

COLETÂNEA EM SANEAMENTO AMBIENTAL

978-85-64386-05-1

Série Temática Controle de Efluentes



Ciências Biológicas Aplicadas ao Saneamento Ambiental

Odir Clécio da Cruz Roque
Valéria Borba do Nascimento

Volume 1
2010

EXPEDIENTE

Reitor

Ricardo Vieiralves de Castro

Vice-reitora

Maria Christina Paixão Maioli

Sub-reitoria de Graduação

Lená Medeiros de Menezes

Sub-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa

Monica da Costa Pereira Lavalle Heilbron

Sub-reitoria de Extensão e Cultura

Regina Lúcia Monteiro Henriques

Centro de Tecnologia e Ciências

Maria Georgina Muniz Washington

Faculdade de Engenharia

Maria Eugenia de las Mercedes Mosconi de Gouvêa

EDITORES

Thereza Christina de Almeida Rosso

Gandhi Giordano

Editor Associado

Odir Clécio da Cruz Roque (UERJ/FIOCRUZ)

Editoração Eletrônica

Marco Antonio Perna

E-BOOK

Ciências Biológicas Aplicadas ao Saneamento Ambiental.

Roque, Odir Clécio da Cruz; Nascimento, Valéria Borba.

Série Temática: Controle de Efluentes – Volume 1

Rio de Janeiro: COAMB / FEN / UERJ / 2010.

71 p.

1. Saneamento, 2. Ciências biológicas. 3. Conceitos.

Editores – Rosso, Thereza Christina de Almeida; Giordano, Gandhi.

Editor Associado – Roque, Odir Clécio da Cruz

ISBN: **978-85-64386-05-1**

SUMÁRIO

1. A INTERFACE DA ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL E AS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS	1
2. A VARIEDADE DOS SERES VIVOS	2
2.1. Os métodos de classificação	5
2.1.1. <i>Regras internacionais de nomenclatura</i>	5
2.1.2. <i>Organismos de difícil classificação</i>	7
3. CÉLULAS	8
3.1. Estrutura	8
3.2. Dimensões	9
3.3. Formatos	9
3.4. Metabolismo	9
3.5. Nutrição	10
3.5.1.1 <i>Fotossíntese</i>	10
3.5.1.2 <i>Quimiossíntese</i>	12
3.5.1. Nutrição autotrófica	10
3.5.1.1. <i>Fotossíntese</i>	10
3.5.1.2. <i>Quimiossíntese</i>	12
3.5.2. Nutrição heterotrófica	13
4. DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO (DBO)	16
4.1. Origens	16
4.2. Efeitos poluidores	16
4.3. Definição	16
4.4. Noções de prática laboratorial	16
4.4.1. Métodos de determinação (exclusivamente da DBO).	17
4.4.1.1. <i>Método direto</i>	17
4.4.1.2. <i>Método da diluição sem sementeira</i>	18
4.4.1.3. <i>Método da diluição com sementeira</i>	20

5.	MODELO MATEMÁTICO DA CURVA DE DBO	22
5.1.	Considerações	22
5.1.1.	<i>Exemplo de utilização</i>	26
6.	CRESCIMENTO BACTERIANO NO MEIO ÁGUA	27
6.1.	Fatores limitantes	27
6.2.	O crescimento bacteriano	28
7.	CURVA DO CRESCIMENTO DE UMA CULTURA EM BATELADA	29
8.	CINÉTICA DO PROCESSO BIOLÓGICO	30
8.1.	Modelo de Eckenfelder	30
8.1.1.	<i>Determinação da taxa de remoção de substrato</i>	32
8.1.2.	<i>Determinação da produção de lodo</i>	35
8.1.3.	<i>Necessidades de oxigênio</i>	36
9.	ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO	38
9.1.	Aspectos legais	38
9.2.	Destaques	38
9.2.1.	<i>Disposições preliminares</i>	38
9.2.2.	<i>Definições</i>	39
9.2.3.	<i>Padrão de potabilidade microbiológico</i>	43
9.2.4.	<i>Amostragem</i>	48
9.3.	Noções da prática	50
9.3.1.	<i>Coleta de amostras</i>	50
9.3.1.1.	<i>Cuidados na obtenção de amostras</i>	51
9.3.1.2.	<i>Coleta de amostras de água em poço raso e mananciais superficiais</i>	55
9.4.	Tipos de exames	56
9.4.1.	<i>Exame de tubos múltiplos</i>	56
9.4.1.1.	<i>Meios de cultura</i>	56
9.4.1.2.	<i>Prática</i>	57
9.4.2.	<i>Exame de membrana filtrante</i>	61
9.4.2.1.	<i>Meios de cultura, incubação, resultados</i>	61
9.4.3.	<i>Exame pelo meio substrato definido ou cromogênico</i>	63
9.5.	Descontaminação de um sistema	64

9.5.1.	<i>Desinfecção de poço</i>	64
9.5.2.	<i>Descontaminação de caixa d'água</i>	66
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
	ANEXO	69

1. INTERFACE DA ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL E AS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

As atividades do Engenheiro da área Sanitária e Ambiental em muito necessita das informações da física, matemática e química base da engenharia, bem como de diversas outras ciências onde possui papel fundamental as Ciências Biológicas.

Sem estas informações não é possível compreender alguns parâmetros adotados para projetos em água, esgotos e resíduos que apesar da tentativa de serem completamente exatos esbarram nas propriedades inerentes aos seres vivos.

Assim, classificando-se as atividades do saneamento em suas ações básicas de água, esgotos e resíduos sólidos somente para exemplificar, se podem identificar as influências do conhecimento da biologia para projetar, manter e operar um sistema na área de engenharia sanitária e ambiental, sem o qual nada é possível realizar quando não bem interpretado.

As atividades e projetos de água, por exemplo, influencia e é influenciado não somente pelo cálculo, pela construção, pela concepção de projetos, mas também pela presença de algas na captação, pela concentração de microrganismos, pela qualidade biológica em si do meio água que deve ser tratada e distribuída a uma população. A falta de conhecimento de detalhes como a presença de cianobactérias ao nível de captação de água a ser tratada pode ser fundamental de qualidade dessa água e dependendo da concentração pode ser fatal para o homem que a consoma. Dentro do próprio processo de tratamento, os parâmetros devem estar de acordo com concentrações de microrganismos que não afetem a saúde, como, por exemplo, no caso de desinfetantes que atuam dentro da própria célula do patógeno presente meio água, nas concentrações limitantes de células de microalgas nos processos de desinfecção, pela utilização adequada de desinfetantes de acordo com a presença de patógenos, e o próprio monitoramento da qualidade bacteriológica da água a ser distribuída e os seus diversos indicadores de contaminação.

Na própria rede de distribuição e na reservação dessas águas há a necessidade do conhecimento da biologia para se entender as possíveis recontaminações do sistema, a presença de seres resistentes no meio e as novas espécies de microrganismos indicadores de contaminação da água potável e as suas limitações.

Em esgotos este conhecimento é fundamental, as reações bioquímicas já ocorrem na própria rede coletora podendo interferir no escoamento, na resistência do material empregado e na qualidade do esgoto a ser posteriormente tratado. O tratamento por sua vez é afetado por esta qualidade biológica que estabelece as eficiências de tratamento, seleciona a priori o nível de processo, se primário, secundário ou terciário e estabelece a opção de projeto para a solução do problema, não esquecendo que praticamente todo o processo de tratamento de esgotos sanitário no Brasil é biológico.

Por outro lado, o lixo (resíduos sólidos) tem a sua implicação biológica desde a sua fase de produção dentro das próprias residências, uma relação com vetores e roedores sendo que a fase biológica está presente desde o armazenamento, coleta e destino final. Todos os processos que ocorrem na degradação do lixo são primordialmente biológicos.

Não há como esquecer que esta relação está intimamente ligada à Saúde Pública, pois a maioria das doenças relacionadas à ausência de saneamento estão envolvidas às atividades ligadas a água, esgotos, lixo, drenagem, vetores e roedores, conforme pode ser visto nas **tabelas 1, 2 e 3**.

Tabela 1. Doenças relacionadas à água.

Grupo de doenças	Formas de transmissão	Principais doenças	Formas de prevenção
Transmitidas pela via feco-oral (alimentos ou água contaminados por fezes ou urina)	O organismo patogênico (agente causador da doença) é ingerido	<ul style="list-style-type: none"> • <i>diarréias e disenterias</i> <ul style="list-style-type: none"> • disenteria amebiana • balantidíase • enterite campylobacteriana • cólera • diarréia por <i>Escherichia coli</i> • giardíase • diarréia por rotavírus • salmonelose • disenteria bacilar • <i>febres entéricas</i> <ul style="list-style-type: none"> • febre tifóide • febre paratifóide • <i>poliomielite</i> • <i>hepatite A</i> • <i>leptospirose</i> • <i>ascariíase</i> • <i>tricuríase</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • proteger e tratar as águas de abastecimento e evitar o uso de fontes contaminadas • fornecer água em quantidade adequada e promover a higiene pessoal, doméstica e dos alimentos
Controladas pela limpeza com a água (associadas ao abastecimento insuficiente de água)	A falta de água e a higiene pessoal insuficiente criam condições favoráveis para a sua disseminação.	<ul style="list-style-type: none"> • <i>infecções na pele e nos olhos como o tracoma</i> • <i>tifo transmitidos por pulgas</i> • <i>piolhos</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • fornecer água em quantidade adequada e promover a higiene pessoal e doméstica
Associadas à água (o agente infeccioso está presente na água multiplicado pela presença de algum animal aquático como por exemplo o caramujo)	o microorganismo penetra pela pele ou é ingerido	<ul style="list-style-type: none"> • <i>esquistossomose</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • evitar o contato de pessoas com águas infectadas • proteger mananciais • adotar medidas adequadas para a disposição de esgotos • combater o hospedeiro intermediário
Transmitidas por vetores que relacionam com a água	As doenças são propagadas por insetos que nascem na água ou picam próximo dela	<ul style="list-style-type: none"> • <i>próximo à água</i> <ul style="list-style-type: none"> • doença do sono • <i>procriam na água</i> <ul style="list-style-type: none"> • filariose • malária • Arboviroses • febre amarela • dengue • leishmaniose 	<ul style="list-style-type: none"> • combater os insetos transmissores • eliminar condições que possam favorecer criadouros • evitar o contato com criadouros • utilizar meios de proteção individual

(Fonte: BARROS *et al*, 1996; ROQUE, 1997).

Tabela 2. Doenças relacionadas a fezes e esgotos.

Grupo de doenças	Formas de Transmissão	Principais doenças	Formas de prevenção
Feco-orais (não bacterianas)	Contato de pessoa para pessoa, quando não se tem higiene pessoal e doméstica adequada	<ul style="list-style-type: none"> • poliomielite • hepatite tipo A • giardíase • disenteria amebiana • diarreia por vírus 	<ul style="list-style-type: none"> • implantar sistema de abastecimento de água • melhorar as moradias e as instalações sanitárias • promover a educação sanitária
Feco-orais (bacterianas)	Contato de pessoa para pessoa, ingestão e contato com alimentos contaminados e contato com fontes de água contaminadas por fezes ou esgotos	<ul style="list-style-type: none"> • febre tifóide • febre paratífóide • diarreias e disenterias bacterianas, como a cólera 	<ul style="list-style-type: none"> • implantar sistema de abastecimento de água • melhorar moradias e as instalações sanitárias • promover a educação sanitária • implantar sistema de coleta de esgotos
Helmintos transmitidos pelo solo	Ingestão de alimentos contaminados e contato da pele com o solo	<ul style="list-style-type: none"> • ascaridíase (lombriga) • tricuriase • ancilostomíase (amarelão) 	<ul style="list-style-type: none"> • construir e manter limpas as instalações sanitárias • tratar os esgotos antes da disposição no solo • evitar o contato direto da pele com o solo
Tênias (solitárias) na carne de gado ou porco	Ingestão de carne mal cozida de animais infectados	<ul style="list-style-type: none"> • teníase • cisticercose 	<ul style="list-style-type: none"> • construir instalações sanitárias adequadas • tratar os esgotos antes da disposição no solo • vigilância sanitária de alimentos e cuidados na sua preparação
Helmintos associados à água	Contato da pele com água contaminada	<ul style="list-style-type: none"> • esquistossomose 	<ul style="list-style-type: none"> • construir instalações sanitárias adequadas • tratar os esgotos antes do lançamento em curso d'água • controlar os caramujos • evitar contato com água contaminada (banho etc.)
Insetos vetores relacionados com as fezes	Procriação de insetos vetores em locais contaminados por fezes	<ul style="list-style-type: none"> • filariose (elefantíase) 	<ul style="list-style-type: none"> • combater os insetos transmissores • eliminar condições que possam favorecer criadouros • evitar o contato com criadouros e utilizar meios de proteção individual

(Fonte: Barros *et al*, 1996 e ROQUE, 1997).

Tabela 3. Doenças relacionadas com lixo e transmitidas por vetores.

Vetores	Formas de transmissão	Principais doenças
Ratos	<ul style="list-style-type: none"> através da mordida, urina e fezes 	<ul style="list-style-type: none"> peste bubônica tifo murino leptospirose
Moscas	<ul style="list-style-type: none"> por via mecânica (através das asas, patas e corpo) através das fezes e saliva 	<ul style="list-style-type: none"> febre tifóide salmonelose cólera amebíase disenteria giardíase
Mosquitos	<ul style="list-style-type: none"> através da picada da fêmea 	<ul style="list-style-type: none"> malária leishmaniose febre amarela dengue filariose
Baratas	<ul style="list-style-type: none"> por via mecânica (através das asas, patas e corpo) e pelas fezes 	<ul style="list-style-type: none"> febre tifóide cólera giardíase
Suínos	<ul style="list-style-type: none"> pela ingestão de carne contaminada 	<ul style="list-style-type: none"> cisticercose toxoplasmose triquinelose teníase
Aves	<ul style="list-style-type: none"> através das fezes 	<ul style="list-style-type: none"> toxoplasmose

(Fonte: HELLER, 1997)

Portanto é de fundamental importância, conhecer esta interface, uma vez que dela dependemos de estabelecer os limites de tolerância de projeto, os seus fatores de escala biológicos, de como projetar, operar um sistema de saneamento adequadamente.

2. A VARIEDADE DOS SERES VIVOS

Há na terra milhares e milhares de organismos que vivem no ar, no solo e na água. Apresentam também grande variedade de tipos, desde seres microscópicos até animais e vegetais de grande porte. Essa diversidade imensa fornece muito dos problemas com que os biólogos se deparam e muitas informações ainda necessitam ser desvendadas.

Seria impossível estudar separadamente cada um dos diferentes tipos de organismos e antes de poder enfrentar os numerosos problemas relacionados com os seres vivos, o homem teve de criar alguns sistemas para classificá-los, ou seja, separá-los em grupos.

Nenhum dos sistemas de classificação existentes é completamente satisfatório, uma vez que há seres que não se enquadram perfeitamente em nenhuma categoria dessas classificações.

2.1. Os métodos de classificação

Portanto, para se estudar a grande variedade de seres vivos foi necessária criar separações, grupos e um meio de classificação:

2.1.1. Regras internacionais de nomenclatura

Para a classificação dos seres vivos foi necessário definir o que seria espécie, a unidade de classificação. A definição de espécie dada por John Ray foi a primeira tentativa de se estabelecer um critério seguro de classificação. Segundo Ray,

Espécie – definido como um grupo de indivíduos semelhantes que têm ancestrais comuns.

A unidade de classificação usada pelos biólogos é chamada, portanto, de espécie. A palavra espécie é usada para animais e vegetais tão semelhantes que, não só tem as mesmas características estruturais, como também possam ser cruzados e produzirem descendentes férteis.

O nome da espécie é escrito com inicial minúscula e o gênero com inicial maiúscula e ambos escritos com letras **grifadas, negrito, sublinhadas ou itálicas**, ou seja, de forma a ser destacada no texto. As espécies recebem uma denominação latina binomial, fornecendo um rótulo internacional característico (sistema binomial de nomenclatura, segundo Pelczar, Reid, Chan, 1980), como por exemplo:

Bacillus albus

Onde o primeiro termo é o gênero em letra maiúscula.

A denominação do gênero é uma palavra latina ou grega, um novo termo composto de raízes latinas ou gregas ou o nome latinizado de uma pessoa. De qualquer modo, o nome do gênero é sempre usado como palavra latina, que pode ser dos gêneros masculino, feminino ou neutro. Isto exige, que a denominação final da espécie concorde com o gênero latino da primeira palavra (PELCZAR, REID, CHAN, 1980).

Pode-se exemplificar alguns gêneros bacterianos derivados de palavras latinas ou de raízes latinas de acordo com PELCZAR, REID e CHAN, 1980:

Bacillus (masculino) = pequeno bastão;

Lactobacillus (masculino) = pequeno bastão de leite;

Sarcina (feminino) = um pacote ou grumo.

Gêneros bacterianos de origem grega latinizados:

Micrococcus (masculino) = pequeno grão;

Clostridium (neutro) = pequeno fuso.

Gêneros bacterianos denominados em homenagem a pessoas (latinizados):

Pasteurella (feminino) = homenagem a Louis Pasteur;

Erwinia (feminino) = homenagem a Erwin F. Smith, pioneiro americano da fitopatologia.

Pelczar e colaboradores ainda indicam que a segunda palavra do nome de uma bactéria é escrita (com raras exceções) em letras minúsculas e, usualmente, é descritiva. Assim por exemplo:

- adjetivo que modifica o nome: *Bacillus albus* (*Bacillus* branco);
- adjetivo sob a forma de particípio presente de um verbo: *Clostridium dissolvens* (*Clostridium* que dissolve);
- substantivo no caso possessivo que modifica o nome genérico: *Salmonella pullorum* (*Salmonella* dos pintos);
- nome em aposição, de caráter explicativo: *Bacillus radicícola* (*Bacillus* habitante da raiz).

Algumas classificações homenageiam pessoas como, por exemplo, *Escherichia coli* (Escherich).

Às vezes é necessário subdividir uma espécie em variedades. Isto ocorre quando existem diferenças numa mesma espécie, insuficientes para que seja uma nova espécie. Assim, o *Streptococcus lactis* que produz aroma de malte é designada como *Streptococcus lactis maltigenes* (PELCZAR, et al., 1980)

Outra convenção é na impossibilidade de se distinguir a espécie a que pertence um indivíduo de um determinado gênero. Neste caso, anota-se em geral o nome do gênero seguido da abreviação *sp*, como no exemplo:

Klebsielle SP

2.1.2. Organismos de difícil classificação

A classificação tradicional dos seres vivos apresenta dois grandes reinos, o Vegetal e o Animal. Porém há seres microscópicos que não podem ser classificados nos dois grandes reinos por apresentarem ao mesmo tempo características e respostas ao meio ambiente tanto de comportamento vegetal como animal dependendo dos estímulos e do meio em que vivem. Portanto, foram classificados em novo reino, agora, denominados Protistas. A diferença básica entre os Protistas e os demais estava no nível de diferenciação celular encontrado entre os indivíduos Protistas e os dos reinos Animal e Vegetal. Ou seja, num Protista, as células de um mesmo indivíduo são morfológica e funcionalmente similares, o que reduz sobremaneira a sua capacidade de adaptação e desenvolvimento. Nos organismos superiores, as células têm diferenciação por onde ocorre uma divisão de trabalho (VON SPERLING, 1996).

A classificação dos seres vivos na atualidade engloba os seguintes reinos: (a) *monera* (seres mais simples, sem núcleo diferenciado, como bactérias e cianofíceas), (b) *protistas* (seres simples, mas com núcleo diferenciado, como algas, fungos e protozoários), (c) *vegetal*, (d) *animal*. Há autores que acrescentam mais um reino, o dos fungos (SILVA Jr. e SASSON, 1993).

Nesta classificação não estão incluídos os vírus, uma vez que possuem características tanto de seres vivos como de seres não vivos, sendo que geralmente recebem códigos

gos de nomes como HIV ou estão relacionados diretamente com a doença que causam como vírus Hepatite A, por exemplo.

As espécies estão agrupadas de acordo com a **teoria da evolução** que introduziu a idéia de que as espécies se modificam e que, durante longos períodos de tempo, novas formas resultam de outras mais antigas.

As espécies muito semelhantes são colocadas num grupo maior, denominado **gênero**. Por sua vez, **gênero** semelhantes são agrupados em **famílias**, **famílias** com características semelhantes constituem uma **ordem**. Um conjunto de **ordem** características semelhantes constituem uma **classe**, e um conjunto de **classe** constitui um **filo**.

Com a finalidade de se uniformizar o uso de nomes para os organismos de maneira que os biólogos pudessem entender foram criadas as **Regras Internacionais de Nomenclatura**, de modo que a cada ser é atribuído um nome científico válido internacionalmente.

Por outro lado as bactérias podem ser colocadas em grandes grupos quando atendem a certas características comuns ou atendem a uma definição dada para uma função. Assim como exemplo, pode-se definir um Grupo Coliforme, um Grupo de Coliformes Feceais, um Grupo de Streptococos feceais, que são indicadores de contaminação da água potável e que podem agregar diversas espécies que atendem a uma mesma definição para o grupo.

3. CÉLULAS

3.1. Estrutura

As células apesar de serem muito pequenas são extremamente complexas. Precisam dispor de mecanismos para obter e usar energia, para se reproduzir, para transportar alimento para o seu interior e para expelir o material inútil. Todas essas funções devem ser executadas coordenadamente, fazendo da célula uma unidade.

Pode-se ilustrar a célula conforme a **figura 1**, porém não exatamente como se encontra na natureza. Para a Engenharia Sanitária e Ambiental dentre as diversas estruturas existentes tomaram-se como importante as seguintes partes constitutivas:

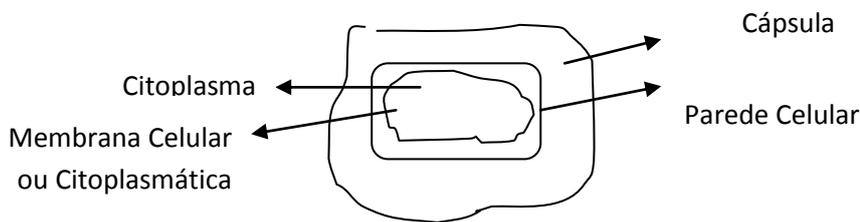


Figura 1. Ilustração esquemática da célula.

- Membrana celular ou citoplasmática – semi-permeável, envolve a célula propriamente dita e exerce o papel de selecionar as substâncias que são necessárias às células;
- Parede celular – estrutura que mantém a célula em seu formato. A rigidez por ela exercida, porém permite a troca com o meio exterior e mantém a pressão osmótica que interessa à célula de acordo com o meio ambiente a qual está inserida. A parede é constituída de diversos componentes tais como, amino-ácidos, polissacarídeos e carboidratos;
- Cápsula - em algumas células a parede pode estar envolvida por uma camada gelatinosa denominada cápsula, formada por material eliminado pela própria célula que tem o poder de aderência de forma a obter o material necessário para a sua subsistência (nutrientes, carbono e etc.) ou proteção contra agressões ao ambiente em que está inserida;
- As células que se locomovem o fazem através de *cílios* ou *flagelos*, que são estruturas próprias para o movimento;
- Dentro do Citoplasma encontram-se ácidos nucléicos (RNA), importante para a síntese de proteínas, presentes em estruturas denominadas Ribossomos. Ainda de interesse apresentam-se os grânulos de reserva alimentar, importantes no crescimento bacteriano em processos de tratamento de esgotos e a estrutura do núcleo que pode ser pontual ou difuso no Citoplasma. A célula cujo núcleo encontra-se confinado por uma membrana celular (protistas: algas, protozoários e fungos) são chamados de **eucariotas**, e aquelas cujo núcleo está difuso dentro do citoplasma (monera: cianofíceas, bactérias), são chamados de **procariotas**. O núcleo é rico em ácidos desoxirribonucléicos (DNA), que contém a informação genética para a reprodução dos seres.

3.2. Dimensões

As dimensões dos vírus encontram-se na faixa de 10^{-3} a 10^{-1} μm , sólidos considerados coloidais, as bactérias na faixa de 10^{-1} a 10^1 μm , considerados sólidos em suspensão e as algas e protozoários na faixa de 10^0 a 10^2 μm .

3.3. Formatos

Existem diversas formas de bactérias, as principais citadas de interesse da Engenharia são as formas cocos (esféricas), como por exemplo, os estreptococos; cocobacilo (esféricas achatadas), bastonete ou bacilo (bastão), por exemplo, coliformes; víbrio (vírgula), por exemplo, *vibrio cholerae*; espiralados (espiras), como por exemplo, o *Leptospira*; espiroquetas.

3.4. Metabolismo

“Os processos químicos que ocorrem simultaneamente na célula, conjuntamente denominados metabolismo, podem ser divididos em duas categorias (LA RIVIÉRE, 1980):

- *Desassimilação ou catabolismo: reações de produção de energia, nas quais ocorre a degradação do substrato;*
- *Assimilação ou anabolismo: reações que conduzem à formação de material celular (crescimento) com o auxílio da energia liberada na desassimilação.*

De uma maneira simplificada, os organismos crescem e se reproduzem às custas da utilização da energia liberada por meio da desassimilação. Na desassimilação, a energia armazenada em forma química nos compostos orgânicos (substrato) é liberada, sendo convertida na assimilação em material celular. O crescimento líquido é resultante do balanço entre o anabolismo (positivo) e o catabolismo (negativo).

*Em ambas as categorias, as transformações químicas ocorrem numa seqüência de diversas e intrincadas reações intermediárias, cada qual catalizada por um tipo específico de enzima. A maioria das enzimas está localizada dentro da célula: tais são denominadas enzimas intracelulares ou **endozimas**. No entanto, algumas enzimas são lançadas no meio externo, sendo designadas por enzimas extracelulares ou **exoenzimas**. A sua importância está ligada ao fato de que elas desempenham reações de hidrólise fora da célula, convertendo grandes moléculas de substrato em moléculas menores, as quais podem então passar pela membrana celular, tornando-se disponíveis para consumo pela célula (transcrição de VON SPERLING, 1996).”*

3.5. Nutrição

O organismo ao nutrir-se exerce sua atividade sobre o meio, de maneira a extrair dele substâncias que transformará nos constituintes de sua própria estrutura. Os principais objetivos desse processo são, pois, obter material para a auto-construção do organismo e além disso, conseguir substâncias de alto valor energético potencial para a realização de suas atividades motoras e demais reações exotérmicas, ou seja, os processos catabólicos e anabólicos.

Para a realização do processo de nutrição, existem entre os seres vivos, dois tipos de comportamento com relação ao meio que caracterizam duas maneiras de enfrentar o problema da obtenção de alimentos, ou seja, de fontes de energia, o comportamento **autotrófico**, característico dos vegetais e das algas e o comportamento **heterotrófico**, que caracteriza o animal típico e muitas das bactérias que a Engenharia Sanitária e Ambiental se utiliza. O processo **autotrófico** de obter moléculas de elevada estrutura consiste em sintetizar essas substâncias a partir de moléculas de baixo poder energético como o **CO₂** e **H₂O**. O processo de nutrição **heterotrófico** se utiliza de substâncias de alto poder de liberação de energia como, por exemplo, matéria orgânica dissolvida no meio, denominada de **substrato** e que pode ser representada pela fórmula geral **C_xH_yO_z**.

3.5.1. Nutrição Autotrófica

3.5.1.1. Fotossíntese

No citoplasma podem existir algumas estruturas bem diferenciadas que são os **plastos** ou **plastídeos** que são corpúsculos de número ou formas variáveis, geralmente contendo pigmentos (caso em que se denominam também, **cromatóforos**), que contém clorofila na maior parte dos vegetais, os quais são denominados de **cloroplastos**. Nas bactérias cianofíceas (anteriormente denominadas de algas azuis), entretanto, o pigmento se encontra difundido na massa citoplasmática, não constituindo corpúsculo. Algumas bactérias que contém clorofila, também a possuem dessa forma. Nas algas, como exemplo, frequentemente na célula o pigmento verde não se encontra só, mas ao lado de outros pigmentos de cores diferentes tais como: azul (ficocianina), vermelho (ficoeretrina), alaranjado (caroteno), amarelo (xantofila). Quando em grande quantidade podem mascarar a presença de clorofila. Alguns desses pigmentos como a ficoeretrina e certos caro-

tenóides são capazes por sua vez, de absorver raios luminosos de determinados comprimentos de onda e desempenhar também, algum papel na fotossíntese suplementando, mas não substituindo a clorofila em certas espécies de algas.

O papel da clorofila como também de outros pigmentos auxiliares de fotossíntese, consiste principalmente em absorver a luz que será aproveitada no processo e transformá-la em outra forma de energia que possa ser utilizada na síntese.

A reação de síntese que se passa nas células possuidoras de clorofila é uma reação denominada fotoquímica na qual o CO₂ é combinado a H₂O consumindo energia proveniente da luz, na proporção de 673 kcal/mol para formar um carboidrato e como sub-produto o O₂.

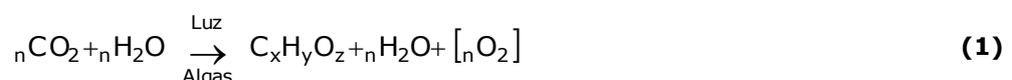
Os principais fatores externos que podem provocar mudanças na velocidade ou intensidade dessa reação são:

- a quantidade e a qualidade de luz existente;
- teor de CO₂ disponível;
- temperatura.

A quantidade de luz tem sua importância devido ao tempo em que sol fica sobre o horizonte, tempo este que permite a máxima produção de O₂ de acordo com a presença da luz solar, sendo este aspecto fundamental em processos de tratamento de esgotos por lagoas de estabilização facultativas.

O CO₂ disponível é fundamental ao processo nutritivo, e em meio água é diretamente obtido da alcalinidade que quando fora de equilíbrio pode provocar a elevação do pH do meio, pelas reações de formação de hidróxidos ou precipitação de carbonatos. A temperatura também influencia o processo, pois valores elevados (aproximadamente 35°C) tende a diminuir a velocidade de fotossíntese no meio água e a diminuição do oxigênio dissolvido do meio pela entropia causada pelo efeito de aumento de temperatura.

O processo fotossintético pode ser ilustrado pela **equação 1** que apenas é representativa de todo o complexo de reações da fotossíntese:



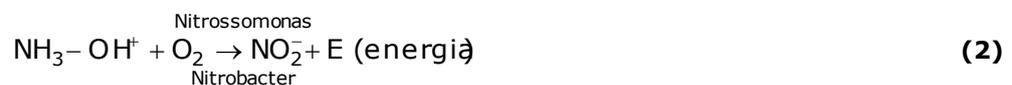
As algas são autotróficas usando o dióxido de carbono ou bicarbonatos como fonte de carbono e nutrientes inorgânicos como os fosfatos e nitrogênio este na forma de amônia ou nitratos. Em adição, traços de certos nutrientes são necessários como Mg, B, Co, Ca e outros.

3.5.1.2. Quimiossíntese

As bactérias autotróficas oxidam a matéria inorgânica em busca de energia e usam dióxido de carbono como uma fonte de carbono. As bactérias a nitrificação, do enxofre e do ferro são as de maior significado para a Engenharia Sanitária e Ambiental.

Nitrobactérias

A fim de obter energia as bactérias da nitrificação oxidam o nitrogênio amoniacal em nitratos em duas etapas (**equação 2**):



Em água a presença de nitrogênio amoniacal e nitritos indicam a presença possível de material orgânico e, portanto, possível contaminação por esgotos ou fezes. A presença de nitratos por si, não indica possível contaminação embora seja estabelecido valores máximos permissíveis de concentração pelo Padrão de Potabilidade Norma 518/2004 do Ministério da Saúde.

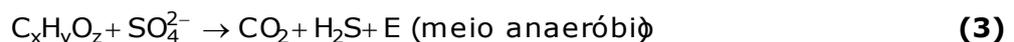
Existem processos de tratamento de esgotos que levam ao efluente final concentrações de nitratos elevados que não podem ser lançados nos corpos receptores por permitirem ou acelerarem processos de eutrofização do meio água. A Norma CONAMA 357/2005, estabelece valores limites nos padrões de lançamento, o que torna necessário processo de desnitrificação que quando biológicos são chamados de **Processos Anóxicos**, heterotróficos.

Processos de nitrificação e desnitrificação em tratamento de efluentes podem ser verificados, assim como processos aeróbios e anaeróbios, em termos de potencial redox (mV) produzido. Potenciais positivos indicam reações de oxidação da matéria orgânica em meio aeróbio, potenciais negativos indicam reações em meio anaeróbio e potenciais em torno de zero apresentam processos anóxicos, na presença de nitratos.

As nitrobactérias são encontradas nos solos, nos esgotos e água que recebem contaminação orgânica de qualquer procedência.

Sulfobactérias

As bactérias do enxofre promovem a reação abaixo (**equação 3 e 4**) que causa corrosão da parte superior interna dos coletores de esgotos. Os esgotos conduzidos pela rede frequentemente se tornam sépticos e liberam gás sulfídrico:

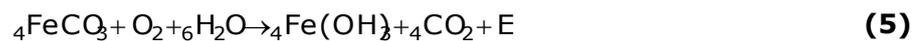


Isto ocorre normalmente nos coletores construídos com baixa declividade e em climas quentes. O gás sulfídrico é absorvido na umidade da condensação nas paredes da tubulação. Ali as bactérias do enxofre, capazes de tolerar níveis de pH menores que 1 oxidam o ácido fraco H_2S para ácido forte H_2SO_4 usando oxigênio do ar interior do coletor. O ácido sulfídrico formado reage com o concreto, reduzindo a sua resistência estrutural, podendo causar o colapso do coletor. O uso de tubulações construídas com materiais resistentes à corrosão, como o barro vitrificado ou plástico PVC é a melhor proteção contra essa ação nos coletores. Nos coletores de grandes dimensões, onde o tamanho e o custo exigem o uso do concreto, sua corrosão pode ser reduzida através da ventilação, visando a expulsão do gás sulfídrico e reduzindo a umidade da condensação.

Exemplo: Gêneros *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfobacterium* e *Desulfonema* (VON SPERLING, 1996).

Ferrobactérias

As ferrobactérias se utilizam da forma solúvel de ferro e transformam geralmente carbonatos em hidróxidos insolúveis que se precipitam na própria superfície da membrana celular bacteriana formando secreções de coloração amarelada ou avermelhada (**equação 5**).



As bactérias do ferro podem proliferar nas tubulações de água, onde o ferro dissolvido é disponível como fonte de energia e bicarbonato como fonte de carbono.

Exemplo: Gêneros *Galionella*, *Crenothrix*, *Leptothrix*.

São geralmente bactérias filamentosas que com o avanço da idade morrem sendo decompostas liberando gosto e odores desagradáveis. O método para eliminar a presença deste tipo de microrganismo é tratar a água por aeração e desinfetar com cloro.

A esse grupo pertence também, o Gênero *Sphaerotilus*, que entretanto, não é uma ferrobactéria obrigatória, uma vez que pode oxidar também o manganês e nem autótrofa obrigatória pois, vive heterotroficamente em ambientes ricos em matéria orgânica, como por exemplo, os esgotos.

3.5.2. Nutrição heterotrófica

As bactérias heterotróficas, algumas vezes referidas como saprófitas que utilizam a matéria orgânica em decomposição, usam a matéria orgânica como fonte de energia e como uma fonte de carbono para síntese.

A geração de energia nas células microbianas depende do microorganismo, do meio em que está inserido, se há presença de oxigênio, concentração de nitrato e baixa concentração de oxigênio.

Neste caso a geração de energia é dada por meio da respiração ou da fermentação. Quando é realizada na presença de oxigênio é denominada de **aeróbia** e faz parte dos processos de catabolismo oxidativo e na ausência de oxigênio de **anaeróbia** ou de processo de catabolismo fermentativo. Os processos que são realizados em concentra-

ções baixíssimas de oxigênio dissolvido, porém na presença de nitratos são denominados de **anóxicos**, e são realizadas por bactérias **facultativas**.

Ao nutrir-se a bactéria consome elétrons que ficam armazenados em coenzimas que devem desfazer-se ao longo do processo, passando esses elétrons a um receptor de elétrons. Como todo o processo de oxidação, pode ser realizado por simples retirada de átomos de hidrogênio, sendo este o principal fenômeno que ocorre. O hidrogênio retirado da molécula orgânica, deve ser transferido a um outro composto o qual recebe a denominação genérica de **aceptor de elétrons**. Quando o acceptor de hidrogênio é o oxigênio livre é denominada de aeróbia e quando o acceptor é outra substância que não o oxigênio, anaeróbia ou anóxica.

Conforme Von Sperling, 1996, pode-se estabelecer a **tabela 4** de aceptores de elétrons:

Tabela 4. Aceptores de elétrons listados em ordem decrescente de liberação de energia.

Condições	Aceptor de elétrons	Aceptor após reação	Processo
Aeróbias	Oxigênio (O ₂)	H ₂ O	Metabolismo aeróbio
Anóxicas	Nitrato (NO ₃ ⁻)	N ₂	Desnitrificação
Anaeróbias	Sulfato (SO ₄ ²⁻)	H ₂ S	Dessulfatação
	CO ₂	CH ₄	Metanogênese

"Quando vários aceptores de elétrons se encontram disponíveis no meio, o sistema utiliza aquele que produz a mais alta quantidade de energia. Por essa razão, o oxigênio dissolvido é utilizado primeiramente e, após a sua exaustão, o sistema deixa de ser aeróbio. Caso haja nitratos disponíveis no meio líquido, os organismos aparelhados a utilizar o nitrato na respiração passam a fazê-lo, convertendo o nitrato a nitrogênio gasoso. Estas condições.....sendo designadas de anóxicas. Quandotem-se condições anaeróbias estritas são utilizados sulfatos, os quais são reduzidos a sulfetos, e o dióxido de carbono que é convertido a metano. Enquanto houver substâncias de maior liberação de energia, as inferiores não serão utilizadas (ARCEIVALA, 1981, apud VON SPERLING, 1996)".

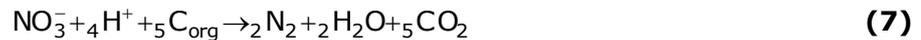
As principais equações que podem representar a geração de energia são:

- Condições aeróbias (**equação 6**):



- Condições anóxicas (**equação 7**):

A desnitrificação é a liberação de CO_2 e N_2 sob a forma gasosa, quando o nível de oxigênio torna-se baixo ($\text{OD} < 0,5 \text{ mg/L}$) e há fonte de carbono disponível para receber o oxigênio e o $\text{pH} \geq 7$. A representação da equação biológica pode ser:



No caso desta última equação, a desnitrificação ocorre pela participação de bactérias heterótrofas facultativas, não sendo, portanto, processos autótrofos.

- Condições anaeróbias (**equação 8**):
 - Redução de sulfatos (já descrita)
 - Redução de CO_2 (metanogênese hidrogenotrófica)



- Metanogênese acetotrófica (**equação 9**)



4. DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO (DBO)

4.1. Origens

Efluentes sanitários, industriais orgânicos.

4.2. Efeitos poluidores

No ecossistema há um balanceamento entre o oxigênio produzido na fotossíntese e o oxigênio consumido das bactérias aeróbias. O excesso de carga orgânica quebra o equilíbrio havendo um consumo de oxigênio para oxidar a matéria orgânica. Este consumo pode ser excessivo ocasionando um déficit de oxigênio do meio ocasionando efeitos nocivos ao meio podendo eliminar a vida dos plânctons, necton e dos bentos.

4.3. Definição

A DBO é definida como a quantidade de oxigênio necessária para degradar a matéria orgânica presente no meio água, medida em 5 dias e a temperatura de 20°C. É, portanto, por definição, uma medida laboratorial entre duas determinações de $O.D_{inicial}$ e $O.D_{final}$, em um espaço de 5 dias, a temperatura de referência de 20°C, de uma mesma amostra.

4.4. Noções da prática laboratorial

A quantidade de matéria orgânica presente, cerca de 70% dos sólidos no esgoto médio é de origem orgânica, geralmente estes compostos orgânicos são de uma combinação de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio. Há presença também de enxofre e outros elementos necessários vida dos microorganismos.

Os grupos de substâncias orgânicas nos esgotos são constituídos principalmente por:

- Compostos de proteínas (40 a 60%), N, P, Fe, C, H, S;
- Carboidratos (25 a 50%);
- Gorduras e óleos (10%);
- Uréia, detergentes, pesticidas, fenóis (em menor quantidade).

4.4.1. Métodos de determinação (exclusivamente da DBO)

A determinação prática da DBO depende da concentração de matéria orgânica na amostra. Quando em concentrações elevadas é necessário realizar diluições para determinar os valores. Quando não há a presença de microorganismos é necessário acrescentá-los no processo.

4.4.1.1. Método direto

Realizado diretamente na amostra é utilizado para águas límpidas de superfície e que realizem valores **menores do que 5 mg/L**.

O procedimento laboratorial é se utilizar três frascos de DBO e realizar a medição direta de OD_{inicial} no primeiro dia e OD_{final} dos últimos dois frascos no prazo de 5 dias e incubação a 20°C.

**A_i****A_{f1}****A_{f2}**

onde: A_i = OD da amostra no primeiro dia (mg/L)

A_{f1} = OD da amostra após 5 dias (mg/L)

A_{f2} = OD da amostra após 5 dias (mg/L)

O resultado é dado pela seguinte **equação 10**:

$$\text{DBO(mg/L)} = A_i - [(A_{f1} + A_{f2}) / 2] \quad (10)$$

4.4.1.2. Método da diluição sem semeadura

- **Preparo da água de diluição:** para a água de diluição utilize água destilada e desmineralizada.

Reagentes

A – Solução tampão de fosfatos: dissolver 8,5 g de KH₂PO₄; 21,75 g de K₂HPO₄; 33,4 g de Na₂HPO₄.7H₂O e 1,7 g de NH₄Cl em 500 ml de água destilada e dilua a 1L. O pH da solução deve ser 7,2 sem ajustes posteriores. Alternativamente, dissolva 42,5 g de KH₂PO₄ ou 54,3g de K₂HPO₄ em 700 ml de água destilada. Ajuste o pH para 7,2 com NaOH 30% e dilua a 1L.

B – Solução de sulfato magnésio: dissolver 22,5 g de $Mg SO_4 \cdot 7 H_2O$ em água destilada e dilua a 1L.

C – Solução de cloreto de cálcio: dissolver 27,5 g de $CaCl_2$ em água destilada e dilua a 1L.

D – Solução de cloreto férrico: dissolver 0,25 g de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ em água destilada e dilua a 1L.

E – Soluções ácidas e alcalinas: 1 N para neutralização de amostras:

- **ácida:** lentamente e enquanto agita, adicione 28 mL de ácido sulfúrico concentrado em água destilada e dilua a 1L.
- **alcalina:** dissolva 40 g de solução de hidróxido de sódio em água e dilua a 1L.

Preparo

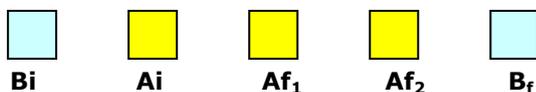
Em um volume de 2L de água destilada e desmineralizada, saturada de OD durante 24 horas no mínimo, adicione com pipeta volumétrica 2 mL de cada solução (1 mL para cada litro de água de diluição) (soluções A, B, C e D). Misture com bastão de vidro sem formação de bolhas.

Recomendações

- Devem ser feitas pelo menos 3 diluições

Para amostras com DBO maior que 5 mg/L deve-se fazer uma diluição de modo que se obtenha uma concentração que permita queda no OD em 5 dias menor que 5 mg/L.

Neste caso a norma recomenda que sejam preparados 5 frascos de DBO com a seguinte arrumação:



onde: B_i = OD da água de diluição inicial (branco, mg/L)

B_f = OD da água de diluição após 5 dias (OD do branco, mg/L)

Seqüência

- A. neutralizar as amostras ácidas ou alcalinas com soluções diluídas de NaOH ou H_2SO_4 para pH aproximado de 7.
- B. pipetar nos 3 frascos para amostra um volume determinado da mesma e completar o volume dos frascos com água de diluição até transbordar. Fechar os frascos com as respectivas rolhas, evitando a formação de bolhas de ar no interior dos frascos.
- C. completar o volume dos frascos usados como branco com a mesma água de diluição usada para a amostra.
- D. determinar o OD nos frascos B_i e A_i , no máximo dentro de 15 minutos, após completar o volume desses frascos com água de diluição.
- E. determinar o oxigênio dissolvido das amostras e branco finais, após 5 dias de incubação.

Nos frascos de amostras as depleções na faixa de 40-70% do OD inicial darão resultados mais verdadeiros, sendo que se o OD final de uma diluição for menor que 1 mg/L ou maior que 5 mg/L o resultado está comprometido.

Resultado (equação 11)

$$DBO(\text{mg/L}) = \{A_i - [(A_{f_1} + A_{f_2})/2]\}300\text{mL de amostra} \quad (11)$$

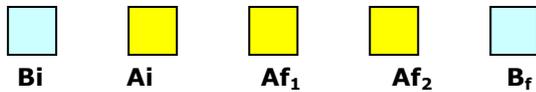
4.4.1.3. Método da diluição com sementeira

Procedimento

O mesmo do método anterior com relação à água de diluição e diluições

A. separar 5 frascos DBO para cada amostra a ser analisada e pipetar em todos, uma certa quantidade igual de semente (A semente deve ser inoculada numa diluição de 1%. A diluição da amostra dependerá da concentração de material orgânico da amostra, como na tabela 5). Procurar usar frascos com volumes os mais próximos possíveis para uma mesma amostra.

B. os 5 frascos deverão ser assim identificados:



C. neutralizar as amostras ácidas ou alcalinas com soluções diluídas de NaOH ou H₂SO₄, para pH \pm 7,0, utilizando potenciômetro.

D. pipetar nos 3 frascos para amostra um volume determinado da mesma, e completar o volume de frascos com água de diluição até transbordar. Fechar os frascos com as respectivas rolhas evitando a formação de bolhas de ar no interior dos frascos.

E. completar o volume dos frascos usados como branco com a mesma água de diluição usada para a amostra.

F. incubar à 20 °C por 5 dias, os frascos B_f, Af₁, Af₂.

G. Determinar o oxigênio dissolvido nos frascos Bi e Ai, no máximo dentro de 15 minutos, após completar o volume desses frascos com água de diluição.

H. Determinar o OD das amostras e branco finais (B_f, Af₁, Af₂).

I – Exemplo:

Volume da semente: 0,2 mL

Volume de amostra: 0,1 mL

Frascos	Nº do Frasco	Volume do Frasco	Volume do Titulante	Volume Corrigido
B_i	290	304,4	8,82	9,17
B_f	320	310	8,05	8,22
A_i	400	322	8,92	8,76
Af₁	326	322,6	6,37	6,25
Af₂	72	323	6,27	6,14
V_m	-	316,4	-	-

Volume médio = média aritmética dos volumes dos frascos

Volume Corrigido = {V_m x Volume do titulante}/Volume do frasco

Resultado (equação 12):

$$\text{DBO(mg/L)} = \frac{\{(A_i - A_{f_x}) - (B_i - B_f)\} V_m}{\text{Volume da amostra}} \quad (12)$$

A_i = volume gasto para titular a amostra imediatamente após a preparação

A_{f_x} = volume gasto para titular a amostra após 5 dias de incubação (média de 2 frascos)

B_i = volume gasto para titular o branco

B_f = volume gasto para titular o branco após 5 dias de incubação

V_m = volume médio do volume dos frascos utilizados.

Resultado do Exemplo:

$$\text{DBO(mg/L)} = \frac{\{8,76 - [(6,25 + 6,14)/2] - (9,17 - 8,22)\} \times 316,4}{0,1} = 5.125,6$$

Tabela 5. Níveis de diluição da amostra de acordo com intervalo de DBO.

Intervalo de DBO (mg/L)*	% de diluição da amostra
20.000-70.000	0,01
10.000-35.000	0,02
4.000-14.000	0,05
2.000-7.000	0,1
1.000-3.500	0,2
400-1.400	0,5
200-700	1,0
100-350	2,0
40-140	5,0
20-70	10,0
10-35	20,0
4-14	50,0
0-7	100

(Fonte: METCALF & EDDY, 1991).

*para se estimar a DBO:

Esgoto sanitário: $DBO/DQO = 0,4 - 0,8$

$DBO/COT = 0,8 - 1,0$

Observações Gerais:

As garrafas devem ser lavadas com detergente, sulfocrômica e rinsadas com água destilada e deionizada.

As amostras devem estar com pH na faixa de 6,5 – 7,5.

Na incubação as garrafas devem ficar imersas em água para evitar entrada e/ou saída de ar.

O OD residual de todas as garrafas deve ser $\geq 1,0$ mg/L.

5. MODELO MATEMÁTICO DA CURVA DE DBO

5.1. Considerações

Se determinar a DBO a cada dia e se colocar os valores em gráfico dessa determinação encontrar-se-á a seguinte **figura 2**:

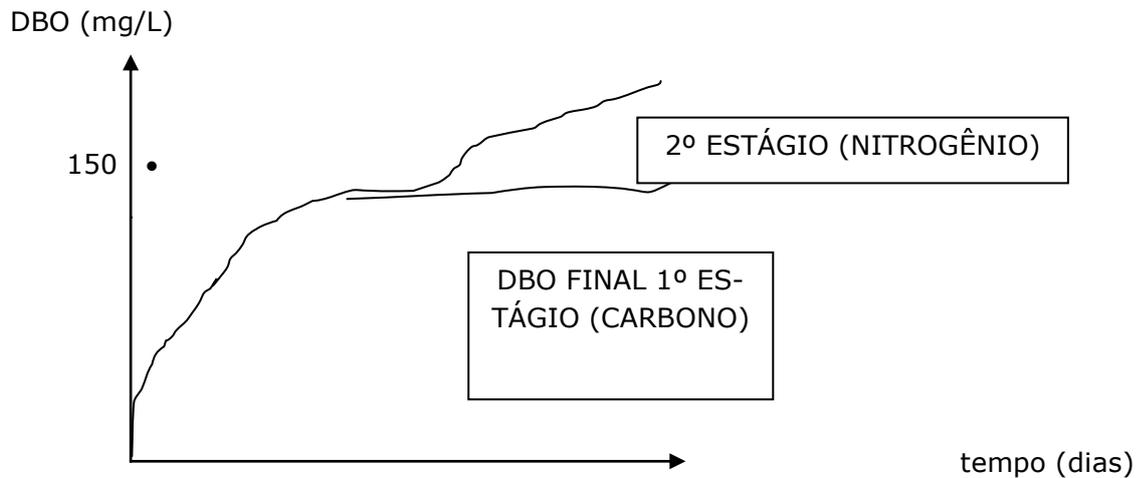


Figura 2. Curva da DBO segundo Theriault.

Este gráfico traduz a redução da Demanda Bioquímica de Oxigênio de esgoto fresco, segundo THERIAULT. Nesta curva relativa ao oxigênio utilizado, permite distinguir dois estágios. O primeiro estágio caracteriza-se pela diminuição crescente da quantidade de oxigênio utilizada em cada intervalo de tempo. Assim, nos primeiros cinco dias são consumidos aproximadamente 100 mg/L de oxigênio, ao passo que nos cinco dias seguintes são necessários cerca de 30 mg/L de oxigênio na curva de 20°C. Esse primeiro estágio corresponde à oxidação de compostos de carbono e substâncias de mais fácil decomposição. Depois de decorridos dez ou vinte dias, verifica-se que a demanda de oxigênio acelera-se rapidamente. Esse aumento de demanda corresponde ao início do "ataque" aos compostos de nitrogênio, a nitrificação.

Ao fim de 20 a 30 dias, a demanda passa a ser pequena e relativamente uniforme. Pode-se então verificar que o aspecto da curva devida ao material carbonáceo permite relacionar com as reações químicas de cinética de primeira ordem que são expressas matematicamente pela **equação 13**:

$$dL_t/dt = KL_t \quad \text{modelo matemático da cinética de primeira ordem}$$

(13)

onde:

L_t = quantidade de DBO remanescente do primeiro estágio na água, no tempo t .

O sinal negativo na equação indica que:

$$dL_t/dt < 0, \quad \text{onde } L_t > 0$$

dL_t/dt = taxa de consumo de matéria orgânica por oxidação biológica aeróbia.

K = constante de proporcionalidade (T^{-1}).

A equação pode ser reescrita (**equação 14**):

$$dL_t/L_t = -K \times dt \quad (14)$$

Integrando a equação, desde o tempo zero correspondente a concentração inicial de matéria orgânica, L_i , ao tempo t, correspondente a concentração L_t , têm-se (**equação 15 e 16**):

$$\ln L_t - \ln L_i = -Kt \quad (15)$$

$$\ln L_t/L_i = -Kt \quad (16)$$

Passando para logaritmo decimal (**equação 17**):

$$\text{Log} L_t/L_i = -Kt/2,303 \quad (17)$$

Fazendo $K/2,302 = k$ (coeficiente da velocidade de consumo de substrato, T^{-1}) (**equação 18 e 19**)

$$\text{Log} L_t/L_i = -kt \quad (18)$$

$$L_t/L_i = 10^{-kt} \quad (19)$$

onde:

$L_i = \text{DBO}_{L_i}$ = DBO remanescente no tempo $t = 0$ (a DBO final ou total do primeiro estágio, ou seja, a DBO inicialmente presente).

A quantidade de oxigênio remanescente no tempo t é igual a **(equação 20)**:

$$L_t = L_i \times 10^{-Kt} \quad (20)$$

E y , a quantidade de DBO que foi produzida no tempo t , é igual a **(equação 21 e 22)**:

$$y = L_i - L_t \quad (21)$$

Portanto:

$$L_t = L_i - y \quad (22)$$

Substituindo a equação 22 na equação 20 obtém-se as **equações 23, 24 e 25**, expressão final do modelo matemático da curva de DBO:

$$L_i - y = L_i \times 10^{-Kt}, \text{ ou} \quad (23)$$

$$L_i = L_i - L_i \times 10^{-Kt}, \text{ ou} \quad (24)$$

$$L_i = L_i(1 - 10^{-Kt}) \quad (25)$$

expressão final do modelo matemático da curva de DBO.

Para águas poluídas e despejos de esgotos, um valor típico de k (base 10, 20°C) é de $0,1\text{dia}^{-1}$. Os valores de k variam significativamente, entretanto, com o tipo de esgoto e deve ser determinado laboratorialmente se for um despejo desconhecido e não encontrado na literatura. A faixa de variação está compreendida entre $0,05$ e $0,30\text{ dia}^{-1}$ ou mais. Para a DBO final a quantidade de oxigênio varia com o tempo e com diferentes valores de k .

A temperatura na qual a DBO de uma amostra de esgotos é referenciada a 20°C. Para se determinar a constante k em outras temperaturas usa-se a fórmula de Vant'Hoff-Arrhenius **(equação 26)**:

$$kt = k_{20^{\circ}\text{C}}\theta^{t-20} \quad (26)$$

onde:

K_t = coeficiente de velocidade de remoção de substrato, na temperatura desejada, em dia^{-1}

t = temperatura do esgoto, em $^{\circ}\text{C}$.

θ = coeficiente de respiração que varia com o tipo de processo.

- Variações do valor de θ

$$\theta = 1,056 \quad (20 - 30^{\circ}\text{C})$$

$$\theta = 1,135 \quad (4 - 20^{\circ}\text{C})$$

5.1.1. Exemplo de utilização

Deseja-se conhecer a DBO final de primeiro estágio para um esgoto típico, cuja DBO_5 a 20°C é 200 mg/L , a seguir calcule a DBO de 1 dia.

Dados:

$$y_5 = 200 \text{ mg/L}; t = 5 \text{ dias}; k_{20^{\circ}\text{C}} = 0,10 \text{ dia}^{-1}$$

Pede-se:

$$L_i = ?$$

$$y_1 = ?$$

- Cálculo da DBO final de primeiro estágio

$$y_5 = L_i (1 - 10^{-kt}); \text{ substituindo: } 200 = L_i (1 - 10^{-0,1 \cdot 5}), \text{ então: } L_i = 200 / (1 - 10^{-0,5})$$

$$L_i = 293 \text{ mg/L}$$

- Cálculo da DBO de 1 dia

$$y_1 = 293 (1 - 10^{-0,1 \cdot 1})$$

$$y_1 = 60 \text{ mg/L}$$

Pode-se também a DBO final de primeiro estágio à partir de tabelas desenvolvidas para o esgoto doméstico (não incluída no texto). A relação DBO_{total}/DBO_5 , a 20°C é de 1,46. Neste caso, o exemplo ficará:

$$Li = 1,46 y_5$$

$$Li = 1,46 \times 200$$

$$Li = 292 \text{ mg/L}$$

6. CRESCIMENTO BACTERIANO NO MEIO ÁGUA

6.1. Fatores Limitantes

O crescimento bacteriano pode ser limitado por diversos fatores. Os mais importantes podem ser citados:

- Temperatura – cada espécie se reproduz numa determinada temperatura. Isto significa que a temperatura pode agir como fator de seleção de espécies. De um modo geral as bactérias podem se classificar quanto à faixa de temperatura em que se reproduzem, em:
 - Criofílicas ou psicofílicas – sobrevivem na faixa de -20 a 20°C, sendo a faixa ótima entre 12 a 18°C.
 - Mesofílicas – sobrevivem na faixa de 20 a 45°C, sendo a faixa ótima entre 28 a 38°C.
 - Termofílicas – sobrevivem na faixa de 45 a 75°C, sendo a faixa ótima entre 55 a 68°C.

Além desse efeito seletivo, a temperatura influi fortemente na própria taxa de crescimento bacteriano. O efeito da temperatura sobre a taxa de crescimento é exponencial duplicando essa taxa a cada incremento de 10°C.

- pH – a maioria das espécies bacterianas é favorecida por pH próximo da neutralidade, a faixa ótima se situando entre 6,5 a 7,5. Fora desta faixa, a taxa de crescimento se reduz drasticamente. A maioria das bactérias tem seu crescimento completamente inibido em meios de pH inferior a 4 ou superior a 9,5.
- Tensão de oxigênio
 - anaeróbias – 0 mg/L
 - aeróbias – acima de 1 mg/L
 - anóxicas – abaixo de 0,5 mg/L
- Umidade – a água é essencial para o crescimento. As bactérias apenas se reproduzem em meio líquido. A maioria das espécies é sensível a salinidade do meio.
- Nutrientes/Alimento
 - N, C, H, P, S, K, Ca, Fe, Mg.

6.2. O crescimento bacteriano

As bactérias multiplicam-se pela divisão em duas células filhas (divisão binária assexuada), no laboratório algumas bactérias podem se dividir em menos de 10 minutos. Nos ambientes naturais o processo é mais lento e se uma bactéria leva T minutos para se dividir, após nT minutos haverá 2^n células. Esse tipo de crescimento é logarítmico e é descrito pela **equação 27**:

$$N_t = N_0 \times e^{\psi t} \quad (27)$$

onde:

N_t = número de células no tempo t.

N_0 = número de células originalmente presentes (tempo zero).

ψ = taxa específica de crescimento bacteriano (T^{-1}).

t = tempo.

O valor de ψ é definida mais claramente pela forma diferencial da equação 27 conforme **a equação 28**:

$$dN/dt = \psi \times N \quad (28)$$

Isto é, a variação do número de células é proporcional, sendo ψ o fator de proporcionalidade, ao número de células presentes no momento.

- Relação entre a taxa específica de crescimento e tempo de duplicação (T) da população inicial:

Sendo $N_t = 2 N_0$ para $t = T$

$$N_t = N_0 \times e^{\psi t} \quad (27)$$

$$2N_0 = N_0 \times e^{\psi t}; 2 = e^{\psi t}$$

$$\ln 2 = \psi t$$

$$\psi = \ln 2 / T$$

$$\psi = 0,69 / T$$

7. CURVA DE CRESCIMENTO DE UMA CULTURA EM BATELADA

Considerando um reator fechado onde foi colocado uma certa concentração de substrato orgânico. Se inocularmos o reator com bactérias estas vão apresentar 5 fases distintas de crescimento conforme a **figura 3**:

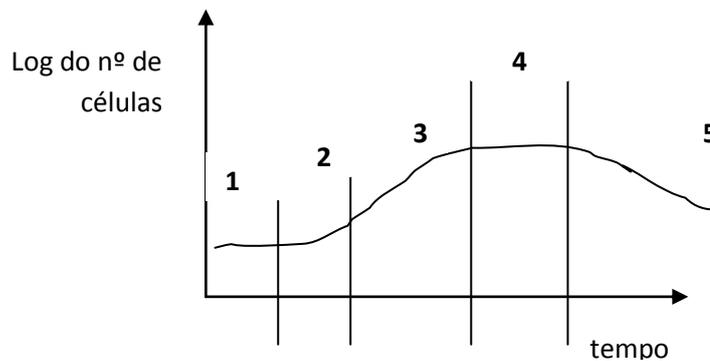


Figura 3. Curva do crescimento bacteriano.

Fase 1 – Latência – fase inicial na qual o número de organismos inoculado não sofre alteração (taxa de crescimento nula). Os microorganismos se adaptam as novas condições ambientais;

Fase 2 – Lag-fase ou Fase de aceleração – o número de organismos aumenta paulatinamente de forma crescente (a taxa de crescimento aumenta com o tempo). Os organismos vão se aclimatando as novas condições ambientais e iniciam seu processo de reprodução. À medida que se dá a aclimação aumenta a velocidade de reprodução.

Fase 3 – Log-fase ou Fase de crescimento exponencial – nesta fase os organismos dividem-se a velocidade determinada pelo tempo de geração (duplicação) e pela sua habilidade em processar o alimento. Nesta fase as bactérias armazenam alimento que deverão ser utilizadas no caso de escassez. A equação $N_t = N_0 e^{-\psi t}$, aplica-se a fase exponencial, atingindo o seu valor máximo.

Fase 4 – Estacionária – a população permanece estacionária pela escassez de alimentos e nutrientes (a taxa de crescimento é nula). A quantidade disponí-

vel de substrato atinge a níveis extremamente baixos. Os organismos dispondo de pouco material para síntese de novas células, diminuem de produção e passam a utilizar do substrato principalmente para a produção de energia, para a manutenção.

Fase 5 – Decaimento – nesta fase a taxa de decaimento dos microorganismos é superior a taxa de crescimento de novas células. Durante as fases estacionárias e de decaimento há uma proporção substancial de células que nem morrem e nem subdividem. Elas existem pela utilização das reservas intracelulares de alimentos estocados durante o crescimento exponencial, esse processo é conhecido como **respiração endógena**. Quando a reserva de uma célula acaba, ela começa a se auto-oxidar, processo então denominado **autólise**.

8. CINÉTICA DO PROCESSO BIOLÓGICO

Adaptado de JORDÃO & PESSOA (1995).

8.1. Modelo de Eckenfelder

A degradação da matéria orgânica dentro do reator pode ser representada por um mecanismo teórico conforme representado na **figura 4**, onde se pode abstrair que o substrato ou a matéria orgânica pode ser decomposta ou degradada levando as seguintes partes constitutivas:

A matéria orgânica a ser degradada pelos microorganismos passa se constituir em parte do próprio microrganismo ou em novas células de microrganismos. Existe assim uma fração "a" que é sintetizada em novas células, e uma fração "b" constitui as células dos organismos que serão destruídas na fase de respiração endógena ou de auto-oxidação.

Esta fração "a" é também conhecida como **coeficiente de produção**, "Y", tal que no reator a variação de massa dos organismos é proporcional à variação de concentração do substrato (**equação 29**):

$$(dX_{av})_s / dt = Y \times dS / dt \tag{29}$$

onde:

$(dX_{av})_s$ = aumento da concentração de microrganismos ativos devido a síntese de novas células.

$(dX_{av})_s / dt$ = taxa de crescimento absoluto de microrganismos (massa/volume.tempo)

Y = taxa de conversão de substrato utilizado em microrganismos (massa de microrganismos/massa de substrato utilizado), ou coeficiente de produção celular, ou coeficiente de síntese celular.

dS / dt = taxa de utilização de substrato pelos organismos (massa/volume.tempo)

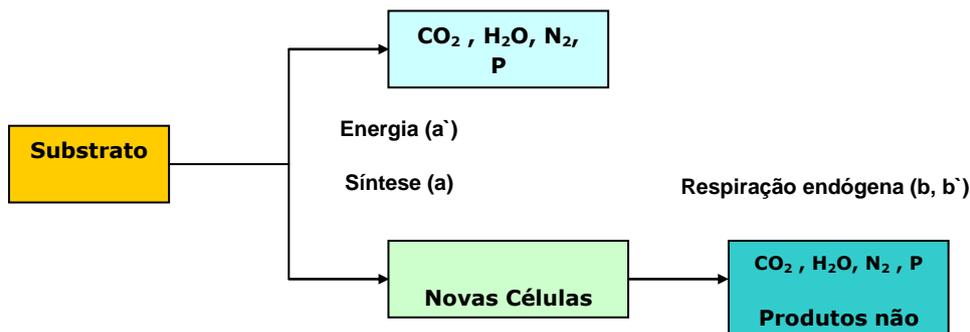


Figura 4. Mecanismo do consumo de substrato no reator biológico.

A fração "b" é também conhecida como **taxa de respiração endógena ou coeficiente de auto-destruição dos organismos**, "k_d". Demonstra-se experimentalmente que a massa de células ativas consumidas em um determinado período pelo fenômeno da respiração endógena é proporcional à massa total disponível de organismos presentes, independentemente da concentração de substrato (**equação 30**):

$$k_d = \left\{ (dX_{av})_e / dt \right\} X_{av} \quad (30)$$

onde:

$(dX_{av})_e$ = decréscimo da concentração de microrganismos ativos devido à destruição de material celular pela respiração endógena.

X_{av} = concentração de microrganismos vivos

k_d = taxa específica de respiração endógena.

Uma outra fração a' da matéria orgânica a ser degradada, é oxidada para produção de energia necessária na fase de síntese, sendo ainda caracterizado como b' a quantidade de oxigênio que supre a energia para a fase endógena, conforme demonstrado na figura 4. Estes parâmetros para esgotos sanitários têm-se encontrado respectivamente no entorno de 0,52/dia e 0,12.

Por sua vez o coeficiente de produção celular (" Y ou " a ") e a taxa específica de respiração endógena (" k_d ou " b "), têm variações no esgoto doméstico dependendo do autor e que pode ser confirmado na **tabela 6**. De qualquer forma, estes parâmetros podem ser determinados experimentalmente em laboratórios, principalmente quando se tratar de despejos industriais misturados com esgotos domésticos. Outra alternativa, é selecionar os valores através de artigos em revistas especializadas ou trabalhos publicados em Congressos especializados.

Tabela 6. Constantes cinéticas no processo de lodos ativados.

Y (base DBO)	Y (base DQO)	k _d (dia ⁻¹)	Autor
0,50	-	0,055	Heukelekian
0,50	-	-	Middlebrooks
0,38	-	0,069	Middlebrooks
0,53	-	0,001	Jenkins e Menar
0,60	-	0,05	Haas e Pearson
0,73	-	0,075	Eckenfelder
0,30-0,70	-	0,03-0,07	Quasin
-	0,33	-	McWorter e Heukelekian
-	0,33	0,001	Jenkins e Menar
-	0,33	0,04	Jenkins e Garrison
-	0,67	0,07	Benedek
-	0,31	0,016	Parkhurst e Pearson
-	0,336	0,016	Parkhurst e Pearson
-	0,35	0,05	Haas e Pearson

Fonte: JORDÃO & PESSOA, 1995.

8.1.1. Determinação da taxa de remoção de substrato (DBO)

Em esgotos domésticos, na prática, a taxa específica de remoção de substrato, é função da concentração de substrato S no sistema, e diminui à medida que S decresce, obedecendo a uma cinética de primeira ordem, conforme o modelo matemático (**equação 31**):

$$dS/dt = -K.S \quad (31)$$

onde:

S = concentração de substrato (DBO), mg/L

K = coeficiente da proporcionalidade do decréscimo de S, tempo⁻¹

t = tempo de reação.

Observando o modelo, o autor da proposta Eckenfelder, observou que a reação não depende da concentração de microrganismos presentes no volume do reator. Portan-

to, fez o valor de $K = k \cdot X_{av}$, levando neste caso o modelo a admitir que valores de microrganismos no reator biológico de lodos ativados sejam constante (**equação 31**), o que na realidade não acontece. Então,

$$dS/dt = -K \times X_{av} \times S \tag{31}$$

onde:

X_{av} = concentração de microrganismos, mg/L.

k = coeficiente da velocidade de consumo de substrato, tempo⁻¹

Para a **figura 5**, considerando-se que o reator seja de mistura completa pode-se considerar:



Figura 5. Reator de mistura completa.

- No tempo t igual ao tempo de detenção t_d , S será igual a S_e (**equação 32**):

$$dS/dt = -K \cdot X_{av} \cdot S_e \tag{32}$$

- No balanço de matéria no reator da figura 5, pode-se considerar:

Massa de substrato entrando = $Q \cdot S_0$

Massa de substrato Saindo = $Q \cdot S_e$

Consumo de substrato, no volume V do reator = $-K \cdot X_{av} \cdot V \cdot S_e$

onde:

V = volume do reator, L ou m^3

Q = vazão, L/s ou m^3/s ou m^3/d

S_o = substrato inicial ou afluente, mg/L

S_e = substrato efluente, mg/L

Portanto, podemos tomar a **equação 33**, como:

$$Q S_o - Q S_e - K \cdot X_{av} \cdot S_e \cdot V = 0 \quad (33)$$

Re-escrevendo (**equação 34**):

$$Q \cdot (S_o - S_e) / X_{av} \cdot V = k S_e \quad (34)$$

Porém, $V/Q = t_d$, então o valor da equação pode ser (**equação 35**):

$$S_o - S_e / X_{av} \cdot t_d = K S_e \quad (35)$$

Que representa uma equação de uma reta que passa pela origem, considerando que todo o substrato consumido seja representado pelo valor de S_e . Porém, os substratos, não conseguem ser totalmente biodegradados, restando uma parcela S_n , que não degrada (**equação 36**), e assim:

$$S_o - S_e / X_{av} \cdot t_d = K (S_e - S_n) \quad (36)$$

É importante observar que o tempo t_d , considerado no modelo é o tempo relativo apenas à passagem do esgoto afluente, não se levando em conta a parcela relativa à recirculação do lodo. Com efeito, se fizermos um balanço de matéria levando em consideração a recirculação teremos (**equação 37, 38 e 39**):

$$(Q \cdot S_o + Q_r \cdot S_e) - [(Q + Q_r) S_e] - K \cdot X_{av} \cdot S_e \cdot V = 0 \quad (37)$$

$$Q \cdot S_o + Q_r \cdot S_e - Q_r S_e - Q S_e - K \cdot X_{av} \cdot S_e \cdot V = 0 \quad (38)$$

$$Q \cdot S_o - Q S_e - k \cdot X_{av} \cdot S_e \cdot V = 0 \quad (39)$$

Que é a mesma expressão anterior. Portanto, se obtém o valor de S_e à partir da **equação 40**:

$$S_e = S_o / (1 + K \cdot td) \quad (40)$$

Para valores de "k" os autores costumam citar variações entre 0,017 a 0,03. No entanto, o coeficiente da velocidade de consumo de substrato, pode ser obtido a partir de experiências laboratoriais com o esgoto real a ser tratado, principalmente nos casos em que os mesmos sejam totalmente desconhecidos.

8.1.2. Determinação da produção de lodo

A produção final do lodo ativo ΔX_{av} , corresponde a um ganho ΔX_{av1} , devido à fase de síntese de microrganismos (**equação 41**), menos a uma perda ΔX_{av2} , devido à fase de respiração endógena (**equação 42**).

$$\Delta X_{av1} = a (S_o - S_e) \cdot Q = Y (S_o - S_e) \cdot Q \quad (41)$$

$$\Delta X_{av2} = b X_{av} \cdot V = K_d \cdot X_{av} \cdot V \quad (42)$$

"a" ou "Y" é fração da matéria que é sintetizada em novas células, sendo adimensional; "b" ou "K_d" é a fração de organismos (SSVTA) que é oxidada por unidade de tempo, na fase de respiração endógena (d⁻¹).

Portanto, o valor líquido de produção de lodo será (**equação 43**):

$$\Delta X_{av} = \Delta X_{av1} - \Delta X_{av2} \quad (43)$$

Esta produção constitui um lodo em excesso, ou uma quantidade de sólidos que deve ser descartada do sistema, a fim de que se possa manter uma concentração constante de lodo no tanque de aeração.

8.1.2.1. Fórmulas para valores de a e b determinados em laboratório

Sabendo-se dos valores de a, b, ou Y, k_d , à partir de dados da literatura ou já publicados, pode-se calcular a produção de lodo. No caso de retirar valores de laboratório, há a necessidade de elaborar a fórmula final de forma a ser prática. Desta maneira, tomamos a fórmula (**equação 44**) desenvolvida por Eckenfelder e definimos matematicamente:

$$\Delta X_{av} = a (S_o - S_e) Q - b X_{av} V \quad (44)$$

Multiplicando-se todos os termos por $1/X_{av} \cdot V$, teremos (**equação 45**):

$$\Delta X_{av}/X_{av} \cdot V = [a (S_o - S_e) Q]/X_{av} \cdot V - [b X_{av} V]/X_{av} \cdot V \quad (45)$$

O valor final da equação seria (**equação 46**):

$$\Delta X_{av}/X_{av} \cdot V = a [S_o - S_e]/X_{av} \cdot t_d - b \quad (46)$$

Pode-se então, plotar $\Delta X_{av}/X_{av} \cdot V$ e $[S_o - S_e]/X_{av} \cdot t_d$ em um par de eixos cartesianos, obtendo-se uma reta, cuja inclinação é a medida de "a" cuja interseção na ordenada fornece "b".

8.1.3. **Necessidades de Oxigênio**

As necessidades de oxigênio correspondem em parte ao oxigênio consumido para suprir energia para a fase de síntese e para a respiração endógena. A quantidade de oxigênio necessária para um processo de reação biológica em reator de lodos ativados é expressa pela **equação 47**:

$$\text{kg O}_2/\text{d} = a' (S_o - S_e) Q + b' X_{av} \cdot V \quad (47)$$

(a') - é a fração da matéria removida que é usada para energia, sendo adimensional; (b') é a quantidade de oxigênio utilizado por dia (em kg), por kg de lodo no tanque de aeração (SSVTA), para a fase de respiração endógena, e possui unidade d^{-1} . Embora a' e b' sejam tabelados para esgotos domésticos

($a' = 0,52$ e $b' = 0,12$), seus valores podem ser determinados em laboratórios, quando necessários para um esgoto desconhecido.

A partir da determinação da quantidade de oxigênio necessário, é possível então especificar o equipamento de aeração necessário ao projeto. É prática se operar estações do modelo proposto com concentrações de O.D. entre 1,5 a 2 mg/L no tanque de aeração.

8.1.3.1. Fórmulas para valores de a' e b' determinados em laboratório

Da mesma forma, que no item da produção de lodo, sabendo-se dos valores de a' e b' , a partir de dados da literatura ou já publicados, pode-se calcular a necessidade de oxigênio. No caso de retirar valores de laboratório, há a necessidade de elaborar a fórmula final de forma a ser prática. Desta maneira, tomamos a fórmula desenvolvida por Eckenfelder e definimos matematicamente (**equação 48**):

$$\text{kg O}_2/\text{d} = R_r \cdot V = a' (S_o - S_e) Q + b' X_{av} V \quad \text{(48)}$$

Defini-se R_r , como sendo a quantidade de oxigênio utilizado por dia e por unidade de volume. É determinado experimentalmente em reatores laboratoriais, os mesmos que servem de base para determinações práticas de a , b , a' , b' e k . O procedimento para determinação é estabelecido da seguinte forma:

- utiliza-se um oxímetro (equipamento de medição de Oxigênio Dissolvido)
- enche-se o recipiente de teste do analisador com o esgoto aerado da câmara de aeração do reator experimental de laboratório;
- o eletrodo do analisador é colocado no recipiente sobre um agitador magnético;
- a leitura da concentração de O.D. é então lida no aparelho a intervalos de 30 a 60 segundos;
- desenha-se um gráfico com as concentrações de O.D., contra os tempos respectivos, devendo-se obter uma reta;
- a inclinação desta reta mede a taxa R_r .

Utilizando-se do mesmo artifício anterior e, portanto, multiplicando-se todos os termos da equação por $1/X_{av} \cdot V$, tem-se **(equação 49)**:

$$R_r \cdot V / X_{av} \cdot V = [a' (S_o - S_e) Q] / X_{av} \cdot V + [b' X_{av} V] / X_{av} \cdot V \quad (49)$$

O valor final da equação seria **(equação 50)**:

$$R_r / X_{av} = a' [S_o - S_e] / X_{av} \cdot t_d + b' \quad (50)$$

Pode-se então, plotar R_r / X_{av} e $[S_o - S_e] / X_{av} \cdot t_d$ em um par de eixos cartesianos, obtendo-se uma reta, cuja inclinação é a medida de a' cuja interseção na ordenada fornece b' .

9. ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO

9.1. Aspectos legais

A água para consumo humano tem sua legislação pelo Ministério da Saúde, atualmente através da Portaria nº 518/GM de 25 de março de 2004 que estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e dá outras providências.

No geral obriga as instituições ou órgãos aos quais a norma se aplica o seu cumprimento, no que se refere ao tratamento convencional ou não de água para consumo humano e da obrigação também do monitoramento de cianobactérias e cianotoxinas. Estabelece responsabilidades nos nível federal, estadual e municipal incluindo o Distrito Federal e atribui à Secretaria de Vigilância em Saúde a tarefa de editar normas regulamentadoras da Portaria.

9.2. Destaques

9.2.1. Disposições preliminares

Art. 1º. *Esta Norma dispõe sobre procedimentos e responsabilidades inerentes ao controle e à vigilância da qualidade da água para consumo humano, estabelece seu padrão de potabilidade e dá outras providências.*

Art. 2º. *Toda a água destinada ao consumo humano deve obedecer ao padrão de potabilidade e está sujeita à vigilância da qualidade da água.*

Art. 3º. *Esta Norma não se aplica às águas envasadas e a outras, cujos usos e padrões de qualidade são estabelecidos em legislação específica.*

Comentando o Art. 3º e a fim de estabelecer responsabilidades, a qualidade físico-química e microbiológica de águas minerais naturais e águas naturais envasadas, inclusive de suas fontes obedecem a Resolução RDC nº 54 de 15 de junho de 2000 da ANVISA-Agência Nacional de Vigilância Sanitária, assim como águas para hemodiálise são estabelecidas pela Portaria nº 82 de 3 de janeiro de 2000 pelo Ministério da Saúde. Águas brutas e sua tratabilidade ou adequação para abastecimento para consumo humano são regulamentadas pela norma NBR 12.216 da ABNT-Associação Brasileira de Normas Técnicas (Projeto de Estação de Tratamento de Água para Abastecimento Público) e na Resolução CONAMA-Conselho Nacional de Meio Ambiente nº 357/2005 que estabelece a classificação das águas doces, salobras e salinas em todo território nacional.

9.2.2. Definições

Art. 4º. *Para os fins a que se destina a Norma, são adotadas as seguintes definições:*

I - *água potável – água para consumo humano cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos atendam ao padrão de potabilidade e que não ofereça riscos à saúde;*

II - *sistema de abastecimento de água para consumo humano – instalação composta por conjunto de obras civis, materiais e equipamentos, destinada à produção e à distribuição canalizada de água potável para populações, sob a responsabilidade do poder público, mesmo que administrada em regime de concessão ou permissão;*

III - *solução alternativa de abastecimento de água para consumo humano – toda modalidade de abastecimento coletivo de água distinta do sistema de abastecimento de água, incluindo,*

entre outras, fonte, poço comunitário, distribuição por veículo transportador, instalações condominiais horizontal e vertical;

IV - *controle da qualidade da água para consumo humano – conjunto de atividades exercidas de forma contínua pelos responsáveis pela operação de sistema ou solução alternativa de abastecimento de água, destinadas a verificar se a água fornecida à população é potável, assegurando a manutenção desta condição.*

Fazendo um breve comentário entende-se como alternativa individual toda e qualquer solução alternativa de abastecimento de água que atenda um grupo ou um único domicílio. Não importa, neste caso, se a distribuição for por rede ou não, o que na maioria das vezes esta é realizada através de fontes, poços ou chafarizes comunitários e distribuição por veículos transportadores (caminhões-pipa). Por outro lado, existem muitos casos de sistemas privados, como condomínios horizontais, hotéis, clubes, etc. que possuem fontes, tratamento e redes próprias, sendo que a norma trata estes casos como soluções alternativas, independente do porte. Neste caso toda a responsabilidade recai sobre o particular e não será do poder público. Na **tabela 7**, exemplos possíveis de classificação de formas de abastecimento de água.

V - *vigilância da qualidade da água para consumo humano – conjunto de ações adotadas continuamente pela autoridade de saúde pública, para verificar se a água consumida pela população atende à esta Norma e para avaliar os riscos que os sistemas e as soluções alternativas de abastecimento de água representam para a saúde humana;*

VI - *coliformes totais (bactérias do grupo coliforme) - bacilos gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativos, capazes de desenvolver na presença de sais biliares ou agentes tensoativos que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a $35,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ em 24-48 horas, e que podem apresentar atividade da enzima β -galactosidase. A maioria das bactérias do grupo coliforme pertence aos gêneros **Escherichia, Citrobacter, Klebsiella e Enterobacter**, embora vários outros gêneros e espécies pertençam ao grupo;*

VII - *coliformes termotolerantes - subgrupo das bactérias do grupo coliforme que fermentam a lactose a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ em 24 horas; tendo como principal representante a *Escherichia coli*, de origem exclusivamente fecal;*

VIII - **Escherichia Coli** - *bactéria do grupo coliforme que fermenta a lactose e manitol, com produção de ácido e gás a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ em 24 horas, produz indol a partir do triptofano, oxidase negativa, não hidroliza a uréia e apresenta atividade das enzimas β galactosidase e β glucoronidase, sendo considerada o mais específico indicador de contaminação fecal recente e de eventual presença de organismos patogênicos.*

Tabela 7. Exemplos de classificação de formas de abastecimento de água.

Forma de abastecimento	Classificação	Responsabilidades	Responsável pelo controle
Clubes com abastecimento próprio	Solução alternativa	Controle e vigilância	Definido pela autoridade de saúde pública (conforme art. 7-XII). Ex. presidente do clube
Camping/resorts com abastecimento próprio	Solução alternativa	Controle e vigilância	Definido pela autoridade de saúde pública (conforme art. 7-XII). Ex. proprietário
Creches com abastecimento próprio	Solução alternativa	Controle e vigilância	Definido pela autoridade de saúde pública (conforme art. 7-XII). Ex. responsável pela entidade mantenedora
Condomínios horizontais com abastecimento próprio, independentemente do porte	Solução alternativa	Controle e vigilância	Definido pela autoridade de saúde pública (conforme art. 7-XII). Ex. síndico
Condomínios verticais com abastecimento próprio	Solução alternativa	Controle e vigilância	Definido pela autoridade de saúde pública (conforme art. 7-XII). Ex. proprietário
Todos os exemplos acima que façam uso de água de sistema público (conforme definição do art. 4)	Sistema de abastecimento	Controle e vigilância	Poder público municipal ou concessionário (conforme art.8)
Fonte comunitária	Solução alternativa	Controle e vigilância	Definido pela autoridade de saúde pública (conforme artigo 7-XII). Ex. poder público municipal, concessionário ou proprietário.
Fonte individual	Solução alternativa individual	Vigilância	Não se aplica
Sistemas sob administração de serviços municipais/estaduais na sede do município	Sistema de abastecimento	Controle e vigilância	Poder público municipal ou concessionária
Pequenos sistemas sob administração de serviços municipais/estaduais em distritos	Sistema de abastecimento	Controle e vigilância	Poder público municipal ou concessionária
Sistemas terceirizados à iniciativa privada	Sistema de abastecimento	Controle e vigilância	Concessionária privada
Veículo transportador (ex. caminhão-pipa)	Solução alternativa	Controle e vigilância	Definido pela autoridade de saúde pública (conforme art. 7-XII). Ex. proprietário da empresa de responsável pelo transporte ou proprietário do veículo)

Fonte: Ministério da Saúde-Secretaria de Vigilância em Saúde, 2005.

Conforme já descrito no capítulo 2, item 2.1.2, os microrganismos podem ser definidos por grupos. Neste caso utiliza-se como indicador o grupo de coliformes totais (CT) que inclui espécies de origem fecal e não fecais, podendo ocorrer na água, no solo e em

plantas. Pesquisadores (MS/SVS, 2005) afirmam que os CT têm valor limitado para avaliação da qualidade de águas naturais, sendo aceito como indicador de contaminação da qualidade da água tratada e distribuída, quando não há como determinar outro indicador mais específico. Por outro lado, o grupo de coliformes fecais (CF) apesar da classificação inclui espécies consideradas não originalmente de origem fecais e por este motivo, pesquisadores tem aceitado uma mudança de termo para "coliformes termotolerantes" (CTe) (MS/SVS, 2005). Águas são contaminadas por esgotos sanitários que possuem cerca de 10^6 - 10^8 coliformes fecais/100mL, sendo na sua maioria *Escherichia coli*, bactéria exclusivamente de origem fecal, sendo ainda, pouco provável que CTe se desenvolvam em águas de distribuição devido a combinação de fatores como a presença de grande quantidade de nutrientes, temperatura da água acima de 13°C, ausência de cloro residual. Neste caso é considerado melhor indicador o *Escherichia coli* (OMS, 1995; BASTOS, 2000; CERQUEIRA, 1999; CERQUEIRA & HORTA, 1999).

O meio água é agressivo para as bactérias entéricas, principalmente as potenciais causadoras de doenças. Podem estar neste meio sob condições de estresse metabólico, ou seja, sem condições de nutrição. Com objetivos de não apresentarem resultados falso-negativos, os exames laboratoriais devem ter condições favoráveis de crescimento. Para tanto, existem meios de cultura pouco seletivos, onde bactérias utilizam o substrato oferecido em temperatura e nutrientes para multiplicação de células, normalmente chamados de ensaios presuntivos e repicagem em meios de cultura seletivos denominados de ensaios confirmados. As técnicas normalmente utilizam meios de culturas próprios a base de lactose para ensaios presuntivos na temperatura de incubação de $35,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ para CT e meios de cultura a base de lactose com 2% de bile de boi como inibidor na mesma temperatura para ensaios confirmativos. Para determinação de CTe, os meios de cultura são mais seletivos e utiliza-se a temperatura de $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ para tempo de incubação. O prazo para uma determinação de contagem de indicadores pode levar de 48 a 72 horas, dependendo do exame. Também é considerado padrão os métodos cromogênicos (conhecidos como métodos do substrato definido), baseados na hidrólise de substratos definidos por enzimas específicas das espécies. Possuem a grande vantagem de dispensarem temperaturas elevadas e fornecem resultados de CTe e *Escherichia coli* em 24 horas.

Em casos específicos são aceitos resultados qualitativos como Presença/Ausência – P/A para monitoramento de qualidade. Os resultados quantitativos são apresentados em densidade de microrganismos/100mL, sendo os métodos dos Tubos Múltiplos (TM) ou

Método da Diluição, Métodos Cromogênicos e a técnica da Membrana Filtrante (MF) as mais utilizadas.

IX - contagem de bactérias heterotróficas - determinação da densidade de bactérias que são capazes de produzir unidades formadoras de colônias (UFC), na presença de compostos orgânicos contidos em meio de cultura apropriada, sob condições pré-estabelecidas de incubação: 35,0, ± 0,5°C por 48 horas.

Bactérias Heterotróficas fornecem informações gerais da qualidade microbiológica da água (são microrganismos que consomem carbono orgânico como fonte de nutrientes).

O teste acusa a presença, inespecífica, de bactérias ou esporos de bactérias, de qualquer origem que esteja presente na água. É na realidade um indicador auxiliar que fornece informações sobre problemas de desinfecção, colonização, formação de biofilmes no sistema de distribuição. Considera-se apropriada para apontar problemas de qualidade da água em reservatórios ou não integralidade no sistema de distribuição. Apontam-se como fatores para formação de biofilmes a temperatura elevada; a estagnação da água; disponibilidade de nutrientes e baixa concentração residual de desinfetante (MS/SVS, 2005).

X - cianobactérias - microorganismos procarióticos autotróficos, também denominados como cianofíceas (algas azuis), capazes de ocorrer em qualquer manancial superficial especialmente naqueles com elevados níveis de nutrientes (nitrogênio e fósforo), podendo produzir toxinas com efeitos adversos à saúde; e

XI - cianotoxinas - toxinas produzidas por cianobactérias que apresentam efeitos adversos à saúde por ingestão oral, incluindo:

a) microcistinas - hepatotoxinas heptapeptídicas cíclicas produzidas por cianobactérias, com efeito potente de inibição de proteínas fosfatases dos tipos 1 e 2A e promotoras de tumores;

b) cilindrospermopsina - alcalóide guanidínico cíclico produzido por cianobactérias, inibidor de síntese protéica, predominantemente hepatotóxico, apresentando também efeitos citotóxicos nos rins, baço, coração e outros órgãos; e

c) saxitoxinas - grupo de alcalóides carbamatos neurotóxicos produzido por cianobactérias, não sulfatados (saxitoxinas) ou sulfatados (goniautoxinas e C-toxinas) e derivados decarbamil, apresentando efeitos de inibição da condução nervosa por bloqueio dos canais de sódio.

As cianobactérias são importantes para a saúde pública, uma vez que, a lise de suas células nos processos de tratamento liberam toxinas de origem orgânica hepatotóxicas, neurotóxicas ou que causam irritação da pele. A sua determinação se torna impor-

tante devido a presença comum nos mananciais brasileiros da cianobactéria *Microcystis* comprovadamente nociva à saúde humana.

9.2.3. Padrão de potabilidade microbiológico

O padrão de potabilidade 518/2005 leva em consideração diversos aspectos dentre eles valores de microbiologia, físico-químico, químico e radioativo. Aqui são apresentados apenas os aspectos microbiológicos.

Art.11. A água potável deve estar em conformidade com o padrão microbiológico conforme **Tabela 8**, a seguir:

Tabela 8. Padrão microbiológico de potabilidade da água para consumo humano.

PARÂMETRO	VMP ⁽¹⁾
Água para consumo humano⁽²⁾	
Escherichia coli ou coliformes termotolerantes ⁽³⁾	Ausência em 100ml
Água na saída do tratamento	
Coliformes totais	Ausência em 100ml
Água tratada no sistema de distribuição (reservatórios e rede)	
Escherichia coli ou coliformes termotolerantes ⁽³⁾	Ausência em 100ml
Coliformes totais	Sistemas que analisam 40 ou mais amostras por mês: Ausência em 100ml em 95% das amostras examinadas no mês; Sistemas que analisam menos de 40 amostras por mês: Apenas uma amostra poderá apresentar mensalmente resultado positivo em 100ml

NOTAS:

(1) Valor Máximo Permitido.

(2) água para consumo humano em toda e qualquer situação, incluindo fontes individuais como poços, minas, nascentes, dentre outras.

(3) a detecção de **Escherichia coli** deve ser preferencialmente adotada.

§ 1 No controle da qualidade da água, quando forem detectadas amostras com resultado positivo para coliformes totais, mesmo em ensaios presuntivos, novas amostras devem ser coletadas em dias imediatamente sucessivos até que as novas amostras revelem resultado satisfatório.

§ 2 Nos sistemas de distribuição, a coleta deve incluir, no mínimo, três amostras simultâneas, sendo uma no mesmo ponto e duas outras localizadas a montante e a jusante.

§ 3 Amostras com resultados positivos para coliformes totais devem ser analisadas para **Escherichia coli** e, ou, coliformes termotolerantes, devendo, neste caso, ser efetuada a verificação e confirmação dos resultados positivos.

§ 4 O percentual de amostras com resultado positivo de coliformes totais em relação ao total de amostras coletadas nos sistemas de distribuição deve ser calculado mensalmente, excluindo as amostras extras (recoleta).

§ 5 O resultado negativo para coliformes totais das amostras extras (recoletas) não anula o resultado originalmente positivo no cálculo dos percentuais de amostras com resultado positivo.

§ 6 Na proporção de amostras com resultado positivo admitidas mensalmente para coliformes totais no sistema de distribuição, expressa na Tabela 8, não são tolerados resultados positivos que ocorram em recoleta, nos termos do § 1º. deste artigo.

§ 7 Em 20% das amostras mensais para análise de coliformes totais nos sistemas de distribuição, deve ser efetuada a contagem de bactérias heterotróficas e, **uma vez excedidas 500 unidades formadoras de colônia (UFC) por ml, devem ser providenciadas imediata recoleta, inspeção local e, se constatada irregularidade, outras providências cabíveis.**

Valores de bactérias heterotróficas acima de 500 UFC/mL provocam interferência na determinação de coliformes, por inibição de crescimento. O resultado é portanto, uma um controle de qualidade da determinação de coliformes. Por outro lado, aponta problemas na qualidade da água caso haja variações bruscas.

§ 8 Em complementação, recomenda-se a inclusão de pesquisa de organismos patogênicos, com o objetivo de atingir, como meta, um padrão de ausência, dentre outros, de **enterovírus**, cistos de **Giardia spp** e oocistos de **Cryptosporidium sp.**

" O conhecimento acumulado torna forçoso reconhecer que os coliformes não são indicadores adequados da eficiência do tratamento em termos de remoção de vírus e protozoários. Em linhas gerais, bactérias e vírus são inativados pelo processo de desinfecção, enquanto os protozoários, preponderantemente, são removidos por filtração (USEPA, 1998). Quanto à resistência aos agentes desinfetantes, também em linhas gerais, por ordem crescente, apresentam-se as bactérias, os vírus, os cistos de **Giardia** e os oocistos de **Cryptosporidium** (USEPA, 1989, 1998, 1999, 2001). Decorre daí a recomendação do §7º, que, na medida do possível, do ponto de vista técnico e financeiro, procure-se implementar o monitoramento para a pesquisa de vírus e protozoários (MS/SVS, 2005)".

§ 9 Em amostras individuais procedentes de poços, fontes, nascentes e outras formas de abastecimento sem distribuição canalizada, tolera-se a presença de coliformes totais, na ausência de **Escherichia coli** e, ou, coliformes termotolerantes, nesta situação devendo ser investigada a origem da ocorrência, tomadas providências imediatas de caráter corretivo e preventivo e realizada nova análise de coliformes.

Art. 12. Para a **garantia** da qualidade microbiológica da água, em complementação às exigências relativas aos indicadores microbiológicos, deve ser observado o padrão de turbidez expresso na **Tabela 9**, abaixo:

Tabela 9. Padrão de turbidez para água pós-filtração ou pré-desinfecção.

TRATAMENTO DA ÁGUA	VMP ⁽¹⁾
Desinfecção (água subterrânea)	1,0 UT ⁽²⁾ em 95% das amostras
Filtração rápida (tratamento completo ou filtração direta)	1,0 UT ⁽²⁾
Filtração lenta	2,0 UT ⁽²⁾ em 95% das amostras

NOTAS:

(1) Valor máximo permitido.

(2) Unidade de turbidez.

§ 1 Entre os 5% dos valores permitidos de turbidez superiores aos VMP estabelecidos na **tabela 9**, o limite máximo para qualquer amostra pontual deve ser de 5,0 UT, assegurado, simultaneamente, o atendimento ao VMP de 5,0 UT em qualquer ponto da rede no sistema de distribuição.

§ 2 Com vistas a assegurar a adequada eficiência de remoção de **enterovírus**, cistos de **Giardia spp** e oocistos de **Cryptosporidium sp.**, recomenda-se, enfaticamente, que, para a filtração rápida, se estabeleça como meta a obtenção de efluente filtrado com valores de turbidez inferiores a 0,5 UT em 95% dos dados mensais e nunca superiores a 5,0 UT.

§ 3 O atendimento ao percentual de aceitação do limite de turbidez, expresso na **tabela 9**, deve ser verificado, mensalmente, com base em amostras no mínimo diárias para desinfecção ou filtração lenta e a cada quatro horas para filtração rápida, preferivelmente, em qualquer caso, no efluente individual de cada unidade de filtração.

Art. 13. Após a desinfecção, a água deve conter um teor mínimo de cloro residual livre de 0,5 mg/L, sendo obrigatória a manutenção de, no mínimo, 0,2 mg/L em qualquer ponto da rede de **distribuição**, recomendando-se que a cloração seja realizada em pH inferior a 8,0 e tempo de contato mínimo de 30 minutos.

Parágrafo único. Admite-se a utilização de outro agente desinfetante ou outra condição de operação do processo de desinfecção, desde que fique demonstrado pelo responsável pelo sistema de tratamento uma eficiência de inativação microbiológica equivalente à obtida com a condição definida neste artigo.

Os teores de cloro residual devem obedecer as seguintes recomendações da **tabela 10**:

Tabela 10. Teores de cloro residual (mg/L).

Local	Mínimo obrigatório	Máximo		Função
		Obrigatório	Recomendado	
Saída do tanque de contato	0,5	-	-	Indicador da eficiência da desinfecção
Sistema de distribuição	0,2	5,0 ⁽²⁾	2,0 ⁽³⁾	(1) residual preventivo à recontaminação na rede (2) VMP baseado em critérios de riscos à saúde (3) recomendação baseada em critérios organolépticos

Art. 14. A água potável deve estar em conformidade com o padrão de substâncias químicas que representam risco para a saúde expresso na **tabela 11** (somente devida a bactérias cianofíceas e substâncias desinfetantes).

Tabela 11. Padrão de potabilidade para substâncias químicas que representam risco à saúde.

PARÂMETRO	Unidade	VMP ⁽¹⁾
CIANOTOXINAS		
Microcistinas ⁽³⁾	µg/L	1,0
Desinfetantes e produtos secundários da desinfecção		
Bromato	mg/L	0,025
Clorito	mg/L	0,2
Cloro livre ⁽⁴⁾	mg/L	5
Monocloramina	mg/L	3
2,4,6 Triclorofenol	mg/L	0,2
Trihalometanos Total	mg/L	0,1

NOTAS:

(1) Valor Máximo Permitido.

(2) Os valores recomendados para a concentração de íon fluoreto devem observar à legislação específica vigente relativa à fluoretação da água, em qualquer caso devendo ser respeitado o VMP da Tabela de substâncias químicas.

(3) É aceitável a concentração de até 10 µg/L de microcistinas em até 3 (três) amostras, consecutivas ou não, nas análises realizadas nos últimos 12 (doze) meses.

(4) Análise exigida de acordo com o desinfetante utilizado.

Na nota (4) da **tabela 11** com relação aos desinfetantes pode-se apresentar a seguinte relação do produto desinfetante aplicado e as substâncias secundárias geradas, conforme **tabela 12**:

Tabela 12. Desinfetantes e substâncias secundárias geradas.

Desinfetante	Substância produzida
(1) Ozônio	(1) Bromato
(2) Dióxido de Cloro	(2) Clorito
(3) Cloro	(3) Monocloroamina
	(3) 2,4,6 Triclorofenol
	(3) Trihalometano total

Fonte: MS/SVS, 2005.

§ 1 *Recomenda-se que as análises para cianotoxinas incluam a determinação de cilindrospermopsina e saxitoxinas (STX), observando, respectivamente, os valores limites de 15,0 µg/L e 3,0 µg/L de equivalentes STX/L.*

§ 2 *Para avaliar a presença dos inseticidas organofosforados e carbamatos na água, recomenda-se a determinação da atividade da enzima acetilcolinesterase, observando os limites máximos de 15% ou 20% de inibição enzimática, quando a enzima utilizada for proveniente de insetos ou mamíferos, respectivamente.*

Art. 16.

§ 1 *Recomenda-se que, no sistema de distribuição, o pH da água seja mantido na faixa de 6,0 a 9,5.*

§ 2 *Recomenda-se que o teor máximo de cloro residual livre, em qualquer ponto do sistema de abastecimento, seja de 2,0 mg/L.*

§ 3 *Recomenda-se a realização de testes para detecção de odor e gosto em amostras de água coletadas na saída do tratamento e na rede de distribuição de acordo com o plano mínimo de amostragem estabelecido para cor e turbidez nas tabelas 13 e 14.*

Art. 17. *As metodologias analíticas para determinação dos parâmetros físicos, químicos, microbiológicos e de radioatividade devem atender às especificações das normas nacionais que disciplinem a matéria, da edição mais recente da publicação Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, de autoria das instituições American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) e Water Environment Federation (WEF), ou das normas publicadas pela ISO (International Standardization Organization).*

§ 1 *Para análise de cianobactérias e cianotoxinas e comprovação de toxicidade por bioensaios em camundongos, até o estabelecimento de especificações em normas nacionais ou internacionais que disciplinem a matéria, devem ser adotadas as metodologias propostas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em sua publicação Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management.*

§ 2 *Metodologias não contempladas nas referências citadas no § 1º e "caput" deste artigo, aplicáveis aos parâmetros estabelecidos nesta Norma, devem, para ter validade, receber aprovação e registro pelo Ministério da Saúde.*

§ 3 As análises laboratoriais para o controle e a vigilância da qualidade da água podem ser realizadas em laboratório próprio ou não que, em qualquer caso, deve manter programa de controle de qualidade interna ou externa ou ainda ser acreditado ou certificado por órgãos competentes para esse fim.

9.2.4. Amostragem

A **tabela 13** mostra o número mínimo de amostras para análise, conforme o padrão de potabilidade de água para consumo humano.

Tabela 13. Número mínimo de amostras mensais para o controle da qualidade da água de sistema de abastecimento, para fins de análises microbiológicas, em função da população abastecida.

PARÂMETRO	SISTEMA DE DISTRIBUIÇÃO (RESERVATÓRIOS E REDE)			
	População abastecida			
	< 5.000 hab.	5.000 a 20.000 hab.	20.000 a 250.000 hab.	> 250.000 hab.
Coliformes totais	10	1 para cada 500 hab.	30 + (1 para cada 2.000 hab.)	105 + (1 para cada 5.000 hab.) Máximo de 1.000

NOTA: na saída de cada unidade de tratamento devem ser coletadas, no mínimo, 2 (duas) amostra semanais, recomendando-se a coleta de, pelo menos, 4 (quatro) amostras semanais.

A **tabela 14** apresenta o número mínimo de amostras e freqüência mínima de amostragem para o controle da qualidade da água de solução alternativa, para fins de análises físicas, químicas e microbiológicas, em função do tipo de manancial e do ponto de amostragem.

Tabela 14. Número mínimo de amostras e frequência mínima de amostragem.

PARÂMETRO	TIPO DE MANANCIAL	SAÍDA DO TRATAMENTO (para água canalizada)	NÚMERO DE AMOSTRAS RETIRADAS NO PONTO DE CONSUMO ⁽¹⁾ (para cada 500 hab.)	FREQUÊNCIA DE AMOSTRAGEM
Cor, turbidez, pH e coliformes totais ⁽²⁾	Superficial	1	1	Semanal
	Subterrâneo	1	1	Mensal
CRL ^{(2) (3)}	Superficial ou Subterrâneo	1	1	Diário

Notas:

(1) Devem ser retiradas amostras em, no mínimo, 3 pontos de consumo de água.

(2) Para veículos transportadores de água para consumo humano, deve ser realizada 1 (uma) análise de CRL em cada carga e 1 (uma) análise, na fonte de fornecimento, de cor, turbidez, pH e coliformes totais com frequência mensal, ou outra amostragem determinada pela autoridade de saúde pública.

(3) Cloro residual livre.

§ 1 A amostragem deve obedecer aos seguintes requisitos:

I - distribuição uniforme das coletas ao longo do período; e

II - representatividade dos pontos de coleta no sistema de distribuição (reservatórios e rede), combinando critérios de abrangência espacial e pontos estratégicos, entendidos como aqueles próximos a grande circulação de pessoas (terminais rodoviários, terminais ferroviários, etc.) ou edifícios que alberguem grupos populacionais de risco (hospitais, creches, asilos, etc.), aqueles localizados em trechos vulneráveis do sistema de distribuição (pontas de rede, pontos de queda de pressão, locais afetados por manobras, sujeitos à intermitência de abastecimento, reservatórios, etc.) e locais com sistemáticas notificações de agravos à saúde tendo como possíveis causas agentes de veiculação hídrica.

§ 2 No número mínimo de amostras coletadas na rede de distribuição, previsto na **tabela 13**, não se incluem as amostras extras (recoletas).

§ 3 Em todas as amostras coletadas para análises microbiológicas deve ser efetuada, no momento da coleta, medição de cloro residual livre ou de outro composto residual ativo, caso o agente desinfetante utilizado não seja o cloro.

§ 4 Para uma melhor avaliação da qualidade da água distribuída, recomenda-se que, em todas as amostras referidas no § 3º deste artigo, seja efetuada a determinação de turbidez.

§ 5 Sempre que o número de cianobactérias na água do manancial, no ponto de captação, exceder 20.000 células/ml (2mm³/L de biovolume), durante o monitora-

mento que trata o § 1^o do artigo 19, será exigida a análise semanal de cianotoxinas na água na saída do tratamento e nas entradas (hidrômetros) das clínicas de hemodiálise e indústrias de injetáveis, sendo que esta análise pode ser dispensada quando não houver comprovação de toxicidade na água bruta por meio da realização semanal de bioensaios em camundongos.

Art. 19. Os responsáveis pelo controle da qualidade da água de sistemas e de soluções alternativas de abastecimento supridos por manancial superficial devem coletar amostras semestrais da água bruta, junto do ponto de captação, para análise de acordo com os parâmetros exigidos na legislação vigente de classificação e enquadramento de águas superficiais, avaliando a compatibilidade entre as características da água bruta e o tipo de tratamento existente.

§ 1 O monitoramento de cianobactérias na água do manancial, no ponto de captação, deve obedecer frequência mensal, quando o número de cianobactérias não exceder 10.000 células/ml (ou 1mm³/L de biovolume), e semanal, quando o número de cianobactérias exceder este valor.

§ 2 É vedado o uso de algicidas para o controle do crescimento de cianobactérias ou qualquer intervenção no manancial que provoque a lise das células desses microrganismos, quando a densidade das cianobactérias exceder 20.000 células/ml (ou 2mm³/L de biovolume), sob pena de comprometimento da avaliação de riscos à saúde associados às cianotoxinas.

Art. 20. A autoridade de saúde pública, no exercício das atividades de vigilância da qualidade da água, deve implementar um plano próprio de amostragem, consoante diretrizes específicas elaboradas no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS.

9.3. Noções da prática

9.3.1. Coleta de amostras

➤ Frascos de coleta

De vidro de boca larga e esmerilhada, preparado com proteção de papel alumínio ou manilha, esterilizado a seco. Deve conter solução quelante de EDTA quando suspeita-se de presença de metal e solução de tiosulfato de sódio quando a água contiver cloro residual.

➤ **Preparo de soluções**

Tiosulfato de sódio a 1,8%

Tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) ⇒ 18 g

Água destilada ⇒ 1000 mL

Adicionar antes da esterilização, volume de 0,1 mL da solução para cada 100 mL de amostra

EDTA a 15%

Ácido etilenodiaminotetracético ⇒ 150 g

Água destilada ⇒ 1000 mL

Para águas que contenham concentrações de metais superiores que 0,01 mg/L, adicionar antes da esterilização volume de 0,3 mL para cada 100 mL de amostra a ser coletada. Se a água a ser coletada contiver valores de cobre, deve ser adicionado 0,1 mL de solução a 10% de tiosulfato de sódio para cada 100 mL de amostra antes da esterilização do frasco, a fim de prevenir a ação bactericida do metal.

➤ **Sacos ou sachets de coleta**

Encontra-se comercialmente sacos ou *sachets* de plástico, próprios para coleta, previamente esterilizados e também tiosulfato de sódio na concentração indicada sob a forma de comprimidos. O comprimido deve ser adicionado ao *sachet* antes da realização da coleta.

9.3.1.1. Cuidados na obtenção de amostras

Em caso de verificação da qualidade de amostras deve-se verificar o local mais representativo do consumo de água potável. Por exemplo, bebedouros, filtros e torneiras são pontos preferenciais. No caso de verificação de todo o ramal predial os pontos mais representativos são:

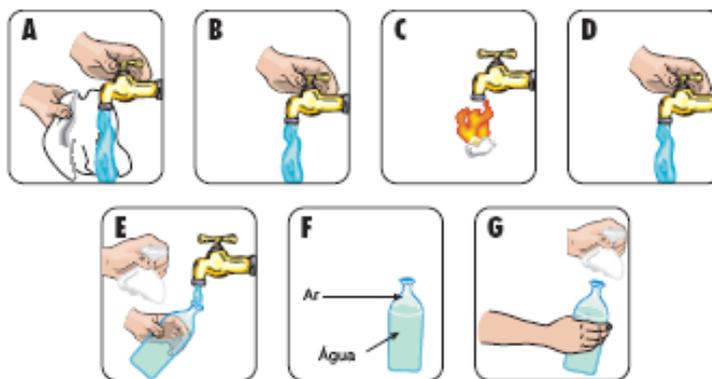
A – Registro logo após o cavalete de entrada de água da empresa fornecedora;

B – Cisterna se houver;

C – Caixa d'água;

D – Bebedouros, filtros ou torneira que represente um ponto notável, por exemplo, final da rede predial.

Para a coleta nos frascos deve-se seguir um ritual que está representado na **figura 6**, segundo a Organização Pan Americana da Saúde (OPAS).



Fonte: Opas, 1987.

Figura 6. Coleta de amostra de água para exame

A – Limpar a torneira;

B – Deixar escorrer por dois a três minutos;

C – Flamar ou desinfetar a torneira, se necessário;

D – Deixar escorrer por dois a três minutos;

E – O frasco preparado com proteção de papel alumínio, não deve ser tocado em suas bordas e o coletor treinado, deve prender a respiração e coletar cerca de 2/3 do volume do frasco;

F – Colocar a tampa, homogeneizar e identificar;

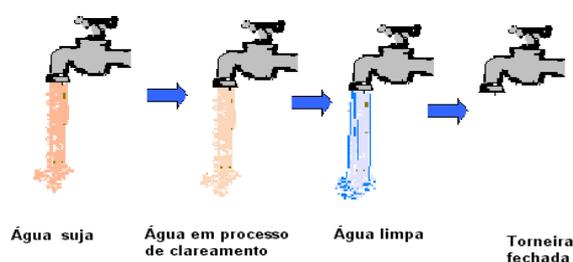
G – Nenhuma pessoa deve estar próxima, tossindo, fumando.

Para coleta de amostras em *sachets* devem-se ter os mesmos cuidados seguindo as seguintes recomendações, conforme as **figuras 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 e 15**.



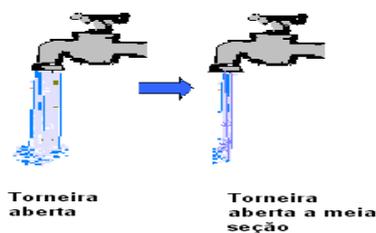
Identificar no saco de coleta o número da amostra correspondente ao ponto de coleta.

Figura 7. Sachet de coleta.



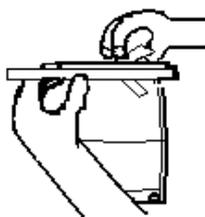
Abrir a torneira e deixar correr a água durante 3 minutos ou o tempo suficiente para eliminar impurezas e água acumulada na canalização. Fechar a torneira.

Figura 8. Torneiras.



Abrir a torneira à meia seção para que o fluxo seja pequeno e não haja respingos.

Figura 9. Meia seção.



Remover o lacre do saco de coleta. Evitar contato dos dedos com a boca do mesmo.

Figura 10 Lacre.



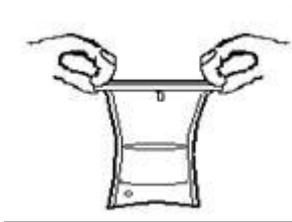
Abri-lo puxando pelas duas fitas laterais.

Figura 11. Abertura do lacre.



Coletar a amostra enchendo o saco de coleta até a segunda marca.

Figura 12. Coleta.



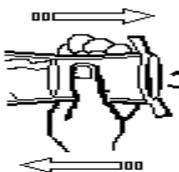
Fechar o saco de coleta e dobrar a borda três vezes para frente.

Figura 13. Fechamento.



Dobrar as extremidades do arame para trás.

Figura 14. Segurança.



Homogeneizar a amostra até dissolver o comprimido de tiosulfato de sódio contido dentro do saco de coleta.

Figura 15. Homogeneização.

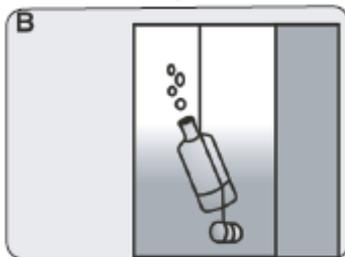
9.3.1.2. Coleta de amostra de água em poço raso e mananciais superficiais

Deve-se seguir as recomendação da OPAS conforme as **figuras 16, 17 e 18.**



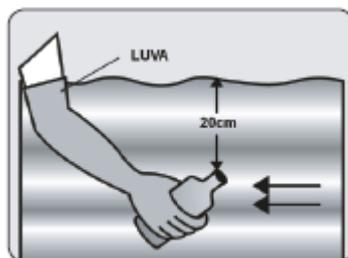
Descer lentamente o cordão sem permitir que o frasco toque nos lados do poço.

Figura 16. Coleta em poço raso.



Submergir o frasco, permitindo que se obtenha amostra mais profunda.

Figura 17. Coleta em poço raso.



Observar o sentido da correnteza e a profundidade mínima.

Figura 18. Coleta em mananciais superficiais.

A análise microbiológica deve ser realizada o mais rapidamente possível. A temperatura de conservação é de 4 a 10°C e o tempo máximo recomendado entre a coleta e a análise deve ser de 6 a 8 horas para águas naturais e de 24 horas para água clorada.

9.4. Tipos de exames

O padrão de potabilidade recomenda 3 (três) exames considerados padrões: o exame de tubos múltiplos, membrana filtrante e substrato definido ou cromogênico.

9.4.1. Exame de tubos múltiplos

Considerado padrão e obrigatório para qualquer laboratório credenciado possui a desvantagem de apresentar resultados em tempo de 48 – 72 horas dependendo da qualidade microbiológica da água. É dividido em ensaios presuntivo, confirmado e testes de diferenciação para determinação de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* através de uma cultura pura. Um tubo de cultura pura, também apresenta a desvantagem do risco potencial de contaminação ambiental, uma vez que, se tem concentrado células de bactérias potencialmente capazes de causar doença.

9.4.1.1. Meios de cultura

➤ **Água de diluição**

Solução Estoque A

Fosfato monobásico de potássio (KH_2PO_4) ⇒ 34 g

Água destilada ⇒ 1000 mL

Solução Estoque B

Cloreto de magnésio ⇒ 81,1 g

Água destilada ⇒ 1000 mL

➤ **Preparo da água de diluição**

Solução estoque A ⇒ 1,25 mL

Solução estoque B ⇒ 5,00 mL

Água destilada ⇒ 1000 mL

pH após preparo ⇒ 7,2

➤ **Caldo Lactosado (CL) (ensaio presuntivo)**

Extrato de carne

Peptona

Lactose

Água destilada

➤ **Caldo Verde Brilhante (VB) (ensaio confirmado)**

Peptona

Lactose

Bile de boi desidratada

Solução a 0,1% de verde brilhante

Água destilada

➤ **Caldo de EC (coliformes termotolerantes)**

Triptose

Lactose

Mistura de sais biliares

Fosfato dibásico de potássio

Cloreto de sódio

Água destilada

➤ **Agar eosina azul de metileno (agar seletivo para determinação de *Escherichia coli*)**

Peptona

Fosfato dibásico de potássio

Agar

Eosina amarela a 2%

Metileno a 0,05%.

9.4.1.2. Prática

O exame de tubos múltiplos pode ser realizado com uma série de 5 (cinco) tubos de caldo lactosado (CL) em concentração dupla, com 10 mL de amostra por tubo e confirmado em meio de verde brilhante. Os ensaios de maior precisão são realizados com 3 (três) séries de 5 (cinco) tubos, sendo a primeira série de CL de concentração dupla, com 10 mL de amostra por tubo, a segunda e terceira série com CL de concentração simples, com 1 mL de amostra e 0,1 mL da amostra respectivamente.

A **figura 19** demonstra a semeadura da amostra para o ensaio presuntivo:

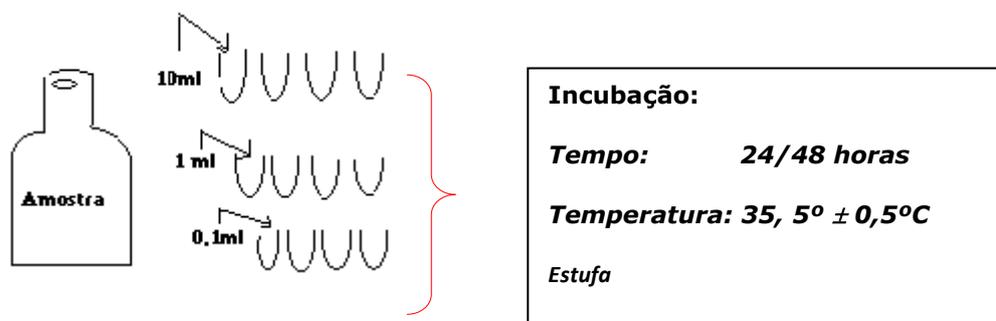
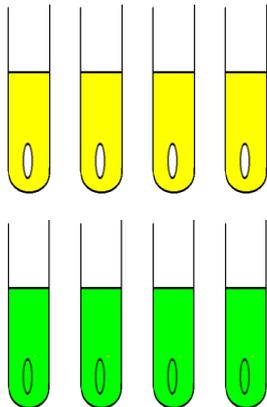


Figura 19. Ensaio presuntivo (caldo CL ou caldo Lauril Triptose).

A **figura 20** mostra a repicagem do ensaio confirmado, ou seja, de cada tubo positivo de CL, com a ajuda de uma alça de platina ou Ni-Cr, repicar para um tubo de VB, uma gota do meio lactosado positivo. O tubo é considerado positivo quando apresenta bolha de gás em tubo invertido dentro do tubo de ensaio. O tubo invertido é denominado tubo de Durhan.



Repicar, com alça de Platina, os tubos com gás do ensaio presuntivo fazendo corresponder a cada tubo com gás do CL, um tubo de VB.



CL positivos,
por exemplo,
10 mL da
amostra

VB

Incubação:

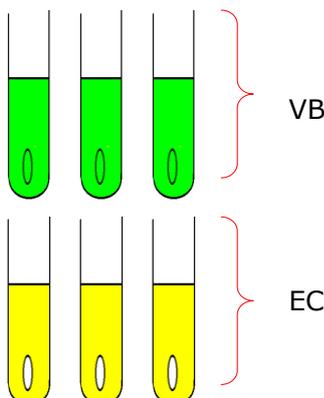
Tempo: 24/48 horas

Temperatura: 35, 5° ± 0,5°C

Estufa

Figura 20. Ensaio confirmado (caldo VB).

A **figura 21** mostra o ensaio de diferenciação para determinação de coliformes termotolerantes. Dos tubos positivos do ensaio confirmado com a ajuda de uma alça de platina ou Ni-Cr, repicar para um tubo de EC, uma gota do meio VB positivo. O tubo é considerado positivo quando apresenta bolha de gás no tubo de Durhan.



Repicar, com alça de Platina, os tubos positivos de VB (presença de gás) em meio de EC.

Cada VB⁺ terá um tubo correspondente em EC.

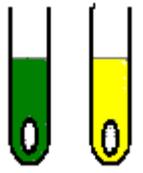
Incubação:

Temperatura: 44,5° ± 0,2°C

Banho Maria Circulante

Figura 21. Ensaio para coliformes termotolerantes.

A interpretação dos resultados é mostrada na **figura 22**.

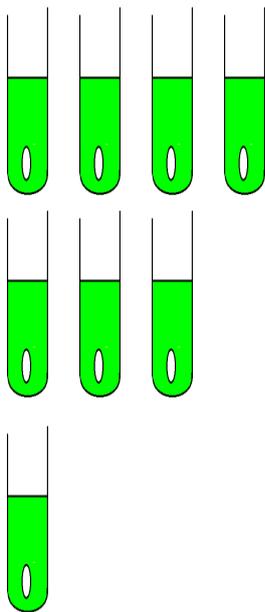


CT CTe

O resultado é dado pela presença de bolha de gás no tubo de Durham. O resultado é uma contagem do NMP (número mais provável de coliformes totais ou coliformes termotolerantes por 100 mL de água conforme o ensaio). O meio de confirmação de totais é o VB e o meio de cultura para termotolerantes é EC.

Figura 22. Interpretação dos resultados.

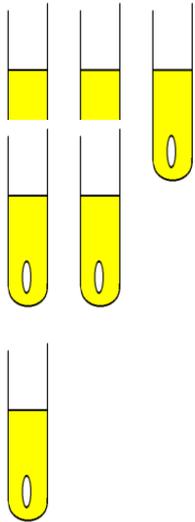
A contagem de coliformes totais por 100 mL de água é dada pela tabela do NMP em anexo ao trabalho. Um exemplo é apresentado pela **figura 23**.



Neste exemplo se apresentaram 4 tubos de VB positivos na primeira série de 5 tubos com 10 mL da amostra, 3 tubos positivos na segunda série com 1 mL da amostra e 1 tubo positivo na terceira série. O resultado é, portanto, a combinação de tubos positivos 4-3-1, cuja tabela apresenta o valor de 33 coliformes totais/100 mL.

Figura 23. Exemplo de contagem de NMP/100 mL de coliformes totais.

Da mesma forma a **figura 24** mostra um exemplo de resultado para coliformes termotolerantes.



O ensaio apresenta 3 tubos positivos para a primeira série de 10 mL de amostra, 2 tubos positivos na segunda série de 1 mL e 1 positivo para terceira série de 0,1 mL. Para o meio de EC, a combinação de 3-2-1 tubos positivos representa a presença de 17 coliformes termotolerantes/100 mL.

Figura 24. Resultado para coliforme termotolerante.

9.4.2. Exame de membrana filtrante

A técnica da Membrana Filtrante baseia-se na filtração de um volume conhecido da amostra sobre uma membrana porosa (algumas de Acetato de Celulose). Esta técnica começou a ser utilizada à partir de 1954 nos Estados Unidos e Inglaterra. Também se apresenta como método padrão e recomendado pela 518/2004. A prática é realizada através de equipamento laboratorial que consta de funil de aço inox ou plástico, base para fixação do filtro, Kitasato e bomba de vácuo. Após um volume de amostra filtrado, a membrana é colocada em uma placa de petri apropriada com meio cultura específico e levada para a incubação nas condições exigidas pela espécie microbiana em análise. A técnica das membranas é baseada nas características das colônias formadas, utilizando-se da diferenciação das colônias das espécies através de cores.

9.4.2.1. Meios de cultura, incubação, resultados

- **Meio Endo** - utilizado para determinação de coliformes totais que se desenvolvem neste tipo de meio formando colônias nucleadas, escuras, com brilho metálico.
- **Meio Tergitol (TTC)** - Identifica coliformes totais através de formação de colônias amarelas alaranjadas em zona amarelada.

- A incubação é feita em estufa a $35,5 \pm 0,5$ °C durante 24/48 horas. O ensaio pode ser qualitativo (Presença/Ausência) ou quantitativo, neste caso anota-se o volume filtrado da amostra e o número de colônias formadas para aplicar-se na fórmula: **UFC = n/V(mL)**, onde UFC é a unidade formadora de colônias, n o número de colônias formadas e V (mL) o volume de amostra filtrada em mL.
- O resultado da análise da água é dado em CT e, portanto, para se ter o resultado em **NMP** deve-se multiplicar o resultado de UFC por 100 e assim teremos $NMP/100 \text{ mL} = 100 \text{ UFC}$.

A **figura 25** mostra um resultado de CT em meio Endo e Tergitol.

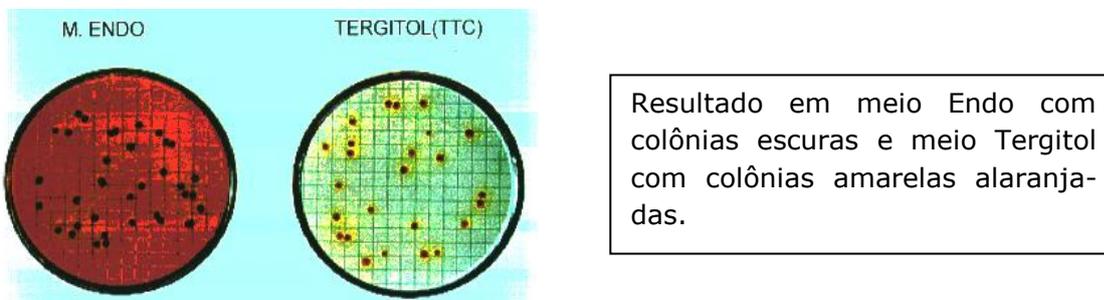


Figura 25. Colônias de coliformes totais em dois meios diferentes.

- **Meio MFC** – Apropriada para identificar coliformes termotolerantes pelo método da Membrana Filtrante através da formação de colônias azuis com diâmetro de 1 - 2 mm.

A **figura 26** mostra resultado de coliformes termotolerantes pela formação de colônias azuis.

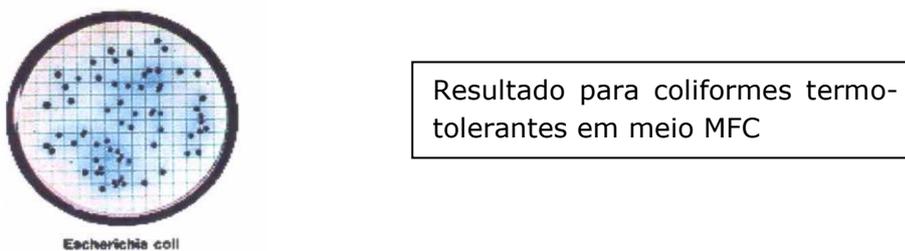


Figura 26. Resultado de coliformes termotolerantes.

- **Meio Chromocult** - Este meio combina substratos específicos (cromogênicos) para coliformes totais, coliformes termotolerantes, *salmonellas* e enterobactérias. Este meio diferencia as espécies por diferenciação de cores:

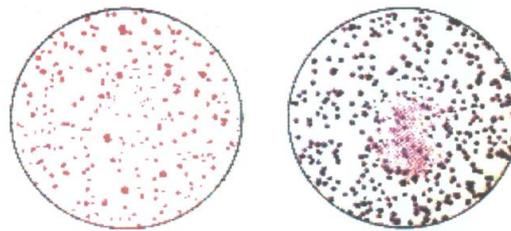
Coliformes totais - colônias salmão/vermelhas

Coliformes termotolerantes - colônias azul escuro/violetas

Salmonellas - colônias verdes

Enterobactérias - colônias incolores

A **figura 27** mostra os resultados para CT e CTe em placa de petri e meio Chromocult

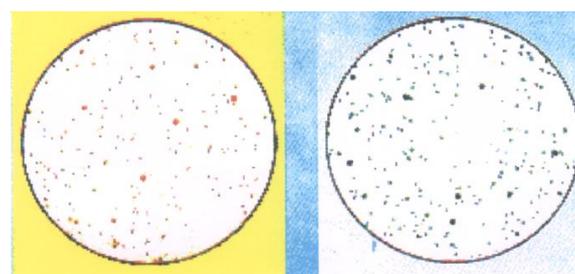


CT – colônias salmão

CTe – colônias azul escuro

Figura 27. Resultados para CT e CTe para Chromocult.

A **figura 28** mostra os resultados para Enterobactérias e *Salmonellas* para o meio Chromocult.



Enterobactérias

Salmonellas

Figura 28. Enterobactérias e Salmonellas em meio Chromocult.

9.4.3. Exame pelo meio substrato definido ou cromogênico

A determinação pelo método do substrato definido é realizada através de um kit cuja marca registrada pertence a Colilert. O exame foi proposto em 1992 nos Estados

Unidos sendo um variante dos Tubos Múltiplos, ou seja, utiliza os mesmos princípios de contagem e distribuição de amostras como se fossem tubos de ensaio, porém utiliza cartelas próprias para cálculo da intensidade de contaminação. A sua grande vantagem se encontra no tempo de determinação laboratorial de 18-24 horas, utilizando-se de meios que identificam as enzimas específicas dos microrganismos coliformes totais e *Escherichia coli* que desenvolvem cor amarela para o primeiro e azul fluorescente para o segundo na presença da luz ultra-violeta.

- Os coliformes totais apresentam a enzima **β -galactosidase** que quando em presença do substrato específico **ONPG** (Orto-nitrofenil- β -d-galactopiranosídeo) desprende o radical nitrofenil que se oxida a **Orto Nitrofenol** (amarelo)
- O *Escherichia coli* – apresenta a enzima **β -glucoronidase** que quando em presença do substrato **MUG** (4 metil-Umberliferil- β -d-glucoronídeo) desprende o **4-metil-umberliferona** que é azul fluorescente.
- Os poucos microrganismos não coliformes que apresentam a enzima β -glucoronidase são inibidos por uma matriz antibiótica adicionada ao meio. Este antibiótico inibe a *Klebsiella pneumoniae* que positiva os ensaios de *Escherichia coli*.
- O método consiste na adição do meio de cultura Colilert que possui os substratos, a 100 mL da amostra e incubado a $35,5 \pm 0,5$ °C por 24 horas de preferência ou 18 horas caso seja necessário respostas mais rápidas. A cor amarela significa presença de coliformes totais e quando submetida a luz ultra-violeta os tubos que apresentarem cor azul fluorescentes serão de *Escherichia coli*.

A **figura 29** demonstra o processo de formação de cor pelo substrato desenvolvido pela Colilert.

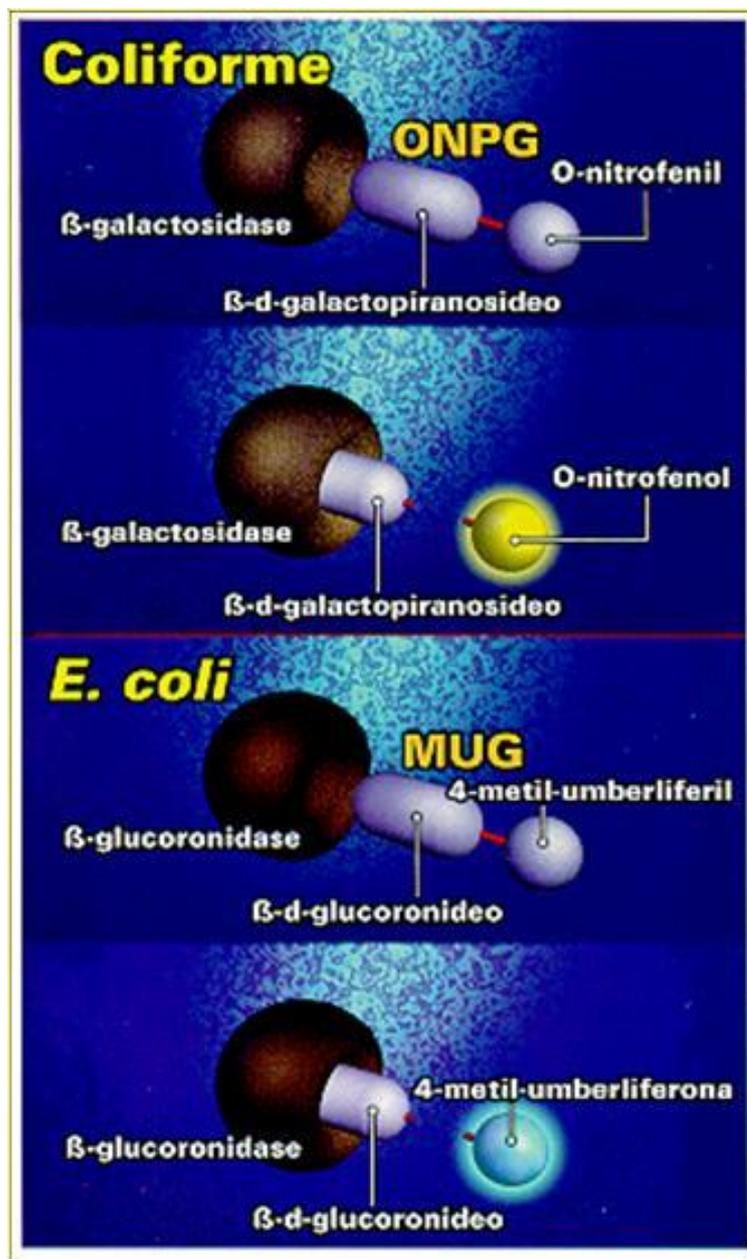


Figura 29. O método Colilert.

9.5. Descontaminação de um sistema

9.5.1. Desinfecção de poço

O poço deve ser descontaminado quando for construído ou quando se descubra alguma contaminação da água.

Os produtos mais utilizados são a cal clorada com aproximadamente 30% de cloro ativo, o hipoclorito de sódio com cerca de 10% de cloro ativo e hipoclorito de cálcio com aproximadamente 70% de cloro ativo. As dosagens recomendadas pelo Ministério da Saúde (FUNASA, 2006), são:

- Dosagem de 50 mg/L de cloro ativo com tempo de contato de **12 horas**;
- Dosagem de 100 mg/L de cloro ativo com tempo de contato de **4 horas**;
- Dosagem de 200 mg/L de cloro ativo com tempo de contato de **2 horas**.

A técnica de desinfecção pode ser como se segue:

- cubar o reservatório ou poço a ser desinfetado;
- calcular o desinfetante a ser usado;
- preparar a solução desinfetante a 5%, pesando o produto e despejando-o em água limpa. Agitar bem e depois deixar em repouso;
- desprezar a borra e derramar a solução no poço;

O cálculo do desinfetante é feito de acordo com o produto, o tempo de contato e a cubagem do poço:

- calcular a quantidade de cloro necessário por meio de regra de três.

Agitar o mais possível e deixar a solução permanecer em contato com o poço o tempo necessário, de acordo com a dosagem, 2 – 4 – 12 horas. Findo o prazo, esgotar o poço até que nenhum cheiro ou gosto de cloro seja percebido na água.

Se possível, confirmar o resultado da desinfecção pela análise bacteriológica antes de utilizar a água para bebida.

Observação: - A desinfecção com solução forte de 100mg/l de Cloro ativo deve ser precedida de limpeza, com escovas, de todas as superfícies do poço, paredes, face interna da tampa, tubo de sucção;

- As amostras para análise bacteriológica devem ser colhidas depois que as águas não apresentem mais nenhum odor ou sabor de cloro;
- A desinfecção de um poço elimina a contaminação presente no momento, mas não tem ação sobre o lençol de água propriamente dito, cuja contaminação pode ocorrer antes, durante e depois da desinfecção do poço.

9.5.2. Descontaminação de caixa d'água

A limpeza e descontaminação de uma caixa d'água pode ser realizada de maneira simplificada, com utilização de água sanitária seguindo os seguintes passos:

1 – Fechar a entrada de água na bóia ou no registro do cavalete.

2 – Abrir as torneiras para esvaziar a caixa, sem agitar a sujeira do fundo. Deixar a proximadamente 15 cm em volume de água no fundo da caixa.

3 – Fechar as torneiras. Com um pedaço de pano ou esponja, tampar a tubulação de saída da água, evitando assim a entrada de qualquer sujeira na tubulação.

4 – Esfregar as paredes com uma escova para remoção da sujeira e retirar a água suja com auxílio de baldes, pano ou esponja. Não utilizar escova de aço.

5 – Enxaguar a caixa d'água com água da rede, pois ela já contém cloro. Enxaguar toda a água existente.

6 – Colocar 2 colheres de sopa de água sanitária em um balde com 10 L de água. Enxaguar as paredes com a solução e enxugar o excesso.

7 – Retirar o tampão da tubulação de saída. A caixa d'água está limpa e desinfetada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA); AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA); WATER ENVIRONMENTAL FEDERATION (WEF), 1998. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19^a ed. Washington: APHA.
- BARROS, R.T.V. *et al.*, 1995. **Saneamento. Manual de saneamento e proteção ambiental para os municípios**, 2^a. Edição. Belo Horizonte: Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG.
- BASTOS, R.K.X.; BEVILACQUA P.D., NASCIMENTO, L.E., CARVALHO, G.R.M., SILVA, C.V., 2000. **Coliformes como indicadores da qualidade da água: alcance e limitações**. In: Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, 27. Porto Alegre. Anais. Porto Alegre: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. CD-ROM.
- BRANCO, S.M., 1995. **Hidrobiologia aplicada à engenharia sanitária**. São Paulo: CETESB.
- BRASIL. FUNASA-Fundação Nacional de Saúde, 2009. **Manual prático de análise de água**. 3^a ed. rev. Brasília: Fundação Nacional de Saúde.
- Brasil. FUNASA-Fundação Nacional de Saúde, 2006. **Manual de Saneamento**. 3^a ed. rev. Brasília: Fundação Nacional de Saúde.
- CERQUEIRA, D.A., BRITO, L.L.A., GALINARI, P.C., AMARAL, G.C.M. 1999. **Perfis de ocorrência de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em diferentes amostras de água**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 20. Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro: ABESA, CD-ROM.
- CERQUEIRA, D.A.; HORTA, M.C.SÁ, 1999. **Coliformes fecais não existem**. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 20. Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro: ABESA, CD-ROM.
- HELLER, L., 1997. **Saneamento e saúde**. Brasília: OPAS.
- JORDÃO, E. P.; PESSOA, C., 1995. **Tratamento de esgotos domésticos**. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. 3^a ed.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE-CONAMA, 2005. **Resolução nº 357** de 17 de março de 2005.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004. **Portaria nº 518/GM** de 25 de março de 2004.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. COORDENAÇÃO EM SAÚDE AMBIENTAL, 2005. **Comentários sobre a portaria MS nº 518/2004**: subsídios para implementação. Série E. Legislação de Saúde. Brasília: Ministério da Saúde.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, 1995. **Guías para la calidad del agua potable**. 2.ed. Ginebra: OMS (Recomendaciones, 1).

PELCZAR, M., REID, R., CHAN, E.C.S., 1980. **Microbiologia**, v 1. São Paulo: McGraw-Hill.

ROQUE, O.C.C., 1997. **Sistemas alternativos de tratamento de esgotos aplicáveis às condições brasileiras**. Tese de Doutorado. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ.

VON SPERLING, M., 1996. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, v. 1.

ANEXO**Tabela com limite de confiança de 95% para várias combinações de resultados positivos quando 5 tubos são usados para cada diluição (10 mL, 1,0 mL e 0,1 mL).**

Combinação de positivos	NMP/100 mL	Limites	
		Inferior	Superior
0-0-0	< 2	-	-
0-0-1	2	1.0	10
0-1-0	2	1.0	10
0-2-0	4	1.0	13
1-0-0	2	1.0	11
1-0-1	4	1.0	15
1-1-0	4	1.0	15
1-1-1	6	2.0	18
1-2-0	6	2.0	18
2-0-0	4	1.0	17
2-0-1	7	2.0	20
2-1-0	7	2.0	21
2-1-1	9	3.0	24
2-2-0	9	3.0	25
2-3-0	12	5.0	29
3-0-0	8	3.0	24
3-0-1	11	4.0	29
3-1-0	11	4.0	29
3-1-1	14	6.0	35
3-2-0	14	6.0	35
3-2-1	17	7.0	40
4-0-0	13	5.0	38
4-0-1	17	7.0	45
4-1-0	17	7.0	46
4-1-1	21	9.0	55
4-1-2	22	12	63
4-2-0	26	9.0	56
4-2-1	26	12	65
4-3-0	27	12	67
4-3-1	33	15	77

4-4-0	34	16	80
5-0-0	23	9	86
5-0-1	30	10	110
5-0-2	40	20	140
5-1-0	30	10	120
5-1-1	50	20	150
5-1-2	60	30	180
5-2-0	50	20	170
5-2-1	70	30	210
5-2-2	90	40	250
5-3-0	80	30	250
5-3-1	110	40	300
5-3-2	140	60	360
5-3-3	170	80	410
5-4-0	130	50	390
5-4-1	170	70	480
5-4-2	220	100	560
5-4-3	280	120	690
5-4-4	350	160	820
5-5-0	240	100	940
5-5-1	300	100	1300
5-5-2	500	200	2000
5-5-3	900	300	2900
5-5-4	1600	600	5300
5-5-5	≥1600	-	-

Fonte: FUNASA, 2009.

Tabela do NMP com limite de confiança de 95% para os resultados positivos quando 5 porções de 10 mL são examinadas.

Combinação de positivos	NMP/100 mL	Limites	
		Inferior	Superior
0	< 2,2	0	6,0
1	2,2	0,1	12,6
2	5,1	0,5	19,2
3	9,2	1,6	29,4
4	16,0	3,3	52,9
5	>16,0	8,0	Infinito

Fonte: FUNASA, 2009.