



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JOSEMARQUE LIMA DA ROSA

**BIOFILTRAÇÃO APLICADA AO TRATAMENTO DE ÁGUAS
PARA REMOÇÃO/BIODEGRADAÇÃO DE MICROCISTINAS**

Londrina
2017

JOSEMARQUE LIMA DA ROSA

**BIOFILTRAÇÃO APLICADA AO TRATAMENTO DE ÁGUAS
PARA REMOÇÃO/BIODEGRADAÇÃO DE MICROCISTINAS**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Edificações e Saneamento do Centro de Tecnologia e Urbanismo da Universidade Estadual de Londrina, visando à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Edificações e Saneamento.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Emília Kiyomi Kuroda.

Londrina
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Rosa, Josemarque Lima.

Biofiltração aplicada ao tratamento de águas para remoção/biodegradação de microcistinas / Josemarque Lima Rosa. - Londrina, 2017.
88 f.

Orientador: Emilia Kiyomi Kuroda.

Dissertação (Mestrado em Edificações e Saneamento) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Tecnologia e Urbanismo, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Edificações e Saneamento, 2017.

Inclui bibliografia.

1. Tratamento de Águas - Tese. 2. Biodegradação - Tese. 3. Cianotoxinas - Tese. 4. Cinoobactérias - Tese. I. Kuroda, Emilia Kiyomi . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Tecnologia e Urbanismo. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Edificações e Saneamento. III. Título.

JOSEMARQUE LIMA DA ROSA

**BIOFILTRAÇÃO APLICADA AO TRATAMENTO DE ÁGUAS PARA
REMOÇÃO/BIODEGRADAÇÃO DE MICROCISTINAS**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Edificações e Saneamento do Centro de Tecnologia e Urbanismo da Universidade Estadual de Londrina, visando à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Edificações e Saneamento.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof^ª. Dr^ª Emília Kiyomi Kuroda
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^ª. Dr^ª. Elisabete Hiromi Hashimoto
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR

Prof^ª. Dr^ª Cássia Reika Takabayashi
Yamashita
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 12 de maio de 2017.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Emília Kiyomi Kuroda, por todos os ensinamentos desde estágio/iniciação científica, pela amizade, apoio, paciência, pelos puxões de orelha, conselhos, disponibilidade, sugestões e pela constante orientação durante a realização deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Elisabete Hiromi Hashimoto pelas valiosas contribuições na banca de qualificação, e por todos os ensinamentos, colaboração, incentivo, amizade e pelo apoio desde a graduação.

À Prof^a. Dr^a. Cássia Reika Takabayashi Yamashita, pelas valiosas contribuições na banca de qualificação, colaboração, incentivo, amizade, pelo apoio no desenvolvimento e análises necessárias durante a realização do mestrado

À toda a minha família, em especial a minha Mãe Marli, aos meus irmãos Cristiano, Edvandro, Carolina, Josué e Maria Gabriely, pelo amor, apoio, carinho, confiança e incentivo.

Aos meus sobrinhos Izis, Mizael e Arya, por alegrarem a minha vida.

A Daniele, pelo amor, motivação, apoio, carinho, paciência, pela disposição e ajuda em vários momentos em que necessitei.

A todos os amigos do Laboratório de Hidráulica e Saneamento: Amanda, Aline, Andressa, Cássia, Emily, Mariane, Priscila, Renan, Sara, Thaís, Vilson e tantos outros pela convivência, ajuda e por todos os momentos de descontração e pela amizade que com certeza permanece.

À IC Bruna pela grande ajuda durante os experimentos.

Aos técnicos do laboratório de Maquetes Carlos Alberto Duarte e Sr. Reginaldo, pela grande ajuda na confecção dos filtros em acrílico e da bancada suporte do sistema de filtração. Ao técnico do laboratório de Hidráulica e Saneamento Ivan Jorge Alves, pelo auxílio e pelas conversas. Ao técnico do laboratório de Geotecnia e Solos Renan e ao estagiário Vitor Hugo, pelo auxílio composição do material granular utilizado.

À Prof^a Dr^a Elisa Yoko Hirooka pelas oportunidades e auxílio constante.

Aos Professores do Departamento de Construção Civil do Centro de Tecnologia e Urbanismo e aos docentes do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Edificações e Saneamento da Universidade Estadual de Londrina pelos ensinamentos adquiridos.

À SANEPAR, por disponibilizar a coleta e o transporte das amostras da água bruta e filtrada utilizada durante o experimento, pela parceria e colaboração, em especial aos funcionários Eng. Gil Gameiro, Sr. José Augusto Gonçalves e Sr. Eliel.

À UEL – Universidade Estadual de Londrina e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Edificações e Saneamento por oferecer as condições que possibilitaram a concretização do mestrado.

À CAPES, pelo fornecimento da bolsa de auxílio.

Aos colegas e às amizades que me acompanharam nestes anos e a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

ROSA, Josemarque Lima da. **Biofiltração aplicada ao tratamento de águas para remoção/biodegradação de microcistinas**. 2017. 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Edificações e Saneamento) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2017.

RESUMO

A ocorrência de cianobactérias em mananciais de abastecimento pode causar diversos problemas em ETAs (Estações de Tratamento de águas), de ordem operacional e de risco à saúde humana devido à possibilidade de produção de cianotoxinas. Dentre estas, as microcistinas – MCs destacam-se por serem frequentemente detectadas em mananciais de abastecimento público. Devido à limitada eficiência das técnicas convencionais em remover efetivamente MCs dissolvidas é necessário o uso de técnicas complementares e/ou alternativas de tratamento para sua remoção, como as técnicas de biofiltração, que utilizam a atividade biológica presente no biofilme formado para a remoção de contaminantes. Assim, este trabalho teve como objetivo comparar diferentes concepções de biofiltração em escala de bancada, com diferentes materiais granulares (areia de filtro lento - AFL, carvão ativado granular - CAG, areia de filtro rápido - AFR e grânulos de alginato de cálcio - ALG) e modos de ativação biológica (natural com água bruta *in natura*, específica com bactéria *Shingosinicella microcystinivorans* - B9 e sem ativação com água bruta esterilizada (controle negativo), para pré e pós-tratamento de águas para consumo humano, visando a remoção de MCs. Na Fase I de Pré-tratamento, com afluente com concentração média de MCs de $9,70 \mu\text{g L}^{-1}$, observou-se que após o período de maturação, todos os tipos de materiais granulares ativados biologicamente de forma natural ou específica com B9, apresentaram eficiente remoção de MCs, com valores residuais médios entre $0,08$ e $0,22 \mu\text{g L}^{-1}$. Para a turbidez, na Fase I-a e I-b, observou-se que a ativação biológica em todos os materiais granulares contribuiu para a remoção de turbidez, especialmente com a ativação biológica com a bactéria B9. Na Fase II de Pós-tratamento para MCs com afluente com concentração média de $10,10 \mu\text{g L}^{-1}$, os filtros de AFL e de CAG com ativação natural e específica com B9 apresentaram desempenhos similares, produzindo efluentes com valores residuais médios entre $0,07$ e $0,30 \mu\text{g L}^{-1}$. No entanto, para a turbidez, não houve remoção satisfatória nas Fases II-a e II-b devido provavelmente, à interferência da escala adotada para os ensaios e espessura reduzida do meio granular. Para ambas as fases, a interrupção da inoculação do microrganismo específico B9 não afetou o desempenho dos filtros de AFL e CAG em relação às remoções de MCs e de turbidez durante o período de monitoramento de 100 dias na Fase I de Pré-tratamento e de 30 dias na Fase II de Pós-tratamento. Para os parâmetros complementares de caracterização da atividade biológica (pH e OD), os efluentes produzidos pelos filtros com ativação específica com B9 na Fase I e Fase II apresentaram valores médios inferiores e com maior variação em relação aos demais efluentes.

Palavras-chave: MCs. Biofiltração. Ativação Biológica. Bactéria B9. Remoção/Biodegradação.

ROSA, Josemarque Lima da. **Biofiltration applied to water treatment for microcystins removal/biodegradation**. 2017. 88 p. Dissertation (Master's Degree in Buildings Engineering and Sanitation) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2017.

ABSTRACT

The occurrence of cyanobacteria in water supply sources can cause several problems in WTPs (Water treatment plants), of operational order and human health risk due to the potential of cyanotoxins production. Among these, the microcystins - MCs stand out for being frequently detected in public water supply sources. Because of the limited efficiency of conventional techniques in effectively remove dissolved MCs, it is necessary the use of complementary and/or alternative treatment techniques for MCs removal, such as biofiltration techniques, which use biological activity present in the biofilm for contaminants removal. Aiming MCs removal, the objective of this work was to compare different biofiltration conceptions in bench scale, with different granular materials (sand of slow sand filter - SSF, granular activated carbon - GAC, conventional filter sand - CS and calcium alginate granules - ALG) and modes of biological activation (natural with raw water, specific with bacterium *Sphingosinicella microcystinivorans* - B9 and without activation with sterilized raw water (negative control)) for pre and post-treatment of waters for human consumption. In Pre-treatment Phase I, with mean concentration of MCs affluent with $9,70 \text{ mg } \mu\text{g L}^{-1}$, it was observed after the maturation period that all types of showed efficient MCs removals, with mean residual values between $0,08$ and $0,22 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. For turbidity, in Phase I-a and I-b, it was observed that the biological activation in all the granular materials contributed to the turbidity removal. With the activation with B9 presenting mean residual values of turbidity lower than the values obtained for the natural activation. In Post-Treatment Phase II for MCs with mean concentration of $10,10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, SSF and GAC filters with natural and specific activation with B9 presented similar performances, producing effluents with mean residual values between $0,07$ and $0,30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. However, for turbidity, there was no satisfactory removal in Phases II-a and II-b due to interference from the scale adopted for the assays. For both phases, the B9 inoculation interruption of the specific microorganism B9 didn't affect the SSF and GAC filters performance in relation to removals of MCs and turbidity in the monitoring period of 100 days in pre-treatment Phase I and 30 days in post-treatment Phase II. For the complementary parameters of the biological activity characterization (pH and DO), the effluents produced by the filters with specific activation with B9 (AE-2 and AE-5) in Phase I and Phase II demonstrated lower mean values with a greater variation in relation to other effluents.

Keywords: MCs. Biofiltration. Biological Activation. Bacteria B9. Removal/Biodegradation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da microcistina – LR.....	19
Figura 2 - Esquema do delineamento experimental do Pré-tratamento: Fases I-a e I-b	38
Figura 3 - Esquema do delineamento experimental do Pós-tratamento: Fases II-a e II-b	39
Figura 4 - Fluxograma do método de imunoenensaio LABicELISA.....	45
Figura 5 - Esquema do filtro de laboratório.....	46
Figura 6 - Curva granulométrica da areia de filtro lento.....	48
Figura 7 - Curva granulométrica da areia de filtro rápido - AFR	48
Figura 8 - Concentração de MCs afluyente e efluente para o filtro de AFL - Fase I-a e I-b.....	54
Figura 9 - Concentração de MCs afluyente e efluente para o filtro de CAG - Fase I-a e I-b.....	54
Figura 10 - Concentração de MCs afluyente e efluente do filtro de AFR (a) e ALG (b) - Fase I-a e I-b	55
Figura 11 - Valores de turbidez afluyente e efluente do filtro de AFL - Fase I-a e I-b.....	55
Figura 12 - Valores de turbidez afluyente e efluente do filtro de CAG - Fase I- a e I-b.....	56
Figura 13 - Valores de turbidez afluyente e efluente do filtro de AFR (a) e ALG (b) - Fase I-a e I-b	56
Figura 14 - Gráfico bloxplot dos valores de pH afluyente e efluente para o filtro de AFL - Fase I-a e I-b.....	64
Figura 15 - Gráfico bloxplot dos valores de pH afluyente e efluente para o filtro de CAG - Fase I-a e I-b	64
Figura 16 - Gráfico bloxplot da concentração de OD afluyente e efluente para o filtro de AFL-Fase I-a e I-b.....	65
Figura 17 - Gráfico bloxplot da concentração de OD afluyente e efluente para o filtro de CAG - Fase I-a e I-b	65
Figura 18 - Concentração de MCs afluyente e efluente do filtro de AFL/ Fase II-a e II-b.....	68

Figura 19 - Concentração de MCs afluente e efluente do filtro de CAG / Fase II-a e II-b	68
Figura 20 - Valores de turbidez no afluente e nos efluentes do filtro de AFL / Fase II de Pós-tratamento	70
Figura 21 - Valores de turbidez no afluente e nos efluentes do filtro de CAG / Fase II de Pós-tratamento	70
Figura 22 - Gráfico bloxplot dos valores pH no afluente e nos efluentes do filtro de AFL / Fase II de Pós-tratamento.....	72
Figura 23 - Gráfico bloxplot dos valores pH no afluente e nos efluentes do filtro de CAG / Fase II de Pós-tratamento.....	73
Figura 24 - Gráfico bloxplot da concentração de OD no afluente e nos efluentes do filtro de AFL/ Fase II de Pós-tratamento	73
Figura 25 - Gráfico bloxplot da concentração de OD no afluente e nos efluentes do filtro de CAG / Fase II de Pós-tratamento	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Métodos e equipamentos para caracterização físico-química da água afluyente e efluente.....	42
Tabela 2 - Frequência de monitoramento dos filtros.	42
Tabela 3 - Composição granulométrica recomendada para areia de filtro lento	47
Tabela 4 - Características granulométricas da areia de filtro lento.....	48
Tabela 5 - Características granulométricas da areia de filtro rápido - AFR	49
Tabela 6 - Área de superfície específica (BET) e da distribuição de volume específico em função do tamanho do poro do CAG	49
Tabela 7 - Caracterização física-química da água de diluição: água bruta da ETA Tibagi.....	52
Tabela 8 - Caracterização física-química da água de diluição: água tratada até a etapa de filtração (sem cloro) da ETA Tibagi	52
Tabela 9 - Tempo de atendimento à cada condição de maturação Fase I de Pré-tratamento	54
Tabela 10 - Concentração de MCs afluyente, residual efluente e % de remoção após período de maturação para cada filtro e modo de ativação / Fase I de Pré-tratamento	57
Tabela 11 - Valores de turbidez afluyente, residual efluente e % de remoção após período de maturação para cada filtro e modo de ativação/ Fase I de Pré-tratamento.....	58
Tabela 12 - Duração da carreira inicial de filtração para cada filtro em função do modo de ativação/ Fase I de Pré-tratamento	62
Tabela 13 - Concentração de MCs afluyente, residual efluente e % remoção após período de maturação para cada filtro e modo de ativação / Fase II-a e II-b	69
Tabela 14 - Valores de turbidez no afluyente e residuais nos efluentes após período de maturação para cada filtro e modo de ativação / Fase II de Pós-tratamento.....	71
Tabela 15 - Dados da caracterização da água bruta da ETA Tibagi	87
Tabela 16 - Dados da caracterização da água filtrada antes da etapa de cloração da ETA Tibagi	88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcM	Anticorpo monoclonal
AE-1	Água de Estudo Tipo 1
AE-2	Água de Estudo Tipo 2
AE-3	Água de Estudo Tipo 3
AE-4	Água de Estudo Tipo 4
AE-5	Água de Estudo Tipo 5
AFL	Areia de Filtro Lento
AFR	Areia de Filtro Rápido
Al	Alumínio
ALG	Grânulos de Alginato de Cálcio
APHA _[ing]	American Public Health Association
AWWA _[ing]	American Water Works Association
BET	Superfície específica de Brunauer, Emmett and Teller
d ₁₀	Diâmetro Efetivo da Areia
BioCAG	Carvão ativado Biologicamente ou Biofiltração em Carvão Ativado Granular
BOD _[ing]	Biochemical Oxygen Demand
BSA _[ing]	Bovin Serum Albumine
CAG	Carvão Ativado Granular
CAP	Carvão Ativado Pulverizado
C/F/S	Coagulação/Floculação/Sedimentação
C/F/FAD	Coagulação/Floculação/Flotação por Ar Dissolvido
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ETA	Estação de Tratamento de Águas
FAD	Flotação por Ar Dissolvido
Fe	Ferro
FiME	Filtração em Múltiplas Etapas
HRP _[ing]	horseradish peroxidase
INMENTRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
Ic-ELISA _[ing]	indirect competitive Enzyme-linked Immunosorbent Assay
IAM	Índice de Azul de Metileno
IF	Índice de Fenol

MC/MCs	Microcistina/Microcistinas
NI	Número de Iodo
NOD	Nodularina
NM	Número de Melado
OD	Oxigênio Dissolvido
pH	potencial de hidrogênio
PBS _[ing]	Phosphate Buffered Saline
PBST _[ing]	Phosphate Buffered Saline with Tween-20
SXTs	Saxitoxinas
T	Turbidez
TMB	3,3',5,5'– tetrametilbenzidina
VMP	Valor Máximo Permitido
WEF _[ing]	Water Environment Federation

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL.....	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1	CYANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS.....	17
3.1.1	MICROCISTINAS – MCs.....	18
3.2	TRATAMENTO DE ÁGUAS PARA REMOÇÃO DE CYANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS.....	20
3.2.1	Tratamento por Ciclo Completo.....	22
3.2.2	Filtração Lenta.....	24
3.2.3	Adsorção em Carvão Ativado Granular (CAG).....	28
3.2.4	Matrizes de Imobilização	31
3.2.5	Biofiltração.....	32
3.3	LEGISLAÇÃO BRASILEIRA.....	35
4	MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	37
4.2	ÁGUAS DE ESTUDO E ATIVAÇÃO BIOLÓGICA	40
4.3	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA DOS AFLUENTES E EFLUENTES AO SISTEMA DE BIOFILTRAÇÃO.....	41
4.4	CEPAS DE MICRORGANISMOS E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS UTILIZADAS.....	42
4.4.1	Cepa de <i>Sphingosinicella microcystinivorans</i> - B9 e Condições de Cultivo.....	42
4.4.2	Condições de Cultivo de <i>Microcystis</i> sp. TAC95 e Preparo de Extrato com Microcistinas - MCs.....	43
4.5	QUANTIFICAÇÃO DE MICROCISTINAS - MCs	43
4.6	SISTEMA DE BIOFILTRAÇÃO EM ESCALA DE BANCADA.....	46
4.6.1	Materiais Granulares	47

4.6.2	Condições e Parâmetros Operacionais	50
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA DA ÁGUA DE ESTUDO DO RIO TIBAGI	52
5.2	PRÉ-TRATAMENTO DE ÁGUA POR BIOFILTRAÇÃO	53
5.3	BIOFILTRAÇÃO COMO PÓS-TRATAMENTO DE ÁGUAS PARA ABASTECIMENTO.....	67
6	CONCLUSÕES	76
7	RECOMENDAÇÕES	78
8	BIBLIOGRAFIA.....	79
APÊNDICES		87
APÊNDICE I – DADOS DA CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA ÁGUA DE ESTUDO DO RIO TIBAGI.....		87

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A ocorrência de cianobactérias em mananciais de abastecimento pode causar diversos problemas, tanto do ponto de vista operacional das Estações de Tratamento de Águas – ETAs quanto do ponto de vista sanitário, visto que esses organismos são capazes de produzir compostos, como as cianotoxinas, que podem causar danos à saúde humana e de animais (CHORUS; BARTRAN, 1999; CALIJURI et al., 2006; HO et al., 2012).

Dentre as cianotoxinas, as microcistinas - MCs merecem destaque, devido à frequência em que são detectadas em mananciais destinados ao abastecimento público, estando por consequência, relacionadas com diversos casos de intoxicação de humanos e animais (CHARMICHAEEL, 1994; AZEVEDO et al., 2002; CRUZ et al., 2011). Devido a sua estrutura química, as MCs apresentam estabilidade ao calor, hidrólise e oxidação. Em condições naturais, sem luz, podem persistir por meses ou anos, no entanto, a degradação de MCs pode ocorrer em condições específicas de pH e temperatura (HARADA et al., 1996; SIVONEN & JONES, 1999; CRUZ et al., 2011).

O tratamento de água quando empregado para a remoção de cianobactérias e cianotoxinas deve garantir que a água produzida seja segura para o consumo humano. O padrão de potabilidade estabelecido pela Portaria nº 2.914 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011) preconiza que o valor máximo permitido (VMP) é de 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para MCs totais, incluindo seus análogos (intra e extracelular).

O tratamento de água para abastecimento por ciclo completo, empregado em aproximadamente 80% dos sistemas existentes no Brasil. Este tipo de tratamento e/ou mesmo por filtração direta, não são capazes de efetivamente, remover cianotoxinas tais como as MCs na forma dissolvida, necessitando assim, de um tratamento complementar e/ou alternativo para sua remoção (CHOW et al., 1999; TEIXEIRA; ROSA, 2007; DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010; WESTRICK et al., 2010; HO, SAWADE;NEWCOMBE, 2012).

Algumas técnicas complementares de tratamento têm sido investigadas como: adsorção em carvão ativado (granular/pulverizado), processos oxidativos avançados e filtração em membranas. Essas técnicas apresentam limitações por requererem sofisticados equipamentos que demandam operação qualificada e custos adicionais. Além disso, adicionam estes pela própria concepção, um ônus ambiental ao

tratamento pelo uso de produtos químicos/geração de resíduos (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010; HO et al., 2011; HO; SAWADE; NEWCOMBE, 2012).

Neste contexto, há a necessidade de se buscar tecnologias sustentáveis sob os pontos de vista técnico, ambiental e econômico considerando a aplicabilidade às condições reais. Neste sentido, destaca-se à biofiltração, que associa a atividade biológica a materiais granulares para a remoção de contaminantes. A atividade biológica pode ser viabilizada neste caso, com o uso de microrganismos naturais e/ou específicos, que possuem capacidade de biodegradar as MCs na forma de biofilme sob a superfície do material granular (BOURNE et al., 2006; HO et al., 2006; TSUJI et al., 2006; KATO et al., 2007; KURIAMA, 2012).

A biofiltração é considerada sustentável ambientalmente, pois não necessita de produtos químicos em seus processos e apresentam baixo custo de operação e manutenção (HO; SAWADE; NEWCOMBE, 2012). No entanto, a aplicação destes requer investigações adicionais sobre a potencialidade de diferentes concepções aplicadas como técnica complementar ao tratamento convencional visando à remoção de MCs.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar diferentes concepções de biofiltração em escala de bancada com emprego de diferentes materiais granulares e modos de ativação biológica, para o pré e pós-tratamento de águas para consumo humano e remoção/biodegradação de MCs.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o desempenho da técnica de biofiltração em relação à remoção/biodegradação de MCs, considerando:

- Sua aplicação como pré e pós-tratamento de águas para consumo humano;
- Diferentes materiais granulares: areia de filtro lento, carvão ativado granular (CAG), areia de filtro convencional e grânulos de alginato de cálcio;
- A influência da ativação biológica: natural com água bruta *in natura* e específica com bactéria *Sphingosinicella microcystinivorans* – B9;
- A manutenção da atividade biológica específica ao longo do tempo.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS

As cianobactérias ou cianofíceas, também conhecidas como algas azuis, são organismos procarióticos, fotossintetizantes autotróficos. Estes organismos necessitam de um ambiente com presença de luz, água e nutrientes inorgânicos (fósforo e nitrogênio) e dióxido de carbono para sobreviver. São encontrados em quase todos os ambientes da Terra, principalmente em águas continentais, compondo o fitoplâncton e estando dentre os organismos de maior importância do planeta (MUR; SKULBERG; UTKILEN, 1999; BITTENCOURT-OLIVEIRA; MOLICA, 2003; WHITTON; POTTS, 2012).

Em comparação aos demais organismos pertencentes ao fitoplâncton, as cianobactérias possuem características que favorecem o seu desenvolvimento, como: capacidade de realizar fotossíntese em baixa iluminação, presença de vacúolos gasosos em algumas espécies, capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico por algumas espécies filamentosas e capacidade de armazenar fósforo (CHORUS; BARTRAN, 1999; MUR; SKULBERG; UTKILEN, 1999; WHITTON; POTTS, 2000; OLIVER; GANF, 2000).

Devido à interferência humana e/ou natural, em determinadas condições, o acréscimo da disponibilidade de nutrientes como o fósforo e nitrogênio concorre para o processo denominado eutrofização em rios, lagos e reservatórios. Assim, há perda da qualidade de água e favorecimento do aparecimento de floração ou *blooms* de cianobactérias. *Blooms* de cianobactérias ocorrem em condições específicas: pH entre 6,0 a 9,0, alta carga de fósforo e nitrogênio, baixa turbulência e temperatura entre 15 a 30°C (CHORUS; BARTRAN, 1999; DOW; SWOBODA, 2000; BITTENCOURT-OLIVEIRA; MOLICA, 2003; FUNASA, 2003).

A presença desse organismo em mananciais de abastecimento, além de causar problemas operacionais em estações de tratamento de águas para o consumo humano, pode conferir sabor e odor às águas ou ainda, liberar toxinas, as cianotoxinas (BITTENCOURT-OLIVEIRA; MOLICA, 2003; FUNASA, 2003; FUNASA, 2007).

As cianotoxinas são metabólitos secundários produzidos pelas cianobactérias principalmente durante o final da fase *Log* e acredita-se, que são uma forma de proteção contra outros organismos presentes em ambientes aquáticos (CARMICHAEL, 1992, 1997). Esses metabólitos podem causar efeitos adversos em seres humanos, animais, plantas e microrganismos eucarióticos, com maior toxicidade para mamíferos (SILVONEN; JONES, 1999; METCALF; CODD, 2012).

Comumente, as cianotoxinas são classificadas pelo seu efeito adverso como hepatotoxinas, neurotoxinas e dermatotoxinas (SIVONEN; JONES, 1999; DOW; SWOBODA, 2000; FUNASA, 2003; BITTENCOURT-OLIVEIRA; MOLICA, 2003; METCALF; CODD, 2012).

As hepatotoxinas por sua vez, estão mais relacionadas com casos de intoxicação de seres humanos e animais e podem causar morte após poucas horas. Por agirem principalmente sobre o fígado, as hepatotoxinas como as MCs impedem a síntese de proteínas fosfatase, causando hemorragia intra-hepática e choque hipovolêmico, (CARMICHAEL, 1992; SIVONEN; JONES, 1999; METCALF; CODD, 2012). As principais hepatotoxinas são as microcistinas e nodularinas que apresentam estruturas peptídicas e cilindrospermopsina, uma hepatotoxina alcaloide (CARMICHAEL, 1992; SIVONEN; JONES, 1999; FUNASA, 2003; BITTENCOURT-OLIVEIRA; MOLICA, 2003).

A intoxicação por cianotoxinas podem ocorrer via consumo de água contaminada ou contato primário, com sintomas variados, desde distúrbios visuais, náuseas, vômito, gastroenterite, irritação de pele, ressecamento da boca e vias nasais, pneumonia atípica, entre outros sintomas (METCALF; CODD, 2012).

3.1.1 MICROCISTINAS – MCs

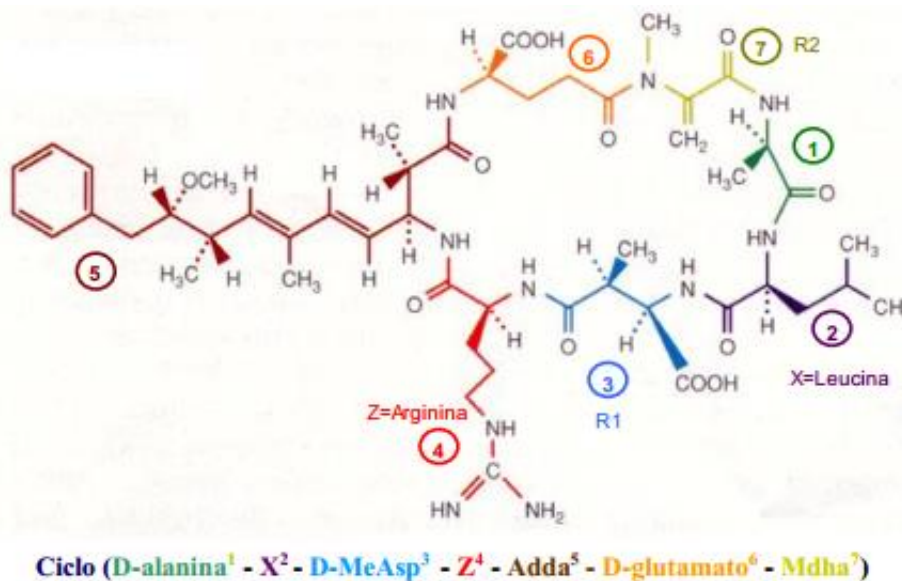
As microcistinas – MCs destacam-se por serem frequentemente detectadas em águas destinadas para o abastecimento público e estão relacionadas com diversos casos de intoxicação de humanos e animais. (CHARMICHAEL, 1994; AZEVEDO et al., 2002; CRUZ et al., 2011). Seu nome deve-se ao fato desta toxina ter sido isolada inicialmente da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* (CHARMICHAEL, 1988; CRUZ et al., 2011).

Em relação a sua estrutura química, as MCs são heptapeptídeos cíclicos, sendo dois L-aminoácidos variáveis. Possui a seguinte estrutura química: ciclo (-d-

Ala-L-X-D-eritro- β -metilAsp (ligação iso)-1-Y-Adda-D-Glu (ligação iso)-N-metildeidro-Ala. O Adda é um β aminoácido raro com a seguinte estrutura: 3-amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10-fenildeca-4 (E), 6(E)-ácido dienóico, sendo considerada como o responsável pela hepatotoxicidade das MCs. As posições 2 e 4 do anel peptídico contém resíduos de aminoácidos variáveis (CHARMICHAEAL, 1988; CHORUS; BARTRAN, 1999; FUNASA, 2003; BITTENCOURT-OLIVEIRA; MOLICA, 2003; CRUZ et al., 2011; METCALF; CODD, 2012),

Devido aos aminoácidos nas posições 2 e 4 e outras variações, as MCs compreendem um grupo variado, com cerca de 90 análogos com diferentes graus de toxicidade, sendo a MC-LR que possui os resíduos de aminoácidos L-Leucina (L) e L-Arginina (R) (Figura 1), sendo este o análogo considerado o mais tóxico (CHARMICHAEAL, 1988; AZEVEDO, 2002; CRUZ et al., 2011; METCALF & CODD, 2012).

Figura 1 - Estrutura química da microcistina – LR.



Fonte: adaptado Charmichael, 2006

Devido a sua estrutura ciclo-peptídica, as MCs possuem alta estabilidade e resistência à hidrólise ou oxidação em ambientes com pH próximo ao neutro e podem apresentar toxicidade mesmo após a fervura. Em águas naturais sem a presença de luz, as MCs podem persistir por vários meses (SIVONEN; JONES, 1999). Podem ser hidrolisadas lentamente em condições muito específicas como

temperatura superior a 40 °C e pH inferior a 1,0 ou superior a 9,0; (HARADA et al., 1996).

A intoxicação por MCs pode ser por via oral, por ingestão de água e alimentos contaminados (plantas, peixes e frutos do mar), inalação e contato com a pele (STEWART; SCHLUTER; SHAW, 2006). As MCs podem se acumular em órgãos e tecidos de mamíferos e peixes (coração, rim, gônadas, pulmão, cérebro e fígado), causando danos às células e tecidos (ITO; KONDO; HARADA, 1997; WANG et al., 2008; ZHAO; XIE; ZHANG, 2009). Além disso, as MCs podem agir como potente promotor de câncer em humanos e animais, devido a alterações celulares geradas (CODD, 2000; GEHRINGER, 2004; GAN; SUN; SONG, 2010; CAMPOS; VASCONCELOS, 2010; METCALF; CODD, 2012).

As MCs podem ser produzidas por diversos gêneros de cianobactérias, tais como: *Microcystis* spp., *Oscillatoria (Planktothrix) agardhii*, *Plectonema boryanum*, *Phormidium corium*, *Phormidium splendidum*, *Arthrospira fusiformis*, *Anabaena* sp., *Nostoc* sp., *Anabaenopsis* sp., *Gloeotrichia echinulata*, *Rivularia biasolettiana*, *R. haematites*, *Tolypothrix distorta*, *Hapalosiphon* sp (BITTENCOURT-OLIVEIRA; MOLICA, 2003; METCALF; CODD, 2012).

3.2 TRATAMENTO DE ÁGUAS PARA REMOÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS

A qualidade da água bruta tem um grande impacto na efetividade do tratamento de água empregado e nos custos associados à produção de água potável. No entanto, devido aos crescentes impactos causados pelas atividades humanas sobre o meio ambiente, em muitas localidades, os mananciais de abastecimento sofrem com constante perda na qualidade da água utilizada para o abastecimento público.

Em muitos casos, esta perda de qualidade está relacionada ao aporte de nutrientes resultando na eutrofização dos mananciais de abastecimento, o que causa impactos negativos nos processos de tratamento empregados, devido ao aparecimento de microalgas e cianobactérias.

Nestes casos, deve-se tomar um cuidado adicional na escolha da tecnologia de tratamento a fim de garantir a produção de água com qualidade satisfatória sem

causar danos à saúde dos consumidores (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010).

A escolha da tecnologia de tratamento depende em muitos casos da realização de estudos em escala de laboratório ou em instalação piloto para determinar as condições mais adequadas para as características da água a ser tratada. Outros fatores que devem ser levados em consideração durante a escolha são: tipo de tratamento para os resíduos gerados, condições socioeconômicas, posição geográfica da comunidade, capacidade da estação, disponibilidade de recursos financeiros, disponibilidade de materiais de construção, pessoal qualificado para a construção, operação e manutenção, disponibilidade de produtos químicos em regiões próximas e por fim, o padrão de qualidade que deve ser atingido (DIBERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010).

Quando o tratamento de águas é empregado em mananciais com florações potencialmente toxigênicas, deve-se levar em consideração que em células viáveis (sadias) de cianobactérias, as cianotoxinas podem se apresentar predominantemente na forma intracelular. Uma pequena parcela da cianotoxina endógena pode ser liberada para o meio (forma extracelular) de maneira natural ou devido a lise das células pela ação dos agentes químicos ou físicos empregados no tratamento de águas (FUNASA, 2003).

Dessa maneira, a técnica de tratamento de águas empregada deve ser estudada e avaliada em relação a sua capacidade de remover tanto células viáveis como as cianotoxinas intra e extracelulares. Devido à dificuldade da remoção de cianotoxinas na forma extracelular preconiza-se a preferência pela remoção de células intactas de cianobactérias (com as cianotoxinas intracelulares) e métodos que evitem a lise celular (CHOW et al., 1999; FUANSA, 2003; JURCKZAC et al., 2005; TEIXEIRA; ROSA, 2006; DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS 2010; WESTRICK et al., 2010).

Desse modo, há várias opções técnicas de tratamento de águas que podem ser devidamente empregadas/associadas para águas com cianobactérias e cianotoxinas, destacam-se: ciclo completo, filtração direta, filtração em múltiplas etapas ou somente filtração lenta, adsorção em carvão ativado, processos oxidativos, filtração em membranas (nanofiltração, ultrafiltração e osmose reversa), ozonização, biofiltração e biodegradação (WESTRICK et al., 2010; DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS 2010; KURIAMA et al., 2012).

3.2.1 Tratamento por Ciclo Completo

O tratamento por ciclo completo ou convencional é a técnica de tratamento de águas para abastecimento mais difundida no mundo, no Brasil corresponde a aproximadamente 80% das estações em funcionamento. É composta pelas etapas de coagulação, floculação, sedimentação e filtração, sendo que em alguns casos, com a substituição da etapa de sedimentação pela etapa de flotação por ar dissolvido - FAD (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010).

Na etapa de coagulação, a adição de um agente coagulante geralmente à base de metais (Fe e Al), deve promover a desestabilização das partículas coloidais ou das moléculas de matéria orgânica dissolvida. A coagulação é um fenômeno de origem química devido à hidrólise do metal e física devido ao transporte das espécies hidrolisadas e/ou dos precipitados de metais que entram em contato com as impurezas. Na floculação, ocorre a interação entre as impurezas desestabilizadas (metal precipitado e/ou espécies hidrolisadas), formando agregados cada vez maiores, dando origem aos flocos de maior ou menor densidade do que a da água, para posteriormente serem removidos por sedimentação ou flotação ou ainda filtração (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

A coagulação quando executada adequadamente, permite ao final do ciclo completo, a remoção com elevada eficiência de células intactas sem ocorrência de liberação expressiva de cianotoxina intracelular. A eficiência de remoção de cianobactérias irá depender da otimização das condições de coagulação, pelo ajuste da dosagem de coagulante e do pH de coagulação e condições de mistura rápida, visto que a eficiência das demais unidades (floculação/sedimentação/filtração) está condicionada à eficiência da coagulação (HITZFIELD; HÖGER; DIETRICH, 2000; DIBERNARDO; MINILLO; DANTAS 2010; DI BERNARDO; DANTAS; VOLTAN, 2011).

Para isso, realizam-se ensaios em escala de bancada com o uso de equipamentos estáticos como o jarteste/floteste, que simula as condições de operação de uma estação de tratamento de água em jarros estáticos ou em escala piloto que simula as condições de operação de uma estação de tratamento de águas em escala reduzida. Esses ensaios possibilitam a avaliação de desempenho mediante variação de condições operacionais (dosagem de coagulante, e valores de

pH, tempo e gradiente de velocidade média de mistura) com simulação das etapas subsequentes de floculação, sedimentação e flotação (HITZFIELD; HÖGER; DIETRICH, 2008; DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010; DI BERNARDO; DANTAS; VOLTAN, 2011).

O emprego do tratamento por ciclo completo tem se mostrado eficiente na remoção de células de cianobactérias, porém, essa técnica é ineficiente na remoção de cianotoxinas extracelulares (LAMBERT; HOLMES; HRUDEY, 1996; CHORUS; BARTRAN, 1999; CHOW et al., 1999; TEIXEIRA; ROSA, 2006; WESTRICK et al., 2010).

Lambert, Holmes e Hrudehy, (1996) avaliaram remoção de MC-LR dissolvida presente na água bruta em uma estação de tratamento de águas por ciclo completo seguido de adsorção em carvão ativado granular - CAG. Nesse caso, foi observado para as etapas de coagulação/floculação/sedimentação (C/F/S) houve remoção de MC-LR de até 39% e para a etapa de filtração de até 60%. Assim, o tratamento por ciclo completo foi ineficiente na remoção de MC-LR, sendo necessária a complementação por adsorção em CAG, a qual obteve remoções superiores a 70%, com residual de aproximado de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de MC-LR.

Chow et al. (1999), avaliaram a remoção de células de *M. aeruginosa* (com densidade entre 10^5 a 10^6 cel. mL^{-1}) e de MCs por ciclo completo em escala piloto (C/F/S) seguido de filtração rápida. Para uma dose ótima de $5,8 \text{ mg L}^{-1}$ de Al^{+3} e pH de 6,2; na escala piloto após a filtração, a água tratada apresentou densidade celular residual variando de 2 a 60 cel. mL^{-1} com remoção não significativa de MCs na forma extracelular.

Drikas et al. (2001), avaliaram a remoção de células de *M. aeruginosa* (10^5 a 10^6 cel. mL^{-1}) por C/F/S em escala de bancada e por C/F/S seguida de filtração rápida em escala piloto. Para a escala de bancada, atingiu remoção de células de 70 a 83% e remoção de 75% MCs extracelulares, com residual de $2,7 \mu\text{g L}^{-1}$. Para a escala piloto, foram obtidas remoções de até 99,9% de células após a filtração e remoções de até 100% de MCs intracelulares, porém para MCs extracelulares não houve remoções significativas.

Teixeira e Rosa, (2006), por exemplo, estudaram remoção de células de *M. aeruginosa* (10^4 cel. mL^{-1}) e concentração de MC-LR de $37 \mu\text{g L}^{-1}$ em escala piloto por ciclo completo com sedimentação (C/F/S) e ciclo completo com flotação por ar dissolvido (C/F/FAD). Nesse trabalho, houve baixas remoções de MCs tanto para os

ensaios com C/F/S como para os ensaios com C/F/FAD, variando de 5,2 a 15,8% e de 2,6 a 11,7 % respectivamente.

Morais (2012) ao estudar a remoção de células de *M. aeruginosa* e MCs ($1,8 \times 10^4$ cel. mL⁻¹ e 3,27 µg L⁻¹) por ciclo completo observou remoções de 15,6% de MCs após a sedimentação e de 25,7% após a filtração rápida. Já Guerra et al. (2015), para água bruta com 22,4 µg L⁻¹ de MCs e condições de coagulação previamente testadas, observaram remoções de 13 a 14% após sedimentação e de 6 a 7% após filtração.

Estes trabalhos demonstram que a técnica por ciclo completo apresenta desempenho limitado para remoção de MCs extracelulares, necessitando assim, de técnicas complementares como, a oxidação, a adsorção, a nanofiltração, entre outras. Vale destacar também, a possibilidade de emprego de técnicas alternativas para remoção de MCs, como a biodegradação, filtração lenta e biofiltração (BOURNE et al., 2006; HO et al., 2006; KATO et al., 2007; WANG et al., 2007; DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010; WESTRICK et al., 2010; HO et al., 2011; KURIAMA, 2012).

3.2.2 Filtração Lenta

A filtração lenta é a forma mais antiga de tratamento de água. O seu uso data desde o século XIX e quando projetada e aplicada corretamente, tem se mostrado um sistema eficaz de tratamento, com as seguintes vantagens: simplicidade de instalação, não utilização de coagulação química e eficiência na remoção de microrganismos, produzindo água com baixa turbidez e concentração de microrganismos (TANGERINO; CAMPOS; BRANDÃO, 2006).

Outra característica importante da filtração lenta é a utilização de material granular com granulometria mais fina e baixas taxas de filtração. Assim, tem-se um maior tempo de detenção, permitindo a formação de uma camada biológica na camada superior do leito filtrante, combinando os mecanismos de remoção por transporte, aderência e biológico (DI BERNARDO; BRANDÃO; HELLER, 1999).

O biofilme ou *schumtzdecke* é formado por uma variedade de microrganismos, como bactérias, algas, protozoários, invertebrados e produtos metabólicos desses organismos, compostos inorgânicos precipitados e material orgânico particulado, advindos da alimentação com água bruta na fase de maturação. O biofilme possui

grande importância para o desempenho da filtração lenta (LOGSDON et al., 2002; DI BERNARDO; DANTAS, 2005), permitindo elevadas remoções de bactérias, vírus e protozoários como cistos de *Giardia*, facilitando o processo de desinfecção (DI BERNARDO; BRANDÃO; HELLER, 1999).

O tempo de formação do *schmutzdecke*, de maturação ou de amadurecimento pode durar alguns dias até dois meses, depende da qualidade da água, das características do material granular e do procedimento de limpeza adotado. Somente após a maturação, o filtro encontra-se em condições adequadas e favoráveis para que a água a ser tratada seja produzida com qualidade adequada (SÁ, 2006).

O desempenho da filtração lenta depende da taxa de filtração, da temperatura, da espessura do meio filtrante, do tamanho dos grãos de areia, da idade do *schmutzdecke*, do tempo de maturação, do modo de limpeza do filtro, das características da água bruta entre outros (DI BERNARDO; BRANDÃO; HELLER, 1999).

A taxa de filtração deve ser mantida entre 2 a 6 m³ m⁻² dia⁻¹ (DI BERNARDO; BRANDÃO; HELLER, 1999; DI BERNARDO; DANTAS, 2005; VERAS; DI BERNARDO, 2008), o que aumenta o tempo de detenção e favorece a formação do biofilme (MOODY; GARRETT; HOLLER, 2002; SALATI, 2010). O material granular utilizado para a filtração lenta recomendado, deve ter granulometria entre 0,08 e 1,0 mm, tamanho efetivo entre 0,15 e 0,30 mm, coeficiente de desuniformidade entre 2 e 5 (DI BERNARDO; BRANDÃO; HELLER, 1999; LOGSDON et al., 2002).

Apesar de ser eficiente na remoção de microrganismos, é necessário que após filtração, ocorra a etapa de desinfecção da água produzida como barreira final de segurança e para garantir o residual de cloro na rede de distribuição. Quando aplicada como tratamento único, a filtração lenta tem a sua utilização restrita para águas que apresentam valores baixos de cor verdadeira, turbidez e teor de sólidos (GALVIS; LATORRE; VISHER, 1998).

A limitação da filtração lenta pode ser suprida com a aplicação de um sistema de pré-tratamento da água, que condiciona a água às características aplicáveis para a filtração lenta (TANGERINO; CAMPOS; BRANDÃO, 2006). Dentre as opções de pré-tratamento, destaca-se a pré-filtração em pedregulho, que quando combinada com a filtração lenta recebe o nome de Filtração em Múltiplas Etapas (FiME) (DI BERNARDO; BRANDÃO; HELLER, 1999).

A presença de algas e outros organismos são benéficos para o filtro lento. No entanto, o seu excesso pode causar obstrução rápida do meio filtrante e diminuição da duração da carreira de filtração ou tempo de operação dos filtros (DI BERNARDO et al. 1990). A eficiência da remoção de algas e cianobactérias por filtração lenta depende principalmente de suas características (espécie, tamanho e mobilidade) e concentração na água bruta.

Assim, diversos trabalhos têm explorado a remoção de cianobactérias e cianotoxinas por filtração lenta e FiME. De maneira geral, a remoção de cianotoxinas está associada à biodegradação que ocorre no *Schmutzdecke*, como relatado no trabalho de Keijola et al., (1988), no qual foi avaliada a remoção de neurotoxinas proveniente da cianobactéria *A. flos-aquae* e de hepatotoxinas proveniente das cianobactérias *M. aeruginosa* e *O. agardhii*. Os filtros operaram com taxa de $2,04 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ e nesse estudo, foi observada remoção de 30 e 70% de turbidez e das cianotoxinas aplicadas, respectivamente. A principal conclusão desse trabalho foi que a filtração lenta possui grande potencial de remoção de cianotoxinas por remoção biológica.

Grützmacher et al. (2002) avaliaram a aplicação da filtração lenta em duas unidades de filtração (A e B) em escala real para a remoção de MCs intracelular ($40 \mu\text{g L}^{-1}$) e extracelular ($8 \mu\text{g L}^{-1}$), com taxas de filtração de 0,8 e $0,2 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ e duração de 20 h (filtro A) e 26 dias (filtro B). Em ambos os filtros (A e B), as remoções variaram de 43 a 99%. A maior remoção foi observada na unidade A, com valores superiores a 90% em curto período de tempo. Para o filtro B, foram obtidas remoções superiores a 84%, com declínio devido a baixas temperaturas, o que afetou a atividade biológica do *Schmutzdecke*.

No estudo de Ho et al., (2006), foi avaliada a remoção de MCs em filtros lentos pela atividade biológica com diferentes biofilmes formados. Foram utilizados três filtros, com o mesmo material granular (ETA Morgan, $d_{10}=0,83 \text{ mm}$) e alimentados com água bruta (reservatório Myponga, Austrália). Os diferentes tipos de biofilme formados foram: Filtro A - foi alimentado por 12 meses com água bruta e adição periódicas de MC-LR e MC-LA (6 meses) seguido de 6 meses sem adição de MC-LR e MC-LA; Filtro B - sem a adição de MC-LR e MC-LA e Filtro C – areia autoclavada para eliminar o biofilme existente. Na fase experimental, os filtros foram alimentados com água do reservatório Myponga (Austrália) contendo $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de MC-LR e LA e com diferentes taxas de filtração e com tempos de contato (entre 7,5 a 30 min) para

os filtros A e B e taxa de filtração e tempo de contato (30 min) fixo para o filtro C. Observou-se que no filtro A não foi observado a presença de MC-LR e LA no efluente do filtro logo no início da operação, no filtro B, foi observado um tempo de aclimatação de 3 dias para o início da remoção de microcistinas, com comportamento similar para o filtro C (HO, et., 2006).

Em outro trabalho, Bourne et al. (2006), avaliaram a associação da bactéria MJ-PV (*Sphingomonas* sp.) na remoção de MCs em filtros lentos. Para isso, os filtros foram alimentados com água bruta (Rio Murrumbidgee, Austrália, local de origem da bactéria MJ-PV), com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de MC-LR. Foi utilizado areia com granulometria de 0,4 a 0,5 mm sem contato prévio com MCs, tempo de contato de 30 h, vazão de $2,2 \text{ mL min}^{-1}$, taxa de filtração de $0,396 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ e a bactéria MJ-PV foi inoculada na concentração de $6 \times 10^8 \text{ cel. mL}^{-1}$ para 3 filtros e os outros 3 filtros foram somente alimentados com água bruta sem a inoculação da bactéria MJ-PV (controle). Neste trabalho observou-se que independente da inoculação ou não da bactéria MJ-PV, houve remoção de MC-LR com tempo de aclimatação de 2 a 4 dias e remoção completa após 6 dias para todos os filtros (BOURNE et al. 2006).

Sá (2006) avaliou a remoção de *M. aeruginosa* e MCs sob diferentes condições operacionais e parâmetros de projetos, visando obter a melhor condição de eficiência de operação, utilizando para isso 3 unidades de filtração lenta. Na primeira etapa, foram avaliados diferentes diâmetros efetivos da areia empregada, no qual, as areias com diâmetro efetivo de 0,28 e 0,22 mm apresentaram os melhores resultados de remoção. Na etapa 2, para uma areia com diâmetro efetivo de 0,22 mm, foram avaliados diferentes espessuras do leito filtrante (0,60 m, 0,90 m e 1,10 m), sendo que, não foi observada diferença entre a espessura de leito de 0,90 e 1,10 m na remoção de células, clorofila-a e MCs totais.

Na terceira etapa, foram avaliadas diferentes taxas de filtração, aplicando as melhores condições selecionadas nas etapas anteriores. Nessa etapa, verificou-se remoção semelhante de células de *M. aeruginosa* e MCs para os filtros operados com as taxas de filtração de 2 e $3 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$. Na quarta etapa, com as melhores condições das etapas anteriores: d_{10}/d_{60} 0,22 mm; 1,1 m de espessura do leito filtrante e taxa de filtração de $2 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$. Observaram-se remoções não satisfatórias MCs extracelulares nas etapas iniciais de operação, requerendo um tempo de maturação de 90 dias para remoção satisfatória de MCs (SÁ, 2006).

Salati (2010) avaliou a influência de diferentes tempos de maturação em filtros lentos (15 a 20 dias) e a ausência de maturação na remoção de células de *M. aeruginosa* (10^5 a 10^7 cel. mL⁻¹) e MCs (70 µg L⁻¹), de acordo com os parâmetros utilizados por Sá (2006) e Melo (2006). Nesse trabalho concluiu-se que mesmo para períodos de maturação de 20 dias, os filtros lentos não apresentaram resultados satisfatórios na remoção de células de *M. aeruginosa* e MCs.

Farias (2011) sob as mesmas condições dos trabalhos citados anteriormente, avaliou a influência da pré-filtração em pedregulho de escoamento ascendente na remoção de células de *M. aeruginosa* e MCs, com as características do pré-filtro em pedregulho baseadas no trabalho de Melo (2006) e recomendação de Di Bernardo, Brandão e Heller (1999). Nesse trabalho, a pré-filtração mostrou-se eficiente na remoção de clorofila-a e turbidez para o pré-acondicionamento da água para o filtro lento, no entanto, o filtro lento necessitou da alimentação com água bruta para sua maturação. De maneira geral, mesmo com o uso da pré-filtração, a filtração lenta não foi capaz de remover completamente células de *M. aeruginosa*.

Esses trabalhos demonstram a necessidade de estudos adicionais sobre a filtração lenta em relação à remoção de células de cianobactérias e cianotoxinas.

3.2.3 Adsorção em Carvão Ativado Granular (CAG)

O carvão ativado é um material de origem carbonácea com área superficial interna e porosidade bastante desenvolvida capaz de adsorver moléculas em fase líquida e em fase gasosa, apresenta-se sob a forma pulverizada (CAP) ou granular (CAG) (BANSAL; DONNET; STOECKLI, 1988). É um material que é amplamente utilizado no tratamento de águas para o abastecimento humano, possuindo assim uma grande variedade disponível no mercado. A sua fabricação envolve os seguintes processos: carbonização da matéria-prima por tratamento térmico em atmosfera inerte sob elevada temperatura e ativação em atmosfera redutora (SWIATKOWSKI, 1998), que pode ser por ativação química ou por ativação térmica, sendo a ativação térmica, o método de preparação mais comum (BRANDÃO; SILVA, 2006).

As principais matérias-primas do carvão ativado são: casca de coco, sementes, osso de animais, coque, turfa, lignita, entre outros materiais de origem vegetal, animal e mineral (BRANDÃO; SILVA, 2006). A eficiência da capacidade adsortiva do

carvão ativado depende da origem da matéria-prima e do tipo de ativação empregado, que influenciam diretamente na estrutura porosa e no tamanho dos poros formados (SWIATKOWSKI, 1998).

Os tamanhos dos poros do carvão ativado podem ser classificados conforme o seu diâmetro: macroporos – diâmetro >50 nm, mesoporos – diâmetro de 2 a 50 nm, microporos secundários – diâmetro de 0,8 a 2 nm e microporos primários - diâmetro <0,8 nm (IUPAC, 1985). Devido à grande quantidade de poros, os carvões ativados possuem área típica variando de 600 a 1200 m² g⁻¹, o que lhe permite a grande capacidade de adsorver contaminantes em águas. Por exemplo, alta quantidade de mesoporos é um fator importante quando se trata da remoção de moléculas grandes como corantes e cianotoxinas, como as MCs (BAÇAOUÏ et al., 2001).

O carvão ativado empregado no tratamento de águas apresenta as seguintes propriedades físicas: área superficial, distribuição do tamanho dos poros, densidade do carvão, número de iodo (NI), número de melado (NM), índice de fenol (IF), índice de azul de metileno (IAM), resistência à abrasão, teor de umidade, dureza, conteúdo de cinzas, tamanho da partícula, entre outras (BRANDÃO; SILVA, 2006; DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010).

Dentre essas propriedades físicas, destacam-se: Índice de Fenol – que consiste na quantidade de carvão ativado necessário em mg para que ocorra a diminuição da quantidade de fenol de 100 para 10 mg em uma solução; Índice de Azul de Metileno - AM – que consiste na quantidade de carvão ativado necessário para que ocorra a adsorção de moléculas de dimensões similares ao do azul de metileno, estando relacionada com a mesoporosidade e com poros >1,5 nm, sendo expresso em mg AM por g de carvão ativado; Número de iodo – expressa a quantidade de iodo que é adsorvida pelo carvão ativado, sendo expressa em mg de iodo por g de carvão ativado e está relacionada com a adsorção de moléculas de pequena massa molecular (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

Dentre as alternativas de aplicação para o tratamento de águas, temos o carvão granular pulverizado – CAP e o carvão ativado granular – CAG. O CAG é geralmente aplicado na forma de leito filtrante em filtros de fluxo ascendente ou descendente, podendo ser adotado como técnica de pré ou pós-tratamento ao tratamento convencional, sendo mais comum, a sua aplicação como pós-tratamento (BRANDÃO; SILVA, 2006; CEÇEN, 2014).

Durante a operação de filtros em CAG, podem-se encontrar baixas concentrações do contaminante de interesse até um ponto em que ocorre a saturação dos sítios de adsorção e a perda na atividade adsortiva, necessitando assim, a troca do CAG ou a sua regeneração. A concepção e operação de filtros em CAG devem considerar os seguintes critérios: características do CAG, tempo de contato, taxa de aplicação hidráulica, profundidade do leito filtrante, expansão do meio filtrante, perda de carga e cinética de adsorção. Outro fator crucial que a ser considerado, é a forma de regeneração e os custos referentes ao processo adotado (BRANDÃO; SILVA, 2006; CEÇEN, 2014).

Keijola et al. (1988) avaliaram a aplicação de colunas de filtração de carvão ativado granular como pós-tratamento de águas contendo hepatotoxinas produzidas por espécies dos gêneros *Microcystis* sp. e *Oscillatoria agardhii*, e neurotoxina produzida por *Anabaena flos-aquae*. Nesse estudo, a coluna de carvão ativado foi capaz de remover 100% da toxina aplicada.

Lambert, Holmes e Hrudey, (1996) avaliaram a remoção de MCs em duas diferentes instalações de tratamento de águas por ciclo completo em escala real, com a aplicação de CAG na forma de coluna de filtração (pós-tratamento) após a etapa de filtração e aplicação de CAP na entrada da estação (pré-tratamento), em dois mananciais de abastecimento com presença de MCs. Em ambas as estações, foram detectadas faixas de MCs de 0,27 a 2,38 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de 0,15 a 0,87 $\mu\text{g L}^{-1}$ na água bruta, respectivamente. A eficiência de remoção de MCs variou de 59 a 97% quando aplicado a adsorção em CAG e de 7 a 90% quando aplicado o CAP, obtendo-se em ambos os casos, residuais inferiores a 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Wang et al. (2007) compararam a remoção de MC-LR e LF na concentração de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ por filtração em colunas de CAG em duas condições: com presença e ausência de biofilme (sistema fechado e estéril). Na condição com predominância de processos adsortivos (estéril), o filtro em CAG apresentou redução gradativa de eficiência somente após 30 dias de operação, que pode ser atribuída à competição da matéria orgânica natural por sítios adsortivos e bloqueio de poros.

Francisco (2014) caracterizou e aplicou diferentes CAGs de diferentes origens e tipos de ativação na remoção de MCs associado ao tratamento por ciclo de água em escala de bancada. Dos CAGs selecionados e testados, verificou-se que após 24h de operação foram encontradas remoções de 99,9 a 100% de MCs para uma concentração inicial de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ e tempo de contato de 20 min.

3.2.4 Matrizes de Imobilização

A imobilização consiste em processo de retenção ou “aprisionamento” do microrganismo de interesse ou enzimas em uma estrutura denominada de matriz, que pode ser de diversos materiais, como o bagaço da cana, géis como o alginato de cálcio, pectina e materiais cerâmicos (SILVA, 2011).

O principal método de imobilização é por encapsulamento das células ou enzimas pelo uso de polímeros naturais ou sintéticos, sendo os polímeros naturais mais suscetíveis à degradação em condições naturais, apresentando vulnerabilidade ao ataque por microrganismos. Apesar de serem menos estáveis em relação aos polímeros sintéticos, os polímeros naturais apresentam melhor difusividade e interferem menos no metabolismo da célula. De maneira geral, o processo de imobilização apresenta grupos distintos de métodos de imobilização: adsorção, floculação, ligação covalente, ligação cruzada, aprisionamento em membranas e aprisionamento em gel (BATISTA, 2005; SILVA, 2011)

O método mais comum é o aprisionamento em gel, o qual faz uso de matrizes em gel, como os géis de cálcio, como por exemplo, o alginato de cálcio. O uso da imobilização em alginato de cálcio tem sido amplamente utilizado para a imobilização de células viáveis. O alginato de cálcio é um polissacarídeo proveniente de algas, que em presença de íons de cálcio sofre rápida geleificação e não causa alterações de temperatura, pH e pressão osmótica, o que permite a manutenção da viabilidade celular (BATISTA, 2005).

O procedimento de imobilização por aprisionamento é realizado fazendo-se a suspensão das células do microrganismo de interesse na base do polímero, a qual é adicionada a uma solução geleificante que realiza a polimerização e o consequente aprisionamento dos microrganismos. É um processo vantajoso para aplicação com um microrganismo específico, pois é possível ter um maior controle sobre o microrganismo de interesse e pode ser aplicado para compor o meio granular na remoção de contaminantes no tratamento de águas e efluentes por biofiltração (COHEN, 2002).

Tsuji et al. (2006) avaliaram a remoção de MC-RR (2 mg L^{-1}) pela bactéria B9 (*Sphingosinicella microcystinivorans*) imobilizada em suportes de celulose e poliéster de diferentes formatos e por aprisionamento em gel de polietileno glicol sob a forma

de pellets. Os melhores resultados de remoção de microcistinas foram obtidos com o suporte em poliéster em formato cilíndrico, onde foram obtidas remoções de 100% após 24h.

Dziga et al. (2013), por sua vez, avaliaram a imobilização da bactéria recombinante BL21_MlrA em grânulos de alginato de cálcio ($\varnothing=1$ mm) na remoção de MCs por biofiltração. O biofiltro foi confeccionado em coluna de vidro com 10 mm de diâmetro, com leito filtrante de alginato com 20 mm de profundidade e vazão de 0,5 mL min.⁻¹. O biofiltro foi alimentado constantemente com água bruta com 35 $\mu\text{g L}^{-1}$ de MCs, como resultado, foram obtidas remoções de 41,2% de MCs, apresentando remoções estáveis por até 2 semanas. Em outro trabalho, a bactéria recombinante BL21_MlrA imobilizada em grânulos de alginato foi aplicada como leito filtrante em biofiltro. Nesse trabalho, foram avaliadas as remoções de concentrações de 10, 35 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de MCs por um período de 3h, obtendo remoções de 86, 85 e 62% respectivamente (DZIGA; LIZNIANSKA; WLADYKA, 2014).

3.2.5 Biofiltração

Em decorrência do aumento da poluição das águas destinadas para o consumo humano, o aumento dos padrões exigidos por lei e da ineficiência da remoção de compostos de origem orgânica pelos tratamentos convencionais, há necessidade de adaptação das estações de tratamento de águas existentes e otimização das mesmas (SIMPSON, 2008).

Nesse contexto, tem-se a técnica de biofiltração que combina o processo de filtração com a atividade biológica, podendo-se aplicar areia, antracito ou carvão ativado granular como material granular. A biofiltração em CAG ou BioCAG é uma técnica que vem sendo estudada nos últimos anos, a qual faz o uso combinado da atividade biológica presente no biofilme aderido aos grãos de CAG com a capacidade adsortiva e de remoção física realizada pelo meio granular, para remoção de diversos contaminantes (WANG et al., 2007, AKTAS; ÇEÇEN, 2007; SIMPSON, 2008).

Em condições normais de operação dos filtros de CAG, há ocorrência concomitante da saturação dos poros do CAG e o desenvolvimento de biomassa microbiana sob a forma de biofilme tanto na superfície quanto no interior dos poros (SHOLZ; MARTIN, 1997; TAKEUCHI et al., 1997; AKTAS; ÇEÇEN, 2007).

Para a formação da camada biológica/biofilme na superfície dos grãos, são necessárias as seguintes condições (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010): i) adsorção de substâncias orgânicas dissolvidas na superfície dos grãos, formando um “filme condicionador”; ii) transporte de microrganismos e outras partículas na superfície condicionada dos grãos; iii) aderência dos microrganismos na superfície; iv) transporte de nutrientes na interface líquido-biofilme; v) produção de biofilme e reprodução dos microrganismos aderidos; vi) transporte de subprodutos celulares para fora do biofilme; vii) desprendimento de parcela do biofilme.

O biofilme desenvolvido pode apresentar capacidade de degradar e remover parcela de matéria orgânica dissolvida na água, matéria orgânica dissolvida nos poros dos grãos, compostos inorgânicos e microrganismos (DUSSERT; VAN STONE, 1994; ZHANG; HUCK, 1996). Dentre as principais vantagens da utilização do BioCAG no tratamento de águas tem-se (SERVAIS et al., 1992; DUSSERT; VAN STONE, 1994; ZHANG; HUCK, 1996; GRAHAN, 1999):

- Remoção de matéria orgânica dissolvida;
- Necessidade de menor frequência de lavagem do meio granular;
- Biorregeneração do CAG devido a atividade microbiana;
- Redução do potencial de formação de subprodutos de oxidação;
- Menor demanda de cloro.

A biofiltração é muito utilizada para a remoção de matéria orgânica natural e pode estar associada a um processo de pré-oxidação como a ozonização, o que aumenta a biodegradabilidade da matéria orgânica natural, eliminando assim os precursores de formação de subprodutos de oxidação, tendo como benefício maior remoção de matéria orgânica natural, micropoluentes, metais e nutrientes, (SEREDYNSKA-SOBECKA et al., 2006; SIMPSON, 2008; CHIEN et al., 2008; VELTEN et al., 2011; ÇEÇEN; ZEARLEY; SUMMERS, 2012).

Além da degradação da matéria orgânica natural, a biofiltração tem sido utilizada para a remoção de metabólitos de cianobactérias, como os que causam o aparecimento de odor e sabor, como também para remoção de cianotoxinas como as MCs. O processo de remoção ocorre principalmente pela ação conjunta de processos adsortivos e biológicos, que devido à presença de bactérias imobilizadas podem promover a biodegradação MCs. Devido à diversidade de microrganismos

presentes no biofilme, alguns estudos propõem o seu uso para a remoção de cianotoxinas, como as MCs (WANG et al, 2007; MINILLO et al., 2009).

Wang et al.(2007) observaram em ensaios de bancada, que a combinação de adsorção e biodegradação foi mais eficiente que a adsorção em CAG na remoção MC-LR e LF ao longo de seis meses, mostrando a efetividade do BioCAG na remoção desses compostos.

Uma dificuldade encontrada na aplicação de remoção de MCs por biofiltração, é que alguns casos, pode-se levar um determinado tempo para que ocorra o início da degradação de MCs, o que pode ser eliminado ou reduzido com o uso de microrganismos específicos com potencial de degradação de MCs (HO et al, 2007)

Vários estudos relataram o uso de microrganismos capazes de degradar MCs (BOURNE et al., 2006; HO et al., 2006; TSUJI et. al., 2006; KATO et al., 2007; WANG et al, 2007, MINILLO et al., 2009; ELEUTÉRIO; BATISTA, 2010; MINILLO et al., 2013; KURIAMA, 2012; HO et al., 2012). No entanto, tal degradação depende do contato anterior do microrganismo com a cianotoxina e do tempo de aclimatação necessário para o início da degradação, condições metabólicas e da concentração de cianotoxinas presentes na água (JONES et al., 1994; MURUYAMA et al., 2003 SMITH et al., 2008).

A degradação de MCs ocorre pela ação de um conjunto de enzimas intracelulares, denominadas de *mlrA*, *mlrB* e *mlrC*, que causam a hidrólise da molécula de Mcs, agindo da seguinte maneira: em um primeiro momento a enzima *mlrA* age sobre a molécula de MCs, causando a sua ruptura e consequente linearização; após a ação da enzima *mlrA*, as enzimas *mlrB* e *mlrC* agem em sequência, causando a completa quebra da molécula de MCs (BOURNE et al., 1996; 2001).

Dentre os organismos capazes de degradar microcistinas encontrados na literatura, destaca-se a bactéria *Sphingosinicella microcystinivorans* - B9, que possui a capacidade de produzir enzimas hidrolíticas capazes de degradar MCs e nodularinas, sendo capaz de degradar 2 mg L⁻¹ de MCs após 1 d, além de possuir a capacidade de inibir o crescimento de cianobactérias potencialmente tóxicas, promovendo assim o seu biocontrole (TSUJI et al., 2006; KURIAMA, 2012).

Edwards et al. (2008) avaliou a biodegradação de [D-Asp]³ MC-RR, MC-LR, MC-LW, MC-LF e de nodularina - NOD (1,0 µg mL⁻¹ para cada cianotoxina) por microrganismos presentes em amostras ambientais. Nesse estudo, percebeu-se que

a meia-vida da concentração de MCs foi afetada pela exposição anterior da fonte das amostras com florações tóxicas. Além disso, nesse estudo, a NOD apesar de apresentar degradação, esta ocorreu de forma mais lenta em comparação com as MCs.

3.3 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

No Brasil a Portaria 2.914, de 2011 do Ministério da Saúde dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.

Devido aos problemas decorrentes do aparecimento de cianotoxinas em águas para o abastecimento humano, esta legislação prevê em seu artigo 40 § 1º, um plano de monitoramento de cianobactérias em mananciais para o abastecimento humano. Mais especificamente, estabelece o monitoramento de clorofila mensal quando a densidade de cianobactérias for inferior ou igual a 10^4 cel. mL⁻¹ e semanal quando a densidade de cianobactérias for superior a 10^4 cel. mL⁻¹, conforme o anexo XI e sempre considerando para alteração da frequência de monitoramento o último resultado de amostragem, sempre buscando identificar os gêneros de cianobactérias presentes.

Se os valores de clorofila duplicaram ou mais em duas semanas consecutivas, deve-se proceder com a contagem de densidade celular no ponto de captação e caso a densidade exceda a contagem de 20.000 cel. mL⁻¹, as amostragens devem tornar-se semanais.

E também estabelece como obrigatória nesse caso, a análise de cianotoxinas, esta deve ser realizada de forma semanal no ponto de captação, sendo os seguintes VMPs (Valores Máximos Permitidos) conforme o anexo VIII: MCs de 1,0 µg. L⁻¹ equivalente de MCs e para saxitoxinas (SXTs) de 3,0 µg. L⁻¹ equivalente de STXs, sendo que no caso do aparecimento de cianobactéria potencialmente produtores de cilindrospermopsina e anatoxina-a(s), o artigo 37 § 3º e 4º respectivamente, recomenda o monitoramento dessas cianotoxinas e estabelece um valor máximo aceitável de 1,0 µg. L⁻¹ para cilindrospermosina. No § 5º, quando no manancial de abastecimento as concentrações de cianotoxinas foram menores que os seus

respectivos VMPs, será dispensado à análise de cianotoxinas na saída do tratamento.

Além das cianobactérias e cianotoxinas, a legislação estabelece também como parâmetro de desempenho a turbidez com VMP na saída do tratamento de 0,5 uT para 95% das amostras ($T < 1,0$ uT para os 5% restante de amostras) para as técnicas que utilizam a filtração rápida e de 1,0 uT para 95% das amostras ($T < 2,0$ uT para os 5% restante de amostras) para a filtração lenta.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo serão apresentados os materiais e métodos utilizados nos experimentos de biofiltração, os quais foram desenvolvidos no Laboratório de Saneamento da Universidade Estadual de Londrina - UEL.

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Para desenvolvimento do trabalho foram utilizados 4 tipos de materiais granulares e 3 modos de ativação biológica, organizados em 2 Fases experimentais: Fase I de Pré-tratamento (Fase I-a e Fase I-b) e Fase II de Pós-tratamento (Fase II-a e Fase II-b), ambos precedidos de fase de maturação.

Na Fase de pré-tratamento I-a, foram utilizados 4 tipos de materiais granulares (areia de filtro lento - AFL, areia de filtro rápido - AFR, carvão ativado granular - CAG e grânulos de alginato de cálcio - ALG) e 2 modos de ativação biológica (natural e com microrganismo específico) e sem ativação biológica (controle negativo), conforme demonstra a Figura 2.

Já na Fase de pós-tratamento II-a, foram utilizados 2 tipos de materiais granulares (areia de filtro lento - AFL e carvão ativado granular - CAG) e 2 modos de ativação biológica (natural e com microrganismo específico), conforme a Figura 3.

Cada fase experimental foi dividida em 2 etapas (a e b), sendo que a etapa b em ambas as fases teve como objetivo verificar a manutenção da atividade biológica em relação à degradação de MCs, após interrupção da inoculação do microrganismo específico (*Sphingosinicella microcystinivorans* - B9) para filtros de areia de filtro lento - AFL e de carvão ativado granular - CAG (Figura 2 e Figura 3)

Figura 2 - Esquema do delineamento experimental do Pré-tratamento: Fases I-a e I-b

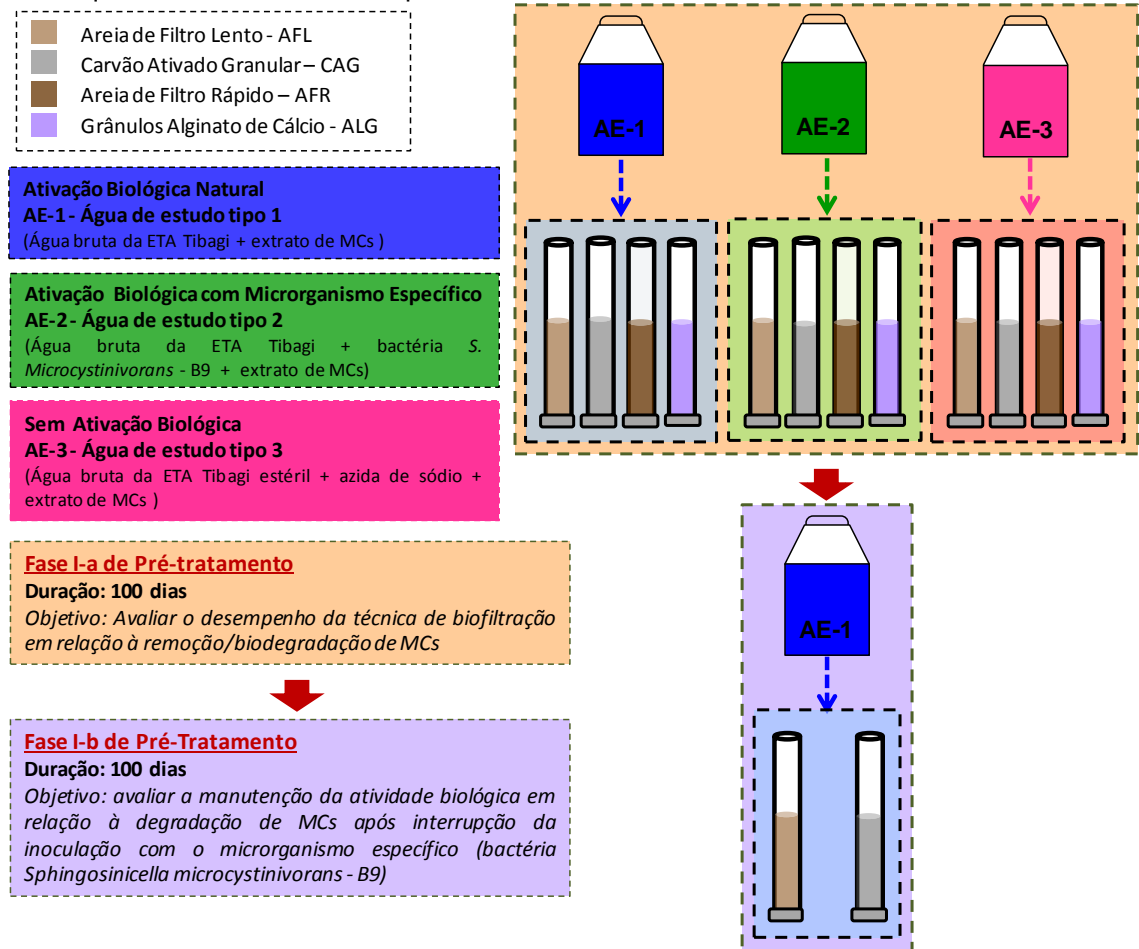
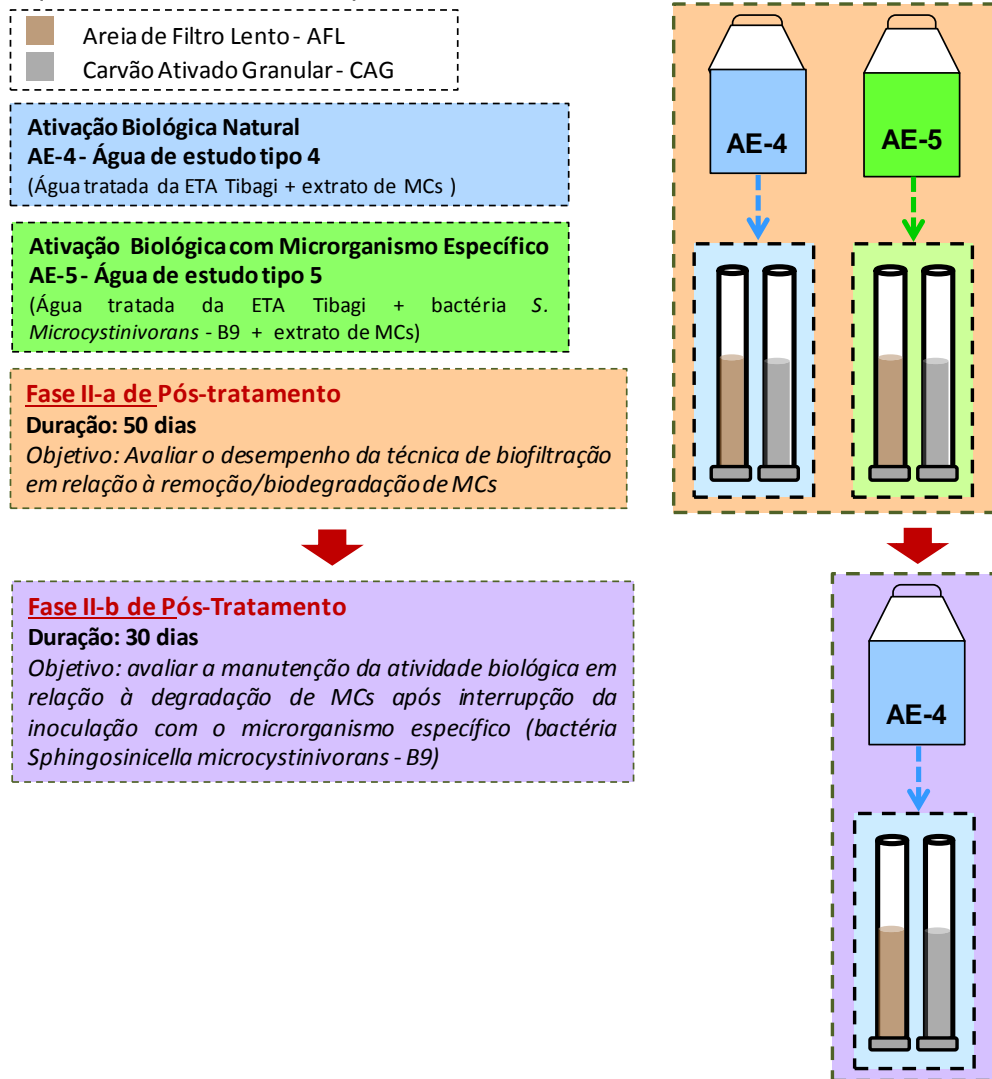


Figura 3 - Esquema do delineamento experimental do Pós-tratamento: Fases II-a e II-b



ÁGUAS DE ESTUDO E ATIVAÇÃO BIOLÓGICA

Para preparação das águas de estudo utilizou-se como água de diluição:

- Água bruta da ETA Tibagi coletada semanalmente nas Fases de Pré-tratamento I-a e I-b;
- Água tratada até a etapa de filtração (sem cloro) da ETA Tibagi coletada quinzenalmente nas Fases de Pós-tratamento II-a e II-b.

Nas fases de maturação e Fases de Pré-tratamento I-a e I-b foram utilizados os seguintes tipos de águas de estudo:

- Água de estudo tipo 1 – AE-1: água bruta da ETA Tibagi com concentração final de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de MCs
- Água de estudo tipo 2 – AE-2: água bruta da ETA Tibagi com cultura de *Sphingosinicella microcystinivorans* - B9 na proporção de 10% (v v⁻¹), com concentração final de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de MCs;
- Água de estudo tipo 3 – AE-3: água bruta da ETA Tibagi autoclavada a 121 °C por 20 min com azida de sódio na concentração final de 40 mg L^{-1} (MINILLO et al., 2009; BORGES et al., 2016), com concentração final de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de MCs.

Nas Fases de Pós-tratamento II-a e II-b foram utilizados os seguintes tipos de águas de estudo:

- Água de estudo tipo 4 – AE-4: água tratada até a etapa de filtração (sem cloro) com concentração final de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de MCs.
- Água de estudo tipo 5 – AE-5: água tratada até a etapa de filtração (sem cloro) com cultura da bactéria B9 na proporção de 10% (v v⁻¹), com concentração final de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de MCs.

A ativação do meio granular foi condicionada à forma de alimentação do sistema, tendo sido empregados os seguintes modos de ativação:

- Ativação biológica natural: alimentação com AE-1, com a finalidade de promover a formação de biofilme/imobilização dos microrganismos presentes na própria água;

- Ativação biológica com microrganismo específico - Controle positivo: alimentação com AE-2, a fim de promover a formação de biofilme/imobilização da bactéria B9 no meio granular;

Para o controle negativo, sem ativação biológica, os filtros foram alimentados com AE-3 com o objetivo de evitar a formação de biofilme e crescimento microbiano no meio granular.

Conforme já relatado, nas Fases I-b e II-b, os filtros AFL e CAG utilizados como controle positivo (ativados previamente na Fase I-a e II-a com microrganismo específico - bactéria *S. microcystinivorans* - B9) tiveram inoculação interrompida e passaram a ser alimentados com a água de estudo AE-1 (Fase I-b) e Água de estudo AE-4 (Fase II-b), a fim de avaliar a manutenção da atividade biológica em relação à degradação de MCs.

4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA DOS AFLUENTES E EFLUENTES AO SISTEMA DE BIOFILTRAÇÃO

A caracterização física, química dos afluentes e efluentes ao sistema de biofiltração foi realizada para os parâmetros relacionados na Tabela 1.

De forma geral, foi realizada a caracterização das águas de diluição à cada coleta: água bruta da ETA Tibagi com frequência semanal (16/05/2016 a 23/02/2017) e água tratada por ciclo completo C/F/S até a etapa de filtração (sem cloro) da ETA Tibagi com frequência quinzenal (07/11/2016 a 23/02/2017). O monitoramento da atividade biológica dos filtros foi realizado com frequência diária pelos parâmetros: pH, temperatura, oxigênio dissolvido (OD), turbidez e perda de carga no meio granular. Os efluentes foram monitorados diariamente, semanalmente ou a cada 21 dias, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 1 - Métodos e equipamentos para caracterização físico-química da água afluyente e efluente.

Parâmetro	Método (APHA, AW WA, WE F, 201 2)	Método	Equipamento (modelo/marca)
pH	4500-H+	Potenciométrico	pHmetro: Digimed DM 2P
OD (mg L ⁻¹)	4500-O G		Oxímetro: Hach LDO 101
Temperatura (°C)		Termômetro de mercúrio	
Turbidez (uT)	2130	Nefelométrico	Turbídímetro: Hach 2100 Q
MCs Totais (µg L ⁻¹)	-	Imunoensaio ELISA	LabicELISA

Tabela 2 - Frequência de monitoramento dos filtros

Parâmetro	Frequência de Monitoramento		
	1 dia	3 dias	21 dias
pH	X		
OD	X		
Temperatura	X		
Turbidez	X		
Perda de Carga	X		
MCs totais		X*	X

*Monitoramento realizado 2 X semanais após 75 dias de operação.

Para o parâmetro de MCs totais, inicialmente o monitoramento foi realizado a cada 21 dias, porém após 75 dias de operação a frequência de monitoramento passou a ser realizada a cada 3 dias (2X por semana). Os dados obtidos no monitoramento foram processados no software Excel 2007 para a construção dos gráficos e tabelas de médias.

4.3 CEPAS DE MICRORGANISMOS E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS UTILIZADAS

4.3.1 Cepa de *Sphingosinicella microcystinivorans* - B9 e Condições de Cultivo

Devido ao elevado potencial de degradação de MCs (TSUJI et al., 2006; KURIAMA et al., 2012), utilizou-se para ativação biológica com microrganismo específico, a cepa de *Sphingosinicella microcystinivorans* - B9, que foi mantida em

meio Sakurai sólido modificado (ágar 2%, peptona de caseína 0,2%, extrato de levedura 0,1%, glicose 0,05% e NaCl 0,5%) a 4 °C.

Para utilização nos experimentos, a cepa foi previamente ativada por 2X consecutivas, incubando-se em 10 mL de meio *Sakurai* líquido a 30 °C por 72 h. Em seguida, a cepa foi inoculada a 10% (v v⁻¹) em 200 mL de meio *Sakurai* líquido e incubada a 25 °C por 72 h.

4.3.2 Condições de Cultivo de *Microcystis* sp. TAC95 e Preparo de Extrato com Microcistinas - MCs

Para a produção do extrato com MCs, foi utilizada a cepa de cianobactéria toxigênica *Microcystis* sp. TAC 95 produtora de MC-LR em elevadas concentrações, cedida pelo Prof. Dr. Ken-Ichi Harada do *Laboratory of Environmental Sciences, Faculty of Pharmacy, Meijo University Nagoya - Aichi* – Japão.

A cepa foi mantida no laboratório, em meio ASM-1, por meio de inoculações quinzenais, a 10% (v v⁻¹) em meio ASM-1 (GORHAM, 1964), em triplicata em tubos de ensaio com 10 mL de meio e duplicata em *Erlenmeyers* de 125 mL, com 20 mL de meio, em estufa Incubadora BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) a 25 °C, iluminação de 35 µE m⁻² s⁻², fotoperíodo de 12 h d⁻¹ e agitação diária.

A cepa TAC95 foi inoculada a 10% (v v⁻¹) em meio ASM-1, sob as mesmas condições de cultivo descritas acima sob aeração contínua e de forma sucessiva, com volumes gradualmente crescentes até obtenção de volume final de 20 L com densidade aproximada de 1x10⁷ cel. mL⁻¹. Em seguida, a cultura foi centrifugada a 1521 g por 20 min para obtenção de biovolume concentrado. Este foi congelado, liofilizado, macerado e ressuspenso em água ultrapura e submetido a 3 ciclos de congelamento e descongelamento para a obtenção do extrato de TAC95 com MCs. Em seguida, o extrato foi filtrado em membranas de fibra de vidro (de 1,2 µm de porosidade média), seguida de éster de celulose (de 0,45 µm de porosidade média) e armazenada a -20 °C até o momento de uso.

4.4 QUANTIFICAÇÃO DE MICROCISTINAS - MCs

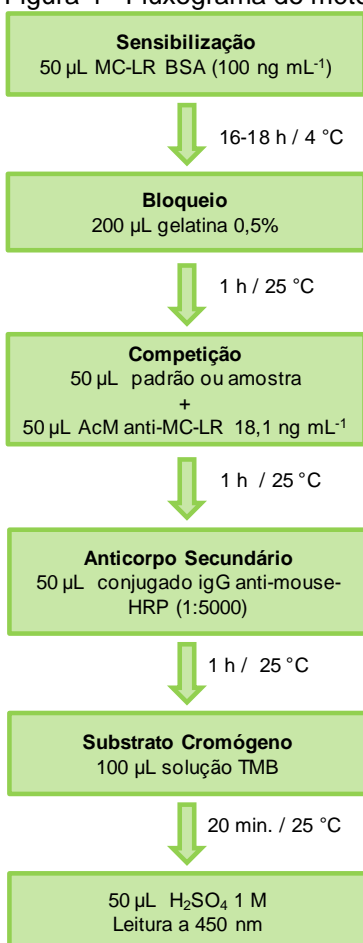
As MCs totais presentes tanto nas amostras dos experimentos quanto no extrato, foram quantificados utilizando o método de imunoenensaio ic-ELISA (*indirect*

competitive Enzyme-linked Immunosorbent Assay) desenvolvido no laboratório do Centro de Treinamento e Pesquisa em Segurança de Alimentos e Água do CCA – UEL. O imunoensaio foi denominado LABicELISA.

Este método baseia-se na competição entre MCs presentes na amostra e MC-LR ligado na microplaca pelo anticorpo monoclonal contra MC-LR (AcM anti-MC-LR). O anticorpo monoclonal foi produzido a partir da linhagem de hibridoma MC.5-3 e apresenta reatividade cruzada com MC-LR (100%), MC-RR (146%) e MC-YR (88%) (TABUCHI et al., 2015; HIROOKA et al., 2015). Por se tratar de um método indireto, as amostras que possuem baixas concentrações de MCs resultam em coloração mais intensa.

O LABicELISA foi realizado de acordo com o protocolo descrito por Nagata et al. (1997) com adaptações (Figura 4). Resumidamente, as microplacas de 96 poços foram sensibilizadas com 50 μL de conjugado MC-LR-BSA ($0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$, tampão carbonato-bicarbonato 0,1M pH 9,6) e incubadas a 4 °C por 18 h. Após 3 lavagens com PBST (tampão fosfato salina 0,1M pH 7,4 (PBS) + 0,05 % Tween 20), foram bloqueadas com 200 μL solução de gelatina 0,5 % em PBS e incubadas por 1 h a 25 °C. Após etapa de lavagem, adicionou 50 μL de padrão ou amostra seguida de 50 μL AcM anti-MC-LR ($18,1 \text{ ng mL}^{-1}$ em PBS). Após incubação a 25° C por 1 h e etapa lavagem, adicionou 50 μL de anticorpo secundário conjugado a uma enzima (conjugado IgG *anti-mouse-horseradish peroxidase*, 1:5000 em PBST) e incubou a 25 °C por 1 h. Posteriormente a lavagem dos poços, adicionou-se 100 μL da solução de substrato cromógeno TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina em tampão acetato de sódio 0,1M pH 5 com 0,5% de H_2O_2). Decorrido o tempo de reação do substrato, a reação enzimática foi interrompida com adição de 50 μL de H_2SO_4 1M, conferindo coloração amarelada aos poços, sendo a leitura, realizada no comprimento de onda de 450 nm.

Figura 4 - Fluxograma do método de imunoenensaio LABicELISA



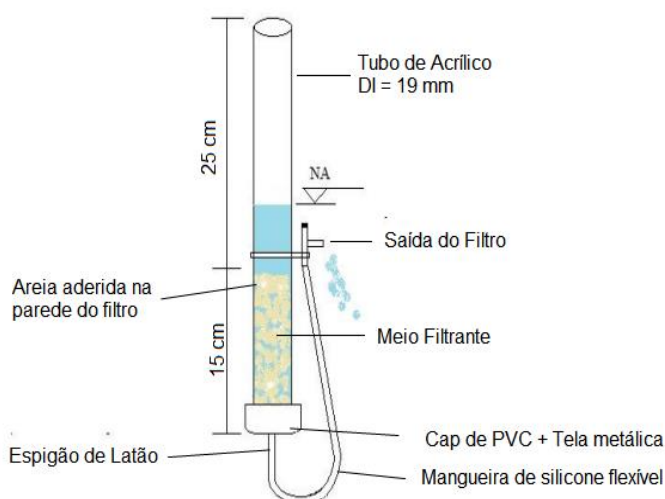
As curvas padrões foram realizadas para cada placa utilizando padrão de MC-LR diluído em água ultrapura com as quais foram plotados gráficos e obtidos correlação entre a porcentagem de Ligação ($\% \text{ Ligação} = (B_1/B_0) \times 100$, em que B_1 é média de absorvância do padrão ou amostra e B_0 é a média de absorvância na ausência de MC-LR) e \ln da concentração MC-LR.

O método foi estabelecido seguindo as normas de validação do INMENTRO (2010) e ANVISA (2003). A linearidade da curva padrão foi de 0,03 a 0,5 µg L⁻¹, com coeficiente de determinação de 0,996 sendo o limite de detecção e quantificação de 0,02 e 0,05 µg L⁻¹, respectivamente. Os parâmetros de exatidão e precisão (repetibilidade) foram avaliadas por meio de teste de recuperação em 4 níveis de contaminação (0,2; 0,4 1 e 5 µg L⁻¹), apresentando recuperação média em água ultrapura de 93%, com coeficiente de variação (CV) de 7%.

4.5 SISTEMA DE BIOFILTRAÇÃO EM ESCALA DE BANCADA

Para o experimento de biofiltração em escala de bancada foram utilizados filtros de laboratório de areia (FLAs) construídos em tubo de acrílico transparente, com diâmetros externo de 25 mm e interno aproximado de 18 mm e comprimento entre 40 e 50 cm, com conexão na parte inferior, de CAP de PVC de 25 mm com saída em espigão de latão e mangueira flexível de silicone e saída posicionada a 16 cm acima do fundo do filtro. Para evitar a formação de zonas de escoamento preferencial junto à parede interna dos filtros, foi aplicada uma camada de cola de elevada resistência seguida de areia fina em toda a superfície interna dos mesmos (DI BERNARDO et al., 2011).

Figura 5 - Esquema do filtro de laboratório.



Fonte: Autor, adaptado Di Bernardo et al., (2011)

Para desenvolvimento do trabalho foram utilizados na Fase I-a de pré-tratamento, 3 modos de ativação biológica e 4 tipos de material granular (areia de filtro lento - AFL, areia de filtro rápido - AFR, carvão ativado granular - CAG e grânulos de alginato de cálcio - ALG), resultando no uso de 12 filtros. Na Fase I-b, foram utilizados 1 modo de ativação e 2 tipos de materiais granulares (AFL e CAG), resultando no uso de 2 filtros.

Na Fase II-a de pós-tratamento, foram utilizados 2 modos de ativação biológica e 2 tipos de material granular (AFL e CAG), resultando no uso de 4 filtros. Na Fase II-b, igualmente à Fase I-b, foram utilizados 2 tipos de materiais granulares (AFL e CAG) e 1 modo de ativação.

4.5.1 Materiais Granulares

4.5.1.1 Areia de filtro lento - AFL

Para a composição da areia do filtro lento foram utilizados 2 kg de areia de granulometria grossa, 5 kg de areia de granulometria média e 3 kg de areia de granulometria fina. As areias foram previamente lavadas e secas em estufa a 105 °C por 24 h e posteriormente foram peneiradas e separadas nas seguintes granulometrias: 1,18; 0,84; 0,59; 0,42; 0,297; 0,25; 0,15; e 0,074 mm.

A composição da areia de filtro lento foi baseada na curva granulométrica apresentada em Di Bernardo, Brandão e Heller (1999), com a composição granulométrica apresentada na Tabela 3. Além disso, foram utilizados como referência características utilizadas nos trabalhos de Sá (2006); Melo (2006), Salati (2010): tamanho efetivo de 0,15 a 0,25 mm e coeficiente de desuniformidade de 2,0 a 5,0.

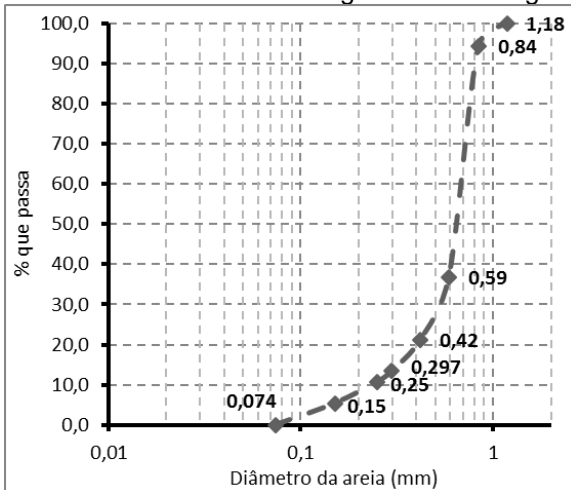
Tabela 3 - Composição granulométrica recomendada para areia de filtro lento

Abertura	Massa Retida (g)	Massa que Passa (g)	% que passa
0,074	50	0	0,0
0,15	50	50	5,0
0,25	20	100	10,0
0,297	80	120	12,0
0,42	150	200	20,0
0,59	550	350	35,0
0,84	100	900	90,0
1,18	0,0	1000	100

Fonte: Di Bernardo, Brandão e Heller (1999)

Após a composição de 1 kg de areia de filtro lento, esta foi lavada e seca em estufa a 105 °C por 24 h e classificada por peneiramento resultando na curva granulométrica apresentada na Figura 6 e características da Tabela 4.

Figura 6 = Curva granulométrica da areia de filtro lento



Fonte: Autor.

Tabela 4 - Características granulométricas da areia de filtro lento

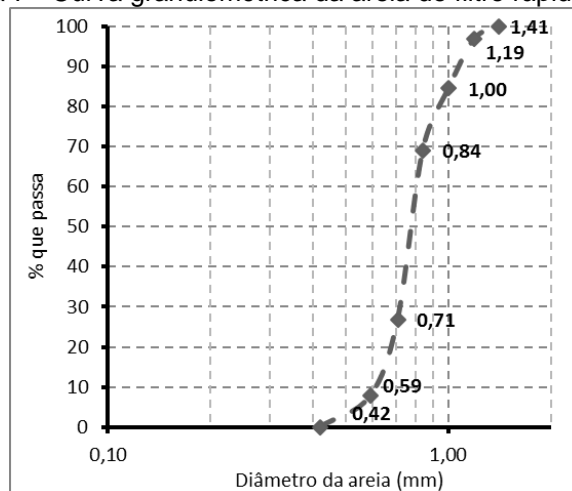
Parâmetros	Valor
Tamanho de grãos (mm)	0,074 – 1,18
Diâmetro efetivo (d_{10} em mm)	0,24
Coefficiente de uniformidade (d_{10}/d_{60})	2,89

Fonte: Autor.

4.5.1.2 Areia de filtro rápido - AFR

Considerando as características da areia de filtro rápido descendente a ser empregada no tratamento por ciclo completo (MATSUMOTO, 1989; DI BERNARDO; MATSUMOTO, 1987), foi composto o material granular denominado areia de filtro rápido – AFR cuja curva e características granulométricas são apresentadas na Figura 7 e Tabela 5.

Figura 7 - Curva granulométrica da areia de filtro rápido - AFR



Fonte: Autor.

Tabela 5 - Características granulométricas da areia de filtro rápido - AFR

Parâmetros	Valor
Tamanho de grãos (mm)	0,42 – 1,41
Diâmetro efetivo (d_{10} em mm)	0,60
Coefficiente de uniformidade (d_{10}/d_{60})	1,31

Fonte: Autor.

4.5.1.3 Carvão Ativado Granular - CAG

O carvão ativado granular - CAG utilizado foi selecionado por FRANCISCO (2016) em relação à capacidade de adsorção de MCs e corresponde ao carvão denominado CAG5. Este CAG é de procedência nacional, proveniente de material vegetal (endocarpo de coco) e possui número de iodo de 976 mg g^{-1} , índice de azul de metileno de 190 mg g^{-1} e granulometria entre 0,8 e 1,1 mm (KAWAHIGASHI, 2012; FRANCISCO, 2016).

Os valores da área de superfície específica de Brunauer, Emmett and Teller – BET e distribuição de volume específico em função do tamanho do poro do CAG são apresentados na Tabela 6. Em relação à capacidade de adsorção de MCs, o CAG 5 apresentou capacidade máxima de adsorção de MCs de $0,016 \mu\text{g mg}^{-1}$.

Tabela 6 - Área de superfície específica (BET) e da distribuição de volume específico em função do tamanho do poro do CAG

Parâmetros de caracterização de Poros		CAG 5
Área de superfície específica (BET) ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	Microporo	717,1 (88%)
	Mesoporo	101,1 (12%)
	Total	818,2
Volume específico em função do tamanho do poro ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$)	Microporo primário (<0,8 nm)	0,035 (8%)
	Microporo Secundário (0,8 a 2 nm)	0,288 (67%)
	Mesoporo (2 a 50 nm)	0,106 (25%)
	Total	0,429

Fonte: FRANCISCO, (2014).

4.5.1.4 Grânulos de alginato de cálcio - ALG

Para avaliar o potencial de imobilização da bactéria B9 imobilizada em alginato, foram centrifugados cerca de 100 mL de cultura de B9 ($\text{OD}_{600\text{nm}} \approx 0,164$) previamente ativada. Em seguida, adicionou-se em 50 mL de tampão fosfato estéril (pH 7,0), o *pellet* de material celular obtido e 1 g de alginato de sódio. A mistura foi aquecida a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ para completa dissolução do alginato de cálcio (adaptado DZIGA et al., 2013).

Posteriormente, com auxílio de uma pipeta *Pasteur* de vidro adaptada, a mistura celular com alginato de cálcio foi gotejada em solução estéril de cloreto de cálcio 5%, formando esferas com diâmetro médio aproximado de 5 mm e armazenadas a 4°C até o momento de uso (DZIGA et al., 2013).

Para simular a condição isenta de ativação biológica – Controle negativo, além do uso de alimentação com AE-3, os grânulos de alginato foram preparados conforme procedimentos descritos acima utilizando somente água ultrapura com 40 mg L⁻¹ de azida de sódio.

4.5.2 Condições e Parâmetros Operacionais

Cada filtro foi preenchido com 12,5 mL de cada material granular úmido, correspondendo a 5 cm de espessura do meio granular, de acordo com delineamento experimental apresentados na Figura 2.

Os materiais granulares utilizados para a condição sem ativação biológica - Controle negativo foram previamente autoclavados a 121 °C por 20 min.

Os filtros foram operados com fluxo descendente, vazão total de alimentação de 0,29 mL min⁻¹ (417,6 mL d⁻¹) correspondendo à taxa de filtração de 1,62 m³ m⁻² d⁻¹ e tempo de contato de 20 minutos.

O extrato com MCs durante a fase experimental foi adicionado ao sistema de filtração a partir de um tanque de alimentação separado de maneira simultânea para cada um dos filtros em seu topo. Para isso, extrato com MCs foi diluído em água do rio Tibagi (Fase I-a e Fase I-b) e água tratada até a etapa de filtração sem cloro (Fase II-a e II-b), previamente esterilizada a 121 °C por 20 min. Para alimentação de MCs, foi utilizada uma bomba peristáltica de 12 canais (IP-N 12 ISM 947 C, Ismatec, Wertheim, Alemanha), com vazão de 0,06 mL min⁻¹ por canal (20% da vazão total de alimentação). Após a mistura no topo dos filtros, resultou em concentração afluenta final de 10 µg L⁻¹ de MCs.

Cada conjunto de filtro foi alimentado com a sua respectiva água de estudo com uma vazão de 0,23 mL min⁻¹ (80% da vazão total de alimentação). Para cada água de estudo, foram utilizados recipientes com capacidade volumétrica de 5L, mantidos sob agitação constante por meio de agitadores magnéticos, abastecidos de 2 a 3x por semana. A alimentação foi realizada por meio de bombas peristálticas

de 4 canais (RegloREGLO Digital MS-4/8 ISM 834, Ismatec, Wertheim, Alemanha) e de 8 canais (Minipuls Evolution com 2 cabeçotes MF4, Gilson, Middleton, EUA).

Para todos os filtros, o meio granular foi lavado a cada incremento de perda de carga de 20 cm. A lavagem foi realizada com aplicação de água por 5 min no sentido ascensional promovendo expansão média de 10% do material granular, vazão constante de 190 mL min^{-1} , controlada por bomba peristáltica de 4 canais (Minipuls Evolution com cabeçote HF2, Gilson, Middleton, EUA).

Devido qualidade esperada dos efluentes após as técnicas de tratamento aplicadas, como critério de maturação para a Fase I de Pré-tratamento, adotou-se a ocorrência simultânea das seguintes condições:

- Turbidez do efluente inferior a 10 uT;
- Concentração residual de MCs no efluente inferior a $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

Em função dos resultados obtidos em relação ao tempo requerido para maturação dos filtros para remoção de MCs na Fase I de Pré-tratamento, adotou-se na Fase II, o período pré-fixado de 16 dias para maturação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA DA ÁGUA DE ESTUDO DO RIO TIBAGI

Durante a Fase I (Pré-tratamento) foi realizada semanalmente a coleta e caracterização da água bruta da ETA Tibagi utilizada como água de diluição. No período de 16/05/2017 a 23/02/2017, houve variações das características da água bruta, principalmente para o parâmetro turbidez, devido à ocorrência de precipitações. Nestes casos as águas foram previamente submetidas à sedimentação e ou diluição com água da rede de abastecimento (desclorada), de modo a amenizar essas variações e interferências nos resultados.

No total, foram realizadas para a Fase I de Pré-tratamento, 26 coletas, cujos dados de caracterização são apresentados de forma detalhada no Apêndice I e de forma resumida na Tabela 7.

Tabela 7 - Caracterização físico-química da água de diluição: água bruta da ETA Tibagi

Parâmetro	Nº Amostras	Valor médio	Valor Mínimo	Valor Máximo	Mediana
pH	26	7,02 ± 0,2	6,6	7,3	7,0
T (°C)	26	22,3 ± 2,1	16,4	25,0	23,0
Turbidez (uT)	26	16,4 ± 6,3	7,6	25,5	16,7
OD (mg L ⁻¹)	26	8,5 ± 0,5	7,8	9,7	8,5

Durante a Fase II (Pós-tratamento) foi realizada quinzenalmente a coleta e caracterização da água tratada até a etapa de filtração (sem cloro) da ETA Tibagi utilizada como água de diluição. No total, para a Fase II foram realizadas 7 coletas, cujos dados de caracterização são apresentados de forma detalhada no Apêndice II e de forma resumida na Tabela 8.

Tabela 8 - Caracterização físico-química da água de diluição: água tratada até a etapa de filtração (sem cloro) da ETA Tibagi

Parâmetro	Nº Amostras	Valor médio	Valor Mínimo	Valor Máximo	Mediana
pH	7	6,7 ± 0,4	6,0	7,2	6,5
T (°C)	7	24,5 ± 1,2	21,8	25,0	25,0
Turbidez (uT)	7	0,48 ± 0,14	0,35	0,63	0,4
OD (mg L ⁻¹)	7	7,6 ± 0,2	7,4	8,0	7,5

Comparando-se os dados da Tabela 7 e da Tabela 8, pode-se verificar que o tratamento por ciclo completo empregado na ETA Tibagi foi eficiente e produziu água com qualidade compatível com o padrão de potabilidade estabelecido pela Portaria MS 2914 (BRASIL, 2011) em relação aos parâmetros analisados: pH ($6,7 \pm 0,4$), turbidez ($0,48 \pm 0,14$ uT). De acordo com a referida portaria, o valor de pH recomendado deve estar entre 6 e 9,5. O valor de turbidez para água filtrada por filtração rápida deve ser inferior a 0,5 uT em 95% das amostras coletadas ao longo do ano.

5.2 PRÉ-TRATAMENTO DE ÁGUA POR BIOFILTRAÇÃO

No pré-tratamento, com exceção do filtro de ALG submetido à ativação específica com B9 que foi operado por 64 d, todos os filtros foram operados por 100 dias abrangendo o período inicial de maturação e a Fase I-a. Em seguida, na Fase I-b, os filtros de AFL e de CAG utilizados como controle positivo (ativados com *S. microcystinivorans* - B9) tiveram inoculação interrompida e passaram a ser alimentados com AE-1. Esta fase durou mais 100 dias e teve como objetivo verificar a manutenção da atividade biológica ao longo do tempo, conforme já relatado.

Os resultados de monitoramento dos parâmetros relacionados ao critério de maturação: MCs e turbidez ao longo do tempo são apresentados na forma de gráficos (Figura 8 a Figura 13) separados por parâmetro e tipo de filtro/material granular, para diferentes modos de ativação biológica (natural, com microrganismo específico e sem ativação) empregados nos experimentos da Fase I de Pré-tratamento.

Conforme já apresentado no tópico 4.5.2, considerando-se a qualidade esperada dos efluentes após os tratamentos adotou-se como critério de maturação a ocorrência simultânea de condições específicas de MCs e turbidez - T. Os tempos iniciais de atendimento à cada condição e tempo maturação para cada filtro e modo de ativação podem ser observados nas Figuras 8 a 13 e são apresentados de forma resumida na Tabela 9.

Tabela 9 - Tempo de atendimento à cada condição de maturação Fase I de Pré-tratamento

Filtro	Efluente Natural (AE-1)			Efluente Específico B9 (AE-2)		
	Tempo inicial de atendimento às condições (d)			Tempo inicial de atendimento às condições (d)		
	MCs [MCs] ≤ 1,0 µg L ⁻¹	T [T] ≤ 10,0 uT	Maturação	MCs [MCs] ≤ 1,0 µg L ⁻¹	T [T] ≤ 10,0 uT	Maturação
AFL	24	3	24	4	3	4
CAG	4	3	4	4	4	4
AFR	37	6	37	4	3	4
ALG	52	4	52	4	3	4

MCs – Microcistinas, T- turbidez

Figura 8 - Concentração de MCs afluente e efluente para o filtro de AFL - Fase I-a e I-b

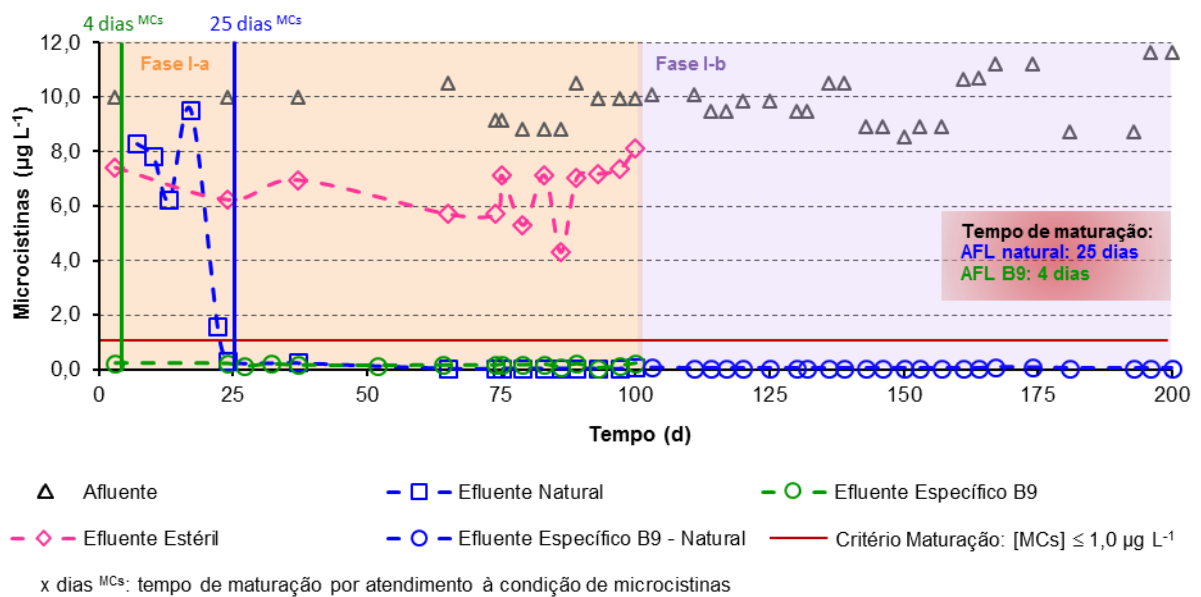


Figura 9 - Concentração de MCs afluente e efluente para o filtro de CAG - Fase I-a e I-b

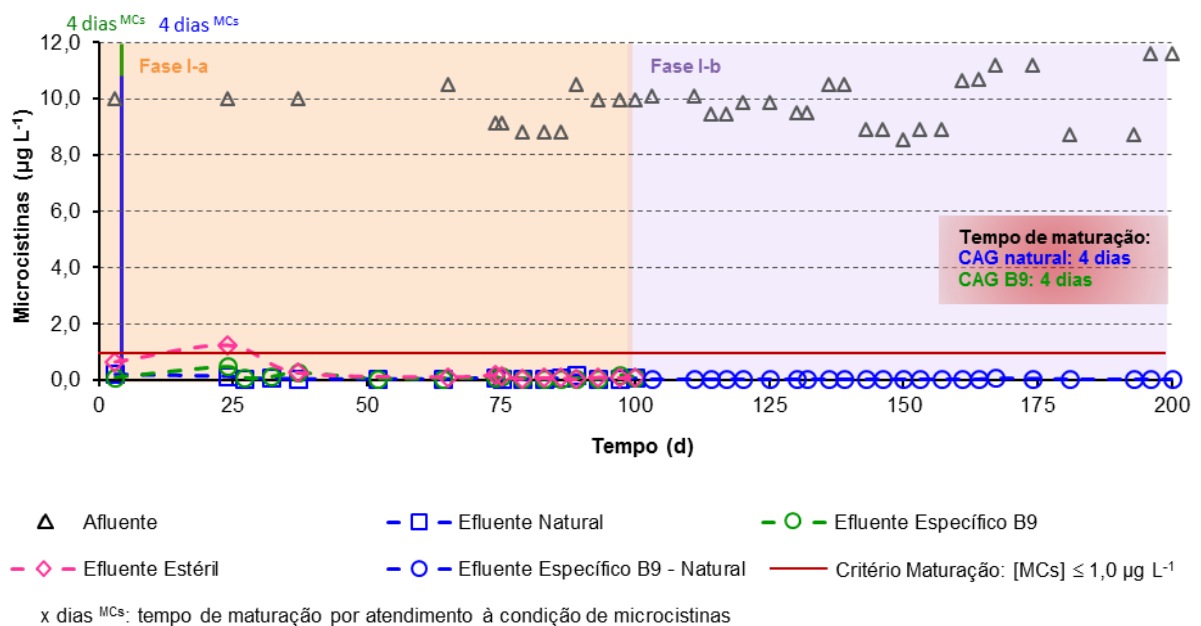


Figura 10 - Concentração de MCs afluente e efluente do filtro de AFR (a) e ALG (b) - Fase I-a e I-b

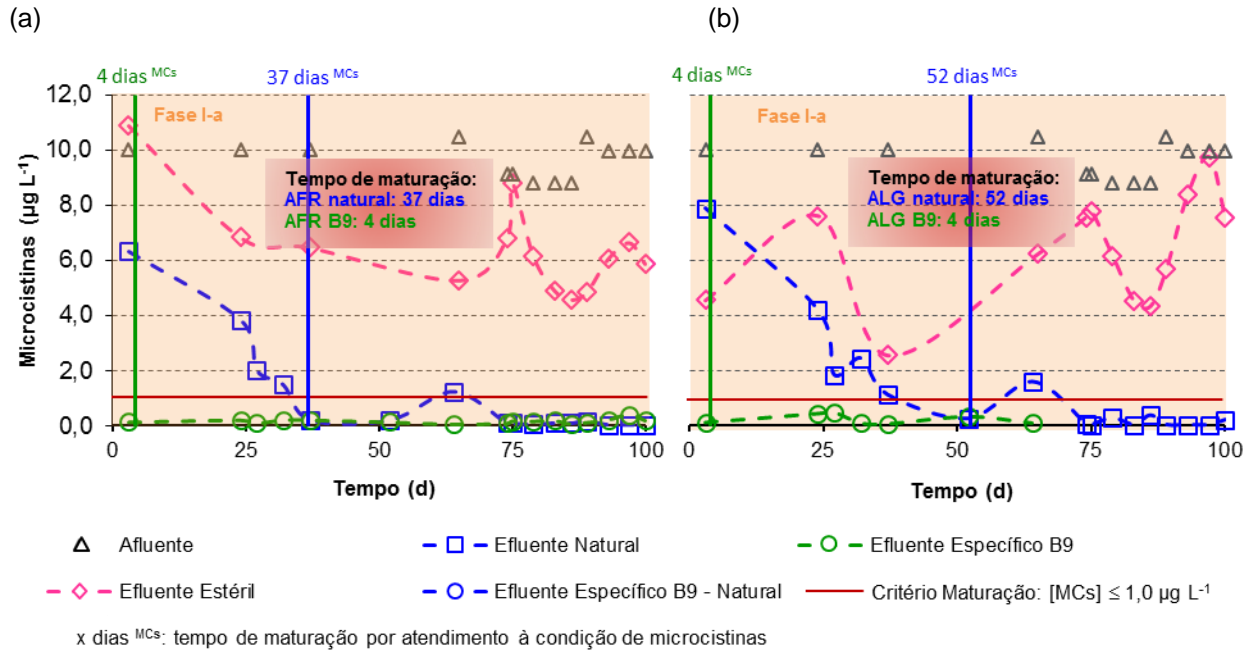


Figura 11- Valores de turbidez afluente e efluente do filtro de AFL - Fase I-a e I-b

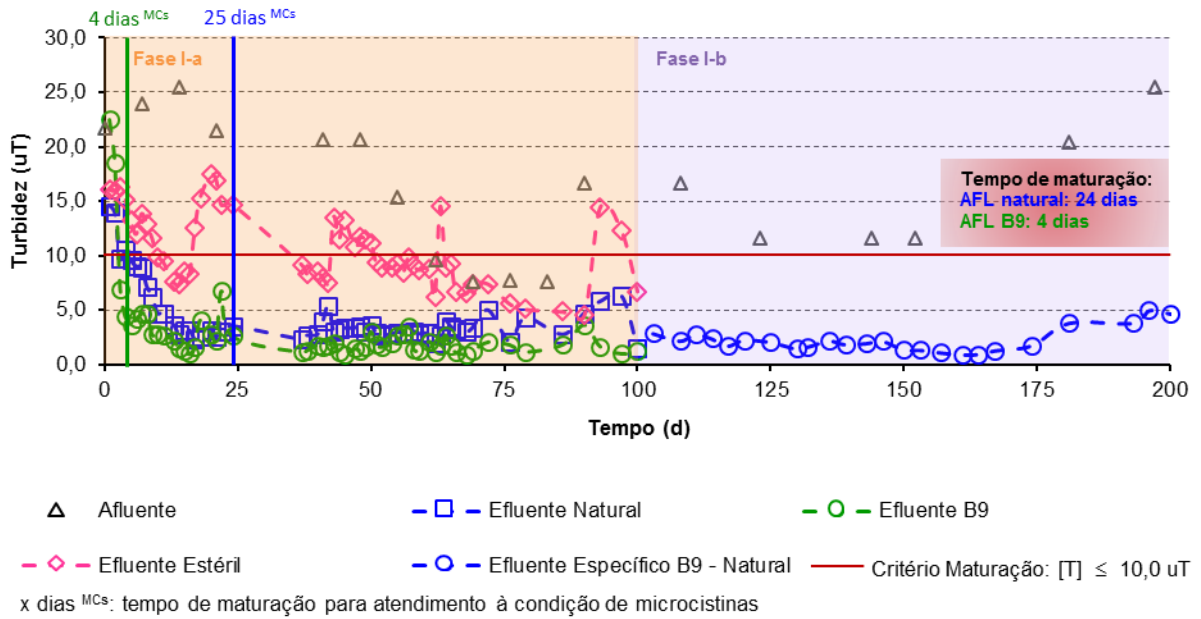


Figura 12- Valores de turbidez afluente e efluente do filtro de CAG - Fase I-a e I-b

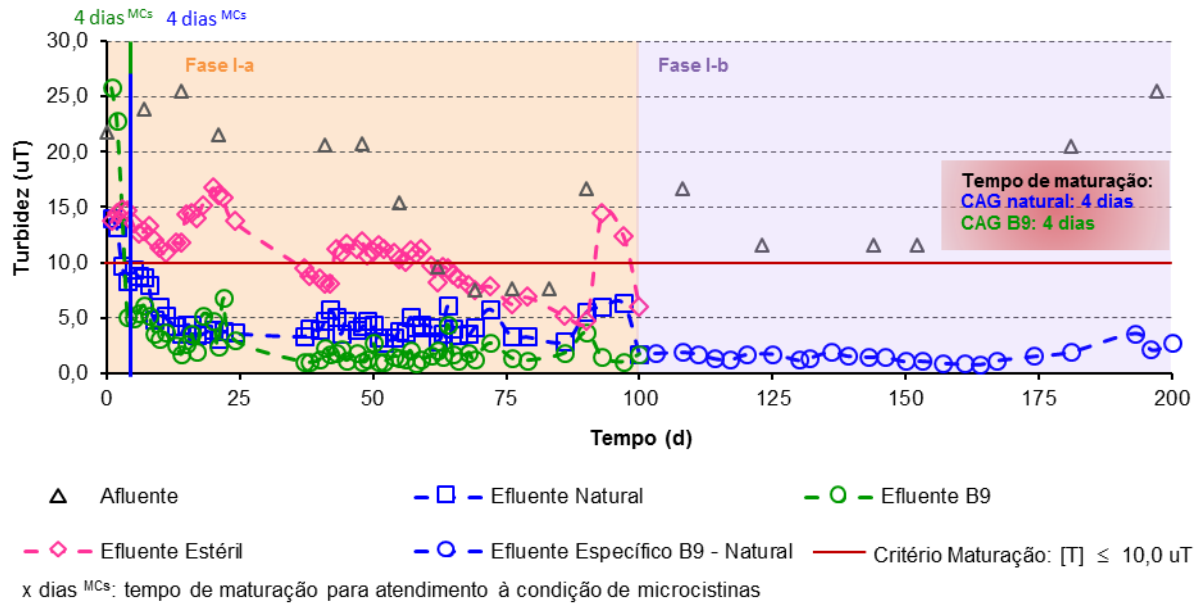
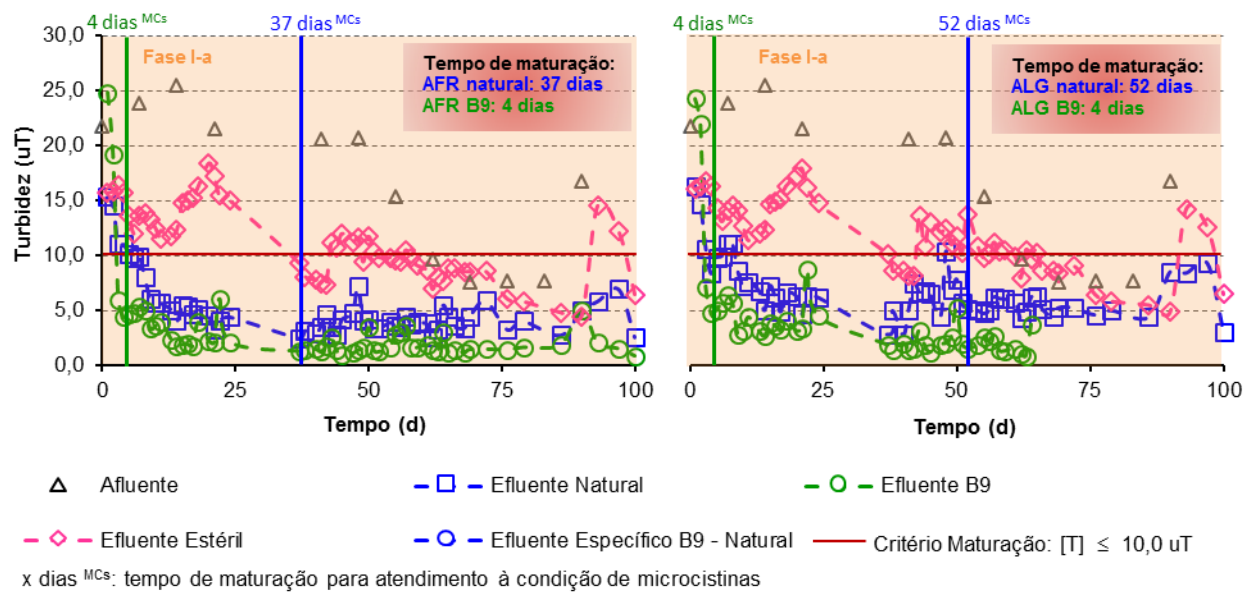


Figura 13 - Valores de turbidez afluente e efluente do filtro de AFR (a) e ALG (b) - Fase I-a e I-b



Na Tabela 10 e Tabela 11 são apresentados os resultados compilados de MCs e turbidez, respectivamente, nos afluentes e residuais nos efluentes após o período de maturação para cada filtro e modos de ativação correspondentes à Fase I.

Tabela 10 - Concentração de MCs afluente, residual efluente e % de remoção após período de maturação para cada filtro e modo de ativação / Fase I de Pré-tratamento

Amostra	Nº. amostras	Valor de MCs ($\mu\text{g L}^{-1}$)				Remoção médica (%)		
		Médio	Mínimo	Máximo	Mediana			
Afluente	19	$9,70 \pm 0,54$	8,80	10,50	9,95	-		
Fase I-a	Efluente	Natural	11	$0,09 \pm 0,10$	0,05	0,34	0,05	$99,3 \pm 0,7$
		Específico B9	12	$0,17 \pm 0,05$	0,05	0,24	0,17	$98,3 \pm 0,6$
		Estéril	13	$6,58 \pm 1,06$	4,30	8,13	7,03	$31,9 \pm 10,1$
	Efluente	Natural	11	$0,08 \pm 0,04$	0,05	0,18	0,05	$99,2 \pm 0,4$
		Específico B9	12	$0,12 \pm 0,12$	0,05	0,49	0,08	$98,7 \pm 1,2$
		Estéril	13	$0,24 \pm 0,34$	0,03	1,23	0,11	$97,6 \pm 3,4$
	Efluente	Natural	11	$0,09 \pm 0,04$	0,05	0,39	0,10	$95,6 \pm 6,6$
		Específico B9	12	$0,19 \pm 0,09$	0,08	0,42	0,19	$98,1 \pm 0,8$
		Estéril	13	$6,48 \pm 1,73$	4,59	10,88	6,16	$33,4 \pm 16,3$
	Efluente	Natural	11	$0,14 \pm 0,13$	0,05	0,39	0,05	$96,9 \pm 5,2$
		Específico B9	12	$0,22 \pm 0,15$	0,07	0,56	0,19	$97,5 \pm 1,6$
		Estéril	13	$6,37 \pm 1,99$	2,58	9,73	6,23	$34,0 \pm 20,2$
Fase I-b	Efluente	Específico B9	11	$0,05 \pm 0,01$	0,05	0,09	0,05	$99,3 \pm 0,5$
	Efluente	Natural	11	$0,05 \pm 0,01$	0,04	0,08	0,05	$99,5 \pm 0,1$

Tabela 11 - Valores de turbidez afluente, residual efluente e % de remoção após período de maturação para cada filtro e modo de ativação/ Fase I de Pré-tratamento

Amostra	Nº. amostras	Valor de Turbidez (uT)				Remoção médica (%)		
		Médio	Mínimo	Máximo	Mediana			
Afluente	18	16,44 ± 6,30	7,57	25,5	16,7	---		
Fase I-a	Efluente	Natural	36	3,33 ± 1,01	1,53	6,27	3,03	76,1 ± 14,3
		Específico B9	56	2,19 ± 1,20	0,91	6,76	1,78	87,2 ± 8,0
		Estéril	57	10,45 ± 3,36	4,52	17,43	9,34	42,0 ± 16,8
	Efluente	Natural	36	4,16 ± 1,05	1,73	6,33	4,07	70,6 ± 15,7
		Específico B9	56	2,46 ± 1,52	0,96	6,77	1,86	85,8 ± 9,6
		Estéril	57	11,08 ± 2,82	4,74	16,76	11,20	38,3 ± 15,2
	Efluente	Natural	36	4,02 ± 1,14	2,50	7,19	3,78	71,0 ± 16,1
		Específico B9	56	2,34 ± 1,31	0,87	6,05	1,77	86,3 ± 9,7
		Estéril	57	11,06 ± 3,38	4,45	18,43	10,67	39,8 ± 3,38
	Efluente	Natural	36	5,59 ± 1,45	3,07	9,25	5,15	53,3 ± 19,7
		Específico B9	56	2,88 ± 1,98	0,64	10,30	2,38	83,3 ± 15,8
		Estéril	57	11,66 ± 3,23	4,84	17,93	11,37	35,7 ± 15,4
Fase I-b	Efluente	Específico B9	24	2,22 ± 1,1	0,91	4,97	2,01	84,7 ± 5,4
	Efluente	Natural	24	1,63 ± 0,80	0,86	3,63	1,54	88,5 ± 3,0

Na Fase I de Pré-tratamento, o afluente apresentou concentrações de MCs que variaram entre 8,80 a 10,50 $\mu\text{g L}^{-1}$ (valor médio de $9,70 \pm 0,54 \mu\text{g L}^{-1}$ e mediana de $9,95 \mu\text{g L}^{-1}$) e valores de turbidez que variaram entre 7,57 e 25,6 uT (valor médio de $16,44 \pm 6,30 \text{ uT}$ e mediana de 16,7 uT).

De acordo com as Figuras 8 a 13, pode-se observar que com exceção do filtro de CAG, todos os filtros utilizados como controle negativo (alimentado com AE-3) não atenderam às condições de MCs e de turbidez e conseqüentemente, de maturação em todo o período de monitoramento. Estes resultados comprovam a limitada eficiência da filtração como simples barreira física, com remoções máximas

de 34% para MCs (para o filtro de ALG) e de 42% para turbidez (para o filtro de AFL) para o período de 100 dias de operação. Assim, o desempenho da filtração requer necessariamente, a associação de processos químicos como a coagulação ou biológicos tais como os presentes em biofilmes de filtros rápidos ou camada *schumtzdecke* de filtros lentos.

Por consequência, é possível inferir que a remoção de MCs ocorrida no filtro de CAG alimentado com a AE-3 (Figura 9) foi devido ao processo físico-químico de adsorção. Para os demais modos de ativação (natural e com microrganismo específico: *S. microcystinivorans* - B9) do mesmo filtro, não é possível distinguir o(s) fenômeno(s) (biodegradação natural ou específica com B9 ou ainda adsorção) responsável (is) pela remoção de MCs ao longo do tempo.

No entanto, comparando-se o comportamento do filtro de CAG (Figura 9) com o do filtro de AFL (Figura 8), filtro de AFR e filtro de ALG (Figura 10 a e b), é provável que a adsorção tenha sido o principal fenômeno responsável pela remoção de MCs na fase inicial de maturação, uma vez que para os demais filtros houve necessidade de período de maturação entre 24 e 52 dias de operação para desempenho similar. Estes resultados indicam também, a possibilidade de se dispensar a fase inicial de maturação mediante o uso de adsorvedores, com consequente aumento de produtividade, resultando em importante vantagem da associação da ativação biológica a materiais adsortivos (WANG et al., 2007; MINILLO et al., 2009).

Além disso, não foram observadas diferenças em relação capacidade de adsorção de MCs ainda esperava-se que a exaustão ocorresse primeiramente no filtro usado como controle negativo quando comparado com o filtro de CAG ativado biologicamente, conforme observado por Wang et al. (2007). Contudo, não foi possível obter esta constatação no período de monitoramento deste trabalho, provavelmente por ter-se utilizado o CAG pré-selecionado por Francisco, (2014), dentre os 11 amostrados de diferentes materiais de origem e modos de ativação para adsorção de MCs.

Wang et al. (2007), compararam a remoção de MC-LR e LF na concentração de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ por filtração em colunas de CAG em duas condições: condição natural com formação de biofilme e condição estéril (sistema fechado e estéril). Nesse trabalho foi observado que para a condição estéril, o filtro apresentou perda contínua de eficiência após 5 semanas de operação, devido à exaustão do processo de

adsorção, ao passo que, para a condição natural, não foi observado o mesmo comportamento até 200 dias de operação. Este fato sugere que o melhor desempenho em relação à remoção de MCs da condição natural deve-se pela combinação de processos adsortivos e biológicos.

Minillo et al. (2009), por sua vez, compararam a remoção de D[Leu¹]-MC-LR (20 µg L⁻¹) em filtro de carvão ativado granular com inibição de atividade biológica (CAG) e carvão biologicamente ativo (BioCAG). Nesse trabalho, não foi possível observar diferença entre os dois filtros empregados, apresentando perda de eficiência após 20 dias de operação, com aumento gradativo da concentração residual de D[Leu¹]-MC-LR até o final da carreira (120 dias).

Independentemente do tipo de material granular, pode-se observar, comparando-se a Figura 11, Figura 12 e Figura 13, que a ativação biológica contribuiu para a remoção de turbidez, tendo a ativação com microrganismo específico B9, resultado em valores residuais médios inferiores quando comparados aos obtidos com ativação natural. Além disso, os períodos de maturação requeridos para os filtros utilizados como controle positivo foram sempre os menores resultando em 4 dias para todos os filtros, devido ao atendimento à condição limite de MCs (Tabela 9). Vale ressaltar que o período de maturação de 4 dias deveu-se ao fato da análise de MCs ter sido iniciada com amostras coletadas após 4 dias de operação, assim, é possível que o tempo de maturação real possa ser inferior ao observado de 4 dias.

Tsuji et al. (2006), avaliaram o uso da bactéria B9 imobilizada adesivamente em suportes de celulose e polietileno e aprisionada em gel de polietileno glicol com tempo de contato das células de 2 d. Nesse estudo, a bactéria B9 degradou até 100% de MC-RR (padrão comercial com concentração de 2 mg L⁻¹) em 24h. Porém, quando foi avaliada em relação a MC-LR e RR (concentrações que variaram entre 50 µg L⁻¹ e 150 µg L⁻¹) adicionadas pela cultura da cianobactéria NIES 102, com remoção completa de MC-LR e RR após 2 dias.

Em relação aos valores residuais de MCs nos efluentes produzidos (Tabela 10), foi possível observar que, independentemente do tipo de filtro/material granular, com exceção do filtro de ALG, todos os efluentes provenientes da ativação natural apresentaram valores inferiores em relação aos da ativação específica com B9, contrariando o esperado. Contudo, as remoções correspondentes foram elevadas, variando de 98,1 a 99,3% com valor residual máximo de 0,19 µg L⁻¹ de MCs.

De acordo com o tipo de ativação, na literatura foram encontrados diversos tempos de maturação em relação à remoção de MCs que variaram entre 4 e 217 dias para ativação natural e entre 6 a 7 dias para a ativação específica (BOURNE et al., 2006; SÁ, 2006; HO et al., 2006; 2007; WANG et al., 2007; SOMDEE et al., 2014).

Como esperado, os períodos de maturação requeridos para os filtros com ativação biológica específica com B9 foram menores e iguais a 4 dias para todos os filtros/material granular. Para os filtros com ativação natural (alimentados com a AE-1), os períodos de maturação requeridos foram de 24, 4, 37 e 52 dias para os filtros de AFL, CAG, AFR e ALG, respectivamente (Tabela 9).

Apesar da sustentabilidade da tecnologia de filtração lenta por dispensar a adição de produtos químicos no tratamento e seu desempenho para inativação de patogênicos, a necessidade de longos períodos de maturação pode dificultar a operação das ETAs e resultar na redução do índice de produtividade de água. Além da extensa área de filtração associada à baixa taxa de filtração este é um dos fatores que dificultam a ampla aplicação desta tecnologia.

Uma possível solução para contornar este problema seria a adoção de camada intermediária de CAG, compondo os filtros “sanduíche”, a fim de garantir a adsorção de compostos orgânicos como as MCs no período de maturação e possibilitar sua supressão para uso. Outra opção técnica seria a ativação com microrganismo específico que apresente elevada capacidade de biodegradação de compostos-alvo tal como a *S. microcystinivorans* - B9 em relação às MCs, utilizada neste trabalho (Figura 8, Figura 9 e Figura 10 a e b).

Comparando-se os resultados da ativação natural dos filtros de AFL e de AFR em relação aos parâmetros MCs e turbidez, é possível concluir que a aplicação das condições operacionais da filtração lenta em areia de granulometria de filtro rápido (mesma taxa de filtração e tipo de alimentação) resultou em tempo de maturação levemente superior (37 dias para a AFR e 24 dias para AFL) e desempenho similar para estes parâmetros após maturação. No entanto, a duração da carreira de filtração do filtro de AFR foi substancialmente maior devido principalmente ao maior tamanho médio dos vazios intergranulares e diferenças na composição granulométrica, uma vez que a AFL apresentou tamanho de grãos entre 0,074 e 1,18 mm e diâmetro efetivo - d_{10} de 0,24 mm e a AFR apresentou tamanho de grãos entre 0,42 e 1,41 mm e d_{10} de 1,31 mm.

De acordo como a Tabela 12, a duração da carreira de filtração inicial, encerrada pela perda de carga limite de 20 cm no meio granular foi substancialmente menor para o filtro de AFL (entre 16 e 21 dias) quando comparada ao do filtro de AFR (entre 48 e 76 dias). Este fato, assim como o longo período de maturação, pode dificultar a operação das ETAs e resultar na redução do índice de produtividade de água. Assim, a adoção de granulometria de AFR apresentou-se mais vantajosa em relação a este aspecto.

Tabela 12 - Duração da carreira inicial de filtração para cada filtro em função do modo de ativação/ Fase I de Pré-tratamento

Filtro	Duração da carreira inicial de filtração (d)		
	Ativação natural	Ativação específica	Sem ativação
AFL	21 ^(*)	16 ^(*)	16 ^(*)
CAG	48 ^(*)	200 ^(**)	100 ^(**)
AFR	48 ^(*)	52 ^(*)	76 ^(*)
ALG	48 ^(*)	64 ^(***)	64 ^(*)

^(*): Carreira de filtração encerrada por perda de carga limite = 20 cm

^(**): Carreira de filtração encerrada por tempo final de operação;

^(***): Carreira de filtração encerrada por desintegração do material granular

De acordo com a Figura 8 e Tabela 11, pode-se perceber que a ativação biológica (natural e específica com B9) aplicada aos filtros de AFL foi eficiente para remoção de MCs após os períodos de maturação (de 24 e 4 dias, respectivamente), resultando em remoções médias de 99,3 e 98,3% e valores residuais que variaram entre 0,05 e 0,34 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o efluente natural e entre 0,05 e 0,24 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o efluente com ativação específica com B9 (Tabela 10).

No entanto, os valores residuais médios de turbidez para os mesmos filtros foram de 3,33 e 2,19 uT após ativação biológica natural e específica com B9, respectivamente (Tabela 11), e resultaram superiores ao valor limitado pela Portaria MS 2914 (BRASIL, 2011) de 1,0 uT em 95% das amostras de água filtrada por filtração lenta. Este fato pode ter sido ocasionado pelo fator de escala ou mais especificamente, pela reduzida espessura de meio granular utilizada (5 cm) favorecendo a ocorrência de desprendimento de partículas, uma vez que na concepção de unidades de filtração lenta em escala real são utilizadas espessuras que variam entre 60 e 110 cm, com desenvolvimento de atividade biológica intensa na camada superior entre 15 a 30 cm (HUISMAN; WOOD, 1974; GALVIS et al.,

1993; DIBERNARDO; BRANDÃO; HELLER, 1999; CAMPOS et al., 2002; LOGSDON et al., 2002, DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

Os filtros de ALG apresentaram desempenho similar aos de AFR em relação à remoção de MCs e turbidez (Tabela 10 e Tabela 11), mas a ativação natural do filtro de ALG demandou tempo substancialmente maior para maturação (de 52 dias para o de ALG e de 37 dias para o de AFR) (Figura 10 a e b). Além disso, os grânulos de ALG submetidos à ativação biológica apresentaram conformação alterada ao longo do tempo, com redução expressiva do tamanho dos grânulos no caso da ativação natural até o final da carreira de filtração e desintegração completa no caso da ativação específica com B9 após 64 dias de operação, dificultando sua aplicação técnica.

Considerando os resultados obtidos na Fase I, decidiu-se por verificar a manutenção da atividade biológica do microrganismo específico B9 ao longo do tempo, prolongando a operação dos filtros AFL e CAG na Fase I-b.

Interrupção da inoculação do microrganismo específico B9 não afetou o desempenho dos filtros de AFL e CAG em relação às remoções de MCs (Figura 8, Figura 9 e Tabela 10) e de turbidez (Figura 11, Figura 12 e Tabela 11) durante o período de monitoramento de 100 dias, visto que:

- a remoção média de MCs do filtro de AFL com ativação específica com B9 passou de 98,3% com valor residual médio de $0,17 \mu\text{g L}^{-1}$ para 99,3% e valor residual médio de $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$;
- a remoção média de MCs do filtro de CAG com ativação específica com B9 passou de 98,7% com valor residual médio de $0,12 \mu\text{g L}^{-1}$ para 99,5% e valor residual médio de $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$;
- a remoção média de turbidez do filtro de AFL com ativação específica com B9 passou de 87,2% com valor residual médio de 2,19 uT para 84,7% e valor residual médio de 2,22 uT;
- a remoção média de turbidez do filtro de CAG com ativação específica com B9 passou de 85,8% com valor residual médio de 2,46 uT para 88,5% e valor residual médio de 1,63 uT.

Assim, pode-se inferir que para as condições do estudo, a inoculação de microrganismo específico durante a fase inicial de maturação do filtro de AFL pode,

além de reduzir o tempo requerido para completa maturação, manter a atividade específica neste caso, em relação à biodegradação de MCs e remoção de turbidez, mesmo após suspensão da inoculação do mesmo.

Para os parâmetros complementares de monitoramento da atividade biológica (pH e OD), foi possível observar que o tipo de ativação biológica influenciou de maneira distinta cada um dos modos de ativação (Figura 14 a Figura 17). Os dados foram separados para cada tipo de filtro/material granular e os diferentes modos de ativação biológica (natural, com microrganismo específico e sem ativação) empregados nos experimentos da Fase I.

Figura 14 - Gráfico bloxplot dos valores de pH afluente e efluente para o filtro de AFL - Fase I-a e I-b

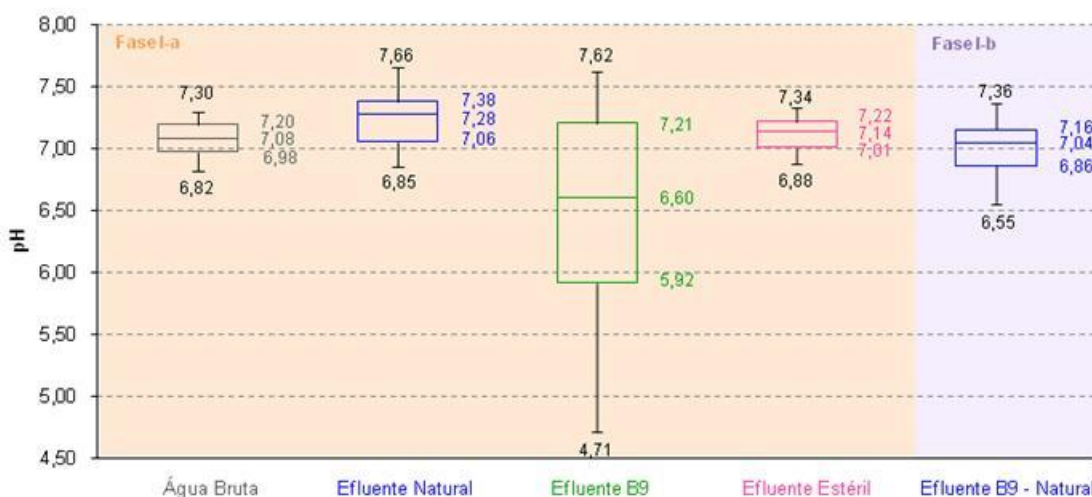


Figura 15 - Gráfico bloxplot dos valores de pH afluente e efluente para o filtro de CAG - Fase I-a e I-b

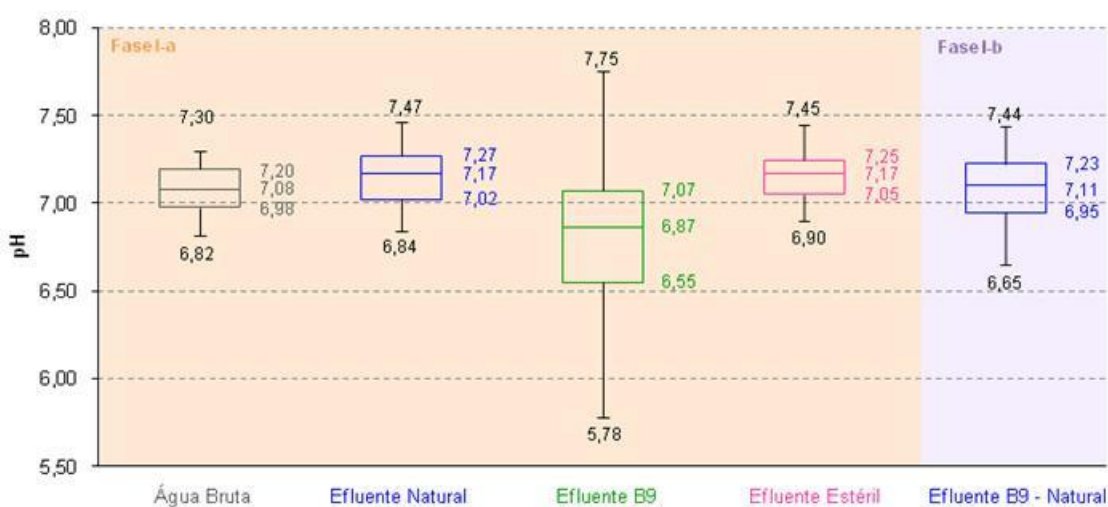


Figura 16 - Gráfico bloxplot da concentração de OD aflente e efluente para o filtro de AFL - Fase I-a e I-b

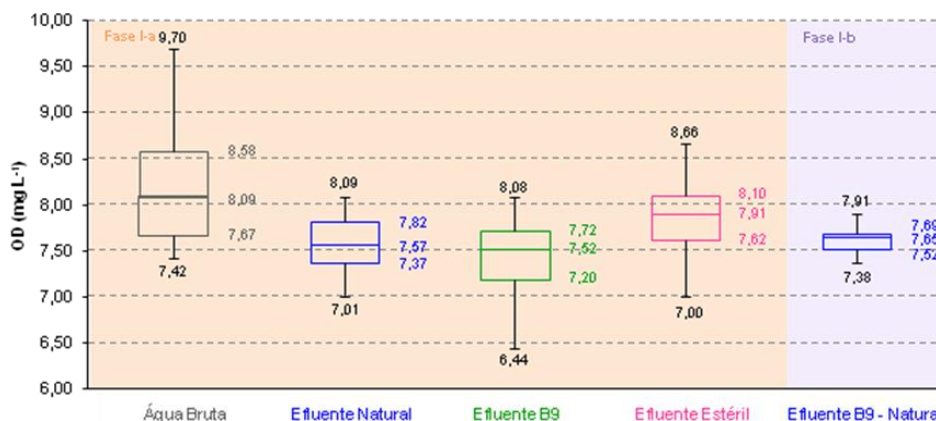
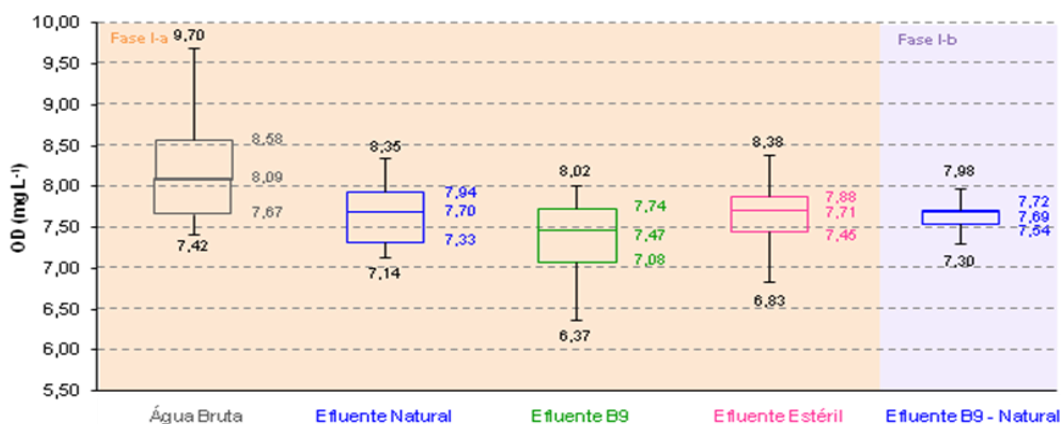


Figura 17 - Gráfico bloxplot da concentração de OD aflente e efluente para o filtro de CAG - Fase I-a e I-b



Para os filtros de AFL e de CAG alimentados com AE-2 (Figura 14 e Figura 15) houve maior variação nos valores de pH dos efluentes em comparação com as outras águas de estudo AE-1 e AE-3. Os efluentes do filtro de AFL apresentaram 50% de seus valores de pH entre 5,92 e 7,21 (mínimo de 4,71 e máximo de 7,62); os efluentes do filtro de CAG apresentaram 50% de seus valores de pH entre 6,55 e 7,07 (mínimo de 5,78 e máximo de 7,75).

Na Fase I-b, os efluentes dos filtros de AFL e de CAG (Figura 14 e Figura 15), apresentaram menor variação nos valores de pH em comparação com a Fase I-a, provavelmente devido à suspensão inoculação da bactéria B9. Para os efluentes do filtro de AFL apresentaram 50% de seus valores de pH entre 6,85 e 7,16 (mínimo de 6,55 e máximo de 7,36) e os efluentes do filtro de CAG apresentaram 50% de seus valores de pH entre 6,95 e 7,23 (valor mínimo de 6,65 e máximo de 7,40).

De maneira geral, observa-se que nos filtros com atividade biológica houve uma maior variação de pH em relação ao controle (AE-3), sendo mais intensa a

variação com a alimentação da AE-2 devido a atividade biológica e inoculação contínua da bactéria B9, apresentando tendência em apresentar valores de pH mais reduzidos em relação aos demais tipos de ativação. O que ocasionou uma maior acidificação do efluente em comparação com os outros modos de ativação, apresentando em determinados tempos valores de pH inferiores a 6,0, em desacordo com a Portaria MS 2914 (BRASIL, 2011).

Resultados similares foram obtidos por Erba (2011) que ao avaliar a remoção de compostos farmacológicos em biofiltro de areia seguido de biofiltro de CAG, observou que nos biofiltros o pH efluente sofreu variação em seus valores, com pH de 5,39 a 7,70 na primeira etapa experimental e pH de 6,43 a 7,75 na segunda etapa experimental. A mesma tendência foi observada nos trabalhos de Seredynska-Sobecka et al. (2006) e Minillo et al. (2013).

A variação de pH pode ser devido ao consumo da matéria orgânica pelas bactérias aderidas ao material granular, no qual há a produção de CO_2 com conseqüente decréscimo de pH. No entanto, a presença de algas no biofilme em determinadas condições (presença de nutrientes e CO_2) pode apresentar o efeito oposto, causando aumento nos valores de pH (MÅTERSSON; JABUR, 2006).

Para os efluentes dos filtros de AFL e de CAG alimentados com AE-1 e AE-2, os valores das concentrações de OD dos efluentes foram inferiores ao do controle (AE-3) devido à atividade biológica desenvolvida nos filtros (Figura 16 e Figura 17). Para os filtros de AFL e CAG alimentados com AE-2, o consumo de OD foi maior em comparação com a alimentação com AE-1, os efluentes do filtro de AFL alimentado com AE-2 apresentaram 50% das concentrações de OD entre 7,20 e 7,72 mg L^{-1} (mínimo de 6,44 mg L^{-1} e máximo de 8,08 mg L^{-1}). Os efluentes do filtro de CAG apresentaram 50% das concentrações de OD entre 7,08 e 7,74 mg L^{-1} (mínimo de 6,37 mg L^{-1} e máximo de 8,02 mg L^{-1}).

Para a AE-1, os efluentes do filtro de AFL apresentaram 50% das concentrações de OD efluente entre 7,37 e 7,82 mg L^{-1} (mínimo de 7,01 mg L^{-1} e máximo de 8,09 mg L^{-1}). Os efluentes do filtro de CAG apresentaram 50% das concentrações de OD efluente entre 7,33 e 7,94 mg L^{-1} (mínimo de 7,14 mg L^{-1} e máximo de 8,35 mg L^{-1}). Esses resultados demonstram que após a fase de maturação houve intensa atividade biológica nos filtros, sendo possível observar que nos filtros alimentados com AE-2, foi à condição com atividade biológica mais

intensa, apresentando valores de OD efluente com maior variação e maior consumo de OD.

Na Fase I-b, após a suspensão da inoculação da bactéria B9 (Figura 16 e Figura 17), observa-se que o consumo de OD se comportou de maneira semelhante aos filtros alimentados com AE-1 na Fase I-a. Os efluentes do filtro de AFL apresentaram 50% das concentrações de OD entre 7,52 e 7,69 mg L⁻¹ (mínimo de 7,38 mg L⁻¹ e máximo de 7,91 mg L⁻¹), os efluentes do filtro de CAG apresentaram 50% das concentrações de OD entre 7,54 e 7,72 mg L⁻¹ (mínimo de 7,30 mg L⁻¹ e máximo de 7,98 mg L⁻¹), o que demonstra que a atividade biológica foi mantida em ambos os filtros, porém foi menos intensa.

A variação dos valores de OD pode ser explicada devido a vários fatores como: pressão atmosférica, respiração microbiana e fotossíntese, tempo de operação do sistema de filtração, taxa de filtração, limpeza dos filtros, da estação do ano e de processos de pré-tratamento (STEELE et al., 2006). No entanto, neste caso, como filtros foram operados em condições ambientais controladas (temperatura e iluminação), sob a mesma taxa de filtração, o principal fator que pode ter influenciado nos valores de OD para os filtros de AFL e de CAG quando alimentados com AE-1 e AE-2 foi a respiração microbiana devido ao biofilme formado.

5.3 BIOFILTRAÇÃO COMO PÓS-TRATAMENTO DE ÁGUAS PARA ABASTECIMENTO

Na Fase II de Pós-tratamento, os filtros de AFL e de CAG foram maturados com ativação biológica natural (alimentados com AE-1) e específica com B9 (alimentados com AE-2) por um período pré-fixado de 16 dias, e em seguida, passaram a ser alimentados com as águas de estudo AE-4 e AE-5, respectivamente, por mais 34 dias, totalizando 50 dias de operação da Fase II-a.

Posteriormente, na Fase II-b, assim como na Fase I-b, os filtros de AFL e de CAG utilizados como controle positivo (ativados com microrganismo específico – *S. microcystinivorans* - B9) tiveram inoculação suspensa e passaram a ser alimentados com AE-4. Esta fase durou mais 30 dias e teve como objetivo verificar a manutenção da atividade biológica ao longo do tempo.

Os resultados de monitoramento do parâmetro microcistina - MCs ao longo do tempo são apresentados na forma de gráficos (Figura 18 e Figura 19). Na Tabela 13 são apresentados os resultados compilados de MCs no afluente e residual nos efluente após o período de maturação para cada filtro e modo de ativação correspondente à Fase II (Pós-tratamento). Na Fase II de Pós-tratamento, o afluente aos filtros apresentou concentrações de MCs que variaram entre 8,54 e 11,62 $\mu\text{g L}^{-1}$ (valor médio de $10,10 \pm 1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e mediana de $10,58 \mu\text{g L}^{-1}$).

Figura 18 - Concentração de MCs afluente e efluente do filtro de AFL/ Fase II-a e II-b.

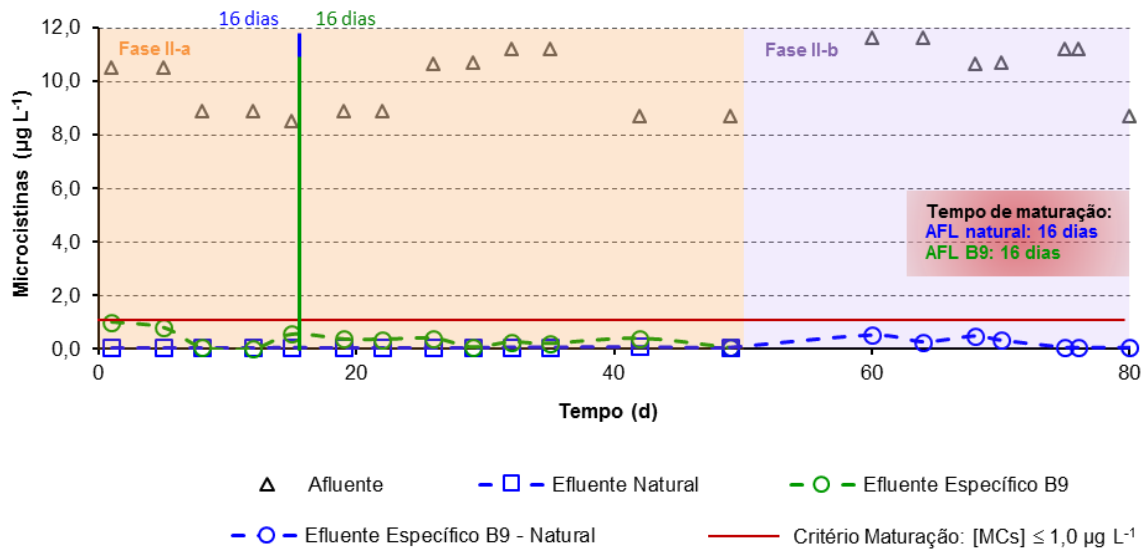


Figura 19 - Concentração de MCs afluente e efluente do filtro de CAG / Fase II-a e II-b

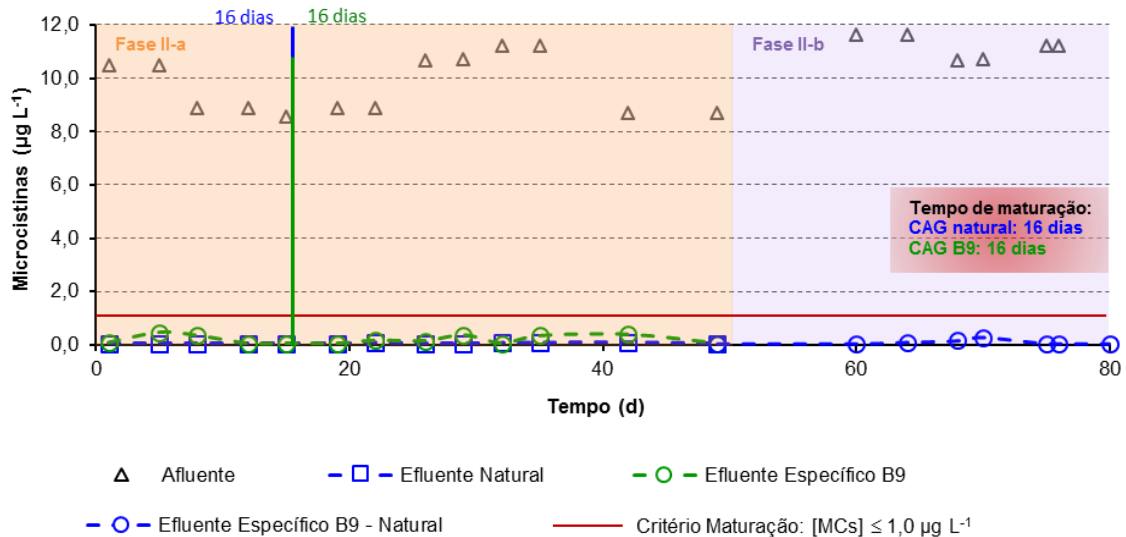


Tabela 13 - Concentração de MCs afluente, residual efluente e % remoção após período de maturação para cada filtro e modo de ativação / Fase II-a e II-b

	Amostra	Nº. Amostras	MCs ($\mu\text{g L}^{-1}$)				Remoção média (%)	
			Médio	Mínimo	Máximo	Mediana		
	Afluente	20	10,10 \pm 1,5	8,54	11,62	10,58	---	
Fase II-a	Efluente	Natural	7	0,07 \pm 0,02	0,05	0,09	0,06	99,3 \pm 0,2
		Específico B9	7	0,30 \pm 0,12	0,07	0,4	0,36	96,4 \pm 1,5
	Efluente	Natural	7	0,07 \pm 0,02	0,05	0,09	0,06	99,2 \pm 0,2
		Específico B9	7	0,22 \pm 0,15	0,05	0,39	0,16	97,8 \pm 1,7
Fase II-b	Efluente	Específico B9	8	0,23 \pm 0,20	0,05	0,52	0,16	97,9 \pm 1,8
	Efluente	Natural	8	0,10 \pm 0,08	0,05	0,28	0,05	99,1 \pm 0,8

Comparando-se a Figura 18 e a Figura 19, pode-se observar que os comportamentos dos filtros de AFL e de CAG foram similares e apresentaram, de acordo com a Tabela 13, respectivamente:

- remoção média de MCs de 99,3 e de 99,2% com valores residuais médios de 0,07 $\mu\text{g L}^{-1}$ para ambos os filtros e sistematicamente inferiores ao limite de 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, estabelecido pela Portaria MS 2914 (BRASIL, 2011), quando submetidos à ativação natural;
- remoção média de MCs de 96,4 e de 97,8% com valores residuais médios de 0,30 e 0,22 $\mu\text{g L}^{-1}$, levemente superiores aos obtidos com a ativação natural porém ainda, sistematicamente inferiores ao limite de 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, quando submetidos à ativação específica com B9.

Os resultados de monitoramento do parâmetro turbidez ao longo do tempo são apresentados na forma de gráficos (Figura 20 e Figura 21) tipo de filtro/material

granular, para diferentes modos de ativação biológica (natural e específico com B9) empregados nos experimentos da Fase II de Pós-tratamento.

Na Tabela 14 são apresentados os resultados compilados de turbidez no afluente e residual nos efluente após o período de maturação para cada filtro e modo de ativação correspondente à Fase II (Pós-tratamento). Na Fase II de Pós-tratamento, o afluente aos filtros apresentou valores de turbidez que variaram entre 0,35 e 0,6 uT (valor médio de $0,43 \pm 0,11$ uT e mediana de 0,39 uT).

Figura 20 - Valores de turbidez afluente e efluente do filtro de AFL / Fase II de Pós-tratamento

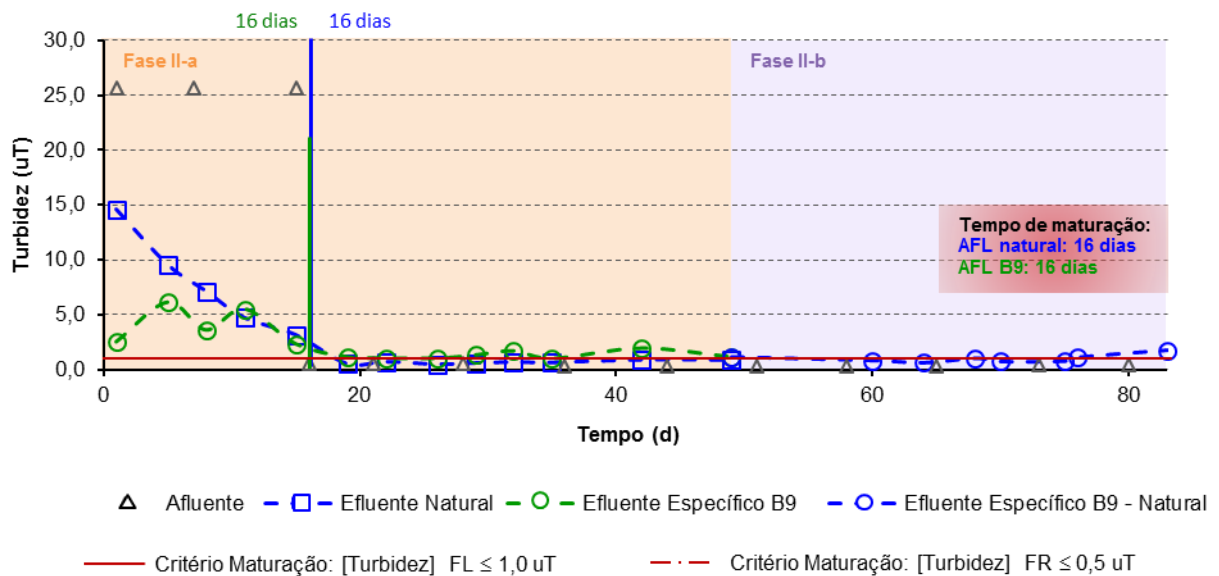


Figura 21 - Valores de turbidez afluente e efluente do filtro de CAG / Fase II de Pós-tratamento

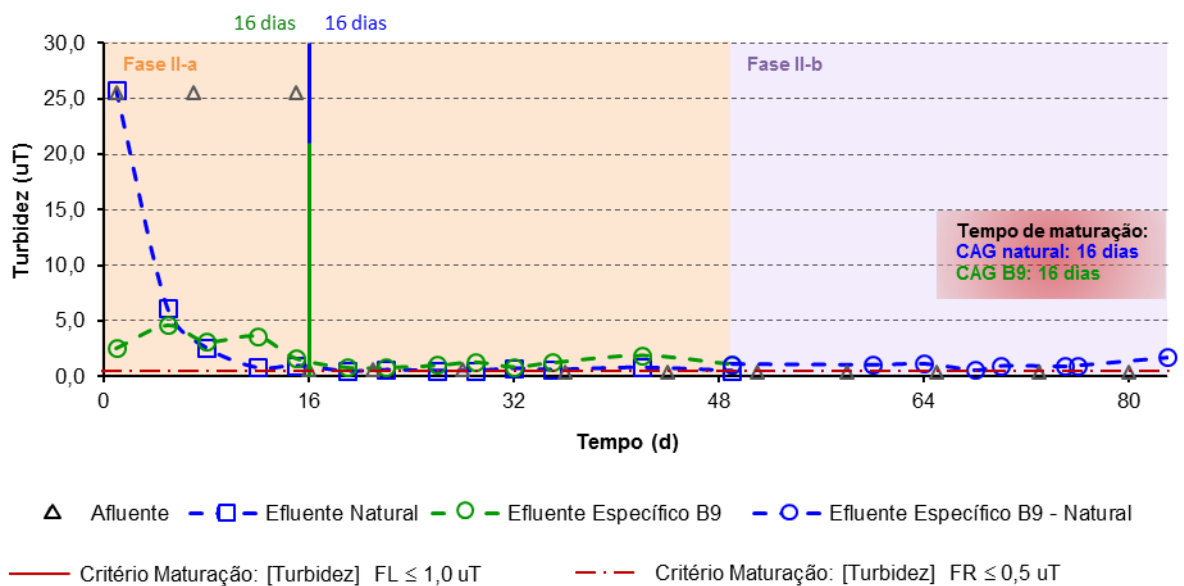


Tabela 14 - Valores de turbidez no afluente e residual nos efluentes após período de maturação para cada filtro e modo de ativação / Fase II de Pós-tratamento

	Amostra		Nº. Amostras	Turbidez (uT)			
				Médio	Mínimo	Máximo	Mediana
	Afluente		7	0,43 ± 0,11	0,35	0,6	0,39
Fase II-a	Efluente	Natural	7	0,65 ± 0,13	0,48	0,89	0,64
		Específico B9	7	1,32 ± 0,37	1,02	1,94	1,16
	Efluente	Natural	7	0,63 ± 0,12	0,50	0,83	0,61
		Específico B9	7	1,16 ± 0,39	0,84	1,92	1,02
Fase II-b	Efluente	Específico B9 – Natural	8	1,00 ± 0,35	0,63	1,75	0,93
	Efluente		8	1,07 ± 0,3	0,57	1,74	1,04

Em relação à turbidez, para o pós-tratamento (Etapa II), exceto para o filtro de AFL com ativação natural, que apresentou valor residual médio de turbidez de 0,65 uT (Figura 20, Figura 21 e Tabela 14), os demais filtros apresentaram valores residuais médios superiores aos limites estabelecidos pela Portaria MS 2914 (BRASIL, 2011) para cada filtro/material granular: de 1,0 uT após filtração lenta e de 0,5 uT após filtração rápida. Vale ressaltar que a adoção do valor limite de 0,5 uT para o filtro de CAG pressupõe que esta concepção de pós-tratamento é precedida pelo tratamento prévio por ciclo completo ou mesmo por filtração direta.

De maneira geral, o aumento de turbidez observado na filtração deve-se à ocorrência de carreamento de partículas. Assim como observado no limitado desempenho em relação à remoção de turbidez dos filtros de AFL na Fase I, este fato pode estar relacionado ao fator de escala ou mais especificamente, pela reduzida espessura de meio granular utilizada (5 cm) favorecendo a ocorrência de desprendimento de partículas. Este se mostrou mais expressivo nos filtros ativados com microrganismo específico, uma vez que os valores residuais médios de turbidez para os efluentes dos filtros de AFL e de CAG foram de 1,32 e 1,16 uT e resultaram superiores aos dos filtros ativados naturalmente, com valores de 0,65 e 0,63 uT, respectivamente.

Adicionalmente, pode-se observar que a suspensão da inoculação do microrganismo específico B9 não afetou o desempenho dos filtros de AFL e CAG em

relação às remoções de MCs (Figura 18, Figura 19 e Tabela 13) e de turbidez (Figura 20, Figura 21 e Tabela 14) durante o período de monitoramento de 30 dias, visto que:

- a remoção média de MCs do filtro de AFL com ativação específica com B9 passou de 96,4% com valor residual médio de $0,30 \mu\text{g L}^{-1}$ para 97,9% e valor residual médio de $0,23 \mu\text{g L}^{-1}$;
- a remoção média de MCs do filtro de CAG com ativação específica com B9 passou de 97,8% com valor residual médio de $0,22 \mu\text{g L}^{-1}$ para 99,1% e valor residual médio de $0,10 \mu\text{g L}^{-1}$;
- os valores residuais médios de turbidez dos filtros de AFL e de CAG com ativação específica com B9 passaram de 1,32 e de 1,16 uT para 1,00 e 1,07 uT, respectivamente.

Para os parâmetros complementares de monitoramento da atividade biológica – pH e OD, foi possível observar que o tipo de ativação biológica para a Fase II o mesmo efeito observado na Fase I. Os dados foram separados para cada tipo de filtro/material granular e os diferentes modos de ativação biológica (natural, com microrganismo específico e sem ativação) empregados nos experimentos da Fase II. Os gráficos bloxplot referentes aos valores de pH são apresentados nas Figura 22 e 23.

Figura 22 - Gráfico bloxplot dos valores pH afluente e efluente do filtro de AFL / Fase II de Pós-tratamento

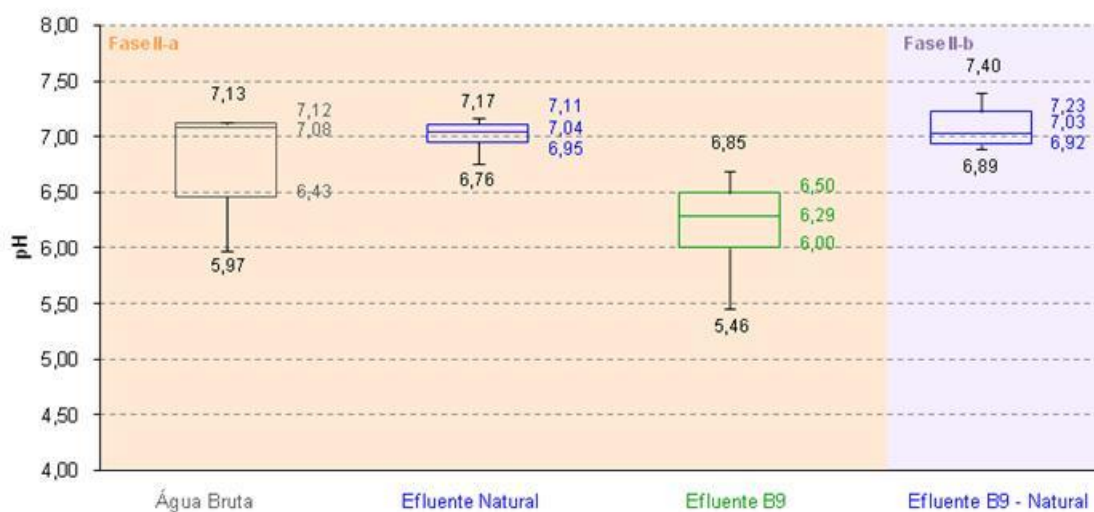


Figura 23 - Gráfico bloxplot dos valores pH afluente e efluente do filtro de CAG / Fase II de Pós-tratamento

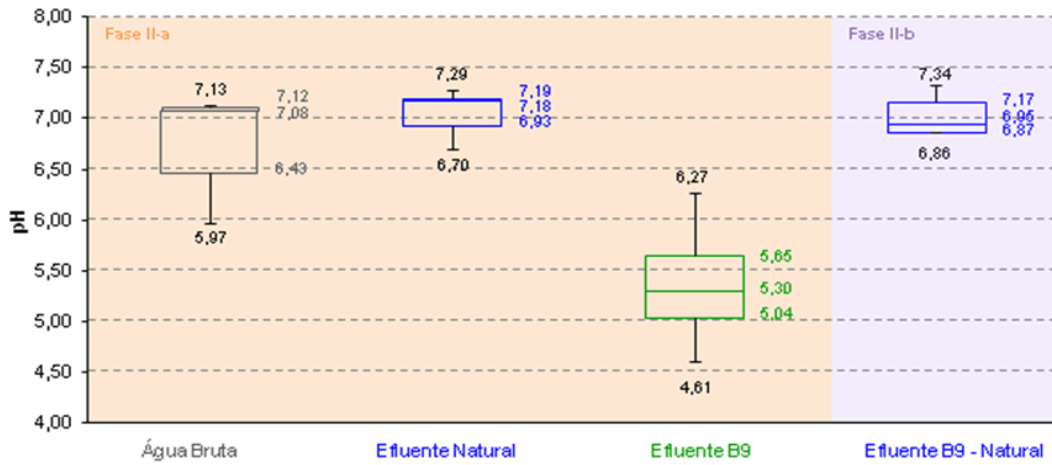


Figura 24 - Gráfico bloxplot da concentração de OD afluente e efluente do filtro de AFL/ Fase II de Pós-tratamento

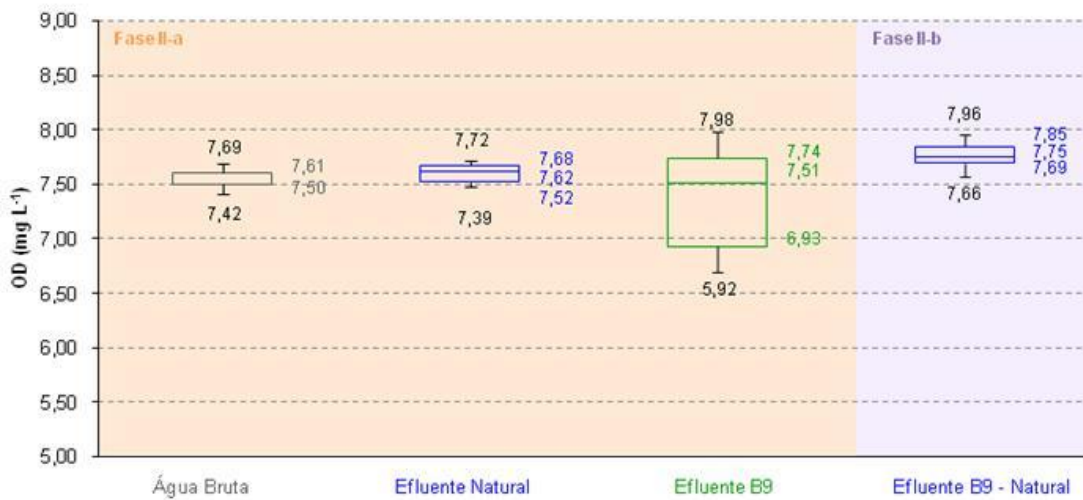
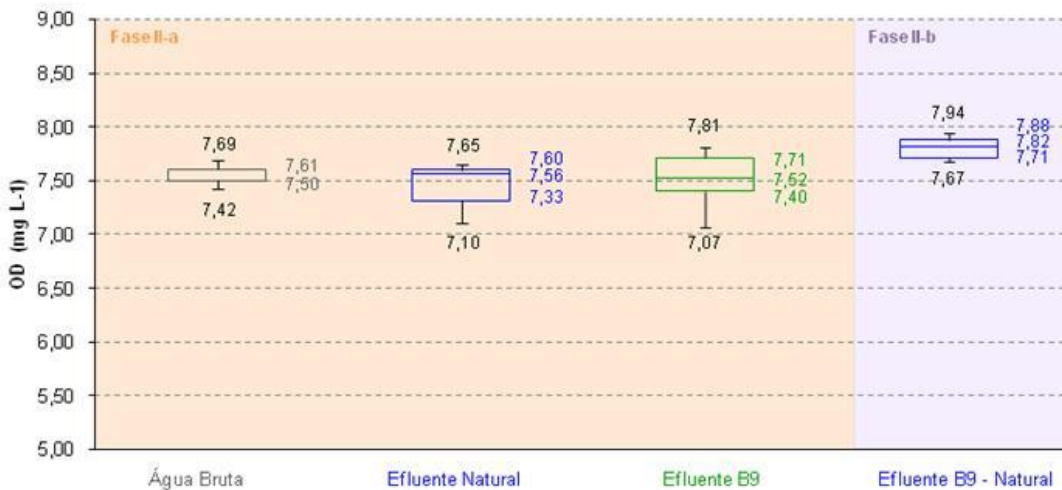


Figura 25 - Gráfico bloxplot da concentração de OD afluente e efluente do filtro de CAG / Fase II de Pós-tratamento



Observa-se que para os filtros de AFL e de CAG alimentados com AE-5 (Figura 22 e Figura 23), os efluentes apresentaram valores de pH inferiores em comparação aos valores de pH obtidos para a AE-4. Os efluentes do filtro de AFL apresentaram 50% dos valores de pH entre 6,00 e 6,50 (mínimo de 5,46 e máximo de 6,85), os efluentes do filtro de CAG apresentaram 50% dos valores de pH entre 5,04 e 5,65 (mínimo de 5,78 e máximo de 6,27). Em comparação com a Fase I-a (Figura 14 e Figura 15), os valores de pH para os efluentes dos filtros de AFL e CAG foram menores para a Fase II-a.

Para os efluentes dos filtros AFL e CAG alimentados com AE-4 (Figura 22 e Figura 23), observa-se pouca variação de pH, apresentaram 50% dos valores de pH entre 6,95 e 7,11 (mínimo de 6,76 e máximo de 7,11) para o filtro de AFL e para os efluentes do filtro de CAG, apresentaram 50% dos valores de pH entre 6,93 e 7,19 (mínimo de 6,70 e máximo de 7,29).

Na Fase II-b, os efluentes dos filtros de AFL e de CAG apresentaram menor variação nos valores de pH em comparação com a Fase II-a, com valores próximos aos obtidos para a ativação natural. Os efluentes do filtro de AFL apresentaram 50% dos valores de pH entre 6,92 e 7,23 (mínimo de 6,89 e máximo de 7,40), enquanto os efluentes do filtro de CAG apresentaram 50% dos valores de pH entre 6,87 e 7,17 (valor mínimo de 6,85 e máximo de 7,34).

Diferentemente do observado para a Fase I-a (Figura 16 e Figura 17), para os filtros de AFL e de CAG alimentados com AE-5 na Fase II-a (Figura 24 e Figura 25), as concentrações de OD dos efluentes apresentaram menores variações e assim, menor consumo de OD após a maturação em comparação com a Fase I-a. Para os efluentes do filtro de AFL, 50% das concentrações de OD apresentaram-se entre 6,93 e 7,71 mg L⁻¹ (mínimo de 5,92 mg L⁻¹ e máximo de 7,98 mg L⁻¹). Para os efluentes do filtro de CAG, 50% das concentrações de OD apresentaram-se entre 7,40 e 7,71 mg L⁻¹ (mínimo de 7,07 mg L⁻¹ e máximo de 7,81 mg L⁻¹).

Na Fase II-b, para os filtros de AFL e de CAG, após a suspensão da inoculação da bactéria B9, observou-se que a variação de OD nos efluentes apresentou comportamento semelhante ao apresentado para os mesmos filtros durante a Fase II-a. Os efluentes apresentaram 50% das concentrações de OD entre 7,69 e 7,85 mg L⁻¹ (mínimo de 7,66 e máximo de 7,96) para o filtro de AFL e para os efluentes filtro

de CAG apresentaram 50% das concentrações de OD entre 7,71 e 7,88 mg L⁻¹ (mínimo de 7,67 e máximo de 7,94).

6 CONCLUSÕES

Para as condições de estudo aplicadas na Fase I de Pré-tratamento, com afluente com concentração média de MCs de $9,70 \mu\text{g L}^{-1}$ e turbidez média de $16,44 \text{ uT}$, pode-se concluir que:

- A filtração em AFL, AFR ou ALG sem ativação biológica apresentou limitada eficiência, com remoções máximas de 34% para MCs (para o filtro de ALG) e de 42% para turbidez (para o filtro de AFL), comprovando que seu elevado desempenho requer necessariamente, a associação de processos químicos como a coagulação ou biológicos com a formação de biofilme;
- Independentemente do tipo de material granular, todos os filtros ativados biologicamente (natural e específica com B9) foram após maturação, eficientes para remoção de MCs e produziram efluentes com valores residuais médios que variaram entre $0,08$ e $0,22 \mu\text{g L}^{-1}$ e qualidade compatível com a Portaria MS 2914 (BRASIL, 2011) em relação a este parâmetro;
- Os grânulos de ALG não se mostraram viáveis tecnicamente para uso associado à ativação biológica tendo sua conformação alterada ao longo do tempo ou ainda desintegrada;
- Para os filtros de AFL e AFR:
 - os tempos requeridos para ativação natural foram superiores (24 dias para o de AFL e 37 dias para o de AFR) aos requeridos para a ativação específica com B9 (4 dias para ambos os filtros);
 - após maturação, não houve diferenças expressivas em relação ao desempenho dos filtros para remoção de MCs e turbidez;
 - a duração da carreira inicial do filtro de AFL foi substancialmente menor (entre 16 e 21 d) quando comparada ao do filtro de AFR (entre 48 e 76 d) para os modos de ativação biológica aplicados.

Para as condições de estudo aplicadas na Fase II de Pós-tratamento, com afluente com concentração média de MCs de $10,10 \mu\text{g L}^{-1}$ e turbidez média de $0,43 \text{ uT}$, pode-se concluir que:

- os comportamentos dos filtros de AFL e de CAG, submetidos à ativação natural e específica com B9, foram similares e eficientes para remoção de MCs, produzindo efluentes com valores residuais médios que variaram entre 0,07 e 0,30 $\mu\text{g L}^{-1}$ e qualidade compatível com a Portaria MS 2914 (BRASIL, 2011) em relação a este parâmetro.

A suspensão da inoculação do microrganismo específico B9 não afetou o desempenho dos filtros de AFL e CAG em relação às remoções de MCs e de turbidez durante o período de monitoramento de 100 dias na Fase I de Pré-tratamento e de 30 dias na Fase II de Pós-tratamento.

Em relação aos parâmetros de caracterização complementar da atividade biológica, os efluentes dos filtros alimentados com AE-2 e AE-5 (ativação específica com B9) apresentaram valores médios mais reduzidos e maior variação nos valores de pH e de OD dos efluentes, quando comparados com as demais formas de ativação, tanto na Fase I - Pré-tratamento quanto na Fase II – Pós-Tratamento.

7 RECOMENDAÇÕES

- Investigar a influência de maiores espessuras de material granular em estudo de escala de bancada e sua influencia na formação do biofilme e desempenho dos biofiltros.
- Estudar a influência de carreiras de filtração mais longas ou da alimentação com concentrações mais elevadas de MCs a fim de avaliar diferenças da capacidade adsortivas do CAG empregado nos diferentes modos de ativação biológica empregados.
- Estudar a aplicação da bactéria B9 em escala piloto e sua influência na potabilidade da água.
- Investigar a aplicação em escala piloto da areia de filtro rápido em condições operacionais de filtração lenta (taxa de filtração) em relação a remoção de MCs e seu desempenho no tratamento de águas para o consumo humano.
- Caracterizar e quantificar o biofilme formado, visando a identificação dos microrganismos presentes e seu potencial em relação a remoção/biodegradação de MCs.

8 BIBLIOGRAFIA

AKTAS, Ö.; ÇEÇEN, F. Bioregeneration of activated carbon: A review. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 59, n.4, p. 257-272, jun. 2007.

ANVISA – Agência de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos"; fica revogada a Resolução RE nº 475, de 19 de março de 2002. **Diário Oficial [da] República do Brasil**, Brasília, DF, 02 de jun. 2003, seção 1, p. 56.

APHA; AWA; WEF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22 ed. Washington, DC: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation 2012. 1496 p.

AZEVEDO, S. M. F. O.; CARMICHAEL, W. W.; JOCHIMSEN, E. M.; RINEHART, K. L.; LAU, S.; SHAW, G.R.; EAGLESHAM, G.K.. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil. **Toxicology**, V. 181-182, n. 27, p. 441-446, dez. 2002.

BAÇAOUI, A; YAACOUBI, A.; DAHBI, A.; BENNOUMA, C., PHAN TAN LUU, R.; MALDONADO-HODAR, F. J. RIVERA-UTRILLA, J. MORENO-CASTILLA, C. Optimization of conditions for the preparation of activated carbons from olive-wastes cakes. **Carbon**, v. 39, p. 425-432, 2001.

BANSAL, R. C.; DONNET, J. B.; STOECKLI, H. F. **Active carbon**. New York: Marcel Dekker, 1988, 482 p.

BATISTA, M.A. **Estudo da imobilização de células de *Saccharomyces cerevisiae* em gel de alginato de cálcio no processo de fermentação alcoólica**. 2005 Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; MOLICA, R. Cianobactéria invasora. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 30, p. 82-90, jan./jul. 2003.

BORGES, R. M.; MINILLO, A.; LEMOS, E. G. M.; PRADO, H. F. A.; TANGERINO, E. P. Uso de filtros de carvão ativado granular associado a microrganismos para remoção de fármacos no tratamento de água de abastecimento. **Engenharia Ambiental e Sanitária**, v. 21, n.4, p. 709-720, out./dez. 2016.

BOURNE, D. G.; JONES, G. J.; BLAKELEY, R. L.; JONES, A.; NEGRI, A. P.; RIDDLES, P. Enzymatic pathway for the bacterial degradation of the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 11, p. 4086-4094, nov. 1996.

BOURNE, D. G.; RIDDLES, P.; JONES, G. J.; SMITH, W.; BLAKELEY, R. L. Characterisation of a gene cluster involved in bacterial degradation of cyanobacterial toxin microcystin LR. **Environmental Toxicology**, v. 16, n. 6, p. 523-534, nov. 2001.

BOURNE, D. G.; BLAKELEY, R. L.; RIDDLES, P.; JONES, G. J. Biodegradation of the cyanobacterial toxin microcystin-LR in natural water and biologically active sand filters. **Water Research**, Volume 40, n. 6, p. 1294-1302, mar. 2006.

BRANDÃO, C. C. S; SILVA, A. S. Remoção de cianotoxinas por adsorção em carvão ativado. In: PÁDUA, V. L. **Contribuição ao estudo da remoção de cianobactérias e microcontaminantes orgânicos por meio de técnicas de tratamento de água para consumo humano – Projeto PROSAB**. Rio de Janeiro: ABES, 2006, p. 417-467.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial [da] República do Brasil**, Brasília, DF, 12 dez. 2011. Seção 1, p. 39.

CALIJURI, M. C.; ALVES, M. S. A.; DOS SANTOS, A. C. A. **Cianobactérias e cianotoxinas em águas continentais**. São Carlos. Rima Editora, 2006.

CAMPOS, L. C.; SU, M. F. J.; GRAHAM, N. J. D.; SMITH, S. R. Biomass Development in Slow Sand Filters. **Water Research**, v. 36, p. 4543-4551, 2002.

CAMPOS, A.; VASCONCELOS, V. Molecular mechanisms of microcystin toxicity in animal cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 1, p. 268-287, jan. 2010.

CARMICHAEL, W. W. Toxins of freshwater algae. In: Tu, A. T. (Ed.). **Handbook of natural toxins**. Nova York, 1988. p. 57-75.

CARMICHAEL, W. W. Cyanobacterial secondary metabolites - the cyanotoxins. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 72, n. 6, p. 445-459, jun. 1992

CARMICHAEL, W. W. The toxins of cyanobacteria. **Scientific America**. v. 270, n.1, jan. 1994.

CARMICHAEL, W. W. The cyanotoxins. **Advances in Botanical Research**. V. 37, 1997.

CHARMICHAEL, W. W.; AZEVEDO, S. M. F. O.; AN, J. S.; MOLICA, R. J. R. JOCHEMSEN, E. M.; LAU, S.; RNEHART, K.; SHAW, G.; EAGLESHAM, G. K. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, n. 7, p. 663-668, jul. 2008.

CEÇEN, F. Activated Carbon. In: **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology**. p.1-34. Abr. 2014.

CHIEN, C. C.; KAO, C. M.; CHEN, C. W.; DONG, C. D.; WU, C. Y. Application of biofiltration system on AOC removal: Column and fields studies. **Chemosphere**, v. 71, n. 9, abr. 2008.

CHORUS, I.; BARTRAM, J. **Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management**. London: F & FN Spon, 1999.

CHOW, C. W.K.; DRIKAS, M.; HOUSE, J.; BURCH, M. D.; VELZEBOER, R. M. A. The impact of conventional water treatment processes on cells of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. **Water Research**, v. 33, n. 15, p. 3253-3262, out. 1999.

CODD, G. A. Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. **Ecological Engineering**, v. 16, n. 1, p. 51-60, out. 2000.

COHEN, Y. Biofiltration – the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 77, p. 257-274, maio 2002

CRUZ, A. A.; ANTONIOU, M. G.; HISKIA, A.; PELAEZ, M.; SONG, W.; O'SHEA, K. E.; HE, H.; DIONYSIOU, D. Can we effectively degrade microcystins? – Implications on human health. **Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 11. n. 1, p. 19-37, jan. 2011.

DI BERNARDO, L.; MATSUMOTO, T. Estudos entre filtros de fluxo ascendente e descendente com meio filtrante em areia utilizando água decantada como afluente. **Revista DAE**, v. 49, n. 157, p. 188-193, out/dez 1989.

DI BERNARDO, L. Water Supply Problems and Treatment Technologies in Developing Countries in South America. **J Water SRT Aqua**, v. 40, n. 3, Jun. 1990.

DI BERNARDO, L.; BRANDÃO, C. C.; HELLER, L. **Tratamento de águas de abastecimento por filtração em múltiplas etapas - Projeto PROSAB**. Rio da Janeiro: ABES, 1999, 114 p.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. São Carlos: Editora Rima, 2005, 2 ed., v. 2, 1556 p.

DI BERNARDO, L.; MINILLO, A.; DANTAS, A. Di B. **Florações de algas e cianobactérias: Suas influencias na qualidade da água e nas tecnologias de tratamento**. 1 ed. São Carlos: Editora LDiBe Ltda., 2010.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D.; VOLTAN, P. L. **Tratabilidade de água e resíduos gerados em estações de tratamento de água**. São Carlos: LdiBe, 2011, 454 p.

DOW, S. C.; SWOBODA, U. K. Cyanotoxins. In: WHITTON, B. A.; POTTS, M. (Eds.) **The ecology of cyanobacteria: Their diversity in time and space**. Kluwer Academic Publishers, Springer Netherlands, 2000. p. 614-627.

DUSSERT, B., VAN STONE, G. The biological active carbon process for water purification. **Water Engineering and Management**, v. 141, n. 12, p. 22-24, 1994.

DZIGA, D.; SWORZEN, M.; WLADYKA, B. WASYLEWSKI, M. Genetically engineered bacteria immobilized in alginate as an option of cyanotoxins removal. **International Journal of Science and Development**, v. 4, n. 4, p. 360-364, ago. 2013.

DZIGA, D.; LIZNIANSKA, M.; WLADYKA, B. Bioreactor study employing bacteria with enhanced activity toward cyanobacterial toxins microcystins. **Toxins**, v.6, n. 8, p. 2379-2392, ago. 2014

DRIKAS, M.; CHOW, C. W. K.; HOUSE, J. BURCH. Using coagulation, flocculation, and settling to remove toxic cyanobacteria. **Journal American Water Works Association**, v. 93, n. 2, p. 100-111, fev. 2001.

EDWARDS, C.; GRAHAM, D.; FOWLER, N.; LAWTON, L. A. Biodegradation of microcystins and nodularin in freshwaters. **Chemosphere**, v. 73, n. 8, p. 1315-1321, nov. 2008.

ELEUTERIO, L.; BATISTA, J. R. Biodegradation studies and sequencing of microcystin-LR degrading bacteria isolated from a drinking water biofilter and a fresh water lake. **Toxicon**, v. 55, n. 8, p. 1434-1442, jul. 2010.

ERBA, C. M. **Avaliação da remoção de compostos farmacológicos em filtro ecológico seguido de filtro de carvão ativado granular biologicamente ativo**. 2011. 131 fls. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Tecnologias Ambientais) – Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira/SP.

FARIAS, N. J. V. **Desempenho de filtros lentos, com diferentes períodos de amadurecimento, precedidos de pré-filtração em pedregulho no tratamento de águas contendo células tóxicas de *Microcystis aeruginosa***. 2011. 123 fls. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Universidade de Brasília, Brasília/DF.

FRANCISCO, A. A. **Avaliação da remoção de *Microcystis* sp. e microcistinas no tratamento por ciclo completo e adsorção em carvão ativado com avaliação ecotoxicológica**. 2014. 125 fls. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Edificações e Saneamento) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina/PR.

FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE. **Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano**. Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional da Saúde, 2003, 56 p.

FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE. **Potencial de florações de cianobactérias em um reservatório de abastecimento doméstico no estado do Espírito Santo (Reservatório Duas Bocas – Cariacica – ES)**. Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional da Saúde, 2007, 82 p.

GALVIS, G.; LATORRE, J.; VISHER, J. T. **Multi-stage filtration: na innovative water treatment technology**. The Hague: IRC, 1998, 165 p.

GAN, N.; SUN, X.; SONG, L. Activation of Nrf2 microcystin-LR provides advantages for liver cancer cell growth. **Chemical Research in Toxicology**, v. 23, n. 9, p. 1477-1484, set. 2010.

GEHRINGER, M. M. Microcystin-LR and okadaic acid-induced cellular effects: a dualistic response. **FEBS Letters**, v. 557, n. 1-3, p. 1-8, jan. 2004.

GORHAM, P. R. Toxic algae. In: JACKSON, D. F. (ed.). **Algae and Man**. D. F. New York: Plenum Press, p. 307-36, 1964.

GRAHAM, N. J. D. Removal of Humic Substances by Oxidation/Biofiltration Processes – A Review. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 9, p. 141-148, 1999.

GRÜTZMACHER, G.; BÖTTCHER, G.; CHORUS, I.; BARTEL, H. Removal of microcystins by slow sand filtration. **Environmental Toxicology**, v. 17, n. 4, p. 386-394, 2002.

GUERRA, A. B.; TONUCCI, M. C. CEBALLOS, B. S. O.; GUIMARÃES, R. C.; LOPES, W. S.; AQUINO, S. F.; LIBÂNIO, M. Remoção de microcistina-LR de águas eutrofizadas por clarificação e filtração seguidas de adsorção em carvão ativado granular. **Engenharia Ambiental e Sanitária**, v. 20, n. 4, p. 603-612, out/dez 2015.

HAARHOFF, J.; CLEASBY, J. L. Biological and physical mechanisms in slow sand filtration. In: LOGSDON, G. S. (Ed) **Slow sand filtration**. New York: American Society of Civil Engineers, 1991, p. 34-98.

HARADA, K.; KIYOMI, T.; WATANABE, M. F. KONDO, F. Stability of microcystins from cyanobacteria – III Effect of pH and temperature. **Phycologia**, v. 35, n. 6, p. 83-88, nov. 1996.

HESPAÑHOL, I. Filtração lenta. In: AZEVEDO NETTO, J. M. **Técnica de abastecimento e tratamento de água**. São Paulo: CETESB, 1987.

HIROOKA, E.Y. ; HIROOKA, E.Y.; ONO, E. Y. S.; YAMASHITA TAKABAYASHI, C. R.; ISHIKAWA, A.T. et al., 2015. SAFETY AND QUALITY IN AGRICULTURAL PRODUCT CHAIN IN BRAZIL. In: Ayman Amer Eissa. (Org.). **Food Production and Industry**. 1ed.Rijeka, Croatia: InTech Europe, 2015

HITZFIELD, B. C.; HÖGER, S. J.; DIETRICH, D. M. Cyanobacterial toxins: removal during drinking water treatment, and human risk assessment. **Environmental Health Perspect**, v. 108, n. 1, p. 113-122, mar. 2008.

HO, L.; MEYN, T.; KEEGAN, A.; HOEFEL, D.; BROOKES, J.; SAINT, C. P.; NEWCOMBE, G. Bacterial degradation of microcystin toxins within a biologically active sand filter. **Water Research**, v. 40, n. 4, p. 768-774, fev. 2006.

HO, L.; HOEFEL, D.; SAINT, C. P.; NEWCOMBE, G. Degradation of microcystin-LR through biological sand filters. **Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management**, v. 11, n.3, jul. 2007.

HO, L.; LAMBLINY, P.; BUSTAMANTE, H.; DUKEN, P.; NEWCOMBE, G. Application of powdered activated carbon for the adsorption of cylindrospermopsin and microcystin toxins from drinking water supplies. **Water Research**, v. 45, n. 9, p. 2954-2964, abr. 2011.

HO, L.; TANG, T.; MONIS, P. T.; HOEFEL, D. (a) Biodegradation of multiple cyanobacterial metabolites in drinking water supplies. **Chemosphere**, v. 87, n. 10 p. 1149-1154, jun. 2012.

HO, L.; TANG, T.; HOEFEL, D.; VIGNEWARAM, B. (b) Determination of rate constants and half-lives for simultaneous biodegradation of several cyanobacterial metabolites in Australian source waters. **Water Research**, v. 46, n. 17, p. 5735-5746, nov. 2012.

HO, L.; SAWADE, E.; NEWCOMBE, G. Biological treatment options for cyanobacteria metabolite removal - A review. **Water Research**, v. 46, n. 5, p. 1536-1548, abr. 2012.

HUISMAN, L; WOOD, W. E. **Slow Sand Filtration**. Geneva: World Health Organization, 1974.

INMETRO. **DOQ-CGCRE-008**: Orientação sobre validação de métodos analíticos. Fev. 2010.

ITO, E.; KONDO, F.; HARADA, K. Hepatic necrosis in aged mice by oral administration of microcystin – LR. **Toxicon**, v. 35, n. 2, p. 231-239, fev. 1997.

IUPAC Recommendations. **Pure and Applied Chemistry**, v. 57, n. 4, p. 603-619, 1985.

JONES, G. J.; BOURNE, D.G.; BLAKELEY, R. L.; DOELLE, H. Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by aquatic bacteria. **Natural Toxins**, v. 2, n 4, p. 228–235, jul. 1994.

JURCZAK, T.; TARCZYNSKA, M.; IZUDORCZYK, K.; MANKIEWICZ, J.; ZALEWSKI, M.; MERILUOTO, J. Elimination of microcystins by water treatment processes – examples from Slejow Reservoir, Poland. **Water Research**, v. 39, n. 11, p. 2394-2406, jun. 2005.

KATO, H.; IMANISH, S. Y.; TSUJI, K.; HARADA, K. Microbial degradation of cyanobacterial cyclopeptides. **Water Research**, Volume 41, n°. 8, pp. 1754-1762, abr. 2007.

KAWAHIGASHI, F. **Aplicabilidade do pós-tratamento de lixiviado de aterro sanitário por adsorção em carvão ativado granular e avaliação ecotoxicológica**. 2012. 155 fls. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Edificações e Saneamento) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina/PR.

KEIJOLA, A. M.; HIMBERG, K.; ESALA, A. L.; SIVONEN, K.; HIISVIRTA, L. Removal of Cyanobacterial Toxins in Water Treatment Processes: Laboratory and Pilot-Scale Experiments. **Toxicity Assessment: An International Journal**, v. 3, p. 643-656, 1988.

KURIAMA, F. **Biodegradação de microcistinas e biocontrole de cianobactérias por microrganismos em águas destinadas ao consumo humano**. 2012. 89 fls. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Edificações e Saneamento) - Universidade Estadual de Londrina – Londrina/PR.

KURIAMA, F.; KURODA, E. K.; GUERGOLETTI, K. B.; GARCIA, S.; NOBREGA, G. M. A.; TSUJI, K.; HARADA, K.; HIROOKA, E. Y. Potencial de biodegradação de microcistinas por microrganismos. **Engenharia Ambiental e Sanitária**, v. 17, n. 2, p. 181-186, abr./jun. 2012.

LAMBERT, T. W.; HOLMES, C. F. B.; HRUDEY, S. E. Adsorption of microcystin-LR by activated carbon and removal in full scale water treatment. **Water Research**, v. 30, n. 6, p. 1411-1422, jun. 1996

LEMES, G. A. F.; KERSANACH, R.; PINTO, L. S.; DELLAGOSTIN, O. A.; NUNES, J.; MATHIESSEN, A. Biodegradation of microcystins by aquatic Burkholderia sp. from south Brazilian coastal lagoon. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 69, n. 3, p. 358-365, mar. 2008.

LIANG, CH.; CHIANG, PC.; CHANG, EE. Modeling the behaviors of adsorption and biodegradation in biological activated carbon filters. **Water Research**, v. 41, n. 15, p. 3241-3250, ago. 2007.

LOGSDON, G.; KOHNE, R.; ABEL, S.; LABONDE, S. Slow filtration for small water systems. **Journal of environmental engineering and science**, v. 1, n. 5, p. 339-348, set. 2002.

MATSUMOTO, T. **Comparação entre a filtração ascendente e descendente em água decantada utilizando areia como meio filtrante**. 1987. 102 fls. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos – USP, São Carlos/SP.

MÅTENSSON, J.; JABUR, H. S. **Mishaps linked to incorrect use of slow sand filters**. In: Gimber, R; Graham, N. J. D.; COLLINS, M. R. Recent progress in slow sand and alternative biofiltration processes. London: IWA Publishing, 2006, p. 78-82.

MCDOWALL, B.; HOEFEL, D.; NEWCOMBE, D.; SAINT, C. P.; HO, L. Enhancing the biofiltration of geosmin of seeding sand filter columns with a consortium of geosmin-degrading bacteria. **Water Research**, v. 43, n. 2, p. 433-440, fev. 2009.

- MELO, A. E. S. **Avaliação da filtração lenta na remoção de células de *Cylindrospermopsis raciborskii* e saxitoxinas**. 2006. 178 fls. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Universidade de Brasília, Brasília/DF.
- METCALF, J. S.; CODD, G. A. Cyanotoxins. In: WHITTON, B. A. **Ecology of cyanobacteria II: Their diversity in time and space**. Springer, 2012, p. 651-675.
- MINILLO, A.; ISIQUE, W. D.; PRADO, H. F. A.; PAIXÃO, D. A. A.; DMITROV, M. R.; LEMOS, E. G. M.; TANGERINO, E. P. Remoção de (D-Leu¹)-Microcistina-LR por filtros de carvão com atividade biológica em escala de bancada. **Revista DAE**, v. 180, p.12-19, maio 2009.
- MINILLO, A.; FREITAS, S. C.; ISIQUE, W. D.; PRADO, H. F. A.; DMITROV, M. R.; PAIXÃO, D. A. A.; LEMOS, E. G. M.; TANGERINO, E. P. Biodegradação da hepatotoxina (D-Leu¹)-microcistina-LR por bactérias presentes em filtros biológicos de carvão. **Engenharia Ambiental e Sanitária**, v. 18, n. 3, p. 205-214, jul./set. 2013.
- MOODY, C.; GARRET, B.; HOLLER, E. Pilot Investigation of Slowsand Filtration and Reverse Osmosis Treatment of Central Arizona Project Water. **Advanced Water Treatment Research Program Report No. 90**. U. S. Department of the Interior Bureau of Reclamation, ago. 2002.
- MORAIS, A. A. **Avaliação de técnicas convencionais de tratamento de águas para o consumo humano na remoção de cianobactérias e cianotoxinas e processos oxidativos para remoção de microcistinas**. 2012. 149 fls. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Universidade de Federal de Viçosa, Viçosa/MG.
- MUR, L. R.; SKULBERG, O. M.; UTIKLEN, H. Cyanobacteria in environment. In: CHORUS, I.; BARTRAM, J(Ed.). **Toxic cyanobacteria: A guide to their public health consequences, monitoring and management**. Londres: F & FN Spon, 1999.
- MURUYAMA, T.; KATO, K.; YOKOYAMA, A.; TANAKA, T.; HIRAISHI, A.; PARK, H. D. Dynamics of microcystin-degrading bacteria in mucilage of *Microcystis*. **Microbial Ecology**, v. 46, n. 2, p. 279-288, 2003.
- NAGATA, S.; TSUTSUMI, T.; HASEGAWA, A.; YOSHIDA, F.; UENO, Y. Enzyme immunoassay for direct determination of microcystin in environmental water. **Journal of Association Official Analyst Chemistry Intenational**, v.80, p.408-417, 1997.
- OLIVER, R. L.; GANF, G. G. Freshwater blooms. In: WHITTON, B. A.; POTTS, M. (Eds.) **The ecology of cyanobacteria: Their diversity in time and space**. Kluwer Academic Publishers, Springer Netherlands, 2000. p. 150-183.
- SÁ, J. C. **Influência das características da camada filtrante e na taxa de filtração na eficiência de remoção de *Microcystis aeruginosa* e microcistina na filtração lenta em areia**. 2006. Tese (Doutorado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Universidade de Brasília, Brasília/DF.
- SALATI, D. S. **Desempenho da filtração lenta com diferentes períodos de amadurecimento no tratamento de água com elevadas densidades de células tóxicas de *Microcystis aeruginosa***. 2010. 125 fls. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Universidade de Brasília, Brasília/DF.
- SCHOPF, J. W. The fossil Record: Trace the roots of cyanobacterial lineage. In: WHITTON, B. A.; POTTS, M. (Eds.) **The ecology of cyanobacteria: Their diversity in time and space**. Kluwer Academic Publishers, Springer Netherlands, 2000. p. 13-32.
- SCHOLZ, M., MARTIN, R. J. Control of bio-regenerated granular activated carbon by preadsheet modelling. **Chemical Technology and Biotechnology**, v. 71, n. 3, p. 253–261, mar. 1998.
- SEREDYNSKA-SOBECKA, B. S.; TOMASZEWSKA, M.; JANUS, M.; MORAWSKI, A. W. Biological activation of carbon filters. **Water Research**, v. 40, n. 2, p. 355-363, jan. 2006.

SERVAIS, P.; BILLEN, G.; LAURENT, Y.; LEVI, Y.; RANDON, G.; Studies of BDOC Dynamics in the Drinking Water Distribution System of the Northern Parisian Suburbs. **Revue Des Sciences de L'eau**, n. 5, p 69-89, 1992.

SILVA, M. C. C. P. **Tratamento de efluente secundário, usando a microalga *Chrorella sp.* imobilizada em matriz de alginato de cálcio**. 2011. 79 fls. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental). Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande/PB.

SIMPSON, D. R. Biofilm processes in biologically active carbon water purification. **Water Research**, v. 42, n. 12, p. 2839-2848, jun. 2008.

SIVONEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial toxins. In: CHORUS, I.; BARTRAM, J.(Eds.). **Toxic cyanobacteria: A guide to their public health consequences, monitoring and management**. Londres: F & FN Spon, 1999.

SMITH, M. J.; SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G. K.; HO, L; BROOKES, J. D. Elucidating the Factors Influencing the Biodegradation of Cylindrospermopsin ind Drinking Water Sources. **Environmental Toxicology**, v. 3, n. 3, p. 413-421, jun. 2008.

SOMDEE, T.; WIBULOUTAI, J.; SOMDEE, T.; SOMDEE, A. Biodegradation of cyanobacterial hepatotoxin [Dha⁷] microcystin-LR within a biologically active sand filter. **Water Science & Technology: Water Supply**, v. 14, n. 4, p. 672-680, jun. 2014.

STEELE, M. E, J.; EVANS, H. L.; STEPHENS, J.; RACHWAL, A. J. CLARKE, B. A. **Dissolved oxygen issues with a granular activated carbon sandwich™ slow sand filtration**. In: Gimber, R; Graham, N. J. D.; COLLINS, M. R. Recent progress in slow sand and alternative biofiltration processes. London: IWA Publishing, 2006, p. 83-94.

STEWART, I.; SCHLUTER; SHAW, G. R. Cyanobacterial lipopolysaccharides and human health – a review. **Environmental Health: A global Access Science Source**, v. 5, n. 7, mar. 2006.

SWIATKOWSKI, A. Industrial carbon adsorbents. In: DABROWSKI, A. **Studies in surface science and catalysis: Adsorption and its applications in industry and environmental protection vol I – applications in industry**, v. 120, 1999, p. 69-94.

TANGERINO, E. P.; CAMPOS, L. C.; BRANDÃO, C. C. S. Filtração lenta. In: PÁDUA, V. L . **Contribuição ao estudo da remoção de cianobactérias e microcontaminantes orgânicos por meio de técnicas de tratamento de água para consumo humano – Projeto PROSAB**. Rio de Janeiro: ABES, 2006, p. 236-273.

TABUCHI Y, TAKABAYASHI-YAMASHITA CR, MIGUEL TA, ISHIKAWA NK, MACIEL LF, HARADA K-I, HIROOKA EY, KAWAMURA O. Generation of Monoclonal Antibodies Producing Hybridomas for Detection of Microcystins in Environmental Water by ic-ELISA. In: **International Conference on the Water Crisis in the Asia-Pacific Region**; 12 February 2015; Kagawa, Japan, 2015.

TAKEUCHI, Y.; MOCHIDZUKI, K.; MATSUNOBU, N.; KOJUMA, R. MOTOHASHI, H. YOSHIMOTO, S. Removal of organic substances from water by ozone treatment followed by biological activated carbon treatment. **Water Science and Tecnology**, v. 35, n 7. P. 171-178, 1997.

TEIXEIRA, M. R.; ROSA, M. J. Comparing Dissolved Air Flotation and Conventional Sedimentation to Remove Cyanobacterial Cells of *Microcystis aeruginosa* Part I: The key operating conditions. **Separation and Purification Technology**, v. 52, n. 1, p. 84–94, nov. 2006.

TSUJI, K.; ASAKAWA, M. ANZAI, Y.; SUMINO, T. HARADA, K. Degradation of microcystins using immobilized microorganism isolated in na eutrophic lake. **Chemosphere**, v. 65, n. 1, p117-124, set. 2006.

VERAS, L. R.; DI BERNARDO, L. Tratamento de água de abastecimento por meio da tecnologia de filtração em múltiplas etapas – FIME. **Engenharia Ambiental e Sanitária**. V. 13, n. 1, p. 109-116, jan./mar. 2008.

- VELTEN, S.; BOLLER, M.; KÖSTER, O.; HELBING, J.; WEILENMANN, H-U, HAMMES, F. Development of biomass in a drinking water granular active carbon (GAC) filter. **Water Research**, v. 45, n. 19, p.6347-6354, dez. 2011.
- WANG, H.; HO, L.; LEWIS, D.; BROOKES, J. D.; NEWCOMBE, G. Discrimination and assessing adsorption and biodegradation removal mechanisms during granular activated carbon filtration of microcystins toxins. **Water Research**, v. 41, n. 18, p. 4262-4270, out. 2007.
- WANG, Q.; XIE, P.; CHEN, J.; LIANG, G. Distribution of microcystin in various organs (heart, liver, intestine, gonad, brain, kidney and lung) of Wistar rat via intravenous injection. **Toxicol**, v. 52, n. 6, p. 721-727, nov. 2008
- WESTRICK, J. A.; SZALG, D. C.; SOUTHWELL, B. J; SINCLAIR, J. A review of cyanobacteria and cyanotoxin removal/inactivation in drinking water treatment. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 397, n. 5, p. 1705-1714, jul. 2010.
- WHEELER, D.; BARTRAM, J.; LLOYD, B. J. The removal of viruses by filtration through sand. In: GRAHAM, M. J. D. **Slow sand filtration: recent developments in water treatment technology**. Chichester: Elles Horwood, 1988, p. 207-229.
- WHITTON, B. A.; POTTS, M. Introduction of the cyanobacteria. In: _____. **The ecology of cyanobacteria: Their diversity in time and space**. Kluwer Academic Publishers, Springer Netherlands, 2000. p. 1-11.
- WHITTON, B. A.; POTTS, M. Introduction of the cyanobacteria. In: WHITTON, B. A. **Ecology of cyanobacteria II: Their diversity in time and space**. Springer , 2012, p. 1-11.
- ZEARLEY, T. L.; SUMMERS, R. S. Removal of trace organic micropollutants by drinking water biological filters. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 17, p. 9412-9419, ago. 2012.
- ZHAO, Y.; XIE, P.; ZHANG, X. Oxidative stress response after prolonged exposure of domestic rabbit to a lower dosage of extracted microcystins. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 17, n. 2, p. 195-199, mar. 2009.
- ZHANG, S., HUCK, P. Parameter estimation for biofilm processes in biological water treatment. **Water Research**, v. 30, n.2, p. 456-464, fev. 1996.

APÊNDICES

APÊNDICE I – DADOS DA CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA ÁGUA DE ESTUDO DO RIO TIBAGI

Tabela 15 - Dados da caracterização da água bruta da ETA Tibagi

	Parâmetro			
	T (°C)	pH	Turbidez (uT)	OD (mg L ⁻¹)
06/05/16	25,0	6,8	21,7	8,9
23/05/16	23,3	7,0	23,9	8,9
30/05/16	20,1	7,2	25,4	8,7
06/06/16	16,4	7,2	21,5	9,7
13/06/16	22,3	7,1	20,1	8,5
20/06/16	23,4	6,8	20,2	7,9
27/06/16	23,5	6,8	22,8	8,4
04/07/16	22,0	7,2	17,2	8,6
11/07/16	24,3	6,9	10,6	7,8
18/07/16	21,5	6,8	32,2	9,0
25/07/16	23,6	7,2	13,4	8,6
01/08/16	23,8	6,6	14,5	8,3
08/08/16	22,9	7,0	11,6	9,0
15/08/16	23,1	7,0	12,6	8,6
22/08/16	19,5	6,7	32,2	8,8
29/08/16	20,5	7,0	17,4	9,0
05/09/16	20,0	7,3	20,6	8,4
12/09/16	20,0	7,2	20,7	8,0
19/09/16	22,5	7,2	15,4	8,3
26/09/16	23,6	7,1	9,6	8,1
03/10/16	25,0	6,9	7,6	8,0
10/10/16	23,4	7,0	7,7	8,1
17/10/16	22,4	7,0	7,6	8,9
24/10/16	22,0	7,2	16,7	8,5
31/10/16	25,6	7,5	18,8	7,8
07/11/16	25,6	7,1	11,6	7,9
07/11/16	25,6	7,1	11,6	7,9
22/11/16	25,6	7,1	4,9	x
13/12/16	25,6	7,1	4,9	x
21/12/16	24,8	7,3	3,9	7,5
19/01/17	22,1	7,0	20,5	7,6
06/02/17	23,7	6,9	25,5	7,4
23/02/17	x	7,3	16,9	x

Tabela 16 - Dados da caracterização da água filtrada antes da etapa de cloração da ETA Tibagi

	Parâmetro			
	T (°C)	pH	Turbidez (uT)	OD (mg L⁻¹)
07/11/16	25,0	6,5	0,6	7,5
22/11/16	25,0	6,5	0,6	7,5
13/12/16	25,0	6,5	0,6	7,5
21/12/16	24,8	7,1	0,4	7,6
19/01/17	21,8	6,0	0,4	7,7
06/02/17	25,0	6,9	0,4	7,4
21/12/16	24,8	7,1	0,4	7,6