

Utilização de carvão ativado biológico para o tratamento de água para consumo humano

Use of biological activated carbon for drinking water treatment

Ana Paula Campos Westphalen¹, Gertrudes Corção², Antônio Domingues Benetti³

RESUMO

Este artigo de revisão aborda o uso do carvão ativado biológico no tratamento das águas para consumo humano. O tratamento biológico tem aplicação na redução da instabilidade da água potável causada por matéria orgânica biodegradável e compostos inorgânicos reduzidos presentes em baixas concentrações. A instabilidade tem efeitos prejudiciais à qualidade da água potável, tais como o crescimento de bactérias e a formação de biofilmes na rede de distribuição. O artigo discute as causas e consequências da instabilidade, as medidas de avaliação da matéria orgânica, os mecanismos de formação e controle de biofilmes no carvão ativado granular e as técnicas de avaliação microbiológica e da biodiversidade nos biofilmes. Além disso, analisa-se também a integração do carvão ativado biológico com outros processos usados no tratamento de água para consumo humano.

Palavras-chave: carvão ativado biológico; biofiltração; instabilidade da água; tratamento biológico da água.

ABSTRACT

This review article portrays the use of biological activated carbon for drinking water treatment. Biological treatment has applications in the reduction of drinking water instability caused by the presence of low levels of biodegradable organic matter and reduced inorganic compounds. Instability causes deterioration in the quality of drinking water, such as bacterial growth and biofilm formation in the water distribution system. The article discusses the causes and consequences of instability, the measures used for organic matter evaluation, the formation and control mechanisms of biofilms in granular activated carbon and the techniques used for microbiological and biodiversity assessment of biofilms. In addition, it analyzes the integration of biological activated carbon with other processes used for drinking water treatment.

Keywords: biological activated carbon; biofiltration; drinking water instability; drinking water biological treatment.

INTRODUÇÃO

A presença de pequenas concentrações de matérias orgânica e inorgânica reduzidas na água potável causa a instabilidade biológica da água (RITTMANN & SNOEYINK, 1984). Bactérias utilizam estes compostos como doadores de elétrons em reações de oxidação-redução, obtendo-se energia e promovendo seu crescimento em redes de distribuição de água. A instabilidade biológica apresenta efeitos adversos na qualidade da água potável, incluindo o crescimento de bactérias, a formação de biofilmes na rede de distribuição de água, a produção de compostos malcheirosos resultantes do metabolismo microbiano e a corrosão de

canalizações (RITTMANN & HUCK, 1989; URFER *et al.*, 1997; HAMMES *et al.*, 2010).

O tratamento biológico da água para consumo humano objetiva reduzir a instabilidade da água por meio de oxidação da matéria orgânica biodegradável e compostos inorgânicos presentes na forma reduzida, tais como ferro, manganês, enxofre e amônia. Exemplos de processos para o tratamento de água, em que microrganismos atuam, são a filtração em margem, a filtração lenta e o carvão ativado biológico (CAB). O primeiro exemplo tem sido utilizado em cidades ao longo do rio Reno por mais de 100 anos (SONTHEIMER, 1980). A filtração lenta é o processo mais antigo de purificação da água, tendo

¹Doutoranda em Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos pelo Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); Mestre em Meio Ambiente, Saneamento e Recursos Hídricos pelo Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Minas Gerais - Belo Horizonte (MG), Brasil.

²Professora do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da UFRGS; Doutora em Biologia Molecular pela Glasgow University - Escócia, Reino Unido.

³Professor do Instituto de Pesquisas Hidráulicas da UFRGS; Doutor em Engenharia Ambiental pela Cornell University; Pós-doutor do Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology (EAWAG) - Dübendorf, Suíça.

Endereço para correspondência: Ana Paula Campos Westphalen - Avenida Bento Gonçalves, 9.500 - Agronomia - 91501-970 - Porto Alegre (RS), Brasil - E-mail: campos1984@hotmail.com

Recebido: 23/11/14 - **Aceito:** 27/01/16 - **Reg. ABES:** 143108.

sido inicialmente empregada na Escócia e Inglaterra, no século XIX (HUISMAN & WOOD, 1974). Carvão ativado granular é usado tradicionalmente como um adsorvente de contaminantes orgânicos hidrofóbicos presentes em baixas concentrações na água, tais como pesticidas e compostos causadores de gosto e odor. Contudo, estudos realizados a partir do final da década de 1970 constataram a presença de atividade biológica no carvão ativado (SONTHEIMER *et al.*, 1978; McCARTY *et al.*, 1979). A partir desses estudos iniciais, a biofiltração em carvão ativado passou a ser o tema de investigação por seu potencial de reduzir a instabilidade da água e decompor substâncias orgânicas recalcitrantes.

Este artigo de revisão trata do processo de CAB e da remoção de matéria orgânica biodegradável por microrganismos aderidos aos grânulos. O artigo está organizado em cinco seções principais. A primeira delas introduz a motivação para o estudo deste tópico. Na segunda, são discutidas as principais causas da instabilidade biológica e suas consequências na qualidade da água potável. A terceira seção descreve as principais medidas de avaliação da matéria orgânica presente na água para consumo humano. A quarta parte é específica ao CAB, apresentando os princípios do processo, os fatores que influenciam e controlam o crescimento de biofilmes e os métodos de avaliação da biomassa crescida em biofilmes. A quinta seção discute a inserção do processo de CAB ao tratamento de água para consumo humano. Por fim, nas considerações finais, realiza-se uma integração do que foi apresentado na revisão.

CAUSAS E CONSEQUÊNCIAS DA INSTABILIDADE BIOLÓGICA NA ÁGUA POTÁVEL

A instabilidade biológica decorre da presença de pequenos teores de matéria orgânica biodegradável na água potável. Outros compostos que contribuem para a instabilidade incluem as formas reduzidas de nitrogênio (amônia e nitrito), ferro (Fe^{+2}), manganês (Mn^{+2}), enxofre (H_2S , HS^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) e gás hidrogênio (H_2). A matéria orgânica e as formas reduzidas destes compostos servem como doadores de elétrons em reações de oxidação-redução mediadas por microrganismos. Com estas reações, os microrganismos obtêm energia e elétrons para crescimento celular. Este metabolismo, que ocorre dentro da rede de distribuição de água, é prejudicial à qualidade da água potável, pois resulta em aumento do número de bactérias heterotróficas e de coliformes na água. Embora não necessariamente patogênico, o número de bactérias poderá estar em desacordo com os padrões de qualidade da água estabelecidos na legislação. A maior parte das bactérias que oxidam a matéria orgânica e compostos reduzidos cresce aderida às paredes das canalizações, formando biofilmes. Eventualmente, elas se desprendem das paredes e são levadas pela água potável.

Outro problema associado à instabilidade biológica dentro do sistema de distribuição de água é a formação de subprodutos do metabolismo bacteriano, como os compostos malcheirosos geosmina e metilisorboreol (MIB). Actinomicetos, microrganismos comumente encontrados em biofilmes crescidos em paredes de canalizações, são conhecidos por produzirem estes compostos.

A corrosão e a solubilização de metais são efeitos deletérios da instabilidade biológica. Snoeyink e Jenkins (1980) citam que biofilmes aderidos a superfícies metálicas favorecem a corrosão pelo aumento do potencial eletroquímico. Os metais, solubilizados pela corrosão, podem formar complexos com grupos funcionais como ácidos carbóxicos, aminoácidos e fenóis, os quais estão presentes em compostos que causam a instabilidade.

No tratamento da água, cloro é dosado de modo a permitir um residual na rede de distribuição. O objetivo disso é controlar o crescimento de bactérias na rede, as quais têm origem na instabilidade da água potável. Contudo, esta solução favorece a formação de uma série de subprodutos halogenados tóxicos, formados em reações do cloro com a matéria orgânica (RECKHOW & SINGER, 2011).

MEDIDAS DE AVALIAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA NO TRATAMENTO BIOLÓGICO DE ÁGUAS PARA CONSUMO HUMANO

A matéria orgânica presente em água para consumo humano pode ter origem em três fontes (THOMPSON *et al.*, 2007): matéria orgânica natural (MON); matéria introduzida por atividades humanas e compostos adicionados ou formados por reações químicas durante o tratamento e a distribuição da água.

A avaliação agregada da matéria orgânica presente em águas para consumo humano é feita por meio da concentração de carbono orgânico total (COT). Instrumentos analíticos modernos podem detectar aquelas de até $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ (APHA *et al.*, 2012). O COT subdivide-se em carbono orgânico dissolvido (COD) e particulado (COP). O primeiro é medido em amostra de água que passa através de um filtro de $0,45 \mu\text{m}$. Já o COP é a fração retida no filtro.

Nem todos os compostos orgânicos medidos pelo COT são biodegradáveis. O COD biodegradável (CODB) mensura a fração de COD que pode ser degradada por metabolismo microbiano. O carbono orgânico assimilável (COA) mede aquela do COD que é biodegradável e rapidamente assimilada por microrganismos. Segundo Escobar e Randall (2001), o COA e o CODB representam, respectivamente, entre 0,1 e 9,0% e 10 e 30% do COD de água para consumo humano. A formação de COA é influenciada pelo tipo de oxidante usado no tratamento da água. Ramseier *et al.* (2011) mediram a formação de COA mediante oxidação com ozônio, dióxido de cloro, cloro, permanganato e ferrato. Ozônio e ferrato proporcionaram a

maior formação de COA, enquanto que os outros oxidantes produziram pouco ou nenhum COA. CODB e COA têm sido usados como indicadores do potencial de crescimento das bactérias na rede de distribuição de água.

O COD pode ser fracionado de acordo com diferentes métodos. Por exemplo, a cromatografia líquida com detector de carbono orgânico separa o COD em cinco classes com base na hidrofobicidade, no peso molecular e na carga, medindo a concentração de cada uma (HAMMES *et al.*, 2010). Outro método consiste em fracioná-lo em quatro classes: ácidos muito hidrofóbicos; ácidos levemente hidrofóbicos; ácidos hidrofílicos e hidrofílicos neutros. A separação é realizada por adsorção em diferentes resinas (CHOW *et al.*, 2004). A predominância de uma ou outra forma afeta algumas etapas do tratamento, como a coagulação e a desinfecção (CRC, 2005). O COD ainda pode ser classificado em volátil ou não volátil, baseado no seu potencial de purga.

A absorção da radiação ultravioleta no comprimento de onda em 254 nm (UV_{254}) pode ser empregada como um parâmetro representativo de COT, COD ou precursores de trihalometanos. Isso ocorre porque compostos orgânicos com estrutura aromática ou ligações duplas de carbono são absorvidos pela radiação ultravioleta a 254 nm. Outra medida é a absorvância específica à radiação ultravioleta (ASUV), definida como a razão entre a absorção UV_{254} e o COD. Substâncias húmicas, que constituem a maior parte da matéria orgânica natural, possuem estrutura aromática e ligações duplas C=C. Por esta razão, possuem ASUV superiores a outras matérias orgânicas naturais, constituindo-se um bom indicador do potencial de formação dos subprodutos da desinfecção (EDZWALD & TOBIASON, 2011).

CARVÃO ATIVADO BIOLÓGICO

Princípios do tratamento biológico de água para consumo humano

O tratamento biológico é realizado por microrganismos que utilizam enzimas para catalisar reações de oxidação-redução, as quais resultam na biodegradação da matéria orgânica e de compostos reduzidos. Por meio destas reações, os microrganismos obtêm energia para manutenção e reprodução celular. Para que os microrganismos possam realizar as reações de biodegradação, devem ter acesso contínuo a um doador de elétrons, a um acceptor de elétrons e a nutrientes. O doador de elétrons pode ser a matéria orgânica ou os compostos inorgânicos reduzidos. O acceptor é um composto que se encontra na forma oxidada e pode receber elétrons do doador, sendo o mais usual o oxigênio (O_2), mas, em sua ausência, compostos como nitrato (NO_3^-) e sulfato (SO_4^{2-}) podem exercer este papel. A transferência de elétrons

do doador para o acceptor é um processo que envolve múltiplas etapas, oportunizando a captura de elétrons em unidades discretas de trifosfato de adenosina (ATP).

As baixas concentrações de matéria orgânica em águas para consumo humano selecionam naturalmente um grupo de heterotróficos chamados de oligotróficos. Estes crescem aderidos a superfícies sólidas, formando biofilmes. Os oligotróficos sobrevivem em ambientes com baixas concentrações de matéria orgânica. Por exemplo, Namkung e Rittmann (1987) mostraram que a concentração de $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ de COD suportou um crescimento de biofilme oligotrófico capaz de degradar os compostos odoríferos MIB e geosmina, além de fenol e naftaleno.

A concentração mínima de substrato que suporta a biomassa em condições permanentes é dada pela Equação 1 (RITTMANN & HUCK, 1989), cuja obtenção é feita igualando-se os termos que representam a síntese de novas células e o decaimento endógeno na equação que indica a taxa líquida de crescimento bacteriano, como notado na Equação 2 (METCALF & EDDY, 2014).

$$S_{\min} = \frac{K_s \cdot b}{Y \cdot k - b} \quad (1)$$

$$r_x = \frac{Y \cdot k \cdot X \cdot S}{K_s + S} - b \cdot X \quad (2)$$

Onde:

r_x = taxa líquida da síntese de novas células [$\text{g células.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$];

Y = coeficiente de produção celular verdadeiro [$\text{g microrganismos.g}^{-1}$ substrato];

k = máxima taxa específica de utilização do substrato [$\text{g substrato.g}^{-1}$ microrganismos. d^{-1}];

X = concentração de biomassa ativa [$\text{g microrganismos.L}^{-1}$];

S = concentração do substrato [$\text{g substrato.L}^{-1}$];

K_s = constante de meia-velocidade do substrato [$\text{g substrato.L}^{-1}$];

b = coeficiente de decaimento específico endógeno [$\text{g microrganismos.g}^{-1}$ microrganismos. d^{-1}].

Se a concentração do substrato for inferior a S_{\min} , a biomassa não poderá ser sustentada, uma vez que a perda por decaimento é maior que a síntese. O parâmetro S_{\min} é crítico no tratamento biológico de água para consumo humano. Para garantir uma água estável, as concentrações do substrato deverão estar sempre próximas a S_{\min} .

Os termos 'filtração biologicamente ativa' ou 'biofiltração' são geralmente empregados para expressar o processo no qual microrganismos se acumulam na superfície de um meio granular, como areia, antracito

ou carvão ativado, em decorrência da disponibilidade de substratos biodegradáveis. Quando carvão ativado granular é usado como meio suporte para o crescimento de organismos, o processo denomina-se CAB ou 'carvão ativado biologicamente ativo'. Neste caso, além da atividade biológica, a adsorção e a filtração contribuem para a remoção de contaminantes da água. Biofilme refere-se aos agregados microbianos que crescem aderidos às superfícies sólidas, associados a uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares – SPE (FLEMMING & WINGENDER, 2010).

Mecanismos de remoção dos substratos orgânicos no carvão ativado biológico

Estudos têm demonstrado que as colunas de carvão ativado granular (CAG) continuam removendo matéria orgânica mesmo quando sua capacidade de adsorção se encontra esgotada (VELTEN *et al.*, 2011). Isto se deve à atividade das comunidades microbianas que colonizam a superfície externa e os macroporos das partículas de CAG (SERVAIS *et al.*, 1994). Filtros de CAB passam por um processo de transição entre adsorção e biodegradação. O período para isso se estende entre três a nove meses e se caracteriza por uma diminuição da capacidade adsorptiva do carvão e um concomitante aumento de atividade biológica (SUMMERS *et al.*, 2011). Inicialmente, a maioria da remoção da matéria orgânica dissolvida ocorre por adsorção, seguindo-se uma combinação de adsorção e biodegradação e finalizando com predominância da biodegradação (DUSSERT & VAN STONE, 1994). Na operação de longo prazo, ocorre também a biorregeneração, definida como a biodegradação da matéria orgânica previamente adsorvida ao CAG (AKTAŞ & ÇEÇEN, 2007).

De acordo com Rittmann *et al.* (2012), o parâmetro fundamental de dimensionamento dos processos de tratamento com biofilme é a taxa de aplicação de carga no meio suporte com biofilme, que é definido pela Equação 3.

$$J = \frac{Q \cdot S_i}{a \cdot V} \quad (3)$$

Onde:

J = fluxo do substrato no biofilme, ou seja, a taxa de aplicação de carga superficial no meio suporte com biofilme [M.L⁻².T⁻¹];

Q = vazão [L³.T⁻¹];

S_i = concentração do substrato no afluente [M.L⁻³];

V = volume do reator [L³];

a = área superficial específica [L².L⁻³].

A cinética da degradação biológica em biofilmes apresenta três aspectos relevantes (RITTMAN & HUCK, 1989). O primeiro deles é

que a concentração de substrato não é a mesma para todos os organismos no biofilme, uma vez que a utilização dele e a sua difusão dentro do biofilme ocorrem de maneira simultânea. O segundo aspecto relevante é que a resistência ao transporte de massa existente na interface biofilme/líquido diminui a taxa global de reação. O terceiro diz respeito às condições permanentes, ou não, no biofilme, as quais são definidas como as condições nas quais o crescimento do biofilme em função do uso de substrato é igual à perda de massa do biofilme por causa da respiração e separação. Um biofilme em condições permanentes tem valores únicos de concentração, fluxo de substrato e espessura do biofilme.

A biodegradação é menos eficiente na remoção de COD do que a adsorção, porém tem a vantagem de atuar na parte mais problemática do COD, que é a sua parcela biodegradável, responsável pela instabilidade da água potável (HAMMES *et al.*, 2010). É possível aumentar a fração biodegradável do COD por meio de oxidação prévia. Por exemplo, o uso de ozônio antes do filtro estimula a atividade biológica no carvão ativado granular. Isso decorre da ação de ozônio sobre as moléculas recalcitrantes de alto peso molecular, tornando-as menores e mais biodegradáveis. Embora a concentração de COD permaneça a mesma, há um aumento nas concentrações de CODB e COA. A combinação entre oxidação por ozônio e filtro de carvão biológico pode reduzir a concentração de COD entre 35 e 40% (CRITTENDEN *et al.*, 2012), ou 70 e 80% da CODB (HAMMES *et al.*, 2010). O fato de que nem todo o CODB é removido decorre do limitado tempo de contato entre microrganismos e matéria orgânica, uma vez que filtros de CAB operam com velocidades de filtração da ordem de 5 a 15 m.h⁻¹ (HAMMES *et al.*, 2011; CRITTENDEN *et al.*, 2012).

Summers *et al.* (2011) mostraram que a atividade biológica em filtros de carvão ativado granular apresenta eficiência levemente superior àquela medida em areia e antracito, além de atenuar melhor as variações de concentrações no afluente ao filtro. A Tabela 1 inclui os resultados observados por Wang *et al.* (1995) ao remover parâmetros orgânicos em água de manancial superficial (rio Ohio), com o uso de diferentes meios filtrantes. A água era decantada, pré-ozonizada e com tempo de contato em leito vazio (TCLV) de 9,2 minutos. As amostras foram tomadas após cinco a nove meses da operação dos filtros, todos com desenvolvimento de atividade biológica. Os resultados deste estudo indicaram que as colunas com CAG foram maiores aos outros meios na remoção de orgânicos. Entre os CAG testados, aqueles com predominância de microporos tiveram resultados superiores aos de meso e macroporos.

Além de diminuir a instabilidade da água e seus efeitos negativos, organismos crescidos em CAG são capazes de degradar compostos orgânicos individuais problemáticos, como os compostos odoríferos MIB e geosmina, a cianotoxina microcistina, os subprodutos da desinfecção e os agrotóxicos (CRITTENDEN *et al.*, 2012).

Formação, crescimento e controle de biofilmes em carvão ativado granular

Biofilmes desenvolvem-se por meio de processos de aderência, crescimento, desprendimento e morte de microrganismos (PALMER & WHITE, 1997; HAMMES *et al.*, 2011). O grau de desenvolvimento

do biofilme depende das propriedades da superfície de aderência (a rugosidade) e da composição físico-química da água, tais como concentração e características do carbono orgânico, nutrientes, pH e temperatura. A Figura 1 ilustra o processo de desenvolvimento do biofilme em uma superfície, tendo matéria orgânica natural e sua

Tabela 1 - Remoção dos parâmetros orgânicos presentes em água decantada e pré-ozonizada, em diferentes meios filtrantes (%).

Parâmetro	Antracito	Areia	Carvão ativado granular		
			Microporoso	Mesoporoso	Macroporoso
COT	16	20	29	27	21
COA-XON	39	43	51	47	42
PFTHM	23	23	40	34	27
PFXOT	28	25	52	44	31

COT: carbono orgânico total; COA: carbono orgânico assimilável; XON: halogênios orgânicos naturais; PFTHM: potencial de formação de trihalometanos; PFXOT: potencial da formação de halogênios orgânicos totais.

Fonte: Wang *et al.* (1995).

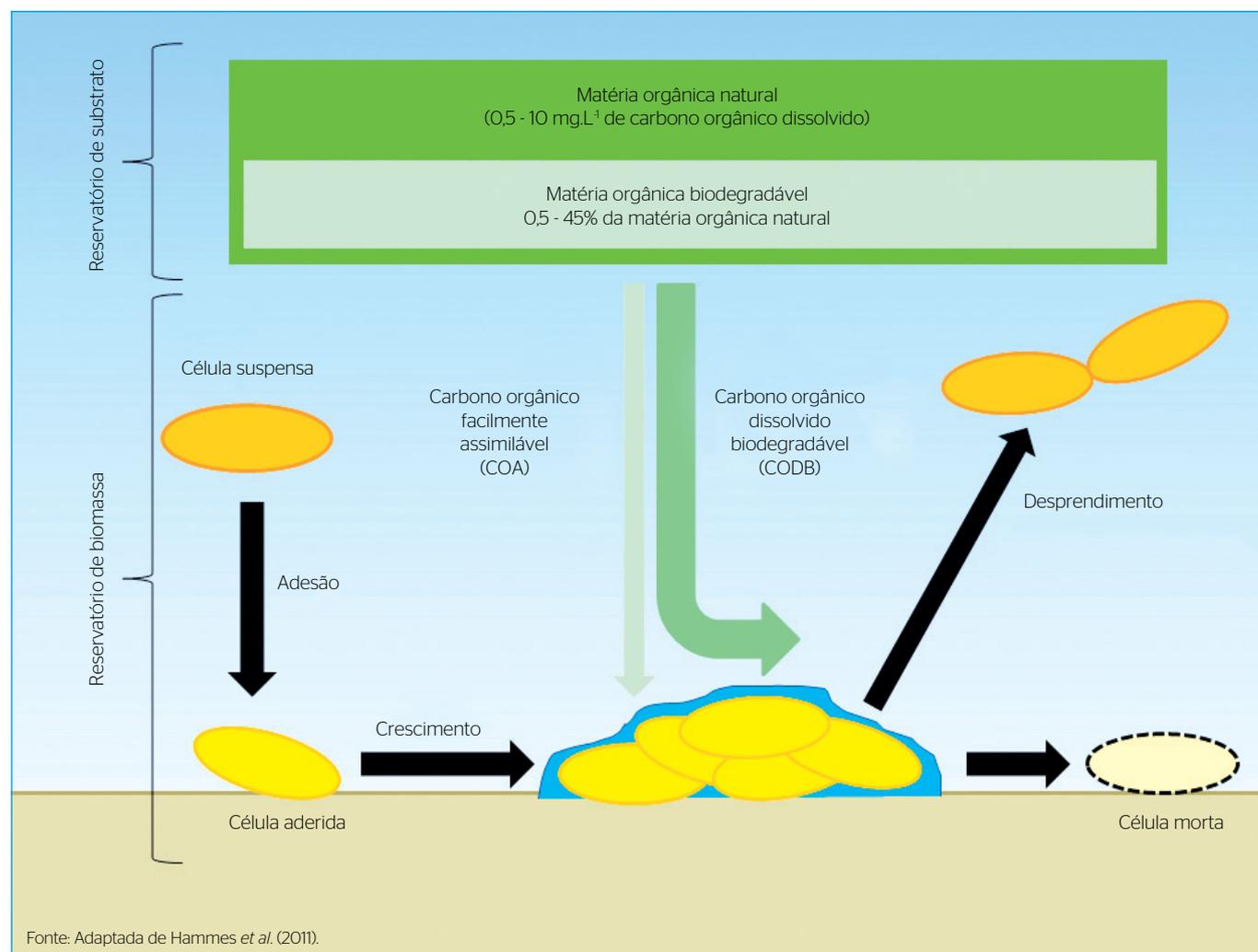


Figura 1 - Formação do biofilme e consumo de carbono.

fração biodegradável como substratos para crescimento bacteriano. Inicialmente, bactérias suspensas aderem-se à superfície sólida pela excreção de SPE. Os organismos passam a metabolizar os nutrientes presentes na fase líquida e crescem, formando agregados unidos pelas SPE. Eventualmente, parte daqueles associados ao biofilme desprende-se para a água, enquanto outros morrem por predação e outros fatores.

Um biofilme bem estruturado contém não somente bactérias, mas também fungos, protozoários e outros eucariotos. Bactérias indígenas normalmente têm vantagem sobre as patogênicas em ambientes oligotróficos, como os encontrados em água para consumo humano. Bactérias patogênicas são mais competitivas em ambientes com concentrações de nutrientes altas. No tratamento biológico de água para consumo humano, o objetivo é manter uma população microbiana benigna, capaz de remover o CODB e reduzir a instabilidade da água (SOBECKA *et al.*, 2006; HAMMES *et al.*, 2011).

Além da disponibilidade de CODB na fase líquida, o crescimento do biofilme também está associado ao consumo de substrato inicialmente adsorvido na superfície do carvão. Este processo, denominado de biorregeneração, depende de fatores como a reversibilidade da adsorção, as propriedades do substrato aderido, o tamanho e a porosidade do carvão, a concentração da biomassa e o processo de ativação do carvão (SPEITEL & DiGIANO, 1987; KLIMENKO *et al.*, 2003).

Tem sido demonstrado que a atividade do biofilme aumenta com a sua espessura, até atingir um nível crítico, que geralmente situa-se entre 50 e 500 μm (BOYLE *et al.*, 1999; BRANDA *et al.*, 2005). Acima dessa espessura, a difusão de nutrientes e de oxigênio para os microrganismos do biofilme torna-se limitante (LAZAROVA & MANEM, 1995). Por outro lado, um biofilme excessivamente fino não proporciona a remoção adequada de substratos (SCHOLZ & MARTIN, 1997).

Um dos desafios na aplicação do CAB para a produção de água potável é controlar o crescimento excessivo de microrganismos ativos no biofilme, pois pode haver colmatação, perda de carga excessiva e anaerobiose (WALKER & WEATHERLEY, 1999; SIMPSON, 2008). Como resultado, há uma perda na eficiência de remoção das substâncias orgânicas, picos de turbidez no efluente, além de uma concomitante redução do OD e do pH. Este problema expõe os consumidores de água ao risco de doenças infecciosas associadas ao avanço de microrganismos no sistema da distribuição de água potável (KEINANEN *et al.*, 2004).

Várias estratégias têm sido propostas para controlar o crescimento de biofilmes no CAB. Walker e Weatherley (1999) citam a retrolavagem e a injeção de ar para remover o excesso de biomassa. Embora uma fração da biomassa bacteriana fixada no CAG possa ser eliminada durante a retrolavagem, o biofilme é geralmente resistente

ao cisalhamento, permanecendo aderido aos grânulos de carvão. Em experimentos com retrolavagem, Yunan *et al.* (2011) mediram 29% de perda da biomassa durante o período de formação do biofilme, diminuindo para 12% no estado estacionário. Wang *et al.* (1995) propuseram o controle da quantidade de carbono orgânico assimilável e fósforo disponíveis aos microrganismos, por meio do manejo da vazão de alimentação, reduzindo-a ou aumentando-a de acordo com a composição da água.

Técnicas de avaliação microbiológica e da biodiversidade no biofilme

Por muito tempo, a caracterização microbiológica da água potável baseou-se em métodos convencionais de cultivo, como a contagem de heterotróficas em placas e o plaqueamento seletivo para patógenos. Variações destes métodos têm sido adotadas como indicadores da qualidade microbiológica de água por mais de 100 anos (ALLEN *et al.*, 2004). Porém, a contagem de heterotróficas em placas e os outros métodos tradicionais de cultivo apresentam limitações, sendo a principal delas a discrepância entre a contagem de células cultiváveis e totais (BERNEY *et al.*, 2008). Normalmente, a água potável contém ordens de magnitude de bactérias heterotróficas a mais do que o detectado com o método de contagem em placas (HAMMES *et al.*, 2008). Da mesma forma, as técnicas convencionais de microbiologia para identificar espécies de microrganismos presentes no biofilme têm limitações, já que não são capazes de cultivar microrganismos autótrofos, dentre outros que apresentam metabolismos mais exigentes.

A colonização dos filtros de CAG por bactérias foi inicialmente observada por meio de técnicas como a microscopia eletrônica de varredura, as convencionais de contagem bacteriana e determinação da concentração do ATP (SERVAIS *et al.*, 1994). Com o advento da Biologia Molecular, a investigação da composição de biofilme associado ao CAG teve um grande avanço, sendo possível identificar gêneros bacterianos envolvidos na dinâmica da biodegradação de matéria orgânica. Técnicas como a hibridação *in situ* fluorescente (FISH), a determinação da concentração do ATP, a citometria de fluxo (FCM), a reação em cadeia da polimerase (PCR), a eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE) e a metagenômica são atualmente essenciais ao avanço dos estudos de biofilmes. A seguir, serão apresentadas algumas dessas técnicas que já vêm sendo empregadas com sucesso na avaliação de biofilmes associados ao CAG.

Hibridação *in situ* fluorescente

O uso da FISH (fluorescent *in situ* hybridization, em inglês) permite quantificar e identificar, por meio da microscopia de fluorescência, microrganismos em diversos ambientes sem a necessidade de se

fazer a extração do DNA. Os organismos podem ser identificados, dentre uma população mista, por apresentarem uma região complementar de seu RNA ribossômico à sonda utilizada. Cada célula “ativa” contém entre 10^3 e 10^5 ribossomos e parte desses constitui os RNAs ribossomais (RNAr 5S, RNAr 16S e RNAr 23S) (AMANN & FUCHS, 2008). Dependendo das sondas empregadas, a FISH pode ser empregada para detectar e quantificar os microrganismos de diferentes níveis filogenéticos.

Zhang *et al.* (2013) avaliaram o funcionamento de um filtro CAG semeado com cinco espécies de bactérias provenientes de outro biologicamente ativo. Com o emprego da FISH, os autores constataram que, no dia 180 de operação do filtro, as bactérias semeadas representavam 93% da contagem total. Outros autores que também utilizaram FISH para acompanhar o desenvolvimento de populações microbianas em biofilmes foram: Manz *et al.* (1999), Araya *et al.* (2003), Kindaichi *et al.* (2004) e Di Gioia *et al.* (2009).

Concentração do trifosfato de adenosina

O ATP é aplicado como moeda de energética por todos os organismos, desde as bactérias até os seres humanos. Por isto, é considerado um parâmetro adequado para a quantificação da biomassa ativa em sistemas biológicos. A análise do ATP requer um equipamento analítico simples, é rápida e tem limite de detecção baixo (VELTEN *et al.*, 2007). Foi descrito por Velten *et al.* (2007) um método para a estimativa da biomassa ativa aderida ao CAG. O método combina a determinação direta do ATP sobre as partículas de CAG com o valor específico de ATP por célula bacteriana. Os resultados são então convertidos para concentrações de ATP, por meio de uma curva de calibração. Em seguida, a concentração de ATP bacteriana é transformada em um número correspondente de bactérias usando um fator de conversão específico. Com este método, Velten *et al.* (2007) investigaram a formação de biofilme em filtro piloto de CAG, tratando-se água do Lago Zurique (Suíça). Os dados finais indicaram que tal método pode ser usado para determinar a biomassa ligada ao CAG aos biofilmes em desenvolvimento ou em estado estacionário. Outros estudos que investigaram biofilmes aderidos ao CAG também adotaram essa metodologia para quantificar microrganismos (MAGIC-KNEZEV & VAN DER KOOIJ, 2004; BOON *et al.*, 2011; LAUTENSCHLAGER *et al.*, 2013; ORIOL *et al.*, 2013).

Citometria de fluxo

Um método rápido para quantificar microrganismos é a citometria de fluxo, realizado por um equipamento denominado citômetro. Essa técnica permite a quantificação de células viáveis e mortas numa população de microrganismos (SILVA *et al.*, 2004). A suspensão celular que é injetada no citômetro atravessa uma câmara, na qual encontra um feixe de radiação perpendicular ao fluxo. Pelo controle da espessura

de solução da amostra, o fluxo ocorre em regime laminar, com passagem de uma célula por vez. Podem ser detectadas até 10.000 células por segundo. Tal técnica analisa as células individualmente, permitindo a detecção de uma variedade de estados fisiológicos existentes na população (NEBE-VON-CARON *et al.*, 2000). A citometria de fluxo foi usada por Velten *et al.* (2011) para realizar a contagem de células de microrganismos presentes no efluente de um filtro CAG operado em escala-piloto. Prest *et al.* (2014) também a usaram para monitorar as alterações da população microbiana em um sistema de distribuição de água potável com filtro CAG.

Reação em cadeia da polimerase

A PCR consiste na amplificação de um segmento do DNA que seja de interesse no estudo, como o gene 16S rRNA (SAIKI *et al.*, 1985; MULLIS & FALLONA, 1987). Sua principal vantagem é possibilitar o estudo de comunidades *in situ*, como em biofilmes. Minillo *et al.* (2013) observaram a biodegradação de microcistinas por microrganismos em filtros de CAG. Amostras de biomassa, coletadas nos filtros e submetidas à extração de DNA, à técnica de PCR e ao sequenciamento em um sequenciador de capilar, indicaram domínio de quatro gêneros de bactérias (*Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Cupriavidus* e *Stenotrophomonas*), e duas famílias (*Burkholderiaceae* e *Oxalobacteraceae*). Outros autores têm utilizado a técnica de PCR para investigar a constituição das populações microbianas em biofilmes (LYAUTEY *et al.*, 2005; BABBIT *et al.*, 2009; YUNAN *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2013).

Eletroforese em gel de gradiente desnaturante

Na DGGE, a dupla fita de DNA é submetida à eletroforese em gel de poliacrilamida com um gradiente de agente desnaturante (ureia ou formamida). Nestas condições, ocorre a separação das moléculas de DNA, resultando em segmentos denominados domínios. A DGGE analisa os produtos da PCR conforme as suas sequências de pares de bases, e não as diferenças no tamanho dos produtos. Moléculas de DNA com o mesmo tamanho, mas com sequência diferente de nucleotídeos, apresentam comportamento eletroforético diferente quando expostas ao gradiente de agentes desnaturantes. A sequência de nucleotídeos de um fragmento de DNA definirá a posição no gradiente em que a fita dupla irá se desnaturar, passando a DNA fita simples e interrompendo sua migração no gel (ROSADO & DUARTE, 2002).

A DGGE, aliada ao sequenciamento, permite a determinação da diversidade genética de comunidades microbianas e a identificação filogenética de seus membros. Esta técnica tem sido empregada em trabalhos associados à investigação de comunidades microbianas presentes em biofilmes. Hoefel *et al.* (2006), com base nas sequências de genes de 16S rRNA detectadas por DGGE e posterior

sequenciamento, identificaram três bactérias que formavam um consórcio responsável pela biodegradação da geosmina. Boon *et al.* (2011) investigaram, por DGGE, a diversidade de espécies em um filtro piloto CAG que recebia água do Lago Zurique. Outros autores que usaram DGGE para analisar comunidades microbianas em biofilmes incluem Lyautey *et al.* (2005), Babbit *et al.* (2009) e Lautenschlager *et al.* (2013).

Metagenômica

A metagenômica permite estudar os genomas de microrganismos de um nicho ecológico, sem a necessidade de fazer culturas individuais. O metagenoma, por sua vez, é o genoma coletivo da microbiota total encontrada em um determinado hábitat. Por meio da metagenômica, o DNA microbiano pode ser utilizado para compreensão da fisiologia e da genética de organismos não cultiváveis (HANDELSMAN, 2004). Assim como outras ferramentas de Biologia Molecular, tal técnica tem sido usada para investigar a composição de comunidades microbianas em biofilmes.

Lautenschlager *et al.* (2014) examinaram a composição e a abundância da comunidade microbiana em filtros de areia lento, rápido e CAG e seus respectivos efluentes, em uma estação de tratamento de água. Os resultados indicaram que a concentração da biomassa variou de $2 \text{ a } 5 \times 10^{15}$ em todos os filtros. Baseado em mais de 400 pirosequenciamentos dos genes 16S rRNA, os mesmos autores verificaram táxons semelhantes nos três biofiltros e em seus respectivos efluentes, predominando *Proteobacteria*, *Planctomycetes*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Nitrospira* e *Chloroflexi*. Porém, as razões entre os táxons nos biofiltros eram diferentes, variando entre 50 e 60%.

INTEGRAÇÃO/APLICAÇÕES DO CARVÃO ATIVADO BIOLÓGICO NO TRATAMENTO DE ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO

O tratamento biológico em águas para consumo humano tem tido maior aplicação em países europeus, seja pela filtração em margem ou pela filtração lenta em areia ou carvão ativado (MOEL *et al.*, 2006). Rittmann e Huck (1989) apresentaram exemplos de uso da biofiltração na Holanda, Alemanha, França, Suíça e Inglaterra. Uma legislação mais restritiva, relativa ao controle de subprodutos da desinfecção, de microcontaminantes orgânicos e melhoria da qualidade estética da água, tende a favorecer o uso do tratamento biológico da água. Isto se deve ao seu potencial de diminuir a instabilidade da água potável, reduzindo o recrescimento de microrganismos na rede de distribuição da água e demanda de cloro residual, além da degradação de compostos orgânicos problemáticos, tais como geosmina e microcistinas (URFER *et al.*, 1997; TAKEUCHI *et al.*, 1987).

Efluentes de filtros CAB geralmente mostram número de bactérias superior ao afluente ao filtro, em função do desprendimento de organismos associados ao biofilme (SERVAIS *et al.*, 2005). Assim, a pós-desinfecção é recomendada para garantir a qualidade microbiológica da água. Embora não seja regra geral, algumas estações de tratamento de água na Europa distribuem água tratada biologicamente sem pós-desinfecção. Por exemplo, a estação de tratamento de água Leiduin, em Amsterdan, substituiu a pós-desinfecção por filtros lentos de areia cobertos. A água bruta, contudo, recebe um tratamento extensivo, constituído por coagulação-floculação-sedimentação, filtração rápida em areia, filtração em dunas, reservação subterrânea entre 60 dias e 1 ano, aeração, abrandamento, ozonização, adsorção em carvão ativado e filtração lenta (MOEL *et al.*, 2006). A estação de tratamento de água Lengg de Zurique emprega pré-ozonização, ajuste de pH, filtração rápida, ozonização, carvão ativado granular biológico e filtração lenta em areia, e não há pós-desinfecção (PRONK & KAISER, 2008).

O pré-tratamento ao filtro de CAB é recomendado com o objetivo de remover partículas em suspensão e matéria orgânica. O seu grau dependerá do manancial de água e das características da água bruta (ELDER & BUDD, 2011). Quando ozônio é utilizado como oxidante ou desinfetante no tratamento da água, há a formação de compostos biodegradáveis de baixo peso molecular, incluindo aldeídos e ácidos orgânicos. Estes tenderão a se degradar na rede de distribuição, ocasionando o crescimento bacteriano e a formação de biofilmes em tal local. Por esta razão, a ozonização é frequentemente seguida por filtração biológica para produzir água mais estável (RECKHOW & SINGER, 2011).

Embora a remoção de microrganismos não seja o objetivo principal, o estudo de Hijnen *et al.* (2010) demonstrou que o CAB reduziu a concentração dos protozoários *Cryptosporidium parvum* e *Giardia lamblia* em 1,3 a 2,7 unidades logarítmicas. Contudo, fagos MS2 não foram removidos, e *Escherichia coli* apresentou redução de 0,1 a 1,1 unidades logarítmicas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento biológico de água para consumo humano diminui a instabilidade da água, caracterizada principalmente pela presença de matéria orgânica em baixas concentrações. Os benefícios de uma água mais estável incluem a redução do recrescimento de bactérias, da formação de biofilmes e de corrosão na rede de distribuição. Além disso, decresce a necessidade dos residuais de desinfetantes, minimizando a formação de subprodutos tóxicos derivados de reações entre o desinfetante e a matéria orgânica. Os biofiltros podem degradar microcontaminantes problemáticos, como os compostos causadores de gosto e

odor (MIB e geosmina), a cianotoxina microcistina e os hormônios, como o estradiol.

A instabilidade da água pode ser causada pela presença de matéria orgânica e/ou de compostos inorgânicos reduzidos, como amônia. Este artigo focou-se na discussão do uso de CAB como técnica para reduzir a instabilidade da água causada pela presença de matéria orgânica em baixas concentrações. No CAB, a matéria orgânica e os nutrientes adsorvidos ao carvão permitem o desenvolvimento de atividade biológica que emprega a matéria orgânica biodegradável responsável pela instabilidade da água como doador de elétrons em reações de oxidação-redução. Uma vez estabelecido o biofilme, a matéria orgânica na água é consumida pelos microrganismos à medida que se difunde pelo biofilme. Em paralelo, ocorre o processo de bioregeneração do carvão ativado, por meio do uso da matéria orgânica adsorvida. Desta maneira, a atividade biológica em CAG estende o uso do carvão por um período maior do que aquele no qual apenas a adsorção é considerada.

As técnicas de Biologia Molecular permitem conhecer a constituição das comunidades microbianas que formam os biofilmes associados

ao carvão. É possível avaliar a resposta dos microrganismos às cargas de poluentes presentes na água, à dinâmica de desenvolvimento e controle do biofilme e à biodegradação de contaminantes por sua parte. O biofilme ideal deve apresentar uma espessura que seja suficiente para realizar a biodegradação e que não cause colmatção e excessiva perda de carga no filtro. Um melhor conhecimento sobre as atividades e a composição de microrganismos que crescem em biofilmes associados aos grânulos de carvão ativado permitirá um melhor aproveitamento da técnica CAB ao tratamento de água para consumo humano.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelo suporte financeiro deste trabalho por meio da Chamada Pública MCT/MCidadesFINEP/Ação Transversal Saneamento Ambiental e Habitação – 7/2009, projeto “Estudo para melhoria do desempenho da adsorção em carvão ativado para remoção de contaminantes químicos”.

REFERÊNCIAS

- AKTAŞ, Ö. & ÇEÇEN, F. (2007) Bioregeneration of activated carbon: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 59, n. 4, p. 257-272.
- ALLEN, M.J.; EDBERG, S.C.; REASONER, D.J. (2004) Heterotrophic plate count bacteria - what is their significance in drinking water? *International Journal of Food Microbiology*, v. 92, n. 3, p. 265-274.
- AMANN, R. & FUCHS, B.M. (2008) Single-cell identification in microbial communities by improved fluorescence *in situ* hybridization techniques. *Nature Reviews Microbiology*, v. 6, n. 5, p. 339-348.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION - AWWA; WATER ENVIRONMENT FEDERATION - WEF. (2012) *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 22nd ed. Washington, DC.: APHA.
- ARAYA, R.; TANI, K.; TAKAGI, T.; YAMAGUCHI, N.; NASU, M. (2003) Bacterial activity and community composition in stream water and biofilm from an urban river determined by fluorescent *in situ* hybridization and DGGE analysis. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 43, n. 1, p. 111-119.
- BABBITT, C.W.; PACHECO, A.; LINDNER, A.S. (2009) Methanol removal efficiency and bacterial diversity of an activated carbon biofilter. *Bioresource Technology*, v. 100, n. 24, p. 6207-6216.
- BERNEY, M.; VITAL, M.; HULSHOFF, I.; WEILENMANN, H.U.; EGLI, T.; HAMMES, F. (2008) Rapid, cultivation-independent assessment of microbial viability in drinking water. *Water Research*, v. 42, n. 14, p. 4010-4018.
- BOON, N.; PYCKE, B.F.G.; MARZORATI, M.; HAMMES, F. (2011) Nutrient gradients in a granular activated carbon biofilter drives bacterial community organization and dynamics. *Water Research*, v. 45, n. 19, p. 6355-6361.
- BOYLE, J.D.; DODDS, I.; LAPPIN-SCOTT, H.M.; STOODLEY, P. (1999) Limits to growth and what keeps a biofilm finite. In: BAYSTON, R.; BRADING, M.; GILBERT, P.; WALKER, J. & WIMPENNY, J.W.T. (Eds.) *Biofilms: the good, the bad and the ugly*. Cardiff, United Kingdom: BioLine. p. 303-316.
- BRANDA, S.S.; VIK, Å.; FRIEDMAN, L.; KOLTER, R. (2005) Biofilms: the matrix revisited. *Trends in Microbiology*, v. 13, n. 1, p. 20-26.
- CHOW, C.W.K.; FABRIS, R.; DRIKAS, M. (2004) A rapid fractionation technique to characterize natural organic matter for the optimization of water treatment processes. *Journal of Water Supply: Research and Technology - Aqua*, v. 53, n. 2, p. 85-92.
- COOPERATIVE RESEARCH CENTRE FOR WATER QUALITY AND TREATMENT - CRC. (2005) *Natural organic matter: understanding and controlling the impact on water quality and water treatment processes*. Salisbury, South Australia: CRC.
- CRITTENDEN, J.C.; TRUSSELL, R.R.; HAND, D.W.; HOWE, K.J.; TCHOBANOGLOUS, G. (2012) *Water treatment: principles and design*. 3rd ed. Hoboken, N.J.: Wiley.
- DI GIOIA, D.; SCIUBBA, L.; BERTIN, L.; BARBERIO, C.; SALVADORI, L.; FRASSINETTI, S.; FAVA, F. (2009) Nonylphenol polyethoxylate degradation in aqueous waste by the use of batch and continuous biofilm bioreactors. *Water Research*, v. 43, n. 12, p. 2977-2988.

- DUSSERT, B. & VAN STONE, G. (1994) The biological active carbon process for water purification. *Water Engineering & Management*, v. 141, n. 12, p. 22-24.
- EDZWALD, J.K. & TOBIASON, J.E. (2011) Chemical principles, source water composition, and watershed protection. In: EDZWALD, J.K. (Ed.) *Water quality and treatment: a handbook on drinking water*. 6th ed. New York: McGraw-Hill/American Water Works Association, chapter 3.
- ELDER, D. & BUDD, G.C. (2011) Overview of water treatment processes. In: EDZWALD, J.K. (Ed.) *Water quality and treatment: a handbook on drinking water*. 6th ed. New York: McGraw-Hill/American Water Works Association, chapter 5.
- ESCOBAR, I.C. & RANDALL, A.A. (2001) Assimilable organic carbon (AOC) and biodegradable dissolved organic carbon (BDOC): complementary measurements. *Water Research*, v.35, n. 18, p. 4444-4454.
- FLEMMING, H.C. & WINGENDER, J. (2010) The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, v. 8, p. 623-633.
- HAMMES, F.; BERGER, C.; KÖSTER, O.; EGLI, T. (2010) Assessing biological stability of drinking water without disinfectant residuals in a full-scale water supply system. *Journal of Water Supply: Research and Technology - Aqua*, v. 59, n. 1, p. 31-40.
- HAMMES, F.; BERNEY, M.; WANG, Y.Y.; VITAL, M.; KOSTER, O.; EGLI, T. (2008) Flow-cytometric total bacterial cell counts as a descriptive microbiological parameter for drinking water treatment processes. *Water Research*, v. 42, n. 1-2, p. 269-277.
- HAMMES, F.; VELTEN, S.; EGLI, T.; JUHNA, T. (2011) Biotreatment of drinking water. In: MOO-YOUNG, M. (Ed.) *Comprehensive biotechnology*. 2nd ed. Amsterdam, Holland: Elsevier, p. 517-530.
- HANDELSMAN, J. (2004) Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 68, n. 4, p. 669-685.
- HIJNEN, W.A.M.; SUYLEN, G.M.H.; BAHLMAN, J.A.; BROUWER-HANZENS, A.; MEDEMA, G.J. (2010) GAC adsorption filters as barriers for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water treatment. *Water Research*, v. 44, n. 4, p. 1224-1234.
- HOEFEL, D.; HO, L.; AUNKOFER, W.; MONIS, P.T.; KEEGAN, A.; NEWCOMBE G.; SAINT, C.P. (2006) Cooperative biodegradation of geosmin by a consortium comprising three gram-negative bacteria isolated from the biofilm of a sand filter column. *Letters in Applied Microbiology*, v. 43, n. 4, p. 417-423.
- HUISMAN, L. & WOOD, W.E. (1974) *Slow sand filtration*. Geneva: World Health Organization.
- KEINANEN, M.; MARTIKAINEN, P.; KONTRO, M. (2004) Microbial community structure and biomass in developing drinking water biofilms. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 50, n. 3, p. 183-191.
- KINDAICHI, T.; ITO, T.; OKABE, S. (2004) Ecophysiological interaction between nitrifying bacteria and heterotrophic bacteria in autotrophic nitrifying biofilms as determined by microautoradiography-fluorescence *in situ* hybridization. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 70, n. 3, p. 1641-1650.
- KLIMENKO, N.; SMOLIN, S.; GRECHANYK, S.; KOFANOV, V.; NEVYNNA, L.; SAMOYLENKO, L. (2003) Bioregeneration of activated carbons by bacterial degraders after adsorption of surfactants from aqueous solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 230, n. 1-3, p. 141-158.
- LAUTENSCHLAGER, K.; HWANG, C.; LIU, W.T.; BOON, N.; KOSTER, O.; VROUWENVELDER, H.; EGLI, T.; HAMMES, F. (2013) A microbiology-based multi-parametric approach towards assessing biological stability in drinking water distribution networks. *Water Research*, v. 47, n. 9, p. 3015-3025.
- LAUTENSCHLAGER, K.; HWANG, C.; LING, F.; LIU, W.T.; BOON, N.; KOSTER, O.; EGLI, T.; HAMMES, F. (2014) Abundance and composition of indigenous bacterial communities in a multi-step biofiltration-based drinking water treatment plant. *Water Research*, v. 62, p. 40-52.
- LAZAROVA, V. & MANEM, J. (1995) Biofilm characterization and activity analysis in water and wastewater treatment. *Water Research*, v. 29, n. 10, p. 2227-2245.
- LYAUTEY, E.; LACOSTE, B.; TEN-HAGE, L.; ROLS, J.L.; GARABETIAN, F. (2005) Analysis of bacterial diversity in river biofilms using 16 S rDNA PCR-DGGE: methodological settings and fingerprints interpretation. *Water Research*, v. 39, n. 2-3, 2005, p. 380-388.
- MAGIC-KNEZEV, A. & VAN DER KOOIJ, D. (2004) Optimisation and significance of ATP analysis for measuring active biomass in granular activated carbon filters used in water treatment. *Water Research*, v. 38, n. 18, p. 3971-3979.
- MANZ, W.; WENDT-POTTHOFF, K.; NEU, T.R.; SZEZYK, U.; LAWRENCE, J.R. (1999) Phylogenetic composition, spatial structure, and dynamics of lotic bacterial biofilms investigated by fluorescent *in situ* hybridization and confocal laser scanning microscopy. *Microbial Ecology*, v. 37, n. 4, p. 225-237.
- MCCARTY, P.L.; ARGO, D.; REINHARD, M. (1979) Operational experiences with activated carbon adsorbers at Water Factory 21. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, v. 7, n. 7-8, p. 319-338.
- METCALF & EDDY/AECOM (2014) *Wastewater engineering: treatment and resource recovery*. 5th ed. New York: McGraw-Hill.
- MINILLO, A.; FREITAS, S.C.; ISIQUE, W.D.; PRADO, H.F.A.; DIMITROV, M.R.; PAIXÃO, D.A.A.; LEMOS, E.G.M.; TANGERINO, E.P.T. (2013) Biodegradação da hepatotoxina (D-Leu1)- Microcistina-LR por bactérias presentes em filtros biológicos de carvão. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 18, n. 3, p. 205-213.
- MOEL, P.J.; VERBERK, J.Q.J.C.; DIJK, J.C. (2006) *Drinking water: principles and practices*. New Jersey: World Scientific.
- MULLIS, K.B. & FALLONA, F.A. (1987) Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, v. 155, p. 335-350.
- NAMKUNG, E.; RITTMANN, B.E. (1987) Removal of taste and odor compounds by humic-substances-grown biofilms. *Journal American Water Works Association*, v. 79, n. 7, p. 107-112.

- NEBE-VON-CARON, G.; STEPHENS, P.J.; HEWITT, C.J.; POWELL, J.R.; BADLEY, R.A. (2000) Analysis of bacterial function by multi-colour fluorescence flow cytometry and single cell sorting. *Journal of Microbiological Methods*, v. 42, n. 1, p. 97-114.
- ORIOU, G.; LEFEVRE, B.; FERNANDEZ, M.; BERNAT, X.; PARAIRA, M.; CALDERER, M.; MARTINEZ-LLADO, X. (2013) Characterising biofilm development on granular activated carbon used for drinking water production. *Water Research*, v. 47, n. 3, p. 1101-1110.
- PALMER, R.J. & WHITE, D.C. (1997) Developmental biology of biofilms: implications for treatment and control. *Trends in Microbiology*, v. 5, n. 11, p. 435-440.
- PREST, E.I.; EL-CHAKHTOURA, J.; HAMMES, F.; SAIKALY, P.E.; VAN LOOSDRECHT, M.C.; VROUWENVELDER, J.S. (2014) Combining flow cytometry and 16S rRNA gene pyrosequencing: a promising approach for drinking water monitoring and characterization. *Water Research*, v. 63, p. 179-189.
- PRONK, W. & KAISER, H.P. (2008) Tomorrow's drinking water treatment. *EAWAG News*, v. 65, p. 28-31.
- RAMSEIER, M.K.; PETER, A.; TRABER, J.; VON GUNTEN, U. (2011) Formation of assimilable organic carbon during oxidation of natural waters with ozone, chlorine dioxide, chlorine, permanganate, and ferrate. *Water Research*, v. 45, n. 5, p. 2002-2010.
- RECKHOW, D.A. & SINGER, P.C. (2011) Formation and control of disinfection by-products. In: EDZWALD, J.K. (Ed.) *Water quality and treatment: a handbook on drinking water*. 6th ed. New York: McGraw-Hill/American Water Works Association, chapter 19.
- RITTMANN, B.E. & HUCK, P.M. (1989) Biological treatment of public water supplies. *Critical Reviews in Environmental Control*, v. 19, n. 2, p. 119-184.
- RITTMANN, B.E. & SNOEYINK, V.L. (1984). Achieving biologically stable drinking water. *Journal American Water Works Association*, v. 76, n. 10, p. 106-114.
- RITTMANN, B.E.; TANG, Y.; MEYER, K.; BELLAMY, W.D.; NERENBERG, R. (2012) Biological processes. In: RANDTKE, S.J.; HORSLEY, M.B. (Eds.) *Water Treatment Plant Design*. New York: American Water Works Association; American Society of Civil Engineers; McGraw-Hill, chapter 17.
- ROSADO, A.S. & DUARTE, G.F. (2002) Utilização de eletroforese em gel com gradiente de desnaturantes (DGGE) e gel com gradiente de temperatura (TGGE) para estudar diversidade microbiana. In: MELLO, I.S. (Ed.) *Recursos genéticos e melhoramento - microrganismos*. 1st ed. São Paulo: Universidade de São Paulo. p. 97-128.
- SAIKI, R.K.; SCHARF, S.; FALLONA, F.; MULLIS, K.B.; HORN, G.T.; ERLICH, H.A. (1985) Enzymatic application of b-globin genomic sequences and restriction site analysis for the diagnosis of sickle-cell anemia. *Science*, v. 230, n. 4732, p. 1350-1354.
- SCHOLZ, M. & MARTIN, R.J. (1997) Ecological equilibrium on biological activated carbon. *Water Research*, v. 31, n. 12, p. 2959-2968.
- SERVAIS, P.; BILLEN, G.; BOUILLOT, P. (1994) Biological colonization of granular activated carbon filters in drinking-water treatment. *Journal of Environmental Engineering*, v. 120, n. 4, p. 888-899.
- SERVAIS, P.; PREVOST, M.; LAURENT, P.; JORET, J.C.; SUMMERS, S.; HAMBSCHE, B.; VENTRESQUE, C. (2005) Biodegradable organic matter in drinking water treatment and distribution. In: PREVOST, M.; LAURENT, P.; SERVAIS, P.; JORET, J.C. (Eds.) *Biodegradable organic matter in drinking water treatment*. Denver, EUA: AWWA Publisher, 2005. p. 61-146.
- SILVA, T.L.; REIS, A.; HEWITT, C.; ROSEIRO, J.C. (2004) Citometria de fluxo: funcionalidade celular on-line em bioprocessos. *Boletim de Biotecnologia*, v. 77, p. 32-40.
- SIMPSON, D.R. (2008) Biofilm processes in biological active carbon water purification. *Water Research*, v. 42, n. 12, p. 2839-2848.
- SNOEYINK, V.L. & JENKINS, D. (1980) *Water chemistry*. New York: John Wiley.
- SOBECKA, B.S.; TOMASZEWSKA, M.; JANUS, M.; MORAWSKI, A.W. (2006) Biological activation of carbon filters. *Water Research*, v. 40, n. 2, p. 355-363.
- SONTHEIMER, H. (1980) Experience with riverbank filtration along the Rhine River. *Journal American Water Works Association*, v. 72, n. 7, p. 386-390.
- SONTHEIMER, H.; HEILKER, E.; JEKEL, M.R.; NOLTE, H.; VOLLMER, F.H. (1978) The Mülheim process. *Journal American Water Works Association*, v. 70, n. 7, p. 393-396.
- SPEITEL, G.E. & DIGIANO, F.A. (1987) The bioregeneration of GAC used to treat micropollutants. *Journal American Water Works Association*, v. 79, n. 1, p. 64-73.
- SUMMERS, R.S.; KNAPPE, D.R.U.; SNOEYINK, V.L. (2011) Adsorption of organic compounds by activated carbon. In: EDZWALD, J.K. (Ed.) *Water quality and treatment: a handbook on drinking water*. 6th ed. New York: McGraw-Hill/American Water Works Association, chapter 14.
- TAKEUCHI, Y.; MOCHIDZUKI, K.; MATSUNOBU, N.; KOJIMA, R.; MOTOHASHI, H.; YOSHIMOTO, S. (1987) Removal of organic substances from water by ozone treatment followed by biological active carbon treatment. *Water Science and Technology*, v. 35, n. 7, p. 171-178.
- THOMPSON, T.; FAWELL, J.; KUNIKANE, S.; JACKSON, D.; APPELYARD, S.; CALLAN, P.; BARTRAM, J.; KINGSTON, P. (2007) *Chemical safety of drinking water: assessing priorities for risk management*. Geneva: World Health Organization.
- URFER, D.; HUCK, P.M.; BOOTH, S.D.J.; COFFEY, B.M. (1997) Biological filtration for BOM and particle removal: a critical review. *Journal American Water Works Association*, v. 89, n. 12, p. 83-98.
- VELTEN, S.; HAMMES, F.; BOLLER, M.; EGLI, T. (2007) Rapid and direct estimation of active biomass on granular activated carbon through adenosine tri-phosphate (ATP) determination. *Water Research*, v. 41, n. 9, p. 1973-1983.

VELTEN, S.; BOLLER, M.; KÖSTER, O.; HELBING, J.; WEILENMANN, H.U.; HAMMES, F. (2011) Development of biomass in a drinking water granular active carbon (GAC) filter. *Water Research*, v. 45, n. 19, p. 6347-6354.

WALKER, G.M.; WEATHERLEY, L.R. (1999) Biological activated carbon treatment of industrial wastewater in stirred tank reactors. *Chemical Engineering Journal*, v. 75, n. 3, p. 201-206.

WANG, J.Z.; SUMMERS, R.S.; MILTNER, R.J. (1995) Biofiltration performance I: relationship to biomass. *Journal American Water Works Association*, v. 87, n. 12, p. 55-63.

WANG, H.; PRYOR, MA.; EDWARDS, MA.; FALKINHAM, JO.; PRUDEN, A. (2013) Effect of GAC pre-treatment and disinfectant on microbial community structure and opportunistic pathogen occurrence. *Water Research*, v. 47, n. 15, p. 5760-5772.

YUNAN, G.; JINXIANG, F.; SHUI, L. (2011) Backwashing effect on stabilization of immobilized bacteria on biological activated carbon filter. *Advanced Materials Research*, v. 183-185, p. 338-342.

ZHANG, D.Y.; LI, W.G.; GONG, H.N.; ZHANG, L.; GONG, X.J.; LIU, B.Y. (2013) Evaluation of long term stability of seeded bacteria in a bio-enhanced activated carbon filter used for treating drinking water. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 85, p. 701-708.