

# Aclimação de um resíduo industrial

---

JURANDYR POVINELLI

Professor, Livre Docente, é do Depto. de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos-USP.

---

CARLOS EDUARDO MATHEUS

Biólogo, pertence ao Depto. de Hidráulica e Saneamento da EESC-USP.

---

PAULO FRAGIÁCOMO

Químico, também do Depto. de Hidráulica e Saneamento da EESC-USP.

---

**E**m algumas situações torna-se necessário desenvolver, em laboratório, microrganismos resistentes às condições do resíduo industrial e aptos a estabilizá-lo. Isto pode ser conseguido através da produção de "sementes", ou seja, cultivo de microrganismos aclimatados ou adaptados à degradação do material orgânico de difícil biodegradação.

---

Certos resíduos industriais, ao contrário do esgoto doméstico, caracterizam-se por possuir pouquíssimos ou nenhum microrganismo presente adaptado à sua biodegradação. Isto se deve principalmente às características químicas e composição do próprio resíduo. Em geral, faltam os nutrientes necessários ao desenvolvimento dos microrganismos (principalmente nitrogênio e fósforo). Em outros casos, o resíduo é tóxico à maioria das formas vivas, as quais não possuem um equipamento enzimático devidamente adaptado à utilização do novo substrato como alimento.

Portanto, em situações como estas torna-se necessário desenvolver, em laboratório, microrganismos resistentes às condições do resíduo e aptos para estabilizá-lo. Isto pode ser conseguido através da produção de "sementes", ou seja, cultivo de microrganismos aclimatados ou adaptados à degradação do material orgânico de difícil biodegradação.

"Sementes" são normalmente produzidas em laboratório, através de aeração de águas residuárias (esgoto, por exemplo) com aumento gradativo da dosagem do novo substrato (Branco e Fragiácomo, 1977).

Segundo estes pesquisadores, com a inoculação de "sementes aclimatadas", o crescimento das populações microbianas é acelerado em virtude da presença de enzimas mais eficientes na degradação de maior número de componentes orgânicos do resíduo.

Por conseguinte, aclimação de um resíduo significa o desenvolvimento de uma comunidade biológica adaptada às condições do resíduo. Este procedimento visa sobretudo acelerar e melhorar o rendimento dos processos de tratamento biológico (lodo ativado, por exemplo) já que, em muitos casos, a ausência de semente se traduz em baixa eficiência.

De acordo com Varma, Wan e Prasad (1976), a utilização do substrato exótico por bactérias encontradas no esgoto se origina através de

mecanismos de mutação que ocorrem nas bactérias. Neste processo de aclimação, bactérias mutantes, pré-existent, são selecionadas e fortalecidas para a biodegradação de novos compostos orgânicos.

Todavia, não apenas bactérias tomam parte na degradação biológica da matéria orgânica. Embora as bactérias sejam os elementos mais importantes, inúmeros outros microrganismos também estão envolvidos no processo, cada um possuindo sua parcela de participação.

Diversos trabalhos têm evidenciado, por exemplo, o papel positivo de outros microrganismos, principalmente protozoários, nos sistemas de tratamento biológico de resíduos orgânicos (Curds, Cockburn and Vandyke, 1968; Curds and Cockburn, 1970a, b; Sydenham, 1971; Varma *et al.*, 1975).

Muitas vezes foi observado na prática que quando faltam outros elementos da cadeia trófica, como os protozoários, o processo de estabilização perde em eficiência, tanto no que se refere à remoção da matéria orgânica solúvel (DBO), como na redução de partículas em suspensão.

A bibliografia sobre dinâmica de populações microbianas e sucessão de formas vivas em sistemas de tratamento por aeração mecânica (turbulenta) pode ser considerada escassa. Entretanto, importantes informações estão em McKinney (1962), Hawkes (1963), Warren (1971), Curds e Hawkes (1975) e Branco (1978).

Todos esses autores têm demonstrado que nos processos de aeração turbulenta de águas residuárias (lodos ativados) ocorre uma série de transformações físico-químicas acompanhadas por mudanças na comunidade biológica, com cada tipo de microrganismo possuindo sua própria curva de crescimento.

No início da aeração, surgem primeiramente bactérias que são as responsáveis diretas pela oxidação da matéria orgânica. As bactérias, juntamente com protozoários flagelados saprofíticos (holofíticos), formam o nível trófico básico seguido por protozoários ciliados (holozóicos) que se alimentam de partículas em suspensão, principalmente bactérias. Pequeno número de rotíferos e nematóides (vermes roliços) podem estar presentes em estágios posteriores.

Todos estes organismos tomam parte no processo de estabilização, influenciando de uma forma ou de outra, através de complexos mecanismos de interações ecológicas.

Por este motivo, em ensaios de aclimação, a "semente" ideal deverá possuir toda uma comunidade desenvolvida e não apenas bactérias. Assim sendo, considera-se uma semente como aclimatada quando esta apresentar organismos que caracterizam etapas avançadas de estabilização da matéria orgânica. Isto significa que, para chegar a esta fase, inúmeras mudanças ocorreram, desde o aparecimento dos primeiros organismos holofíticos até formas vivas mais diversificadas que foram gradativamente substituindo umas às outras, no transcurso da sucessão ecológica, vencendo, desta forma, as barreiras impostas inicialmente pelas características ofensivas do resíduo.

## OBJETIVOS

Os principais objetivos deste trabalho foram:

- Estabelecer a seqüência de microrganismos, bem como as suas relações de natureza ecológica com as distintas etapas da evolução de um processo de estabilização da matéria orgânica de um resíduo em fase de aclimação.
- Reconhecer, através de exames microscópicos, a fase em que a "semente" pode ser considerada como aclimatada.

### Descrição do Experimento

O resíduo (a ser aclimatado) utilizado neste trabalho consistiu de uma solução de lactose com concentração de 1 grama por litro. Nesta concentração, a DQO é aproximadamente 1.000mg/l. Por este motivo, para fins práticos de cálculos, diluições etc. este material é altamente desejável para ser utilizado em ensaios de remoção de matéria orgânica (DBO) em células de aeração, aclimação de resíduos e outros trabalhos de natureza semelhante.

Inicialmente, 1 litro de esgoto bruto, coletado na rede que passa próxima ao laboratório, foi submetido à aeração por um período de 24 horas em um erlenmeyer de 3.000ml. Utilizou-se, como fonte de ar, um simples aerador de aquário.

A partir do dia seguinte, foram retirados 500ml de amostra, e o volume restante foi completado com 500ml de resíduo (lactose, 1g/l), mantendo-se a aeração.

Este procedimento era feito diariamente. Todos os dias também eram adicionados 1ml das seguintes soluções nutrientes, com o objetivo de manter o nível energético no interior do reator:

- $K_2H_2PO_4$  (7,165 g/l)
- $NH_4Cl$  (38,19 g/l)
- Cloreto férrico (0,25 g/l)
- Sulfato de Magnésio (22,5 g/l)
- Cloreto de cálcio (27,5 g/l)

Portanto, com o passar dos dias o esgoto inicial foi sendo gradativamente substituído pelo novo substrato (lactose). O processo foi acompanhado diariamente através de medidas de pH, temperatura, contagem total de colônias em placas e exames microscópicos.

### RESULTADOS

Os resultados das medidas de temperatura, pH e contagem de colônias estão na Tabela 1. A Tabela 2 ilustra as observações microscópicas.

TABELA 1

Valores de pH, temperatura e número total de bactérias, encontrados nos diversos dias de aeração do resíduo em fase de aclimação.

DATA	pH	TEMPERATURA (°C)	CONTAGEM TOTAL DE COLÔNIAS DE BACTÉRIAS EM PLACAS/ml
17/11	6,5	25,0	-
18/11	7,4	24,0	-
19/11	6,8	24,5	-
20/11	7,2	25,5	$24 \times 10^{-6}$
21/11	6,9	25,5	$115 \times 10^{-6}$
22/11	6,7	24,5	$13 \times 10^{-5}$
23/11	6,4	24,0	$183 \times 10^{-5}$
24/11	6,7	24,5	$240 \times 10^{-4}$

De acordo com McKinney (1962), quando inicia a aeração de um resíduo orgânico, a relação alimento/microrganismo é muito alta, de tal forma que os microrganismos possuem ao seu dispor excesso de alimento. Portanto, o crescimento inicial das populações obedece uma taxa logarítmica. Durante esta fase, a matéria orgânica é removida ao máximo com conversão ótima deste material em novas células. O nível energético é suficientemente alto para manter todos os microrganismos dispersos e a alta velocidade do metabolismo bacteriano é responsável por uma alta demanda de oxigênio (maior remoção de DBO). Em compensação, a floculação dificilmente ocorre. Nesta etapa da estabilização bioquímica, também chamada fase log de crescimento, predominam bactérias dispersas que têm um papel fundamental, ou seja, são responsáveis diretas pela oxidação da matéria orgânica. Através de enzimas extracelulares liberadas ao meio, solubilizam a matéria orgânica do resíduo assimilando em seguida este material através da membrana celular. Quase simultaneamente com as bactérias, mas com certo tempo de retardo (geralmente após 24 horas de aeração), surgem protozoários flagelados que também se alimentam de matéria orgânica em solução.

Conforme relato de Curds e Hawkes (1975), o aparecimento de grande número de flagelados geralmente está associado a grandes concentrações de matéria orgânica do meio. A Tabela 2, referente às observações microscópicas, ilustra muito bem o que foi comentado.

Nas primeiras 24 horas de aeração, apenas foram observadas bactérias e protozoários flagelados. Neste momento, a disponibilidade de matéria orgânica é ainda muito grande. Este estágio, onde predomina a utilização de matéria orgânica em solução, é conhecido como fase holofítica (holo = todo; fítico = relativo à alimentação dos vegetais).

À medida que o tempo vai passando, novas mudanças vão ocorrendo, tanto no aspecto físico-químico, como no biológico. Com o aumento do número de bactérias, surgem os primeiros protozoários ciliados livre-natantes (do grupo holotrichia) que se nutrem de partículas orgânicas em suspensão, inclusive das próprias bactérias das quais são predadores naturais. Por isso mesmo, encontram um ambiente muito favorável a sua expansão, atingindo em poucas horas números elevados. É o início da fase holozóica (alimentação de partículas por ingestão, característica dos animais), que vai perdurar até o final do período de aeração.

Na verdade, não existe uma separação entre as fases holofítica e holozóica. Em todo momento da aeração, sempre haverá organismos holofíticos e holozóicos vivendo conjuntamente. Isto porque a morte de células, lise, processos de degradação e solubilização de matéria orgânica estão ocorrendo simultaneamente em todos os instantes. O que ocorre é a predominância absoluta da nutrição holofítica no início da aeração e, a partir de certo momento, começa a predominar a holozóica.

Neste início da fase holozóica, a presença de muitas bactérias ativas (em movimento Browniano) e grande quantidade de ciliados livre-natantes em intensa movimentação indicam um ambiente ainda rico em alimentos (alto nível energético). Neste estágio da sucessão ecológica, este nível de energia é suficiente para manter todos os microrganismos dispersos, evitando processos de floculação.

Alguns autores, entre os quais Curds e Fey (1969), Curds e Vandyke (1966) e Curds e Cockburn (1970), têm revelado que os protozoários ciliados são os principais agentes de remoção de bactérias em sistemas de tratamento por lodos ativados. Curds e Fey (1969), demonstraram inclusive que a meia-vida de *Escherichia coli* em estações de tratamento de esgoto contendo ciliado, foi de 1,8 horas, comparado com 16 horas em estações similares onde protozoários ciliados estavam ausentes. Outros trabalhos têm demonstrado, também, que em estações de lo-

dos ativados que produzem efluentes de boa qualidade contêm ampla variedade de espécies de protozoários ciliados, encontrados geralmente em grande quantidade. Ao contrário, efluentes turvos de baixa qualidade não apresentavam ciliados ou, se estavam presentes, ocorriam em números reduzidos (Curds e Vandyke, 1968).

Certos autores, entre os quais Cutler e Bal (1926), Meikle John (1952) e Johannes (1965), citados em Curds, Cockburn e Vandyke (1968), sugerem que as atividades predatórias dos ciliados evitam que populações bacterianas atinjam números excessivos, onde a taxa de assimilação de matéria orgânica é inibida, isto é, ela é mantida em uma fase de estado fisiológico na qual é mais intensa a remoção de DBO.

De acordo com Warren (1971), a eficiência de remoção de DBO e a clarificação do efluente tendem a aumentar através dos estágios de sucessão, tipificados por diferentes tipos de protozoários. Segundo este autor, protozoários amebóides e flagelados são geralmente indicadores de estágios iniciais, ciliados livre-natantes indicam fases intermediárias e finalmente ciliados fixos (pedunculados ou não) evidenciam estágios mais avançados e muito eficientes.

Curds e Cockburn (1970a, b) têm até sugerido que a faixa de DBO do efluente pode ser predita através do conhecimento da estrutura em espécies de populações de protozoários vivendo nos reatores.

No presente trabalho, como já era esperado, os ciliados livre-natantes foram observados em pequeno número no terceiro dia de aeração, atingindo o pico máximo de desenvolvimento por volta do quarto dia, principiando a declinar em seguida (Tabela 2).

O processo de evolução da comunidade e mudanças bioquímicas não param com o aparecimento dos ciliados livre-natantes.

À medida que a matéria orgânica vai sendo consumida e novas células produzidas, a relação alimento/microorganismos cai rapidamente, chegando num ponto no qual o alimento torna-se limitante e o ritmo de crescimento das populações bacterianas e de protozoários ciliados livre-natantes sofre acentuado decréscimo (fase de declínio de crescimento), ocorrendo o aparecimento dos primeiros flocos.

A concentração de alimento continua a diminuir e os microorganismos continuam a aumentar, mas em uma taxa muito lenta. A relação alimento/microorganismos mínima é alcançada no fim da fase de declínio, onde se inicia a fase endógena. Esta fase é caracterizada por intensa produção de flocos com grande poder de sedimentação. O floco é formado por uma massa de células, produtos celulares e materiais adsorvidos, tendo estrutura e função essenciais nos processos de lodos ativados, pois é a partir da produção de flocos que ocorre a separação das fases sólida e líquida. Os flocos são, na verdade, formados basicamente

**TABELA 2**  
**Observações microscópicas\***

Características do meio e microrganismos presentes	17/11	18/11	19/11	20/11	21/11	22/11	23/11	24/11
Bactérias isoladas	++	+++	+++	++++	+++	++	+	+
Bactérias coloniais ( <i>Zooglea ramigera</i> )			+	++	+++	++	++	++
Bactérias filamentosas ( <i>Beggiatoa sp</i> )							++	+
Protozoários rizópodos (amebas)			+	+++	++	++	++	+
Protozoários flagelados		+	++	++	++	++	++	+++ <i>Euglena sp</i>
Protozoários ciliados livres-natantes		+	+	+++	++	++	++	+
Protozoários ciliados fixos				+	+	-	-	-
Cistos de Protozoários					+++	+++	+++	+++
Rotíferos					+	+	+	+
Nematóides							+	+
Flocos compactos				+	+++	+++	+++	+++
Flocos filamentosos							++	
Outras informações	A partir do 5º dia de aeração foram observados protozoários do gênero <i>Styloichia</i> , que são indicadores de altos graus de estabilização da matéria orgânica.							

\*Convenção adotada  
+ pouco freqüentes  
++ moderadamente freqüentes  
+++ muito freqüentes

por uma massa bacteriana imobilizada, carente de energia, vivendo de suas próprias reservas.

Diversas teorias têm sido propostas para explicar a floculação. Os primeiros estudos consideravam que a floculação era causada especificamente por uma bactéria (*Zooglea ramigera*). Esta bactéria promoveria a floculação pela secreção de uma matriz gelatinosa, na qual organismos e materiais do meio eram aderidos.

Hoje se sabe que grande variedade de bactérias têm a capacidade de produzir flocos.

De acordo com Branco (1978), o ponto de vista defendido hoje (o mais aceito) é que a floculação é proporcionada por características coloidais da massa bacteriana, somada à intensidade da atividade metabólica dos microrganismos. De acordo com este autor, as bactérias comportam-se como colóides inorgânicos.

As partículas coloidais se encontram sujeitas a dois tipos de forças antagônicas, que são válidas também para as células bacterianas:

— potencial eletrocinético (carga eletrônica superficial), também chamado potencial zeta. Esta força é originada pela adsorção de íons do meio pelas próprias bactérias. Esta força tende a repelir mutuamente as bactérias, já que estas possuem cargas de mesmo sinal;

— força de Van der Waals, de natureza intermolecular, responsável pela atração entre as partículas.

Quando duas partículas se chocam, duas coisas podem então ocorrer:

*Aglutinação* (floculação) — quando o potencial zeta é menor do que a força de Van der Waals;

*Repulsão* — quando o potencial zeta é maior.

Entretanto, reconhece-se outro fator que influencia os processos de dispersão e floculação. É o nível energético do meio. Em meio rico em energia (alimento, nutrientes), as bactérias possuem grande mobilidade. Elas fogem à floculação devido à sua própria energia se opondo às forças de Van der Waals.

Portanto, nunca há floculação quando as bactérias se encontram na fase log de crescimento (fase em que o meio está rico em alimento) e apenas são floculadas as bactérias que estão nas fases de declínio e endógena, quando são esgotados os nutrientes.

Desta forma, a floculação está condicionada tanto às propriedades coloidais quanto à capacidade energética do meio.

No presente trabalho, o início da floculação ocorreu por volta do quarto dia de aeração, momento em que o sistema estava entrando na fase de declínio de crescimento, partindo em seguida para a fase endógena. Este fato coincidiu com a queda do número de ciliados livre-natantes já no dia seguinte. Esta informação, referente à diminuição dos protozoários livre-natantes, é muito importante, pois sendo estes organismos muito ativos, demandam muita energia, e quando o nível energético diminui, não há mais condições de suportar elevadas concentrações destes animais.

Com a queda do nível energético, os protozoários ciliados livre-natantes começam a se incistar. Através do processo de formação de cistos, estes microrganismos secretam uma película protetora, passando a viver gastando o mínimo de energia através da redução drástica de sua taxa metabólica.

No atual trabalho, o incistamento coincidiu com a fase de produção de flocos, confirmando o raciocínio delineado acima, o qual se relaciona com a queda do nível energético.

Ao mesmo tempo que ocorreu a diminuição dos ciliados livre-natantes com intensa produção de cistos, surgiram ciliados fixos (peritricheos), do gênero *operculária* os quais são microrganismos indicadores universais de condições ótimas de floculação (Branco, 1964, 1978), esclarecendo ainda mais os processos envolvidos. Todos estes fenômenos foram claramente observados no atual experimento (Tabela 2).

Durante a fase endógena, a relação alimento/microrganismos permanece constante, por isto comenta-se que é uma fase muito estável. Somente pequena quantidade de alimento permanece não metabolizado ou é transformada numa taxa bem lenta. A demanda de energia para manter a vida é muito pequena em comparação com a demanda necessária para o desenvolvimento e produção de células.

As bactérias, nesta fase, são incapazes de obter energia dos alimentos remanescentes no líquido e então principiam a metabolizar suas próprias reservas no interior da célula.

Com o passar do tempo, graus ainda maiores de estabilização vão sendo atingidos, com mudanças também na comunidade biológica. Os ciliados fixos são substituídos por rotíferos e nematóides que se alimentam diretamente de pedaços dos flocos formados. Segundo McKinney (1962), estes organismos geralmente surgem e predominam em sistemas com oxidação completa. Eles podem utilizar fragmentos de flocos e sobrevivem depois de todas as bactérias dispersas terem sido eliminadas pelos protozoários. Eles indicam, portanto, um sistema biologicamente estável. De acordo com o mesmo autor, protozoários ciliados do gênero *Stylonichia* também indicam as mesmas condições de estabilização.

No atual trabalho, rotíferos surgiram no quarto dia, enquanto *Stylonichia* no quinto dia e permaneceram até o final do experimento, evidenciando um alto grau de oxidação, estando de acordo, portanto, com a literatura citada.

Com relação aos fatores ambientais, o sistema em estudo esteve sempre muito estável, não ocorrendo grandes oscilações que poderiam comprometer os resultados.

De acordo com McKinney (1962), os fatores ambientais mais importantes em sistemas de lodos ativados são a temperatura e pH. Bactérias predominam geralmente em pH entre 4,5 e 9,0. Abaixo de 6,5 os fungos começam a competir com bactérias com predominância total desses últimos em pH 4,5. Acima de 9,0, há um retardamento na taxa de metabolismo bacteriano.

A temperatura é importante nas reações biológicas. Aumento de 10°C resulta na duplicação da velocidade das reações. Em altas temperaturas a velocidade das reações pode exceder a capacidade do sistema em permanecer aeróbio. Baixas temperaturas, por outro lado, resultam em baixo metabolismo bacteriano com queda da eficiência de remoção da matéria orgânica.

Fatores como temperatura e pH não podem, portanto, exceder os limites de tolerância dos microrganismos. Em linhas gerais, uma temperatura de 20-25°C e pH entre 6,5 e 7,5 são considerados bons.

No presente experimento, as condições ambientais se mostraram bastante estáveis, não ocorrendo mudanças bruscas de temperatura e pH. Portanto, a "semente" pôde ser desenvolvida sem eventuais inibições por valores extremos dos fatores acima mencionados (Tabela 1). Os resultados da contagem de colônias em placas (também ilustrado na Tabela 1) mostram que o número máximo de bactérias foi atingido no quinto dia de aeração, estando, portanto, em concordância com os exames microscópicos que revelaram queda do nível energético a partir do quarto dia, através do aparecimento dos ciliados fixos, intenso incistamento e produção de flocos.

Resumindo, o reconhecimento microscópico de formas vivas predominantes em dado instante, bem como a presença ou não de flocos, permite estabelecer qual a fase em que se encontra o sistema, ou o reconhecimento aproximado do nível energético, ou seja, do alimento disponível que está também relacionado com o grau de estabilização atingido.

Quando sinais de alta estabilização são visualizados microscopicamente, podemos admitir que o resíduo está aclimatado, ou seja, foram desenvolvidas neste espaço de tempo populações microbianas capazes de utilizar o novo substrato como alimento, permitindo a instalação de uma comunidade biológica

adaptada, constituindo-se em um ecossistema de tratamento aeróbio característico, com todos os níveis tróficos cabíveis.

Portanto, pode-se concluir que, no presente estudo, a aclimatação foi atingida entre o quarto e o quinto dia de aeração. Microscopicamente, esta fase caracterizou-se por possuir cílios fixos (considerados indicadores universais de floculação e, portanto, do decaimento energético), grande número de cistos de protozoários e intensa floculação que indicam a mesma coisa, além de rotíferos que geralmente estão associados com altos graus de estabilização.

O reconhecimento de que a aclimatação foi atingida se baseia também no raciocínio de que se o resíduo aclimatado permitir o desenvolvimento de uma rica composição biológica, indica que esta comunidade diversificada desenvolveu processos adaptativos de seleção e mutação, incluindo o desenvolvimento de mecanismos fisiológicos, tais como aprimoramento de enzimas, capazes de degradar eficientemente o novo substrato. Sendo assim, esta comunidade pode ser utilizada como "semente", e com sucesso, para degradar o mesmo substrato nos reatores biológicos em escala real.

Deve ser frisado que, em determinadas situações, todo indicador biológico (índice) deve ser aceito com precaução, pois eles supersimplificam situações ecológicas extremamente complexas.

Entretanto, em muitos casos, como pequenos sistemas ou sistemas bem conhecidos, ou em ensaios de aclimatação como este, os microrganismos podem ser extremamente úteis para a elucidação dos fenômenos que ocorrem nos reatores. Neste caso, os microrganismos atuam como indicadores bioquímicos e químicos instantâneos. Assim sendo, eliminam a necessidade de análises químicas mais complexas e demoradas.

Todavia, o uso de microrganismos como indicadores deve ser sempre baseado na experiência do observador.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 — Branco, S.M. (1964). *Biologia do tratamento de esgotos*. Revista DAE. 25(55): 99-115..  
2 — Branco, S.M. (1978). *Hidrobiologia Aplicada à Engenharia Sanitária*. Cetesb — SP.

3 — Branco, W.C. e Fragiácomo, P. (1977). *Influência da qualidade do "inoculum" (semente) na determinação Bioquímica de Oxigênio (DBO) de resíduos industriais biodegradáveis*. 9.º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental — ABES — Belo Horizonte, MG.

4 — Curds, C.R. and Cockburn, A. (1970a). *Protozoa in Biological Sewage — Treatment Process. I — A survey of the Protozoa Fauna of British Percolating Filters and Activated — Sludge Plants*. Water Research Pergamon Press. Vol. 4. p. 225-236.

5 — Curds, C.R. and Cockburn, A. (1970b). *Protozoa in Biological Sewage — Treatment Process. II — Protozoa as indicator in the Activated Sludge Process*. Water Research Pergamon Press. Vol. 4. p. 237-249.

6 — Curds, C.R. and Fey, G.D. (1969). *The Effect of Ciliated Protozoa on the Fate of Escherichia coli in the Activated — Sludge Process*. Water Research Press. Vol. 3: 853-867.

7 — Curds, C.R. and Vandyke, C.J.M. (1966). *The Feeding habits and Growth Rates of Some Fresh-Water ciliates found in Activated — Sludge Plants*. J. Appl. Ecol. 3, 127-137.

8 — Curds, C.R.; Cockburn, A. and Vandyke, V.M. (1968). *An Experimental Study of the Role of Ciliate Protozoa in the Activated Sludge Process*. Journal of the Institute of Water Pollution Control. N.º 3: 2-19.

9 — Hawkes, H.A. (1963). *The Ecology of Wastewater Treatment*. Oxford, Pergamon Press.

10 — McKinney, R.E. (1962). *Microbiology for Sanitary Engineers*. McGraw-Hill Book Company.

11 — Sydenham, D.H.V. (1971). *A Re-Assessment of the Relative Importance of Ciliates, Rhizopods and Rotatorians in the Ecology of Activated Sludge*. *Hidrobiologia*. Vol. 38 (3-4): 553-563.

12 — Varma, M.M.; Finley, H.E. and Bennet, G.H. (1875). *Populations Dynamics of Protozoa in Wastewater*. J.W.P.C.F. (Vol. 47) 1:85-92.

13 — Varma, M.M.; Wan, L.W. and Prasad, C. (1876). *Aclimation of Wastewater Bacteria. Induction or Mutation Selection*. J.W.P.C.F. Vol. 48(5), maio, 832-834.

14 — Warren, C.F. (1971). *Biology and Water Pollution Control*. W.B. Saunders Company.