

**COAGULAÇÃO EMPREGANDO *Moringa oleifera* E FILTRAÇÃO PARA
REMOÇÃO DE OOCISTO DE *Cryptosporidium*spp POR SIMULAÇÃO COM
MICROESFERAS DE POLIESTIRENO**

**COAGULATION USING *Moringaoleifera* AND FILTRATION TO REMOVE
OOCYSTS OF *Cryptosporidium spp* THROUGH SIMULATION WITH
POLYSTYRENE MICROESPHERES**

Prof. Dr. José Euclides StippPaterniani - Faculdade de Engenharia Agrícola da UNICAMP

Dr. Marcelo Jacomini Moreira da Silva – Eng. Agrícola - Pós–doutorando da Faculdade de Engenharia Agrícola da UNICAMP

MSc. Adriana Ribeiro Francisco - Tecnóloga em Saneamento Ambiental - Doutoranda da Faculdade de Engenharia Agrícola da UNICAMP

Número do Processo FAPESP: 2010/16223-0

**COAGULAÇÃO EMPREGANDO *Moringa oleifera* E FILTRAÇÃO PARA
REMOÇÃO DE OOCISTO DE *Cryptosporidium* spp POR SIMULAÇÃO COM
MICROESFERAS DE POLIESTIRENO**

**COAGULATION USING *Moringaoleifera* AND FILTRATION TO REMOVE
OOCYSTS OF *Cryptosporidium* spp THROUGH SIMULATION WITH
POLYSTYRENE MICROESPHERES**

RESUMO

Entre as etapas de tratamento de água, a coagulação é essencial para que partículas e organismos vivos nocivos à saúde humana sejam removidos com sucesso.

O oocisto do *Cryptosporidium* spp. é responsável por problemas em estações de tratamento de águas, devido sua resistência à cloração ou falhas durante o processo de coagulação/floculação.

O coagulante natural à base de *Moringa oleifera* é conhecido por obter bons resultados no tratamento de água, melhorando a eficiência para as próximas etapas de sedimentação e filtração. A solução coagulante a base de *Moringa oleifera* pode ser uma alternativa promissora para a remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp., e seguido de um meio filtrante, esses organismos podem ficar totalmente retidos com os flocos formados durante a coagulação. Para que não haja riscos de contato com o protozoário, há estudos que empregam microesferas fluorescente de poliestireno, como substituta dos oocistos.

Os resultados mostraram que a coagulação com *Moringa oleifera* seguida de filtração retém microesferas de poliestireno ao longo da carreira de filtração, com eficiência de remoção de 99,99%. Contudo, a coagulação com sementes de *Moringa oleifera* seguido de filtração com manta sintética não-tecida mostra-se promissor no tratamento de água para a remoção de microesferas e consequente remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp.

Palavras-chave: Tratamento de água. Microesferas fluorescente. Semente de *Moringa oleifera*. Manta sintéticas não-tecidas.

ABSTRACT

Coagulation is an essential stage among the ones involving water treatment, so the elimination of particles and living organisms harmful to human health can be successfully removed. Waterborne outbreaks can occur when those organisms go beyond the treatment barrels.

The oocyst of *Cryptosporidium* spp. is responsible for problems in water treatment stations, due to its resistance to chlorination or failures during the process of coagulation/ flocculation. Among regions where there is no water treatment, it is necessary to search for alternatives that may replace conventional procedures.

Natural coagulant based in *Moringaoleifera* is known as a good alternative that produces good results concerning to water treatment, improving the efficiency of the subsequent stages: sedimentation and filtration. The coagulant solution based on *Moringaoleifera* can be a promising alternative in what concerns the removal of

oocysts of *Cryptosporidium* spp, and followed by a filtrate media, these organisms can be totally retained with the flakes formed during coagulation. To guaranteed no risk of contact with the protozoan, there are studies replacing the oocysts for fluorescent polystyrene microspheres.

The results showed that coagulation with *Moringaoleifera* followed by filtration retains polystyrene microspheres along the filtration career, with a removal efficiency of 99.99%. Therefore, the coagulation with *Moringaoleifera* seeds followed by nonwoven synthetic fabrics filtration seems promising in water treatment to remove microspheres and, therefore, the removal of oocysts of *Cryptosporidium* spp.

Key-words: Water treatment. Fluorescent microspheres. Seeds of *Moringaoleifera*. Synthetic non-woven mat.

INTRODUÇÃO

Um protozoário com grande grau de periculosidade e muito frequente nos maiores surtos já existentes mundialmente é o *Cryptosporidium spp.*, e uma vez seus oocistos presentes em águas de consumo humano podem causar danos à saúde humana e animal. Como a cloração não garante inativação completa desses organismos é necessário que as estações de tratamento de água tenham sistemas de tratamento eficazes, principalmente durante a coagulação e a filtração (KEEGAN *et al.*, 2003).

Desta forma, esses organismos podem ser retidos no decorrer dessas etapas de tratamento e com isso viabilizando água de melhor qualidade para consumo. Além disso, é preciso buscar alternativas economicamente viáveis voltadas às populações que não possuem infra-estrutura em saneamento, para que possa atender os principais parâmetros básicos de qualidade de água.

Alternativas como os sistemas de Filtração, podem ser alternativas viáveis economicamente por obter materiais de fácil acesso. Também como agente coagulante é possível utilizar coagulantes naturais capazes de remover material particulado em suspensão e reduzir o número de muitos organismos presentes em água. Um coagulante natural empregado no tratamento de água em pequenas comunidades é a semente proveniente da árvore de *Moringa oleifera* (BEZERRA; MOMENTÉ; MEDEIROS FILHO, 2004).

Alguns estudos tem mostrado que a utilização de substitutos de oocistos de *Cryptosporidium* para avaliar a efetividade de tratamentos tem sido empregados como alternativo para evitar a utilização do protozoário em pesquisas, e desta forma muitas vantagens são observadas como o custo, já que as análises para esses organismos são possuem custos elevados e a diminuição do risco de contaminação por esses oocistos. Entre esses substitutos, as microesferas de poliestireno tem se mostrado uma opção favorável por obter algumas características similares a do oocisto (BROWN; EMELKO, 2009).

Tendo em vista a importância da eliminação desses protozoários em águas de abastecimento, este trabalho terá como objetivo empregar um sistema de Filtração e o coagulante natural proveniente da semente de *Moringa oleifera* para a remoção de microesferas de poliestireno. Com isso é esperado que com a coagulação e o sistema de filtração, as microesferas fiquem retidas nesses processos de tratamento, e desta forma possibilita considerar para os oocistos de *Cryptosporidium*.

Assim, podendo tornar uma alternativa viável do ponto técnico e econômico de tratamento de água voltado principalmente para atender populações que não possuem tratamentos convencionais.

DESENVOLVIMENTO

Unidade de Mistura e de Contato

A mistura rápida da água utilizada nos ensaios com o coagulante a base de *Moringa oleifera* em solução foi realizada no equipamento de Jar-test, mantendo a configuração geométrica padronizada do equipamento, empregando o gradiente de velocidade de 400 s^{-1} por 20 segundos, enquanto que para a mistura lenta adotou-se o tempo de mistura de 30 minutos, com gradiente de velocidade igual a 40 s^{-1} .

A fim de manter os flocos formados em suspensão para serem conduzidos ao sistema de filtração, foi mantido o gradiente de velocidade em 15 s^{-1} no Jar-test, evitando, assim, a sedimentação dos flocos nos jarros.

Para a condução da água floculada aos filtros, os jarros foram adaptados com um ponto de saída localizado a 0,9cm do fundo do jarro (FIGURA 1) com o objetivo de se utilizar o maior volume de água possível.



FIGURA 1: Jarros com furação adicional

Também se utilizou o recurso de aproximar as pás do equipamento do fundo dos jarros, a uma distancia de 1,5cm, pois foi observado a sedimentação dos flocos nos jarros a partir do momento em que o nível da água atingia níveis abaixo do contato com as pás na configuração padronizada do equipamento Jar-test, como mostrado na Figura 2, ressalta-se portanto que a partir do início da dosagem da água coagulada nos filtros deixamos de ter a condição padrão dos ensaios de Jar-test.

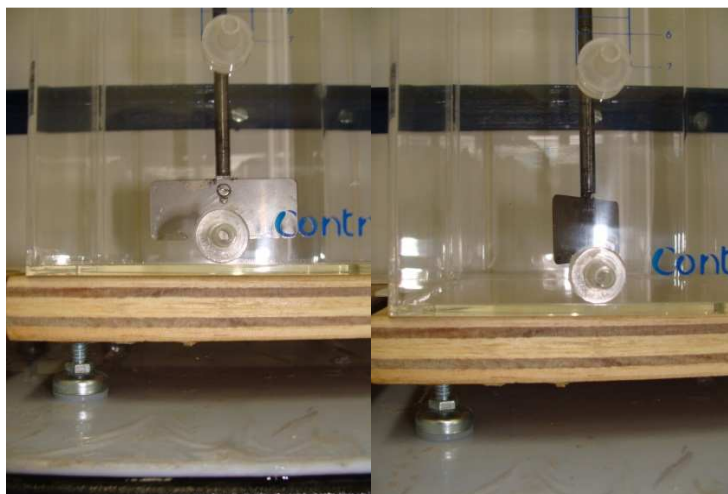


FIGURA 2: Jarros elevados do equipamento Jar-test para evitar sedimentação nos instantes finais da dosagem da água

A saída dos jarros foi feita de modo que os jarros interligados por tubos flexíveis foram utilizados como afluentes do sistema de filtração em mantas sintéticas não tecidas. O controle de vazão foi feito por uma única válvula, comum as saídas dos 6 jarros.

Unidade de Filtração em Mantas Sintéticas Não Tecidas

O filtro de mantas sintéticas não tecidas foi montado em uma estrutura com diâmetro de 100 mm (FIGURA 3).



FIGURA 3: Unidade de Filtração em Mantas Sintéticas não Tecidas

A composição do meio filtrante foi formada por 5 cm de camadas de mantas sintéticas não tecidas, cujas características estão disponíveis no Quadro 1.

Espessura	4 mm
Gramatura	600 g/m ² 1,68 a 2,40 mm
Fabricante	OBER

QUADRO 1: Características das mantas sintéticas não tecidas utilizadas

Adotou-se para o filtro lento com mantas não tecidas uma taxa de filtração de 2 m³/(m².dia). Essa taxa é considerada a mínima por Di Bernardo, Brandão e Héler (1999).

O valor da vazão será ajustado periodicamente ao longo da carreira de filtração, e considerando o volume disponível após a dosagem dos jarros

PREPARAÇÃO DA ÁGUA PARA REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS

Para o tratamento utilizaram-se água turva preparada sinteticamente com adição de bentonita, de acordo com trabalhos realizados por Arantes (2010). Essa água foi preparada em Jar Test com gradiente de mistura de 400 s⁻¹ por 30 minutos, contendo em cada jarro 2 L de água destilada e uma quantidade de 0,1 g de bentonita para cada jarro. Após agitação nos jarros transferiu-se para um recipiente reservado por 24 horas para decantação do excesso de bentonita.

A água preparada com bentonita foi utilizada em uma primeira etapa para observar a remoção de turbidez no tratamento. Com isso transferiu-se um volume de 2 L de água em um total de 6 jarros do Jar Test. Processaram-se 15 s de mistura rápida, com gradiente de 400 s⁻¹, e 30 minutos de mistura lenta com gradiente de 40 s⁻¹. Decorrido esse tempo, a água foi filtrada em cinco camadas de mantas sintéticas não tecidas. As coletas de amostras para leitura de turbidez foram realizadas a cada 15 minutos, com ajustes de vazão por um período de 240 minutos. Foi necessária a realização de um ensaio testemunha, com as mesmas condições que as anteriores para observar o desempenho da filtração, porém sem a presença do coagulante a base de semente de *Moringa oleifera*.

Nesta mesma água foi adicionada cerca de 2×10^6 microesferas fluorescentes de poliestireno, contadas previamente em Câmara de Neubauer, para posterior observação da eficiência do tratamento empregado.

O extrato de sementes de *Moringa oleifera* foi preparado a partir de sementes pré-selecionadas, com massa que variava em um intervalo de 0,200 a 0,300 gramas. Essas sementes passavam por um moedor, sendo triturada a pó que transferido para uma peneira com abertura de 0,8 mm. O preparo de solução foi realizado em concentração de peso/volume à 2% a partir do pó pesado (ARANTES, 2010). A solução foi filtrada em tela de abertura de 125 μm para retirada de partículas maiores presentes, e transferida para os jarros a uma concentração de 25 mg.L^{-1} .

METODOLOGIA PARA CONTAGEM DAS MICROESFERAS DE POLESTIRENO

Os procedimentos realizados para isolar as microesferas foi o mesmo empregado para os oocitos de *Cryptosporidium spp.* As amostras foram filtradas em membrana de éster e celulose com porosidade nominal de 1,2 μm , extraída mecanicamente com raspagens e lavagem com solução de eluição (Tween 80 à 0,1%), por duas vezes. Ao final da extração, o volume é concentrado em um tubo falcon e centrifugado 2 vezes a $1050 \times g$ por 15 minutos. Após esse procedimento, o conteúdo excedente é descartado e o líquido suspenso é transferido para um tubo eppendorf, onde é concentrado cerca de 1mL de amostra para o preparo em lâmina. A partir desse ponto existe a diferença que para as microesferas não precisa adição do Isotiocianato de Fluoresceína (FITC) que é utilizado nas análises de detecção de *Cryptosporidium spp.* Essas microesferas apresentam fluorescência similar ao FITC (EMELKO; HUCK; DOUGLAS, 2003; CERQUEIRA, 2008).

Em informações do fabricante (Polyscience, Inc.), essas microesferas possuem um tamanho de $3 \mu\text{m}$ e encontra-se armazenada frasco com 2,5 % em suspensão aquosa ($1,69 \times 10^9$ partículas/mL). Visualizando em microscópio com excitação máxima de 441 nm e emissão máxima de 486 nm. A contagem de microesferas é realizada em objetiva de 400 vezes em um microscópio de Epi-fluorescência (Motic, Mod. BA410). Ao final a contagem é realizada em lâmina e convertida por equivalência em microesferas por Litro.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram realizados ensaios preliminares em escala de bancada, tendo a intenção em utilizar água com baixos índices de turbidez e microesferas fluorescente de poliestireno. Para águas com baixas turbidez, aproximadamente 17 NTU, verificou-se que a dosagem ótima de solução foi de 25 mg.L^{-1} .

A partir dessa dosagem empregaram-se ensaios de coagulação/floculação seguida de filtração em camadas de mantas sintéticas não tecidas. Essas mantas geralmente são empregadas na filtração lenta em conjunto com camadas de areia. Entretanto, para este trabalho utilizou-se apenas mantas, os quais foram sobrepostas em um filtro a base de garrafa de PET (Poli (tereftalato de etileno)).

O método de filtração utilizado consiste em um filtro de garrafa PET composto por 5 camadas de manta sintéticas não tecidas. Anteriormente essas camadas são embebidas em água destinada, para que seja melhor a passagem de água no momento da filtragem.

A água utilizada na filtração é sinteticamente preparada com adição de bentonita e microesferas conforme metodologia de preparo já citado anteriormente.

Antes da passagem pelo filtro, ocorreu agitação em reatores estáticos, conhecidos como Jar Test, para promover coagulação/floculação. Ao início do experimento ocorreu em Jar Test mistura rápida de 400 s^{-1} por 30 s e 40 s^{-1} de mistura lenta em um intervalo de 30 minutos, para promover a coagulação e a floculação, respectivamente. Após esse intervalo, para que não ocorresse sedimentação dos flocos durante a filtragem foi alterada as características do equipamento Jar Test para promover a homogeneização mínima existente de todo o volume de líquido ao longo da filtração. Para isso, suspenderam-se todos os jarros, de modo que as paletas alcançasse o fundo e não ocorresse formação de flocos na base dos jarros.

Para seguir o sistema de filtração, todo o líquido foi transferido por meio de conexões e mangueiras para uma única saída por onde foi controlada vazão a cada 15 minutos. Essa saída foi considerada afluente do filtro de garrafa PET, por onde permaneceu filtrando a um intervalo de 4 horas. Durante esse intervalo de tempo, foram efetuadas coletas a cada 30 minutos na saída dos filtros, totalizando ao final 8 amostras do efluente, e mais uma amostra pós jarros, antes da entrada no filtro. As amostras foram encaminhadas para leitura de turbidez, e em seguida as para procedimento de extração das microesferas.

Concluída a primeira etapa, empregou-se o uso de microesferas fluorescente de poliestireno com aproximadamente $3 \mu\text{m}$. Em uma segunda etapa foi inoculado no sistema uma concentração de 3×10^{11} microesferas por Litro, utilizando uma contagem preliminar com o auxílio de câmara de Neubauer. As condições de dosagem de coagulante e gradientes de misturas foram as mesmas empregadas que na primeira etapa. Entretanto, apenas no sistema de filtração em mantas, as coletas foram efetuadas em intervalos de 30 minutos, por um período de 240 minutos.

A partir pós-tratamento com *Moringa oleifera* não foi possível observar alterações significantes na turbidez da água após o período de mistura lenta nos jarros, como mostra a Gráfico 1.

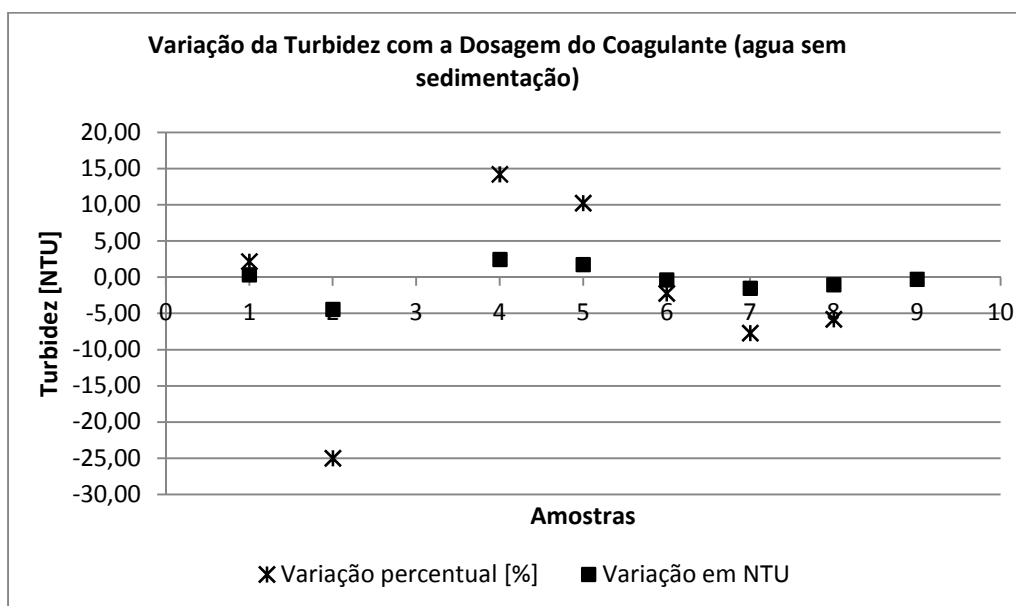


GRÁFICO 1: Variação da turbidez da água com a dosagem de coagulante a base de moringa após a mistura em Jar-test

Realizando o teste T para amostras com variâncias diferentes com confiabilidade de 5%, pode-se estatisticamente observar que o coagulante natural não alterou a turbidez da amostra inicial, uma vez que o valor de p crítico obtido foi de 0,75104.

A filtração da água em mantas sintéticas não tecidas precedida de coagulação/floculação com coagulante *Moringa oleifera* apresenta um efeito significativo sobre a eficiência de remoção de turbidez, sendo estatisticamente para o Teste T de amostras pareadas o valor crítico da ordem 10^{-20} , como pode ser observado na Tabela 1, visto que para os ensaios testemunhas (sem adição de solução coagulante), esse comportamento não pôde ser notado.

TABELA 1

Valores de turbidez para água filtrada em mantas sintéticas não tecidas com e sem o uso de coagulantes a base de *Moringa oleifera*

Tempo de filtração [min]																
Afluente	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225	240
Turbidez Testemunha – Água sem coagulante[NTU]																
17,1	14,3	15,8	15,8	15,9	16,2	15,7	15,9	15,8	16,2	16,0	16,2	16,6	16,0	16,3	16,5	16,9
Turbidez água com coagulante [NTU]																
17,09	1,99	1,13	0,89	0,76	0,57	0,70	0,71	0,66	0,63	0,63	0,63	0,58	0,53	0,52	0,55	0,50

Pode-se observar também que a turbidez das amostras filtradas apresentou valores menores com o decorrer da carreira de filtração, demonstrando um possível amadurecimento da carreira de filtração com o início da formação do “schmutzdecke”, como é previsto nos filtros lentos. A eficiência de remoção da turbidez pode ser observada na Gráfico 2.

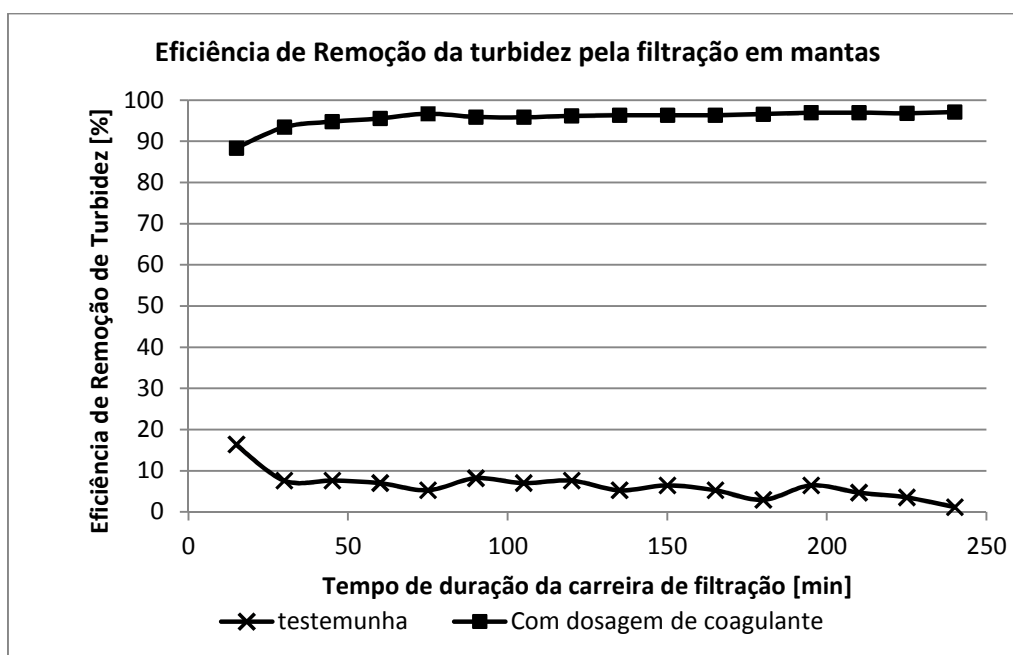


GRÁFICO 2: Eficiência de remoção da turbidez pela filtração em mantas

A remoção de microesferas de poliestireno apresentou valores da ordem de 10^7 microesferas por litro, representando uma eficiência de remoção de 4 casas logarítmicas (99,99%). A Tabela 2 e Gráfico 3 mostra os dados referentes à remoção de microesferas juntamente os dados de turbidez coletados simultaneamente.

TABELA 2
Valores obtidos para turbidez e microesferas

Tempo de filtração [min]	Turbidez [NTU]	Microesferas/L	Eficiência de Remoção [%]	
			Turbidez	Microesferas
Após mistura	17,09	$3,00 \times 10^{11}$	-	-
0	2,89	$8,23 \times 10^7$	83,090	99,973
30	1,97	$1,85 \times 10^7$	88,473	99,994
60	1,58	$1,94 \times 10^7$	90,755	99,994
90	1,3	$1,28 \times 10^7$	92,393	99,996
120	1,11	$4,89 \times 10^7$	93,505	99,984
150	2,26	$3,49 \times 10^7$	86,776	99,988
180	1,45	$1,87 \times 10^7$	91,516	99,994
210	0,973	$3,87 \times 10^7$	94,307	99,987
240	0,797	$1,93 \times 10^7$	95,336	99,994

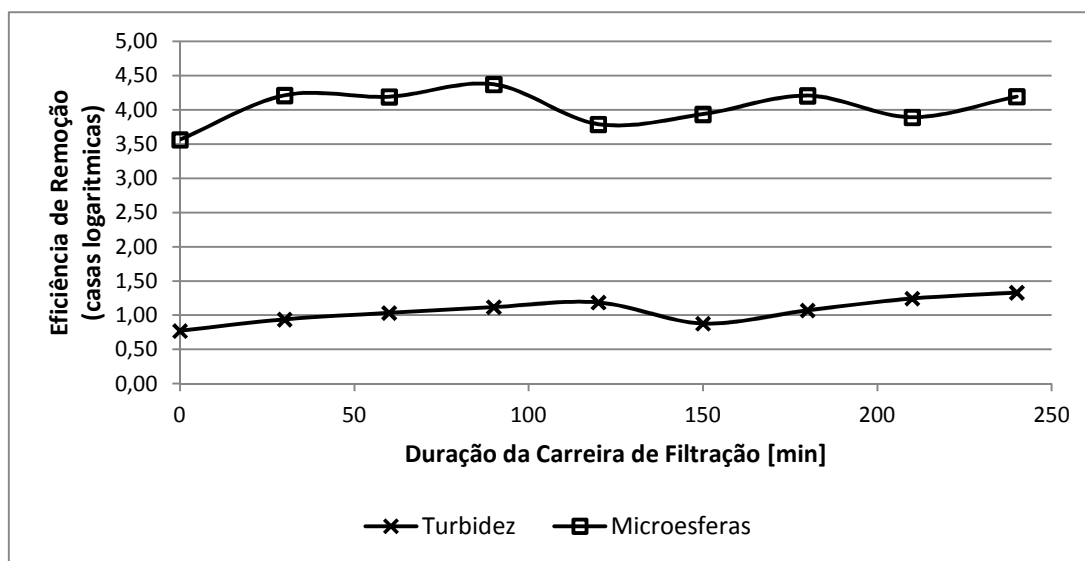


GRÁFICO 3: Eficiência da remoção de Microesferas de poliestireno, em número de casas logarítmicas

CONCLUSÕES

Os dados obtidos nesta pesquisa mostram que ao longo da carreira a turbidez teve o mesmo comportamento anterior com os valores sendo reduzidos ao longo da carreira, enquanto a remoção de microesferas permaneceu com valores da mesma ordem de concentração e eficiência na amostra filtrada.

A partir dos ensaios empregando as duas etapas: turbidez e microesferas foi possível concluir que as mantas sintéticas não tecidas tornam-se eficientes para a remoção de

turbidez apenas quando há a etapa de coagulação/floculação com sementes de *Moringa oleífera*, uma vez que as microesferas fluorescentes de poliestireno aderem a superfície do floco do coagulado.

Tais resultados mostram que o uso da *Moringa oleífera* em conjunto com mantas sintéticas não tecidas possuem potencial para remoção de *Cryptosporidium* spp, quando simulado por meio de microesferas de poliestireno, estudos para otimização de dosagens e com micro-organismos vivos deverão ser realizados para confirmação destas simulação em estudos futuros.

REFERÊNCIAS

ARANTES, C. C. Utilização de coagulantes naturais à base de sementes de *Moringa oleífera* e tanino como auxiliares da filtração em mantas não tecidas. 129 f. 2010. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 2010.

BROWN, T. J.; EMELKO, M. B. Chitosan and metal salt coagulant impacts on *Cryptosporidium* and microsphere removal by filtration. **Water research**, v.43, n.2, p.331-338, 2009.

BEZERRA, A. M. E.; MOMENTÉ, V. G.; MEDEIROS FILHO, S. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa oleífera* Lam.) em função do peso da semente e do tipo de substrato. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 295-299, 2004.

DI BERNARDO, L.; BRANDÃO, C.S.S.; HÉLER, L. **Tratamento de águas de abastecimento por filtração em múltiplas etapas**. Rio de Janeiro: PROSAB-ABES, 1999.

CERQUEIRA, D. A. Remoção de oocistos de *Cryptosporidium parvum* e de indicadores no tratamento de água por ciclo completo, filtração direta descendente e dupla filtração, em escala piloto. 194 p. 2008. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos), Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.

EMELKO, M. B.; HUCK, P. M.; DOUGLAS, I. P. *Cryptosporidium* and microsphere removal during late in-cycle filtration. **Journal of American Water Works Association**, v. 95, p.173-182, 2003.

KEEGAN, A. R. *et al.* Cell Culture-Taqman PCR Assay for evaluation of *Cryptosporidium parvum* disinfection. **Apple and Environmental Microbiology**, v.69, n.5, p.2505-2511, 2003.