



**II-076 - APLICAÇÃO DE TÉCNICAS DE ANÁLISE DE IMAGEM E DE ESTATÍSTICA MULTIVARIÁVEL NO RECONHECIMENTO DE PROTOZOÁRIOS E METAZOÁRIOS TÍPICOS DE SISTEMAS POR LODOS ATIVADOS**

**Yovanka Pérez Ginoris<sup>(1)</sup>**

Engenheira Química pelo Instituto Politécnico José Antonio Echevarria. Doutor em Ciências pelo programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Bioquímicos pela Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (EQ/UFRJ). Bolsista Prodóc pelo Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília (UnB).

**Antônio Luís Amaral**

Licenciado em Engenharia Biológica pela Universidade do Minho (UM). Doutor em Engenharia Química e Biológica pela UM. Assistente Convidado pelo departamento de Tecnologia Química do ESTIG do Instituto Politécnico de Bragança (ESTIG/IPB).

**Eugénio Campos Ferreira**

Engenheiro Químico pela Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto (FEUP). Ph. D. em Engenharia Química pela FEUP. Professor associado com grau de habilitação no departamento de Engenharia Biológica da Universidade do Minho.

**Maria Alice Zarur Coelho**

Engenheira Química pela Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (EQ/UFRJ). Doutor em Ciências pelo programa de Engenharia Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (COPE/UFRJ). Professor Associado do Departamento de Engenharia Bioquímica da Escola de Química da UFRJ (EQ/UFRJ).

**Ana Nicolau**

Licenciada em Biologia pela Universidade de Aveiro. Doutor em Engenharia Química e Biológica pela Universidade do Minho. Bolseira de pós-doutoramento no IBB - Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centre for Biological Engineering, Universidade do Minho.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Faculdade de Tecnologia, CEP: 70910-900, Brasília – DF – Brasil. Tel: +0055-61-33072301/33072310, Fax : +0055-61-32734644 [yovanka.perez@gmail.com](mailto:yovanka.perez@gmail.com)

## **RESUMO**

Os protozoários e pequenos metazoários são organismos abundantes nos tanques de aeração das Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs) por lodos ativados. A distribuição de espécies e sua abundância têm sido apontadas como indicadores da qualidade do tratamento fornecendo um instrumento útil para avaliar o desempenho destes sistemas. O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento em ambiente Matlab de um procedimento de análise digital de imagens combinado com as técnicas multivariáveis de Redes Neurais, Análise Discriminante e Árvores de Decisão para efetuar o reconhecimento dos principais grupos de protozoários e pequenos metazoários típicos dos sistemas de tratamento de efluentes por lodos ativados. O procedimento obtido mostrou-se adequado para distinguir entre as classes de protozoários e metazoários incluídos no estudo. Os desempenhos globais de reconhecimento alcançados podem ser considerados de razoáveis a bons para todos as espécies avaliadas com exceção dos organismos pedunculados. Em relação com o reconhecimento dos organismos indicadores das condições operacionais das ETEs os resultados obtidos foram razoáveis para efetuar o seu diagnóstico, com melhoras na identificação dos organismos indicadores de condições críticas de operação em relação a estudos anteriores. Dentre as técnicas de análise estatística multivariável aplicadas, as Redes Neurais e a Análise Discriminante alcançaram níveis de Desempenho Global de Reconhecimento comparáveis, enquanto que as Árvores de Decisão mostraram-se menos apropriadas para os objetivos deste estudo. Por último, os resultados obtidos provaram que a técnica de análise digital de imagens combinada com as técnicas estatísticas de análise multivariável constitui uma ferramenta promissora para avaliar e monitorar populações de protozoários e metazoários nas ETEs por lodos ativados.

**PALAVRAS-CHAVE:** Protozoários, Metazoários, Análise de Imagens, tratamento de efluentes, lodos ativados.



## INTRODUÇÃO

Dentre as tecnologias que têm sido desenvolvidas para o tratamento das águas residuárias destacam-se os tratamentos biológicos, baseados no uso prático e controlado de microrganismos. Tais tecnologias vêm sendo utilizadas com sucesso na remoção de diversos compostos químicos com elevado potencial poluidor, principalmente os sistemas baseados em lodos ativados, considerados atualmente as tecnologias de tratamento biológico mais utilizadas a nível mundial para o tratamento de esgotos domésticos e industriais, uma vez que permitem remover com elevada eficiência uma ampla variedade de compostos orgânicos e inorgânicos. Nestes sistemas a biomassa, consistindo de microrganismos (principalmente bactérias e protozoários, além de fungos e pequenos metazoários) e partículas sólidas, é aerada e mantida em suspensão para garantir a remoção da matéria orgânica e os nutrientes que são usados pelos organismos decompositores.

Os protozoários e pequenos metazoários são geralmente muito abundantes nos tanques de aeração das Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs) que apresentam boas condições de operação. A distribuição de espécies e sua abundância têm sido apontadas como indicadores da qualidade do tratamento fornecendo um instrumento útil para avaliar o desempenho destes sistemas. Em vários estudos foi investigada a importância e o papel da comunidade de protozoários e pequenos metazoários nos processos de purificação desenvolvidos nas ETEs por lodos ativados e foi verificada a existência de correlações entre o desempenho das mesmas ou suas condições operacionais e a abundância de certas espécies de protozoários e pequenos metazoários nos tanques de aeração<sup>1, 2</sup>. A existência destas correlações levou ao surgimento de várias metodologias baseadas na estrutura das populações de protozoários e pequenos metazoários para avaliar o desempenho da ETE, sendo o Índice Biótico de Lodos (IBL), desenvolvido por Madoni em 1994<sup>3</sup>, o método mais difundido para efetuar o diagnóstico biológico da operação da ETE.

A principal desvantagem associada ao uso do IBL como instrumento de diagnóstico é o fato de que a identificação e enumeração dos microrganismos é realizada manualmente, por meio de observações microscópicas das amostras de lodo ativado o qual consome tempo e requer pessoal especializado em protistologia para efetuar o reconhecimento das espécies de protozoários e metazoários.

A técnica de análise de imagens pode ser considerada uma ferramenta útil para realizar a classificação taxonômica e a quantificação dos organismos de forma automática e não subjetiva. Neste sentido, já têm sido efetuados alguns estudos usando esta técnica combinada com a análise estatística multivariável tais como Redes Neurais, Análise de Componentes Principais e Análise Discriminante com vista a efetuar o reconhecimento dos protozoários e metazoários comumente presentes nos tanques de aeração das ETEs. Os resultados destes estudos foram considerados promissores para a classificação e identificação de vários grupos de protozoários e metazoários de forma semi-automática.

O objetivo do presente trabalho foi o desenvolvimento em ambiente Matlab de um procedimento de análise de imagens combinado com as técnicas de Redes Neurais, Análise Discriminante e Árvores de Decisão para efetuar o reconhecimento dos principais grupos de protozoários e metazoários típicos dos sistemas de tratamento por lodos ativados principalmente protozoários flagelados, sarcodinas, e ciliados bem como metazoários rotíferos, *gastrotrichia* e *oligotrichia*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de lodo foram recolhidas nos tanques de aeração das ETEs de Nancy (França) e de Braga (Portugal) que tratam esgotos domésticos e industriais. Uma gota da amostra foi depositada cuidadosamente em uma lâmina e a aquisição das imagens foi realizada em estado fresco (sem adição de corantes ou outros produtos).

Foram incluídos no estudo um total de 22 grupos de protozoários e metazoários pertencentes a várias espécies, gêneros, ordens e sub-classes conforme mostrado na Tabela 1.

### Aquisição e Processamento de Imagens

A aquisição das imagens dos protozoários e metazoários das amostras de lodo ativado foi realizada usando a técnica de campo claro empregando um microscópio ótico acoplado a uma câmera CCD em ampliações de



100X, 250X e 400X. As imagens foram adquiridas em escala de cinza (256 tons) e salvas em formato TIFF para posterior processamento e análise das mesmas.

**Tabela 1: Protozoários e metazoários estudados incluídos no estudo**

Protozoários	Flagelados	<i>Peranema</i> sp.
	Sarcodinas	<i>Arcella</i> sp. <i>Euglypha</i> sp.
	Ciliados	Nadadores <i>Trachelophyllum</i> spp.
		Carnívoros <i>Coleps</i> sp. <i>Litonotus</i> sp. Suctoria (Sub-classe)
		Móveis de Fundo <i>Aspidisca cicada</i> <i>Euplotes</i> sp. <i>Trithigmostoma</i> sp. <i>Trochilia</i> sp.
		Sésseis <i>Carchesium</i> sp. <i>Epistylis</i> spp. <i>Opercularia</i> sp. <i>V. convallaria</i> <i>V. aquadulcis</i> <i>V. microstoma</i> <i>Zoothamnium</i> sp.
Metazoários	Rotíferos	Digononta (Ordem) Monogononta (Ordem)
	<i>Gastrotrichia</i>	Nematoda (Sub-Classe)
	<i>Oligotrichia</i>	<i>Aelosoma</i> sp.

#### Programa de Análise de Imagens

O *software* desenvolvido neste trabalho, *ProtoRec* v.4, foi adaptado do programa elaborado previamente por Amaral (2003) e programado em *Matlab* (*The MathWorks Inc., Natick*).

O programa consiste de duas sub-rotinas que podem ser aplicadas juntas ou separadamente. A primeira sub-rotina (*Protozoa.m*) é um programa semi-automático para obter as imagens binárias dos protozoários e metazoários a partir das imagens originais em escala de cinza (256 tons). Esta sub-rotina é composta basicamente por três módulos principais: pré-tratamento, segmentação e pós-tratamento das imagens binárias.

A segunda sub-rotina (*Protozoa\_param.m*) consiste em um programa automático de análise de imagem para estimar e salvar os descritores morfológicos do corpo e das estruturas externas dos protozoários e metazoários tais como Área, Perímetro, Comprimento, Fator de Forma, Convexidade, Compacidade, Esfericidade, Orientação, Solidez, Excentricidade, Forma de Feret, Robustez, Maior Concavidade, Razão de Concavidade, Largura, Largura Média, Razão de Largura Média/Corpo, Dimensão Fractal de Massa, Dimensão Fractal de Superfície, Dimensão Fractal da Área vs. Perímetro, Dimensão Fractal da Razão das Massas, Dimensão Fractal do Mapa de Distância Euclidiano, Existência de cílios, Existência de Pedúnculo, Largura do Pedúnculo, Razão de Largura Pedúnculo/Corpo, Existência de Tentáculos e Existência de Flagelo.

A Figura 2 ilustra a representação esquemática do programa *ProtoRec* implementado em *Matlab*.

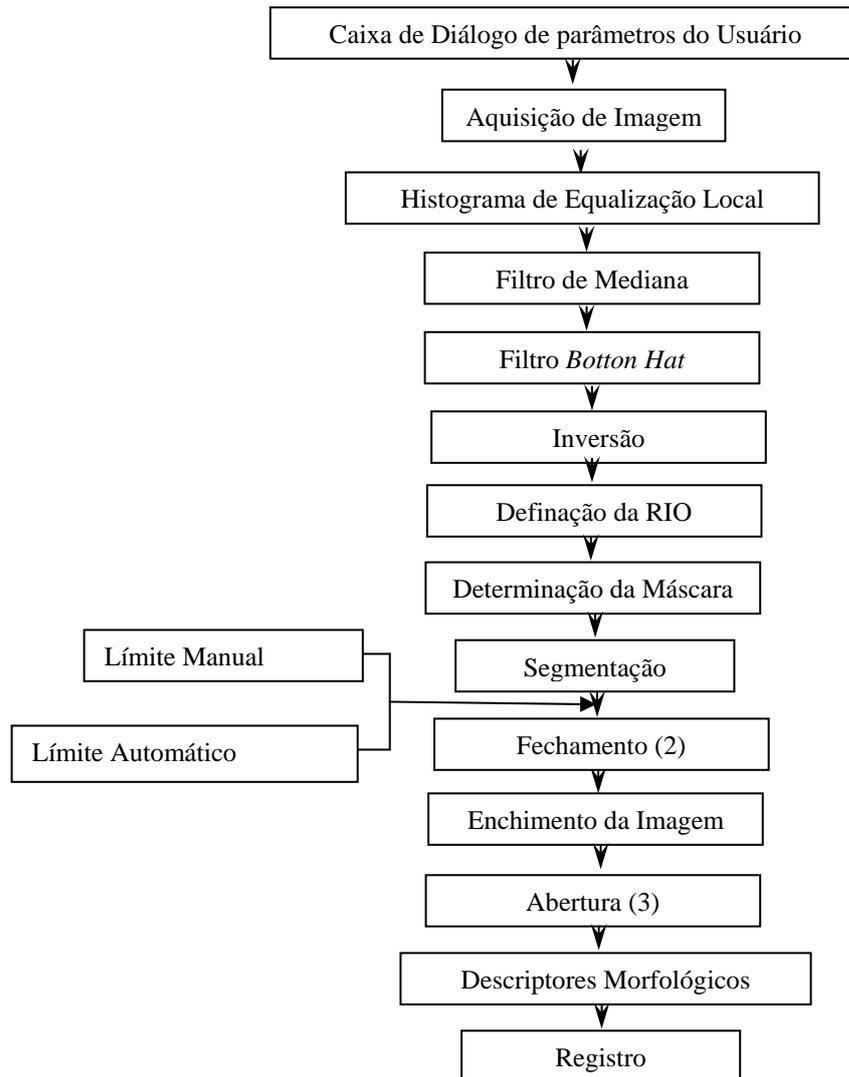
#### Processamento dos dados

##### *Organização dos dados*

Previamente à aplicação das técnicas de análise multivariável dos parâmetros morfológicos, os microrganismos incluídos no estudo foram separados em duas classes facilmente reconhecíveis: pedunculados e não pedunculados. Esta separação foi efetuada pelo usuário, por ser o pedúnculo uma estrutura muito simples de reconhecer e teve como objetivo simplificar e reduzir o tempo da análise das imagens pelo programa.



Figura 2: Representação esquemática do programa ProtoRec



Inicialmente foi utilizado um grupo de treinamento de cada um dos 22 microrganismos incluídos no estudo para a determinação das funções discriminantes e a arquitetura das Redes Neurais e das Árvores de Decisão. Devido à impossibilidade de, em alguns casos reconhecer um dado organismo como *Epistylis* ou *Opercularia* dada a semelhança entre ambas as espécies quando o aparelho bucal encontra-se fechado, foi incluída no estudo uma classe adicional resultando em um total de 23 classes de organismos. Para propósitos de validação foi utilizado um grupo diferente de organismos de cada uma das 23 classes avaliadas (grupo teste).

Os diferentes protozoários e metazoários incluídos no trabalho foram representados com as seguintes abreviaturas: *A. cicada* (acic), *Aelosoma* sp. (aelo), *Arcella* sp. (arce), *Carchesium* sp. (carc), *Coleps* sp. (cole), ordem Digononta (digo), *Epistylis* spp. (epis), *Euglypha* sp. (eugl), *Euplotes* sp. (eupl), *Litonotus* sp. (lito), ordem Monogononta (mono), sub-classe Nematoda (nema), *Opercularia* sp. (oper), *Peranema* sp. (pera), sub-classe Suctorina (suct), *Trachelophyllum* spp. (trac), *Trithigmostoma* sp. (trit), *Trochilia* sp. (troc), *V. aquadulcis* (vaqu), *V. convallaria* (vcon), *V. microstoma* (vmic) e *Zoothamnium* sp. (zoot). Os organismos pertencentes a *Epistylis* e *Opercularia* com semelhanças no aparelho bucal foram representados como ep/op.

#### Aplicação das técnicas estatísticas de análise multivariável

Os descritores morfológicos determinados na última etapa do programa de análise de imagens foram processados posteriormente usando as técnicas de Análise Discriminante, Redes Neurais e Árvores de Decisão



incluídas no *toolbox* de análise estatística do Matlab com vista a identificar e classificar cada espécie, gênero, ordem ou subclasse de protozoários e metazoários.

O Desempenho global do procedimento obtido foi avaliado mediante a determinação dos seguintes parâmetros: Percentual de Reconhecimento (% Rec), estimado como a relação entre o número de microrganismos corretamente classificados em uma dada classe e o número total de microrganismos analisados nessa classe; Erro de classificação (% Erro), determinado como a relação entre o número total de organismos incorretamente classificados e o número total de organismos pertencentes as restantes classes; e o Desempenho Global de Reconhecimento (% Global), estimado pela multiplicação do Percentual de Reconhecimento da classe pelo fator (100 - Erro de Classificação da classe) e dividido por 100. Os valores globais de cada um destes parâmetros referem-se aos valores de cada grupo estudado abrangendo uma ou mais classes de organismos.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos na identificação dos organismos pedunculados e não-pedunculados após a aplicação a aplicação das três técnicas estatísticas multivariáveis são apresentados nas Tabelas 2 e 3.

**Tabela 2: Percentuais de Reconhecimento, Erro de classificação e Desempenho global dos organismos não pedunculados.**

	<i>Análise Discriminante</i>			<i>Redes Neurais</i>			<i>Árvores de Decisão</i>		
	% <i>Rec.</i>	% <i>Erro.</i>	% <i>Global</i>	% <i>Rec.</i>	% <i>Erro.</i>	% <i>Global</i>	% <i>Rec.</i>	% <i>Erro.</i>	% <i>Global</i>
<i>acic</i>	86,4	0,2	86,2	87,9	0,5	87,9	92,4	0,5	92,0
<i>aelo</i>	100,0	0,0	100,0	95,7	0,0	95,7	91,3	0,0	91,3
<i>arce</i>	96,3	1,1	95,2	92,6	0,5	92,2	88,9	0,5	88,5
<i>cole</i>	97,0	0,2	96,8	97,0	0,7	96,3	90,9	0,4	90,5
<i>digo</i>	82,8	0,9	82,0	86,2	0,9	85,5	82,8	0,9	82,0
<i>eugl</i>	97,0	1,5	95,5	93,9	1,1	92,9	84,8	0,7	84,3
<i>eupl</i>	78,8	1,1	77,9	87,9	0,4	87,5	90,9	0,9	90,1
<i>lito</i>	97,0	0,2	96,8	97,0	1,3	95,7	87,9	0,7	87,3
<i>mono</i>	81,8	1,3	80,8	84,9	0,9	84,1	87,9	2,6	85,6
<i>nema</i>	95,0	0,0	95,0	90,0	0,0	90,0	95,0	0,0	95,0
<i>pera</i>	100,0	0,2	99,8	97,0	0,2	96,8	100,0	0,4	99,6
<i>trac</i>	100,0	0,0	100,0	97,7	0,7	97,0	97,7	0,4	97,2
<i>trit</i>	89,7	0,4	89,3	79,5	1,1	78,6	89,7	1,5	88,4
<i>troc</i>	100,0	0,6	99,4	95,5	0,4	95,1	100,0	0,0	100,0
<i>NI</i>	0,2			1,2			0,0		

*NI* – Não identificados

Como observado na Tabela 2, em geral para todos os organismos não pedunculados os percentuais de reconhecimento mantiveram-se acima de 81%, excepto para *Euplotes* (78,8%) ao se adotar a Análise Discriminate para efetuar a classificação das espécies e *Trithigmostoma* (79,5%) quando foi usada a técnica de Redes Neurais. Por outra parte, foi evidenciado que o Erro de classificação foi desprezível (menor de 2% excepto para Monogononta com o uso das Árvores de Decisão) para todos os organismos não pedunculados avaliados. Estes resultados repercutiram em um bom desempenho global do procedimento de classificatório (percentuais superiores a 80% excepto para *Euplotes* na Análise Discriminante e *Trithigmostoma* nas Redes Neurais como referido anteriormente). Além disso, menos de 2% dos organismos não-pedunculados não foram identificados mediante as três técnicas classificatórias usadas.

Entretanto, o percentual de reconhecimento alcançado para os organismos pedunculados (Tabela 3) foi bastante baixa ao se aplicar as três técnicas de análise multivariável quando comparado com os níveis de reconhecimento observados para os organismos não-pedunculados, com valores inferiores a 83% (exceto para Suctoria. Semelhantemente o erro de classificação exibiu valores de até 9,5% para todos os microrganismos pedunculados o que resultou em um desempenho global que não sobrepassou 82% em todos os casos exceptuando a sub-classe Suctoria.



**Tabela 3: Percentuais de Reconhecimento, Erro de classificação e Desempenho global dos organismos pedunculados.**

	<i>Análise Discriminante</i>			<i>Redes Neurais</i>			<i>Árvores de Decisão</i>		
	% <i>Rec.</i>	% <i>Erro</i>	% <i>Global</i>	% <i>Rec.</i>	% <i>Erro</i>	% <i>Global</i>	% <i>Rec.</i>	% <i>Erro</i>	% <i>Global</i>
<i>carc</i>	54,5	3,2	52,8	60,6	3,6	58,5	48,5	4,4	46,4
<i>epis</i>	83,0	6,3	77,8	72,3	4,6	69,0	59,6	1,3	58,8
<i>ep/op</i>	54,6	2,8	53,0	66,7	3,2	64,6	78,8	7,1	73,2
<i>oper</i>	82,6	1,5	81,4	82,6	3,8	79,5	65,2	3,0	63,2
<i>suct</i>	88,9	0,4	88,6	94,4	0,4	94,1	88,9	0,4	88,6
<i>vaqu</i>	66,7	2,8	64,8	69,7	3,2	67,5	69,7	7,5	64,5
<i>vcon</i>	81,8	3,6	78,9	66,7	2,8	64,8	57,6	1,2	56,9
<i>vmic</i>	69,7	6,3	65,3	72,7	5,1	69,0	45,5	8,3	41,7
<i>zoot</i>	69,7	4,7	66,4	63,6	6,7	59,4	60,6	9,5	54,9
<i>NI</i>	0,7			0,0			0,0		

*NI* – Não identificados

O percentual de reconhecimento global para cada grupo estudado (pedunculados e não pedunculados) apresentado na Tabela 4 como esperado foi dependente dos percentuais globais de reconhecimento de cada espécie microbiana, e foi melhor para o grupo de organismos não-pedunculados em relação com o grupo dos organismos pedunculados para as três análises estatísticas estudadas.

**Tabela 4: Reconhecimento global, Erro de classificação e desempenhos globais de reconhecimento para os grupos de organismos pedunculados e não pedunculados.**

	<i>Análise Discriminante</i>			<i>Redes Neurais</i>			<i>Árvores de Decisão</i>		
	% <i>Rec</i>	% <i>Erro</i>	% <i>Global</i>	% <i>Rec.</i>	% <i>Erro</i>	% <i>Global</i>	% <i>Rec.</i>	% <i>Erro</i>	% <i>Global</i>
<i>Pedunc.</i>	71,7	27,6	51,9	70,6	29,4	49,9	62,2	37,8	38,7
<i>Não-pedunc</i>	92,5	7,3	85,8	91,3	7,5	84,5	91,3	8,7	83,3

Pedunc. – organismos pedunculados

Não-pedunc. – organismos não-pedunculados

Do ponto de vista da complexidade na aquisição das imagens digitais de alguns grupos microbianos como ciliados móveis de fundo, estes resultados podem ser considerados bons uma vez que o movimento constante destes organismos na superfície dos flocos dificulta consideravelmente a posterior identificação das estruturas externas, neste caso os cirros que são estruturas fundamentais para efetuar a classificação de tais organismos.

Os resultados pobres alcançados na classificação do grupo dos organismos não-pedunculados são fortemente influenciados pela semelhança morfológica das formas projetadas entre várias das espécies estudadas como *V. microstoma*, *V. convalaria*, *Carchesium* e *Zoothamnium*, o que torna difícil a identificação destes organismos.

Os percentuais de reconhecimento, erros de classificação e percentuais globais de reconhecimento para as três técnicas de análise multivariável referentes à identificação dos grupos de protozoários e metazoários (sarcodinas, ciliados, flagelados e metazoários) e protozoários ciliados (carnívoros, móveis de fundo, sésseis e não-ciliados) são mostrados na Tabela 5.

**Tabela 5: Reconhecimento global, Erro de classificação e desempenhos globais de reconhecimento para os grupos de protozoários e metazoários e para os protozoários ciliados**

	<i>Análise Discriminante</i>			<i>Redes Neurais</i>			<i>Árvores de Decisão</i>		
	% <i>Rec</i>	% <i>Erro</i>	% <i>Global</i>	% <i>Rec</i>	% <i>Erro</i>	% <i>Global</i>	% <i>Rec.</i>	% <i>Erro</i>	% <i>Global</i>
<i>Grupos</i>	97,4	2,2	95,3	97,0	2,2	94,9	97,3	2,7	94,7
<i>Ciliados</i>	97,2	2,4	94,8	95,4	3,8	92,2	96,4	3,6	92,9



Pode ser observado que na identificação dos principais grupos de protozoários e pequenos metazoários bem como no reconhecimento dos protozoários ciliados, os níveis de reconhecimento foram comparáveis e maiores de 95% para todos os grupos analisados ao se tratar os dados morfológicos pelas três técnicas estatísticas de classificação. O erro de classificação manteve-se inferior a 4% o que resultou em desempenhos globais de reconhecimento superiores a 92% em todos os casos.

Em relação com a identificação dos organismos indicadores das condições operacionais das ETEs, através de vários estudos tem sido verificada a existência de correlações entre as classes de protozoários e pequenos metazoários incluídas no presente estudo e as condições operacionais das ETEs e a qualidade do efluente tratado <sup>1,5,6</sup>. Conforme estes estudos as espécies dos gêneros *Opercularia* sp. e *Trachelophyllum* sp. e a espécie *V. microstoma* são indicadores de baixa qualidade do efluente purificado; entretanto *Aelosoma* sp., *Euglypha* sp., *Euplotes* sp., a ordem Monogononta, *Peranema* sp., *Trithigmostoma* sp., *Trochilia* sp., *V. aquadulcis*, e *Zoothamnium* sp. são indicadores de alta qualidade do efluente tratado.

Por outra parte a presença de organismos de Nematoda, *Opercularia* sp. e *V. microstoma* sp. nos tanques de aeração está associada a pobre aeração do lodo ativado (abaixo de 0,2-0,5 mg de O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>), ao passo que *Aelosoma* sp., *Carchesium* sp., *Euglypha* sp., *Arcella* sp., Monogononta, *Trochilia* sp., *V. aquadulcis* e *Zoothamnium* sp. indicam condições satisfatórias de aeração (acima de 1-2 mg de O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>).

A extensão do processo de nitrificação pode ser inferida pela ocorrência no sistema de microrganismos pertencentes as espécies de *Aelosoma* sp., *Arcella* sp., *Carchesium* sp., *Coleps* sp., *Epistylis* sp., *Euplotes* sp., *Trochilia* sp. e a ordem Monogononta.

Por último, a presença nos tanques de aeração de organismos dos gênero *Peranema* e de *V. microstoma* é um indício de lodos frescos (poucos dias de operação), enquanto espécies de *Aelosoma* sp., *Euglypha* sp. e *Arcella* sp. bem como das ordens Monogononta e Digononta tem sido apontadas como indicadores de lodos de idade avançada (20 dias ou mais).

Baseado nestas considerações, os resultados obtidos para o reconhecimento de grupos indicadores das condições operacionais e de qualidade do tratamento do efluente mostrados na Tabela 6, mostram resultados comparáveis para todas as técnicas classificatórias aplicadas, obtendo-se resultados mais pobres para a técnica de Árvores de Decisão. No entanto, estes resultados podem ser considerados razoáveis para as condições de operacionais e de qualidade do tratamento analisadas.

**Tabela 6: Reconhecimento global, Erro de classificação e desempenhos globais de reconhecimento dos indicadores da qualidade final do efluente e das condições de aeração, nitrificação e idade do lodo.**

	<i>Análise Discriminante</i>			<i>Redes Neurais</i>			<i>Árvores de Decisão</i>		
	% Rec.	% Erro	% Global	% Rec.	% Erro	% Global	% Rec.	% Erro	% Global
<i>Qual. Efluente</i>	89,6	10,0	80,7	89,8	9,4	80,5	88,3	11,7	78,0
<i>Aeração</i>	90,9	8,7	83,0	91,0	8,2	82,6	89,6	10,4	80,3
<i>Nitrificação</i>	90,1	9,5	81,6	90,5	8,7	82,1	89,2	10,8	79,6
<i>Idade Lodo</i>	94,2	5,4	89,2	94,0	5,2	89,3	92,6	7,4	85,7

*Qual. Efluente* – Qualidade do efluente

É interessante notar que os níveis de reconhecimento e classificação alcançados para os organismos indicadores das condições críticas de operação e de qualidade do tratamento foram de razoáveis a bons para todas as técnicas estatísticas. No entanto, deve ser ressaltado que os melhores resultados corresponderam ao processo classificatório empregando-se as técnicas de análise discriminante e de Redes Neurais.

## CONCLUSÕES

O procedimento de análise digital de imagens desenvolvido mostrou-se robusto para distinguir os organismos não-pedunculados com percentuais globais de reconhecimento superiores a 85% para a maioria das espécies, o que pode ser considerado um resultado razoável com base na complexidade na aquisição das imagens de várias das espécies estudadas, principalmente os ciliados móveis de fundo e os ciliados nadadores.



Adicionalmente, o desempenho global de reconhecimento relativo ao grupo de organismos não-pedunculados manteve-se acima de 83% podendo ser considerado como um nível de reconhecimento razoável.

Os níveis de reconhecimento global do grupo dos organismos pedunculados foram menores de 75% para a maioria das espécies ao se efetuar a classificação empregando-se as três técnicas de análise multivariável, o que resultou em um desempenho global de reconhecimento deste grupo abaixo de 52%. Estes resultados foram influenciados pelas semelhanças morfológicas exibidas por vários dos organismos incluídos neste grupo, o que torna difícil o reconhecimento dos indivíduos.

Os níveis de reconhecimento dos grupos de protozoários e metazoários bem como dos grupos de ciliados pode ser considerado bastante bom. Os desempenhos globais de reconhecimento foram superiores a 94% para os grupos de protozoários e metazoários e maiores de 92% para os grupos de protozoários ciliados para todas as técnicas classificatórias aplicadas. Estes resultados são importantes do ponto de vista da avaliação das condições operacionais das ETEs uma vez que os protozoários ciliados são excelentes indicadores de tais condições.

Finalmente, os resultados obtidos provaram que a análise digital de imagens combinada com as técnicas estatísticas de análise multivariável é uma ferramenta promissora para avaliar e monitorar populações de protozoários e metazoários nas ETEs por lodos ativados. Das três técnicas multivariáveis utilizadas no estudo as árvores de Decisão se mostraram menos apropriadas para serem usadas no reconhecimento dos protozoários e metazoários, enquanto que as técnicas de Análise Discriminante e Redes Neurais se mostraram mais adequadas como provam os níveis de desempenho global de reconhecimento alcançados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MADONI, P. Microfauna Biomass in Activated Sludge and Biofilm. *Water Science & Technology*, vol. 29 n. 7, p. 63-66, 1994a.
2. NICOLAU, A., MOTA, M., LIMA, N. Protists as indicators of toxicants entrance in activated sludge processes, *Environmental Engineering Science*, 2006, in press.
3. MADONI, P. A Sludge Biotic Index (SBI) for the Evaluation of the Biological Performance of Activated-Sludge Plants Based on the Microfauna Analysis. *Water Research* vol. 28, n. 1, p. 67-75, 1994b.
4. AMARAL A.L., DA MOTTA M., PONS M.N., VIVIER H., ROCHE N., MOTA M., FERREIRA E.C. Survey of Protozoa and Metazoa populations in wastewater treatment plants by image analysis and discriminant analysis, *Environmetrics*, vol. 15, n.4, p. 381-390, 2004.
5. CANLER, J.P., J.M. PERRET, F. DUCHENE, E. COTTEAUX. Aide au Diagnostic des Stations d'Épuration par l'observation Microscopique des Boues Activeés, Cemagref Editions, Lyon, 1999.
6. CURDS, C.R. The ecology and role of protozoa in aerobic sewage treatment processes. *Ann. Rev.Microbiol.*, vol. 36, p. 27-46, 1982.