

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL**

CAROLINA FRANCISCO TONANI

**AVALIAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE AERÓBIA
DE RESÍDUO DE ORIGEM FECAL**

VITÓRIA
2010

CAROLINA FRANCISCO TONANI

**AVALIAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE AERÓBIA
DE RESÍDUO DE ORIGEM FECAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Túlio Alves Cassini.

Co-orientador: Dr. Ricardo Franci Gonçalves

VITÓRIA

2010

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

T663a Tonani, Carolina Francisco, 1984-
Avaliação da biodegradabilidade aeróbia de resíduo de
origem fecal / Carolina Francisco Tonani. – 2010.
90 f. : il.

Orientador: Sérgio Túlio Alves Cassini.
Co-Orientador: Ricardo Franci Gonçalves.
Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Tecnológico.

1. Saneamento ecológico. 2. Fezes. 3. Bactérias - Isolamento.
4. Respirometria aeróbia. I. Cassini, Sérgio Túlio Alves. II.
Gonçalves, Ricardo Franci. III. Universidade Federal do Espírito
Santo. Centro Tecnológico. IV. Título.

CDU: 628

CAROLINA FRANCISCO TONANI

AVALIAÇÃO DA BIODEGRADABILIDADE AERÓBIA DE RESÍDUO DE ORIGEM FECAL

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental na área de concentração Saneamento Ambiental.

Aprovada em 20 de agosto de 2010.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Sérgio Túlio Alves Cassini
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador

Prof. Dr. Ricardo Franci Gonçalves
Universidade Federal do Espírito Santo
Co-orientador

Prof^a. Dr^a. Regina de Pinho Keller
Universidade Federal do Espírito Santo
Examinadora Interna

Prof^a. Dr^a. Cristiane Pereira Zdradek
Instituto Federal do Espírito Santo
Examinadora Externa

Nada me ocorreu de mais sublime que a ventura de tê-la conhecido!
A mais maravilhosa pessoa deste e do outro mundo, Jovem Pagio Tonani

Aos meus pais, por permitir não sermos os mesmos e vivermos.

Agradecimentos

À energia Positiva presente no Universo, que nos permite construir e ultrapassar obstáculos.

À vontade de mudar e a coragem que existe dentro de nós.

Ao Gabriel, companhia inseparável e fiel escudeiro, pelo companheirismo nesta jornada e em infinitas outras, pelo amor, carinho, incentivo, apoio, pela presença até de madrugada e, principalmente, pelo dom de me fazer rir e ser feliz em todos os momentos.

A mami, papi e irmã pela ajuda sempre, por me ajudar com os serviços de pet siter, por perdoar a Gaia em todas as suas artes e pela eterna paciência de cuidar dos meus filhotes lindos nos momentos difíceis para mim.

Aos meus filhotinhos, Gaia, Nega e Jimi, por ficarem quietinhos dormindo enquanto eu escrevia a dissertação, por me buscar na UFES nos fins de semana e pelos momentos de distração quando eu queria fazer sumir o computador.

À Paola, por todos os anos de amizade e pelas “grandes” idéias, em todos os momentos, acadêmicos ou não.

À Drica, à Ju, à Pri e a Cris, por me confirmarem que os bons amigos são a família que nos permitiram escolher.

Aos meus “irmãozinhos”, “primos”, “sobrinhos” e “agregados” do LABSAN, Bruna Neumann, Patrícia Lee, Edilene, Cristina, Samantha, Janine, Juliana, Paula, Catarina, Amaury, Pedro, Emília, Gisele, Mary, Flávio, Ariana, Renata Itavo, Celson, Cecília, Fabiana, Amanda, Paulo, Renata Pasini, Lorena, Georgete, Renata (doutorado) e Elaine.

Aos amigos da ETE, Erika, Camila, Mônica, Thais e Priscilla por mostrarem que as pessoas mudam e que a convivência pode aproximar as diferenças.

Aos meus ajudantes, Fabiana, Filipe e Thiago por terem me ajudado inúmeras vezes e pelo compromisso e responsabilidade com o trabalho ‘sujo’.

Ao meu orientador, Sérgio Túlio, pela credibilidade, por ter me permitido começar e levar tudo isso até o fim.

Ao professor Ricardo, pelos ensinamentos, pelo aceite em contribuir para minha dissertação e por ser meu co-orientador.

A professora Kelly, pelas sugestões, pela disponibilidade e por aceitar participar da minha banca.

A professora Cristiane por ser minha examinadora externa.

A coordenação do programa e os professores pela experiência adquirida.

A Rose por sempre socorrer os alunos prestando pacientemente os esclarecimentos.

A FAPES pela bolsa.

A minha tia Regina pela confiança e por ter sido minha fiadora.

Ao LABSAN pela estrutura.

Ao laboratório CETAN, pelo espaço, disponibilidade e pelo socorro nos momentos difíceis.

Aos colegas do IEMA pela compreensão nos momentos de ausência e a minha chefia, por dizer sim nas minhas solicitações de folga.

A Copy Super pelo espaço e principalmente pelas impressões cedidas.

Como aliviar a dor do que não foi vivido?

A resposta é simples como um verso:

Se iludindo menos e vivendo mais!!!

A cada dia que vivo,

Mais me convenço de que o

Desperdício da vida

Está no amor que não damos,

Nas forças que não usamos,

Na prudência egoísta que nada arrisca,

E que, esquivando-se do sofrimento,

Perdemos também a felicidade.

Emílio Moura

RESUMO

Os sistemas de esgotamento sanitário precisam ser aprimorados, revistos e adaptados para atender a uma demanda crescente pelos serviços, cuja carência afeta a maioria da população mundial. Ressalta-se também os demais agravantes que contribuem com o problema, como a escassez de água potável, a falta de recursos financeiros e o aumento populacional. Recentemente, foi resgatada uma idéia milenar sobre o reaproveitamento das excretas para uso como fertilizantes no ambiente. À aplicação desse conceito dá-se o nome de Ecosan ou Saneamento Ecológico. Nesse sistema, os esgotos são segregados na fonte em águas azul, cinza, amarela, marrom e negra (mistura de fezes com urina), para receber tratamento de acordo com suas características e seu potencial de reaproveitamento. As águas marrons, ou material fecal quando isento de água, apresentam particularidades no gerenciamento por possuírem significativo número de microrganismos e por apresentarem problemas psico-sociais na aplicabilidade em larga escala. No entanto, o material fecal é rico em matéria orgânica e possui significativa quantidade de nutrientes, como N e P. O presente estudo teve por objetivo avaliar a biodegradabilidade aeróbia de resíduos de origem fecal. A biodegradabilidade foi avaliada por respirometria aeróbia, utilizando quatro Tratamentos (T 1, T 2, T 3 e T 4) com três bactérias (A, J, N) e um controle (C). Notou-se que a composição dos Tratamentos foi relevante nos resultados obtidos, entre os quais os Tratamentos T1 e T3 apresentaram os maiores valores em mg de CO₂. O resultado com menor produção de CO₂ em mg foi apresentado no uso de T 4. A inoculação bacteriana não foi representativa, uma vez que A, J e N apresentaram desempenho semelhante entre si, e ainda a bactéria N foi simultaneamente semelhante ao controle (C), não sendo possível identificar a bactéria mais eficiente.

Palavras-chave: Saneamento Ecológico; Material fecal; Isolados bacterianos; Respirometria aeróbia.

ABSTRACT

The sanitary sewage systems must be improved, revised and adjusted to meet a growing demand for services, the lack of which affects the majority of the world. We also emphasize the other aggravating factors that contribute to the problem, as the scarcity of drinking water, lack of financial resources and increasing population. It was recently rescued an ancient idea about the reuse of excreta for use as fertilizer on the environment. In the application of this concept gives the name of Ecological Sanitation or Ecosan. In this system the sewers are separated at source in Bluewater, Greywater, Yellowwater, Blackwater and Brownwater (mixture of feces with urine), to receive treatment according to their characteristics and potential for reuse. The brownwater, or fecal material, when water-free, have individual on the management by having a significant number of microorganisms and meet psychosocial problems in large-scale applicability. However, the fecal material is rich in organic matter and has a significant amount of nutrients like N and P. This study aimed to evaluate the aerobic biodegradation of wastes of faecal origin. The biodegradability was assessed by aerobic respirometry, using four treatments (T 1, T 2, T 3 and T 4) with three bacteria (A, J, N) and a control (C). It was noted that the composition of the treatments was significant on the results, in which T1 and T3, showed the highest values in mg CO₂. The result with lower CO₂ production (mg) was T 4. The bacterial inoculation was not representative, since A, J and N had similar among themselves, and yet the bacteria N was similar to control (C), it is not possible to identify the bacteria more efficiently.

Key-words: Sanitation Ecological; Faecal material; Bacteria ; Aerobic respirometry.

Lista de figuras

Figura 1 – Fluxo linear no sistema convencional de saneamento.	22
Figura 2 – Metas do Milênio	23
Figura 3 – Sistema de esgotamento convencional em que os diversos efluentes são lançados nos corpos d'água, na maioria das vezes, sem tratamento.....	25
Figura 4 – As principais desvantagens do sistema convencional de esgotamento sanitário	26
Figura 5 – Esquema ilustrativo para o Saneamento Ecológico.	28
Figura 6 – Esquema ilustrativo de um banheiro com segregação de fezes e urina ..	28
Figura 7 – Segregação de esgoto doméstico de acordo com a origem	30
Figura 8 - Sanitário com separação de urina e fezes	31
Figura 9 – Composição do esgoto sanitário segundo a segregação em cores das águas.....	32
Figura 10 – Diagrama do metabolismo de microrganismos heterotróficos.....	42
Figura 11 – Esquema explicativo da oxidação da matéria orgânica.....	43
Figura 12 – Evolução da DBO em uma amostra ao longo do tempo	46
Figura 13 – Reator de compostagem com fezes misturadas a serragem.	49
Figura 14 – Fluxograma das etapas da pesquisa.....	50
Figura 15 – Fluxograma do isolamento das bactérias.....	54
Figura 16 - Diagrama representativo dos Tratamentos adotados no ensaio de respirometria aeróbia.	59
Figura 17 – Unidades experimentais: potes com NaOH, branco e areia + vermiculita.....	61
Figura 18 – Esquema representativo do sistema de respirometria aeróbia	62
Figura 19 – Unidades experimentais com ocorrência de fungos visíveis	71

Figura 20 – Quantidade de CO ₂ (mg) produzida no final dos 35 dias de incubação considerando as variações obtidas com uso da estatística descritiva. Foram feitas 3 repetições por tratamento.	72
Figura 21 - Produção de CO ₂ média em mg acumulada ao longo dos 35 dias. Foram feitas 3 repetições por tratamento.	73
Figura 22 – Produção acumulada de CO ₂ em mg no cenário T1	75
Figura 23 - Produção acumulada de CO ₂ em mg no cenário T2.....	76
Figura 24 - Produção acumulada de CO ₂ em mg no cenário T3.....	76
Figura 25 - Produção acumulada de CO ₂ em mg no cenário T4.....	77

Lista de Tabelas

Tabela 1: Taxa de geração de excretas úmidas (urina + fezes) g/cap/dia.	33
Tabela 2 – Valores de massa úmida e massa seca fecal.	34
Tabela 3 - Valores de massa excretada e nutrientes	35
Tabela 4 - Quantidade, composição e características de fezes e urina.	36
Tabela 5 – Bactérias comumente encontradas no intestino grosso humano.	37
Tabela 6 – Números de bactérias viáveis encontradas nas fezes de animais adultos (logaritmo de bactérias viáveis por grama de fezes).	38
Tabela 7 - Tempo de sobrevivência (em dias) de patógenos em diferentes condições de tratamento/disposição.....	39
Tabela 8 – Resumos das metodologias usadas nas análises físico-químicas	52
Tabela 9 – Caracterização físico-química da serragem e do papel higiênico	60
Tabela 10 – Relação C:N:P nos Tratamentos propostos	60
Tabela 11 – Resumo das medições realizadas durante o experimento	63
Tabela 12– Caracterização físico-química do material fecal bruto	64
Tabela 13 – Caracterização físico-química do material fecal em comparação com outros estudos.	66
Tabela 14 – Características bioquímicas das bactérias isoladas	67
Tabela 15 – Origem das cepas isoladas	68
Tabela 16 – Valores de produção de CO ₂ em mg/L acumulados durante o período do experimento (35 dias)	73
Tabela 17 – Comparação de médias entre os Tratamentos T1, T2, T3 e T4.....	78
Tabela 18 - Médias das produções acumuladas de CO ₂ durante o experimento, comparando os inóculos (A, J N e C) Tratamentos T 1, T 2 , T 3 e T 4..	79
Tabela 19 – Médias das produções acumuladas de CO ₂ durante o experimento, comparando os inóculos (A, J, N e C)	79

Lista de Símbolos

%	porcentagem
≤	menor ou igual
®	marca registrada
C	Carbono
C:N:P	Carbono:Nitrogênio:Fósforo
C ₁	condutividade elétrica da solução padrão
C ₂	condutividade elétrica da solução de Na ₂ CO ₃
CO ₂	Dióxido de carbono
C _x	condutividade elétrica da amostra
g	grama
g/cap/dia	grama per capita por dia
g/L	grama por litro
g/ppd	grama por pessoa por dia
h	hora
H ₂ CO ₃	Ácido carbônico
H ₂ O	Água
H ₂ S	Ácido Sulfúrico
HCl	Ácido clorídrico
L	Litro
K	Potássio
M	mol/L
mg	miligrama
mg/mL	miligrama/mililitro
min	minuto

mL	mililitro
mm	milímetro
N	Elemento químico Nitrogênio
N ₂	Nitrogênio
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
NH ₃	Amônia
nm	nanômetro
N _{total}	Nitrogênio total
O	Elemento químico Oxigênio
O&G	Óleos e graxas
O ₂	Oxigênio
pH	potencial hidrogeniônico
P _{total}	Fósforo total
S	Enxofre
SO ₂	Dióxido de enxofre
UV	Ultra violeta
v	volume
v/v	volume/volume

Lista de Siglas

A	Bactéria A2A
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANOVA	Análise de variância
CN	Caldo Nutriente
CT	Centro Tecnológico
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
EHEC	<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
J	Bactéria J3C
LABSAN	Laboratório de Saneamento
MM	Meio Mínimo
MML	Meio Mínimo Líquido
N	Bactéria N1
NBR	Norma Brasileira
ODM	Objetivos de Desenvolvimento do Milênio
rpm	rotações por minuto
SUS	Sistema Único de Saúde
T 1	Tratamento 1
T 2	Tratamento 2
T 3	Tratamento 3
T 4	Tratamento 4
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. OBJETIVOS.....	20
2.1 OBJETIVO GERAL	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1 SANEAMENTO E ESCASSEZ DE ÁGUA.....	21
3.2 ESGOTAMENTO SANITÁRIO E ESCASSEZ DE ÁGUA.....	24
3.3 SANEAMENTO ECOLÓGICO.....	27
3.4 MATERIAL FECAL.....	31
3.4.1 Características quantitativas e qualitativas de Material Fecal	33
3.4.2 Patogenicidade.....	36
3.4.3 Tratamentos para fezes propostos pelo Ecosan.....	39
3.5 BIODEGRADAÇÃO.....	42
3.6 RESPIROMETRIA AERÓBIA.....	45
4. MATERIAIS E MÉTODOS	49
4.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DA PESQUISA.....	49
4.2 AQUISIÇÃO DE MATERIAL FECAL BRUTO	51
4.3 ETAPAS DA PESQUISA	51
4.3.1 Caracterização físico-química.....	51
4.3.2 Isolamento de bactérias	52
4.3.3 Caracterização bioquímica dos isolados bacterianos	54
4.3.3.1 Método de Gram.....	54

4.3.3.2	Teste de Vermelho de Metila (V.M.)	55
4.3.3.3	Teste de Coagulase conjugada (teste em lâmina)	56
4.3.3.4	Teste de indol	56
4.3.3.5	Teste de catalase	56
4.3.3.6	Hidrólise de Amido.....	57
4.3.3.7	Hidrólise de Gelatina	57
4.3.3.8	Teste da Rodamina B	57
4.3.4	Avaliação da biodegradação aeróbia através de respirometria aeróbia ..	58
4.3.4.1	Preparo do substrato	58
4.3.4.2	Preparo do Material fecal bruto	58
4.3.4.3	Preparo dos Tratamentos	59
4.3.4.4	Preparo das cepas bacterianas	60
4.3.4.5	Estruturação do processo de biodegradação aeróbia	61
4.3.4.6	Quantificação do CO ₂ produzido.....	62
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	63
5.	ANÁLISE DE RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL FECAL	64
5.2	CARACTERIZAÇÃO DOS ISOLADOS	67
5.3	ENSAIO DE RESPIROMETRIA AERÓBIA	70
6.	CONCLUSÕES.....	81
7.	RECOMENDAÇÕES	82
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83
9.	ANEXOS	90

1. INTRODUÇÃO

Os usos da água na indústria, agricultura ou atividades domésticas, originam as águas residuárias ou esgotos, que são, comumente, lançadas nos corpos d'água sem nenhum tipo de tratamento, ocasionando a poluição hídrica. A água é um recurso natural essencial para a sobrevivência dos seres vivos; contudo, ainda assim, ela tem sido amplamente utilizada de forma inadequada e sem ponderação.

A falta de tratamento e destinação adequada dos efluentes contribui para o agravamento dos problemas ambientais, principalmente os relacionados aos Recursos Hídricos, e prejudica a saúde da população quando auxilia na veiculação de doenças. Diante disso, tornou-se necessário o estudo de métodos cada vez mais eficientes para o tratamento das águas residuárias, visando minimizar seu potencial poluidor.

Os primeiros sistemas de tratamento de esgoto visavam somente à remoção de sólidos sedimentáveis, o que dava um aspecto mais 'limpo' à água. Entretanto, mais tarde se observou que apenas essa ação não proporcionava qualidade suficiente aos efluentes para disposição nos mananciais. Havia uma necessidade de aprimorar os métodos de tratamento; para isso, seriam necessários certos gastos, e nem sempre é possível arcar com essas despesas.

No cenário atual, uma minoria da população mundial é atendida com serviços de coleta de águas residuárias, e apenas parte dessas pessoas são contempladas com tratamento e destinação final de efluentes. A questão torna-se mais grave ao pensar que a população tende a aumentar nos próximos anos. Somado a isso, tem-se também a escassez da água cada vez mais evidente na temática ambiental.

Para atender à demanda mundial existente e à que virá, considerando o crescimento populacional previsto, os sistemas de tratamento de esgotos domésticos precisam apresentar uma eficácia que vai além da alta tecnologia. Garantir universalidade de acesso aos serviços de esgotamento requer a união entre economia – para que seja acessível aos países em desenvolvimento –, eficiência – para prevenir a proliferação de doenças – e sustentabilidade – para promover o uso racional da água evitando os desperdícios.

Na busca pela acessibilidade universal, um novo conceito de saneamento tem sido divulgado: chama-se Saneamento Ecológico. Esse conceito se difere dos outros por

promover a tentativa de repetir o que aconteceria naturalmente num ambiente em equilíbrio – tudo que é descartado de alguma forma por um ser vivo é utilizado como matéria-prima por outro, isso faz com que as excretas não sejam tratadas como resíduos, mas como um recurso que deve ser disponibilizado para reutilização (WERNER, 2004).

Dentro desse conceito, presa-se pela segregação dos dejetos, reuso de água e reaproveitamento de excretas para uso, como fonte de nutrientes, na agricultura. No entanto, existem ainda algumas particularidades que precisam ser discutidas para garantir a segurança e promover o interesse do uso pela sociedade.

É preciso, por exemplo, atentar para os cuidados no tratamento visando à reciclagem, uma vez que é importante impedir o contato direto das pessoas com os dejetos, a fim de preservar a saúde, evitando a contaminação pelo material fecal – rico em microrganismos patogênicos – e o odor desagradável.

Este estudo tem por finalidade permitir a ampliação do entendimento sobre as características de biodegradabilidade das fezes, avaliando diferentes combinações para tratamento de material fecal e agregando conteúdo para facilitar decisões e métodos de aplicação do conceito de Saneamento Ecológico.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a biodegradabilidade aeróbia de material fecal através de ensaios de respirometria aeróbia usando diferentes tratamentos e bactérias isoladas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o material fecal;
 - Isolar bactérias provenientes do material fecal utilizado;
 - Caracterizar bioquimicamente as bactérias isoladas;
 - Avaliar a biodegradabilidade de material fecal através da técnica de respirometria aeróbia;
-

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 SANEAMENTO E ESCASSEZ DE ÁGUA

As ações de saneamento, principalmente sob a forma de sistemas de abastecimento de água e de disposição de efluente, são observadas desde as civilizações mais antigas, há seis mil anos, com o objetivo de afastar o perigo representado pelas epidemias (REZENDE, 2002).

Ao longo dos séculos, a sociedade procurou aperfeiçoar essas ações de saneamento. Contudo, até hoje, esse assunto constitui uma dificuldade. Mais de 2,6 bilhões de pessoas não são contempladas com serviços de saneamento. Atualmente, apenas 1,1 bilhão de pessoas no mundo possuem sistema de coleta de águas residuárias, sendo que desses, somente 30% utilizam sistemas de tratamento e destinação final adequada. Além disso, a demanda por água doce tem triplicado nos últimos 50 anos e por volta de 2030, mais da metade da população mundial será afetada por escassez de água (JONAH, 2007).

Um agravante a esse quadro é a estimativa de crescimento populacional para os próximos 20 anos: 2 bilhões de pessoas devem nascer nesse período, aumentando para cerca de 8 bilhões o número de habitantes do planeta. E a concentração tende a ser maior, principalmente, nos países em desenvolvimento (LANGERGRABER; MUELLEGGER, 2005).

A associação “crescimento de habitantes” com “escassez de água potável” gera uma questão complexa, quando se considera o tipo de sistema de esgotamento adotado, em que os vasos sanitários usam grandes volumes de água potável para descartar pequenas quantidades de urina e fezes. De acordo com Rosenquist (2005) é relativamente pequeno o montante de fezes que chega a ser descartado com até 35000 L de água por pessoa por ano.

O sistema de esgotamento sanitário coletivo, comumente chamado de fluxo linear – como está representado na Figura 1 – se consolidou durante o século XX, e tem como base o uso de água para diluir e transportar dejetos. Esse sistema parte do pressuposto de que excretas humanas são resíduos e, por isso, devem ser

dispostas para tratamento e posterior destinação a um corpo hídrico; este, por sua vez, deverá assimilar os nutrientes. No entanto, esse sistema requer boa disponibilidade hídrica e tem custo elevado tanto na implantação quanto na manutenção, tornando difícil o acesso de países em desenvolvimento com poucos recursos hídricos (LANGERGRABER; MUELLEGGER, 2005).

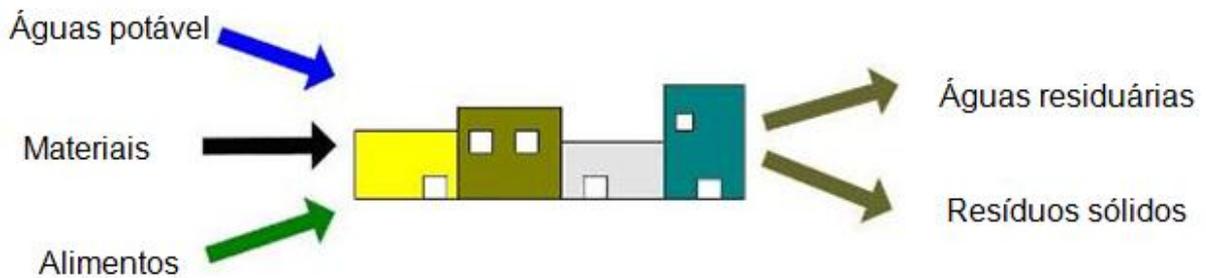


Figura 1 – Fluxo linear no sistema convencional de saneamento.

Fonte: LANGERGRABER; MUELLEGGER, 2005.

Frente a essa situação, tem sido discutida, em todo o mundo, segundo Florêncio, Bastos e Aisse (2006), a consciência em torno da importância do uso racional, da necessidade de controle de perdas e desperdícios e da reutilização da água, incluindo o aproveitamento de esgotos sanitários para diversos fins com seus inegáveis atrativos, dentre os quais se destacam: o reuso da água, a reciclagem de nutrientes e a redução do lançamento de esgotos em corpos receptores, contribuindo para a diminuição de impactos de poluição, contaminação e eutrofização.

O aporte de matéria orgânica nos corpos hídricos é causado, principalmente, pelo lançamento de esgotos domésticos sem tratamento na água, fato que contribui para o consumo de oxigênio, a degradação dos mananciais, a proliferação de doenças, entre outros. Evitar que os esgotos alcancem os rios e lagos é importante na preservação da qualidade de vida.

De acordo com Werner et al. (2008), muitos anos de experiência têm demonstrado que os sistemas convencionais não são capazes de causar um impacto significativo em ações de saneamento devido ao fato de ser, na maioria das vezes, incompleta a sua implantação, que atende quase metade da população mundial. E nos casos em

que todo o sistema está em funcionamento (coleta, transporte, tratamento e destinação final adequada) a sustentabilidade a longo prazo é questionável.

É válido ressaltar que a preocupação com a sustentabilidade está presente também no documento denominado Objetivos de Desenvolvimento do Milênio (ODM), representado na Figura 2. As metas propostas para alcançar o ODM 7, então, são: a garantia de um ambiente sustentável através da integração de princípios de desenvolvimento sustentável em políticas e programas de governo e da reversão da perda de recursos naturais; a diminuição do número de pessoas que sofrem da falta de acesso à água potável e saneamento básico até 2015; e a melhoria significativa na vida de no mínimo 100 milhões de moradores de favelas (ORBIS, 2007).



Figura 2 – Metas do Milênio

Fonte: ORBIS, 2007

Pode-se verificar uma necessidade de aprimorar o ODM 7 em ações de saneamento como forma de dar oportunidade para a melhoria da gestão e distribuição de água potável e, como consequência, trazer resultados positivos de natureza econômica, ambiental e social. Em alguns casos, como nos países em desenvolvimento, onde a escassez de água potável e a ausência de serviços de saneamento são constantes, essa modificação pode constituir uma obrigatoriedade para alcançar a qualidade de vida.

3.2 ESGOTAMENTO SANITÁRIO E ESCASSEZ DE ÁGUA

Um dos maiores símbolos históricos do sistema de esgotamento sanitário é a Cloaca Máxima de Roma (HELLER, 1997). De acordo com Matos (2003), Cloaca é um termo latino que significa “condutor de drenagem urbana”; por outro lado, o termo “coletor” provém do latim *co-lego*, que significa juntar, reunir, e traduz o conceito da formação da rede de drenagem, construída por trechos interligados – os coletores –, onde se reúnem e depois transportam as águas afluentes.

Os relatos históricos evidenciam uma preocupação apenas com a necessidade de afastar dos centros de ocupação os dejetos e resíduos gerados pela atividade humana, lançando-os em corpos d’água. Wiesmann (2007) afirma que em meados do século XIX discutia-se a possibilidade de redução da concentração de poluentes por oxidação química durante o transporte em rios, uma vez que alguns estudiosos estavam convencidos de que toda as águas residuárias lançadas em rios se tornavam limpas pela “autopurificação”

Ao longo dos séculos essa idéia de transportar as excretas foi mantida, acrescentando apenas a inovação do tratamento. Percebeu-se que as redes implantadas atendiam bem à demanda de coleta e transporte, mas havia alguns problemas com relação ao lançamento de esgoto, principalmente se a quantidade lançada em um rio fosse muito maior em comparação com a vazão dele.

O sistema de esgotamento sanitário que teve origem no século XIX, ainda predominante na atualidade, tem causado alguns problemas, como a poluição da água. Conforme relata Esrey et al. (1998), é comum as excretas serem reunidas em tubulações que transportam por longas distâncias e depois são descartadas sem nenhum tratamento em rios e lagos, entre outros (Figura 3), acarretando aporte de microrganismos, matéria orgânica e nutrientes, os quais aumentam o risco de proliferação de doenças e causam desequilíbrios como a eutrofização.

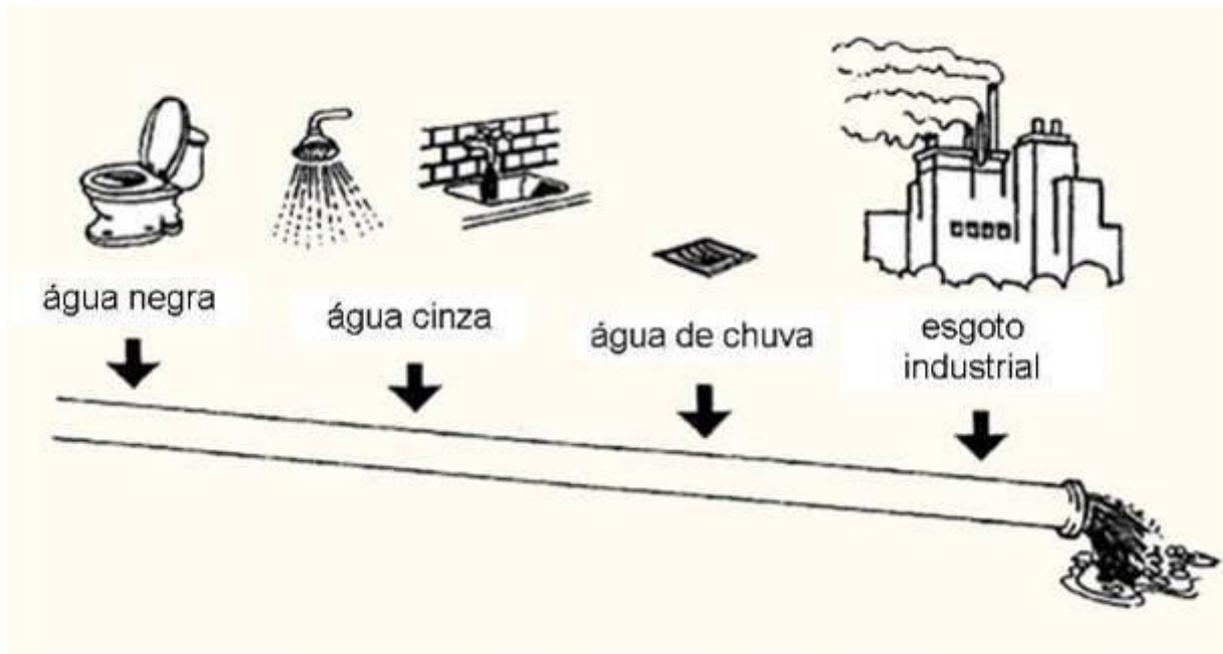


Figura 3 – Sistema de esgotamento convencional em que os diversos efluentes são lançados nos corpos d'água, na maioria das vezes, sem tratamento.

Fonte: Esrey et al.,1998.

Nuvolari (2003) afirma que, em geral, o esgoto sanitário é composto por 99,9% de água e apenas 0,1% de sólidos, sendo que 75% desses sólidos são constituídos de matéria orgânica em processo de decomposição. É essa pequena porção sólida existente que precisa receber tratamento adequado, uma vez que ela facilita a proliferação de microrganismos, estes em alguns casos podem ser patogênicos, principalmente se oriundos de fezes humanas de populações doentes.

Von Sperling (2005) destaca que, em se tratando de poluição das águas por esgotos predominantemente domésticos, três fatores devem ser abordados: poluição por matéria orgânica (consumo de oxigênio dissolvido), contaminação por microrganismos patogênicos (decaimento bacteriano), e poluição de lagos e represas (eutrofização causada por nitrogênio e fósforo).

A água, quando usada com a finalidade de diluição e transporte de dejetos, contamina-se com matéria orgânica e microorganismos, entre outros. Werner et al. (2008) menciona que, conforme representado na Figura 4, as principais desvantagens do sistema de tratamento de esgotos convencional são as seguintes:

- tratamento insuficiente ou lançamento sem controle de mais de 90 % das águas residuárias em todo o mundo;
- poluição de corpos d'água, principalmente por nutrientes, resíduos perigosos, agentes patogênicos, fármacos e hormônios;
- danos ambientais graves e eutrofização;
- consumo de água potável para transportar dejetos;
- alto investimento, energia e custos para operação e manutenção;
- investimentos frequentes em áreas prósperas e negligência dos assentamentos pobres;
- perda de valiosos nutrientes e elementos, além de traços contidos nos dejetos, através de lançamento de esgotos em corpos d'água;
- predominância de sistemas coletivos combinados (esgotamento de água pluvial em conjunto com esgoto doméstico), resultando em problemas com lodo de esgoto contaminado.

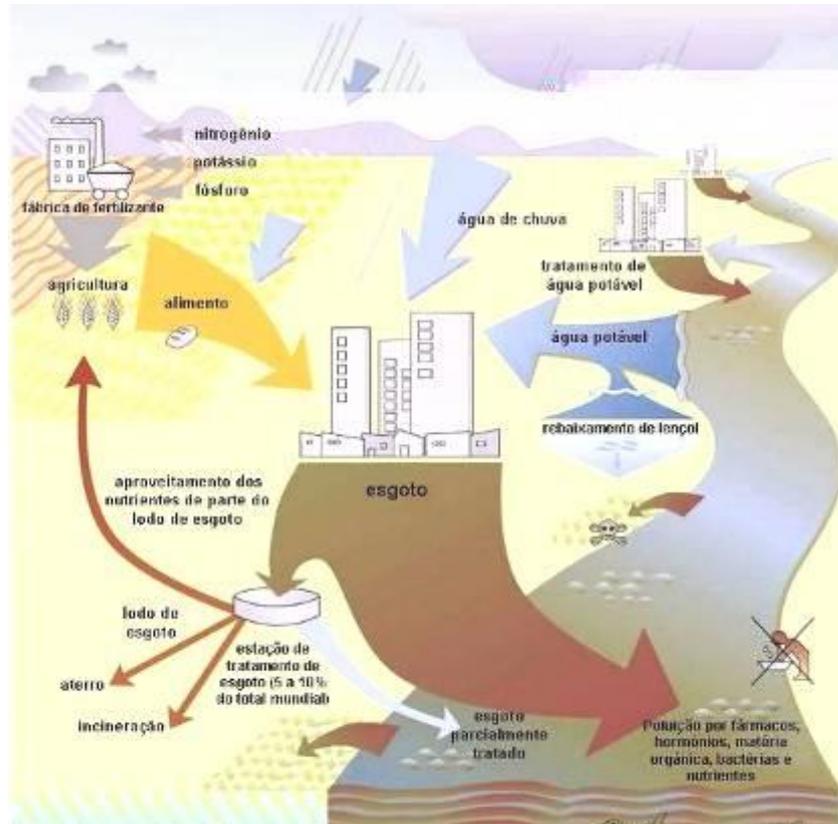


Figura 4 – As principais desvantagens do sistema convencional de esgotamento sanitário

Fonte: WERNER et al., 2008

O autor ainda completa que é um equívoco pensar nos dejetos humanos como resíduos sem utilidade, esse pensamento foi responsável pela idéia 'fim-do-tubo' existente hoje, em que os resíduos devem ser tratados apenas no final do processo, ou seja, numa ETE, distante dos centros urbanos, que são na verdade os geradores dos efluentes domésticos.

3.3 SANEAMENTO ECOLÓGICO

Há uma necessidade de repensar o Saneamento Básico, sobretudo no que tange ao esgotamento. As excretas contém nutrientes valiosos que podem ser reaproveitados, por exemplo, na produção de alimentos. Muito já é conhecido sobre esse hábito no interior e entre os mais velhos onde é comum utilizar estercos e restos de alimentos em pequenos cultivos agrícolas. A novidade é estender essa reciclagem para os dejetos oriundos de esgotos domésticos. É com base nessa reflexão que se elaborou o conceito de Saneamento Ecológico.

A concepção do Saneamento Ecológico, portanto se refere a uma forma de fazer os nutrientes encontrados nos dejetos humanos retornarem para o solo, e assim usá-los como fertilizante, melhorando a produção de alimentos. Dessa forma, os nutrientes são mantidos em um circuito no ambiente (JONAH, 2007).

De acordo com Esrey et al. (1998) "Saneamento Ecológico" ou "Ecosan" é um ciclo - uma forma sustentável, um sistema fechado. Os elementos excretados são um subproduto, tratados no local e, em seguida, se necessário, recebem tratamento posterior até que estejam completamente livres de microrganismos causadores de doença. Os nutrientes contidos na excreta são então reciclados ao serem utilizados na agricultura. Ao invés de poluir o meio ambiente, urina e fezes humanas são usadas para melhorar estrutura do solo e fornecimento de nutrientes. A Figura 5 apresenta resumidamente essa idéia de tratamento e recuperação dos nutrientes.

Zanchetta (2007) ao fazer referência ao termo EcoSan afirma ser ele proveniente dos países nórdicos, principalmente da Suécia, e o descreve como uma alternativa aos sistemas de tratamento de esgoto convencional, com sustentabilidade econômica baseada na reciclagem de matérias, evitando as desvantagens do sistema usual.

Werner et al.(2004) acrescenta que o Saneamento Ecológico é capaz de reduzir o risco de contaminação das águas de abastecimento por esgotos, proteger o solo e as águas subterrâneas, e otimizar o gerenciamento dos nutrientes e dos recursos hídricos.

O Ecosan, segundo Gonçalves (2006), prevê a separação das diferentes formas de águas residuárias nas suas origens, com o objetivo de valorizá-las, pois a segregação de efluentes na escala residencial permite soluções diferenciadas para o gerenciamento de água e de resíduos em ambientes urbanos, aumentando a eficiência da reciclagem de água e de nutrientes e permitindo, ao mesmo tempo, uma redução no consumo de energia em atividades de saneamento.

A estratégia do Ecosaneamento de coletar e tratar as águas residuárias diferenciadas, para aproveitar o seu potencial de reuso é descrita por Gonçalves (2006) e Esrey et al. (1998) , conforme apresentada a seguir, e representada na Figura 7:

- Águas negras: águas residuárias provenientes dos vasos sanitários, contendo basicamente fezes, urina e papel higiênico.
 - Águas cinzas: águas servidas provenientes dos diversos pontos de consumo de água na edificação (lavatórios, chuveiros, banheiras, máquina de lavar roupa e tanque), excetuando-se águas residuárias provenientes dos vasos sanitários. A maioria dos autores não consideram as águas residuárias de cozinhas como água cinza, mas sim como água negra, devido à presença de elevadas concentrações de matéria orgânica e de óleos e gorduras.
 - Águas amarelas: águas residuárias proveniente de dispositivos que separam a urina das fezes. Podem ser geradas em mictórios ou em vasos sanitários com compartimentos separados para coleta de fezes e de urina.
-

- Águas marrons: são oriundas de dispositivos separadores de fezes e urina, tendo em sua composição grandes quantidades de matéria fecal e papel higiênico. Águas marrons segregadas das demais resultam em estações de tratamento menores, operando de forma mais estável e produzindo menos sub-produtos.



Figura 7 – Segregação de esgoto doméstico de acordo com a origem

O Saneamento Ecológico apresenta-se como uma idéia holística sobre ecologia e economia, além de ser uma sistêmica aproximação daquilo que pode se chamar de mudança de paradigma, pois tecnologias isoladas significam apenas meios para se alcançar um fim e não são ecológicas. Entretanto, ainda é necessário o esclarecimento sobre o fato de que esse conceito não faz referência a uma solução apenas para pessoas com baixo poder aquisitivo, mas sim a uma solução a mais para atender as demandas de saneamento em diferentes regiões, respeitando as especificidades e as situações distintas de cada localidade. (LANGERGRABER; MUELLEGGGER, 2005).

Gonçalves (2006) ressalta a falta de soluções de consenso consolidadas para esta prática, e a persistência de um amplo espaço para o desenvolvimento de tecnologia de separação e tratamento de fezes devido à dificuldade de aceitação crescente em vários países.

3.4 MATERIAL FECAL

As fezes coletadas por dispositivos separadores de fezes e urina são denominadas águas marrons – quando há uso de água no descarte – e material fecal – quando não há uso de água no descarte. É este último o objeto abordado neste estudo, opção que se deve ao fato de que ele não requerer uso de água, representando, dessa forma, uma alternativa mais econômica e sustentável.

Há milhares de anos, os chineses usavam dejetos humanos e de animais como esterco. O Japão, no século XX, introduziu a reutilização de dejetos na agricultura (ESREY et al., 1998). A inovação é a visão de segregação da urina e das fezes, por se tratar de componentes com diferentes características em termos de patógenos, nutrientes e benefícios para o solo e plantas (ESREY et al., 2001). A Figura 8 ilustra um banheiro com vaso sanitário separador de fezes e urina.

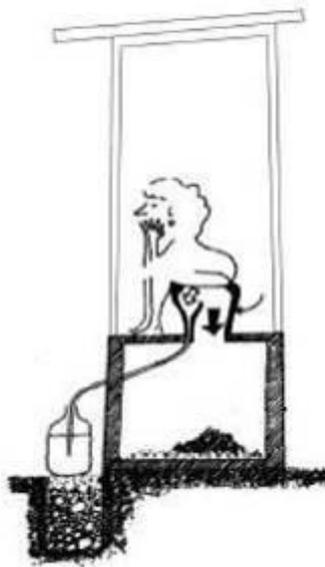


Figura 8 - Sanitário com separação de urina e fezes

Fonte: ESREY et al., 2001

Apesar da característica peculiar de risco na transmissão de doenças, e de possuir menor quantidade de nutrientes que a urina, conforme Figura 9, as fezes podem ser reaproveitadas, trazendo inúmeros benefícios.

Após a destruição dos patógenos através da desidratação e da decomposição, tem-se como resultado um material inofensivo que pode ser aplicado para incrementar a matéria orgânica existente, reter água e aumentar a disponibilidade de nutrientes, além de ajudar a manter uma população benéfica de microrganismos, melhorando as condições do solo.

A Figura 9, apresenta segundo Zancheta (2007), a quantidade de nutrientes (N_{total} , P_{total} , K) presentes em pequenos volumes de efluentes. Segundo o autor, as águas marrons e amarelas constituem apenas 0,20 e 1%, respectivamente, do volume total do esgoto doméstico.

No entanto, essas pequenas frações correspondem a grande parte dos nutrientes disponíveis que acabam se perdendo no esgoto. As águas marrons são responsáveis por 25 % do P_{total} , 23 % do K e 7 % do N_{total} . O mesmo se pode dizer das águas amarelas.

As águas cinzas, apesar de possuírem grande volume, têm poucos nutrientes, sendo, por isso, comum os tratamentos que visam reuso em atividades menos nobres.

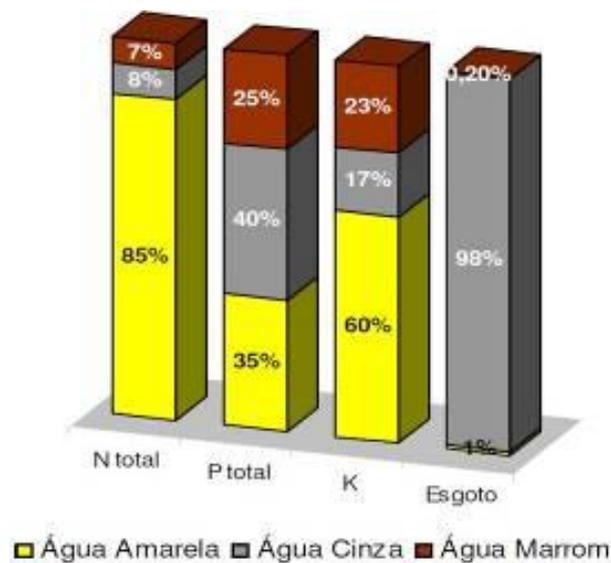


Figura 9 – Composição do esgoto sanitário segundo a segregação em cores das águas
 Fonte: Zancheta (2007)

3.4.1 Características quantitativas e qualitativas de Material Fecal

Afirmar a quantidade de fezes produzida diariamente por pessoa é difícil, uma vez que este valor depende de hábitos alimentares, estilo de vida, cultura, entre outros. Contudo, existem estudos que fazem algumas estimativas.

Segundo Rosenquist (2005), estima-se que uma pessoa produza de 400 a 500 L de urina e 50 L de fezes por ano. Salas (2005) e Rosemarin (2007), apresentam como valor médio diário a quantidade de 150 g, enquanto Chaggu (2004) defende valores médios bem amplos – cerca de 70 a 520 g por pessoa por dia (g/ppd)

A Tabela 1 apresenta um resumo do estudo de Schouw (2001), realizado em alguns lugares da Tailândia; trata-se de uma comparação que o autor faz com estudos realizados por diferentes pesquisadores.

Tabela 1: Taxa de geração de excretas úmidas (urina + fezes) g/cap/dia.

<i>Local de estudo</i>	<i>Urina</i>	<i>Fezes</i>	<i>Excreta</i>	<i>Sólidos totais</i>	<i>Referência</i>
Vietnan	820-1200	130-140	990-1333	43-93	Polprasert et al., 1981
Japan e China	-	116-200	-	-	Polprasert et al., 1981
Dinamarca	-	-	1700	59-81	Hansen and Tjell, 1979
Países em desenvolvimento	1200	130-250	1450-1550	-	Feachem et al., 1983
Europa e norte da América	1200	100-200	1350	-	Feachem et al., 1983
Thailand:	-	-	-	-	-
Prik	-	-	750-1160	51-87	Schouw, 2001
Phattalung	-	-	730-1500	50-86	-
Kuang Lang	600-1200	120-400	940-1530	54-80	-

Fonte: Schouw (2001).

As fezes humanas possuem uma grande quantidade de água, matéria inorgânica, na forma de sais e matéria orgânica, que representa cerca de 20% de toda a matéria orgânica encontrada no esgoto doméstico (BRASIL, 2004).

De acordo com Piveli & Kato (2005), os principais grupos de substâncias orgânicas encontradas nos esgotos são proteínas (40 a 60%), carboidratos (25 a 60%) e óleos e graxas. Essas substâncias são oriundas principalmente de material fecal e em menor parte das águas cinzas.

Salas (2005) escreve que as fezes são compostas por restos alimentares, alimentos não processados na digestão, gorduras, hidratos de carbono, proteínas extraídas da corrente sanguínea e de material não digerido que passa pelo intestino, além de uma grande quantidade de microrganismos, podendo atingir um bilhão por grama de fezes.

A Tabela 2 acentua a variabilidade de informações ao apresentar valores de massa úmida e massa seca encontrada em outros estudos.

Tabela 2 – Valores de massa úmida e massa seca fecal.

<i>Países</i>	<i>Massa úmida (kg/pessoa por ano)</i>	<i>Massa seca fezes (kg/pessoa por ano)</i>	<i>Autores</i>
Suécia	51	11	Vinnerås 2002
China	115	22	Gao e outros, 2002
Kenia	190	*	Pieper, 1987

Adaptado Jonsson et al., 2004

* não apresentado

A quantificação e composição das fezes humanas são bastante variáveis, a característica dos alimentos digeridos é um fator determinante, pois a digestibilidade tem grande influência na quantidade de fezes excretadas (Jonsson et al., 2004).

De modo geral, sabe-se que cerca de 75% das fezes são água, e o restante que compõe a fração sólida é formada por uma grande quantidade de resíduos

biodegradáveis. Segundo Aires (2008), cerca de 10% a 20% da fração sólida é composta de gorduras.

A maior parte dos nutrientes encontrados no esgoto doméstico, é proveniente da urina, por isso muitos autores, como Schouwa et al. (2001) costumam dizer que os macro nutrientes se encontram nela, enquanto as fezes contém a maioria dos metais.

Apesar da menor quantidade de nutriente, ainda pode ser recomendada a segregação de fezes com a finalidade de reuso, uma vez que o uso de fezes pode ajudar a aumentar a colheita em solos fracos, auxiliando no melhoramento da estrutura do solo, pois o material fecal misturado ao solo depois de tratado aumenta a capacidade de manutenção de água e de enchimento, e serve de substrato para os microrganismos do solo e como fonte energética (JONSSON et al, 2004).

A Tabela 3 mostra um resumo de vários estudos realizados com informações sobre os nutrientes que compõem as fezes.

Tabela 3 - Valores de massa excretada e nutrientes

<i>Autores</i>	<i>Peso úmido (g/ppd)</i>	<i>Peso seco (g/ppd)</i>	<i>Carbono orgânico (g/ppd)</i>	<i>Nitrogênio total (g/ppd)</i>	<i>Fósforo total (g/ppd)</i>	<i>Potássio (g/ppd)</i>
Salas (2005)	150	-	-	2	0,6	0,6
Huhtanen e Laukkanen (2006)	137	-	-	0,25	0,52	0,47
Esrey et al (2001)	70-140	35	21,4	1,5	0,5	1
Chandra (2007)	180		21,4	2	0,7	0,7
Jonsson et al., 2004	51	11	-	1,51	0,5	-
Chaggu (2004)	70-520	30-70	44-55	5-7	0,69-2,5	-

O estudo realizado por Chaggu (2004) apresenta a caracterização fecal com amplo espectro de parâmetros, conforme pode ser visualizado na Tabela 4.

Tabela 4 - Quantidade, composição e características de fezes e urina.

<i>Quantidade aproximada</i>	<i>Fezes</i>	<i>Urina</i>
Peso úmido por pessoa por dia (g/ppd)	70-520	1000-1500
Peso seco por pessoa por dia (g/ppd)	30-70	50-70
Composição aprox. (% de peso seco/matéria)	88-97	65-85
Umidade	66-85	93-99,5
Matéria orgânica	88-97	65-85
Nitrogênio (N)	5,0-7,0	15-19
Fósforo total	0,69-2,5	1,08-2,2
Carbono (C)	44-55	11-17
Proteína (g)	4-12	0,28
Lipídeos totais (g)	4-6	-
Polissacarídeos (g)	4-10	0,68

Adaptado de Chaggu (2004).

3.4.2 Patogenicidade

As fezes possuem grande quantidade de microrganismos, independente da origem ter sido de indivíduos saudáveis ou não. A flora bacteriana normal do trato gastrointestinal, segundo Silva (1999), tem sido motivo de muitos estudos, pois a composição dessa flora difere entre as várias espécies e ainda dentro de uma mesma espécie.

A flora do intestino grosso é qualitativamente similar a encontrada nas fezes, as populações chegam a alcançar níveis de 1000/mL de fluido (SILVA, 1999). As mais comumente encontradas são Coliformes, estreptococos, clostrídios e lactobacilos, conforme pode ser visualizado na Tabela 5.

Tabela 5 – Bactérias comumente encontradas no intestino grosso humano.

Bactérias	Incidência (%)
<i>Bacteroides fragilis</i>	100
<i>Bacteroides metaninogenicus</i>	100
<i>Bacteróides oralis</i>	100
<i>Lactobacillus</i>	20-60
<i>Clostridium perfringens</i>	25-35
<i>Clostridium septicum</i>	5-25
<i>Clostridium tetani</i>	1-35
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	30-70
<i>Staphylococcus aureus</i>	30-50
<i>Enterococcus faecalis</i>	100
<i>Escherichia coli</i>	100
<i>Salmonella enteritidis</i>	3-7
<i>Salmonella typhi</i>	0,00001
<i>Klebsiella spp.</i>	40-80
<i>Enterobacter spp</i>	40-80
<i>Proteus mirabilis</i>	5-55
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3-11
<i>Peptostreptococcus</i>	Comum
<i>Peptococcus</i>	Moderado
<i>Metanogênicos</i>	Comum

Fonte: Silva, 1999.

Silva (1999) acrescenta que a flora existente nas fezes é influenciada pela idade, dieta alimentar e condições culturais, a Tabela 6 apresenta o número de bactérias encontradas na fezes em algumas espécies animais.

Tabela 6 – Números de bactérias viáveis encontradas nas fezes de animais adultos (logaritmo de bactérias viáveis por grama de fezes).

Animal	<i>Escherichia coli</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Bacterioides</i>	<i>Lactobacilos</i>
Gado bovino	4.3	2.3	5.3	0	2.4
Carneiros	6.5	4.3	6.1	0	3.9
Cavalos	4.1	0	6.8	0	7.0
Porcos	6.5	3.6	6.4	5.7	8.4
Galinhas	6.6	2.4	7.5	0	8.5
Coelhos	2.7	0	4.3	8.6	0
Cães	7.5	8.4	7.6	8.7	4.6
Gatos	7.6	7.4	8.3	8.9	8.8
Ratos	6.8	0	7.9	8.9	9.1
Homem	6.7	3.2	5.2	9.7	8.8

Fonte: Silva, 1999.

A variedade de microrganismos e o potencial patogênico faz com que a exposição a fezes sem tratamento seja considerada arriscada, e por isso os tratamentos devem assegurar uma grande eficiência, uma vez que além de bactérias, há ainda outros microrganismos causadores de doenças como vírus, protozoários e helmintos.

As doenças infecciosas despertam preocupações porque causam um quarto do total de doenças do mundo, além disso, são a maior causa de morte em crianças e jovens adultos, cerca de 13 milhões de mortes por ano. Uma a cada duas pessoas nos países em desenvolvimento morre jovem devido a uma doença infecciosa. Crianças e imuno-deprimidos são os mais vulneráveis, especialmente à contaminação por bactérias, vírus e parasitas. Alguns desses microrganismos sobrevivem no ambiente por longos períodos (ESREY et al., 2001).

Chandra (2007) informa que a variedade de vírus encontrados nas fezes supera o número os 120 tipos. Os mais comuns são enterovirus, rotavirus, adenovirus e norovirose e também o vírus da Hepatite A e E.

Dentre as bactérias causadoras de doenças, Chandra (2007) destaca *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *Vibrio cholera* e *Shigella*, microrganismos muito encontrados em local onde há pouca higiene e falta saneamento.

O autor ainda enfatiza que dentre os protozoários parasitas, os mais estudados na última década são *Cryptosporidium parvum* e *Giardia lamblia/intestinalis*, por apresentarem alta resistência ambiental, grande problema devido à persistência dos ovos de, especialmente, *Ascaris* e *Taenia*, e necessitar de um número pequeno de organismos para causar infecção. *Entamoeba histolytica*, *Cyclospora* e *Isospora* também são responsáveis por inúmeros casos de enfermidades nos países em desenvolvimento.

A

Tabela 7 apresenta os ambientes e o tempo em dias de sobrevivência de alguns microrganismos.

Tabela 7 - Tempo de sobrevivência (em dias) de patógenos em diferentes condições de tratamento/disposição.

Condição	Bactéria	Vírus	Protozoário*	Helmintos**
Solo	400	175	10	Muitos meses
Colheita	50	60	Desconhecido	Desconhecido
Solo a noite (night soil), fezes, lodo	90	100	30	Muitos meses
Compostagem (ambiente anaeróbio)	60	60	30	Muitos meses
Compostagem estágio termofílico	7	7	7	7
Lagoa de estabilização	20	20	20	20

* Excluindo *Cryptosporidium parvum*

** Principalmente *Ascaris*, other ovos normalmente morrem rápido

Fonte: Esrey (1998).

3.4.3 Tratamentos para fezes propostos pelo Ecosan

Segundo Jönsson et al. (2004), antes da aplicação visando o reaproveitamento dos nutrientes, o tratamento das fezes deve ser feito em duas etapas: tratamento primário e tratamento secundário. Muitos autores divergem a respeito da distinção

entre esses tratamentos, mas, de maneira geral, o tratamento primário é descrito como aquele que acontece durante a coleta. Nos sistemas secos, isto normalmente acontece em baixo do banheiro durante o período da coleta.

O tratamento primário tem muitos objetivos: a) diminuir o risco de mau cheiro; b) diminuir o risco de moscas; e c) reduzir o número de patógenos presentes nas fezes. No sistema seco, esse tratamento primário pode ser a adição de cinza depois de cada defecação. É notável a importância do tratamento primário na diminuição dos riscos de contaminação por patógenos para a etapa seguinte, o tratamento secundário.

O tratamento secundário acontece depois da etapa de coleta e tem como objetivo principal transformar as misturas das fezes num estado sem cheiro e visualmente não repulsivo. Isto é importante quando o produto fecal é manuseado manualmente mas menos importante quando é manuseado mecanicamente.

Como opções para o tratamento secundário Jönsson et al. (2004) destacam: compostagem, digestão, armazenamento tratamento químico e incineração. Os tratamentos que envolvem aumento de temperatura (compostagem, digestão, incineração) exigem que todos os materiais atinjam uma temperatura alta a um tempo suficientemente longo para assegurar que os patógenos morram. Este tempo varia de segundos de incineração para dias, até mesmo semanas, para compostagem.

O tratamento tem efeitos no conteúdo e na disponibilidade de plantas dos nutrientes das fezes, e esse efeito varia entre os nutrientes e tratamentos. O, N e S podem ser gases perdidos nas formas de N_2 , SO_2 e H_2S durante alguns tratamentos, mas outros nutrientes permanecem no produto tratado desde que não ocorra lixiviação.

Esrey et al. (2001) afirmam que os três principais fatores que interferem na sobrevivência dos microrganismos patogênicos são pH, umidade e temperatura. Uma das formas mais simples de tratamento fecal, podendo, inclusive, ser realizado no local de coleta, é o armazenamento. Nesse caso, a inativação de patógenos é, geralmente, lenta – os microrganismos competem entre si e morrem naturalmente.

É muito comum o uso de sanitários compostos por duas câmaras, enquanto uma serve para uso a outra é usada para armazenamento (tratamento) (ESREY et al., 2001).

O aumento da temperatura ambiente, do pH e da aeração ajudam na inativação bem como na competição biológica, acelerando a redução de patógenos. Alguns elementos – como a cal, o solo e cinzas – podem ser adicionados ao material fecal para reduzir microrganismos. Eles podem auxiliar na desidratação e aumentar o pH.

As condições ambientais (temperatura, umidade, pH, entre outros) afetam todos os patógenos. Entretanto, os microrganismos apresentam diferentes resistências quando expostos a métodos diferentes de tratamento (ESREY et al., 1998); por isso, dos métodos de destruição, a alta temperatura e a baixa umidade, por favorecerem a desidratação, consistem nos mais eficazes, já que promovem a destruição rápida da maioria dos patógenos.

Esrey et al. (1998) escrevem que a combinação de baixa umidade, pouca quantidade de matéria orgânica/nutrientes e alto pH ajudam a acelerar a degradação, sendo a desidratação considerada o mais efetivo método de destruição de patógenos.

Esrey et al. (2001) informam que a destruição de patógenos em teoria é simples de alcançar, mas na prática requer cuidado e atenção através de uma série de etapas. Recomenda-se que sejam seguidos 4 passos para tornar as excretas seguras para manuseio e reciclagem (tratamentos primário e secundário):

- Mantenha um volume pequeno de material contaminado separado da urina e não adicione água;
- Impeça a dispersão do material que contém patógenos através de armazenamento em um tipo de plano ou lugar seguro até estar apto a reciclagem;
- Reduza o volume e o peso do material patogênico através de desidratação e/ou decomposição para facilitar o armazenamento, o transporte e o pós-tratamento;
- Reduza os patógenos para um estado inofensivo, através de sanitização: tratamento primário no local de coleta (desidratação/decomposição, retenção), tratamento secundário no local ou fora (posterior desidratação, compostagem em alta temperatura, alteração de pH por acréscimo de cal) e, se necessário, tratamento terciário (incineração).

Os tratamentos secundários indicados por Jönsson et al. (2004) são:

- Incineração;
-

- Compostagem – temperatura alta e baixa;
- Armazenamento;
- Digestão;
- Químico.

3.5 BIODEGRADAÇÃO

De maneira geral, os microrganismos desempenham um importante papel no tratamento de esgotos. Dessa forma, isso não seria diferente no tratamento de material fecal, tendo em vista as características das fezes citadas no item 3.4.1. A Figura 10 representa o fenômeno da degradação dos compostos presentes no esgoto doméstico.

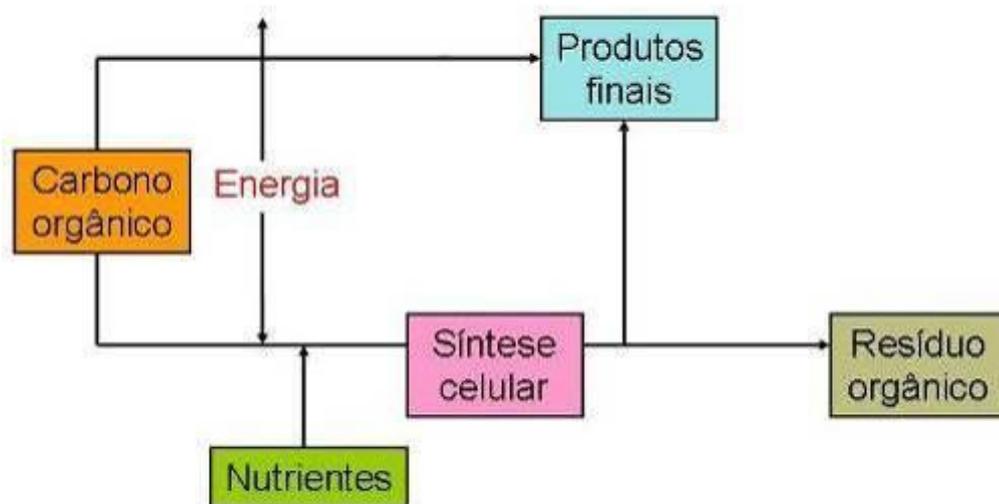


Figura 10 – Diagrama do metabolismo de microrganismos heterotróficos

Fonte: Piveli e Kato, 2005

Os microrganismos heterotróficos metabolizam compostos orgânicos biodegradáveis, transformando em produtos finais mais estáveis como água, gás carbônico, sulfatos, fosfatos, amônia, nitratos, etc. Nesse processo, há consumo de oxigênio da água e liberação de energia contida nas ligações químicas das moléculas decompostos (Piveli e Kato, 2005)

Von Sperling (2005) afirma que a base de todo tratamento biológico é o contato efetivo entre os microrganismos e o material orgânico, de tal forma que este possa ser utilizado como alimento por aqueles. Um bom exemplo deste fenômeno é a estabilização da matéria orgânica contida no material fecal. A reação representada na Figura 11 exemplifica a oxidação da matéria orgânica:

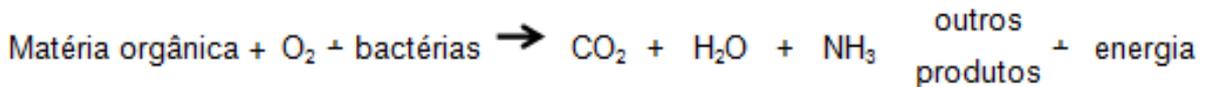


Figura 11 – Esquema explicativo da oxidação da matéria orgânica

As fezes possuem inúmeros microrganismos, os quais, por sua vez, não servem apenas como transmissores de doenças: podem atuar no tratamento de poluentes e contaminantes. Essa atuação é denominada biorremediação (PEDROTI, 2007). Muito se tem estudado em microbiologia para aproveitar melhor a capacidade de uso dos microrganismos em processo de tratamento de resíduos.

Como os microrganismos necessitam de energia e nutrientes para desempenhar suas funções vitais – segundo Von Sperling (2005), a microbiota, através do metabolismo, obtém energia (catabolismo) e depois a utiliza para crescer e se reproduzir (anabolismo) –, tem-se estudado meios de fornecer-lhes resíduos como alimento, para que se possa eliminar ou reduzir o potencial poluidor desses resíduos.

Através do catabolismo, a energia armazenada em forma química nos compostos orgânicos (substratos) é liberada, sendo convertida no anabolismo em material celular.

A matéria orgânica presente no meio pode ser inerte ou biodegradável:

- Inerte: não biodegradável.
- Biodegradável: pode ser rapidamente biodegradável se constituída por moléculas simples e lentamente biodegradável quando se constitui de moléculas complexas. Nesse caso, o material precisa passar por um processo de hidrólise para ser convertido em moléculas mais simples e assim serem assimilados pelas bactérias (VON SPERLING, 2005).

Lopez Zavala et al. (2004), ao realizarem a caracterização fecal, perceberem que a fração biodegradável das fezes é constituída de matéria orgânica de degradação lenta. Essa matéria é transformada em moléculas mais simples (rapidamente biodegradável) por hidrólise e assimilada pela biomassa heterotrófica. Em seguida, uma porção da matéria consumida é oxidada para fornecer energia, e o restante é usado na criação de novas células. Após o processo descrito anteriormente, o decaimento da biomassa é dividido em duas frações: matéria inerte e matéria orgânica de degradação lenta. O último é hidrolisado em substrato facilmente biodegradável.

A hidrólise, de acordo com Cassini (2003), consiste no processo de ruptura ou quebra de moléculas orgânicas complexas, caracterizadas pelos polímeros de carboidratos, proteínas, lipídeos e suas combinações, convertendo-os em moléculas menores, passíveis de assimilação e utilização pelas células microbianas.

A biodegradação pode ocorrer tanto por via aeróbia quanto anaeróbia, dependendo da atividade microbiana. Entretanto, vale ressaltar que processos aeróbios possuem uma faixa maior de substâncias degradáveis e ocorrem em uma escala de tempo menor (PEDROTI, 2007)

Quando se trata de modificações substanciais na estrutura e composição molecular de substratos orgânicos, utilizam-se os termos digestão, decomposição, biotransformação e biodisponibilidade. Essas modificações são catalisadas por enzimas específicas, as quais produzidas pela microbiota presente nesse ambiente, e capazes de transformar substratos complexos em substratos disponíveis para a assimilação pela microbiota ou biomassa microbiana (CASSINI, 2003).

O autor ainda destaca que o conceito de biodegradabilidade, quando se trata de processos ambientais, pode ter várias conotações. E, geralmente, o termo é utilizado para referir-se à tendência ou suscetibilidade de transformação de determinados substratos, substâncias ou compostos pela microbiota ambiental.

Hohener, Hunkeler e Hess (1998) acrescentam uma informação sobre a existência de, no mínimo, quatro vias de degradação bacteriana: a) a microbiota natural é exposta ao composto por tempo suficiente para induzir mudanças nos genes capazes de codificar enzimas para degradação do composto – evolução lenta. Como consequência, a comunidade microbiana passa a ter vias degradativas, mas a

degradação pode ser insuficiente devido ao número reduzido de células ou à baixa atividade; b) a microbiota natural encontra-se adaptada às condições locais e, em condições ideais, passa a degradar o composto; c) uma vez conhecido o contaminante, a microbiota natural é “equipada” artificialmente através de introdução de um grupo de genes que degrade o composto ou estimule o processo de degradação; d) a bactéria degradadora é isolada em laboratório e inoculada no ambiente que deseja ser atenuado, precisando, dessa forma, competir com a biota do composto a ser degradado.

Existem muitos métodos padronizados internacionalmente para testar a biodegradabilidade de resíduos. Entretanto existem poucas informações confiáveis e uniformes sobre a biodegradação de compostos orgânicos (MILES, 2001).

3.6 RESPIROMETRIA AERÓBIA

Pirovani (2006) afirma que a respiração é um dos mais antigos parâmetros utilizados para quantificar a atividade microbiana. Ela representa a oxidação da matéria orgânica por microrganismos aeróbios, que, portanto, utilizam O_2 comoceptor final de elétrons e transformam o carbono orgânico em CO_2 . Dessa forma, é possível avaliar tanto o consumo de O_2 quanto a produção de CO_2 .

O consumo de O_2 pode ser medido indiretamente pela DBO. Von Sperlig (2005) comenta que a DBO é uma indicação indireta do carbono orgânico biodegradável: ela retrata a quantidade de oxigênio requerida para estabilizar, através de processos bioquímicos, a matéria orgânica carbonácea, por isso pode ser considerada um método indireto de medir a respirometria.

A Figura 12 representa uma curva de DBO onde é representado o decréscimo dos teores de oxigênio dissolvido causado pela respiração dos microrganismos que se alimentam da matéria orgânica.

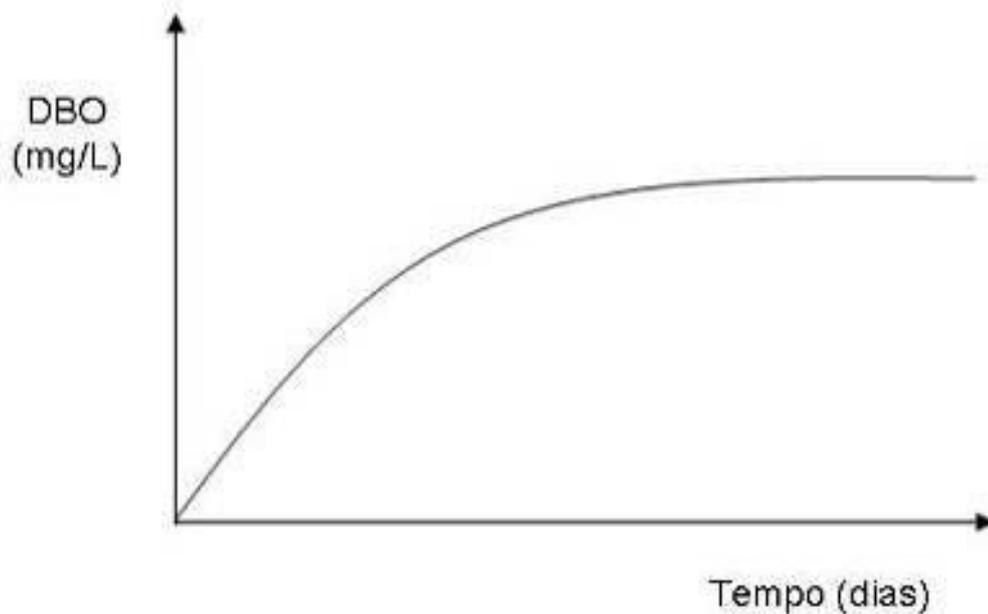


Figura 12 – Evolução da DBO em uma amostra ao longo do tempo

Fonte: VON SPERLING (2005).

A determinação de CO_2 pode ser feita por titulação ou condutividade elétrica, cromatografia gasosa, espectroscopia de infravermelho (IRGA) ou por ^{14}C . (PIROVANI, 2006)

Brito (2009) afirma que a respirometria, com base na liberação de CO_2 , tornou-se uma metodologia adequada para a quantificação do carbono degradado, determinando a velocidade de respiração da biomassa degradadora. Indicado pela Norma Brasileira Regulamentadora (NBR) 14283 (1990), o método de Bartha determina o índice de biodegradação da matéria orgânica contida em resíduos a serem tratados em solos, avaliando a tratabilidade de resíduos.

O método respirométrico de Bartha, adaptado de uma norma holandesa, é um método simples e economicamente viável para determinar a atividade microbológica pela geração de gás carbônico e, indiretamente, a biodegradação de matéria orgânica (PEDROTI, 2007)

O oxigênio pode ser fornecido sem fluxo de ar, com retenção passiva de CO_2 , e com fluxo de ar contínuo ou intermitente, pelo sistema chamado de aeração forçada. O primeiro processo é de simples utilização, principalmente quando se tem um grande número de tratamentos envolvidos; porém, pode se tornar limitado em ensaios prolongados (CALDEIRA, 1997).

O CO₂ liberado na respirometria é capturado pelo NaOH e determinado por condutivimetria. O método da condutivimetria usa a relação direta entre as produções de CO₂ e as mudanças de condutividade da solução básica receptora para análise de biodegradabilidade.

Junto com os íons de uma solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH), o CO₂ gerado produz carbonato de sódio (Na₂CO₃). O carbonato é menos dissociável que a base, e mostra uma menor condutividade. A relação linear entre a quantidade de CO₂ liberada e as mudanças na condutividade pode ser usada para determinar a formação de CO₂ com bastante precisão (PEDROTI, 2007).

Os métodos utilizados para a determinação da eficiência de biodegradação baseiam-se na medição de CO₂ gerado nesse processo e na construção de uma curva da massa acumulada desse CO₂ em função do tempo, que deverá apresentar fases distintas, tais como: início da curva com baixíssima inclinação, que deverá corresponder à fase de adaptação dos microrganismos; elevado crescimento exponencial, uma vez que nesta fase estará ocorrendo elevada atividade microbiana; e, por fim, a formação de um patamar, onde a eficiência da biodegradação é drasticamente reduzida (BORGES, 2006).

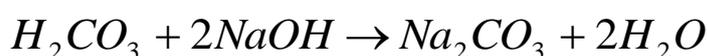
A respirometria é uma metodologia bastante adequada para quantificação da atividade biológica aeróbia, a qual determina a velocidade de respiração de uma biomassa ativa.

Neste estudo, foram usados os dados de CO₂ produzido e acumulados ao longo do período de incubação para obter a curva de degradação dos resíduos por meio da leitura da condutividade elétrica. Para a obtenção da curva de calibração, foi utilizada uma mistura de soluções padrão de NaOH e Na₂CO₃ (RODELLA e SABOYA, 1999).

As principais reações químicas que ocorrem no sistema de respirometria aeróbia são apresentadas nas Equações 1 e 2 :



Equação 1



Equação 2

A Equação 3 apresenta o método usado para calcular a quantidade em miligramas de CO₂ absorvido (mg):

$$CO_2(mg) = V \cdot M \cdot 22 \cdot \frac{[C_1 - C_x]}{[C_1 - C_2]} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

- V é o volume da solução de NaOH em mL empregada na absorção do CO₂ e M, sua concentração em mol/L;
- C₁ é a medida da condutividade elétrica da solução padrão de NaOH em mS/cm;
- C_x é a medida da condutividade elétrica da amostra (mS/cm) e C₂ é a medida da condutividade elétrica do Na₂CO₃ (mS/cm).

As medidas de condutividade elétrica foram realizadas em condutímetro marca Jenco, modelo 1671, China.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DA PESQUISA

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Saneamento do Centro Tecnológico da Universidade Federal do Espírito Santo (CT-UFES), localizado no Campus Universitário de Goiabeiras, em Vitória.

Para a realização desta pesquisa, foi utilizado material fecal bruto proveniente do Laboratório Central da Secretaria Municipal de Saúde e de estudantes voluntários da universidade. O laboratório atende a pacientes encaminhados pelo Sistema Único de Saúde (SUS), residentes do município de Vitória – ES, de ambos os sexos, com faixa etária, situação econômica e grau de escolaridade variada. Também foi usado composto de fezes misturadas a serragem, procedente de reatores de compostagem, localizados na Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) do CT-UFES.

Os reatores foram feitos de caixas de poliestireno expandido (isopor) com volume de 40 L, dimensões internas 395x305x350 mm e paredes com a espessura de 25 mm. O interior dos reatores era revestido com fibra de vidro. Dentro dos reatores, a massa fecal recebeu serragem adquirida de madeira da cidade de Vitória-ES (Figura 13). Após três a cinco dias no reator, uma amostra de 30 g foi recolhida e encaminhada para o Laboratório de Saneamento.



Figura 13 – Reator de compostagem com fezes misturadas a serragem.

Fonte: REBOUÇAS (2010).

Nos ensaios de respirometria foram testadas misturas de materiais como papel higiênico e serragem, com material fecal bruto. A utilização do papel higiênico se deu devido ao seu uso na higiene pessoal.

A serragem tem propriedades importantes, como a alta porosidade, a alta retenção de ar e água e capacidade de drenagem (o que controla a umidade), características que criam um bom ambiente aeróbio para o crescimento da atividade de microrganismos. Além disso, assume a função de material estruturante (Lopez Zavala et al., 2004), pode ser facilmente encontrada e ajuda na redução de odor desagradável.

A serragem é proveniente da mesma serraria anteriormente citada e o papel higiênico utilizado foi do tipo neutro (Carrefour®). Foi feita caracterização físico-química também desses materiais segundo os mesmos parâmetros usados para o material fecal bruto que serão apresentados no item 4.3.1.

A pesquisa foi dividida em quatro etapas: caracterização físico-química dos resíduos fecais, isolamento das bactérias, caracterização bioquímica das bactérias isoladas e avaliação da biodegradabilidade através de respirometria aeróbia. O fluxograma apresentado na Figura 14 resume as etapas descritas.

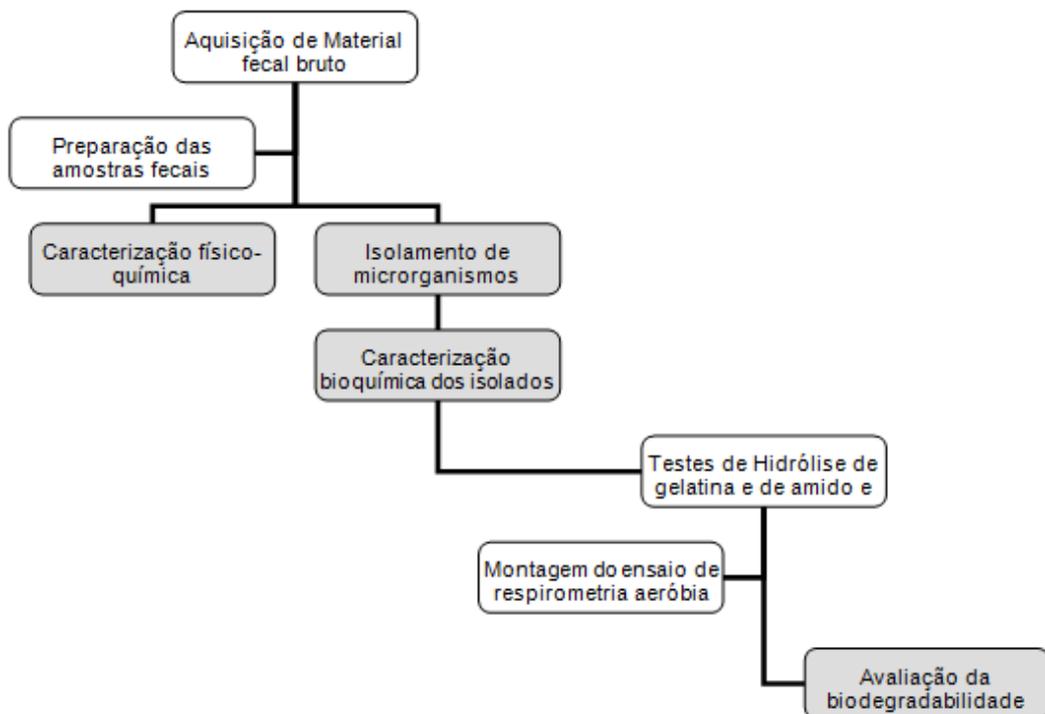


Figura 14 – Fluxograma das etapas da pesquisa.

4.2 AQUISIÇÃO DE MATERIAL FECAL BRUTO

As amostras fecais provenientes da Central da Prefeitura de Vitória eram separadas pelo laboratório e, no final do dia, recolhidas em carro oficial e trazidas até a UFES. As amostras dos doadores voluntários eram recolhidas, armazenadas e posteriormente levadas ao LABSAN.

A maior parte das amostras recebidas ficava armazenada em freezer a - 4°C para, no dia seguinte, serem retiradas dos frascos de coleta individual e misturadas, compondo uma única massa fecal. Uma pequena porção era separada assim que possível para ensaios de caracterização físico-química e isolamento de bactérias, recebendo o tratamento de acordo com os ensaios a serem realizados.

4.3 ETAPAS DA PESQUISA

A pesquisa consistiu em quatro etapas sequenciais: caracterização físico-química, isolamento de bactérias, caracterização bioquímica dos isolados bacterianos e avaliação da biodegradação aeróbia, conforme descrito a seguir.

4.3.1 Caracterização físico-química

Os ensaios de caracterização do material fecal bruto, de serragem, de papel higiênico foram feitas segundo os seguintes parâmetros: Umidade, Sólidos Totais, Sólidos Voláteis, Nitrogênio Total, Fósforo Total e Óleos e Graxas (O&G) segundo as metodologias descritas no “Standard Methods for the Examination of Water and Waster” (APHA, 1995) e Carbono Orgânico, (Kiehl, 1985). Os métodos encontram-se referenciados na Tabela 8.

Tabela 8 – Resumos das metodologias usadas nas análises físico-químicas

Parâmetros	Métodos	Referencias
Umidade	Método gravimétrico	STANDARD METHODS 2540, 1995
Sólidos Totais	Método gravimétrico	STANDARD METHODS 2540, 1995
Sólidos Voláteis	Método gravimétrico	STANDARD METHODS 2540, 1995
Nitrogênio Total	Método Tilitrimétrico	STANDARD METHODS 2540, 1995
Fósforo Total	Método do ácido ascórbico	STANDARD METHODS 2540, 1995
Óleos e Graxas	Extração por solvente	STANDARD METHODS 5520-D, 1995
Carbono Orgânico	Método sulfo-crômico	KIEHL, 1985

4.3.2 Isolamento de bactérias

As bactérias foram isoladas a partir das amostras de material fecal bruto, composto de fezes e serragem proveniente da ETE-UFES e hidrolisado. O material fecal bruto era proveniente de amostras do Laboratório Central e de voluntários. O composto era originário dos reatores de compostagem da ETE, e o hidrolisado era resultado do material fecal bruto coletado e armazenado em recipiente fechado, recoberto com papel alumínio até a formação de um líquido (30 dias).

Os meios utilizados na etapa de isolamento foram de amido-caseína, caldo de carne e óleo de soja. Com a utilização desses meios, o intuito era selecionar microrganismos capazes de se alimentar de diferentes fontes energéticas para que fossem obtidas bactérias com características heterogêneas e com capacidade de degradar fezes.

O isolamento ocorreu em duas formas. Em uma delas, procedeu-se à inoculação direta em placas de Petri do hidrolisado e do composto de fezes com serragem proveniente da ETE - UFES. O hidrolisado foi coletado com pipeta automática e, em seguida, espalhado com alça de Drigalsky em placas de Petri que continham os seguintes meios: Agar Nutriente e Agar Amido-caseína. O composto de fezes com

serragem proveniente da ETE – UFES era espalhado com alça (loop) nas placas de Petri contendo os meios descritos.

Transcorrido um período de aproximadamente 96 horas em estufa a 30 °C, colônias que apresentaram crescimento visível eram novamente isoladas. Assim que houvesse a constatação de colônia pura, elas eram mantidas em refrigeração para estoque, e utilizadas conforme a demanda.

A outra forma adotada consistiu na inoculação, após o enriquecimento em meios específicos, do composto de fezes com serragem proveniente da ETE - UFES e do material fecal bruto, sendo que estes eram introduzidos em três erlenmeyers de 250 mL, contendo os seguintes meios líquidos: Meio Mínimo (MM), com 5% de óleo de soja Liza[®], Caldo Nutriente (CN) e Amido-caseína.

Em cada erlenmeyer foram colocados 3 g de amostras (composto de fezes com serragem proveniente da ETE – UFES e material fecal bruto). Os frascos ficaram incubados a uma temperatura de 30°C sob agitação de 120 rpm por um período de 120 horas.

Após essa fase de enriquecimento, os microrganismos crescidos nos meios líquidos foram inoculados em meio sólido (Meio Mínimo sólido com fonte de carbono (5%), Agar Nutriente, Agar amido-caseína) com alça (loop). Transcorrido um período de aproximadamente 96 horas em estufa a 30 °C, colônias que apresentavam crescimento visível eram novamente isoladas até que houvesse a constatação de colônia pura, que ficou mantida em refrigeração para estoque e utilizada conforme a demanda.

A variação no método de isolamento, bem como na origem (material fecal bruto, composto de fezes com serragem proveniente da ETE – UFES e hidrolisado) teve a finalidade de buscar maior heterogeneidade de bactérias possível para dar andamento aos objetivos propostos pelo estudo.

A Figura 15 apresenta de forma resumida o processo de isolamentos das bactérias.

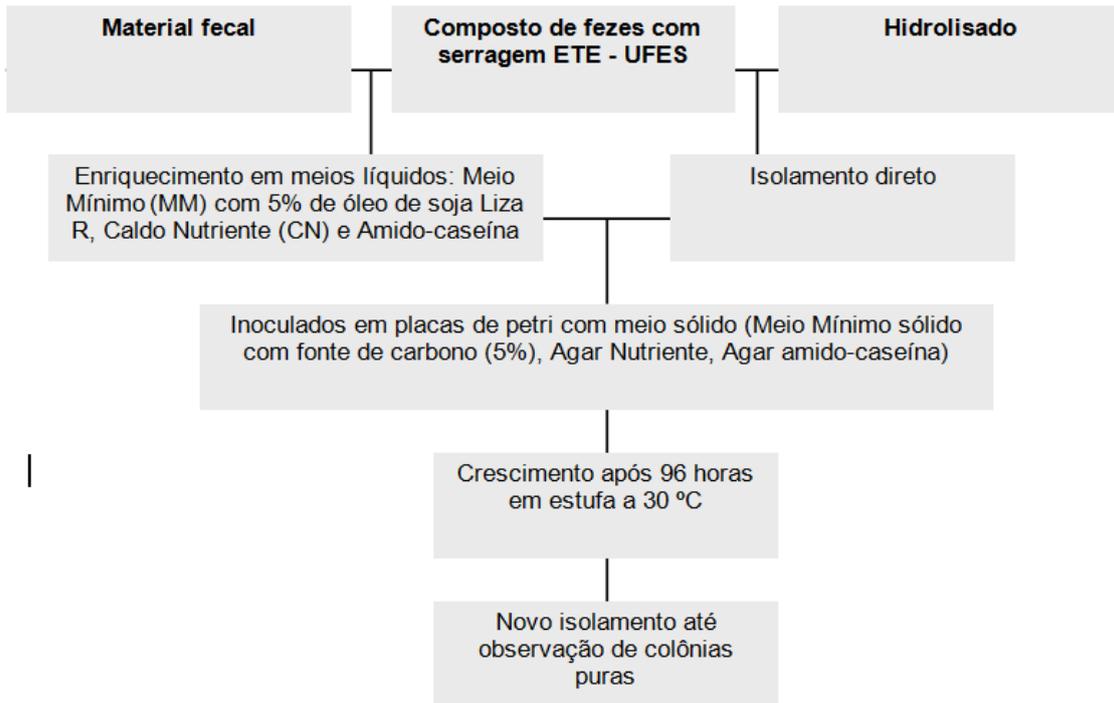


Figura 15 – Fluxograma do isolamento das bactérias.

4.3.3 Caracterização bioquímica dos isolados bacterianos

Os isolados bacterianos foram submetidos ao teste de Gram, vermelho de metila, coagulase, indol e catalase, todos conforme Silva (1999), com a finalidade caracterizar as cepas bacterianas e permitir sua diferenciação. Além desses, também foram feitos os testes de hidrólise de amido e hidrólise de gelatina, segundo Mota (1977), e ainda o teste de Rodamina B (HABA et al., 2000). Os três últimos mencionados tiveram a função de auxiliar na seleção das bactérias que seriam inoculados no ensaio de respirometria aeróbia.

4.3.3.1 Método de Gram.

Para cada cepa foi feito um esfregaço homogêneo em uma lâmina, o qual, depois de seco, foi fixado na chama do bico de Bunsen. O esfregaço foi corado por cerca de 1 minuto com solução de cristal violeta (Laborclin, Brasil) e em seguida lavado com água corrente. Cobriu-se o esfregaço com solução de lugol (Laborclin, Brasil) por

cerca de 1 minuto e depois lavou-se com água corrente. O esfregaço foi descorado com solução de etanol + acetona 50% v/v (Laborclin, Brasil) e novamente lavado com água corrente. Por último, foi feita a coração com safranina (Laborclin, Brasil) por 1 minuto e lavagem final com água corrente. Após a secagem, observaram-se as lâminas em objetiva de 40 no Microscópio Meiji (ML7100, Japão). As bactérias que fixam o composto iodo-pararosanilina formado pela violeta de genciana (cristal violeta) e o lugol são denominadas gram-positivas. As bactérias que não fixam o composto e deixam-se descorar pela solução descorante, apresentando-se posteriormente coradas por safranina, recebem o nome de gram-negativas.

4.3.3.2 Teste de Vermelho de Metila (V.M.)

Para esse teste foram dissolvidos 7,0g de Peptona (Oxoid, Brasil), 5,0g de Dextrose (Reagen, Brasil) e 5,0g de Hidrogenofosfato dipotássico (K_2HPO_4 – Quimex, Brasil) em 1L de água destilada até completa dissolução. Distribuiu-se cerca de 8mL da solução por tubos de ensaio que em seguida foram autoclavados (15min/121°C). O cultivo puro foi semeado por meio de alça de inoculação e incubado por 48h-120h a 37°C. O indicador de pH vermelho de metila foi preparado pela dissolução de 0,1g de vermelho de metila (Reagen, Brasil) em 300 mL de álcool etílico 95% (QM, Brasil) e 200 mL de água destilada. Ao final, 5 gotas da solução de vermelho de metila foram adicionadas aos tubos contendo o crescimento bacteriano de, no mínimo, 48 horas. A cor resultante foi interpretada imediatamente: teste positivo para formação de cor vermelha na superfície do meio ($pH \leq 4,4$) e teste negativo para coloração amarela no meio de cultura ($pH \geq 6,0$). Este método é útil para testar a habilidade de um microorganismo em produzir ácidos detectáveis a partir da fermentação da glicose, sendo importante na distinção entre bactérias, pois determina a diferença que ocorre na metabolização da glicose entre os microrganismos.

4.3.3.3 Teste de Coagulase conjugada (teste em lâmina)

A lâmina de vidro foi dividida ao meio com lápis dermatográfico. Em uma parte colocou-se 1 gota de água destilada e na outra, 1 gota de plasma de coelho. Em cada uma delas, fez-se uma suspensão da amostra da cepa bacteriana. A leitura do teste é imediata e a observação de grumos apenas na metade onde se colocou o plasma indicou a prova positiva, pois em um resultado negativo a suspensão bacteriana permaneceria homogênea em ambas as metades.

4.3.3.4 Teste de indol

Este teste serve para determinar a habilidade de um microorganismo em formar indol (um metabólito orgânico heterocíclico) a partir do aminoácido triptofano. Foram dissolvidos 2,0g de Peptona (Oxoid, Brasil), 0,5g de NaCl (Synth, Brasil) e 1,0g de L-Triptofano (Merck, Alemanha) em 100mL de água destilada até a completa dissolução e distribuídos cerca de 4mL da solução por tubo de ensaio. Esses tubos foram posteriormente autoclavados (15min/121°C). O cultivo puro foi semeado por meio de alça de inoculação e incubado por 24h a 37°C. Adicionou-se, então, cerca de 6 gotas do reativo de Kovac's (Newprov, Brasil) diretamente ao caldo com bactéria em estudo, com pelo menos 24h de incubação prévia a 37°C. Após a adição do reativo, o teste foi interpretado como positivo quando houve a formação de um anel vermelho intenso na camada superior do caldo, e como negativo quando houve a formação de um anel amarelo na camada superior do caldo. Pode ocorrer um resultado intermediário de coloração alaranjada na superfície do caldo devido à produção de escatol, um composto metilado que pode ser um precursor da formação de indol.

4.3.3.5 Teste de catalase

Uma gota de peróxido de hidrogênio a 10%(v/v) (Cromoline, Brasil) foi depositada numa lâmina de microscópio; uma amostra (uma colônia colhida com uma alça de inoculação) foi então esfregada nessa gota. O aparecimento de bolhas caracteriza o

organismo como catalase-positivo, caso contrário, é catalase-negativo. As bolhas são formadas pelo oxigênio molecular libertado na reação da catalase.

4.3.3.6 Hidrólise de Amido

As bactérias anteriormente isoladas foram inoculadas em placas de Petri com meio amido especial sólido. A quebra do amido é detectada utilizando-se culturas em ágar amido as quais são cobertas com uma solução de iodo (3 a 4 mL por placa). O iodo reage com o amido para formar um complexo azul escuro. As colônias capazes hidrolisar o amido apresentaram uma zona clara a seu redor. A habilidade para hidrolisar esse polímero depende da produção e secreção de várias amilases.

4.3.3.7 Hidrólise de Gelatina

As bactérias isoladas foram inoculadas por picada num meio de cultura nutritivo, em tubo, suplementado com 12% de gelatina. Após incubação a 37° C durante 24 a 48 horas, as culturas foram colocadas na geladeira a 4° C durante 30 minutos. Quando a gelatina era hidrolisada pela gelatinase, o meio se mantinha líquido após refrigeração (reação positiva). Nos tubos em que o microrganismo não possuía gelatinase, o meio resolidificava durante o período na geladeira (reação negativa)

4.3.3.8 Teste da Rodamina B

As bactérias isoladas anteriormente foram inoculadas em placas de Petri com meio mínimo sólido, emulsão óleo e Tween 80 (Vetec, Brasil) e indicador Rodamina B (C.I. 45170 – Synth, Brasil) a 10mg/mL a 30°C por 24 a 48 horas. O método de Rodamina B evidencia bactérias lipolíticas através da presença da enzima extracelular lipase (HABA et al., 2000). Após esse período, as colônias de bactérias foram submetidas à luz U.V. (Spectroline model EA – 160, EUA) de 350 nm. As que apresentaram um halo de coloração laranja-fluorescente formado ao redor das

colônias foram identificadas como bactérias lipolíticas, evidenciando a produção de lipase extracelular que degrada lipídeo.

4.3.4 Avaliação da biodegradação aeróbia através de respirometria aeróbia

À realização do ensaio de respirometria aeróbia precedeu uma série de procedimentos com o intuito de realizar a estruturação dos experimentos. Segue relato detalhado de como se deu a preparação de todos os elementos utilizados nos ensaios.

4.3.4.1 Preparo do substrato

Foi preparado substrato composto de uma mistura de areia e vermiculita, com intuito de manter o ambiente aerado. Foi adotada a proporção 1:1 em volume, 50 mL cada. A areia foi passada pela peneira de malha 2 mm (ABNT), lavada por uma solução de HCl 0,1M e posteriormente lavada repetidas vezes com água corrente. Após a lavagem foi feita a secagem na estufa (100°C, por 48 horas) e a esterilização na autoclave (60min/121°C). A vermiculita foi lavada em água corrente, levada à estufa (100°C, por 48 horas) e depois à autoclave (60min/121°C) para o processo de esterilização. Foi utilizado Meio Mínimo Líquido (MML) para ajustar o substrato a 50% da capacidade de campo. A lavagem teve o objetivo de manter o substrato estéril evitando interferências de microrganismos indesejados.

4.3.4.2 Preparo do Material fecal bruto

As fezes foram armazenadas em freezer a - 4°C até o momento de uso. Foi feita a esterilização fecal através de pasteurização. As fezes eram retiradas do freezer e colocadas em banho-maria a 70 °C por 30 min, depois eram submetidas a resfriamento a 0°C durante 20 min.

Após o resfriamento elas eram armazenadas à temperatura ambiente em pote esterilizado e hermético para ser novamente esterilizado no dia seguinte. O procedimento foi repetido durante quatro dias seguidos.

Essa metodologia foi escolhida após uma série de tentativas de esterilizações do material fecal adquirido, buscando a menor interferência possível de microrganismos que não fossem as bactérias isoladas no ensaio de respirometria aeróbia.

4.3.4.3 Preparo dos Tratamentos

Foram elaborados quatro tipos de Tratamentos, usando Material fecal bruto, esterilizado, Serragem e Papel higiênico neutro (Carrefour®). Esses materiais foram combinados, conforme diagrama apresentado na Figura 16, compondo o Tratamento 1 (T1), o Tratamento 2 (T2), o Tratamento 3 (T3) e o Tratamento 4 (T4). Posteriormente, foram adicionadas as bactérias em cada um dos tratamentos. Além disso, para efeito comparativo, foram mantidas unidades experimentais sem bactérias, chamadas de Controle (C).

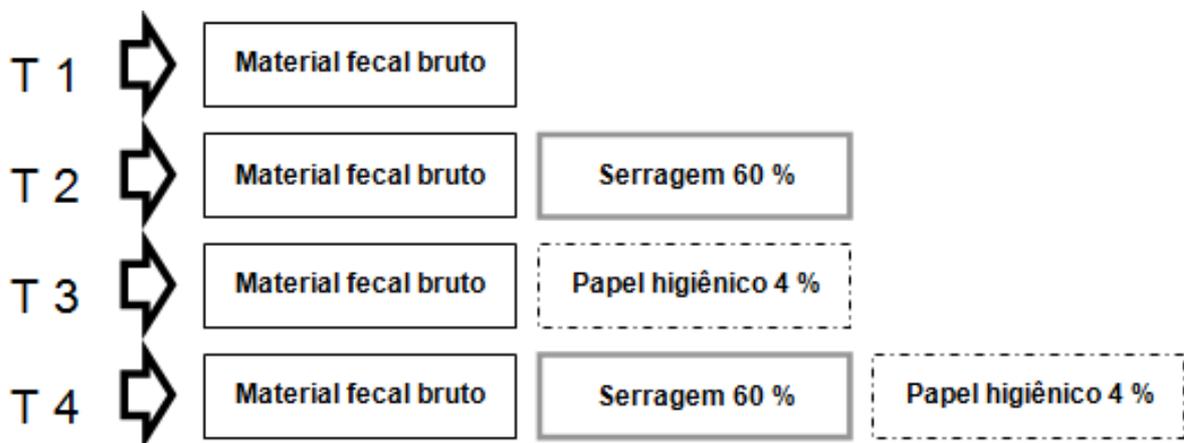


Figura 16 - Diagrama representativo dos Tratamentos adotados no ensaio de respirometria aeróbia.

Os Tratamentos receberam as cepas de bactérias que obtiveram resultado positivo para o teste de Hidrólise de Amido, Hidrólise de Gelatina e teste da Rodamina B, simultaneamente. Para todos foram feitas três repetições.

A composição da Serragem e Papel higiênico é apresentada na Tabela 9. A

Tabela 10 traz a relação C:N:P da cada Tratamento.

Tabela 9 – Caracterização físico-química da serragem e do papel higiênico

	<i>PARÂMETROS (g/L)</i>						
	<i>Nitrogênio Total</i>	<i>Fósforo Total</i>	<i>Carbono Orgânico</i>	<i>Óleos & Graxas</i>	<i>Sólidos Totais</i>	<i>Sólidos Voláteis</i>	<i>Umidade</i>
Serragem	-	-	210,5	0,008	0,916	0,163	0,083
Papel Higiênico	-	-	310,2	0,0003	0,933	0,028	0,066

Tabela 10 – Relação C:N:P nos Tratamentos propostos

Tratamentos	Composição	Quantidade (g)			C:N:P
		C	N_{Total}	P_{Total}	
					32,5 : 2,5 : 1
T 1	Material fecal bruto (10 g)	1,3	0,1	0,04	90:02:01
T 2	Material fecal bruto (4 g) + serragem 60% (6 g)	1,8	0,04	0,02	02:25,2
T 3	Material fecal bruto (9,6 g) + papel higiênico 4% (0,4 g)	1,4	0,09	0,04	90:02:01
T 4	Material fecal bruto (4 g) + serragem (5,8 g) + papel higiênico (0,2 g)	1,8	0,04	0,02	32,5 : 2,5 : 1

4.3.4.4 Preparo das cepas bacterianas

Para seleccionar as cepas bacterianas utilizadas no ensaio de respirometria aeróbia, foram usados os resultados dos testes de Hidrólise de Amido, Hidrólise de Gelatina e Rodamina B, descritos no item 4.3.3.6, 4.3.3.7 e 4.3.3.8..

As cepas selecionadas foram inoculadas em 50 mL de caldo amido-caseína ou de caldo nutriente de acordo com as características obtidas no item 4.3.2. O enriquecimento foi realizado no agitador de mesa a 120 rpm durante 120 horas e mantido à temperatura de 28°C. Após o período de incubação, uma alíquota de 15 mL foi transferida para tubos tipo Falcon de 50 mL estéreis e centrifugada. Cada 1 mL do precipitado obtido foi usado na inoculação dos Tratamentos T 1, T 2, T 3 e T 4.

4.3.4.5 Estruturação do processo de biodegradação aeróbia

A estruturação do sistema de respirometria aeróbia se deu conforme o seguinte procedimento: às amostras de 100 mL da mistura areia-vermiculita foram adicionados 50% de sua capacidade de campo de Meio Mínimo (MM) líquido, 1 mL com as cepas centrifugadas e 10g de material, de acordo com o Tratamento, foram incubadas em potes plásticos herméticos de 900 mL e colocadas ao abrigo da luz (sistema *dark*) por um período de 35 dias. Para cada Tratamento foram preparados controles contendo apenas o material do Tratamento (serragem/papel higiênico) mais areia e vermiculita, sem inóculo bacteriano.

Haviam outros recipientes no ensaio: branco (potes de 900 mL contendo somente os potes de 50 mL com NaOH), necessário para verificar se os potes utilizados eram realmente herméticos; potes de 900 mL com areia e vermiculita, para avaliar se havia produção de CO₂ no substrato; e potes de 50 mL com NaOH, para servir de comparação com o branco, conforme pode ser visualizado na Figura 17.



Figura 17 – Unidades experimentais: potes com NaOH, branco e areia + vermiculita.

Todo o experimento foi montado com três repetições de cada unidade experimental, totalizando por 54 unidades experimentais e três frasco de 50 mL com NaOH. A escolha do número de repetições teve como base o fato de que a quantidade final de potes precisava ser suficientemente representativa para a conclusão de resultados e possibilitar a realização de leituras. Uma grande quantidade de repetições poderia tornar o experimento inviável e de difícil realização.

O fluxograma do delineamento experimental pode ser visualizado na Figura 18.

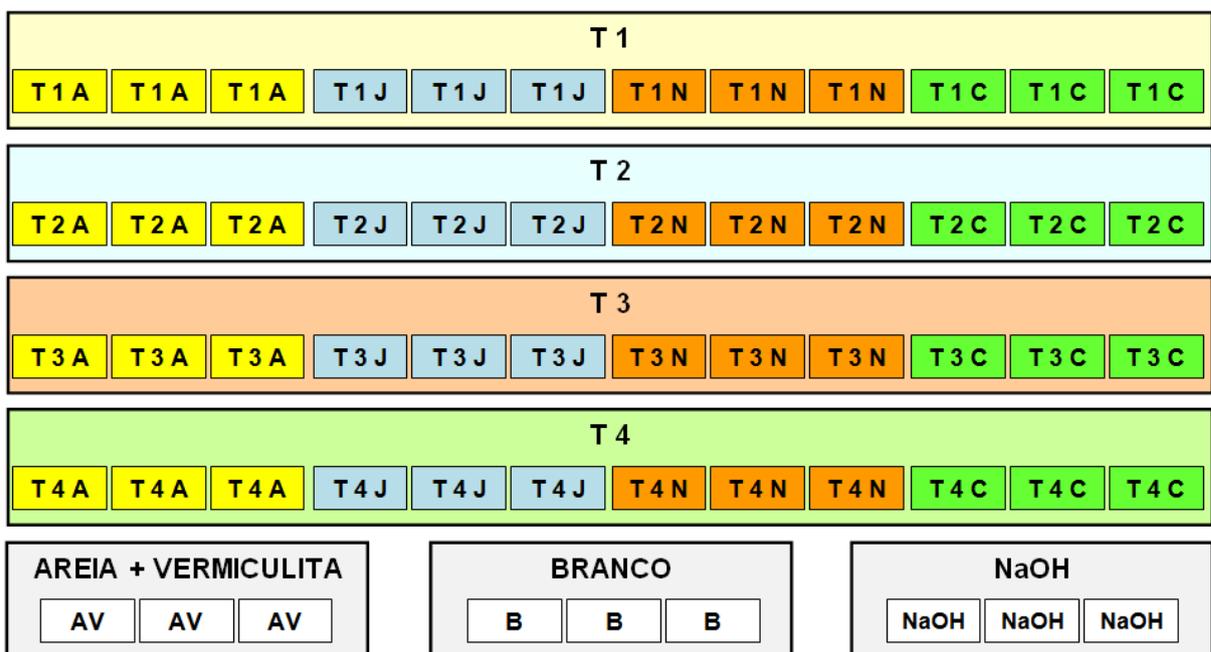


Figura 18 – Esquema representativo do sistema de respirometria aeróbia

4.3.4.6 Quantificação do CO₂ produzido

A quantificação do CO₂ produzido no processo de biodegradação da matéria orgânica foi adaptada de acordo com o método proposto pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB, 1990). A norma propõe a captura do CO₂ produzido pela respiração bacteriana utilizando uma solução padronizada de hidróxido de sódio (NaOH) e a posterior quantificação pelo método titulométrico. Entretanto, nos ensaios realizados neste estudo, foi feita a quantificação do CO₂ por meio de leitura de condutividade elétrica (RODELLA E SABOYA, 1999). Para cada

unidade experimental, foi utilizado um pequeno frasco de polietileno de 50 mL contendo 20 mL de solução padronizada de Hidróxido de sódio (NaOH) entre 0,5 e 1,0 mol/L para a absorção do CO₂ no interior do pote. A solução de NaOH contida no interior dos frascos de plástico era trocada periodicamente por uma nova solução de NaOH para a captura de CO₂ durante um período pré-estabelecido (35 dias).

Durante os 35 dias de incubação, a captura de CO₂ na solução de NaOH e a posterior quantificação foram realizadas diariamente nos primeiros três dias, tendo essa frequência diminuído no período restante. A

Tabela 11 apresenta um resumo dessas medições.

Tabela 11 – Resumo das medições realizadas durante o experimento

Quantidade de medições	Dia do experimento	Data	Concentração de NaOH (mol/L)
1	1º	22/fev	1,0
2	2º	23/fev	1,0
3	3º	24/fev	1,0
4	5º	26/fev	1,0
5	7º	28/fev	1,0
6	9º	02/mar	1,0
7	12º	05/mar	1,0
8	15º	08/mar	1,0
9	17º	10/mar	0,5
10	19º	12/mar	0,5
11	22º	15/mar	0,5
12	25º	18/mar	0,5
13	30º	23/mar	0,5
14	35º	28/mar	0,5

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram calculadas as estatísticas descritivas (média, desvio-padrão e coeficiente de variação) e elaborados gráficos de média para as variáveis estudadas. Foi realizada uma análise de variância (ANOVA), denominada teste F ($\alpha=0,05$), dos dados para estudar as variações e significâncias da produção de CO₂ entre os tratamentos; em seguida, foi feito o teste Tukey (5%), para a comparação entre as medias dos

tratamentos. Os dados de respirometria foram analisados durante os 35 dias, uma vez que os experimentos são cumulativos. Esses experimentos são inteiramente ao acaso: trata-se de Ensaios Randômicos, nos quais os tratamentos foram designados às unidades experimentais por puro e simples sorteio. A única exigência, para que seja possível adotar este tipo de delineamento, é a similaridade das unidades experimentais em relação à variável que se deseja estudar.

5. ANÁLISE DE RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo traz a análise dos resultados referentes a caracterização do material fecal, isolamento de bactérias, caracterização bioquímica dos isolados e avaliação da biodegradabilidade do material fecal através de respirometria aeróbia.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL FECAL

O caracterização do material fecal foi realizada através dos parâmetros descritos no item 4.3.1. Os valores médios obtidos são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12– Caracterização físico-química do material fecal bruto

<i>PARÂMETROS</i>							
Material Fecal Bruto	Nitrogênio Total	Fósforo Total	Carbono Orgânico	Óleos & Graxas	Sólidos Totais	Sólidos Voláteis	Umidade
g/L	9,8	4,3	134	0,004	239	25	761
g/ppd*	1,5	0,7	20,1	0,001	35,9	3,8	114,1

* foram consideradas 150 g de fezes por pessoa por dia

O material fecal apresentou elevada concentração de Carbono Orgânico (134,0 g/L). Esse parâmetro possui relevância pois essa concentração é uma das principais

responsáveis pela poluição das águas, devido aos processos metabólicos microbianos que requerem grande consumo de oxigênio (VON SPERLING, 2005).

Os sólidos voláteis também auxiliam na estimativa indireta da matéria orgânica, o que torna relevante a avaliação de sua concentração. Nesse caso, o valor obtido foi de 25 g/L, inferior à concentração do Carbono orgânico. Isso é previsível pois um parâmetro trata de uma representação direta da matéria orgânica e o outro não.

Os valores encontrados para Nitrogênio total e Fósforo total são de grande importância por se tratarem de nutrientes essenciais para a sobrevivência dos microrganismos responsáveis pela estabilização da matéria orgânica (VON SPERLING, 2005). Neste estudo, os microrganismos utilizados para estabilização foram bactérias previamente isoladas.

As taxas de 1,5 g/ppd para N_{total} e 0,7 g/ppd para P_{total} são importantes – além da nutrição das bactérias – para a reciclagem de nutrientes, considerando que essas taxas, ao serem multiplicadas pelo número de habitantes de uma cidade num período de um ano, podem significar uma economia em gastos com produção de alimentos.

Chaggu (2004) cita como exemplo a Tanzânia – país que possui 36 milhões de habitantes –, onde cada indivíduo produz aproximadamente 25-50 kg de fezes úmida por ano, com até 0,55 kg de N e 0,18 kg de P. Lá, o consumo de fertilizante vem aumentando com passar dos anos. Em 1972 foram 53.883 toneladas; em 1991 os valores alcançaram 142.676 toneladas e em 1994, 200.000 toneladas. Desse total, 25% foram N, P, K. Essas condições mostram que a reutilização adequada de nutrientes das fezes poderia melhorar muito a produção de alimentos no país.

Os valores obtidos para Óleos & Graxas não foram significativos quando comparados aos demais parâmetros e estão abaixo da literatura, que estima valores entre 3,75 e 7,5 g/ppd. Segundo Aires (2008), cerca de 10 a 20% da fração sólida das fezes é composta de gorduras. A variação desse parâmetro pode estar associada a hábitos alimentares, e ainda ao tempo transcorrido desde a coleta. Além disso, o transporte pode ter causado interferência nos resultados encontrados.

A umidade verificada está de acordo com o encontrado em literatura, uma vez que é conhecido o fato de 75 % das fezes serem água, que é absorvida pelo intestino durante o processo de digestão (AIRES, 2008).

A Tabela 13 apresenta os valores médios (taxas em g/ppd) dessa pesquisa e os valores obtidos por outros autores. É possível observar que eles são próximos.

Tabela 13 – Caracterização físico-química do material fecal em comparação com outros estudos.

Autores	Nitrogênio Total	Fósforo Total	Carbono Orgânico	Óleos e Graxas	Sólidos Totais	Sólidos Voláteis	Umidade
g/ppd							
Tonani (2010)	1,472	0,65	20,1	0,001	35,857	3,771	114,143
Chaggu (2004)	5-7	0,69-2,5	44-55	-	30-70	-	-
Jonsson et al., 2004	1,51	0,5	-	-	11	-	-
Esrey et al (2001)	1,5	0,5	21,4	-	35	-	-
Huhtanen e Laukkanen (2006)	0,25	0,52	-	-	-	-	-
Salas, 2005	2	0,6	-	-	-	-	-

Nos estudos apresentados na Tabela 13, verifica-se que a maioria dos autores analisou Nitrogênio total, Fósforo total e Carbono Orgânico nos resíduos fecais. Esse interesse se deve, provavelmente, à importância desses nutrientes na degradação da matéria orgânica e nutrição de microrganismos.

Os valores de Nitrogênio Orgânico foram semelhantes ao estudo de Jonsson et al. (2004), Esrey et al. (2001), Salas (2005) e Chandra (2007). Para o parâmetro Fósforo Total, todos os valores obtidos pelos demais autores se assemelham ao obtido durante essa pesquisa.

O carbono orgânico obteve resultado similar aos estudos de Esrey et al. (2001) e Chandra (2007). E a para Sólidos Totais, Chaggu (2004) e Esrey et al. (2001) possuem valores próximos ao obtido nos ensaios deste estudo.

Os parâmetros Óleos e Graxas, Sólidos Voláteis e Umidade não foram analisados pelos autores citados, por isso não foi possível realizar estudos comparativos.

Dos autores apresentados, Esrey et al. (2001) possui todos os valores aproximados ao que foi obtido durante esta pesquisa. Isso pode indicar que as amostras fecais deste estudo possuem características similares; logo, é provável que os hábitos das populações, como alimentação e estilo de vida, sejam parecidos.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS ISOLADOS

O isolamento de bactérias procedeu conforme descrito no item 4.3.2, obtendo-se 12 cepas bacterianas com características apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14 – Características bioquímicas das bactérias isoladas

<i>Cepas</i>	<i>Forma</i>	<i>Teste Gram</i>	<i>Teste Indol</i>	<i>Teste VM</i>	<i>Catalase</i>	<i>Coagulase</i>	<i>Teste Rodamina</i>	<i>Teste Hidrólise de Amido</i>	<i>Teste Hidrólise de Gelatina</i>
A2A	Cocos	-	+	-	+	+	+	+	+
A5	Cocos	-	-	-	+	+	+	+	-
AD1	Cocos	-	-	+	+	+	+	-	-
J3C	Cocos	-	-	+	+	+	+	+	+
LA1	Bacilos	-	-	+	+	+	-	-	-
LA2	Bacilos	+	-	-	+	+	-	-	+
LA3	Bacilos	+	-	-	+	+	-	-	+
MN3	Cocos	-	+	-	+	+	+	-	+
MN4	Cocos	-	+	+	+	+	+	+	-
MN5	Cocos	-	+	+	+	+	+	+	-
N1	Cocos	-	-	+	-	+	+	+	+
N2	Cocos	-	-	+	+	+	-	+	+

As bactérias receberam denominações aleatórias, visando apenas a sua diferenciação para descrição. A maioria são gram negativas e, de acordo com Silva (1999), grande parte das bactérias encontradas no intestino delgado são gram negativas, o que confirma a origem fecal que todas essas cepas isoladas possuem.

A Tabela 15 apresenta as cepas isoladas, sua origem e seu meio de enriquecimento/cultivo, com o objetivo de identificar semelhanças entre os grupos. Vale ressaltar que todos os ambientes de onde se buscaram os isolados eram material fecal ou continham fezes em sua composição, sendo este último o caso das bactérias isoladas do composto de fezes com serragem da composteira localizada na ETE-UFES.

Tabela 15 – Origem das cepas isoladas

Cepas	Origem	Meio de cultivo
A2A	Material fecal bruto	Amido
A5	Material fecal bruto	Amido
AD1	Composto ETE	Amido
J3C	Composto ETE	Amido
LA1	Hidrolisado	Amido
LA2	Hidrolisado	Amido
MN3	Composto ETE	Meio mínimo com óleo de soja
MN4	Composto ETE	Meio mínimo com óleo de soja
MN5	Composto ETE	Meio mínimo com óleo de soja
N1	Composto ETE	Nutriente/caldo de carne
N2	Composto ETE	Nutriente/caldo de carne

As bactérias isoladas, após passarem por testes bioquímicos que permitiram sua caracterização, foram submetidas aos testes de Rodamina b, Hidrólise de amido e de gelatina, para selecionar as bactérias capazes de usar esses três tipos de substratos como alimento.

As cepas A2A e A5 foram enriquecidas em meio à base de amido, e obtiveram resultado positivo no teste de Hidrólise de amido, confirmando a capacidade de degradar o amido.

MN3, MN4 e MN5 foram isoladas e, posteriormente, enriquecidos em meio mínimo com óleo de soja. Quando submetidos ao teste de Rodamina B, os resultados foram positivos, o que também confirma o esperado.

N1 e N2 tiveram seu enriquecimento em meio nutriente, rico em proteína. Como era previsto, ambos tiveram resultados positivos no teste de Hidrólise de gelatina. O J3C foi enriquecido em meio amido-caseína e, após a realização dos testes, foi constatada a capacidade de degradar lipídeos, amido e gelatina.

As bactérias LA1, LA2 e LA3 foram isoladas do hidrolisado formado a partir da decomposição do material fecal em recipiente não hermético. Presumiu-se, então, que possuíam a capacidade de hidrolisar proteínas ou lipídeos.

Após a realização do teste de Hidrólise de gelatina, o LA1 mostrou-se sem atividade hidrolítica. No entanto, por considerar que a gelatina é formada por um tipo de proteína específico, não seria correto afirmar que LA1 não possui capacidade hidrolítica – seria necessária a realização de testes com outras proteínas para que isso fosse verificado.

A bactéria AD1 foi isolada e enriquecida em meio amido, mas não obteve resultado positivo no teste Hidrólise de amido. Contudo, como no caso do LA1, seria necessário realizar novos testes, e, assim, certificar-se acerca da capacidade de hidrólise ou não de amido.

As bactérias denominadas A2A, J3C e N1 obtiveram resultados positivos nos três testes (Hidrólise de amido, Hidrólise de gelatina e Rodamina b); foram, por isso, selecionadas para serem inoculadas nos Tratamentos T 1, T 2, T 3 e T 4, na etapa de respirometria aeróbia.

5.3 ENSAIO DE RESPIROMETRIA AERÓBIA

Os Tratamentos T 1, T 2, T 3 e T 4 foram inoculados com as bactérias A2A, J3C e N1. Para facilitar a exposição dos resultados, nessa etapa elas serão abreviadas, recebendo as denominações A, J e N .

Durante os 35 dias do ensaio de respirometria aeróbia foram feitas observações quanto aos aspectos visuais do experimento para verificar interferências externas causadas por microrganismos presentes no ambiente. Nos primeiros 5 dias, os Tratamentos tinham odor semelhante: pouco intenso e ligeiramente semelhante a comida estragada. A partir do 5º dia, os Tratamentos T 1 e T 3 passaram a ter um odor parecido com mofo, enquanto os Tratamentos T 2 e T 4 se caracterizavam por odor intenso semelhante a amônia. Após o quinto dia, também começaram a aparecer fungos, que até então não haviam sido observados.

O aparecimento de fungos pode ter sido causado por uma modificação nas condições climáticas após o terceiro dia, quando se iniciou um período chuvoso e, portanto, mais úmido. A umidade no ambiente provoca o crescimento de fungos, os quais, por sua vez, podem influenciar nos resultados do ensaio de respirometria aeróbia.

A Figura 19 mostra as unidades experimentais onde a ocorrência de fungos foi visível. O número de unidades experimentais para o mesmo Tratamento, em alguns casos, deve-se ao fato de que cada um teve três repetições para garantir a confiabilidade do ensaio.

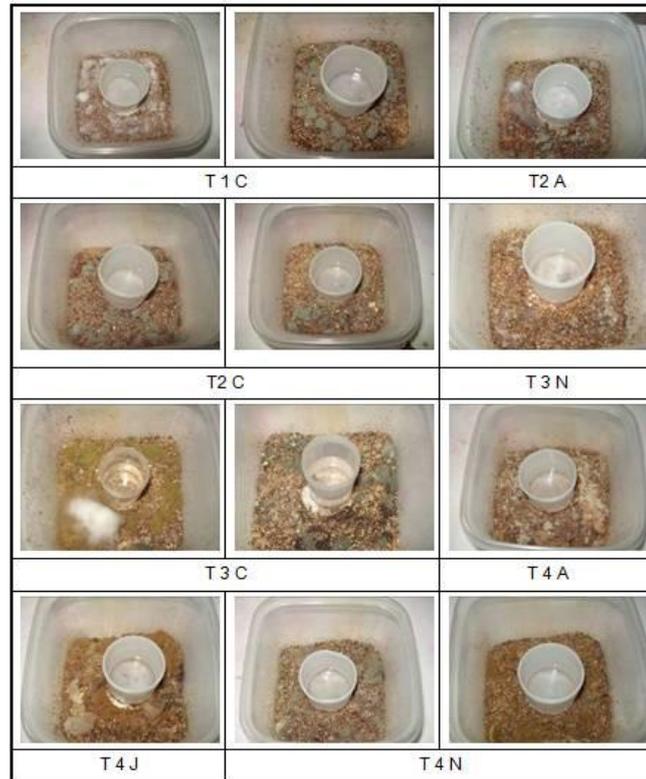


Figura 19 – Unidades experimentais com ocorrência de fungos visíveis

Além das observações foram realizadas medições na quantidade de CO_2 em mg/L das unidades experimentais de todos os Tratamentos e dos potes com NaOH, branco e areia com vermiculita.

A ocorrência de fungos pode ter contribuído para aumentar a heterogeneidade no ensaio, pois cada Tratamento possuía três repetições, e essas repetições formavam unidades experimentais distintas. Após cada leitura, era realizado o cálculo da média entre os valores de CO_2 em mg acumulados por Tratamento com e sem inoculo; assim, as variações ocorridas dentro de cada unidade experimental acabavam sendo reduzidas. Mesmo assim, em alguns casos foi possível constatar grande margem de erro, como pode ser visualizado na Figura 20 .

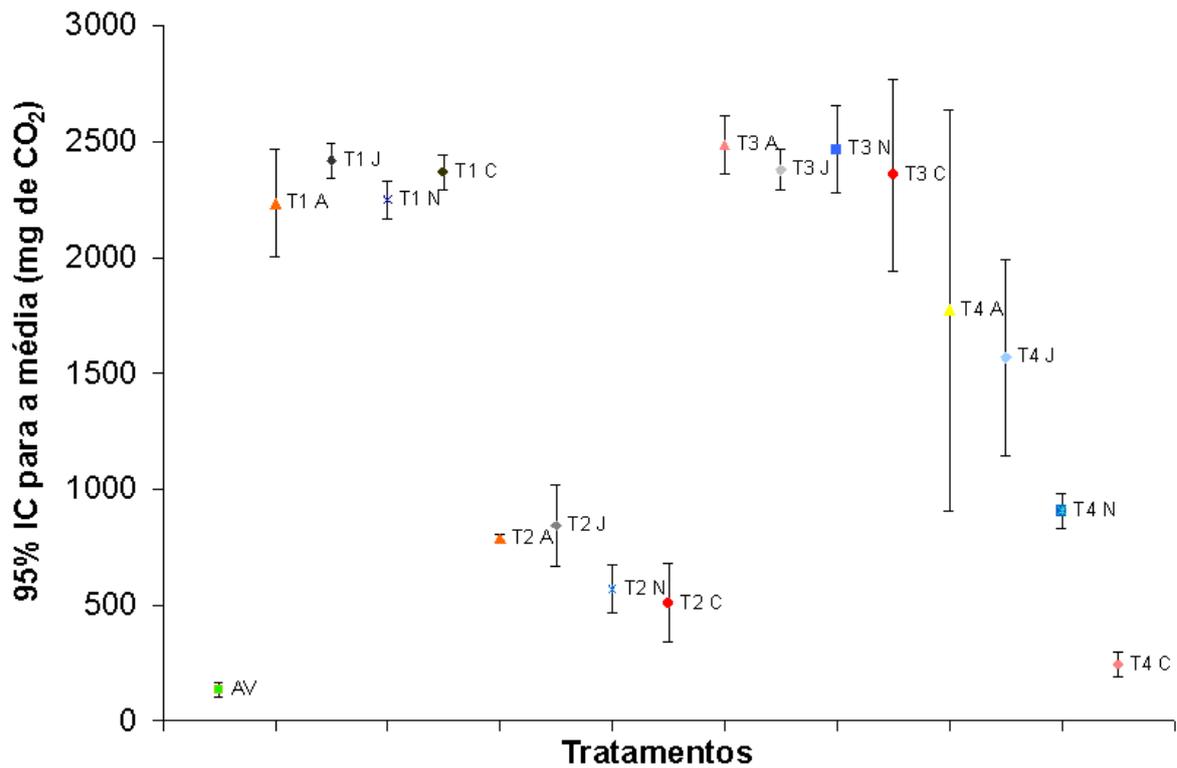


Figura 20 – Quantidade de CO₂ (mg) produzida no final dos 35 dias de incubação considerando as variações obtidas com uso da estatística descritiva. Foram feitas 3 repetições por tratamento.

Os Tratamentos com maior margem de erros foram T 4 A, T 4 J e T 3 C.

As produções médias acumuladas de CO₂ em mg, em todas as unidades experimentais, são apresentadas simultaneamente na Figura 21, e percebe-se que alguns Tratamentos possuem quantidades de CO₂ (mg) mais próximas do que outros.

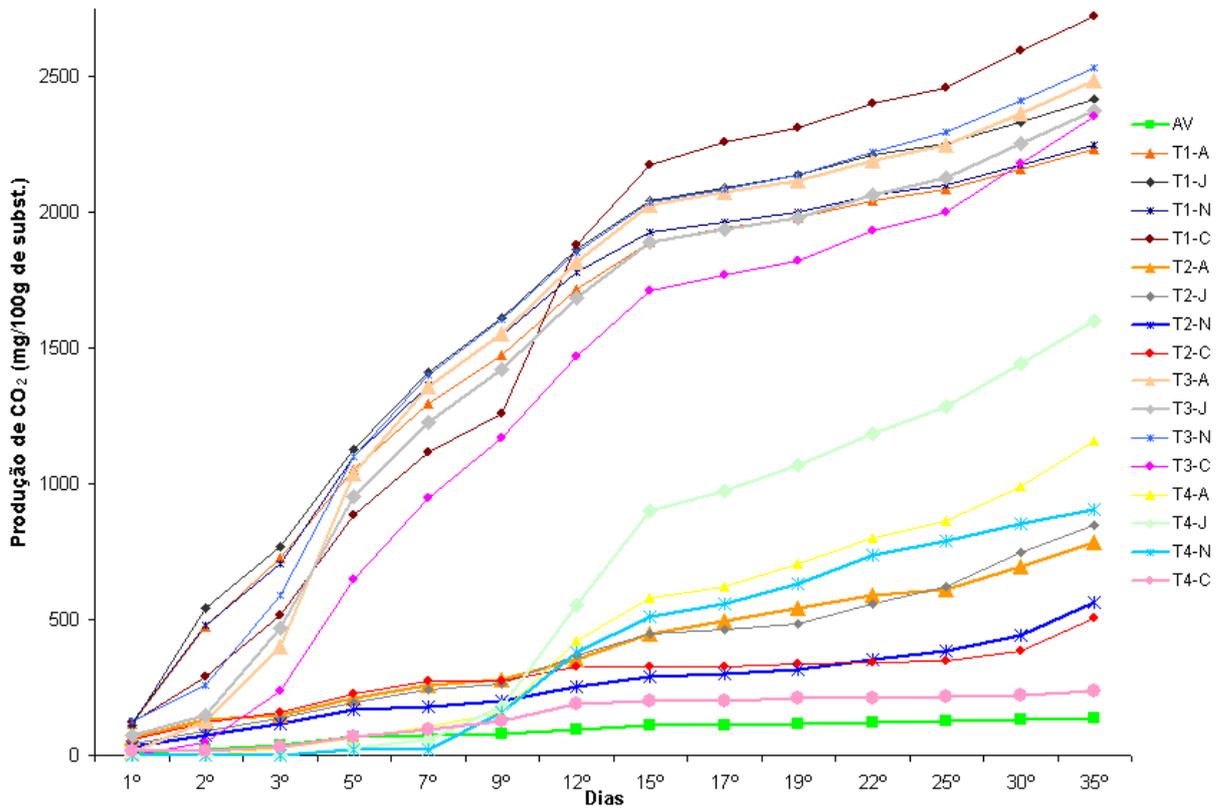


Figura 21 - Produção de CO₂ média em mg acumulada ao longo dos 35 dias. Foram feitas 3 repetições por tratamento.

A Tabela 16 apresenta os valores obtidos durante o período de realização do experimento.

Tabela 16 – Valores de produção de CO₂ (mg) acumulados durante o período do experimento (35 dias)

Valores acumulados de CO ₂ (mg)				
Tratamentos				
Inóculos	T 1	T 2	T 3	T 4
A	2234,6	786,5	2486,3	1157,3
J	2419,1	849,9	2378,5	1569,6
N	2250,6	565,7	2536,2	905,5
C	2725,2	506,2	2355,3	234,1

A observação da Figura 21 e da Tabela 16 destaca que os Tratamentos T 1 C, T 3 N, T 3 A, T 1 J, T 3 J, T 3 C, T 1 N e T 1 A possuem alta produção de CO₂, (entre 2725,2 e 2234,6 mg). O Tratamento T 4 J se localiza mais ao meio do gráfico, com uma produção de 1602,1 mg/L. Já os Tratamentos T 4 A, T 4 N, T 2 J, T 2 A, T 2 N, T 2 C e T 4 C apresentam menor produção – entre 1157,3 e 234,1 mg/L.

Há uma formação aparente de dois grupos: os Tratamentos T 1 e T 3 possuem maior quantidade de CO₂ (mg) acumulado; por outro lado, os Tratamentos T 2 e T 4 possuem menor quantidade de CO₂ (mg) acumulado, independentemente do inóculo utilizado.

Essa semelhança pode ter sido causada pela composição de Tratamentos. Os Tratamentos T 1 e T 3 são formados, respectivamente, por material fecal bruto e material fecal com adição de papel higiênico. A pouca quantidade de papel higiênico (4%), comparada à massa fecal, pode ter deixado o Tratamento T 3 bem semelhante ao Tratamento T1, tornando as condições ambientais de sobrevivência e disponibilidade de nutrientes bem próximas, o que faz com que a atividade microbiana se apresentasse de forma similar nesses dois Tratamentos.

Os Tratamentos T 2 e T 4 eram compostos por material fecal adicionado à serragem e material fecal adicionado à serragem e papel higiênico, respectivamente. A pequena quantidade de papel higiênico adicionada pareceu não causar interferência nos Tratamentos T 2 e T 4, assim como nos Tratamento T 1 e T 3, indicando que a quantidade de papel higiênico é pequena quando comparada à massa fecal, e por isso não interfere na biodegradabilidade das fezes.

Para facilitar a visualização e discussão dos resultados obtidos por Tratamento, seguem os gráficos de produção de mg de CO₂ (Figura 22, Figura 23, Figura 24, Figura 25).

A Figura 22 apresenta o gráfico da produção de CO₂ em mg para o Tratamento T 1 com os inóculos bacterianos, controle e unidade experimental contendo areia com vermiculita.

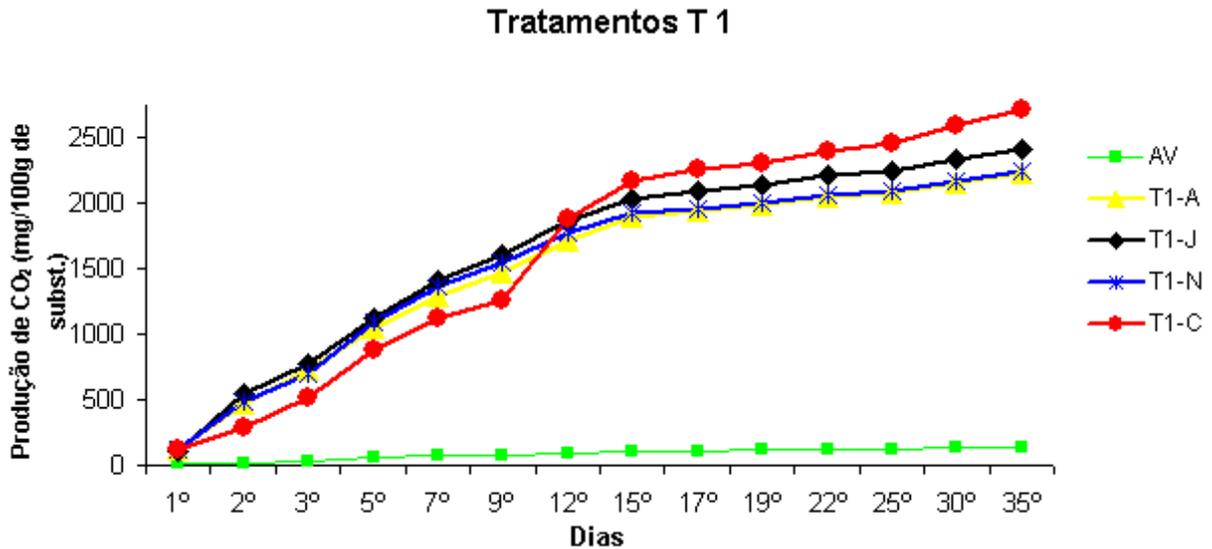


Figura 22 – Produção acumulada de CO₂ em mg no cenário T1

O comportamento dos Tratamentos T 1 para todas as bactérias foi semelhante, incluindo o controle, em que era esperado uma produção menor de CO₂ (mg). A elevada atividade do Tratamento T 1 C pode ser explicada pela presença de fungos a partir do dia 2 de março de 2010, ou seja, a partir do nono dia de experimento.

O experimento foi realizado numa sala fechada com os potes herméticos, sendo que, para a realização da leitura no condutivímetro, os potes eram abertos rapidamente. Esse curto espaço de tempo pode ter sido suficiente para permitir a entrada de esporos, provocando o crescimento de fungos.

Foi observado que pouco antes do nono dia de experimento, no início do mês de março, ocorreu um período de chuvas, e por consequência, houve um aumento da umidade do ambiente. Esse fator pode ter sido relevante para o aparecimento de fungos.

A Figura 23 apresenta os Tratamentos T 2, em que, diferente dos Tratamentos T 1, há uma produção de CO₂ em mg, com menor intensidade.

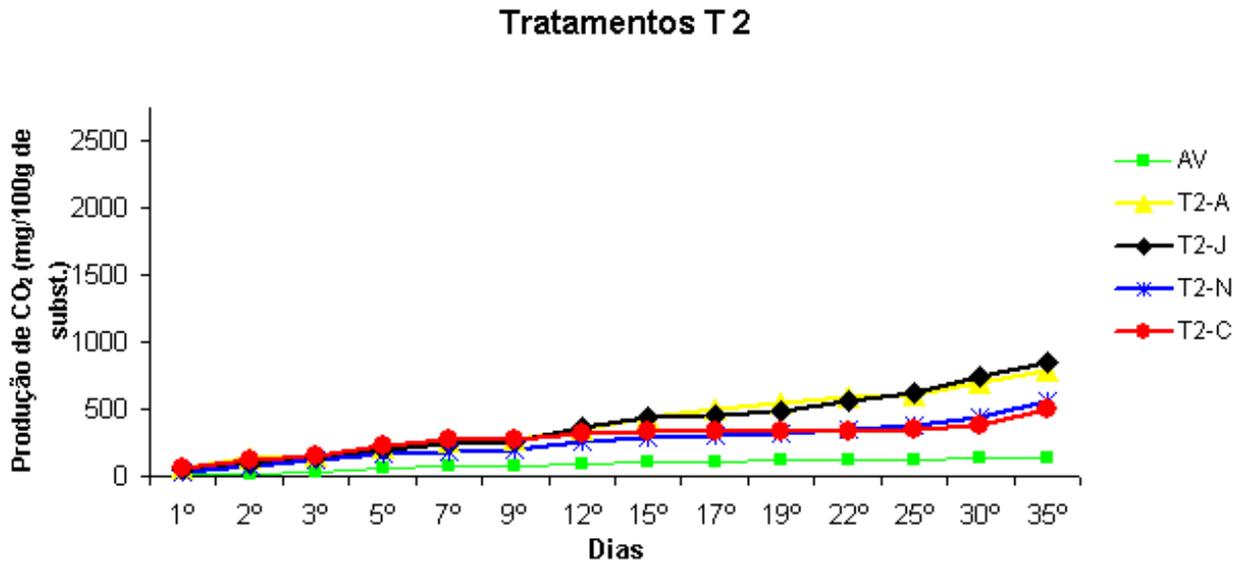


Figura 23 - Produção acumulada de CO₂ em mg no cenário T 2

O T 2 C se manteve abaixo dos demais Tratamentos T 2, sendo que o T 2 J apresentou os maiores valores de CO₂, (849,9 mg), logo seguido de T 2 A, com 786,5 mg de CO₂.

É válido destacar que os Tratamentos T 2 são compostos por material fecal e serragem e, no caso de T 2 J, o inóculo foi isolado a partir de composto de fezes com serragem proveniente da ETE. É provável que esse microrganismo já estivesse adaptado a um ambiente composto por fezes e serragem.

A Figura 24 representa os Tratamentos T 3, compostos de Material fecal e Papel higiênico.

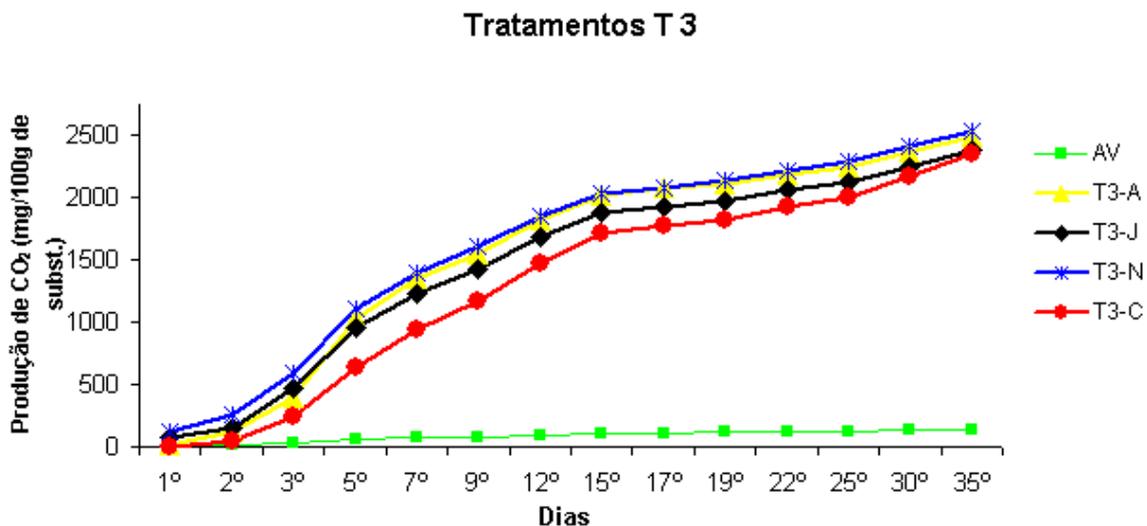


Figura 24 - Produção acumulada de CO₂ em mg no cenário T 3

Na Figura 24, percebe-se novamente a produção elevada de CO₂ em mg, e o T 3 C se mantém abaixo dos demais tratamentos – como era esperado, pois não recebeu nenhum inóculo. O Tratamento com maior produção de CO₂ foi o T 3 N, seguido do T 3 A e T 3 J, com os valores respectivos de 2536,2 mg, 2486,3 mg e 2378,5 mg, bem próximos aos valores obtidos pelos Tratamentos T 1.

A Figura 25 traz o gráfico dos Tratamentos T 4, com uma curva diferente das obtidas para os Tratamentos T 1, T 2 e T 3, apresentados anteriormente, e com valores de CO₂ (acumulado) em mg próximos aos valores obtidos na Figura 23.

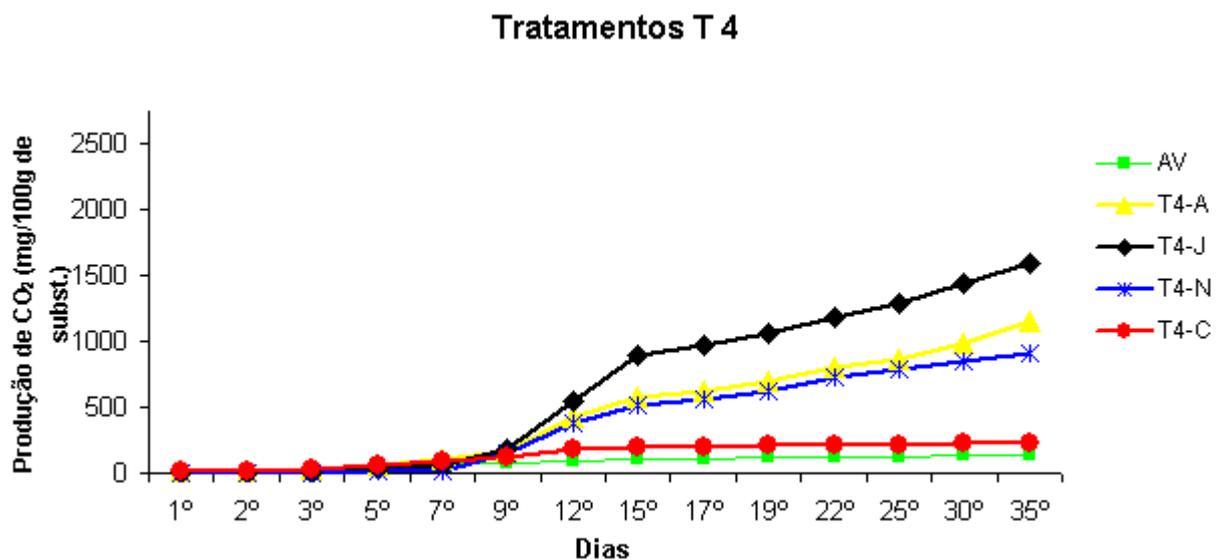


Figura 25 - Produção acumulada de CO₂ em mg no cenário T4

Na Figura 25, percebe-se que os Tratamentos T 4 demoraram um tempo maior para entrarem em fase de crescimento: a atividade microbiana ficou estável e sem atividade respiratória de destaque durante os seis primeiros dias. O Tratamento T 4 C obteve produção de CO₂ (mg) semelhante ao substrato areia com vermiculita, A produção de mg de CO₂ foi bem menor que nos Tratamentos T 1 e T 3 e próxima ao T 2 . Há uma diferença visível entre T 4 J, T 4 A e T 4 N. E novamente, num cenário composto de material fecal, serragem e papel higiênico, a bactéria J se destaca. É provável que a origem do isolado seja o motivo desta atividade microbiana e respiração maior que as outras duas A e N.

É relevante também que a adição do papel higiênico não parece causar diferença nos Tratamentos em que está presente – o que não se pode dizer da serragem, que, nesse caso, parece interferir na atividade microbiana, causando baixa atividade. Sabe-se que a Serragem auxilia na redução de umidade e talvez a quantidade utilizada possa ter interferido de forma negativa, do ponto de vista do crescimento e atividade microbiana. O ótimo teor de umidade, de maneira geral, compreende-se entre os valores de 50 a 60% (Lopez Zavala et al., 2004). Misturas com umidade inferior a 40% podem ter taxa de compostagem lenta, sendo que a lentidão do processo resulta na redução da atividade biológica (Kiehl, 1985)

As análises estatísticas – análise de variância (ANOVA), considerando um nível de significância de 5% -, todavia, permitem afirmar que, comparando a composição dos Tratamentos, há diferença entre T1 e T3 e entre T2 e T4.

Os Tratamentos T 1 e T 3, apesar de diferentes em sua composição, apresentaram o mesmo comportamento, e, provavelmente, a maior produção de mg de CO₂ indica maior atividade bacteriana. Já os T 2 e T 4 não apresentam semelhanças entre si e com os demais, sendo que T 2 apresentou o pior resultado, com menor atividade bacteriana, conforme a Tabela 17.

Tabela 17 – Comparação de médias entre os Tratamentos T1, T2, T3 e T4

Tratamentos	Médias
T1	2317,8 a
T2	676,8 c
T3	2421,7 a
T4	1122,8 b

Quando comparados os resultados individuais dos Tratamentos, dando ênfase aos inóculos de bactérias e composição (material fecal, serragem e papel higiênico), observa-se que quase todos os Tratamentos se comportaram da mesma forma. As exceções são T 4 N e T 4 C (Tabela 18); este último apresentou baixíssima atividade bacteriana, o que leva à conclusão de que, nesse caso, ou seja, quando o material fecal está misturado ao papel higiênico e à serragem, há pouca umidade, tornando

difícil a sobrevivência de microrganismos, incluindo os fungos presentes no ambiente.

A baixa atividade bacteriana para T 4 N pode ter ocorrido devido à característica da bactéria. Apesar de ter apresentado resultado positivo para os testes de Hidrólise de amido e proteína, ela foi selecionada por meio nutriente de caldo de carne e, no caso dos Tratamentos T 4, há uma quantidade significativa de serragem.

Tabela 18 - Médias das produções acumuladas de CO₂ (mg) durante o experimento, comparando os inóculos (A, J N e C) Tratamentos T 1, T 2 , T 3 e T 4.

<i>Tratamentos</i>				
<i>Inóculos</i>	<i>T 1</i>	<i>T 2</i>	<i>T 3</i>	<i>T 4</i>
A	2234,6 a	786,5 a	2486,3 a	1157,3 a
J	2419,1 a	849,9 a	2378,5 a	1569,6 a
N	2250,6 a	565,7 a	2536,2 a	905,5 b
C	2725,2 a	506,2 a	2355,3 a	234,1 c

Quando se avalia o desempenho por bactérias, percebe-se que A e J possuem a mesma eficiência e diferem do Controle, mas, ao mesmo tempo, são semelhantes a N; esta, por sua vez, não difere do Controle e se assemelha a A e J, conforme apresenta a tabela 18. Disso se conclui que, nesse ensaio, utilizando as composições de material fecal, serragem e papel higiênico, a diferença maior está na composição do substrato do Tratamento e não no inóculo.

Tabela 19 – Médias das produções acumuladas de CO₂, em mg, durante o experimento, comparando os inóculos (A, J, N e C)

Inóculos	Médias
A	1266,6 a
J	1254,8 a
N	1085,5 ab
C	965,3 b

Observando todos os dados, percebe-se que a inoculação com bactérias não fez diferença, sendo a diferença maior a composição dos Tratamentos. Além disso, o crescimento de fungos pode ter influenciado toda a produção de CO₂, em mg, dos Tratamentos com e sem inóculo, pois o controle não o possuía e, portanto, não deveria ter ocorrido nenhuma produção de CO₂ (mg).

6. CONCLUSÕES

A caracterização do Material fecal se aproximou dos valores encontrado na literatura, com exceção dos valores obtidos para o parâmetro Óleos & Graxas. A falta de outros sobre teores de O&G nas fezes impossibilitou uma melhor análise comparativa. Além disso, os teores de O&G podem ser muito variáveis pois estão relacionados aos hábitos alimentares.

As bactérias obtidas apresentaram características semelhantes, o que provavelmente se deve ao isolamento, pois todas eram provenientes de fezes em diferentes estágios de degradação (Material fecal bruto e hidrolisado) ou de compostos de fezes misturadas a serragem (composto proveniente da composteira da ETE-UFES).

A avaliação da biodegradabilidade através de ensaio de respirometria aeróbia mostrou que o fator composição dos Tratamentos teve maior importância do que o tipo de bactéria inoculada. Os Tratamentos com controle – ou seja, sem inóculo – apresentaram atividade microbiana e produção de CO₂, em mg, indicando a contaminação por microrganismo externos.

Foram observados em algumas unidades experimentais colônias de microrganismos com características visuais semelhantes às dos fungos; isso ocorreu após dois dias do início do período das chuvas, o que provocou maior umidade no ambiente.

A quantidade de serragem apresentou grande interferência nos ensaios de respirometria, pois os Tratamentos T 2 e T 4, que continham 60% de serragem, não obtiveram grande produção de CO₂, em mg, evidenciando que a atividade microbiana foi pequena.

O Tratamento T 4 C obteve a menor produção acumulada de em mg de CO₂. É possível que a quantidade de serragem tenha deixado o ambiente com baixa umidade, que prejudicou o desenvolvimento de microrganismos, inclusive os que causaram a contaminação nas outras unidades experimentais.

7. RECOMENDAÇÕES

Para dar continuidade aos estudos seguem as seguintes recomendações:

- verificar a biodegradabilidade usando outras proporções entre Material fecal/Serragem/Papel higiênico;
 - verificar a biodegradabilidade usando outros materiais como fonte de carbono;
 - avaliar a biodegradabilidade usando fungos ao invés de bactérias devido à facilidade de disseminação daqueles no material fecal e nos tratamentos adotados;
 - verificar o uso de bactérias e fungos combinados na avaliação da biodegradabilidade de material fecal.
-

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES, Margarida de Mello. *Fisiologia*. 3a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1232 p., 2008.

APHA, AWWA, WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 19. ed. Washington, EUA, 1995.

BRASIL.Fundação Nacional de Saúde. **Manual de Saneamento**. 3. ed. rev. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2004

BORGES, F.A.T. **Biodegradação de fluidos de base e de cascalhos oriundos da perfuração de poços de petróleo e gás**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Vitoria, 2006.

BRITO, Emília. **Isolamento, caracterização e avaliação de bactérias com potencial de degradação de agrotóxicos em solos adicionados de biossólido**. 2009. Monografia (Curso de Graduação em Tecnologia em Saneamento Ambiental), Instituto Federal do Espírito Santo.

CALDEIRA, D.S.A. **Cinética da degradação de compostos orgânicos no solo. Piracicaba**. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1997.

CASSINI, S.T. (Coord.). **Digestão de Resíduos Sólidos Orgânicos e Aproveitamento de Biogás**. Rio de Janeiro: ABES, 196p, 2003.

CHAGGU, E. J. **Sustainable Environmental Protection Using Modified Pit-Latrines**. Wageningen University, The Netherlands, 2004.

CHANDRA, V. **Capacity Building for Ecological Sanitation in India**. Ecosan Training Course Summer. Maharashtra. v.1, p.50, mar. 2007.

Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental (CETESB). L6.350 - Solos – Determinação da biodegradação de resíduos – Método Respirométrico de Bartha, 1990.

COSGROVE, W. J. & Rijsberman, F. R. (2000). **World Water Vision**. Earthscan Publications, London.

ESREY, S. et al. **Ecological sanitation**. Sida, Stockholm, 1998

FLORENCIO, L.; BASTOS, R. K. X.; AISSE, M. M. (Coord.). Tratamento e utilização de esgotos sanitários. Rio de Janeiro: ABES, 2006.

GONÇALVES, R.F. (Org.). **Uso Racional de Água em Edificações**. Rio de Janeiro : ABES, 2006.

GONÇALVES, R. F. et al. **Caracterização e tratamento de diferentes tipos de águas residuárias de origem residencial após segregação**. Disponível em: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/uruguay30/BR04371_Goncalves.pdf>, Acesso em: 18 jul. 2008.

HABA, E., BRESCO, O., FERRER, C., MARQUES, A., BUSQUETS, M., MANRESA, A. Isolation of lipase-screening bacteria by deploying used frying oil as selective substrate, *Enzyme and microbial technology*, 26, p. 40 - 44, 2000

HELLER, Léo. **Saneamento e Saúde**. Organização Pan-Americana de Saúde. Brasília, 1997.

HOHENER, P.; HUNKELER, D.; HESS, A. **Methodoly for Evaluation of Engineered in situ Biodegradation: Lessons from a Case Study**. Microbiological Methods. V32.1998.

HUUHTANEN, S.; LAUKKANEN, A. Global dry toilet club of Finland, **A guide to sanitation and hygiene for those working in developing countries**. Tampere: University of Applied Sciences Publications. 2006

JONAH, Albert. **Ecological Sanitation (Ecosan) and the Kimberley Experience**. 2007. Thesis (Science in Water Resources and Livelihood Security) - Department of Water and Environmental Studies, Linköping University, Linköping, 2007

JONSSON et al. Orientações de Uso de Urina e Fezes na Produção Agrícola. In: **Série de Publicações EcoSanRes**. Estocolmo, 2004.

KIEHL, E. J. Fertilizantes orgânicos. Piracicaba: Editora Agronômica “Ceres” Ltda, 1985.

LANGERGRABER, G.; MUELLEGGER, E. Ecological Sanitation-a way to solve global sanitation problems. **Environment International**, Vienna, v. 31, p. 433 – 444, 2005.

LOPEZ ZAVALA, M.L., FUNAMIZU, N., TAKAKUWA, T., 2004. Modeling of aerobic biodegradation of feces using sawdust as a matrix. *Water Research* 38, 1327-1339.

MATOS, José de Saldanha. **Aspectos Históricos a Actuais da Evolução da Drenagem de Águas Residuais em Meio Urbano**. Lisboa: Engenharia Civil: Número 16, 2003.

MOTA, T. M. B. *Práticas de biologia geral*. Imprensa Universitária, 1977.

MILES, R. A.; DOUCHETTE, W. J. **Assessing the Aerobic Biodegradability of 14 Hydrocarbons in two Solis Using a Simple Microcosm/Respiration Method**. Chemosphere, v. 45. 2001.

NUVOLARI, Arioval. **Esgoto Sanitário: coleta, transporte, tratamento e reuso agrícola**. São Paulo: Edgard Blucher, 2003.

Observatório Regional Base de Indicadores de Sustentabilidade (ORBIS). **Indicadores do Milênio no Estado do Paraná**. Curitiba, 2007.

PEDROTI, G. I.; **Ensaio de biodegradabilidade aeróbia de hidrocarbonetos derivados do petróleo em solo**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental; Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2007.

PIROVANI, R. V. **Determinação da Biodegradabilidade de Agrotóxicos e Hidrocarbonetos através da Metodologia de Respirimetria Aeróbia**. VII Jornada de Iniciação Científica UFES, 2006, Vitória. Anais ... Vitória: UFES, 2006

PIVELI, R. P.; KATO, M. T. **Qualidade da água e poluição: aspectos físico-químicos**. São Paulo: ABES, 2005.

PMSS (2003) - **Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento: visão geral da prestação dos serviços de água e esgotos - 2003**. Programa de Modernização do Setor de Saneamento, Ministério das Cidades. Brasília.

REBOUÇAS, T. C.; Estabilização e higienização de fezes humanas através de compostagem em regime de batelada. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental; Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2010.

REZENDE, S. C.; HELLER, L. **O Saneamento no Brasil: políticas e interfaces**. Belo Horizonte: Editora UFMG; Escola da Engenharia da UFMG, 2002.

RODELLA, A. A.; SABOYA, L. V. Calibration for conductimetric of carbon dioxide. In: **Soil Biology and Biochemistry Journal**. USA: Elsevier, p.2059-2060, 1999.

ROSEMARIN, A. **The Global Sanitations Crisis**. The Nordic Bookazine, **Stockholm**, v. 4. out., 2007.

ROSENQUIST, L. E. D. **A psychosocial analysis of the human-sanitation nexus**. Journal of Environmental Psychology, Stockholm, v. 25, p. 335–346, 2005.

SALAS, R. K. **Non Conventional ways to evacuate, treat and reuse human excreta and domestic liquids in poor areas of Lima-Peru**. KTH Land and Water Resources Engineering, Stockholm, 2005

SCHOUW, N. L. et al. Composition of human excreta - a case study from Southern Thailand. **The Science of the Total Environment**, v.286, p. 155 – 166, 2001.

SILVA, Carlos Henrique Pessoa de Menezes e. **Bacteriologia: um texto ilustrado**. Teresópolis: Eventos, 1999.

Sustainable Development Update, issue 3, v.4, 2004. Disponível em: < <http://www.albaeco.com/sdu/16/htm/main.htm> >, Acesso em: 22 jun. 2009.

VIEIRA, Sonia. **Análise de variância (ANOVA)**. São Paulo: Atlas, 2006.

VON SPERLING, Marcos. **Princípios básicos do tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental: Universidade Federal de Minas Gerais; 2005.

WERNER, C. et al. **Reasons for and principles of ecological sanitation**. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ECOLOGICAL SANITATION, 2, 2003, Eschborn. Disponível em: <http://www2.gtz.de/Dokumente/oe44/ecosan/en-ecosan-reasons-and-principles-2004.pdf>. Acesso em 5 fev. 2009.

WERNER, C. et al. Ecological sanitation: Principles, technologies and Project examples for sustainable wastewater and excreta management. **Desalination**, Eschborn, v. 248, p. 392–401, 2008.

WIESMANN, et al. **Fundamentals of Biological Wastewater Treatment**. Weinheim. 2007. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science.rdoc=1&fmt=&_orig=search&_sort=d&view=c&_acct=C000037498&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686358&md5. acesso em: 15 mar. 2008.

ZANCHETA, P. G.; **Recuperação e tratamento da urina humana para uso agrícola**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental; Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2007.

ZAVALA, M. A. L.; FUNAMIZU, N.; TAKAKUWA, T. Modeling of aerobic biodegradation of feces using sawdust as a matrix. **Water Research**, Japan, v. 38, p. 1327 – 1339, 2004.

9. ANEXOS

Valores de Condutividade (mS/c)

	DIAS	Molari dade	Branco	AV	T 1 A	T 1 J	T 1 N	T 1 C	T 2 A	T 2 J	T 2 N	T 2 C	T 3 A	T 3 J	T 3 N	T 3 C	T 4 A	T 4 J	T 4 N	T 4 C
1º	22/fev	1	7,21	11,53	117,8 6	112,0 9	121,1 0	118,5 8	63,43	41,45	32,44	60,19	11,17	75,69	127,9 5	0,00	2,16	0,00	0,00	13,70
2º	23/fev	1	24,19	9,75	358,8 1	429,5 7	359,5 4	170,3 8	67,14	48,01	42,96	60,64	114,4 3	71,11	127,7 9	48,01	0,00	0,00	0,00	0,00
3º	24/fev	1	31,29	16,54	248,4 9	229,7 9	224,0 3	226,5 5	14,74	44,95	41,71	36,68	276,8 9	323,2 8	331,9 1	190,9 5	23,37	2,52	0,00	20,50
5º	26/fev	1	40,98	28,40	328,2 2	356,2 6	394,0 1	370,6 4	63,27	60,76	49,25	67,95	637,3 9	481,0 1	514,8 0	406,5 9	38,11	25,52	22,29	33,79
7º	28/fev	1	4,35	8,34	242,6 0	283,2 1	266,1 7	231,7 2	50,41	45,69	11,97	48,23	319,1 2	276,3 2	301,3 5	300,9 8	39,89	29,74	0,00	24,30
9º	02/mar	1	0,00	6,82	181,3 7	202,9 2	185,6 8	141,8 7	18,32	22,27	21,91	1,80	196,1 0	194,6 6	204,3 6	221,6 0	57,11	123,1 9	136,8 4	35,92
12º	05/mar	1	15,41	12,54	239,4 2	249,4 6	230,4 6	622,2 2	76,34	103,2 3	52,33	49,46	263,4 4	262,0 1	248,3 9	303,9 4	262,3 6	372,0 4	222,5 8	59,14
15º	08/mar	1	13,32	14,40	176,3 8	178,1 8	146,8 7	292,6 5	93,59	78,83	38,52	2,16	207,7 0	205,1 8	183,5 8	241,9 0	154,4 3	346,2 9	130,6 7	13,32
17º	10/mar	0,5	2,13	3,76	51,15	48,92	36,33	85,05	47,50	15,93	7,51	0,51	49,73	47,80	44,65	57,44	45,77	76,22	43,74	0,00
19º	12/mar	0,5	8,92	4,56	39,02	45,91	39,53	53,11	49,16	25,14	15,00	9,02	41,35	43,89	54,12	50,58	81,39	94,36	74,09	8,72
22º	15/mar	0,5	3,88	3,57	61,53	76,02	63,57	87,24	45,10	73,57	37,65	4,90	75,31	86,43	85,00	111,5 3	98,16	117,5 5	105,4 1	0,00
25º	18/mar	0,5	5,09	5,30	41,46	42,27	36,77	58,67	22,31	64,38	31,88	6,01	54,29	59,59	73,24	68,35	61,52	97,58	52,87	5,91
30º	23/mar	0,5	9,25	4,27	72,76	81,60	73,88	138,1 1	81,50	123,7 8	59,25	37,50	116,9 7	127,7 4	113,8 2	177,3 4	128,7 6	160,8 7	66,06	8,33
35º	28/mar	0,5	9,34	5,58	75,52	82,93	72,68	128,4 1	93,69	102,0 2	123,3 3	121,2 0	122,4 2	123,7 4	125,2 6	176,1 2	164,2 4	156,2 2	50,96	11,06

Quantidade de CO₂ em mg/100 g de substrato

	DIAS	Branco	AV	T1-A2A	T1-J3C	T1-N1	T1-C	T2-A2A	T2-J3C	T2-N1	T2-C	T3-A2A	T3-J3C	T3-N1	T3-C	T4-A2A	T4-J3C	T4-N1	T4-C
1º	22/fev	7,21	11,53	117,86	112,09	121,10	118,58	63,43	41,45	32,44	60,19	11,17	75,69	127,95	0,00	2,16	0,00	0,00	13,70
2º	23/fev	24,19	9,75	358,81	429,57	359,54	170,38	67,14	48,01	42,96	60,64	114,43	71,11	127,79	48,01	0,00	0,00	0,00	0,00
3º	24/fev	31,29	16,54	248,49	229,79	224,03	226,55	14,74	44,95	41,71	36,68	276,89	323,28	331,91	190,95	23,37	2,52	0,00	20,50
5º	26/fev	40,98	28,40	328,22	356,26	394,01	370,64	63,27	60,76	49,25	67,95	637,39	481,01	514,80	406,59	38,11	25,52	22,29	33,79
7º	28/fev	4,35	8,34	242,60	283,21	266,17	231,72	50,41	45,69	11,97	48,23	319,12	276,32	301,35	300,98	39,89	29,74	0,00	24,30
9º	02/mar	0,00	6,82	181,37	202,92	185,68	141,87	18,32	22,27	21,91	1,80	196,10	194,66	204,36	221,60	57,11	123,19	136,84	35,92
12º	05/mar	15,41	12,54	239,42	249,46	230,46	622,22	76,34	103,23	52,33	49,46	263,44	262,01	248,39	303,94	262,36	372,04	222,58	59,14
15º	08/mar	13,32	14,40	176,38	178,18	146,87	292,65	93,59	78,83	38,52	2,16	207,70	205,18	183,58	241,90	154,43	346,29	130,67	13,32
17º	10/mar	2,13	3,76	51,15	48,92	36,33	85,05	47,50	15,93	7,51	0,51	49,73	47,80	44,65	57,44	45,77	76,22	43,74	0,00
19º	12/mar	8,92	4,56	39,02	45,91	39,53	53,11	49,16	25,14	15,00	9,02	41,35	43,89	54,12	50,58	81,39	94,36	74,09	8,72
22º	15/mar	3,88	3,57	61,53	76,02	63,57	87,24	45,10	73,57	37,65	4,90	75,31	86,43	85,00	111,53	98,16	117,55	105,41	0,00
25º	18/mar	5,09	5,30	41,46	42,27	36,77	58,67	22,31	64,38	31,88	6,01	54,29	59,59	73,24	68,35	61,52	97,58	52,87	5,91
30º	23/mar	9,25	4,27	72,76	81,60	73,88	138,11	81,50	123,78	59,25	37,50	116,97	127,74	113,82	177,34	128,76	160,87	66,06	8,33
35º	28/mar	9,34	5,58	75,52	82,93	72,68	128,41	93,69	102,02	123,33	121,20	122,42	123,74	125,26	176,12	164,24	156,22	50,96	11,06

Quantidade de CO₂ (mg) acumulada nos 35 dias

	DIAS	Branc o	AV	T1-A	T1-J	T1-N	T1-C	T2-A	T2-J	T2-N	T2-C	T3-A	T3-J	T3-N	T3-C	T4-A	T4-J	T4-N	T4-C
1º	22/fev	7,21	11,53	117,86	112,09	121,10	118,58	63,43	41,45	32,44	60,19	11,17	75,69	127,95	0,00	2,16	0,00	0,00	13,70
2º	23/fev	31,39	21,28	476,67	541,66	480,64	288,96	130,58	89,46	75,39	120,84	125,60	146,80	255,74	48,01	2,16	0,00	0,00	13,70
3º	24/fev	62,68	37,82	725,16	771,44	704,67	515,51	145,32	134,41	117,11	157,51	402,50	470,09	587,65	238,96	25,54	2,52	0,00	34,19
5º	26/fev	103,66	66,22	1053,38	1127,71	1098,68	886,15	208,59	195,16	166,36	225,46	1039,89	951,09	1102,45	645,55	63,64	28,04	22,29	67,99
7º	28/fev	108,01	74,56	1295,98	1410,92	1364,85	1117,88	259,00	240,86	178,33	273,69	1359,00	1227,42	1403,80	946,54	103,53	57,78	22,29	92,28
9º	02/mar	108,01	81,39	1477,35	1613,84	1550,54	1259,74	277,31	263,12	200,24	275,49	1555,10	1422,08	1608,16	1168,13	160,64	180,97	159,13	128,20
12º	05/mar	123,43	93,93	1716,78	1863,31	1781,00	1881,96	353,66	366,35	252,56	324,95	1818,54	1684,09	1856,54	1472,08	423,00	553,01	381,71	187,34
15º	08/mar	136,74	108,33	1893,16	2041,49	1927,87	2174,61	447,25	445,18	291,08	327,11	2026,24	1889,27	2040,13	1713,97	577,43	899,29	512,37	200,66
17º	10/mar	138,88	112,08	1944,31	2090,41	1964,20	2259,66	494,75	461,11	298,59	327,62	2075,97	1937,07	2084,78	1771,41	623,20	975,51	556,12	200,66
19º	12/mar	147,80	116,65	1983,33	2136,32	2003,73	2312,77	543,90	486,25	313,59	336,64	2117,32	1980,95	2138,90	1821,99	704,59	1069,87	630,20	209,37
22º	15/mar	151,67	120,22	2044,86	2212,34	2067,30	2400,01	589,00	559,82	351,24	341,53	2192,63	2067,38	2223,90	1933,52	802,75	1187,42	735,61	209,37
25º	18/mar	156,77	125,51	2086,32	2254,61	2104,07	2458,68	611,31	624,20	383,13	347,54	2246,92	2126,97	2297,14	2001,87	864,27	1285,00	788,48	215,28
30º	23/mar	166,01	129,78	2159,08	2336,21	2177,95	2596,79	692,81	747,98	442,37	385,04	2363,89	2254,71	2410,96	2179,20	993,03	1445,88	854,53	223,61
35º	28/mar	175,35	135,37	2234,61	2419,15	2250,63	2725,20	786,51	849,99	565,71	506,25	2486,31	2378,45	2536,22	2355,32	1157,27	1602,10	905,49	234,68