.22** e **5.23**. De acordo com estes resultados é possível verificar que nas duas estratégias de enchimento adotadas, o fenol foi completamente removido no intervalo de concentrações de 25 a 500 ppm e sua biodegradação iniciou-se logo após a alimentação do efluente ao sistema. Tal comportamento foi diferente do obtido nos estudos efetuados por AMOR *et al.* (2005) sobre biodegradação de fenol em sistemas por lodos ativados sem prévia aclimatação. Estes autores comprovaram que sob tais condições existiu um período de aclimatação ou fase lag do lodo ativado antes de iniciar a oxidação do fenol.



□ 25 ppm △ 50 ppm ○ 100 ppm + 250 ppm ★ 500 ppm ★ 1000 ppm (eixo secundário)

Figura 5.22 - Perfis da remoção de fenol obtidos na estratégia de enchimento linear face a variação da concentração de fenol na alimentação.



 \square 25 ppm \triangle 50 ppm \bigcirc 100 ppm + 250 ppm \bigcirc 300 ppm \bigcirc 1000 ppm (eixo secundário)

Figura 5.23 - Perfis cinéticos da remoção de fenol obtidos na estratégia de enchimento pulsante face a variação da concentração de fenol na alimentação.

Ainda verifica-se que a presença de fenol no efluente em concentração de 1000 ppm inibiu sua biodegradação ao aplicar as duas estratégias de enchimento. Ao se adotar a estratégia linear observou-se um acúmulo de fenol no meio durante a fase aerada mantendo-se constante a concentração deste composto durante a fase anóxica. Ao final do ciclo de 360 minutos, obteve-se uma concentração de fenol no sistema maior que a concentração

observada ao início do processo de tratamento, indicando acúmulo do poluente no reator. No ensaio efetuado aplicando o enchimento por pulsos simétricos, observou-se também um acúmulo de fenol nos primeiros 180 minutos da fase aerada, porém a partir desse momento constatou-se uma tendência à queda na sua concentração até o final do tratamento com valores inferiores a sua concentração no início do ensaio, refletindo uma pequena biodegradação do poluente.

Finalmente, os percentuais de remoção para os componentes analisados (nitrato, amônia, DQO) obtidos em função da variação da carga de fenol aplicada ao sistema para ambas as estratégias avaliadas são mostrados nas **Tabelas 5.4** e **5.5**, onde a análise dos perfis revela uma tendência similar nas duas estratégias adotadas. Adicionalmente, constata-se que os índices de remoção de todos os componentes apresentaram-se no intervalo de 80-100% de remoção até o limite de 500 ppm de fenol, excetuando a remoção de DQO a qual caiu para 20% na estratégia experimental conduzida com enchimento linear. O desempenho do processo foi significativamente prejudicado ao aumentar a carga inicial de fenol para 1000 ppm, o que foi comprovado pela ausência de remoção de fenol, DQO e amônia observando-se um acúmulo gradual destes compostos ao longo dos 360 minutos de operação. Da mesma forma observadas oscilações nos níveis de NO₃- durante o processo para ambas as estratégias de enchimento, indicativo da afetação dos processos de nitrificação e desnitrificação ao se alimentar esta carga de fenol durante o ciclo de operação.

Tabela 5.4 - Percentuais de remoção alcançados para os componentes analisados face a variação da carga de fenol aplicada ao sistema para a estratégia de enchimento linear.

Fenol	Amonia	Nitrato	DQO
100,0	98,3	97,0	99,6
100,0	99,3	95,7	99,8
100,0	100,0	93,9	99,1
100,0	100,0	72,5	86,3
100,0	97,4	84,3	95,3
100,0	98,6	95,5	19,4
	100,0 100,0 100,0 100,0 100,0	100,0 98,3 100,0 99,3 100,0 100,0 100,0 100,0 100,0 97,4	100,0 98,3 97,0 100,0 99,3 95,7 100,0 100,0 93,9 100,0 100,0 72,5 100,0 97,4 84,3

Tabela 5.5 - Percentuais de remoção alcançados para os componentes analisados face a variação da carga de fenol aplicada ao sistema para a estratégia de enchimento por pulsos simétricos.

	Fenol	Amonia	Nitrato	DQO
Оррт	100,0	99,6	96,6	99,8
25ppm	100,0	99,0	95,5	99,8
50ppm	100,0	98,8	89,4	99,5
100ppm	100,0	98,2	40,8	92,8
250ppm	100,0	97,6	75,5	94,3
500ppm	100,0	98,0	98,0	94,9

5.3. CONCLUSÕES PARCIAIS

Em relação à etapa de aclimatação pode ser concluído que:

- Os resultados experimentais mostraram que concentrações crescentes de fenol no intervalo de 25 a 1000 ppm no afluente durante a fase de aclimatação do sistema RBS não inibiram a remoção biológica de nitrogênio amoniacal. De igual forma, cargas de fenol na faixa de 25 a 250 ppm não afetaram a remoção deste composto, porém em concentrações acima de 500 ppm o fenol acumulou-se no meio, reduzindo a eficiência de remoção deste composto.
- Concentrações crescentes de fenol na alimentação favoreceram o crescimento celular no sistema, verificando-se uma elevação da concentração de biomassa.
 Porém a velocidade de crescimento celular diminuiu com o aumento da carga de fenol o que correspondeu com o acúmulo de fenol no meio sob tais condições.
- A presença de fenol no efluente alimentado ao sistema em concentrações na faixa de 25 a 1000 ppm promoveu a desfloculação do lodo ativado obtendo-se um aumento global de 17,5% no número de flocos com *Deq* menor que 200 μm, um decréscimo de 14,3% de agregados com tamanhos no intervalo entre 200 e 400 μm, bem como a quebra total de flocos com *Deq* maior que 400 μm, o que ocasionou o aumento de sólidos no efluente tratado, o qual foi confirmado através das medidas de turbidez especifica do efluente.
- A relação dos componentes poliméricos proteínas/polissacarídeos aumentou com a elevação sequencial da concentração de fenol até atingir um valor praticamente constante a partir de 500 ppm de fenol, enquanto que o IVL do lodo decresceu até alcançar um valor constante após o período de 8 dias de aclimatação.
- A análise de variância referente aos valores médios do Deq em cada uma das condições experimentais mostrou que o fenol exerce efeito significativo sobre o tamanho dos flocos microbianos ao nível de 95% de confiança.
- O aumento gradual da concentração de fenol alimentada ao sistema, além de promover a desfloculação do lodo ativado, resultou na diminuição sucessiva dos parâmetros morfológicos *Porosidade* e *Dimensão Fractal* bem como na *Convexidade* dos agregados microbianos, os quais exibiram uma correlação

significativa (p < 0,05) com um coeficiente de 0,998, o que mostra que este aumento sequencial da concentração de fenol provocou variações na morfologia dos flocos tornando-os mais regulares, menos porosos e, portanto, mais densos que os flocos presentes inicialmente no sistema, promovendo a diminuição do IVL do lodo ativado.

 Os resultados também indicaram a existência de uma tendência geral à diminuição da *Porosidade* e irregularidade dos flocos microbianos com a diminuição do seu tamanho médio na medida que se aumentou a concentração de fenol no efluente alimentado ao sistema.

Quanto aos ensaios de variação com o tempo conclui-se que:

- Na estratégia pulsante o oxigênio dissolvido não tendeu a zero, o que favoreceu o
 processo de nitrificação, enquanto que na estratégia linear o mesmo tendeu a zero
 promovendo a desnitrificação.
- Independente da estratégia aplicada, nos experimentos onde a concentração de fenol variou de 0 até 500ppm, a concentração de NH₄⁺ atingida ao final de 360 min de operação foi inferior aos níveis de descarte exigidos pelo CONAMA (10 ppm), enquanto que nos experimentos com 1000 ppm de fenol, para ambas as estratégias, a elevada carga deste componente orgânico gerou alta instabilidade ao meio.
- A estratégia pulsante não atingiu o limite de descarte de NO₃ exigido pelo CONAMA 357/2005(10 ppm), enquanto que a estratégia linear mostrou-se eficiente na remoção deste íon.
- Nas duas estratégias de enchimento adotadas, o fenol foi completamente removido no intervalo de concentrações de 25 a 500 ppm, enquanto que a presença de fenol no efluente em concentração de 1000 ppm inibiu sua biodegradação.
- Os níveis de remoção alcançados para os componentes analisados (nitrato, amônia, DQO) face a variação na carga de fenol aplicada ao sistema mostraram uma tendência similar nas duas estratégias adotadas (linear e pulsante). Os índices de remoção de todos os componentes apresentaram-se na faixa de 80-100% de remoção até o limite de 500 ppm de fenol, exceto para a remoção de

DQO que foi 20% nesta condição experimental adotando enchimento linear. O desempenho do processo foi significativamente prejudicado ao aumentar-se a carga inicial de fenol para 1000 ppm, observando-se um acúmulo de fenol, DQO e nitrogênio amoniacal ao longo do processo bem como oscilações nos níveis de NO₃ do sistema, indicativo da instabilidade do sistema frente a esta carga de fenol e afetação considerável dos processos de nitrificação e desnitrificação.

CAPÍTULO 6. IDENTIFICAÇÃO DE PROTOZOÁRIOS E METAZOÁRIOS

Os principais resultados referentes à identificação dos protozoários e metazoários obtidos através das duas técnicas de análise multivariável, *Análise Discriminante – AD* e *Redes Neurais – RN*, são apresentados neste capítulo. Para todas as técnicas, foram realizados vários procedimentos de classificação, entre eles o reconhecimento global dos protozoários e metazoários, grupos principais de protozoários e metazoários, grupos de protozoários ciliados, bem como os indicadores da qualidade do efluente, aeração, idade do lodo e nitrificação.

Previamente à aplicação das técnicas de análise multivariável dos parâmetros morfológicos, os microrganismos incluídos no estudo foram separados em duas classes facilmente reconhecíveis: pedunculados e não pedunculados. Esta separação foi efetuada pelo usuário, por ser o pedúnculo uma estrutura muito simples de reconhecer e teve como objetivo simplificar e reduzir o tempo da análise das imagens pelo programa.

Adicionalmente, os dados foram separados em um grupo de treino, composto por 67 indivíduos de cada um dos 23 grupos excetuando *Trochilia* e *Aelosoma* com 46 indivíduos, *Opercularia* sp. com 47 indivíduos, *Digononta* com 57 indivíduos, *Nematoda* com 37 indivíduos, *Suctoria* com 36 indivíduos, *Tritighmostoma* sp. com 78 indivíduos, *Epystilis* sp. com 96 indivíduos, *A. cicada* com 134 indivíduos e *Trachellophylum* com 86 indivíduos. Para a validação dos resultados foi utilizado um grupo diferente de 33 organismos (grupo teste) de cada um dos 23 grupos, com exceção daqueles mencionados anteriormente nos quais foram utilizados os mesmos organismos do processo de identificação, devido ao número limitado de indivíduos encontrados nas amostras analisadas.

6.1 ANÁLISE DISCRIMINANTE

A Análise Discriminante (AD) foi efetuada com as combinações possíveis entre os microrganismos para todos os grupos, em um total de 28 para o grupo de pedunculados e 78 para o grupo de não-pedunculados.

No processo de validação, com vista a determinar cada grupo de microrganismos, foram analisadas as combinações entre cada par de grupos. Primeiramente, foi determinada a

posição de cada um dos microrganismos teste no novo espaço de variáveis e esta posição foi relacionada com a posição média de cada classe de microrganismos. A cada microrganismo foi atribuída a classe mais próxima (com a menor diferença entre a posição do microrganismo e a posição média da classe), desde que essa distância não fosse superior a um fator do desvio padrão da classe. Foram testados diversos valores para esse fator entre 0,25 e 5,0 sendo escolhido o melhor. Para o grupo dos sésseis o valor que se revelou melhor foi o de 5,0, enquanto que para os não sésseis o melhor valor foi de 2,75, sendo estes valores analisados para a totalidade das classes. Este procedimento foi aplicado para todas as combinações possíveis de classes de microrganismos.

Os resultados obtidos na identificação global dos microrganismos são apresentados na **Tabela 6.1**. Neste trabalho *aci* representa *Aspidisca cicada, ael* representa *Aelosoma* sp., *arc* representa Arcella sp., *car* representa *Carchesium* sp., *col* representa *Coleps* sp., *epi* representa *Epistylis* sp., *epi/ope* representa organismos identificados como Epistylis sp. e Opercularia sp. *eug* representa *Euglypha* sp., *eup* representa *Euplotes* sp., *dig* representa a ordem Digononta sp., *lit* representa *Litonotus* sp., *mon* representa a ordem Monogononta, *nem* representa a subclasse Nematoda, *ope* representa *Opercularia* sp., *per* representa *Peranema* sp., *suc* representa a sub-classe Suctoria, *tra* representa a *Trachelophyllum* sp., *vaq* representa *Vorticella aquadulcis*, *vco* representa *Vorticella convalaria*, *vmi* representa *Vorticella microstoma*, *vaq* representa *Vorticella aquadulcis*, *zoo* representa *Zoothamnium* sp., *NI* representa não-identificados.

O Percentual de Reconhecimento dos protozoários foi estimado como a razão entre Número de microrganismos corretamente classificados numa dada classe e o Número Total de microrganismos analisados. Entretanto, o percentual de classificação errônea foi calculado de duas formas distintas: O primeiro Percentual de Classificação Errônea (% Erro 1) é calculado dividindo o Número de microrganismos incorretamente classificados em uma dada classe pelo Número de microrganismos corretamente classificados nessa classe. O segundo Percentual de Classificação Errônea (% Erro 2) é estimado como o Número de microrganismos incorretamente classificados em uma dada classe dividido pelo Número de microrganismos corretamente classificados nessa classe multiplicado pelo fator de proporcionalidade (Número de microrganismos nessa classe dividido pelo Número total de microrganismos). O primeiro erro foi utilizado para realizar uma análise do nível de desclassificação dos grupos microbianos, enquanto que o segundo erro representou os Percentuais globais de classificação errônea.

Tabela 6.1 - Reconhecimento de microrganismos pela técnica de Análise Discriminate.

O Percentual de Reconhecimento global foi 84,9%, enquanto que o Percentual de classificação errônea foi 14,7%; entretanto 0,4 % dos organismos incluídos no estudo não foi identificado. Estes valores podem ser considerados razoáveis em termos de reconhecimento global de protozoários e metazoários. Os Percentuais de Reconhecimento e Classificação Errônea são comparáveis aos valores obtidos por AMARAL (2003) (85,1% e 13,3%, respectivamente) ao aplicar a mesma técnica de análise multivariável para o reconhecimento e classificação de um grupo semelhante de protozoários e metazoários, excetuando Coleps sp.

O nível de identificação dos diferentes grupos microbianos é ilustrado na Tabela 6.2.

Tabela 6.2 – Níveis de reconhecimento e desclassificação dos grupos microbianos alcançados pela técnica de *AD*.

		Recon	hecimento		Classificação errônea			
	Pobre (<75%)	Razoável (75-90%)	Bom (90-95%)	Excelente (>95%)	Pobre (>25%)	Razoável (10-25%)	Boa (5-10%)	Excelente (<5%)
aci		X						X
ael	X			X				X
arc				X			X	
car	X				X			
col				X				X
dig		X				X		
epi		X			X			
ep/op	X				X			
eug				X		X		
eup		X				X		
lit				X				X
mon		X				X		
nem				X				X
ope		X				X		
per				X				X
suc		X					X	
tra				X				X
tri		X					X	
tro				X		X		
vaq	X					X		
vco		X				X		
vmi	X				X			
<i>zoo</i>	X				X			
Total	5	9	-	9	5	8	3	7

Verifica-se que dos 23 grupos avaliados, 18 mostraram percentuais de reconhecimento correspondentes aos níveis razoável a excelente, assim como 5 grupos apresentaram um nível pobre de reconhecimento. Entretanto, 18 grupos tiveram percentuais de classificação errônea de razoável a excelente, enquanto que 5 deles exibiram um nível de classificação errônea pobre, o qual apesar de não ser considerado um resultado positivo, não compromete o presente trabalho, uma vez que os organismos com níveis pobres de reconhecimento e

classificação errónea são, de modo geral, indicadores de condições satisfatórias do tratamento, a exceção de *V. microstoma* cuja presença nos tanques de aeração é indicativa de condições criticas de operação tais como pobre qualidade do efluente tratado e baixo nível de aeração do sistema. Ainda constata-se que todos os grupos com resultados pobres de reconhecimento e classificação foram pedunculados, excetuando *Aelosoma* sp., e que todos os protozoários não pedunculados e metazoários analisados alcançaram percentuais de reconhecimento e classificação errônea relativos aos níveis razoável a excelente.

Estes resultados podem ser considerados bastante bons se considerarmos a complexidade da aquisição das imagens de alguns grupos microbianos como os ciliados móveis de fundo, que se movem sobre a superficie dos flocos, e os ciliados nadadores com elevada mobilidade e carência de semelhança axial, tornando difícil a identificação das estruturas externas.

A Tabela 6.3 ilustra os dados obtidos na identificação dos principais grupos de protozoários e metazoários, enquanto que a Tabela 6.4 apresenta os resultados para os principais grupos de ciliados. Observa-se que tanto para a identificação dos principais grupos de protozoários e metazoários (flagelados, ciliados, sarcodinas, e metazoários) como para a identificação dos principais grupos de ciliados (carnívoros, móveis de fundo, nadadores, sésseis e não-sésseis) o *Percentual de Reconhecimento* global foi bastante elevado (97,4 e 97,2%, respectivamente) não sendo registrados problemas significativos de reconhecimento errôneo em ambos os processos classificatórios, sendo estes percentuais análogos aos alcançados no estudo desenvolvido por AMARAL (2003).

Tabela 6.3 – Reconhecimento dos principais grupos de protozoários e metazoários por AD.

	Flagelados	Ciliados	Sarcodinas	Metazoários	NI
Flagelados	33	0	0	0	0
Ciliados	0	540	11	1	3
Sarcodinas	0	2	85	0	0
Metazoários	1	2	0	102	0
% Rec.	100,0	97,3	97,7	97,1	0,4
% Erro 1	2,9	0,7	11,5	1,0	
% Erro 2	0,1	1,8	1,6	0,2	

Tabela 6.4 – Reconhecimento dos principais grupos de ciliados por AD

		Móveis de			Não-	
	Carnívoros	Fundo	Nadadores	Sésseis	Ciliados	NI
Carnívoros	80	1	0	1	1	1
Móveis de Fundo	0	148	0	0	11	1
Nadadores	0	0	43	0	0	0
Sésseis	1	0	0	266	0	1
Não-Ciliados	2	2	0	0	221	0
% Rec.	95,2	92,5	100,0	99,3	98,2	0,4
% Erro 1	3,6	2,0	0,0	0,4	5,2	
% Erro 2	0,5	0,5	0	0,2	2,2	

Os *Percentuais de Reconhecimento* e *Classificação Errônea* dos grupos indicadores das condições operacionais da ETE (qualidade do efluente, aeração, idade do lodo e nitrificação) são mostrados nas **Tabelas 6.5** a **6.8**.

De acordo com MADONI (1994a), e CANLER et al. (1999) existe uma relação entre os diferentes grupos de protozoários e metazoários incluídos no presente estudo com as condições operacionais da estação de tratamento. Segundo estes autores as espécies pertencentes aos gêneros Opercularia sp., Trachelophyllum sp., bem como V. microstoma são indicadores de baixa qualidade do efluente; entretanto Aelosoma sp., Arcella sp., Carchesium sp., Epistylis sp., Euglypha sp., Euplotes sp., ordem Monogononta, Peranema sp., Trithigmostoma sp. Trochilia sp., V. aquadulcis e Zoothamnium sp., indicam alta qualidade do efluente tratado.

Por outra parte, a presença de organismos da sub-classe Nematoda, além de *Opercularia* sp. e *V. microstoma* apontam para pobre aeração do sistema (abaixo de 0.2-0.5 mg O₂.L⁻¹), enquanto que *Aelosoma* sp., *Carchesium* sp., *Euglypha* sp., *Arcella* sp., ordem Monogononta, *Trochilia* sp., *V. aquadulcis* e *Zoothamnium* sp. são indicadores de oxigenação satisfatória (acima de 1-2 mg O₂.L⁻¹).

A presença nos tanques de aeração de *Peranema* sp. e *V. microstoma* é um indício de lodos frescos (uns poucos dias), enquanto que como indicadores de lodos velhos (20 dias ou mais) tem sido relatados *Aelosoma* sp., *Arcella* sp., *Euglypha* sp., e as ordens Digononta e Monogononta.

O processo de nitrificação pode ser inferido pela presença no tanque de aeração de indivíduos dos gêneros *Aelosoma* sp., *Arcella* sp., *Carchesium* sp., *Coleps* sp., *Epistylis* sp., *Euplotes* sp., *Trochilia* sp. e da ordem Monogononta.

Tabela 6.5 – Avaliação da qualidade do efluente.

	Qualidade do Efluente				
_	Alta	Média	Baixa	NI	
Alta	416	19	14	0	
Média	34	194	2	2	
Baixa	6	3	89	1	
% Rec.	92,7	83,6	89,9	0,4	
% Erro 1	8,8	10,2	15,2		
% Erro 2	13,0	4,8	2,6		

Tabela 6.6 – Avaliação da aeração.

_	Aeração				
_	Alta	Média	Baixa	NI	
Alta	235	16	13	0	
Média	26	409	3	2	
Baixa	6	4	65	1	
% Rec.	89,0	93,0	85,5	0,4	
% Erro 1	12,0	4,7	19,8		
% Erro 2	6,9	6,3	2,7		

Tabela 6.7 – Avaliação da idade do lodo

	Idade do Lodo				
•	Fresco	Médio	Velho	NI	
Fresco	56	9	0	1	
Médio	17	511	12	2	
Velho	0	4	168	0	
% Rec.	84,8	94,3	97,7	0,4	
% Erro 1	23,3	2,5	6,7		
% Erro 2	2,8	5,8	2,0		

Tabela 6.8 – Avaliação da nitrificação.

		Nitrificação	
	Presença	Nenhuma Indicação	NI
Presença	243	35	0
Nenhuma Indicação	39	460	3
% Rec.	87,4	91,6	0,4
% Erro 1	13,8	7,1	
% Erro 2	8,9	13,7	

O reconhecimento global para a caracterização da qualidade do efluente alcançou um valor de 89,6%, o erro de classificação errônea foi de 10% enquanto que 0,4% dos organismos avaliados não foram identificados. Os resultados das condições de aeração mostraram que 90,9% dos organismos foram reconhecidos pela técnica de AD, 8,7% foram incorretamente classificados e 0,4% não foram identificados. Os dados relativos à idade do lodo indicaram um Percentual de Reconhecimento da ordem 94,3%, erro de reconhecimento errôneo de 5,4%, não sendo identificados 0,4% dos indivíduos incluídos na análise. Estes níveis de reconhecimento são muitos semelhantes aos alcançados no trabalho de Amaral (2003). No entanto, nas análises individuais de cada parâmetro foram observadas algumas diferenças nos percentuais de reconhecimento da qualidade do efluente e da aeração do sistema (Tabelas 6.5 e 6.6), observando-se uma melhora considerável do número dos organismos indicadores de qualidade média do efluente e da aeração (85,3 e 93,0%, respectivamente) em comparação com valores obtidos por Amaral para estes parâmetros (76,0 e 80,0%, respectivamente), o que permite melhorar o diagnóstico da operação da ETE sob estas condições. De igual forma, constatou-se um decréscimo no grau de reconhecimento dos grupos microbianos indicadores de baixa aeração (85,5%) (Tabela 6.6) em comparação com o valor observado por Amaral (2003) (92,8%), o que diminui a possibilidade de fazer um diagnóstico confiável da operação das ETEs em tais condições.

Quanto à análise do processo de nitrificação (**Tabela 6.8**), observou-se também um declínio no nível de reconhecimento dos organismos indicadores da presença de processo de nitrificação (85,7%) em relação ao valor alcançado por AMARAL (2003) (90,3%).

Entretanto, a análise da idade do lodo mostrou melhoras em relação ao estudo desenvolvido por AMARAL (2003), observando-se uma elevação notável no *Percentual de Reconhecimento* dos grupos indicadores de lodos frescos de 78,0 para 84,8%, o que também contribui para uma melhor avaliação das condições operacionais das ETEs.

De modo geral pode ser concluído que em relação a avaliação das ETEs os resultados globais se mostraram razoáveis tanto em relação às condições operacionais quanto aos níveis de classificação errôneos dos grupos microbianos avaliados. No entanto, na avaliação das condições críticas de operação, tais como qualidade do efluente, aeração baixa e lodos frescos, os *Percentuais de Reconhecimento* e *Classificação Errônea* mostraram-se razoáveis para tais condições.

6.2 REDES NEURAIS

O reconhecimento dos grupos de protozoários e metazoários após a análise das imagens digitais foi também efetuado aplicando a técnica de *Redes Neurais* (*RN*). Para os organismos sésseis foi programada uma *RN* composta por duas camadas do tipo *feed forward* com algoritmo de retropropagação. O número de nodos testados foi de 10/10 e 15/10 para a primeira e segunda camada, respectivamente. Foram estudadas duas funções de treino do algoritmo de retropropagação: otimização Levenberg-Marquardt e otimização resiliente com a função de aprendizagem do tipo algoritmo descendente. Foram efetuadas para cada uma destas configurações 100 testes com valores iniciais diferentes até o máximo de 500 iterações cada teste. Para os organismos não-sésseis, o número de nodos testado foi de 18/18 e 11/18, respectivamente para a primeira e segunda camada, sendo avaliada a função de treino de otimização resiliente do algoritmo de retropropagação com a função de aprendizagem do tipo gradiente descendente. Semelhante aos organismos sésseis, para cada uma destas configurações foram realizados 100 testes com valores iniciais diferentes até o máximo de 500 iterações cada teste.

No processo de validação para determinar cada grupo de microrganismos foram examinadas todas as combinações entre cada par de grupos. A aplicação das *RN* visou obter um valor de saída de 1 para os grupos microbianos corretamente classificados e 0 para os grupos incorretos. Adicionalmente, cada par de grupos microbianos foi atribuído ao grupo com valor de saída maior que 0,01. Uma vez que este procedimento foi aplicado para todas as possíveis combinações, cada indivíduo foi atribuído ao grupo onde foi encontrada a maioria dos microrganismos.

Os valores obtidos para a identificação dos grupos microbianos são ilustrados na **Tabela 6.9**. O *Percentual de Reconhecimento* global alcançado teve um valor de 84,5%, o *Percentual de Classificação Errônea* foi de 14,8% e 0,8% dos organismos não foram identificados. Estes resultados, além de serem semelhantes aos resultados atingidos pela técnica de *AD* aplicada anteriormente são similares aos obtidos no estudo realizado por AMARAL (2003) ao empregar a mesma técnica estatística e podem ser considerados razoáveis em termos de reconhecimento dos grupos de protozoários bem como em relação ao grau de reconhecimento errôneo obtido.

Tabela 6.9 - Reconhecimento de microrganismos pela técnica de Redes Neurais.

	aci	ael	arc	car	col	dig	epi	ao/aə	вив	amə	ļij	mon	mou	000	nor	JIIS	tro.	1	teo	2000	991	in	900	N
aci	28	0	0	0	-	0	0	0	0	-	c	0	0	٥	0	9	-	9	,	-	2	<	3	,
ael	0	22	0	0	0	-	0	•			•	•	•	•	•	•	- <	> <	4 (> <	> 0	> <	> (0
Jun	0	0	Ş	•	•		•	•	> -	0	0	0	0	0 0	> <	> 0	o (۰ د	0 (0	0	0	0	0
	•	•	3	2	0	0	•	> 0	- «	۰ د	> 0	> 0	o	>	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
	> <	o	o	19	>	0	•	>	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	-	7	10	0
col	0	0	0	0	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0
dig	0	0	0	0	0	25	0	0	0	0	-	c	0	0	0	0	0	0	0	c	o	C	· C	•
epi	0	0	0	-	0	0	20	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	,	0	-	0
do/də	0	0	0	0	0	0	9	25	0	0	0	0	0	_	0	0	0	· c	0	۰ د	۰ –	· c	٠ ,	0
Sna	0	0	0	0	0	0	0	0	31	0	0	0	0	0	0	0	0	, 7	0	0		0	0	-
dna	0	0	0	0	-	0	0	0	-	59	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	· -
lit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
mom	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	ю	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
nem	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
obe	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	2	0	-	0	. 0
per	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32	0	0	ď	0	0	0	0	0	· –
suc	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	,0	0	0	0	0	-	
tra	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	42	- 0	0	0	0	0	· c	•
Ţ	0	0	7	0	0	0	0	0	ю	0	7	-	0	0	0	0	0	31	0	0	0	0	0	0
tro	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Q	-	0	21	0	0	· c	0	• •
vaq	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	.0	0	0	0	23			-	0
vco	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	30	· c	٠,	0
vmi	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0		× •	<u>-</u>	200	1 -	0 0
002	٥	0	0	4	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	- 4	30	24	0
% Rec %	87,9	95,7	92,6	57,6	97,0	86,2	9,09	75,8	93,9	87,9	97,0	84,9	0,06	87,0	0,76	83,3	_	, a	95,5	2,69	6'06	9,09	72.7	,
Erro I	0,0	0,0	3,9	26,9	9,8	13,8	31,0	26,5	13,9	6,5	15,8	12,5	0,0	23,1	3,03	0,0	2'9	13,9	8,7	32,4	23,1	31,0	40,0	8,0
Erro 2	0,0	0,0	0,3	1,7	0,4	9,0	2,0	9,1	0,7	0.3	0.8	9.0	0.0	6.0	0.1	0.0	0.4	0.0	03	23	1.4	0 0	3.0	
	100															2,5	١	1	260	2,52		2,2	2,0	

A **Tabela 6.10** mostra os níveis de identificação dos organismos, onde pode ser constatado que dos 23 grupos analisados 17 apresentaram níveis de reconhecimento de razoável a excelente enquanto 6 deles tiveram um nível pobre de reconhecimento. Entretanto, 17 organismos mostraram grau de reconhecimento errôneo de razoável a excelente e 6 grupos apresentaram classificação errônea pobre. Semelhante aos resultados obtidos por AMARAL (2003), foi observado que os níveis de reconhecimento e classificação errônea pobres corresponderam aos protozoários pedunculados. De igual forma, evidenciou-se que tais resultados foram inferiores aos alcançados aplicando a técnica de *AD*.

Tabela 6.10 – Níveis de reconhecimento e desclassificação dos grupos de protozoários e metazoários.

		Recon	hecimento			Desclas	ssificação	
	Pobre (<75%)	Razoável (75-90%)	Bom (90-95%)	Excelente (>95%)	Pobre (>25%)	Razoável (10-25%)	Boa (5-10%)	Excelente (<5%)
aci			X					X
ael				X				X
arc				X				X
car	X				X			
col				X			X	
dig		X				X		
epi	X				X			
ep/op	X				X			
eug			X			X		
eup		X					X	
lit				X		X		
mon		X				X		
nem			X					X
ope		X				X		
per				X				X
suc		X						X
tra				X			X	
tri		X				X		
tro				X			X	
vaq	X				X			
vco			X			X		
vmi	X				X			
<i>z00</i>	X				X			
Total	6	6	4	7	6	7	4	6

As **Tabelas 6.11** e **6.12** mostram, respectivamente, os valores obtidos para a identificação dos principais grupos de protozoários e metazoários, e para os protozoários ciliados.

O *Percentual de Reconhecimento* global dos grupos principais de protozoários e metazoários foi de 97,0%, e o erro de classificação errônea apresentou um valor de 2,2% enquanto 0,8% dos organismos não foram identificados. Entretanto, o nível de reconhecimento dos grupos de ciliados teve um valor de 95,4%, com um erro de classificação na ordem de 3,8%, não sendo possível identificar com esta técnica 0,8% dos organismos analisados.

Em ambos os processos classificatórios foram obtidos bons resultados com *Percentuais* de *Reconhecimento* elevados para todos os grupos analisados e *Erros de Classificação Errônea* não significativos, apesar de que estes valores foram mais pobres que os valores obtidos para estes parâmetros ao aplicar-se a técnica de *AD*.

Tabela 6.11 – Reconhecimento dos principais grupos de protozoários e metazoários pela técnica de RN.

	Flagelados	Ciliados	Sarcodinas	Metazoários	NI
Flagelados	32	0	0	0	1
Ciliados	1	529	6	1	4
Sarcodinas	0	5	82	0	0
Metazoários	0	4	0	100	1
% Rec.	97,0	97,8	94,3	95,2	0,8
% Erro 1	3,0	1,7	6,8	1,0	
% Erro 2	0,1	4,1	0,9	0,2	

Tabela 6.12 – Reconhecimento dos principais grupos de ciliados pela técnica de RN.

		Móveis de			Não-	
	Carnívoros	Fundo	Nadadores	Sésseis	Ciliados	NI
Carnívoros	79	1	1	3	3	0
Móveis de Fundo	4	142	2	0	0	8
Nadadores	1	0	42	0	0	0
Sésseis	0	0	0	254	254	0
Não-Ciliados	4	5	0	0	0	214
% Rec.	94,0	88,8	97,7	100	95,1	2,7
% Erro 1	10,2	4,1	6,7	1,2	3,6	
% Erro 2	1,4	1,1	0,4	0,6	1,6	

Os dados resultantes da identificação dos grupos de microrganismos indicadores das condições operacionais qualidade do efluente, aeração, idade do lodo e nitrificação são apresentados nas **Tabelas 6.13** a **6.16**.

Tabela 6.13 – Avaliação da qualidade do efluente pela técnica de RN.

		Qualidade (do Efluente	
	Alta	Média	Baixa	NI
Alta	397	23	13	2
Média	20	206	2	4
Baixa	12	2	85	0
% Rec.	91,3	88,6	85,8	0,8
% Erro 1	7,5	10,8	15,0	
% Erro 2	10,6	5,3	2,6	

Tabela 6.14 – Avaliação da aeração pela técnica de RN.

_		Aera	ação	
_	Alta	Média	Baixa	NI
Alta	235	18	11	0
Média	19	401	1	5
Baixa	11	3	61	1
% Rec.	89,0	94,1	80,3	0,8
% Erro 1	11,3	5,0	16,4	
% Erro 2	6,7	6,6	2,2	

Tabela 6.15 – Avaliação da idade do lodo pela técnica de RN.

		Idade d	lo Lodo	
	Fresco	Médio	Velho	NI
Fresco	52	13	0	1
Médio	10	505	8	5
Velho	0	9	163	0
% Rec.	78,8	95,6	94,8	0,8
% Erro 1	16,1	4,2	4,7	
% Erro 2	1,8	9,7	1,4	

Tabela 6.16 – Avaliação da nitrificação pela técnica de RN.

		Nitrificação	
	Presença	Nenhuma Indicação	NI
Presença	223	40	1
Nenhuma Indicação	27	470	5
% Rec.	87,4	93,6	0,8
% Erro 1	10,8	7,8	
% Erro 2	6,4	16,2	

Em relação aos *Percentuais de Reconhecimento* dos grupos indicadores de qualidade do efluente houve um aumento do nível de reconhecimento dos organismos indicadores de alta qualidade do efluente (91,3%) em relação ao valor obtido por AMARAL (2003) (86,3%). De igual forma, observou-se uma elevação no grau de reconhecimento dos grupos microbianos que indicam aeração alta e média (89,1 e 94,1%, respectivamente) quando comparados com os valores alcançados por AMARAL (2003) (84,5% e 91,2%, respectivamente). Entretanto, os *Percentuais de Reconhecimento* e *Classificação Errônea* para os grupos indicadores da idade do lodo foram similares aos observados por AMARAL (2003). Finalmente, constatouse uma elevação de 5,3% no grau de reconhecimento dos grupos que indicam ausência de nitrificação, o que melhora o diagnóstico das condições de nitrificação nas ETEs.

Em geral, os resultados globais da avaliação da qualidade do tratamento foram adequados em termos de condições operacionais e grau de *Reconhecimento Errôneo*. Na avaliação das condições críticas de operação, qualidade do efluente e aeração, os *Percentuais de Reconhecimento* mostraram níveis de reconhecimento e classificação errônea dos grupos microbianos razoáveis nestas condições. Entretanto os *Percentuais de Reconhecimento* e *Classificação Errônea* dos organismos indicadores de lodos frescos foram pobres. Contudo, os resultados referentes ao reconhecimento dos grupos indicadores das condições críticas de operação foram superiores ao aplicar a técnica de *AD* em relação aos valores obtidos com as *RN*.

6.3 CONCLUSÕES PARCIAIS

- O procedimento mostrou-se robusto para distinguir entre grupos de ciliados carnívoros, sésseis, móveis de fundo e nadadores, em termos de classes de protozoários e também para os metazoários.
- Foi possível incluir no reconhecimento dos grupos as formas laterais de Aspidisca e
 Arcella, bem como o género Coleps o que aumenta o número de organismos
 indicativos de ETEs com boas condições de purificação e nitrificação.
- O Percentual de Reconhecimento global alcançou um valor de 84,9% para a AD e 84,5% para RN, sendo estes valores considerados bastante razoáveis, permitindo um bom reconhecimento das espécies, tendo em conta que o principal objetivo deste trabalho é a avaliação das condições operacionais das ETEs através da identificação de protozoários e metazoários e não a identificação taxonômica dos microrganismos.
- Aproximadamente 0,4% dos organismos não foram reconhecidos pela técnica de AD sendo 14,7% deles desclassificados, enquanto que para as RN estes valores foram 0,8% e 14,8%, respectivamente.
- Dos 23 grupos incluídos no estudo, 17 mostraram níveis de reconhecimento de razoável a excelente, enquanto 6 mostraram um nível de reconhecimento pobre, quando aplicadas as RN. Para AD estes valores foram 18 e 5, respectivamente. Estes resultados podem ser considerados razoáveis e não comprometem os objetivos perseguidos no presente trabalho. Uma análise mais detalhada dos resultados mostrou que os grupos de organismos com nível pobre de reconhecimento foram principalmente os protozoários pedunculados, enquanto que todos os protozoários não-pedunculados e os metazoários exibiram níveis de reconhecimento e desclassificação de razoável a excelente.
- Em relação à avaliação das condições operacionais das ETEs, os resultados globais mostraram valores razoáveis a bons para todos os parâmetros operacionais qualidade do efluente, nível de aeração, extensão do processo de purificação e idade do lodo com *Percentuais de Reconhecimento* acima de 89% e *Percentual de Classificação Errônea* menor que 13,7% para *AD* e 16,2% para *RN*. Estes valores podem ser considerados razoáveis em termos de avaliação das condições operacionais. Contudo,

- a avaliação das condições operacionais críticas tais como qualidade do efluente tratado, aeração e idade do lodo exibiram níveis de reconhecimento e classificação errônea razoáveis.
- Os resultados obtidos permitem concluir que as técnicas estatísticas multivariáveis
 Análise Discriminante e Redes Neurais constituem uma ferramenta promissora para
 efetuar o monitoramento de populações de protozoários e metazoários nos tanques de
 aeração das ETEs permitindo realizar o diagnóstico da qualidade do tratamento.

CAPÍTULO 7. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

7.1 RESULTADOS RELEVANTES E CONCLUSÕES

- O procedimento de análise de imagens obtido para o processamento das imagens digitais dos flocos de lodo ativado se mostrou reprodutível e adequado para caracterizar morfologicamente os flocos de lodo ativado provenientes de diferentes estações de tratamento.
- 2. Foi comprovada a existência de correlações entre o tamanho e os parâmetros morfológicos *Porosidade*, *Convexidade*, *Compacidade* e *Dimensão Fractal* dos agregados microbianos, sendo estas correlações importantes para descrever a morfologia dos flocos e efetuar diagnósticos acerca da sedimentabilidade do lodo ativado. Da mesma forma, foi provada a existência de uma relação significativa entre a *Convexidade* dos flocos e sua *Dimensão Fractal*, sendo possível associar os parâmetros da geometria Euclidiana com os parâmetros da geometria fractal na caracterização de tais agregados microbianos.
- 3. Os resultados obtidos durante o período de aclimatação do lodo mostraram que o aumento da concentração de fenol alimentada ao sistema, além de promover a desfloculação do lodo ativado, resultou em variações das propriedades morfológicas dos flocos, levando à diminuição do IVL do lodo, o qual foi acompanhado pela elevação gradual da relação dos constituintes poliméricos com o aumento da carga de fenol, até atingir um valor praticamente constante a partir de 500 ppm. A desfloculação do lodo promoveu aumento gradual na turbidez do efluente com o a elevação da concentração de fenol, indicativo de perda de sólidos.
- 4. Os ensaios avaliação com o tempo mostraram, que independente da estratégia de enchimento adotada, os níveis de remoção de fenol, amônia, nitrato e carga orgânica apresentaram-se na faixa de 80 a 100% até o limite de 500 ppm, exceto para a remoção de DQO cujo valor foi de 20% nesta condição experimental, adotando o enchimento linear. O desempenho do processo foi consideravelmente prejudicado ao elevar-se a carga inicial de fenol para 1000 ppm verificando-se

- acúmulo de fenol, DQO e nitrogênio amoniacal ao longo do processo bem como oscilações nos níveis de NO₃-, indicativo da instabilidade do sistema e da alteração considerável dos processos de nitrificação e desnitrificação frente a esta carga de fenol.
- 5. O procedimento de análise de imagens dos protozoários e metazoários típicos de sistemas por lodos ativados, adaptado ao ambiente *Matlab*, mostrou-se robusto para distinguir entre os principais grupos de protozoários e metazoários assim como entre grupos de protozoários ciliados, com índices globais de reconhecimento e classificação errônea satisfatórios.
- 6. Foi possível incluir no reconhecimento dos grupos as formas laterais de Aspidisca e Arcella, bem como o gênero Coleps o que aumenta o número de organismos indicativos de ETEs com boas condições de purificação e nitrificação.
- 7. Os resultados globais referentes às condições operacionais das ETEs, qualidade do efluente, aeração, idade do lodo e nitrificação, também mostraram níveis de reconhecimento e classificação errônea satisfatórios. Contudo, os níveis de reconhecimento e classificação errônea dos grupos indicadores das condições críticas de funcionamento foram somente razoáveis.
- 8. Em relação ao uso das técnicas multivariáveis, os resultados globais foram similares em ambas as técnicas utilizadas, à exceção dos níveis de reconhecimento e classificação errônea dos grupos indicadores das condições críticas de funcionamento, os quais foram melhores para a Análise Discriminante em relação com os valores alcançados com as Redes Neurais.

7.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Aplicar os procedimentos de análise digital de imagens desenvolvidos no presente trabalho na monitoração do comportamento da sedimentabilidade do lodo ativado e no diagnóstico da qualidade do tratamento em ETEs que tratam efluentes de naturezas diversas.
- Adaptar o procedimento de análise de imagens obtido para o tratamento dos flocos microbianos ao ambiente *Matlab*, com vista a melhorá-lo aplicando ferramentas de análise de imagens que não estão disponíveis no software *Image-Pro Plus*.
- 3. Desenvolver estudos adicionais do efeito da carga de fenol sobre a desfloculação do lodo ativado, no sistema RBS sem prévia adaptação da biomassa, incluindo a estimação de outros parâmetros que caracterizam o fenômeno de desfloculação, tais como hidrofobicidade e carga superficial dos agregados microbianos.
- 4. Com relação ao reconhecimento dos protozoários e metazoários, propõe-se incluir dentre os parâmetros morfológicos estimados, o referente a assinatura de cada grupo microbiano, com vista a facilitar a classificação de tais organismos.
- 5. Com relação às técnicas estatísticas de análise multivariável recomenda-se aplicar outras técnicas para a classificação dos grupos de protozoários e metazoários, tais como Árvores de Decisão e "Fuzzy Logic".

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AISSE, M.M. (1985) Sedimentação do lodo secundário obtido no processo dos lodos ativados. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. 205 p.
- AL-SHAHWANI, S.M.; HORAN, N.J. (1991). The use of protozoa to indicate changes in the performance of activated sludge plants, *Water Research*, <u>25</u>, 633-638.
- AMARAL, A.L. (1998). Desenvolvimento de técnicas de análise de imagem para aplicação em processos biotecnológicos, Tese (Mestrado em Engenharia Biológica), Universidade do Minho, Braga.
- AMARAL, A.L. (2003). Image Analysis in Biotechnological Processes: Applications to Wastewater Treatment, Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica), Universidade do Minho, Braga.
- AMARAL, A.L.; ALVES, M.M.; MOTA, M. FERRIERA, E.C. (1997) Morphological Characterization of Microbial Aggregates by Image Analysis, In: RECPAD'97 9th Portuguese Conference on Pattern Recognition, (APRP, Eds.), Coimbra, Anals of RECPAD'97 9th Portuguese Conference on Pattern Recognition, Coimbra, 95-100.
- AMARAL, A.L.; BAPTISTE, C.; PONS, M.N.; NICOLAU, A.; LIMA, N.; RREIRA, E.; MOTA, M.; VIVIER, H. (1999a). Semi-automated recognition of protozoa by image analysis, *Biotechnology Techniques*, <u>13</u>, 111-118.
- AMOR, L.; EIROA, M.; KENNES, C.; VEIGA, M.C. (2005). Phenol biodegradation and its effect on the nitrification process, *Water Research* 39, 2915–2920.
- ANDERSON, G.K. (2000) Developments in Biological Treatment of Industrial Wastewaters, *Tsinghua Science and Technology*, <u>5</u>, 246-251.
- ANDREAKIS, A.D. (1993). Physical and Chemical Properties of Activated Sludge Floc, *Water Research*, <u>27</u>, 1707-1714.
- ANNACHHATRE, A.P.; GHEEWALA, S.H. (1996) Biodegradation of Chlorinated Phenolic Compounds, *Biotechnology Advances*, <u>4</u>, 35-56.
- ANTHONISEN, A.C.; LOEHR, R.C.; PRAKASAM, T.B.S. (1976). Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid, *Journal of Water Pollution Control Federation*, <u>48</u>, 835-852.

- APHA (1992) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18th Ed., Wasghignton, DC 2005: American Public Healths Association.
- BALMELLE, B.; NGUYEN, K.M.; CAPDEVILLE, B.; CORNIER, J.C.; DEGUIN, A. (1992) "Study of factors controlling nitrite build-up in biological process for water nitrification", *Water Science and Technology*, v. 26, p. 1017-1025.
- BARBUSINSKI, K.; KOSCIELNIAK, H. (1995). Influence of Substrate Loading Intensity on Floc Size in Activated Sludge Process, *Water Research*, 29, 1703-1710.
- BERGH, S.G.; OLSSON, G. (1995) Knowledge based diagnosis of solid-liquid separation problems. In IAWQ Symposium Uncertainly, Risk and Transient Pollution Events, 26-28 July, 1995, Exeter. Annals of IAWQ Symposium Uncertainly, Risk and Transient Pollution Events, 1995.
- BHAGAT, P. (1990). An Introduction to Neural Nets, Chemical Engineering Progress, August, 55-60.
- BILANOVIC, D.; BATTISTONI, P.; CECCHI, F.; PAVAN, P.; MATA-ALVAREZ, J. (1999) Denitrification Under High Nitrate Concentration and Alternating Anoxic Conditions, *Water Research*, <u>33</u>, 3311-3320.
- BITTON, G. (1994). Wastewater Microbiology, Department of Environmental Engineering Sciences, University of Florida, Gainesville, Wiley-Liss, New York, USA.
- BRAGA, B.; HESPANHOL, I. CONEJO J. G.L; BARROS, M. T. L.; SPENCER, M., PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. (2002) Introdução à Engenharia Ambiental. 1ª Ed. Prentice Hall, São Paulo.
- BRENNER, A., COZICK, R. AND IRVINE, R.L. (1992). Treatment of a high-strength, mixed phenolic waste in an SBR. *Water and Environmental Research*, 64, 128-133.
- CANLER, J.P.; PERRET, J.M.; DUCHENE, F.; COTTEAUX, E. (1999) Aide au Diagnostic des Stations d'Èpuration par l'observation Microscopique des Boues Activeés, Cemagref Editions, Lyon.
- CARRETTE, R. (1995). Image analysis and nutrient control in relation to sludge quality. In: *Engineers Thesis*, Faculty of Applied Biological Sciences, University of Gent (1995), 121p. (in Dutch).
- CHUDOBA, J. (1989). Activated sludge bulking control. In *Encyclopaedia of Environmental Control Technology*, *Wastewater Treatment Technology*, Cheremisin off, P.N. (Ed), Gulf Publishing Company, Texas, U.S.

- COELHO, M.A.Z. (1998) Modelagem e otimização do processo de nitrificação de efluentes em Reator Batelada Sequencial. Tese (Doutorado em Engenharia Química). COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 166 p.
- CONAMA. (2005) Resolução n°357, do Conselho Nacional do Meio Ambiente, de 18/03/2005, Legislação Federal de Controle da Poluição Ambiental, conama@mma.gov.br.
- COPP, J.B.; DOLD, P.L. (1998) Confirming the nitrate-to-oxygen conversion factor for denitrification, *Water Research*, <u>32</u>, 1296-1304.
- CURDS, C.R. (1992) Protozoa in the Water Industry, Cambridge University Press, New York.
- CURDS, C.R.; COCKBURN, A. (1970a) Protozoa in Biological Sewage-Treatment Processes: Protozoa as Indicators in the Activated-Sludge Process, *Water Research*, <u>4</u>: 237-249.
- CURDS, C.R.; COCKBURN, A. (1970b) Protozoa in Biological Sewage-Treatment Processes A Survey of the Protozoa Fauna of British Percolating Filters and Activated-Sludge Plants, *Water Research*, 4: 225-236.
- CURDS, C.R.; COCKBURN, A. VANDYKE, J.M. (1968) An Experimental Study of the Role of the Ciliated Protozoa in the Activated-Sludge Process, *Water Pollution Control*: 312-329.
- da MOTTA M.; PONS M.N.; ROCHE N. and VIVIER H. Characterization of activated sludge by automated image analysis. *Biochemical Engineering Journal*, 2001, <u>9</u>, 165-173.
- da MOTTA, M., AMARAL, A. L.; PONS, M. N., FERREIRA, E. C.; Vivier, H.; (2001b) Estudo por análise de imagem do comportamento de uma estação de tratamento de efluentes sob condições transientes, *Energias Renovables y Médio Ambiente*, 9, 49-55.
- da MOTTA, M., PONS, M.N., VIVIER, H., AMARAL, A.L., FERREIRA, E.C., MOTA, M. (2001a). Study of Protozoa Population in Wastewater Treatment Plants by Image Analysis, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, <u>18</u>, 103-111.
- DAVIS, M.L.; CORNWELL, D. A. (1991) Introduction to Environmental Engineering, International Edition. McGraw-Hill Inc. São Paulo.
- de SOUZA Jr., M.B. (1993). Redes Neuronais Multicamadas Aplicadas à Modelagem e Controle de Processos Químicos. Tese (Doutorado em Engenharia Química), COPPE/PEQ/UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.

- DICK, R.I.; VESILIND, P.A. (1969). The sludge volume index--what is it *Journal of Water Pollution Control Federation*, 41 (7), 1285-1291.
- DUBOIS, M., GILLES, K., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A., SMITH, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28, 350–356.
- ECKENFELDER, W.W., GRAU, P. (1992) Activated sludge process design and control. Theory and Practice. Water Quality Management Library, Vol. 1,Technomic Publishing. Co. Inc., Lancaster, PA, U.S.A.
- EINAX, J.W.; ZWAZINGER, H.W.; GEISS, S. (1997) Chemometrics in Environmental Analysis, VHC Verlagsgesellshaft, Weinheim.
- ERIKSSON, L.; ALM, B. (1991) Study of flocculation mechanisms by observing effects of a complexing agent on activated sludge properties, *Water Science and Technology*, <u>24</u> (7), 21-28.
- ESTEBAN, G.; TÉLLEZ, C.; BAUTISTA, L.M. (1991) Dynamics of Ciliated Protozoa Communities in Activated Sludge Process, *Water Research*, <u>25</u>: 967-972.
- FENCHEL, T. (1999). Ecology of Protozoa, Springer-Verlag, Berlin.
- FERRAZ, A.O.; GOBBI, F. (1991) Tratamento Avançado de Efluentes, Relatório Interno (COQ889), PEQ / COPPE / UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.
- FITCH, B. AND KOS, P. (1976). Toward a more meaningful index of sludge quality. *Journal of Water Pollution Control Federation*, <u>48</u>, 1969 1979.
- FUJITA, M.E.; IKE, M.; SODA, S. (2000) Introduction of Gem Capable of Simultaneous Floc Formation d Phenol Degradation into SBR to Enhance Phenolic Wastewater Treatment. In 2d. International Symposium on Sequencing Battch Reactor Technology, Oral Presentation, Narborne, France. Anals of International Symposium on Sequencing Battch Reactor Technology, Oral Presentation, Narborne.
- FURTADO, M.R. (1997). Controle ambiental chega ao subsolo. *Química e Derivados*, <u>32</u> (354), 8-19.
- GALIL, N.; REBHUN, M.; BRAYER, Y. (1988). Disturbances and inhibition in biological treatment of wastewater from an integrated oil refinery, *Water Science and Technology*, 20, 21-29.
- GALIL, N.I.; SCHWARTZ-MITTELMAN A., SAROUSSI-ZOHAR, O. (1998). Biomass deflocculation and Process disturbances exerted by phenol induced transient load conditions, *Water Science and Technology*, 38, 105-112.

- GANCZARCZYK, J.J. (1969). Discussion paper, *J. San. Eng. Div. Am. Soc. Civ. Eng.*, <u>93</u>, 36 35.
- GANCZARCZYK, J.J. (1983). Activated Sludge Process, Marcel Dekker, Inc., New York. 270p.
- GANCZARCZYK, J.J. (1994). Microbial Aggregates in Wastewater Treatment, *Water Science and Technology*, 30 (8), 87-95.
- GASPAR, P.M.F. (2003) "Pós-tratamento de efluente de reator UASB em sistema de lodos ativados visando a remoção biológica do nitrogênio associada à remoção físico-química do fósforo", Tese de Mestrado Escola Politécnica, Universidade de São Paulo. 242 p.
- GLASBEY, C.A.; HORGAN, G.W. (1995). Image Analysis for the Biological Sciences, John Willey & Sons, Chichester.
- GONZÁLEZ, R.C.; WOODS, R.E. (1992). Processamento de Imagens Digitais, Addison-Wisley Publishing Company, Reading.
- GONZÁLEZ, R.C.; WOODS, R.E.; EDDINS, S.L. (2004). Digital Image Processing using Matlab, 1st Eddition, Pearson Prentice Hall, New Jersey.
- GRIJSPEERDT, K.; VERSTRAETE, W. (1997). Image Analysis to Estimate the Settleability and Concentration of Activated Sludge, *Water Research*, <u>31</u>, 1126-1134.
- GRISPEERDT, K.; VERSTRAETE, W. (1996). A Sensor for a Secondary Clarifier Based on Image Analysis, *Water Science and Technology*, <u>33</u>, 61-70.
- GROSBERG, S. (1976). Adaptative Pattern Classification and Universal Recording I: Parallel Development and Coding of Neural Feature Detectors, *Biological Cybernetics*, <u>23</u>, 121-134.
- HARREMOËS, P.; SINKJAER, O. (1995) Kinetic interpretation of nitrogen removal in pilot scale experiments, *Water Research*, 29, 899-905.
- HENZE, M.; GRADY, C.P.L.; GUJER, W.; MARAIS, G.V.R.; MATSUO, T. (1987)
 Activated Sludge no 1, Scientific and Technical Reports no 1, IAWPRC Task Group on
 Mathematical Modelling for Design and Operation of Biological Wastewater
 Treatment.
- HERMANOWICZ, S.W.; SCHINDLER, U.; WILDERER, P. (1995). Fractal Structure of Biofilms: New Tools for Investigation of Morphology, *Water Science & Technology*, 32, 99-105.
- HERMANOWICZ, S.W.; SCHINDLER, U.; WILDERER, P. (1996). Anisotropic Morphology and Fractal Dimensions of Biofilms, *Water Research*, 30, 753-755.

- HIGGINS, M.J.; NOVAK, J.T. (1997) The effects of cations on the settling and dewatering of activate sludge, *Water and Environment Research*, <u>69</u> (2), 215-224.
- HILL, G.A.; ROBINSON C.W. (1975). Substrate inhibition kinetics: phenol degradation by *Pseudomonas putida. Biotechnology and Bioengineering*, <u>17</u>, 1599-1615.
- HOPFIELD, J.J. (1984). Neurons with graded response have collective computational properties like those of two-state neurons, Proceedings of the National Academy of Sciences, 79, 2554-2558.
- HSU, E.H. (1986). Treatment of a batch petrochemical wastewater in sequencing batch reactors, *Environmental Progress*, <u>5</u>, 71-81.
- HUANG, Q.; LORCH, J. R.; DUBES, R. C. (1994). Can the Fractal Dimension of Image be Measured?, *Pattern recognition*, <u>27</u>, 339-349.
- HULTMAN, B. AND MOLINA, L. (1987) Volatile fraction measurement A valuable aid in activated sludge process optimization. International workshop on design and operation of large wastewater treatment plants. In: IAWPRC, 14 18 Sept. 1987, Vol.I, Budapest, Hungary.
- HULTMAN, B; LOWEN, M; KARLSSON, U; LI, PH; MOLINA, L.L. (1991). Prediction of activated sludge sedimentation based on sludge indices, *Water Science & Technology*. 24 (7), 33-42.
- ISOLDI, L.A. (1998) Remoção de nitrogênio de águas residuárias de industrialização de arroz por tecnologias performantes, Tese (Doutorado em Biotecnologia), Centro de Biotecnologia (CENBIOT), Universidade Federal de Pelotas, 153p.
- JAHN, T.L.; BOVEE, E.C.; JAHN, F.F. (1999). How to Know the Protozoa, Wm. C. Brown Company Publishers, Debuque.
- JENKINS, D.; RICHARD, M.G.; DAIGGER, G. (1993). Manual of the control of activated sludge bulking and foaming, 2nd edition, Lewis Publisher, Boca Ratón.
- JENNÉ R.; CENENS C.; GEERAERD A.H., van IMPE J.F. (2002). Towards on-line quantification of flocs and filaments by image analysis. *Biotechnology Letters*, <u>24</u>, 931-935.
- JEYANAYAGAM, S. (2005) True Confessions of the Biological Removal Process, Florida *Water Resources Journal*, January, 37-46.
- JIN, B.; WILÉN, B.M.; LANT, P. (2003). A comprehensive insight into floc characteristics and their impact on compressibility and settleability of activated sludge, *Chemical Engineering Journal*, 95, 221-234.

- JORAND, F.; BOUÉ-BIGNE, F.; BLOCK, J.C.; URBAIN, V. (1998) Hydrophobic/Hydrophilic properties of activated sludge exopolymeric substances, *Water Science & Technology*, <u>37</u> (4-5), 307-315.
- JORAND, F.; ZARTARIAN, F.; THOMAS, F.; BOTTERO, J.Y.; VILLEMIN, G.; URBAIN, V.; MANEM, J. (1995). Chemical and structural (2D) linkage between bacteria within activated sludge flocs, *Water Research*, 29, 1639-1647.
- KAHRU, A.; REIMAN, R.; RÄTSEP, A. (1998). The efficiency of different phenol-degrading bacteria and activated sludges in detoxification of phenolic leachates, *Chemosphere*, <u>37</u>, 301-318.
- KÄMPFER, P. (1997). Detection and cultivation of filamentous bacteria from activated sludge, *FEMS Microbiology Ecology*, 23, 169-181.
- KASABOV, N.K. (1996). Foundations of Neural Networks, Fuzzy Systems and Knowledge Engineering, The MIT Press, Cambridge MA.
- KEIDING, K.; NIELSEN, P.H. (1997) Desorption of organic macromolecules from activated sludge: effect of ionic composition. *Water Research*, <u>31</u>, 1665–1672.
- KLAUSEN M,M.; THOMSEN, T.R.; NIELSEN, J.L.; MIKKELSEN, L.H.; NIELSEN, P. H. (2004). Variations in microcolony strength of probe-defined bacteria in activated sludge flocs, *FEMS Microbiology Ecology*, 50 (2), 123-132.
- KNUDSON, M.K., WILLIAMSON, K.J. AND NALSON, P.O. (1982). Influence of dissolved oxygen on substrate utilization kinetics of activated sludge. *J. WPCF*, <u>54</u>, 52-60
- KUMARAN, P.; PARUCHURI, Y.L. (1997). Kinetics of phenol biotransformation, *Water Research*, 31, 11-22.
- LEE, S.; BASU, S.; TYLER, C.W.; WEI, I.W. (2002). Ciliate Populations as Bio-indicators at Deer Island Treatment Plant, *Advances in Environmental Research*, In Press.
- LEE, SE, KOOPMAN, B, BODE, H and JENKINS, D. (1983) Evaluation of sludge settleability indices. *Water Research*, <u>17</u>, 1421-1426.
- LI, D.H. and GANCZARCZYK J.J. (1991) Size distribution of activated sludge flocs. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, <u>63</u>, 806-814.
- LI, D.H. and GANCZARCZYK, J.J. (1985) Physical characteristic of activated sludge focs. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, <u>17</u> (1), 53-87.
- LI, D.H.; GANCZARCZYK, J.J. (1986) Physical characteristics of activated-sludge flocs. *Critical Reviews in Environmental Control*, 17 (1), 53-87.

- LI, D.H.; GANCZARCZYK, J.J. (1987). Stroboscopic determination of settling velocity, size and porosity of activated sludge flocs, *Water Research*, <u>21</u>, 257-262.
- LI, D.H.; GANCZARCZYK, J.J. (1988). Flow through activated sludge flocs, *Water Research*, 22, 789-792.
- LI, D.H.; GANCZARCZYK, J.J. (1989). Fractal Geometry of Particle Aggregates Generated in Water and Wastewater Treatment Processes, *Environmental Science and Technology*, 23, 1385-1389.
- LI, X.Y.; YUAN, Y. (2002). Settling velocities and permeabilities of microbial aggregates, *Water Research*, <u>36</u>, 3110-3120.
- LIAO, B.Q.; ALLEN, D.G.; DROPPO, I.G.; LEPPARD, G.G.; LISS, S.N. (2001). Surface Properties of Sludge and their Role in Bioflocculation and Settleability, *Water Research*, 35, 339-350.
- LIEBOVITCH, L.S.; TOTH, T. (1989). A Fast Algorithm to determine Fractal Dimensions by Box Counting, *Physics Letters A*, 141, 386-390.
- LIU, Y.; FANG, H.H.P. (2002). Extraction of of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges, *Journal of Biotechnology*, <u>95</u> (3), 249-256.
- LIU, Y.; FANG, H.H.P. (2003). Influences of Extracellular Polymeric Substances (EPS) on Flocculation, Settling, and Dewatering of Activated Sludge, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 33 (3), 237-273.
- LOGAN B.E. KILPS J.R. (1995) Fractal dimensions of aggregates formed in different fluid mechanical environments, *Water Research*, 29 (2), 443-453.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, <u>193</u>, 265-275.
- MACE, S.; MATA-ALVAREZ, J. (2002). Utilization of SBR Technology for Wastewater Treatment: An Overview, *Industrial Engineering Chemical Research*, v. <u>41</u>, 5539-5553.
- MADONI, P. (1994) La Microfauna Nell'Analisi di Qualitá Biologica dei fanghi Attivi, Azienda Gas Acqua Consorziale di Reggio Emilia, Reggio Emilia.
- MADONI, P. (1994a) A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis, *Water Research*, 28 (1), 67-75.
- MADONI, P. (1994b). Microfauna Biomass in Activated Sludge and Biofilm, *Water Science* and *Technology*, 29, 63-66.
- MADONI, P.; GHETTI, P.F. (1981) The structure of Ciliated Protozoa communities in biological sewage-treatment plants, *Hydrobiologia*, <u>83</u> (2), 207-215.

- MANDELBROT, B. B. (1983). The Fractal Geometry of Nature W. H. Freeman and Company, New York.
- MAURET, M.; PAUL, E.; PUECH-COSTES, E.; MURETTE, M.T.; BAPTISTE, P. (1996) Application of experimental research methodology to the study of nitrification in mixed culture, *Water Science and Technology*, <u>34</u>, 245-252.
- METCALF, EDDY INC. (1991) Wastewater engineering treatment, disposal and reuse. 3rd ED. NEW YORK: MC. GRAW-HILL, 1334 p.
- MOLHMAN, F.W. (1934). The sludge index. Sewage Works Journal, 6, 119-122.
- MORGAN, J.W.; FORSTER, C.F.; EVISON, L. (1990) A comparative study of the nature of biopolymers extracted from anaerobic and activated sludge, *Water Research*, <u>24</u> (6), 743-750.
- MUELLER, J.A., MORAND, J. M. AND BOYLE, W.C. (1967). Floc sizing techniques. *Appl. Microbiol.*, **15**, 125 134.
- NÁMER, J.; GANCZARCZYK, J.J. (1993). Settling Properties of Digested Sludge Particle Aggregates, *Water Research*, <u>27</u>, 1285-1294.
- NOVAK, L.; LARREA, L.; WANNER, J.; GARCIA-HERAS, J.L. (1994). Non Filamentous Bulking Caused by Zooglea, *Water Science and Technology*, 29 (7), 301-304.
- NOWAK, O.; KÜHN, V.; MÜLLER V. A. (1999) Comparation of different concepts of the running-off nitrification and denitrification in activated sludge plants, *Water Science and Technology*, 39, 53-60.
- OBERT, M.; PFEIFER, P.; SERNETZ, M. (1990). Microbial Growth Patterns Described by Fractal Geometry, *Journal of Bacteriology*, <u>172</u> (3), 1180-1185.
- PAVONI, J.L.; TENNEY, M.W. (1972). Bacterial exocellular polymers and biological flocculation, *Journal of Water Pollution Control Federation*, <u>44</u>, 414-431.
- PEREIRA-RAMIREZ, O.; ANTUNES, R.M.; QUADRO, M.; KOETZ, P.R. (2003). Remoção de DQO e nitrificação em reator biológico aerado no pós-tratamento de águas residuárias de suinocultura, *Revista brasileira de Agrociência*, 9, 279-286.
- PIPES, W.O. (1969) Types of activated sludge which separate poorly. *Journal of Water Pollution Control Federation*, 41, 714-724.
- POCHANA, K.; KELLER, J. (1999) Study of factors affecting simultaneous nitrification and denitrification (SND), *Water Science and Technology*, <u>39</u>, 61-68.
- PONS, M.N. (1991). Bioprocess Monitoring and Control, Hanser Publishers, Munique.

- PONS, M.N.; VIVIER, H. (1999). Biomass Quantification by Image Analysis, *Advances in Biochemical Engineering & Biotechnology*, <u>66</u>,133-184.
- PONS, M.N.; VIVIER, H.; DODDS, J. (1997). Particle Shape Characterization using Morphological Descriptors, *Particle System Characterization*, <u>14</u>, 272-277.
- POOLE, J.E.P. (1984). A study of the relationship between the mixed liquor fauna and plant performance for a variety of activated sludge treatment work, *Water Research*, <u>18</u>, 281-287.
- RICHARD, G. (1989). Activated Sludge Microbiology, *Water Pollution Control*, Alexandria, VA, 73p.
- RICHARD, M.; SEAR-BROWN, F. COLLINS; C.O (2003). Activated sludge microbiology problems and their control, 20th Annual USEPA National Operator Trainers Conference Buffalo, New York, USA.
- ROSIN L. and PAUL P.L. Unimodal thresholding. *Pattern Recognition*, 2001, <u>34</u>, 2083-2096.
- RUMELHART, D.E.; MCCLELLAND, J.L. (1986). Parallel Distributed Processing: Explorations in the Microestructure of Cognition, Volume 1: Foundations, The Mit Press, Cambridge.
- RUSS, J.C. (1995). The image processing handbook, CRC Press, Boca Raton.
- SADALGEKAR, V.V.; MAHAJAN, B.A.; SHALEGRAM, A.M. (1988). Evaluation of sludge settleability by floc characteristics, *Water Pollution Control Federation*, <u>60</u>, 1862-1863.
- SALVADÓ, H.; GARCIA, M.P.; AMIGÓ, J.M. (1995). Capability of Ciliated Protozoa as Indicators of Effluent Quality in Activated Sludge Plants, *Water Research*, <u>29</u>, 1041-1050.
- SANIN, F.D. AND VESILIND, P.A. (1999) A comparison of physical properties of synthethic sludge with activated sludge, *Water and Environmental Research*, <u>71</u>, 191–196.
- SARAIVA, L.B. (2000) Remoção de Nutrientes em efluente de industria de parboilização de arroz. Tese (Mestrado en Engenharia de Alimentos), Departamento de Química, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, 81p.
- SARLE, W.S. Neural Network FAQ, URL: fttp://ftp.sas.com/pub/neural/FAQ.html, 1997.
- SCURAS, S., DAIGGER, G.T. AND GRADY, C.P. (1998). Modelling the activated sludge floc microenvironment. *Water Science and Technology*, <u>37</u>, 243-250.
- SEDLAK, R. (1991) Phosphorous and nitrogen removal from municipal wastewater, New York: Ed. Lewis. 240 p.

- SEZGIN, M.; JENKINS, D.; PARKER, D.S. (1978). A unified theory of filamentous activated sludge bulking, *Water Pollution Control Federation*, 50, 563-573.
- SILVA, M.R.; COELHO, M.A.Z.; ARAÚJO, O.Q.F. (2002). Minimization of phenol and ammoniacal nitrogen in refinery wastewater employing biological treatment, *Engenharia Térmica*, Edição Especial (2), 33-37.
- SNIDARO, D.; ZARTARIAN, F.; JORAND, F.; BOTTERO, J.Y.; BLOCK, J.C.; MANEM, J. (1997). Characterization of activated sludge flocs structure, *Water Science and Technology*, 36, 313-320.
- SODDELL, J.A.; SEVIOR, R.J. (1994). A Comparison of Methods for Determining the Fractal Dimensions of Colonies of Filamentous Bacteria, *Binary*, <u>6</u>, 21-31.
- SORIANO, C.G.; GAREL, C.; AUDIC, J.M. (1997) Pilot plant studies of the nitrogen removal performance of activate sludge processes for design purposes, *Proceedings of Second International Conference on Microorganism Activated Sludge and Biofilm Processes*, p. 715-718, Berkeley, California, USA.
- SOUZA, S. G. M. (2000) Sequenciamento de bateladas para a remoção biológica de nitrôgenio. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química; UFRJ, Rio de Janeiro.
- STENSEL H. D.; BARNARD, J. L. "Principles of biological nutrient removal" In: RANDALL, C. W.; BARNARD, J. L; STENSEL, H. D. ed. Design and Reator fit of wastewater treatment plants for biological nutrient removal. Pennsylvania, Lancaster, 1992, v. 5. Cap. 2, p. 25-84.
- STOBBE, G. (1969). About the Sludge Index, Städtehygiene, 20, 222-224.
- TAMBO, N.; WATANABE, Y. (1979). Physical characteristics of flocs. I. The floc density function and aluminum floc. *Water Research*, <u>13</u>, 409 419.
- TCHOBANOGLOUS, G.; BURTON, F.L. (1991). Metcalf & Eddy: "Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse, 3rd. Ed., McGraw-Hill, New York.
- THILL, A.; VEERAPANENI, S.; SIMON, B.; WIESNER, M.; BOTTERO, J.Y.; SNIDARO,
 D. (1998). Determination of Structure of Aggregates by Confocal Scanning Laser
 Microscopy, *Journal of Colloid and Interface Science*, 204, 357-362.
- THOMAS, C.R.; PAUL, G.C. (1996). Applications of image analysis in cell technology, *Current Opinion in Biotechnology*, 7, 35-45.
- TORRES, S.; ASPÉ, E.;. ZAROR, C.; URRUTIA, H.; MARTÍ, M. C.; ROECKEL, M. (1997) Differential bacterial growth kinetic and nitrification of fisheries wastewaters containing high ammonium and organic matter concentration by using pure oxygen, *Biotechnology Letters*, 19, 241-244.

- URBAIN, V.; BLOCK, J.C.; MANEM, J. (1993). Bioflocculation in activated sludge: an analytic approach, *Water Research*, <u>27</u> (5), 829-838.
- VAZOLLÉR, R.F.; AS, M.A.; da CONCEIÇÃO NETO, J. (1989). Microbiologia de Lodos Ativados, CETESB, São Paulo, 23p.
- VECHT-LIFSHITZ, S.E.; ISON, A.P. (1992). Biotechnological Applications of Image Analysis; Present and Future Prospects, *Journal of Biotechnology*, 23, 1-18.
- Von SPERLING, M. (1995). Princípios básicos do tratamento de esgotos, Princípios Básicos do Tratamento Biológico de Águas Residuárias, v.1, DESA-UFMG, ABES, Belo Horizonte.
- Von SPERLING, M. (1996). Principios básicos do tratamento de esgotos, v.2, DESA-UFMG, ABES, Belo Horizonte.
- Von SPERLING, M. (2000). Lodos Ativados, Princípios Básicos do Tratamento Biológico de Águas Residuárias, v.4, DESA-UFMG, ABES, Belo Horizonte.
- WALLEN, L.L.; DAVIS, E.N. (1972). Biopolymers of Activated Sludge, *Environmental Science & Technology*, 6, 161-164.
- WATANABE, K.; HINO, S.; ONODERA, K.; KAJIE, S.I.; TAKAHASHI, N. (1996). Diversity in Kinetics of Bacterial Phenol-Oxigenating Activity, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, <u>81</u>, 560-563.
- WERBOS, P.J. (1994). The Roots of Backpropagation, John Wiley & Sons, New York.
- WHITE, M.J.D. (1975). Settling of activated sludge, *Technical Report TR11*, Water Research Centre, England.
- WILÉN, B. M.; KEIDING, K.; NIELSEN, P.H. (2000) Anaerobic deflocculation and aerobic reflocculation of activated sludge, *Water Research*, <u>34</u> (16), 3933-3942.
- WILÉN, B.M.; BALMÉR, P. (1999). The Effect of Dissolved Oxygen Concentration on the Structure, Size, and Size Distribution of Activated Sludge Flocs, *Water Research*, <u>33</u>, 391-400.
- WINGENDER, J.; NEU, T.R.; FLEMMING, H.-C. (1999). Microbial Extracellular Polymeric Substances: Characterization, Structure and Function, Springer Publisher, 240p.
- WOODIWIS, F. S. (1980). Biological monitoring of surface water quality. Summary Report. Commission of the European Communities. ENV/787/80-EN: 45 p.
- YANG, L., ALLEMAN, J.E. (1992) Investigation of batch wise nitrite build-up by an enriched nitrification culture, *Water Science and Technology*, <u>26</u>, 997-1005.
- YU, H.Q; GU, G.W. (1996) Treatment of phenolic wastewater by Sequencing Batch Reactors with aerated and unaerated fills. *Waste Management*, <u>16</u> (7), 561-566.

- ZARTARIAN, F.; MUSTIN, C.; VILLEMIN, G.; AIT-ETTAGER, T.; THILL, A.; BOTTERO, J.Y.; MALLET, J.L.; SNIDARO, D. (1997). Three-Dimensional Modeling of an Activated Sludge Floc, *Langmuir*, 13, 35-40.
- ZHANG, Y.J.; GERBRANDS, J.J. (1992), On the design of test images for segmentation evaluation, Proc. 6th European Signal Processing Conf., Bruxelas, Belgica, 1, 551-554.
- ZITA, A.; HERMANSSON, M. (1994). Effects of Ionic Strength on Bacterial Adhesion and Stability Flocs in a Wastewater Activated Sludge System, APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, 60 (9), 3041-3048.
- ZITA, A.; HERMANSSON, M. (1997). Effects of Bacterial Cell Surface Structures and Hydrophobicity on Attachment to Activated Sludge Flocs, *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 1168-1170.

APÊNDICE A: PARÂMETROS MORFOLÓGICOS

Parâmetros morfológicos Euclidianos

Neste trabalho foram determinados os seguintes parâmetros morfológicos Euclidianos:

Número (*N*): O *Número* de agregados, flocos e poros são estimados pela identificação e soma cumulativa de cada um deles.

Número Total (NT): O *Número Total* é determinado pelo *Número* cumulativo de todos os agregados excetuando aqueles que são cortados pelas bordas da imagem.

Área (A): A Área é calculada como a superfície do objeto projetada e é definida como o número de pixels que pertencem a um objeto convertido a unidades métricas, excluindo a área dos poros:

$$A = N_{Obi} \times F_{Cal}$$

em que N_{Obi} é a soma dos pixels de cada objeto e F_{Cal} é o fator de calibração métrico.

Área Total (AT): A Área Total é estimada como a superfície do polígono que define os objetos, incluindo a área dos poros e espaços vazios.

Área dos Poros (**AP***): A **Área dos Poros** é determinada como a soma das áreas dos poros presentes no interior do floco.

Razão das Áreas de Poros (RAP): Este parâmetro é definido como a razão entre a Área A e a Área Total AT do floco segundo a expressão:

$$RAPF = \frac{A}{AT} \tag{A.1}$$

Porosidade Bidimensional (P_{2D}): A Porosidade Bidimensional P-2D foi obtida a partir da Razão de Áreas de Poros empregando a seguinte expressão:

$$P_{2D} = 100 \times (1 - RAP) \tag{A.2}$$

Percentagem da Área (% **Área**): A **Percentagem da Área** de cada agregado é definida como a razão entre a **Área** do objeto (A) e a **Área** Total da imagem.

Diâmetro Equivalente (D_{eq}): O Diâmetro Equivalente de um objeto é expresso como o diâmetro do círculo de superfície igual à do objeto convertido a unidades métricas (RUSS, 1995):

$$D_{Eq} = 2\sqrt{\frac{A}{\pi}} \tag{A.3}$$

Perímetro (**P**): Para a identificação de protozoários ciliados este parâmetro foi determinado como o *Perímetro Crofton* de um objeto convertido a unidades métricas. O *Perímetro Crofton* é calculado como a média das distâncias entre linhas retas paralelas em oito ângulos diferentes, e as bordas do objeto. Para os flocos, o *Perímetro* é determinado por:

$$P = N_{Per} \times F_{Cal} \tag{A.4}$$

onde N_{Per} é a soma dos pixels que formam a fronteira dos objetos.

Comprimento (F_{max}): O comprimento de um objeto é dado pelo Diâmetro de Feret Máximo convertido a unidades métricas. O Diâmetro de Feret de um objeto é a distância máxima entre duas tangentes paralelas tocando as bordas opostas de um objeto (GLASBEY & HORGAN, 1995)

Largura (L): A Largura de um objeto é definida como o Diâmetro de Feret Mínimo (Fmin) convertido a unidades métricas (RUSS, 1995).

Forma de Feret (FF): A Forma de Feret (ou Fator de Feret) é dada pela relação entre o Diâmetro de Feret Máximo (F_{max}) e o Diâmetro de Feret a 90° (F_{max90}) de F_{max} :

$$FF = \frac{F_{\text{max}}}{F_{\text{max 90}}} \tag{A.5}$$

Excentricidade (Exc): A Excentricidade é determinada pelos momentos de segunda ordem do objeto (GLASBEY E HORGAN, 1995).

$$Exc = \frac{(4\pi)^2 (M_{2X} - M_{2Y})^2 + 4M_{2XY}^2}{A^2}$$
 (A.6)

onde M_{2XY} é o momento de segunda ordem horizontal e vertical

Fator de Forma (FF*): O Fator de Forma estimado para os flocos microbianos é definido como:

$$FF^* = \frac{P^2}{4\pi A} \tag{A.7}$$

Envelope Convexo: Os parâmetros morfológicos Concavidade, Robustez e Índice de Concavidade dependem da criação de um Envelope Convexo do objeto definido como o menor polígono convexo que envolve o objeto, determinado pela vetorização do contorno do objeto. O processo de vetorização permite sua representação como uma série de linhas retas, cada uma delas limitadas por dois pontos do contorno. Através da conexão de todos estes pontos e o preenchimento do objeto resultante obtém-se o Envelope Convexo do objeto (PONS & VIVIER, 1999).

Robustez (Rob): Este parâmetro é expresso pela seguinte equação (PONS et al., 1997):

$$Rob = \frac{2er_{obj}}{\sqrt{A}} \tag{A.8}$$

onde er_{obj} é o número de erosões necessárias para apagar o objeto.

Razão de Concavidade (RC): Este parâmetro é determinado pela seguinte equação (PONS et al., 1997):

$$RC = \frac{4w^2}{A_c - A} \tag{A.9}$$

onde Ac é a Área do Envelope Convexo

Convexidade (Conv): Este parâmetro é expresso pela seguinte equação (GLASBEY & HORGAN, 1995):

$$Conv = \frac{P_{Conv}}{P} \tag{A.10}$$

onde *P_{Conv}* é o Perímetro do Envelope Convexo (GLASBEY & HORGAN, 1995)

Esfericidade (Esf): Parâmetro determinado pela seguinte equação (GLASBEY & HORGAN, 1995):

$$Esf = \frac{4\pi A}{P_{Conv}^2} \tag{A.11}$$

Compacidade (Comp): A Compacidade é expressa pela seguinte equação (RUSS, 1995):

$$Comp = \frac{\sqrt{\frac{4}{\pi}A}}{F_{Max}} \tag{A.12}$$

Solidez (Sol): A Solidez é definida como a relação entre a Área do objeto e a Área do Envelope Convexo (RUSS, 1995).

$$Sol = \frac{A}{A_c} \tag{A.13}$$

Largura Média (L_m) : Determinada como a relação entre a Área e o Comprimento do objeto:

$$L_{M} = \frac{A}{C} \tag{A.14}$$

Comprimento do Pedúnculo (C_P) : É calculado a partir da seguinte equação:

$$C_{P} = \frac{\frac{P_{P}}{2} + \sqrt{\left(\frac{P_{P}}{2}\right)^{2} - 4A_{P}}}{2}$$
(A.15)

onde o P_P é o Perímetro do Pedúnculo e A_P a Área do Pedúnculo (somente para protozoários e metazoários).

Largura Média do Pedúnculo (L_{MP}): A Largura Média do Pedúnculo é definida como a relação entre a Área do Pedúnculo (A_P) e Comprimento do Pedúnculo (C_p).

$$L_{MP} = \frac{A_P}{C_P} \tag{A.16}$$

onde o *CP* é o Comprimento do Pedúnculo (somente para protozoários e metazoários).

Razão de Largura Média Pedúnculo-Corpo (L_PL_{MC}): Calculada como a razão entre a Largura média do Pedúnculo e a Largura Média do Corpo (LMC):

$$L_P L_{MC} = \frac{L_{MP}}{L_{MC}} \tag{A.17}$$

onde a Largura Média do Corpo (*LMC*) é determinada como a *Largura Média* do corpo do objeto (somente protozoários e metazoários).

Razão de Largura Média do Corpo por Largura do Corpo ($L_{MC}L_C$): Determinada como a razão entre a Largura Média do Corpo e a Largura do Corpo (LC):

$$L_{MC}L_{C} = \frac{L_{MC}}{L_{C}} \tag{A.18}$$

onde a *Largura do Corpo (LC)* é determinada como a *Largura* do corpo do objeto (somente para protozoários e metazoários).

Dimensões fractais

As características geométricas dos agregados de partículas gerados na água e nos processos de tratamento de águas residuais são difíceis de descrever morfologicamente devido à natureza altamente irregular e desordenada que estes apresentam, não sendo possível aplicar a geometria Euclidiana convencional para caracterizá-los morfologicamente.

A teoria fractal, desenvolvida por MANDELBROT (1983), oferece uma alternativa completamente nova para a caracterização de muitos sistemas naturais e obtidos pela engenharia que carecem de uma forma definida ou regularidade, como é o caso dos flocos microbianos oriundos de sistemas de lodo ativado.

O parâmetro numérico mais importante na teoria fractal é definido como *Dimensão de Hausdorff* ou *Dimensão Fractal*, a qual mede a capacidade de enchimento de espaço de um objeto. Como uma extensão e generalização do clássico conceito de dimensões Euclidianas, a *Dimensão Fractal* preserva as funções de dimensão fundamentais nas medições onde as dimensões ordinárias são utilizadas como expoentes. Desta forma, a massa *M* de um objeto fractal com dimensão fractal *D* pode ser considerada proporcional ao seu tamanho *R*:

$$M(R) \alpha R^D$$
 (A.19)

Esta equação difere de uma relação ordinária massa-tamanho somente em que o coeficiente de potência D não está limitado a valores inteiros.

A *Dimensão Fractal* é considerada um termo genérico sem uma definição estrita que inclui uma série de parâmetros diferentes que refletem a complexidade de uma dada estrutura, ou seja, as irregularidades do contorno da estrutura. Os valores de *Dimensão Fractal* são, no entanto, consideravelmente dependentes de vários fatores como amostragem, esfericidade e resolução.

Vários métodos estão disponíveis na literatura para determinar a *Dimensão Fractal* de uma estrutura. Dentre eles podem ser citados o algoritmo de contagem de caixa de Liebovitch (LIEBOVITCH & TOTH, 1989), o método de variação (HUANG *et al.*, 1994), a função de correlação cruzada (HERMANOWICZ *et al.*, 1995, 1996), determinação das dimensões de calibre e *plot* de Richardson (RUSS, 1995).

O algoritmo de contagem de caixa é o mais amplamente empregado para estimar a *Dimensão Fractal* devido à relativa facilidade dos cálculos matemáticos e de computação envolvidos nele. Este algoritmo baseia-se em situar uma grade (janela, rede) de desvio de escala sobre a representação binária do objeto (pixels brancos sobre fundo de pixels pretos) seguido do exame do valor dos pixels para cada caixa. De acordo com seus valores, cada caixa será classificada em uma das seguintes categorias:

- *Caixa Interior:* Quando está situada completamente dentro do corpo do objeto (a caixa contém somente pixels brancos não havendo nenhum pixel adjacente preto).
- Caixa de Borda ou Contorno: Quando esta atravessa o contorno do objeto (caixa contendo ao menos um pixel branco e um ou mais pixels adjacentes pretos).
- Caixa Vazia: As caixas contêm somente pixels pretos.

Na representação em pixels, a área de qualquer objeto pode ser referida como a soma (ou número) de *J* caixas de tamanho *Nj*. Ademais, é conhecido que a área total de caixa necessária para encerrar completamente uma superfície fractal é dependente linearmente de *J*-*D*, sendo *D* a dimensão fractal.

Além disso, para um objeto fractal N_j deve ser proporcional a $J^{\text{-D}}$:

$$N_J = KJ^{-D} (A.20)$$

Aplicando logaritmo a ambos os membros da equação anterior:

$$Log(N_I) = Log(K) - DLog(J)$$
(A.21)

E representando -Log (NJ) como uma função do Log (J) obtém-se uma linha reta com tangente D, que pode ser determinada por regressão linear dos pontos segundo (**Figura A.1**).

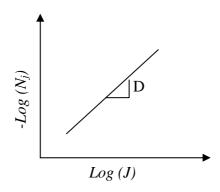


Figura A.1 – Representação gráfica da dimensão fractal

A Dimensão Fractal é chamada de estrutural quando esta se refere a parâmetros tais como superfície do objeto ou sua forma global. Estas dimensões fractais apresentam valores entre 1 e 2 com valores menos compactos ou de menor capacidade de preenchimento de espaço (valor de 1 para linhas) e com valores superiores para as formas homogêneas ou com maior capacidade para preencher espaço (valor de 2 para círculos).

A Dimensão Fractal chama-se textural quando esta se refere a parâmetros tais como o perímetro do objeto ou seu contorno. Igualmente às dimensões fractais estruturais, seus valores variam entre 1 e 2, sendo que os valores menores correspondem aos objetos com contorno regular e os valores maiores para objetos altamente irregulares (OBERT *et al.*, 1990).

Neste trabalho foram determinadas as seguintes dimensões fractais:

Dimensão Fractal de Massa (D_{BM}): Esta dimensão fractal é obtida a partir da determinação da soma das caixas NJ de tamanho J ($\acute{A}rea$), para cada janela de tamanho J, e é determinada pela tangente do Log (NJ) vs. Log (J) (Obert $et\ al.$, 1990).

Dimensão Fractal de Superfície (D_{BS}): A Dimensão Fractal de Superfície D_{BS} é calculada a partir da determinação da soma das caixas de tamanho J que cruzam as bordas do objeto P_J (Perímetro), para cada janela de caixa de tamanho J, e é dado pela tangente do Log (P_J) vs. Log (J) (OBERT $et\ al.$, 1990).

Dimensão Fractal de Perímetro vs Área. (D_{AvP}) : A Área vs. Dimensão Fractal de Perímetro D_P^A relaciona as Áreas com os Perímetros do grupo total de objetos e é determinado pela tangente do Log (A) vs. Log (P) (SODDELL & SEVIOR, 1994).

Dimensão Fractal da relação das Massas (D_{MR}): A Dimensão Fractal da relação das Massas determina a relação entre a massa de um objeto encerrado dentro de diferentes raios (r) sendo calculada pela soma das caixas de tamanho A_r (Área), para cada círculo de tamanho r, e é dada pela tangente do Log (A_r) vs. Log (r) (SODDELL & SEVIOR, 1994).

Dimensão Fractal do Mapa de Distancia Euclidiano (D_{EDM}): A Dimensão Fractal do Mapa de Distancia Euclidiano é definida por (PONS & VIVIER, 1999):

$$D_{EDM} = 1 - D_f \tag{A.22}$$

onde D_f é a tangente do Log (P_{λ}) vs. Log (λ) e o Perímetro P_{λ} para cada distância λ é dado por:

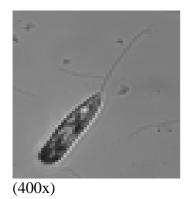
$$P_{\lambda} = \frac{\sum_{k=1}^{\lambda} EDM(k)}{\lambda} \tag{A.23}$$

APÊNDICE B: BREVE GUIA DE PROTOZOÁRIOS E METAZOÁRIOS

Nesta seção é apresentada uma breve guia dos protozoários e metazoários mais comuns nos sistemas por lodos ativados, baseada nas descrições encontradas nos trabalhos de CANLER *et al.* (1999) e MADONI (1994). As figuras correspondem às imagens dos protozoários e metazoários aquiridas durante o presente trabalho mostrando entre parêntese o aumento utilizado para aquisição das mesmas.

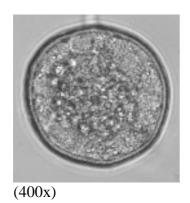
Protozoários

Flagelados

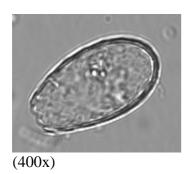


Peranema sp.: 20 – 100 μm. Corpo cilíndrico alongado e deformável com extremidade posterior arredondada. Flagelo robusto em posição frontal e outro pouco distinguível. Move-se na direção do flagelo. Alimento: bactérias. Espécie frequente mas nunca dominante nos lodos ativados. Ocorre em baixas cargas e efluentes de boa qualidade

• Sarcodinas

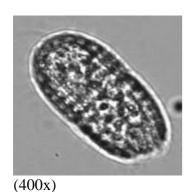


Arcella sp.: Grande ameba com teca. 30 – 250 μm. Teca rígida e transparente de forma circular quando vista pela parte superior e ovóide quando observada lateralmente, com abertura central de onde saem o pseudopodos. Presente em baixas cargas orgânicas e ou aeração prolongada, boa eficiência da nitrificação e qualidade do efluente.



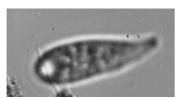
Euglypha sp.: Grande ameba com teca. 50 – 150 μm. Teca ovóide, clara e transparente composta de placas ovóides visíveis com abertura situada na extremidade mais estreita. Alimentação: bactérias. Presente em baixas cargas orgânicas e ou aeração prolongada, boa eficiência da nitrificação e qualidade do efluente.

• Ciliados



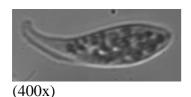
deformável em forma de barril coberto de placas, ciliatura uniforme, abertura oral apical, extremidade posterior com espinhos e um cílio longo. Extremamente móbil. Presente em cargas baixas e boa aeração, boa eficiência da nitrificação e qualidade do efluente.

Coleps sp.: Holotrichia: 55 - 65 µm. Corpo pouco

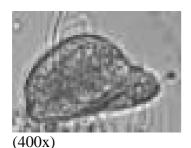


(400x)

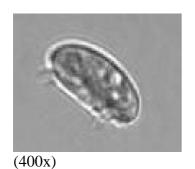
Trachelophyllum sp.: Holotrichia: 40 – 50 μm. Corpo em forma de garrafa alongado e muito flexível. Abertura oral na posição frontal. Presença de um vacuolo terminal simples e ciliatura uniforme. Alimento: bactérias e flagelados. Presente em todas as cargas, indicador de condições transientes e qualidade do efluente medíocre.



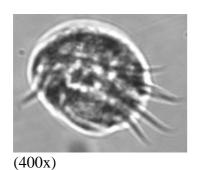
Litonotus sp.: Holotrichia: 50 – 200 μm. Corpo alongado, lateralmente comprimido e flexível. Vacuolo terminal contráctil. Ciliatura maior em torno da abertura oral. Alimento: bactérias, flagelados e ciliados. Presente em cargas médias, indicadora de uma fase transitória do tratamento.



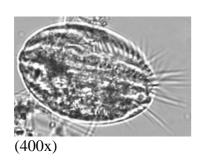
Trithigmostoma sp.: Holotrichia: 40 – 300 μm. Corpo assimétrico com protuberância dorsal. Abertura oral na forma de um tubo listrado bem visível na posição frontal. Vacuolos na posição anterior. Alimento: bactérias e outros protozoários. Presente em todas as cargas e boa qualidade do efluente.



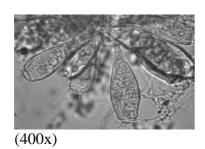
Trochilia sp. Holotrichia: 50 μm. Corpo aplanado dorsoventralmente com abertura oral visível na forma de tubo estriado. Alimento: bactérias. Presente em baixas cargas orgânicas, boa eficiência do processo de nitrificação e qualidade do efluente.



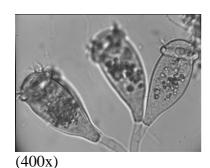
Aspidisca cicada: Spirotrichia: Hipotrichia: 25 - 45 μm. Corpo ovóide e aplanado dorso-ventralmente, com estrias dorsais e cinco cirros na parte posterior do corpo. Alta mobilidade na superficie dos flocos. Alimento: bactérias. Presente em todos os níveis de carga orgânica e condições estáveis da ETE.



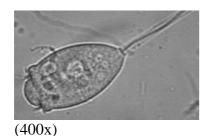
Euplotes sp.: Spirotrichia: Hypotrichia: 50 – 200 μm. Corpo aplanado dorso-ventralmente e ligeiramente alongado com estrias dorsais. Numerosos cirros na face ventral. Alimento: bactérias e pequenos flagelados. Presente em sistemas estáveis com carga orgânica média a baixa, eficiencia razoável da nitrificação e boa qualidade do efluente.



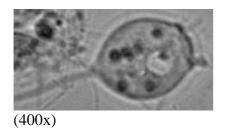
Opercularia sp.: Peritrichia: 40 – 120 μm. Colonial, corpo em forma de vaso alongado, com uma coroa de cílios na abertura oral. Macronúcleo na forma de "C" e presença de um vacuolo contráctil. Pedúnculo nãoretráctil longo sem mionema. Alimento: bactérias. Presente em altas cargas orgânicas, resistente a certos tóxicos, pH ácidos e baixos níveis de aeração. Indicador de qualidade medíocre do efluente.



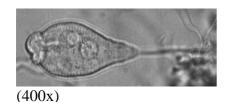
Epystilis sp.: Peritrichia: 70 – 100 μm. Colonial. Corpo em forma de vaso. Coroa de cilios na abertura oral com macronucleo em forma "C" e um vacuolo contráctil próximo a abertura oral. Pedúnculo largo não-retráctil segmentado e estriado longitudinalmente sem mionema. Alimento: bactérias. Presente em baixas cargas orgânicas, condições estáveis e boa qualidade do efluente.



V. convallaria: Peritrichia: 60 – 120 μm. Corpo em forma de sino com uma coroa de cílios na abertura oral e macronúcleo em forma de "C". Pedúnculo contráctil com mionema. Alimento: bactérias. Presente no meio em altas cargas orgânicas.



V. microstoma: Peritrichia: 20 – 60 μm. Corpo ligeiramente ovoide e estriado com uma coroa de cílios na abertura oral estreita. Presença de macronúcleo alongado e um vacuolo. Pedúnculo contráctil com mionema. Alimento: bactérias. Presentes em altas cargas orgânicas e baixo nível de aeração. Indicador de qualidade medíocre do efluente.



V. aquadulcis: Peritrichia: 20 – 50 μm. Corpo ovóide ligeiramente alongado muito estriado com uma coroa de cílios na abertura oral, macronúcleo transverso e um vacuolo. Pedúnculo contráctil com mionema. Alimento: bactérias. Presente em sistema com carga orgânica média ou baixa, boa aeração e qualidade do efluente.

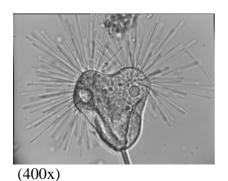


Carchesium sp.: Peritrichia: 80 – 140 μm. Colonial. Corpo em forma de sino deformado, com uma coroa de cílios na abertura oral, macronucleo em forma de ferradura e vacuolo contráctil. Pedúnculo largo com mionema e independetemente contráctil para todos os indivíduos. Alimento: bactérias. Presente em carga orgânica média, condições estáveis da instalação, boa aeração e qualidade do efluente.

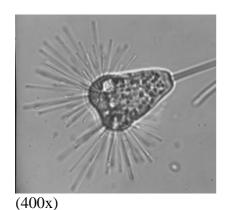


Zoothamnium sp.: Peritrichia: 80 µm. Colonial. Corpo em forma de sino, coroa de cílios na abertura oral com macronúcleo alongado e vacuolo próximo à abertura oral. Pedúnculo comprido com mionema e independentemente contráctil para todos os indivíduos.

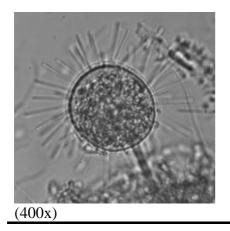
(400x)



Acineta sp. Suctoria: 30 – 300 μm. Corpo em forma de piramide invertida com dois ramos de tentáculos, um macronúcleo e um vacuolo contráctil. Pedúnculo sem mionema. O citoplasma não ocupa completamente o corpo. Alimento: protozoários nadadores. Presente em baixas cargas orgânicas



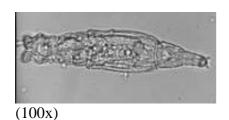
Tokophrya sp.: *Suctoria*: Corpo em forma de piramide invertida com ramos de tentáculos, um macronúcleo e um vacuolo contráctil. Pedúnculo sem mionema. Alimento: protozoários nadadores. Presente em baixas cargas orgânicas.



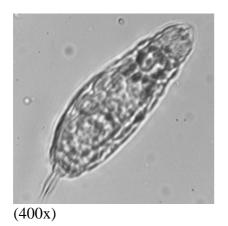
Podophrya sp.: *Suctoria*: 10 – 60 μm. Corpo esférico com tentáculos distribuídos por todo o corpo, um macronúcleo e um vacuolo contráctil. Pedúnculo rígido sem mionema. Alimento: Protozoários nadadores. Indicador de boa qualidade do efluente.

Metazoários

Rotíferos



Digononta: 100 – 250 μm. Corpo telescópico com duas coroas de cílios na abertura oral. Geralmente móbil e unido ao floco pela extremidade posterior. Alimento: bactérias. Presente em baixas cargas orgânicas e idade elevada do lodo (como mínimo 15 dias)



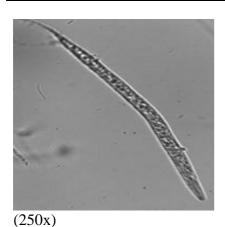
Monogononta: 50 – 300 μm. Boa distinção entre cabeça, corpo e extremidades, aplanado dorso-ventralmente com uma armação rígida e fina e um ou dois estruturas parecidas com dedos. Alimento: bactérias. Presente em baixas cargas orgânicas e idade elevada do lodo (como mínimo 15 dias), condições estáveis, boa eficiência da nitrificação e qualidade do efluente.

Oligotrichia



Aelosoma sp.: $> 500~\mu m$. Extremidade anterior arredondada com tufos de cílios ao longo de todo o corpo segmentado na forma de anéis e móbil. Presente em baixas cargas orgânicas, boa aeração, eficiência da nitrificação e qualidade do efluente.

• Gastrotriquia



Nematoda: > 150 µm. Corpo muito estreito, aplanado e móbil. Alimento: Debris e protozoários. Presente em todas as cargas orgânicas e resistente a baixos níveis de aeração.