

## ESTUDO POR ANÁLISE DE IMAGEM DO COMPORTAMENTO DE UMA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE EFLUENTES SOB CONDIÇÕES TRANSIENTES

M. da Motta<sup>1,3</sup>, A.L. Amaral<sup>2</sup>, M.N. Pons<sup>1</sup>, E.C. Ferreira<sup>2</sup>, H. Vivier<sup>1</sup>, M. Mota<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Sciences du Génie Chimique, CNRS-ENSIC-INPL, 1 rue Grandville, BP 451, F-54001 Nancy cedex, France

<sup>2</sup>Centro de Engenharia Biológica - IBQF, Universidade do Minho, 4710-057 Braga, Portugal

<sup>3</sup>UFPE, Departamento de Engenharia Química, Av. Prof. Artur de Sá, s/n - Cidade Universitária - Recife 50740-521 Pernambuco Brasil (mottas@npd.ufpe.br), tel. +55 (0)81 3 271 8238 fax +55(0)81 3 271 0095

**RESUMO** A microfauna presente numa estação de tratamento de efluentes por lamas activadas é composta essencialmente por bactérias, protozoários e metazoários. Os protozoários apresentam uma sensibilidade aos fenómenos físico-químicos e operacionais que os tornam indicadores do estado de funcionamento da estação. A literatura apresenta relações entre a abundância de uma certa espécie ou grupo e parâmetros da estação. Uma outra possibilidade é a qualificação do estado da ETAR através de índices bióticos como o SBI. Todos estes procedimentos exigem uma identificação, classificação e quantificação das espécies presentes. Geralmente isto é feito manualmente, o que implica tempo e muitas vezes a presença de um técnico especializado. Neste trabalho é proposto um procedimento para reconhecimento semi-automático das espécies de protozoários por análise de imagem. Este programa (ProtoRec v.2) foi em seguida utilizado para estudar a evolução da microfauna durante períodos de transição (paragem e arranque da estação). Os resultados obtidos foram satisfatórios em relação ao reconhecimento das espécies pelo programa e o acompanhamento da estação permitiu-nos verificar a degradação e envelhecimento da lama e o aparecimento de protozoários que evidenciam tal facto.

### 1. INTRODUÇÃO

No tanque de arejamento de uma estação de tratamento de efluentes por lamas activadas, as bactérias aglomeram-se geralmente sob a forma de flocos bacterianos. Em torno destes flocos e no seio do líquido, além das bactérias livres encontram-se protozoários e metazoários. Estes grupos possuem relações de predação (I), competição (II) e canibalismo (III) conforme se evidencia na figura 1. Na mesma figura encontramos ainda as concentrações de cada espécie em indivíduo por litro de lamas activadas.

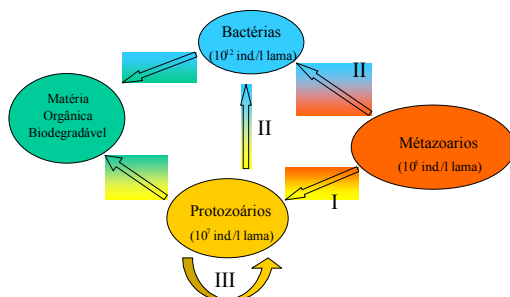


Fig. 1 – Relações entre as espécies de microorganismos presentes no tanque de arejamento (Canler et al., 1999)

A presença dos protozoários é fundamental para o bom desempenho da estação. Além de reduzirem a turbidez do efluente final, estimulam o crescimento bacteriano, promovem a floculação e algumas espécies eliminam a poluição (Gerardi et al., 1995; Curds et al., 1968).

Depois das bactérias, os protozoários são os microorganismos mais importantes numa estação de tratamento de águas residuais (ETAR). A sua sensibilidade as variações das condições do meio (concentração do substrato e do oxigénio dissolvido, presença de tóxicos, etc.), tornam-nos excelentes indicadores do estado da ETAR (Degrémont, 1989).

A importância da presença dos protozoários, na sua maior parte bacteriófagos, reside nos seguintes factos: alimentando-se das bactérias livres, reduzem a turbidez do líquido interfacial e conseqüentemente a Carência Bioquímica de Oxigénio (CBO) e percentagem de matéria seca (MS) do efluente final; reduzem a quantidade de bactérias patogénicas (50% de redução na ausência de protozoários e 95% na presença deles, segundo Gerardi et al., 1995); seu regime bacteriófago estimula o crescimento bacteriano e o desenvolvimento de novos flocos de lamas activadas. Um último ponto, um pouco controverso, é que os protozoários podem eliminar a poluição (matéria orgânica).

De uma maneira simplista, podemos classificar os protozoários em flagelados, ciliados e amebas. Os ciliados, presentes em concentrações mais elevadas, podem ser classificados segundo o seu regime alimentar em bacteriófagos e carnívoros. Os bacteriófagos, segundo a sua mobilidade são agrupados em nadadores, móveis de fundo e sésseis.

Vários autores realizaram estudos para identificar as diferentes espécies de ciliados presentes (Curds et Cockburn, 1970a; Sasahara et Ogawa, 1983), assim como estabelecer relações entre os desempenhos das instalações e

a presença e abundância de uma certa espécie de protozoário (Curds e Cockburn, 1970b; Madoni, 1994a; Nicolau e al., 1997). A tabela 1 apresenta uma relação entre o grupo de

protozoários dominante e a eficiência biológica da estação, assim como possíveis causas para o mau funcionamento.

Tabela 1 - Algumas situações particulares no funcionamento de uma ETAR por lamas activadas (Madoni, 1994a)

Grupo Dominante	Eficiência	Causa possível
Pequenos flagelados	má	Lamas pouco oxigenadas; carga muito forte; entrada de substancias fermentescíveis.
Pequenos ciliados nadadores (< 50 µm)	mediocre	Tempo de contacto muito fraco; lamas pouco oxigenadas.
Grandes ciliados nadadores (> 50 µm)	mediocre	Carga muito forte.
Ciliados móveis de fundo	boa	
Ciliados sésseis + ciliados móveis de fundo	boa	
Ciliados sésseis	em baixa	Fenómenos transitórios (carga descontínua; extracção recente de lamas).
Pequenas amebas nuas e flagelados	má	Carga muito elevada não facilmente biodegradável.
Amebas com teca	boa	Carga baixa; licor diluído; boa nitrificação.

A colonização das lamas inicia-se com as bactérias, flagelados e ciliados nadadores livres, que vêm geralmente com o esgoto a ser tratado. Em seguida, à medida que a idade das lamas activadas aumenta, os ciliados móveis de fundo seguidos dos ciliados sésseis (fixos) começam a instalar-se. Salienta-se ainda que os móveis de fundo e principalmente os ciliados sésseis retornam pelo canal de recirculação enquanto que os nadadores livres e os flagelados podem sair junto com o efluente final. A redução das bactérias deve-se sobretudo ao regime alimentar bacteriófago dos protozoários. A figura 2 mostra a evolução dos microorganismos em função da idade das lamas.

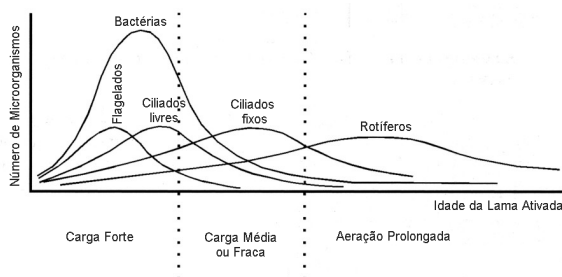


Fig. 2 - Evolução dos grupos de microorganismos em função do avanço da idade das lamas (Canler et al., 1999).

O índice biótico de lamas (sludge biotic index - SBI), proposto por Madoni (1994b), avalia a sensibilidade do ecossistema da estação baseado nas condições físicas, químicas e operacionais da mesma. Este método é baseado ao mesmo tempo nas diferentes sensibilidades demonstradas por cada grupo em relação aos parâmetros físico-químicos e operacionais e na abundância e diversidade da microfauna. Este método exige uma identificação, contagem e classificação dos protozoários.

Para a identificação destas espécies, faz-se geralmente uma observação visual e contagem manual das espécies presentes. Este procedimento exige tempo e um técnico com conhecimentos em microbiologia. A fim de otimizar o tempo e identificação das espécies foi desenvolvido um programa (ProtoRec) em ambiente Visilog que identifica as espécies presentes a partir de parâmetros morfológicos (Amaral et al., 1999; Da Motta et al., 2001).

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de lama foram recolhidas no tanque de arejamento da ETAR de Braga. Uma gota da amostra é posta numa lâmina e a aquisição é realizada em estado fresco (sem adição de corantes ou outros produtos). De cada amostra foram recolhidas 50 imagens de protozoários com iluminação simples e directa.

O sistema de aquisição de imagem (figura 3), é formado por um microscópio de epifluorescência Axioskop (Zeiss, Oberkochen), sobre o qual é conectada uma câmara CCD AVC D5CE (Sony, Tokyo). O sinal é tratado por um adaptador CMA-D5CE (Sony, Tokyo) para em seguida ser digitalizado num computador graças a uma placa de aquisição Meteor 2 (Matrox, Dorval).

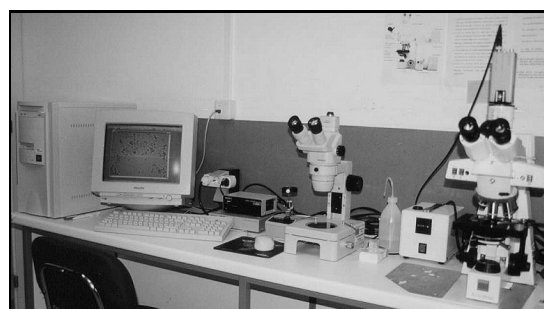


Fig. 3 - Sistema de aquisição de imagens

A figura 4 mostra algumas das etapas do tratamento de imagem pelo programa ProtoRec v.2. A partir da imagem inicial em 256 tons de cinzento, realiza-se um pré-tratamento para realçar os contornos dos protozoários. Em seguida traçam-se as zonas de interesse (onde se encontram os protozoários) e binariza-se a imagem. O resíduo em torno do protozoário é eliminado e por fim cada um é etiquetado e os seus parâmetros de forma são calculados. Através de uma base de dados de varias espécies, pode-se então identificar o protozoário.

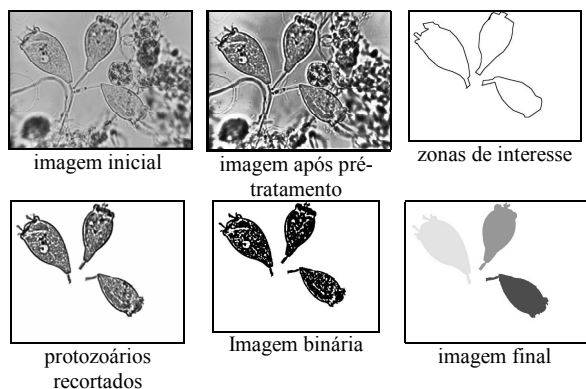


Fig. 4 - Etapas do programa ProtoRec v2.0

#### Parâmetros calculados

Para a identificação do protozoário são calculados os seguintes parâmetros de forma:

- Superfície (S)

A superfície (S) do protozoário é calculada a partir da imagem da superfície projectada. Na figura 5 pode observar-se em cinza a superfície projectada de uma *Trithigmostoma* e de uma *Vorticella*.

- Diâmetro equivalente (Deq)

O diâmetro equivalente (figura 5) de cada protozoário é o diâmetro de um disco de superfície igual à superfície projectada do protozoário.

$$Deq = 2\sqrt{\frac{S}{\pi}} \quad (1)$$

onde S = Superfície do objecto

- Comprimento ( $F_{Max}$ ) e Largura ( $F_{Min}$ )

O comprimento do objecto é dado pelo diâmetro de Féret Máximo ( $F_{Max}$ ) e a largura pelo diâmetro de Féret mínimo ( $F_{Min}$ ). O diâmetro de Féret é igual à distância entre duas tangentes paralelas a uma dada direção que enquadram a silhueta do objecto.

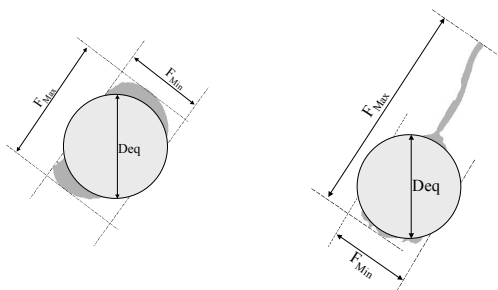


Fig. 5 - Representação da superfície projectada do protozoário e os parâmetros morfológicos Deq,  $F_{Max}$  e  $F_{Min}$ .

- Factor de Forma (FF)

O factor de forma ou índice de Feret é definido pela relação entre o diâmetro de Feret Máximo ( $F_{MAX}$ ) e o diâmetro de

Feret a 90 graus do diâmetro de Féret Máximo ( $F_{MAX90}$ ). Este parâmetro (equação 2) fornece uma informação sobre o alongamento dos objectos. Para um círculo e para um quadrado vale 1.

$$FF = \frac{F_{MAX}}{F_{MAX90}} \quad (2)$$

- Excentricidade (E)

A excentricidade é calculada a partir dos momentos de ordem 2 da silhueta:

$$E = \frac{(4\pi)^2 (M_{2X} - M_{2Y})^2 + 4M_{2XY}^2}{S^2} \quad (3)$$

onde:

$$M_{2X} = \frac{1}{S} \sum (x_i - M_{1X})^2$$

$$M_{2Y} = \frac{1}{S} \sum (y_i - M_{1Y})^2$$

$$M_{2XY} = \frac{1}{S} \sum (x_i - M_{1X})(y_i - M_{1Y})$$

e  $(x_i, y_i)$  representam as coordenadas de um ponto do objecto na imagem. A posição do centro de gravidade da silhueta é definida a partir dos momentos de ordem 1:

$$M_{1X} = \frac{1}{S} \sum x_i$$

$$M_{1Y} = \frac{1}{S} \sum y_i$$

- Circularidade

A circularidade (C) é definida a partir do perímetro de Crofton (P) (Russ, 1995) e da superfície (S):

$$C = \frac{P^2}{4\pi S} \quad (4)$$

Este parâmetro mede ao mesmo tempo o alongamento e a rugosidade do objecto, conforme ilustra a figura 6.

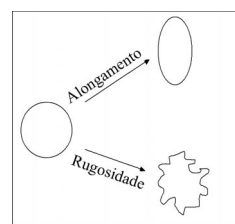


Fig. 6 - Parâmetro de circularidade.

- Envelope convexo

Antes de definir a concavidade, a robustez e o índice de concavidade, devemos inicialmente definir o envelope convexo. O envelope convexo é o menor polígono convexo dentro do qual podemos incluir o objecto. É criado a partir da vectorização do contorno dos objectos, que permite representar este contorno por uma série de segmentos de reta. Cada segmento é limitado por dois pontos. Em seguida

ligam-se estes pontos, faz-se uma dilatação, preenchem-se as lacunas e realiza-se uma erosão para retornar ao tamanho inicial antes da dilatação. A figura 7 apresenta algumas etapas da construção do envelope.

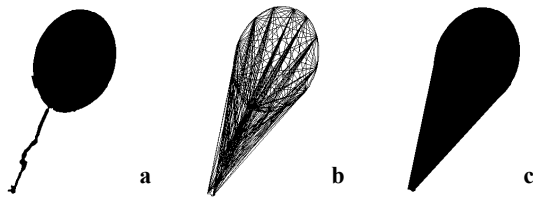


Fig. 7 - Etapas da criação do envelope convexo : imagem inicial (a), contorno vectorizado com pontos interligados (b) e envelope convexo preenchido (c).

- Robustez ( $\Omega_1$ ) e índice da maior concavidade ( $\Omega_2$ )

Seja  $\omega_1$  o número de erosões necessárias para apagar a silhueta (imagem projectada) do objecto et  $\omega_2$  o número de erosões necessárias para apagar o complemento da silhueta em relação ao seu envelope convexo. Ao normalizar-se em relação à silhueta, obtemos (Pons et al., 1997):

$$\text{a robustez} \quad \Omega_1 = \frac{2\omega_1}{\sqrt{S}} \quad (5)$$

$$\text{e o índice da maior concavidade} \quad \Omega_2 = \frac{2\omega_2}{\sqrt{S}} \quad (6)$$

- Índice de concavidade (IC)

O índice de concavidade é definido pela relação entre a superfície do objecto e a superfície do envelope convexo



Fig. 8 - Envelope convexo (a), silhueta do objecto (b) e complemento da silhueta em relação ao envelope convexo (c).

- Índice Perimétrico (IP)

Este índice é definido como se segue:

$$IP = P_{10}/P \quad (7)$$

onde  $P_{10}$  é o perímetro após uma abertura (erosão seguida de dilatação) de ordem 10.

A classificação automática é baseada na análise factorial discriminante (Einax et al., 1997) usando o utilitário Xlstat (T. Fahmy, Paris) para Excel. A partir de uma combinação linear dos variáveis originais (parâmetros de forma dos protozoários), são criadas novas variáveis colocando em evidência as diferenças entre as espécies de protozoários. A utilização deste método requer uma fase de aprendizagem e

uma fase de validação. Na primeira fase foi utilizado um conjunto de 30 indivíduos de cada espécie de protozoário, excepto para os *Euplotes* (27 indivíduos) e para os *Litonotus* (26 indivíduos), com base nos trabalhos de Canler et al. (1999), Curds (1992), Madoni (1996) e recorrendo ao auxílio de alguns especialistas. Considerando-se que trabalhamos com seres vivos, os quais podem estar em diversas posições sob a objectiva do microscópio, tem-se uma certa dispersão dos parâmetros morfológicos e uma certa dificuldade de identificação. As coordenadas dos novos protozoários dentro do novo espaço são expressas como se segue:

$$f_j^i = \sum_{k=1}^M V_j^k X_i^k \quad (8)$$

onde  $M$  é o número de parâmetros originais,  $X_i^k$  é o valor do parâmetro  $k$  para o indivíduo  $i$  e  $V_j^k$  o vector próprio do parâmetro  $X^k$  sobre o eixo  $j$ . Os  $M$  parâmetros  $X^k$  são :  $E, FF, C, \Omega_j, \Omega_2, IC_s, IP, S (\mu m^2), P (\mu m), F_{max} (\mu m)$ . Cada espécie de protozoários é caracterizada pelo seu centro de gravidade dentro do novo espaço.

Numa segunda fase, testa-se a identificação com os indivíduos (30) que não foram utilizados na fase de aprendizagem: cada indivíduo é agrupado numa espécie de protozoário em função da distância mínima aos centros de gravidade calculados anteriormente.

### 3. RESULTADOS

Durante o Inverno de 2000-2001, a cidade de Braga (Pt) registou uma elevada pluviosidade devido às fortes chuvas que se verificaram na região do Minho. Tal facto causou vários problemas à ETAR, que teve que parar várias vezes. Como causas principais temos o elevado caudal e a entrada de areia que obriga a realizar paragens para limpeza. Foi realizado um acompanhamento iniciado na segunda-feira 19/03/01, quando a estação funcionava normalmente. No dia 20/03 ocorreu a paragem "nível 1", onde a alimentação foi cortada mas continuou-se a arejar e a recircular a lama entre o tanque de arejamento e o clarificador. O acompanhamento prosseguiu até segunda-feira 26/03/01, em que se verificou uma paragem da recirculação e na terça-feira ocorreu a paragem do arejamento (paragem "nível 2 e 3").

Os resultados obtidos deste acompanhamento serão divididos em duas partes: na primeira parte será analisada de maneira manual a microfauna e as informações obtidas a partir das espécies e grupos dominantes e numa segunda parte a avaliação do reconhecimento automático das espécies por análise de imagem através do programa ProtoRec v.2.

#### 3.1. Análise manual

Ao observar-se a evolução dos grupos de protozoários e dos metazoários (figura 9), nota-se o envelhecimento da lama em conformidade com a figura 2. Inicialmente observa-se uma redução dos ciliados nadadores (*Trachelophyllum*), que deixam de entrar na estação, vindo do esgoto, e continuam a sair pelo clarificador.

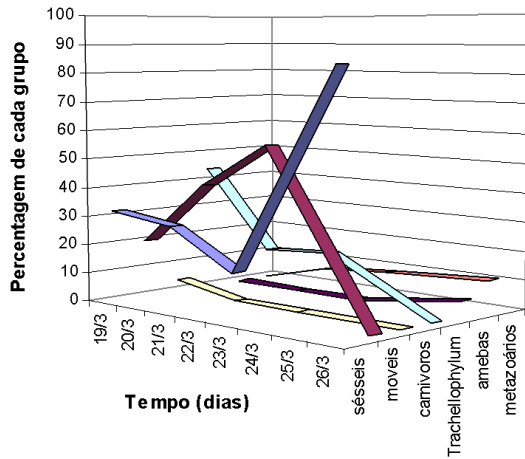


Fig. 9 - Evolução dos grupos de protozoários e dos metazoários em função do tempo.

Esta fase é seguida do aumento dos móveis de fundo, que se alimentam das bactérias que estão na superfície dos flocos. Com a redução do substrato as bactérias começam a morrer e esta fonte tende a esgotar-se, ocasionando o declínio desta espécie.

Os ciliados sésseis, que inicialmente tinham decaído em número voltam a aumentar. Este aumento deve-se sobretudo à presença de *Opercularias*, que são resistentes a condições de estresse tais como a limitação de oxigênio ou nutrientes. Esta passagem da predominância dos móveis para os sésseis mostra, segundo a tabela 1, uma queda no desempenho da estação. Podemos tirar uma primeira conclusão de que até três dias, mantendo-se o arejamento e a recirculação a estação poderia reiniciar em boas condições.

Partindo-se para uma análise por espécie dominante, figura 10, o primeiro facto que nos vem à vista é a redução na diversidade da microfauna. Inicialmente tínhamos 11 espécies diferentes no tanque de arejamento e após uma semana encontramos apenas 5.

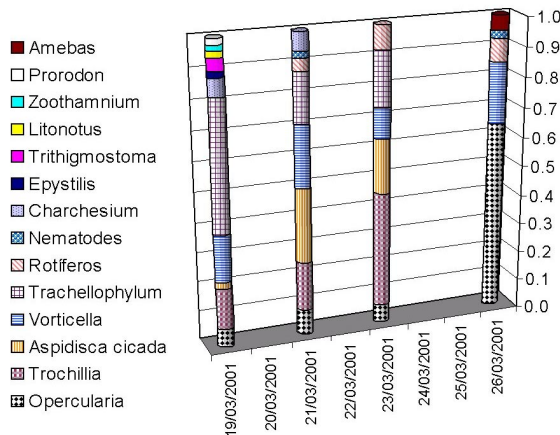


Fig. 10 - Evolução das espécies de protozoários e metazoários em função do tempo

Inicialmente tem-se uma forte predominância do *Trachelophyllum* com cerca de 45%. Este nutre-se de bactérias e pequenos flagelados e está presente em qualquer domínio de carga. Canler et al. (1999) cita que quanta mais elevada for a carga, maior será a sua concentração e no caso de ser a espécie dominante, estará correlacionado com um

depuração mediocre e será indicador de fenômenos transitórios, como por exemplo uma sobrecarga.

No terceiro dia de análise encontramos o domínio da *Trochillia* que é um indicador de uma boa qualidade de efluente e está presente em estações onde o processo de instalação já está instalado (Canler et al., 1999). Ela pode assim indicar o processo de catabolismo, onde as bactérias vão consumir suas reservas energéticas, liberando sais minerais, entre os quais os nitratos.

Por fim encontramos uma forte predominância das *Opercularias*. Este protozoário é resistente a condições de estresse tais como a presença de certos tóxicos (sais, metais pesados, etc.), acidez e déficit de oxigenação. Sua presença está associada a rendimentos de médios a bom e a efluentes tratados com uma concentração importante em  $NH_4^+$ . Podemos assim confirmar a redução na qualidade depuratória da microfauna após 6 dias sem alimentação. A presença do  $NH_4^+$  deve-se provavelmente aos sais libertados durante o catabolismo.

### 3.2. Reconhecimento das espécies com ProtoRec v.2

A classificação dos protozoários faz-se segundo uma árvore de decisão. Separa-se inicialmente os ciliados sésseis (que possuem um pedúnculo), com e sem mionema (músculo responsável pela contração localizado no interior do pedúnculo de alguns protozoários), dos protozoários móveis.

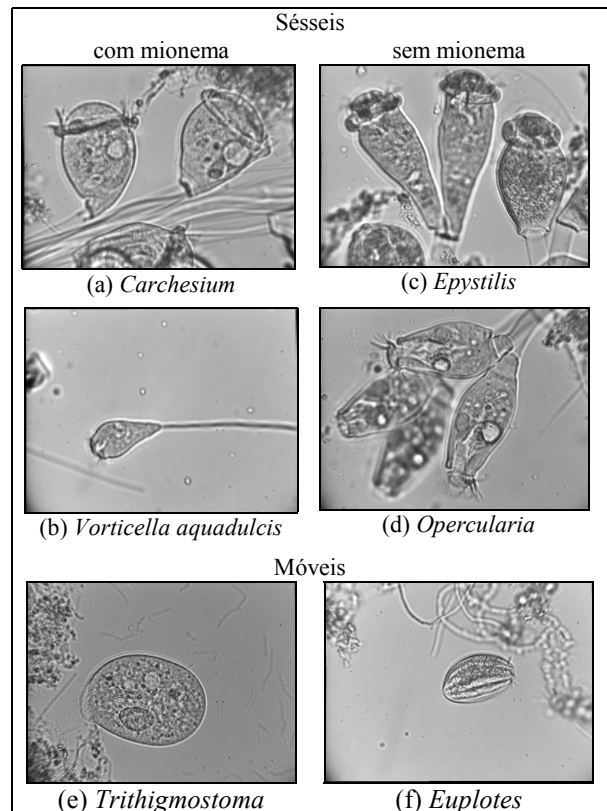


Fig. 11 - Alguns protozoários comuns em lamas activadas

Os protozoários ciliados sésseis com mionema estudados são: *Carchesium* (fig. 11a), *Vorticella aquadulcis* (fig. 11b), *Vorticella convallaria*, *Vorticella microstoma* e *Zoothamnium*. Os sésseis sem mionema considerados foram: *Epystilis* (fig 11c) e *Opercularia* (fig. 11d). Os ciliados

móveis, que não possuem pedúnculo são : *Aspidisca cicada*, *Trachelophyllum*, *Litonotus* (um carnívoro que se alimenta de outros protozoários como as *Vorticellas*), *Trithigmostoma* (fig. 11e) e *Euplotes* (fig. 11f).

Os protozoários sésseis são em seguida classificados em função da presença de uma mionema. A figura 12a mostra a boa separação entre os sésseis com e sem mionema. Entretanto, a distinção entre as várias espécies de sésseis com mionema, figura 12b, é mais delicada e reflecte as dificuldades encontradas quando da identificação visual.

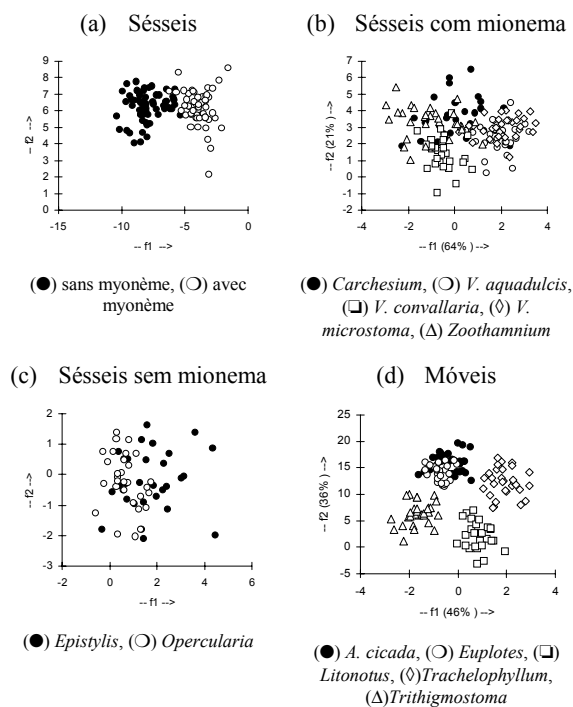


Fig. 12- Posição nos planos  $f_1$ - $f_2$  das diferentes espécies de protozoários

As duas espécies de sésseis sem mionema são relativamente bem separadas, figura 12c. Em relação aos móveis, figura 12d, o problema de separação entre o *Euplotes* e a *A. cicada* não é observado quando utilizamos o plano  $f_1$ - $f_3$ , no qual estes protozoários estão bem separados.

A tabela 2 indica o índice de reconhecimento obtido durante a fase de validação durante a qual foram classificados 30 indivíduos de cada espécie, que não participaram na fase de aprendizagem. A qualidade do reconhecimento foi quantificada segundo o seu grau em: boa (> 70%), de razoável (entre 50 e 70%), de fraca (entre 30 e 50%) e de má (abaixo de 30%).

Os sésseis que encontramos quando a qualidade do tratamento é boa são o *Carchesium* e *Zoothamnium*. De uma maneira geral o índice de reconhecimento foi bom. Os maiores problemas estão ligados ao isolamento das espécies de *Vorticella*. Entretanto, não se considerando a separação das várias espécies, que mesmo para um especialista é difícil podemos considerar a identificação da classe *Vorticella* como razoável.

Algumas espécies de protozoários são indicadores de uma boa qualidade de depuração, outros não fornecem nenhuma informação. A principal preocupação é de identificar os indicadores de mau funcionamento e que possam dar um indicio do problema responsável pelo mesmo.

Dentre as espécies que indicam um bom estado, o *Carchesium* (índice de reconhecimento de 37%), *Vorticella aquadulcis* (53%) e *Zoothamnium* (67%) são os que apresentam maior dificuldade de identificação.

Em relação aos móveis, o índice de reconhecimento é superior a 70% para a *Aspidisca cicada* e para o *Euplotes*.

Até o momento o programa ProtoRec v.2 estava limitado aos protozoários ciliados. Durante o acompanhamento da estação de Braga foi encontrada uma nova espécie, a *Trochillia*, que está sendo incluída na nova versão do ProtoRec, assim como serão incluídas algumas amebas com tecas e de metazoários, indicadores da idade da lama activada.

Tabela 2 : Qualidade e grau de reconhecimento segundo o protozoário durante a fase de validação (+ = boa depuração, - = depuração medíocre).

Tipo de protozoário	Qualidade do reconhecimento	Taxa de reconhecimento (%)	Qualidade do tratamento de depuração
Móveis	Boa	81	
Sésseis favoráveis	Boa	77	+
<i>Trithigmostoma</i>	Boa	73	+
<i>Litonotus</i>	Boa	92	
<i>Trachelophyllum</i>	Boa	77	-
<i>Epistylis</i>	Boa	70	+
<i>Opercularia</i>	Razoável	60	-
<i>V. convallaria</i>	Má	20	-
<i>V. microstoma</i>	Fraca	33	-

#### 4. CONCLUSÕES

Uma nova metodologia para a identificação semi-automática de protozoários ciliados presentes em estações de tratamento de efluentes por lamas activadas foi implementada a partir de trabalhos anteriores (Amaral et al., 1999; Da Motta et al., 2001). Após aquisição das imagens, o programa ProtoRec

faz um pré-tratamento e pede que sejam demarcadas as áreas onde se encontram os protozoários. Em seguida, baseado na silhueta do protozoário calcula 10 parâmetros de forma que irão caracteriza-lo. A classificação é realizada em duas etapas, nas quais o utilizador do programa irá realizar apenas a segunda pois as informações da primeira farão parte do banco de dados do programa. Para a realização de cada etapa

foi utilizada a análise factorial discriminante. O índice de médio de reconhecimento foi de aproximadamente 70%, quando não consideradas as *Vorticellas*.

Ao realizar a análise da lama activada de Braga foi observada uma nova espécie de ciliado, a *Trochillia*, que deverá ser introduzida em breve no ProtoRec.

As informações fornecidas pelos metazoários e amebas poderão fornecer mais informações sobre o estado biológico da estação, devendo portanto serem incluídas na versão 3 do programa.

Em relação ao acompanhamento da estação, pudemos verificar que até três dias de paragem não compromete o estado da microfauna (em termos de rendimento biológico), porém, a partir de seis dias vê-se claramente a degradação do mesmo.

Além da inclusão de novos microorganismos, prevê-se ainda para a nova versão de ProtoRec a introdução de novos parâmetros a fim de obter uma melhor separação e identificação das espécies na fase de tratamento estatístico.

#### REFERÊNCIAS

- Amaral A.L., Baptiste C., Pons M.N., Nicolau A., Lima N., Ferreira E.C., Mota M., Vivier H., (1999) Semi-automated recognition of protozoa by image analysis, *Biotechnology Techniques*, **13**, 111-118.
- Canler J.-P., Perret J.-M., Duchêne P., Cotteux E. (1999) Aide au diagnostic des stations d'épuration par l'observation microscopique des boues activées, Cemagref Editions, Paris.
- Curds C.R. (1992). Protozoa in the water industry, Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Curds C.R., Cockburn A., Vandike J.M. (1968) An experimental study of the role of the ciliated protozoa in the activated-sludge process, *Water Pollution Control*, **67**, 312-329
- Curds C.R., Cockburn A. (1970a) Protozoa in biological sewage-treatment process : I. a survey of the protozoan fauna of British percolating filters and activated-sludge plants, *Water Research*, **4**, 225-236.
- Curds C.R., Cockburn A. (1970b) Protozoa in biological sewage-treatment process – II. protozoa as indicator in the activated-sludge process, *Water Research*, **4**, 237-249.
- Gerardi M.H., Horsfall F.L., et al. (1995) *Wastewater Biology: The microlife*, A Special Publication, Water Environment Federation, Virginie.
- Da Motta M., Pons M.-N., Vivier H., Amaral A. L., Ferreira E. C., Roche N., Mota M. (2001) Study of protozoa population in wastewater treatment plants by image analysis, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, **18** (1), 103 -111
- Einax J.W., Zwanziger H.W., Geiss S., (1997) *Chemometrics in environmental analysis*, VCH-Wiley, Weinheim
- Degrémont (1989) *Mémento Technique de L'eau*, Vol. 1, Lavoisier, Paris.
- Madoni P. (1994a) La microfaune nell'analisi di qualità biologica dei fanghi attivi, AGAC di Reggio Emilia - Università degli Studi di Parma, Parma.
- Madoni P. (1994b) A Sludge Biotic Index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis, *Water Research*, **28** (1), 67-75.
- Madoni P., Atlante Fotografico "Guida all'analisi microscopica del fango attivo", AGAC – Regio Emilia, Università degli Studi di Parma (1996).
- Nicolau A., Lima N., Mota M., Madoni P. (1997) Os protozoários como indicadores da qualidade biológica de lamas activadas, *Boletim de Biotecnologia*, **56**, 14-19.
- Pons M.N., Vivier H., Dodds J.A. (1997) Particle shape characterization using morphological descriptors, *Part. Part. Syst. Charact.*, **14**, 272-277.
- Russ J.C. (1995). *The image processing handbook*. 2<sup>o</sup> edição, CRC Press, Boca Raton
- Sasahara T., Ogawa T. (1983) Treatment of brewery effluent. part IV: protozoa and metazoa found in activated sludge process for brewery effluent, *Monatsschrift für Brauwissenschaft*, **11**, 433-448.

## AN IMAGE ANALYSIS STUDY OF THE TRANSIENT PERFORMANCE IN A WASTEWATER TREATMENT PLANT

**ABSTRACT** The microfauna present in the aeration tanks of a wastewater treatment plant is mainly composed by bacteria, protozoan and metazoan species. The protozoan species can be considered as good indicators of the treatment plant operation in view of their high sensitivity to both physical-chemical and operational phenomena. The relation between the treatment plant parameters and the abundance of certain protozoan species is well known. Another possibility is the qualification of the treatment plant by means of several biotic indices such as SBI. All these procedures require the identification, classification and quantification of the different species. Usually it has been done manually, which implies time and, quite often, the presence of a specialized technician. In the present work, a procedure for the semi-automatic recognition of the above mentioned species by means of image analysis is presented. This program (ProtoRec v.2) was applied in order to study the evolution of the microfauna during transient periods (shutdown and start-up of the treatment plant). The obtained results were, to a certain extent, satisfactory, in which concerns to the recognition of the species. The treatment plant follow-up enabled us to verify both the aging and degradation of the sludge as the rising of the protozoan species that enhances that fact.