



# NORMA TÉCNICA

L1.025

Dez/1985  
43 PÁGINAS

Manual técnico da microbiologia para sistemas de lodos  
ativados operando com esgotos domésticos

**Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**  
Avenida Professor Frederico Hermann Jr., 345  
Alto de Pinheiros CEP 05459-900 São Paulo SP  
Tel.: (11) 3133 3000 Fax.: (11) 3133 3402

[http: // W W W . c e t e s b . s p . g o v . b r](http://WWW.cetesb.sp.gov.br)

CETESB	MICROBIOLOGIA PARA SISTEMAS DE LODOS ATIVADOS OPERANDO COM ESGOTOS DOMÉSTICOS MANUAL - TÉCNICO	LI-025 DEZ/85
--------	--	------------------

SUMÁRIO	Página
1. Introdução	2
1.1. Nutrição	3
1.2. Respiração	4
1.3. Crescimento Bacteriano	5
2. Microrganismos no Processo de Lodos Ativados	8
2.1. Principais Microrganismos do Processo de Lodos Ativados	10
2.1.1. Bactérias	11
2.1.2. Fungos	11
2.1.3. Microfauna	11
3. Metodologia de Trabalho	13
3.1. Coleta e Preservação de Amostras	13
3.2. Calibração do Microscópio	13
3.3. Técnica de Contagens em Câmara Sedgwick - Rafter - S.R.	14
3.4. Aplicação da Técnica de Contagem de Microfauna em Câmara de S.R., para Amostras de Lodos Ativados.	16
3.5. Técnica de Contagem e Medida de Filamentos e Flocos	18
4. Como Interpretar as Análises ao Microscópio	20
Anexo 1 - Nomenclatura	29
Anexo 2 - Esquemas dos Organismos da Microfauna Mais Freqüentes em Lodos Ativados.	30
Bibliografia	42

MANUAL TÉCNICO DA MICROBIOLOGIA PARA SISTEMAS DE LODOS  
ATIVADOS OPERANDO COM ESGOTOS DOMÉSTICOS

1. INTRODUÇÃO

Os rios possuem capacidade auto depuradora, realizada através da estabilização biológica (biodegradação) da matéria orgânica proveniente dos despejos neles lançados.

O mecanismo envolvido na biodegradação, realizada por bactérias, é a respiração celular que promove oxidação dos compostos orgânicos com quebra das moléculas complexas em moléculas menores, mais estáveis. Na respiração, é utilizado, como aceptor dos elétrons liberados na quebra da matéria orgânica, o oxigênio dissolvido na água, com conseqüente produção de água e dióxido de carbono e liberação de energia. Essa energia é armazenada pelas células sob a forma de ATP (adenosina trifosfato) e usada posteriormente nas reações celulares.

No caso de lançamento contínuo de despejos "in natura" num corpo receptor, pode ocorrer o esgotamento do oxigênio dissolvido, como conseqüência da estabilização da matéria orgânica, criando condições anaeróbias. Com isso, ocorre o desaparecimento dos organismos aquáticos originais, morte dos peixes etc, tornando o corpo receptor inviável para uso como fonte de abastecimento de água potável e como recreação. Portanto, há interesse tanto de ordem econômica, como sanitária e social, em que os despejos não afetem o mesmo a ponto de atingir condições anaeróbias. Isso pode ser conseguido com o tratamento dos despejos antes de seu lançamento nos corpos d'água. O tratamento biológico aerado dos despejos é realizado reproduzindo artificialmente o mecanismo de biodegradação que ocorre no rio, que passará a funcionar apenas como dispersor de despejos tratados, no meio ambiente.

Um dos processos mais utilizados de tratamento biológico aerado é o de lodos ativados, que é um processo fermentativo aeróbio contínuo com reciclo de biomassa, que se constitui num inóculo permanente e aclimatado.

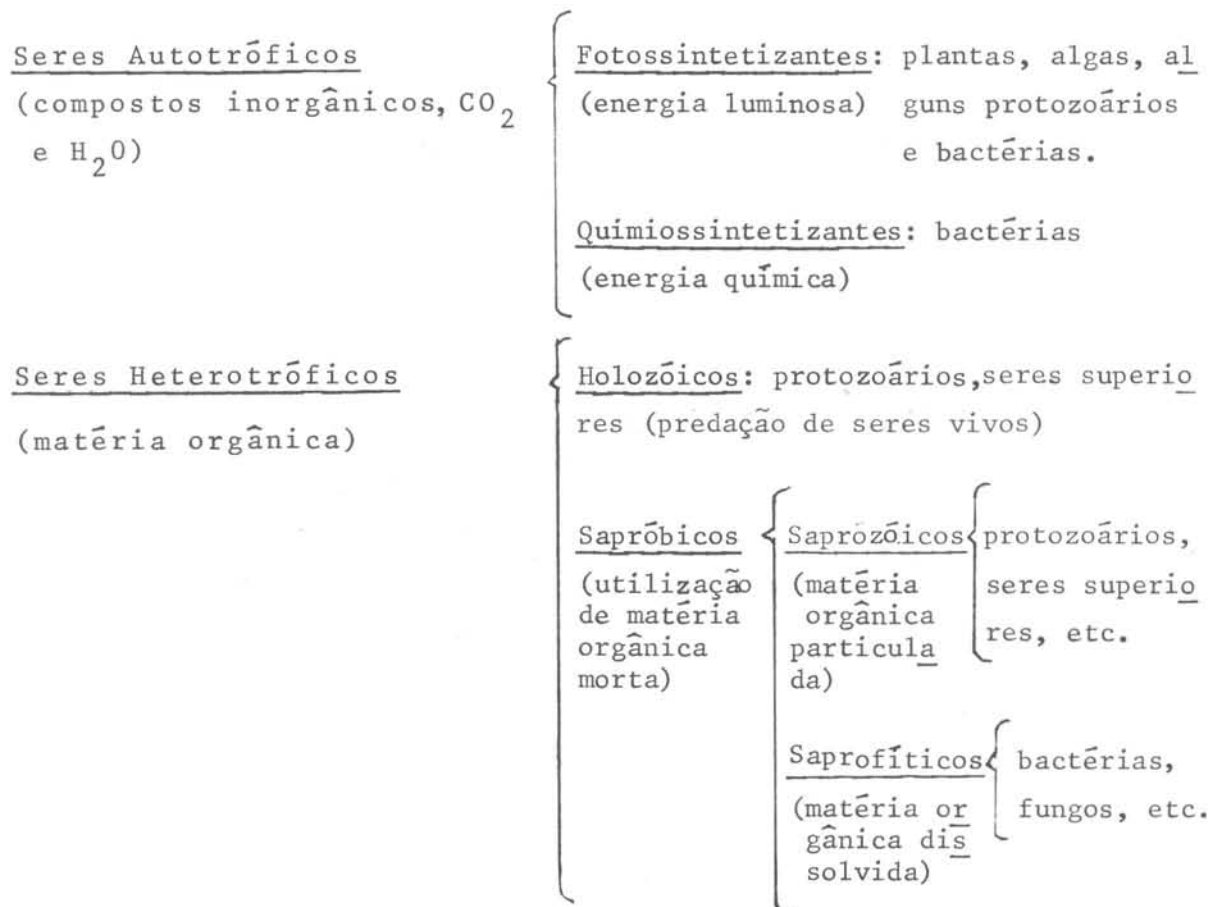
Com o intuito de compreender a microbiologia do mesmo são

abordados a seguir, sucintamente, alguns aspectos de nutrição, respiração e crescimento bacteriano<sup>1,2</sup>,

### 1.1. NUTRIÇÃO

Os seres vivos classificam-se em dois grandes grupos de acordo com o substrato e fonte de energia utilizada para a vida e crescimento. Os seres autotróficos não utilizam compostos orgânicos como fonte de energia, mas sintetizam compostos orgânicos a partir de  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , utilizando para tanto energia luminosa (fotossíntese) ou de compostos químicos inorgânicos (quimiossíntese). Os organismos heterotróficos necessitam de compostos orgânicos como fonte primária de energia sendo, portanto, dependentes dos organismos autotróficos para obtenção de alimento.

É apresentado a seguir um esquema de classificação dos seres vivos, segundo a forma de obtenção de alimento.



As bactérias e os protozoários podem ser, portanto, tanto autotróficos como heterotróficos.

## 1.2. RESPIRAÇÃO

A respiração é o processo pelo qual as células obtêm energia para as reações vitais, a partir de um substrato (alimento).

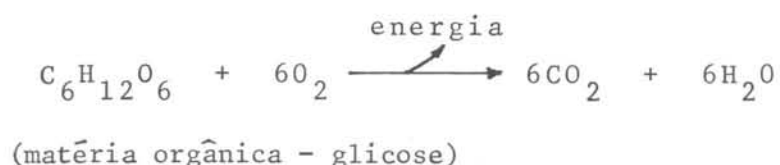
Esse processo se realiza através de um ciclo bioquímico que envolve uma série de reações de oxi-redução. O ciclo se inicia com a desidrogenação da molécula do substrato pelas enzimas celulares. O hidrogênio retirado é transferido ao fim do ciclo, ao acceptor final de hidrogênio que no caso de organismos aeróbios, é o oxigênio. A energia liberada com a oxidação do substrato, é armazenada sob a forma de ligações químicas de alta energia, para uso posterior pela célula. A formação dessas ligações é o processo conhecido como fosforilação oxidativa, em que a coenzima adenosina-difosfato (ADP) é convertida em adenosina-trifosfato (ATP), sendo o ATP o composto que armazena a energia obtida na respiração.

O processo respiratório completo pode ser assim, sucintamente descrito: degradação de uma molécula de glicose a duas moléculas de ácido pirúvico (2 ATP); Ciclo de Krebs ou ciclo de ácido tricarboxílico (30 ATP) e cadeia respiratória (6 ATP).

Quando o processo é incompleto, na ausência de oxigênio (glicólise), então o processo é dito anaeróbio, apresentando um rendimento de apenas 2 ATP.

Nas reações celulares que requerem energia, o ATP perde um fosfato, transformando-se novamente em ADP, liberando assim uma ligação fosfórica altamente energética.

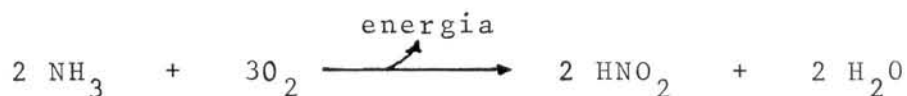
As bactérias aeróbias, que utilizam o oxigênio como acceptor final de hidrogênio, apresentam a seguinte equação geral de respiração:



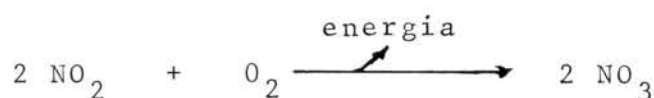
Existem bactérias que, ao invés de decompor matéria orgânica, utilizam a energia de ligação de compostos inorgânicos para sintetizar os compostos orgânicos celulares a partir de  $\text{CO}_2$ . São denominadas autotróficas, e o processo de obter energia a partir de ligações químicas inorgânicas, é chamado quimios

síntese. Como exemplo dessas bactérias, presentes em lodos ativados, temos as nitrificantes, que utilizam a amônia ou o nitrato, segundo as equações a seguir:

#### Nitrosomonas



#### Nitrobacter



### 1.3. CRESCIMENTO BACTERIANO

Os microrganismos em cultura pura, se desenvolvem segundo a curva de crescimento descrita por Monod e representada na figura 1<sup>3</sup>.

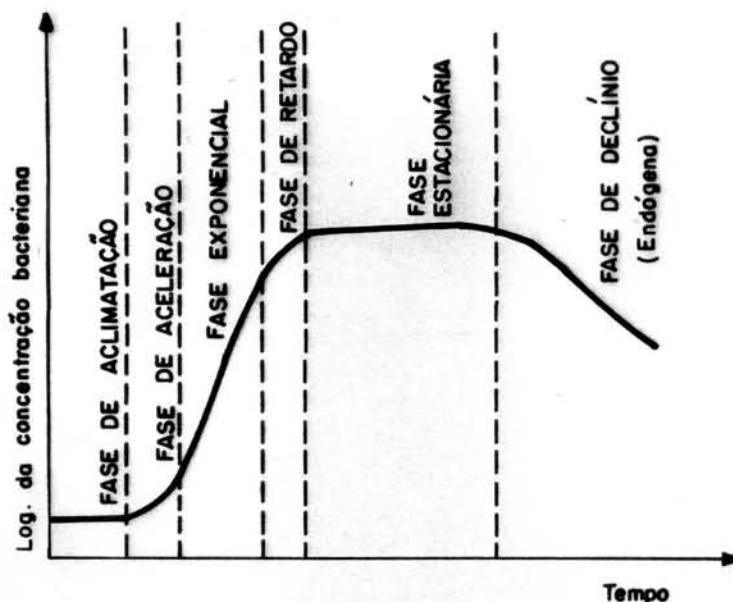


FIG. 1. CURVA DE CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS EM CULTURA PURA, E DESCONTÍNUA

Embora a curva de crescimento tenha sido descrita para culturas puras, para sistema de lodos ativados (culturas mistas) sua utilização é bastante frequente.

Nessa curva, após a fase de aclimatação dos microrganismos, em que não há crescimento, ocorre uma fase de aceleração de crescimento, seguida pela fase de crescimento exponencial com intenso consumo de substrato. A velocidade de crescimento diminui na fase de retardo devido à ausência de algum fator limitante (por exemplo, substrato, oxigênio, etc), até que se iguale à velocidade de morte (fase estacionária). Na fase endógena, a velocidade de morte é maior que a de crescimento, e a célula consome as reservas armazenadas no próprio protoplasma para a sobrevivência, num processo de autooxidação.

No processo de lodos ativados, a depuração biológica ocorre no tanque de aeração alimentado com o despejo a ser tratado (afluente). O lodo biológico encontra-se misturado ao meio líquido. Em sua maior parte, o lodo é formado por uma população mista de bactérias agregadas sob a forma de flocos biologicamente ativos, de onde o nome lodos ativados. Um esquema do sistema de lodos ativados completo é mostrado na figura 2<sup>4</sup>.

Essa população mista de bactérias não está em crescimento sincronizado, sendo que uma parte das bactérias está na fase exponencial de crescimento (portanto de renovação celular), outra parte na fase estacionária, e uma terceira parte ainda na fase endógena.

Dependendo das condições de operação do sistema, é possível manter uma parcela maior de bactérias na fase endógena.

A importância da fase endógena no processo, deve-se principalmente a diminuição da biomassa devido à autooxidação, havendo portanto menor quantidade de lodo a ser descartado para tratamento posterior (digestão) e tendência da biomassa flocular.

A floculação do lodo é importante no processo, para que a biomassa possa ser separada do efluente tratado e retornada ao processo.

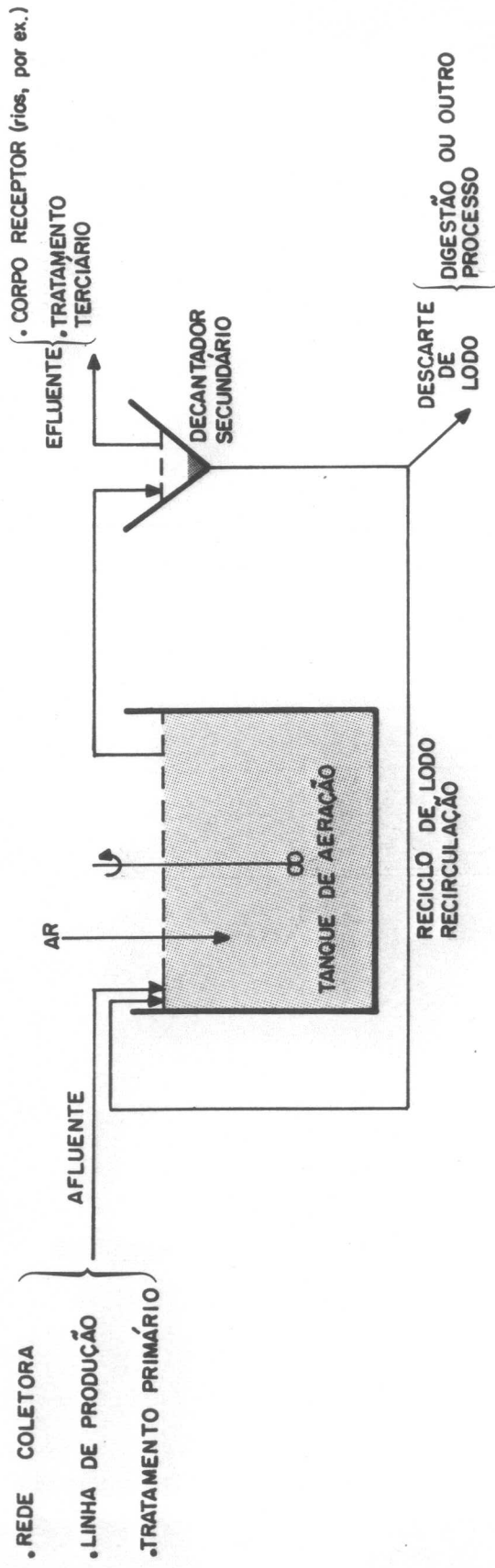


FIG .2. ESQUEMA DO PROCESSO DE LODOS ATIVADOS



## 2. MICROORGANISMOS NO PROCESSO DE LODOS ATIVADOS

Embora o meio ambiente em sistemas de lodos ativados seja aquático, os organismos presentes não são, necessariamente, os mesmos de ambientes naturais de águas doces. Isto porque o processo apresenta características específicas, como turbulência devida a aeração e turbidez devido ao material em suspensão.

Verifica-se que apenas microfauna é encontrada nesses processos, pois a turbulência não permite o desenvolvimento de organismos maiores. As algas tampouco aí se desenvolvem, devido à ausência de luz provocada pela turbidez do meio. Assim, dentro a microflora, normalmente são encontradas vários tipos de bactérias entre elas as filamentosas formando a biomassa e, às vezes, fungos e leveduras. As bactérias são organismos sapróbicos consumidores primários que degradam a matéria orgânica do despejo, promovendo sua estabilização<sup>5</sup>. As bactérias filamentosas, presentes tanto no floco como livres, também degradam a matéria orgânica, mas seu crescimento deve ser controlado pois pode causar problemas na decantação do lodo<sup>6</sup>.

Como representantes da microfauna, são encontrados tanto protozoários, como micrometazoários.

A presença de microfauna é um indício importante de funcionamento do processo, e, sendo de identificação relativamente simples ao observador experiente, é utilizada como indicador biológico. A identificação de bactérias é um processo em geral, mais lento e oneroso, em relação a de protozoários, o que dificulta sua utilização como indicadores. Os métodos de análise devem ser simples, para poderem ser utilizados nas estações de tratamento.

A observação qualitativa e quantitativa da microfauna, vem sendo realizada há anos no controle de processos de lodos ativados embora, como instrumento de diagnóstico, ainda esteja pouco desenvolvida pois, na prática se apresentam problemas de amostragem, de contagem e de aproveitamento dos dados obtidos, devido à complexidade das interações. De fato, as populações de bactérias (decompositoras primárias) fixam um substrato complexo, em geral variável em qualidade e quanti

dade. A partir desses organismos decompositores, vive uma fauna de consumidores primários também sujeitos à predação entre si (protozoários). As interações tanto de competição como de predação, são muito diversificadas<sup>7</sup>.

Outro fator importante a considerar na observação ao microscópio, é a avaliação da concentração de microrganismos filamentosos. Estes encontram-se quase sempre presentes nos lodos ativados, porém sua quantidade relativa aos flocos, não pode aumentar além de certo ponto, sem que ocorram problemas de decantação, como já referido, devido ao intumescimento filamentoso do lodo<sup>6</sup>.

O aspecto do lodo ao microscópio, em geral pode ser descrito da seguinte forma: as bactérias se agregam formando flocos biológicos, que também congregam bactérias filamentosas. Na superfície desses flocos, fixam-se os protozoários sésseis, ciliados pedunculados ou peritriquias. Há protozoários que vivem em estreita ligação com os flocos, alimentando-se destes e mantendo-se sempre em torno a eles, porém sem estar fisicamente a eles ligados (ciliados hipotriquias). Finalmente, temos os ciliados livre-natantes, que se movem livremente nos espaços entre os flocos, os flagelados e as amebas, estes últimos podendo estar preferencialmente tanto na superfície do floco, como no espaço entre eles, dependendo da espécie. Os micrometazoários (rotíferos e pequenos vermes) também se locomovem preferencialmente no espaço entre os flocos<sup>8,9</sup>.

A determinação precisa de todas as espécies presentes, é difícil de ser realizada num trabalho de controle, utiliza-se, portanto, contagens simplificadas de microfauna arranjadas em classes ou grandes grupos.

A natureza da fauna presente é função da idade do lodo, que é o tempo médio de permanência do lodo no reator. Além disso, é função também da saprobicidade, nível de qualidade da água refletido pelas espécies que constituem a comunidade presente, de acordo com a matéria orgânica biodegradável expressa em  $DBO_5$ . Assim, uma determinada comunidade é indicadora do nível saprobico que prevalece em determinado ambiente durante o tempo necessário ao seu desenvolvimento.

Nos tratamentos aerados de despejos, como o processo de lodos ativados, o meio no tanque de aeração pode variar, segundo a

saprobicidade de oligosaprobica , condições excelentes de depuração (com  $DBO_5$  média em torno de 2,5 mg/l), a polissaprobica, condições inferiores de depuração (com  $DBO_5$  média em torno de 50 mg/l). As condições intermediárias de nível de qualidade de efluente que podem se apresentar são  $\beta$ -mesosaprobica ( $DBO_5$  média de 5 mg/l) e  $\alpha$ -mesosaprobica ( $DBO_5$  média em torno de 10 mg/l). As condições  $\beta$  a  $\alpha$ -mesosaprobicas, são as mais frequentes em tratamentos aerados de despejos<sup>10</sup>.

As espécies reagem aos fatores de seleção do meio (tróficos ou físico-químicos), individualmente, através de sua própria capacidade. O fato da microfauna sofrer a ação simultânea de todos os parâmetros e de subsistir em condições de vida difíceis que restringem o número de espécies, torna-a um indicador extremamente sensível. A microfauna é indicadora, portanto, do conjunto de parâmetros de funcionamento das instalações, uma vez que sua natureza varia com o nível de depuração, a concentração de oxigênio dissolvido, a presença de substâncias tóxicas, etc...<sup>11</sup>.

Para sistemas de lodos ativados operando com esgoto doméstico, pretende-se estabelecer uma sistemática de análises de lodo ao microscópio; relações entre as concentrações relativas da microfauna e o desempenho dos processos; e determinar concentração e comprimento médio de filamentos, com o objetivo de controlar o intumescimento filamentoso do lodo.

## 2.1. PRINCIPAIS MICRORGANISMOS DO PROCESSO DE LODOS ATIVADOS<sup>7</sup>

### 2.1.1. BACTÉRIAS

As bactérias unicelulares mais frequentes nos lodos ativados, além de Zoogloea ramigera, considerada por muito tempo como a única responsável pela floculação, pertencem aos gêneros Achromobacterium, Chromobacterium (Flavobacterium) e Pseudomonas. São bastonetes gram-negativos, com ação proteolítica. A Zoogloea forma massas gelatinosas, reonhecíveis ao microscópio pelas estruturas dendríticas.

Dentre as bactérias filamentosas, Sphaerotilus natans é a mais comum em lodos ativados, caracterizando-se pela presença

de bainha e ramificação falsa. São filamentos finos e geralmente os septos celulares não são visíveis. Há outras bactérias que podem estar presentes no processo como Triotrix, Beggiatoa, e Nocardia, além de filamentos ainda não identificados.

Um super crescimento de bactérias filamentosas dificulta a decantação do lodo, causando um estado conhecido como intumescimento filamentoso do lodo. Por isso, é necessário um controle constante da concentração de filamentos como prevenção de um problema que, se não cuidado a tempo, para levar à perda de sólidos em suspensão pelo efluente.

#### 2.1.2. FUNGOS

Os fungos não são muito frequentes em lodos ativados e, quando presentes, em geral são Deuteromicetos (Fungos Imperfeitos).

Com maior frequência são encontradas espécies do gênero Geotrichum. Quando se desenvolvem em excesso também são passíveis de provocar intumescimento do lodo. Podem predominar em processo em que se verifique queda de pH acentuada.

#### 2.1.3. MICROFAUNA

São frequentemente encontrados organismos de diversos gêneros, que podem ser agrupados de acordo com a Tabela 1

Tabela 1 - Agrupamento de organismos de diversos gêneros

GRANDES GRUPOS	GÊNEROS FREQUENTES
<p>Classe Ciliata</p> <p>a. ciliados livre natantes</p> <p>b. ciliados pedunculados</p> <p>c. ciliados livres predadores do floco</p> <p>Classe Mastigophora flagelados</p> <p>Classe Sarcodina amebas</p>	<p><u>Paramecium</u>, <u>Colpidium</u>, <u>Litonotus</u>, <u>Trachelophyllum</u>, <u>Amphileptus</u>, <u>Chilodonella</u>, <u>Vorticella</u>, <u>Opercularia</u>, <u>Epistylis</u>, <u>Charchesium</u> e as <u>suctórias</u> <u>Acineta</u> e <u>Podophrya</u></p> <p><u>Aspidisca</u>, <u>Euplotes</u>, <u>Stylonychia</u>, <u>Oxytricha</u>,</p> <p><u>Bodo</u>, <u>Cercobodo</u>, <u>Mona</u> sp, <u>Oicomonas</u> sp, <u>Euglena</u> sp, <u>Cercomona</u> sp, <u>Peranema</u></p> <p><u>Amoeba</u>, <u>Arcella</u>, <u>Actinophrys</u>, <u>Vahlkampfi</u>, <u>Astramoeba</u>, <u>Diffugia</u>, <u>Cochliopodium</u>.</p>
<p>Classe Rotífera rotíferos</p>	<p><u>Philodina</u>, <u>Rotaria</u>, <u>Epiphanes</u></p>
<p>Classe Nematoda nematóides</p>	<p><u>Rhabditis</u></p>
<p>Filo Anelida anelídeos</p>	<p><u>Aelosoma</u></p>

### 3. METODOLOGIA DE TRABALHO

Como não é possível contar todos os organismos de uma amostra, os métodos de contagem são estatísticos e sujeitos a erros de grandeza variável, dependendo do número de campos ou faixas contados ao microscópio, e do cuidado na execução da análise.

#### 3.1. COLETA E PRESERVAÇÃO DE AMOSTRAS

A amostra é coletada no tanque de aeração, próximo à saída, diluída de acordo com a concentração de sólidos em suspensão e analisada rapidamente, para evitar alterações nos protozoários por ausência de oxigênio.

Na coleta, pode-se usar frasco de polietileno, polipropileno, ou vidro, cheio até a metade.

O intervalo de tempo entre a coleta da amostra e a contagem, deverá ser o menor possível (até meia hora), evitando-se ultrapassar 2 horas. O volume de amostra necessário é pequeno, 5 a 10 ml são suficientes. Não é possível haver preservação da amostra, sem que o resultado da análise seja significativamente alterado.

#### 3.2. CALIBRAÇÃO DO MICROSCÓPIO

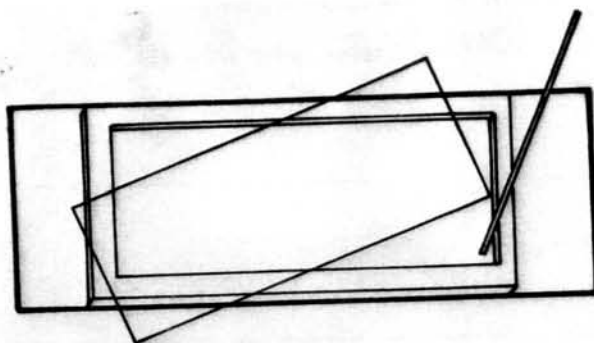
Para que a contagem de organismos possa ser realizada, é fundamental a calibração do microscópio.

Para tanto utiliza-se um retículo (ou ocular micrométrica) de Whipple, que é colocado na ocular regulável do microscópio. Este retículo é traçado num disco de vidro e dividido precisamente em 100 quadrados iguais, sendo que um dos quadrados centrais é subdividido em 25 quadrados menores. Na calibração do retículo de Whipple verifica-se quanto mede a área da imagem que ele delimita, colocando-se na platina do microscópio uma lâmina em escala micrométrica de 1 mm subdividido em 10 ou em 100  $\mu\text{m}$ ; superpondo-se a imagem da escala ao retículo, observa-se quanto mede cada divisão do retículo. O aumento utilizado deve ser de 100 a 200 vezes.

### 3.3. TÉCNICA DE CONTAGEM EM CÂMARA DE SEDGWICK-RAFTER-S.R.<sup>7,12.</sup>

A câmara de Sedgwick-Rafter é comumente usada nas contagens de protozoários e filamentos. Tem capacidade de 1,0 ml, com dimensões de 50mm x 20mm. Não pode ser utilizada com objetivas de aumento maior que 16 vezes, sem quebra da lâmina. Para aumentos maiores, existem objetivas apropriadas.

O esquema na figura 3, mostra o modo de completar o volume da câmara com a amostra líquida, utilizando uma pipeta e introduzindo a amostra por um lado da câmara de forma que o ar possa sair pelo outro. A amostra, na câmara, deve ser deixada sedimentar 5 minutos antes do início da contagem.



**FIG. 3- CÂMARA DE CONTAGEM DE SEDGWICK-RAFTER, MOSTRANDO A MANEIRA DE COLOCAR A AMOSTRA**

A contagem pode ser efetuada por campos, sendo que cada campo corresponde à área do retículo de Whipple, ou por faixas, tendo a faixa 50 mm de comprimento por 1 mm de profundidade e a largura do retículo de Whipple.

A contagem por campos é realizada quando a amostra tem muitos

microrganismos (10 ou mais por campos). São contados 10 ou mais campos aleatórios, dependendo da concentração de organismos e da precisão desejada. Os campos são escolhidos de modo a distarem 5 a 7 mm das bordas. O resultado em organismos por mililitro pode ser obtido a partir dos campos contados, fazendo-se o cálculo pela seguinte fórmula, de onde se obtém o fator de correção :

$$N\text{º}/\text{m}\ell = \frac{C \times 1000 \text{ mm}^3}{A \times D \times F}$$

onde:

C = número de organismos contados

A = área de um campo (área da imagem do retículo de Whipple),  $\text{mm}^2$

D = profundidade de um campo (profundidade da câmara de Sedgwick-Rafter, em média 1 mm), mm

F = número de campos contados

O valor obtido na fórmula acima ainda deve ser ajustado multiplicando-se pelo fator de diluição, ou dividindo-se pelo fator de concentração.

A contagem por faixas é efetuada quando a concentração de microrganismos é baixa.

O número de organismos por mililitro é obtido a partir da fórmula abaixo.

$$N\text{º}/\text{m}\ell = \frac{C \times 1000 \text{ mm}^3}{L \times D \times W \times S}$$

onde:

C = número de organismos contados

L = comprimento de cada faixa (comprimento da câmara Sedgwick-Rafter), mm

D = profundidade de uma faixa (profundidade da câmara de Sedgwick-Rafter), mm

W = largura de uma faixa (largura da imagem do retículo de Whipple), mm

S = número de faixas contadas



O valor obtido na fórmula deve ser ainda multiplicado pela diluição ou dividido pela concentração da amostra.

Para melhor qualidade nos resultados obtidos é recomendável a utilização das seguintes condições:

1. Uso do mesmo microscópio e do mesmo aumento para todas as contagens de uma amostra de mesma origem;
2. Definir para todas as contagens de amostras de mesma origem, o número de faixas ou campos a serem contados;
3. Definir uma faixa de diluição adequada para o tipo de amostra analisada. Sugere-se, também, que se for necessário variar a diluição definida, isto seja feito por fator de 2 para concentrar ou diluir, por exemplo :
 

diluição definida	-	1:10
diluição mínima	-	1:5
diluição máxima	-	1:20
4. A amostra deve ser bem homogeneizada antes de se retirar a alíquota para diluição e para análise.

#### 3.4. APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE CONTAGEM DE MICROFAUNA EM CÂMARA DE S.R., PARA AMOSTRAS DE LODOS ATIVADOS<sup>7,12</sup>

As análises deverão ser realizadas diariamente ou três vezes por semana.

As análises podem ser de dois tipos: qualitativas e quantitativas. Deve-se iniciar pela análise qualitativa, observando-se a amostra em lâmina/lamínula, para anotar o estado dos flocos, presença de bactérias livres ou de outros elementos, identificar os organismos etc. Somente após, é que se procederá à contagem dos organismos, se desejado.

Critérios a serem seguidos nas análises quantitativas:

Os organismos são contados em um número pré-determinado de campos de microscópio ou outra área conhecida e então, através de uma série de fatores multiplicativos, o número observado é projetado para um número ou quantidade por ml, litro etc., conforme descrito em 3.3.

Contagem direta da amostra não diluída elimina manipulação, po

rêm, em geral, a concentração de sólidos é tal que não permite sua realização sem diluição.

Todos os organismos observados devem ser contados. Se algum deles não pode ser identificado, assinalar um símbolo ou número e fazer um esquema no verso da folha de anotação da contagem.

Filamentos, colônias e outras associações de células são contadas como unidades, bem como as células simples isoladas.

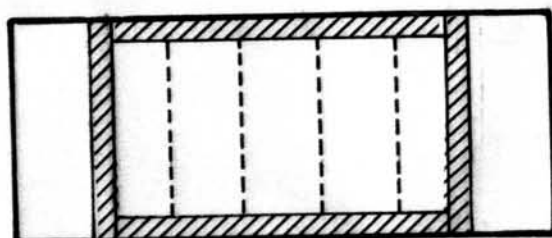
Na contagem de campos aleatórios, os organismos que tocam as linhas demarcatórias de cima ou da esquerda do retículo de Whipple, devem ser contados; os que tocam as linhas demarcatórias de baixo ou da direita, devem ser ignorados.

Sugere-se a contagem em 10 campos aleatórios, localizados na região central da câmara a cerca de 6 a 7 mm de suas bordas. Ver figura 4.



**FIG. 4 - CONTAGEM NA CÂMARA DE SEDGWICK - RAFTER , POR CAMPOS**

Quando a contagem é realizada por faixas utiliza-se o comprimento total da câmara (dimensão maior). A contagem pode ser facilitada, marcando-se linhas de referência no fundo da câmara, como mostrado na figura 5.



**FIG.5- CONTAGEM NA CÂMARA DE  
SEDGWICK - RAFTER , POR  
FAIXAS**

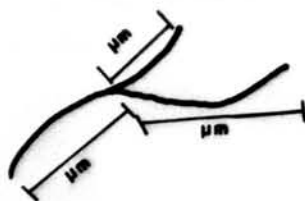
O número de organismos encontrados nas faixas, multiplicado pela relação entre a largura total da câmara e a largura das faixas analisadas, fornece a concentração de organismos por ml.

### 3.5. TÉCNICA DE CONTAGEM E MEDIDA DE FILAMENTOS E FLOCOS<sup>7,9,12</sup>

A contagem de medida de filamentos e flocos é efetuada com a amostra do tanque de aeração diluída 1/500 a 1/2000 em água destilada. A diluição é realizada num bēquer de 1,5 l e homogeneizada num aparelho jar-test durante 1 minuto a 100 rpm a fim de reproduzir condições similares às existentes no tanque de aeração ou pode ser realizada por agitação manual com um bastão de vidro durante um minuto. Tomar uma alíquota adequada da

amostra do tanque de aeração com uma pipeta de ponta larga (8 mm), devidamente calibrada, de modo a não danificar os flocos. Usar a mesma pipeta para transferir 1 ml da amostra diluída para câmara de contagem de Sedgwick-Rafter.

Contar 2 a 4 faixas ao microscópio com retículo de Whipple aferido, em aumento de 100 a 200 vezes. Os flocos são medidos pelo seu diâmetro máximo, e assinalados nos seguintes intervalos: 0,5 a 2  $\mu\text{m}$ , 2 a 10  $\mu\text{m}$ , 10 a 25  $\mu\text{m}$ , 25 a 50  $\mu\text{m}$ , 50 a 100  $\mu\text{m}$ , 100 a 200  $\mu\text{m}$ , 200 a 400  $\mu\text{m}$ , 400 a 800  $\mu\text{m}$ , e maiores que 800  $\mu\text{m}$ . Os filamentos são contados e medidos pelas seguintes faixas de tamanho: 0 a 10  $\mu\text{m}$ , 10 a 25  $\mu\text{m}$ , 25 a 50  $\mu\text{m}$ , 50 a 100  $\mu\text{m}$ , 100 a 200  $\mu\text{m}$ , 200 a 400  $\mu\text{m}$ , 400 a 800  $\mu\text{m}$ , e maiores que 800  $\mu\text{m}$ . Os filamentos maiores que 800  $\mu\text{m}$  são considerados individualmente. As medidas de filamentos e flocos são efetuadas simultaneamente de modo que o número e comprimento de filamentos seja assinalado para uma faixa específica de tamanho de flocos. Os filamentos não ligados a flocos são medidos e contados como filamentos livres. Filamentos ramificados são contados como dois filamentos, uma vez que exercem influência mecânica nos flocos (figura 6).



**FIG. 6 - MEDIDA DE FILAMENTOS RAMIFICADOS**

#### 4. COMO INTERPRETAR AS ANÁLISES AO MICROSCÓPIO<sup>7,12</sup>

A realização regular de análises microscópicas de um lodo em aeração, pode indicar ao operador as tendências do processo de lodos ativados em termos da eficiência de remoção de matéria orgânica, da sedimentação do lodo, da adequação da aeração empregada e da eventual presença de compostos tóxicos ou ocorrência de sobrecargas orgânicas sugerindo a realização de outras medidas físico-químicas e mudança na operação do sistema de tal forma que seu desempenho seja mantido.

As amostras coletadas em ponto próximo a saída do tanque de aeração devem ser analisadas o mais breve possível.

Para análises qualitativas ou quantitativas, primeiramente, deve-se observar o aspecto dos flocos quanto à forma, tamanho e estrutura (grau de agregação e presença de sólidos dispersos).

Deve-se observar, também, a presença de filamentos e sua distribuição entre os flocos.

As figuras de 7 a 12 ilustram aspectos do lodo encontrados ao exame microscópico, sob aumento de 125 vezes.

A microfauna associada ao lodo deve ser observada de acordo com os grandes grupos anteriormente citados.

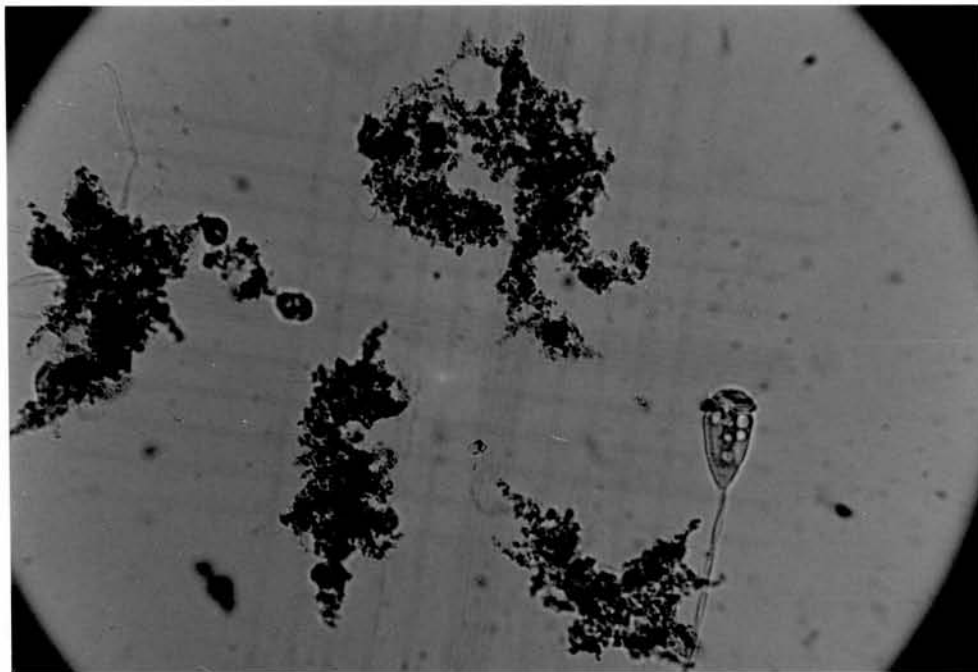


FIG. 7 - LODO COM BOAS CARACTERÍSTICAS ONDE SE OBSERVAM CILIADOS LIVRES E UM CILIADO PEDUNCULADO ( $\theta_C = 6,9$  dias)

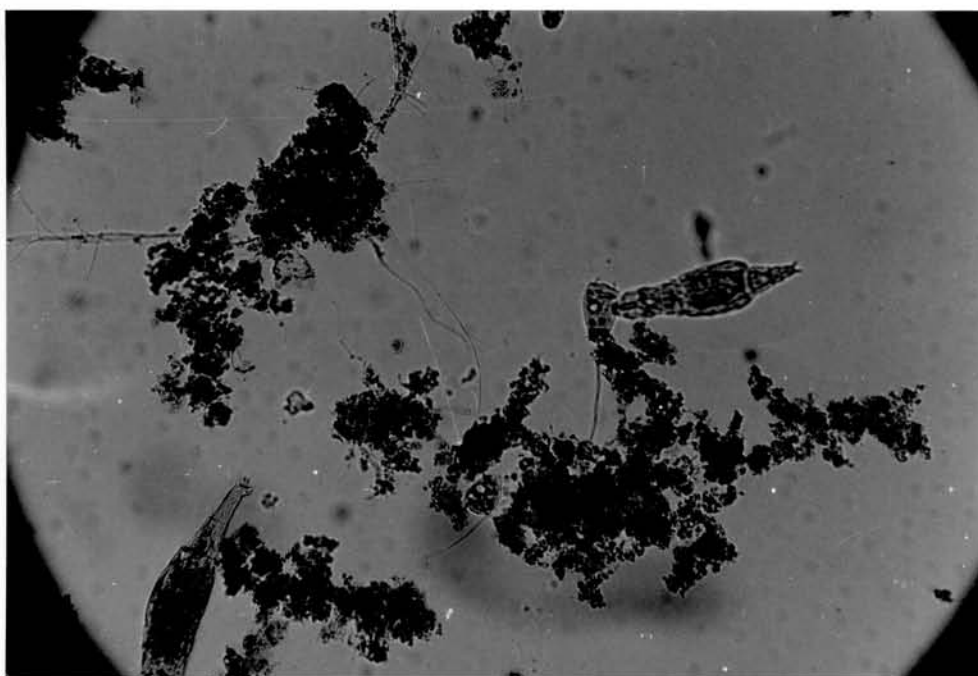


FIG. 8 - LODO COM BOAS CARACTERÍSTICAS ONDE SE OBSERVA UM MICROMETAZOÁRIO NO CANTO ESQUERDO INFERIOR E NO CENTRO DO CAMPO. ( $\theta_C = 6,9$  dias)

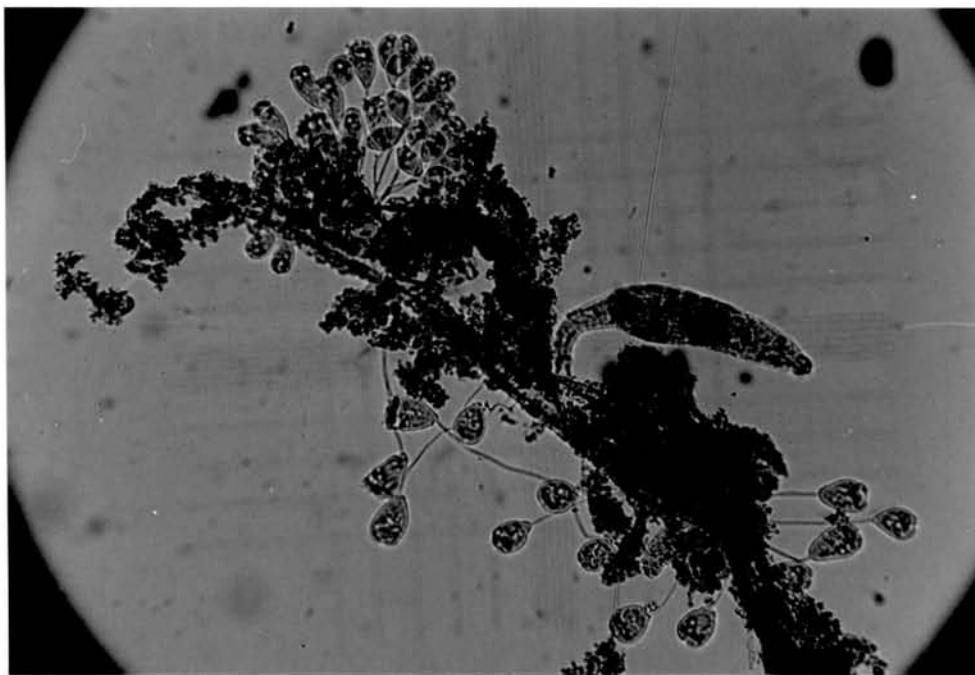


FIG. 9: LODO COM BOAS CARACTERÍSTICAS, ONDE SE OBSERVA CILIADOS PEDUNCULADOS COLONIAIS E UM MICROMETAZOÁRIO (ROTÍFERO). ( $\theta_c = 6,9$  dias)



FIG. 10: LODO COM BOAS CARACTERÍSTICAS, ONDE SE OBSERVA UMA COLÔNIA DE CILIADOS PEDUNCULADOS.

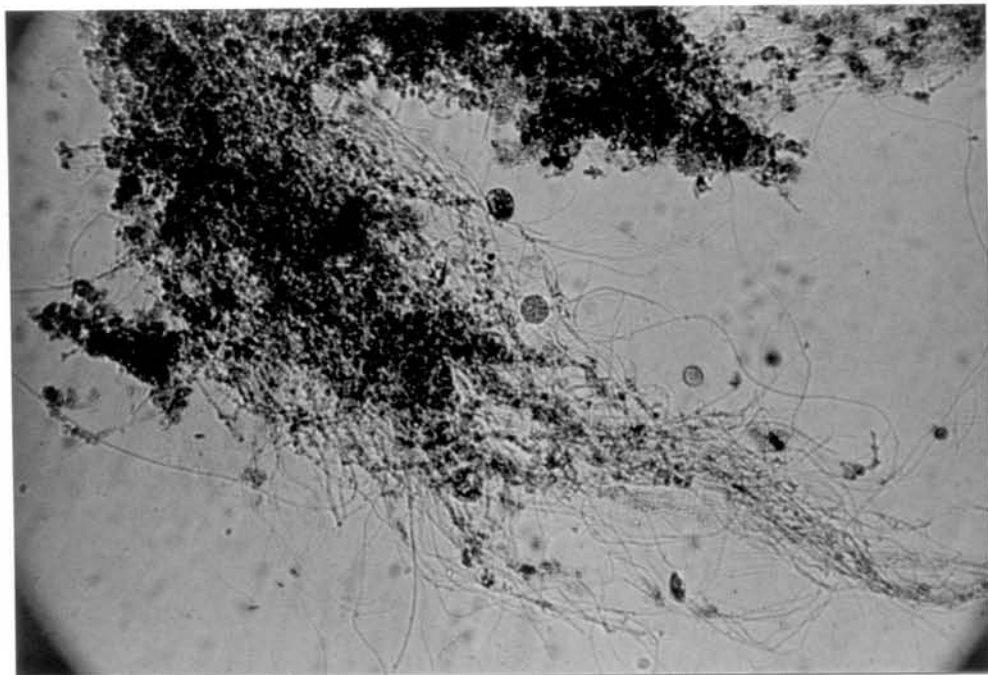


FIG. 11: LODO COM INTUMESCIMENTO FILAMENTOSO ( $\theta_C = 1,0$  dia)

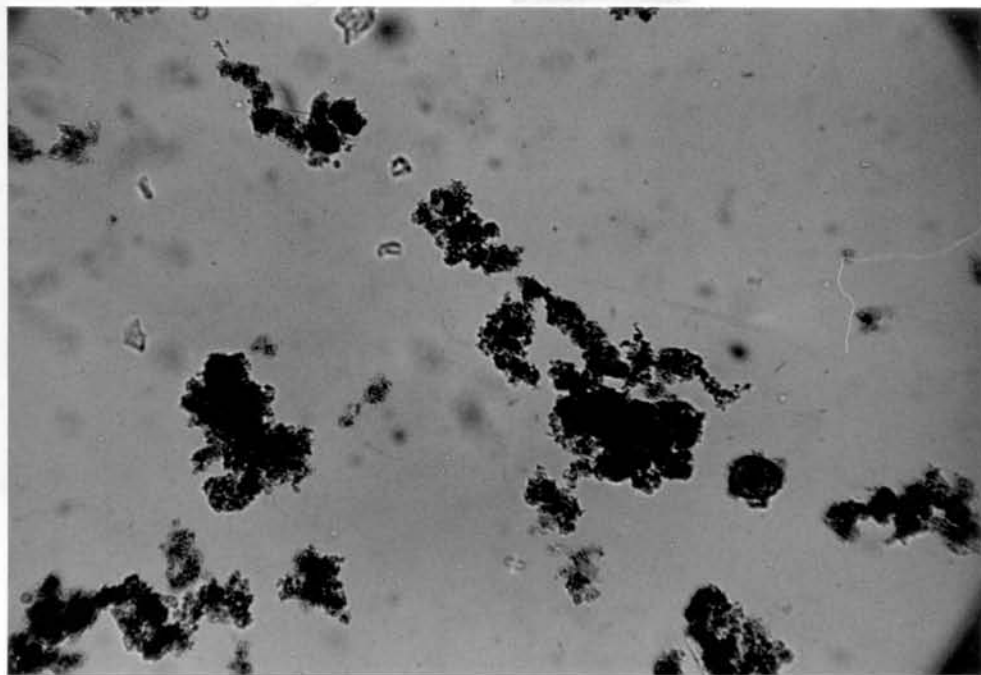


FIG. 12: LODO DISPERSO ("PINT-POINT",  $\theta_C = 28$  dias)



Os esquemas apresentados no anexo 2 devem ser utilizados para identificação detalhada dos organismos encontrados<sup>8</sup>.

Estudos realizados pela CETESB, com esgotos domésticos, cujas características estão descritas na tabela 2, utilizando sistema de lodos ativados com reatores de Mistura Completa, 4 com partimentos e 8 compartimentos aerados em série, operando sob as condições apresentadas na tabela 3, mostram um comportamento com relação a microfauna, descrito na tabela 4.

Tabela 2 : Faixas de variação das características principais dos esgotos domésticos utilizados.

PARÂMETROS	FAIXA
DQO	300 a 660 mg O <sub>2</sub> /ℓ
DBO	110 a 310 mg O <sub>2</sub> /ℓ
SS	40 a 190 mg/ℓ
NK <sub>T</sub>	16 a 37 mg N/ℓ
P <sub>T</sub>	2,5 a 7,0 mg P/ℓ

Tabela 3 : Faixas de operação para os sistemas de lodos ativados

PARÂMETRO	FAIXA
Tempo de detenção hidráulico ( $\theta_h$ )	2 a 12 horas
Idade do lodo ( $\theta_c$ )	3 a 15 dias
Remoção de DQO	80 a 95%
SSVTA	1000 a 2500 mg/l
IVL	50 a 700 ml/g
pH	6 a 7,5
Temperatura	18 a 25°C
OD	3 a 6 mg/l

Tabela 4 : Análise microbiana típica para um lodo ativado operando com esgoto doméstico.

GRUPO	ORDEM DE GRANDEZA (org/ml)
Ciliados livres	$10^3$ a $10^4$
Ciliados pedunculados	$10^3$ a $10^4$
Rizópodes	$10^2$ a $10^4$
Flagelados	$10^2$ a $10^3$
Rotíferos	$10^2$ a $10^3$
Nematóides	$10^1$ a $10^2$
Anelídeos	$10^1$ a $10^2$

Com relação ao tamanho dos flocos, observa-se uma faixa bastante ampla de variação, entre 10 e  $> 800 \mu\text{m}/\text{floco}$ , da mesma forma que para os filamentos  $10^1$  a  $10^8 \mu\text{m}/\text{mL}$ . Para interpretação destas duas medidas, é importante se observar as faixas descritas na tabela 5.

Tabela 5 : Relação entre os tamanhos de filamentos e flocos e as características do lodo.

Filamento ( $\mu\text{m}/\text{mL}$ )	Flocos	Características
$10^1$ a $10^2$	pequeno diâmetro ( $< 50 \mu\text{m}$ )	lodo disperso ("pint-point")
$10^2$ a $10^6$	pequeno diâmetro ( $< 50 \mu\text{m}$ )	provável intumescimento do lodo *
	médio a grande diâmetro ( $> 100$ a $300 \mu\text{m}$ )	lodo em boas condições.
$10^6$ a $10^8$	pequeno a médio diâmetro ( $< 100 \mu\text{m}$ )	muito provável intumescimento do lodo.
	grande diâmetro ( $> 150 \mu\text{m}$ )	provável intumescimento do lodo
$> 10^8$	—	intumescimento do lodo

\* - Intumescimento do lodo ou "bulking" filamentoso

Dentre os microrganismos encontrados em lodos ativados operando com esgotos domésticos, algumas espécies são consideradas indicadoras das condições de depuração do sistema de tratamento. A tabela 6, a seguir indica os microrganismos e as características de processo a eles associadas.

Tabela 6 : Microrganismos indicadores das condições de depuração<sup>12</sup>

MICROORGANISMOS	CARACTERÍSTICAS DO PROCESSO
predominância de flagelados e rizópodes	lodo jovem, característico de início de operação ou $\theta_c$ baixa.
predominância de flagelados	deficiência de aeração, má depuração e sobrecarga orgânica
predominância de ciliados pedunculados e livres	boas condições de depuração
presença de <u>Arcella</u> (rizópode com teca)	boa depuração
presença de <u>Aspidisca costata</u> (ciliado livre)	nitrificação
presença de <u>Trachelophyllum</u> (ciliado livre)	$\theta_c$ alta
presença de <u>Vorticella microstoma</u> (ciliado pedunculado) e baixa concentração de ciliados livres	efluente de má qualidade
predominância de anelídeos do gên. <u>Aelosoma</u>	excesso de oxigênio dissolvido
predominância de filamentos	intumescimento do lodo ou "bulking" filamentoso*

\* - Para caracterizar intumescimento do lodo é necessário avaliar os flocos.

É importante salientar, que cada sistema de lodos ativados se comporta como um ecossistema único, dependendo das características do esgoto doméstico afluente, da configuração hidráulica do sistema, da idade do lodo, da temperatura e da concentração de oxigênio dissolvido. Portanto, os valores anteriormente citados podem variar bastante a cada caso.

## ANEXO 1

NOMENCLATURA

DBO <sub>5</sub>	-	Demanda Bioquímica de Oxigênio (20°C, 5 dias) mgO <sub>2</sub> /ℓ).
DQO	-	Demanda Química de Oxigênio (mgO <sub>2</sub> /ℓ)
HNO <sub>2</sub>	-	Ácido nitroso
IVL	-	Índice Volumétrico de Lodo (ml/g)
NH <sub>3</sub>	-	Nitrogênio amoniacal
NK <sub>T</sub>	-	Nitrogênio Kjeldahl Total (mg N/ℓ)
NO <sub>2</sub>	-	Nitritos
NO <sub>3</sub>	-	Nitratos
O.D.	-	Oxigênio Dissolvido (mg/ℓ)
pH	-	Potencial hidrogeniônico
P <sub>T</sub>	-	Fosfato Total (mg P/ℓ)
S.R.	-	Sedgwick - Rafter
SS	-	Sólidos em Suspensão (mg/ℓ)
SSVTA	-	Sólidos em Suspensão Voláteis no Tanque Aeração (mg/ℓ)
θ <sub>h</sub>	-	Tempo de detenção hidráulico (horas)
θ <sub>c</sub>	-	Idade do lodo (dias)

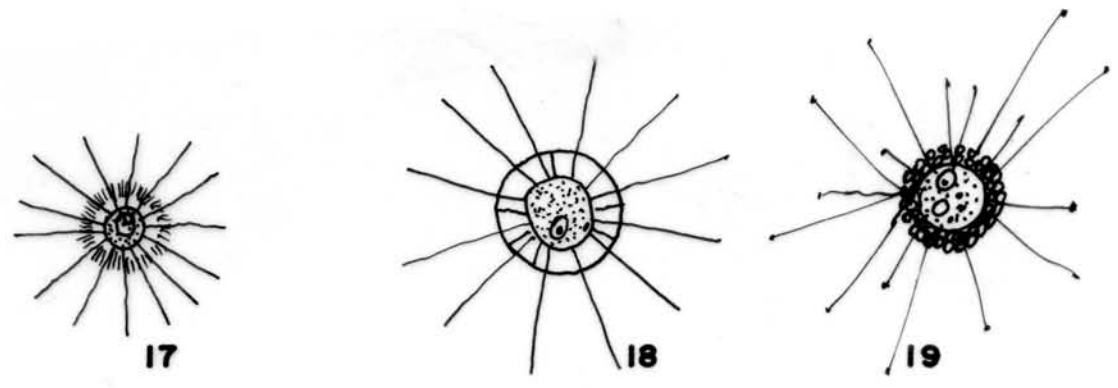
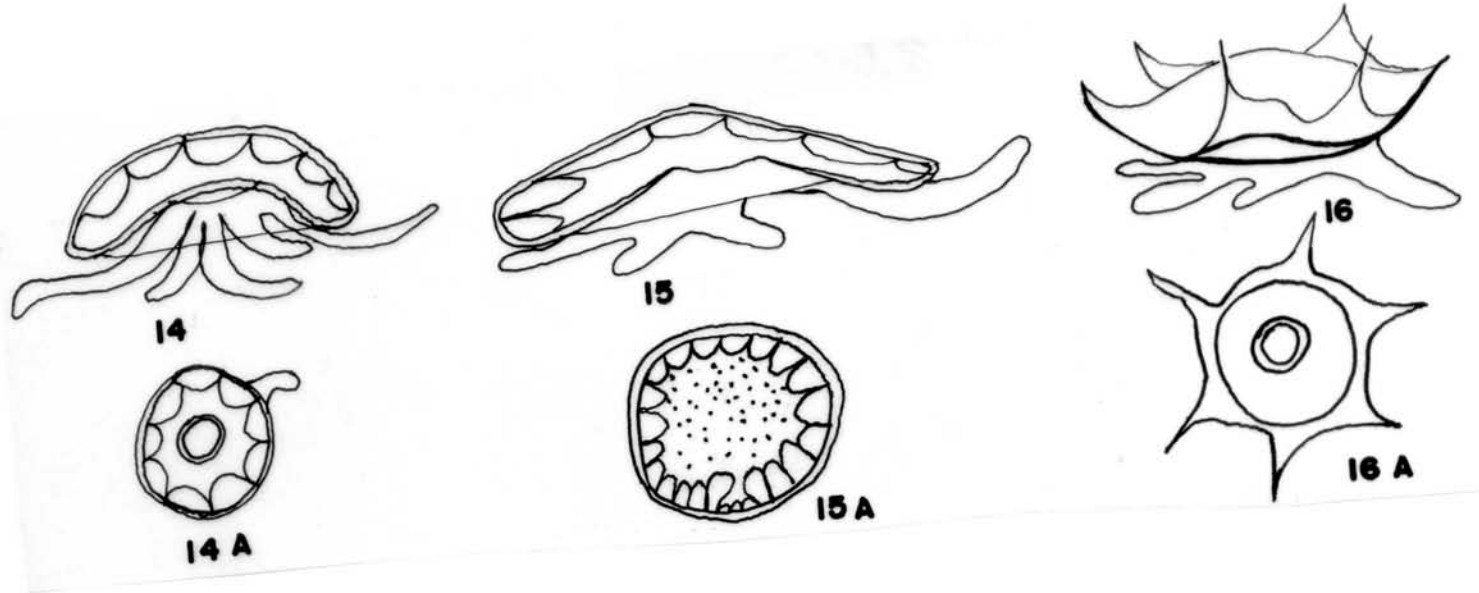
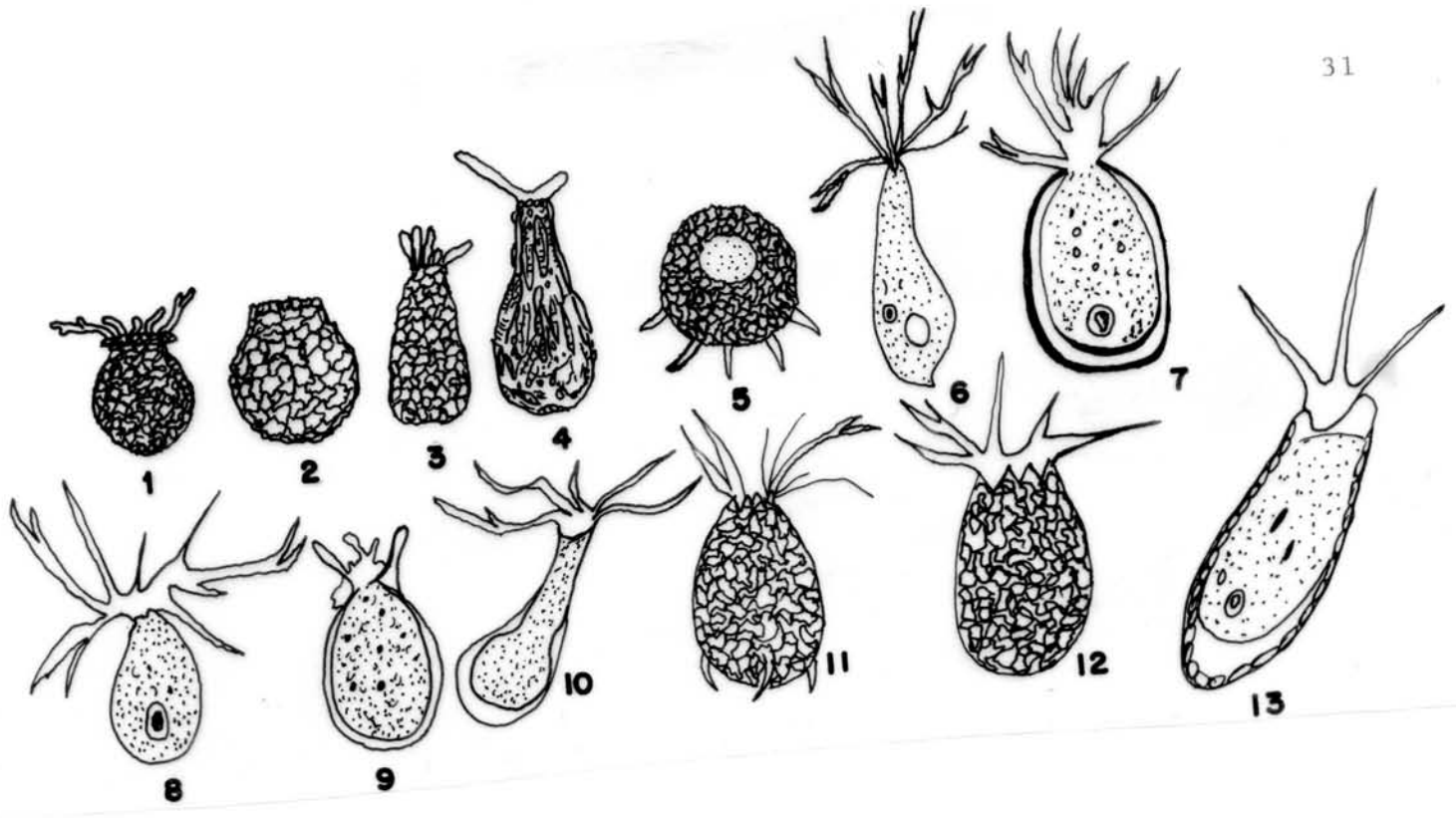
ANEXO 2ESQUEMAS DOS ORGANISMOS DA MICROFAUNA MAIS FREQUENTES  
EM LODOS ATIVADOS

A seguir apresentamos os desenhos dos protozoários e micrometazoários mais frequentes em lodos ativados<sup>8,13</sup>.

No filo Protozoa encontram-se os grupos : classe Sarcodina , que corresponde as amebas e tecamebas; classe Mastigophora , que compreende os flagelados; classe Ciliata, com os ciliados livres e ciliados pedunculados.

A classe Rotífera, compreende os rotíferos, sendo os gêneros principais Philodina, Rotaria e Epiphanes. A classe Nematoda e o filo Anelida são geralmente representados pelos gêneros Rhabditis e Aelosoma, respectivamente. Os rotíferos, nematoides e anelídeos são metazoários.

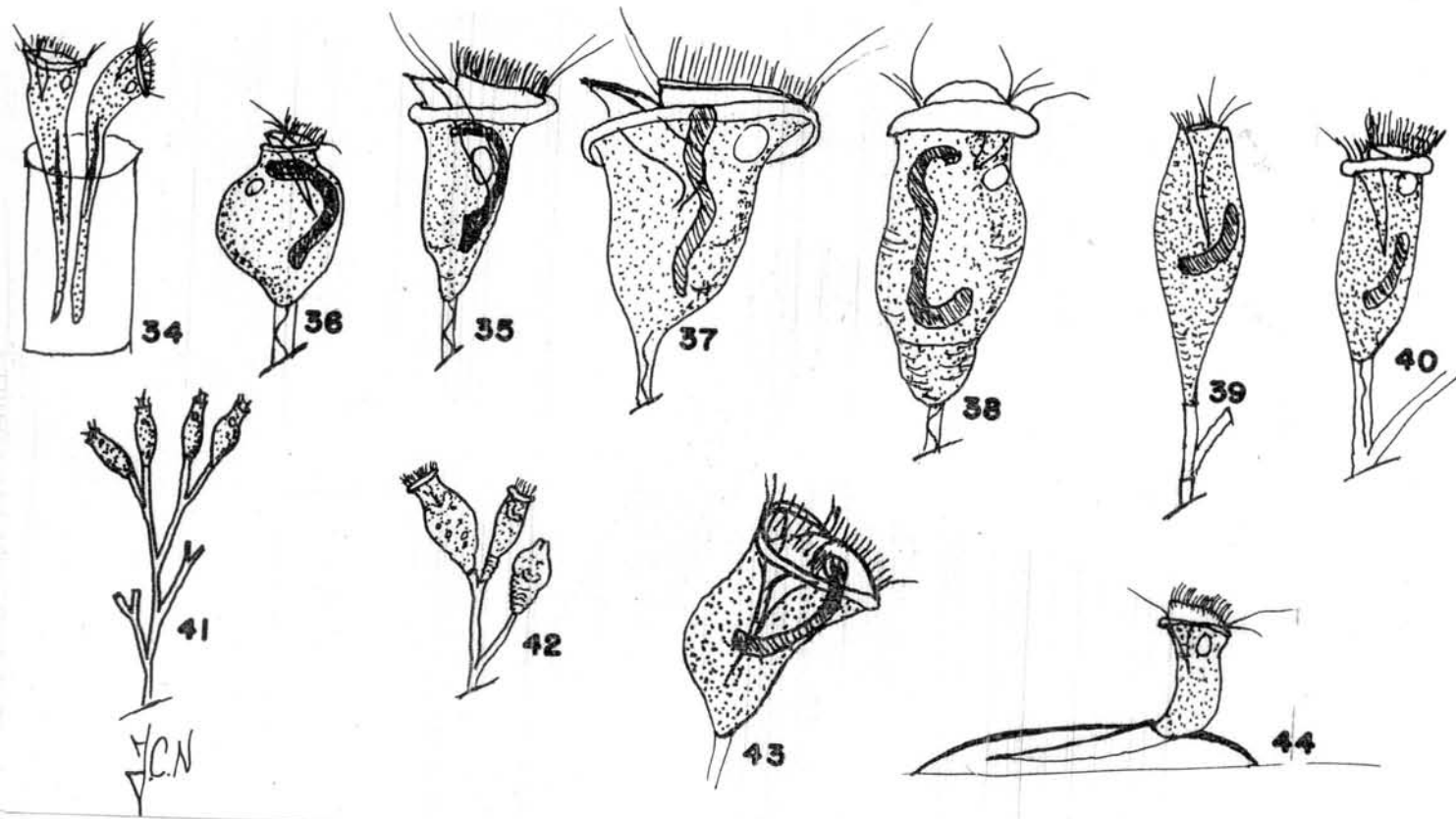
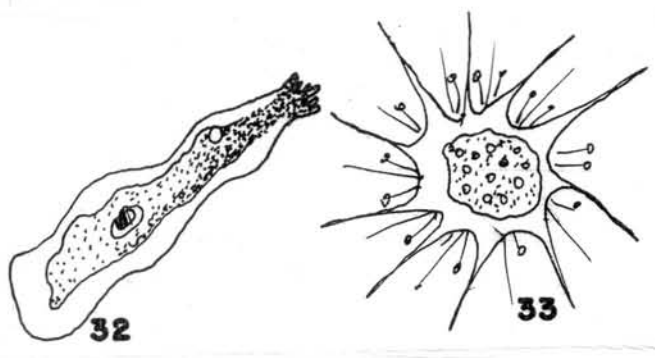
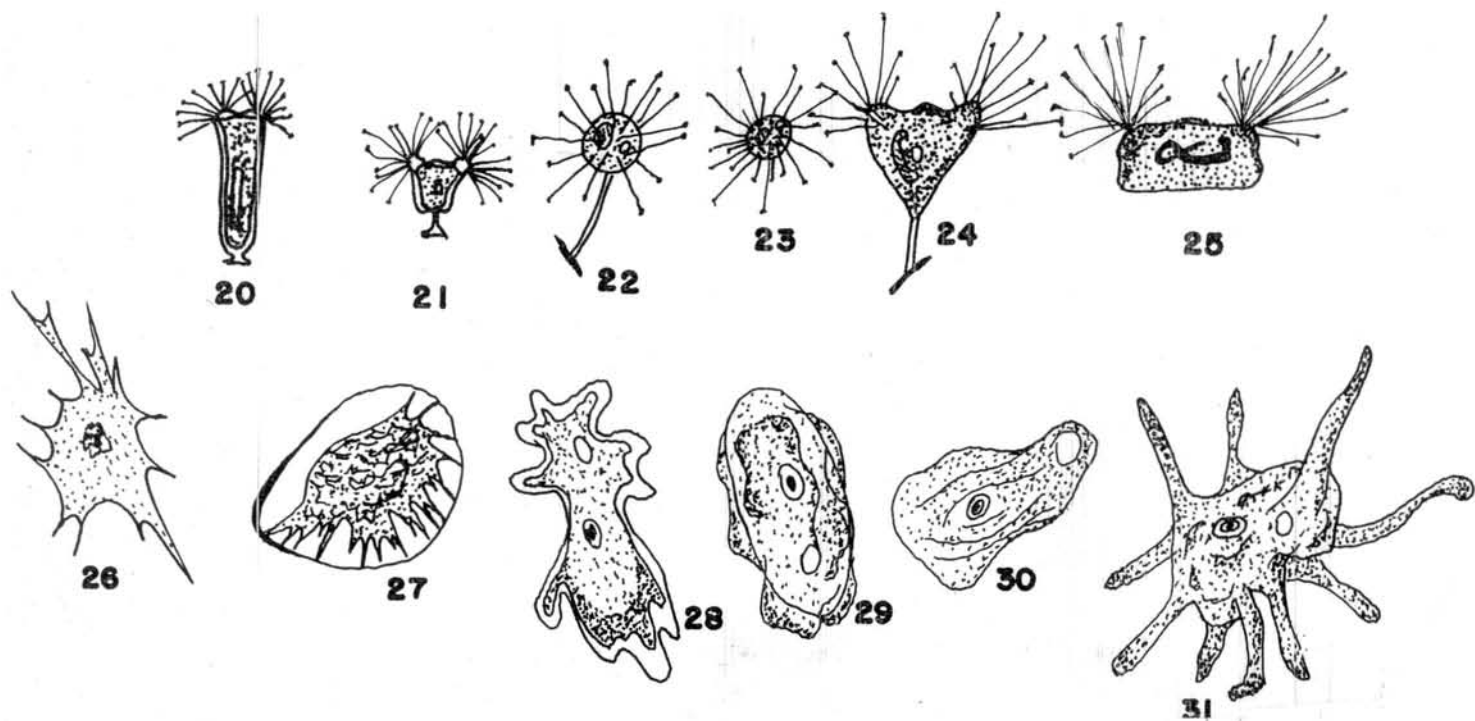
Os esquemas dos organismos são apresentados sob ampliações adequadas.



HCH



1. Diffflugia urceolata - (200 - 300  $\mu\text{m}$ )
2. Diffflugia lebes - (400  $\mu\text{m}$ )
3. Diffflugia oblonga - (60 - 580  $\mu\text{m}$ )
4. Diffflugia bacillifera - (145 - 160  $\mu\text{m}$ )
5. Centropyxis aculeata - (100 - 150  $\mu\text{m}$ )
6. Pamphagus mutabilis - (40 - 100  $\mu\text{m}$ )
7. Chlamydothryx stercorea - (18 - 20  $\mu\text{m}$ )
8. Chlamydothryx minor - (17  $\mu\text{m}$ )
9. Cochlippodium bilimbosum - (24 - 56  $\mu\text{m}$ )
10. Cyphoderia ampulla - (60 - 200  $\mu\text{m}$ )
11. Euglypha alveolata - (50 - 100  $\mu\text{m}$ )
12. Euglypha tuberculata - (45 - 100  $\mu\text{m}$ )
13. Trinema lineare - (35  $\mu\text{m}$ )
14. Arcella vulgaris - (30 - 100  $\mu\text{m}$ )
- 14a. Vista Superior
15. Arcella discoides - (70 - 260  $\mu\text{m}$ )
- 15a. Vista Superior
16. Arcella dentata - (95  $\mu\text{m}$ )
- 16a. Vista superior
17. Heterophrys myriopoda - (65 - 80  $\mu\text{m}$ )
18. Astradisculus sp - (13 - 17  $\mu\text{m}$ )
19. Pompholyxophrys punicea - (25 - 30  $\mu\text{m}$ )

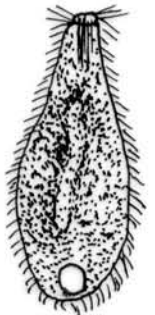
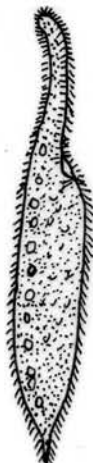
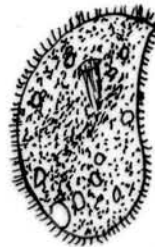
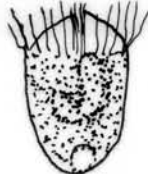
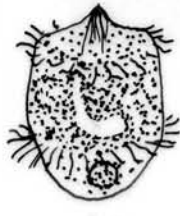
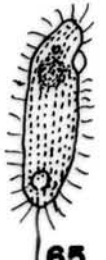
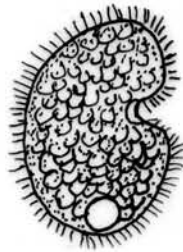
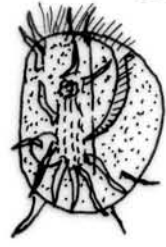
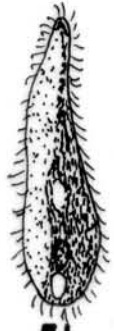
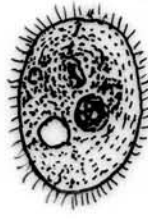
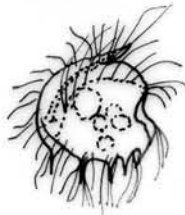


20. Periacineta buckei (100  $\mu\text{m}$ )
21. Acineta limnetis (80  $\mu\text{m}$ )
22. Podophrya fixa - (40 - 60  $\mu\text{m}$ )
23. Sphaerophya magna - (75  $\mu\text{m}$ )
24. Podophrya mollis - (40  $\mu\text{m}$ )
25. Anarma brevis - (125  $\mu\text{m}$ )
26. Nuclearia simplex - (30  $\mu\text{m}$ )
27. Hyalodiscus rubicundus - (50 - 80  $\mu\text{m}$ )
28. Amoeba proteus - (100 - 600  $\mu\text{m}$ )
29. Amoeba verrucosa - (100 - 200  $\mu\text{m}$ )
30. Amoeba striata - (25 - 45  $\mu\text{m}$ )
31. Amoeba radiosa - (30 - 120  $\mu\text{m}$ )
32. Amoeba limax - (50 - 80  $\mu\text{m}$ )
33. Vampyrella lateritia - (30 - 40  $\mu\text{m}$ )
34. Vaginicola tinctoria - (85  $\mu\text{m}$ )
35. Vorticella nebulifera (var. *similis*) - (40 - 90  $\mu\text{m}$ )
36. Vorticella microstoma - (55  $\mu\text{m}$ )
37. Vorticella campanula - (100  $\mu\text{m}$ )
38. Vorticella aequilata - (50  $\mu\text{m}$ )
39. Opercularia coarctata - (50  $\mu\text{m}$ )
40. Zoothamnium arbuscula - (4 mm)
41. Opercularia coarctata - (50  $\mu\text{m}$ )
42. Epistylis plicatilis - (150  $\mu\text{m}$ )
43. Carchesium polypinum - (1,2 mm)
44. Platycola decumbens - (90  $\mu\text{m}$ )

ESQUEMAS 20 a 25 - FILO PROTOZOA, CLASSE CILIATA

ESQUEMAS 26 a 33 - FILO PROTOZOA, CLASSE SARCODINA

ESQUEMAS 34 a 44 - FILO PROTOZOA, CLASSE CILIATA



J.C.N

73

74

75

76

77

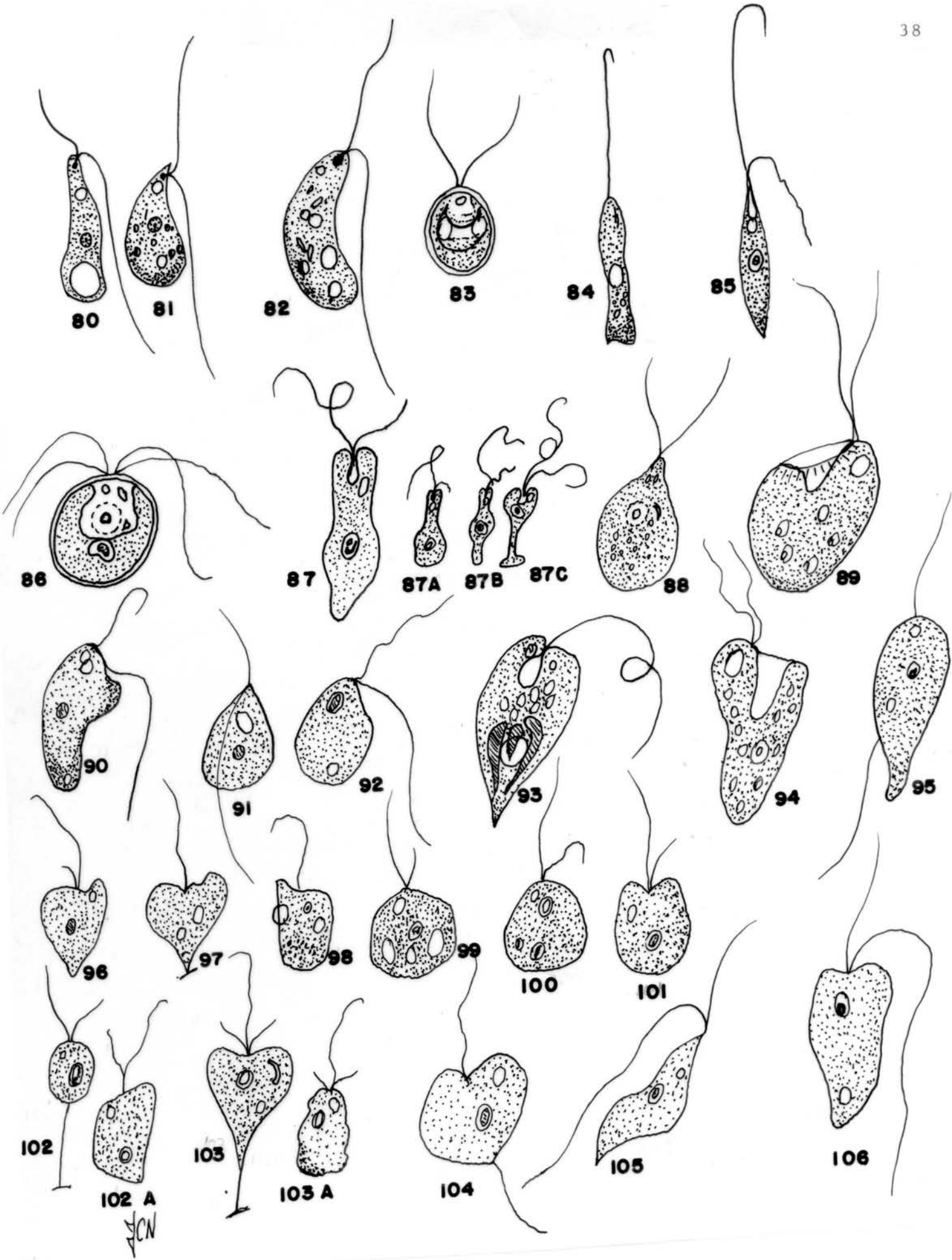
78

79

45. Trachelophyllum pusillum (40 - 50  $\mu\text{m}$ )
- 45a. Pseudoblepharisma crassum (200  $\mu\text{m}$ )
46. Spirostomum teres - (500  $\mu\text{m}$ )
47. Spirostomum minus - (900  $\mu\text{m}$ )
48. Saprodinium putrinum - (35 - 40  $\mu\text{m}$ )
49. Glaucoma scintillans - (50  $\mu\text{m}$ )
50. Plagiopyla nasuta - (125  $\mu\text{m}$ )
51. Acinertia incurvata - (120  $\mu\text{m}$ )
52. Metopus sp - (120 - 160  $\mu\text{m}$ )
53. Oxytrichia fallax - (150  $\mu\text{m}$ )
54. Stylonichia mytilus - (150  $\mu\text{m}$ )
55. Euplotes patella - (118  $\mu\text{m}$ )
56. Aspidisca costata - (32  $\mu\text{m}$ )
57. Paramecium aurelia - (165  $\mu\text{m}$ )
58. Paramecium caudatum - (210  $\mu\text{m}$ )
59. Paramecium multimicronucleatum - (275  $\mu\text{m}$ )
60. Paramecium bursaria - (130  $\mu\text{m}$ )
61. Paramecium trichium - (90  $\mu\text{m}$ )
62. Colpoda cucullus - (87  $\mu\text{m}$ )
63. Colpidium colpoda - (100  $\mu\text{m}$ )
64. Tetrahymena pyriformis - (50  $\mu\text{m}$ )
65. Uronema griseolum - (42  $\mu\text{m}$ )
66. Platyophrya vorax - (60  $\mu\text{m}$ )
67. Coleps hirtus - (60  $\mu\text{m}$ )
68. Didinium nasutum - (80 - 150  $\mu\text{m}$ )
69. Didinium balbianii - (80  $\mu\text{m}$ )
70. Chilodonella uncinata - (42  $\mu\text{m}$ )
71. Chilodonella cuculluta - (125  $\mu\text{m}$ )
72. Blepharisma lateritum - (150 - 300  $\mu\text{m}$ )
73. Litonotus fasciola - (100 - 140  $\mu\text{m}$ )

- 74. Trachelium ovum - (330  $\mu\text{m}$ )
- 75. Dileptus anser - (155  $\mu\text{m}$ )
- 76. Amphileptus claparedei - (250  $\mu\text{m}$ )
- 77. Trachelophyllum apiculatum - (560  $\mu\text{m}$ )
- 78. Lacrymaria olor - (120  $\mu\text{m}$ )
- 79. Enchelyodon elegans - (180  $\mu\text{m}$ )

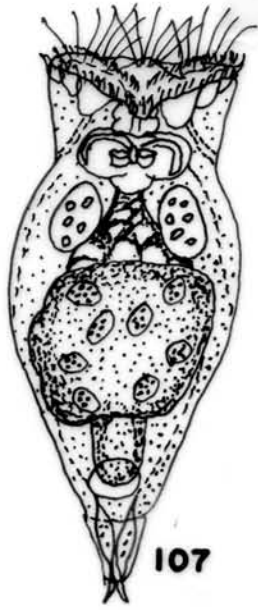
ESQUEMAS 45 a 79 - FILO PROTOZOA, CLASSE CILIALA



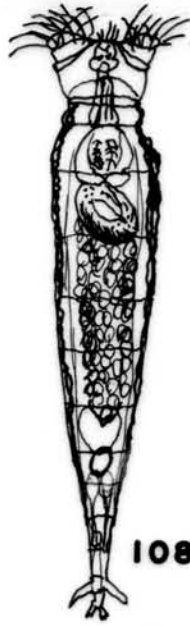
JCN

80. Spiromonas angusta - (10  $\mu\text{m}$ )
81. Spiromonas socialis - (10  $\mu\text{m}$ )
82. Bodo sp - (6 - 15  $\mu\text{m}$ )
83. Chlamydomonas sp - (25  $\mu\text{m}$ )
84. Peranema trichophorum - (20 - 110  $\mu\text{m}$ )
85. Heteronema acus - (40 - 100  $\mu\text{m}$ )
86. Carteria globosa - (18 - 28  $\mu\text{m}$ )
87. Distigma proteus - (45 - 110  $\mu\text{m}$ )
87. A B C - Mudanças de forma de acordo com o metabolismo.
88. Polytoma uvella - (15 - 30  $\mu\text{m}$ )
89. Cyathomonas truncata - (15 - 30  $\mu\text{m}$ )
90. Bodo caudatus - (11 - 22  $\mu\text{m}$ )
91. Bodo globosus - (9 - 13  $\mu\text{m}$ )
92. Bodo lens - (6 - 7  $\mu\text{m}$ )
93. Euglena viridis - (35 - 90  $\mu\text{m}$ )
94. Chilomonas paramecium - (20 - 40  $\mu\text{m}$ )
95. Cercobodo longicauda - (18 - 36  $\mu\text{m}$ )
96. Oicomonas socialis - (10 - 15  $\mu\text{m}$ )
97. Oicomonas steinii - (16 - 17  $\mu\text{m}$ )
98. Oicomonas termo - (5 - 9  $\mu\text{m}$ )
99. Monas amoebiana - (12 - 15  $\mu\text{m}$ )
100. Monas vulgaris - (14 - 16  $\mu\text{m}$ )
101. Monas obliqua - (6  $\mu\text{m}$ )
102. Monas minima - (4 - 7  $\mu\text{m}$ )
- 102.A. Forma livre natante
103. Monas vivipara - (20 - 40  $\mu\text{m}$ )
- 103.A. Forma livre natante
104. Cercobodo ovatus - (15 - 19  $\mu\text{m}$ )
105. Cercobodo craussicauda - (12 - 16  $\mu\text{m}$ )
106. Cercobodo radiatus - (10 - 14  $\mu\text{m}$ )

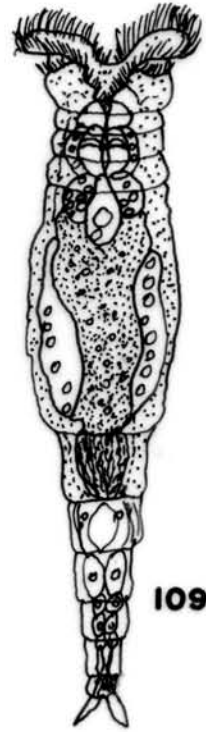




107



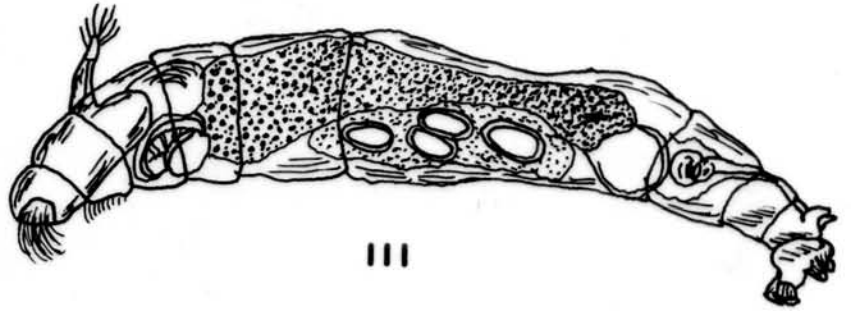
108



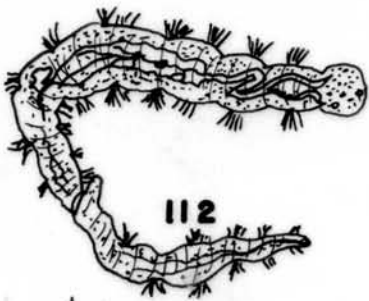
109



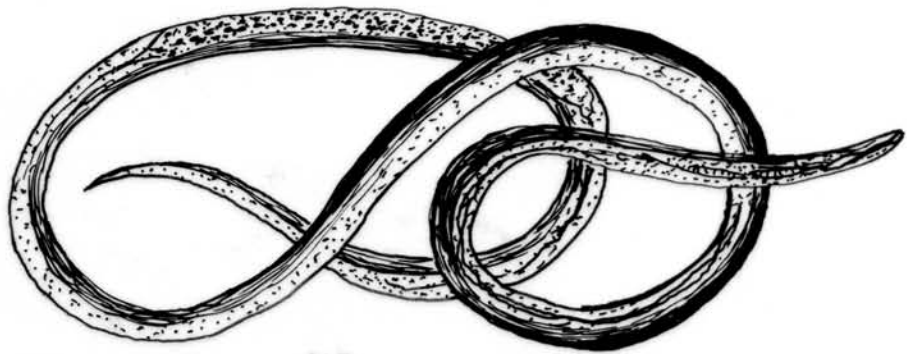
110



111



112



113

JCN

107. Epiphanes senta - (100  $\mu$ m)  
108. Rotaria citrinus - (200  $\mu$ m)  
109. Philodina roseolla - (250 - 300  $\mu$ m)  
110. Epiphanes brachionus - (100 - 150  $\mu$ m)  
111. Philodinavus paradoxus - (200 - 400  $\mu$ m)  
112. Aelosoma hemprichi - (500  $\mu$ m - 2 mm)  
113. Rhabditis sp - (500  $\mu$ m - 4 mm)

ESQUEMAS 107 a 111 - CLASSE ROTÍFERA  
ESQUEMA 112 - FILO ANELIDA  
ESQUEMA 113 - CLASSE NEMATODA

BIBLIOGRAFIA

1. BRANCO, S.M. Hidrologia aplicada à Engenharia Sanitária 2<sup>a</sup> ed. São Paulo, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 1978, 620 p.
2. HAWKES, H.A. The ecology of waste water treatment. Hungary, Pergamon Press Ltda. 1963, 203 p.
3. MONOD, J. The growth of bacterial cultures. J. Ann. Inst. Pasteur - 371 - 93, 1941.
4. ALVARENGA, E.C. e ALÉM SOBRINHO, P. Fundamentos teóricos dos reatores biológicos e sua aplicação ao tratamento de águas residuárias. Revista DAE, (113):53-61, 1977.
5. PIKE, E.B.; CARRINGTON, E.G. Recent developments in the study of bacteria in the activated sludge process. Wat. Pollut. Control., 71(6):583-605, 1972.
6. PIPES, W.O. Bulking of activated sludge. Adv. Appl. Microbiol. 9 : 185-234, 1967.
7. DRAKIDES, C. La microfaune des boues activees. Etude d'une methode d'observation et application an Suivi d'un pilote en phase de demarrage. Water Research, 14 :1199-1207, 1980.
8. WARD & WHIPPLE. Freshwater biology - 2<sup>a</sup> ed. USA, W.T. Edmonson, 1959. 1248 p.
9. SEZGIN, M.; JENKINS, D. e PARKER, D.S. A unified theory of filamentous activated sludge bulking. J. Wat. Pollut. Cont. Fed., 50:362-81, 1978.
10. SLÁDECEK, V. Saprobic secessions. Verh. Int. Verein. Limnol., 18 : 896-902, Stuttgart, 1972.
11. BICH, H. Ciliated Protozoa - An illustrated guide to the

species used as biological indicators in freshwater biology. Genebra, Organização Mundial da Saúde, 1972. 198p.

12. Relatório interno : Pesquisas microbiológicas em ensaios de laboratório de lodos ativados - Convênio DAEE - CETESB, Diretoria de Pesquisas, Dez/78.
13. STORER, T.I. Zoologia Geral. 3<sup>a</sup> ed. Brasil, Ed. Nacional, 1977, 757 p.