

FERNANDO FREITAS DE OLIVEIRA

**TRATAMENTO DE ÁGUA DO MAR POR FILTROS DE AREIA
BIOLÓGICOS: ESTRATÉGIA PARA O CONTROLE DE
BIOFILMES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT, para obtenção do título de Doutor em Ciências (Biotecnologia).

São Paulo
2017

Fernando Freitas de Oliveira

**Tratamento de água do mar por filtros de areia biológicos: estratégia
para o controle de biofilmes**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. René Peter Schneider

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

São Paulo
2017

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

De Oliveira, Fernando Freitas
Tratamento de água do mar por filtros de areia
biológicos: estratégia para o controle de biofilmes
/ Fernando Freitas De Oliveira; orientador René
Peter Schneider. -- São Paulo, 2017.
117 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade de São Paulo,
Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Água do Mar. 2. Biofilmes. 3. Filtros lentos
de areia. 4. Pré-tratamento. 5. Membranas
Filtrantes. I. Schneider, René Peter, orientador.
II. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia
Universidade de São Paulo, Instituto Butantan, Instituto de Pesquisas Tecnológicas

Candidato(a): Fernando Freitas de Oliveira

Título da Tese: Tratamento de água do mar por filtros de areia biológicos: estratégia para o controle de biofilmes

Orientador(a): Prof. Dr. René Peter Schneider

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a/...../....., considerou

Aprovado(a)

Reprovado(a)

Examinador(a): Assinatura:.....

Nome:

Instituição:

Presidente: Assinatura:.....

Nome:

Instituição:



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 – CEP. 05508-000 São Paulo, SP – Brasil
Telefone : (55) (11) 3091-7733 - telefax : (55) (11) 3091-8405
e-mail: cep@icb.usp.br

Comissão de Ética em Pesquisa

CERTIFICADO DE ISENÇÃO

Certificamos que o Protocolo CEP-ICB Nº **593/13** referente ao projeto intitulado: "*Caracterização do fouling formado em sistemas de osmose reversa para a dessalinização de água do mar que utilizam filtros lentos de areia como forma de pré-tratamento*" sob a responsabilidade de **Fernando Freitas de Oliveira**, foi analisado na presente data pela CEUA - COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS e pela CEPSh- COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS, tendo sido deliberado que o referido projeto não utilizará animais que estejam sob a égide da lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, nem envolverá procedimentos regulados pela Resolução CONEP nº196 de 1996.

São Paulo, 26 de abril de 2013.

PROF. DR. WOTHAN TAVARES DE LIMA
Coordenador da CEUA - ICB/USP

PROF. DR. PAOLO M.A. ZANOTTO
Coordenador da CEPsh - ICB/USP

AGRADECIMENTOS

À minha família pelo apoio incondicional na escolha da minha profissão e pelo incentivo ao longo de todo o meu processo de formação.

À minha esposa Larissa pela compreensão e por todo o apoio no dia a dia, e que indiretamente contribui para este trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia Ambiental da USP: Leandro Jorge da Silva, Thiago Schneider de Vilhena, Thiago Ranzani da Costa, Júlia Helena Ortiz, Bianca de Miranda Peres, Georges Mikhael Nammoura Neto, Luciana de Oliveira e Paulo Mendez de Araújo, pelas discussões e demais contribuições no desenvolvimento do trabalho.

À todos os colaboradores do CEBIMAR, em especial aos amigos da equipe técnica: Elso Alves da Silva, Joseilto Medeiros de Oliveira, Eduardo Honuma, Alex Willian Arantes Monteiro e Luciano Abel, pelas orientações e auxílios na montagem de equipamentos, coleta de amostras e desenvolvimento dos experimentos, aos amigos da equipe de manutenção: Elias Tertuliano da Silva, Fábio Valério Braga, Paulo Eduardo Montagner, Reinaldo dos Santos e Apolonio da Conceição Santos, pelo auxílio na estruturação dos espaços que foram utilizados neste trabalho, e à Camila Romera Sevilha e equipe gestora do CEBIMAR, principalmente pelo apoio logístico.

Aos alunos do CEBIMAR, em especial à Alexandre Castagna Mourão e Lima pelo treinamento e auxílio nos experimentos de citometria de fluxo, e Rafael Campos Duarte pelas discussões sobre análises estatísticas.

Ao aluno de Ciências Biológicas Aleph Vaz de Arruda e ao amigo José Veríssimo dos Santos pelo auxílio na operação dos sistemas de tratamento de água do mar.

Aos professores da Universidade de São Paulo: Prof. Dra. Áurea Maria Ciotti, Prof. Dr. Álvaro Esteves Migotto, Prof. Dr. Augusto Alberto Valero Flores, Prof. Dr. Antônio Carlos Marques, Profa Dra. Renata Guimarães Moreira, Profa Dra. Elisabete de Santis Braga da Graça Saraiva, Profa Dra. Vivian Helena Pellizari, Profa. Dra. Ana Clara Guerrini Schenberg, Prof. Dr. José Carlos Mierzwa e ao Prof. Titular da Escola Politécnica Ivanildo Hespanhol, que contribuíram com infraestrutura laboratorial, análises, discussões e lições.

Ao Centro Internacional de Referência em Reúso de Água (CIRRA) pela parceria neste projeto.

À Liutas Martinaitis Ferreira e à Empresa Puri Azul Soluções Ambientais pela contribuição com treinamento e cessão do sistemas de ultrafiltração Inge utilizado neste trabalho.

À CAPES, CNPq, FINEP e FAPESP pelo auxílio financeiro.

Ao amigo caiçara, velejador e educador físico Rafael Mendes Chaves que sempre incentivou minha jornada na pós-graduação.

À José Carlos de Freitas, caiçara e sebastianense, que se tornou Professor Titular do Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo e serviu de inspiração para que eu buscasse o caminho da ciência.

Ao Prof. Dr. René Peter Schneider pela orientação deste trabalho.

RESUMO

DE OLIVEIRA, F. F. **Tratamento de água do mar por filtros de areia biológicos: estratégia para o controle de biofilmes.** 2017. 117 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

O presente trabalho avaliou o desempenho de filtros de areia biológicos no tratamento da água do mar a fim de controlar a formação de biofilmes microbianos em membranas de osmose reversa, utilizadas para o processo de dessalinização, e posteriormente em tanques de cultivo de peixes. Para isto, proteínas e carboidratos (principais componentes de biofilmes) foram quantificados em corpos de prova expostos à diferentes tratamentos. A água produzida pelos tratamentos também foi avaliada por meio da quantificação de microrganismos e teor de carbono orgânico assimilável (AOC), que está associado ao potencial de crescimento microbiano (PCM). A capacidade dos filtros em reduzir turbidez e SDI a partir da água captada no mar, também constituiu um parâmetro de avaliação. A partir dos dados obtidos foi possível verificar que os sistemas de tratamento da água do mar constituídos por filtros lentos de areia são capazes de reduzir a incidência de biofilmes em membranas de osmose reversa (reduzindo em até cerca de 80% a concentração de proteínas e 88% a de carboidratos). Porém, para que se tenha uma taxa significativa de remoção do AOC e redução do PCM, esses sistemas requerem um tempo de maturação entre 50 e 60 dias. Por outro lado, em termos de redução de turbidez e SDI, esses sistemas demonstram eficiência praticamente imediata, resultando em uma água com turbidez sempre menor que 0.3 UNT e SDI sempre menor que 4. Como forma de tratamento de água do mar para sistemas de aquicultura, os filtros lentos de areia demonstraram capacidade em reduzir a formação de biofilmes e a deposição de material particulado dentro dos tanques de cultivo, sendo esta redução mais evidente no fundo dos tanques e na observação realizada após 31 dias. O uso de filtros de areia para o tratamento da água utilizada no cultivo de peixes pode contribuir para redução da frequência de manejo e limpeza de tanques.

Palavras-chave: Água do Mar. Biofilmes. *Biofouling*. Filtros Biológicos. Filtros Lentos de Areia. Filtros Rápidos de Areia. Membranas Filtrantes. Pré-tratamento.

ABSTRACT

DE OLIVEIRA, F. F. **Seawater treatment by biological sand filters: strategy for biofilm control.** 2017. 117 p. Ph.D. Thesis (Biotechnology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

The present work has evaluated the performance of seawater treatment by biological sand filters in order to control microbial biofilms formation in reverse osmosis membranes, used for the desalination process. The same filters were also evaluated as a seawater treatment system for aquaculture, and the performance in biofilms control inside the fish tanks was verified. To evaluate the performance in terms of biofilms control, proteins and carbohydrates (main components of biofilms) were quantified in specimens exposed to different treatments. The water produced by the treatments was also evaluated by microorganisms concentration and assimilable organic carbon content, which is associated with microbial growth potential. The performance of turbidity removal and SDI reduction from raw water was also an evaluation parameter. From the data obtained, it was observed that seawater treatment systems by of slow sand filters are able to reduce reverse osmosis membranes biofilms (up to 80% proteins concentration and 88% carbohydrate concentration). However, in order to have a significant rate of AOC removal and PCM reduction, these systems need a maturation time between 50 and 60 days. On the other hand, in terms of turbidity removal and SDI reduction, these systems demonstrate immediate efficiency, resulting in water turbidity always less than 0.3 UNT and SDI always less than 4. The slow sand filters showed efficiency to reduce the biofilm formation and material deposition inside the fish tanks, this reduction was more evident at the bottom of the tanks and after 31 days. The use of sand filters as a water treatment for fish farming can contribute to reduce the number of procedures for handling and cleaning tanks.

Keywords: Seawater. Biofilms. Biofouling. Biological Filters. Slow Sand Filters. Rapid Sand Filters. Membrane Filtration. Pretreatment

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1**– Etapas da formação de biofilmes bacterianos sobre superfícies: iniciando com a aproximação de bactérias planctônicas e adesão irreversível (1), crescimento com produção de EPS (2) e desprendimento ou *Sloughing* (3) 21
- Figura 2**– Micrografias em aumento de 10.000x demonstrando estrutura de biofilme complexo formado em ambiente marinho (A) e biofilmes formados a partir de cultura pura da bactéria marinha *Pseudoalteromonas spongiae* (B)..... 22
- Figura 3**– Micrografias destacando características morfológicas e dimensões de alguns organismos fitoplanctônicos. A) Dinoflagelado com aprox. 40 μm de diâmetro; B) Diatomácea cêntrica com aprox. 6 μm de diâmetro; C) Diatomácea penada com aprox. 5 μm de comprimento; D) Cocolitoforídeo com aprox. 15 μm de diâmetro. E) Cianobactéria com aprox. 0.3 μm de diâmetro..... 26
- Figura 4**– Micrografias destacando microalgas aderidas ao EPS em biofilmes marinhos..... 27
- Figura 5**– Elementos-chave para uma estratégia antibiofouling integrada e eficaz. 32
- Figura 6**– Esquema hidráulico de um filtro lento de areia. Vazão de alimentação (Q_i), a velocidade do fluxo através do meio filtrante (V_f), a vazão do efluente filtrado (Q_e) e a área do filtro (A)..... 35
- Figura 7**– Depósito de material nos centímetros iniciais do meio filtrante em um filtro lento de areia. 37
- Figura 8**– Período de maturação no ciclo de vida de filtros lentos de areia. 40
- Figura 9**– Localização do CEBIMar no Canal de São Sebastião. Em destaque (acima, à esquerda) é apresentado o ponto de instalação da captação de água do mar..... 51
- Figura 10**– Fluxograma do sistema de pré-tratamento de água do mar constituído por: bomba de captação (1); filtro de discos (2); reservatório de água (3), filtro lento 1 (4); filtro lento 2 (5). 51
- Figura 11**– Representação da configuração interna dos filtros lentos de areia, incluindo as camadas que contituem o meio filtrante. Os números de 1 a 6 representam os pontos de amostragem de água. 53
- Figura 12**– Valores de turbidez medidos diariamente na água de alimentação dos filtros lentos (A), no filtrado de F1 (B) e filtrado de F2 (C)..... 57
- Figura 13**– Comportamento das vazões dos filtrados em F1 (A) e F2 (B), demonstrando oscilações nas taxas de filtração durante o período de operação. A linha tracejada acima corresponde a vazão inicialmente ajustada para que os filtros operassem em uma taxa de filtração de $0.1\text{m}^3/\text{m}^2/\text{h}$. O ponto com uma queda brusca na vazão no 70º dia de operação, corresponde à interrupção no experimento devido à necessidade de manutenção no sistema de captação de água do mar..... 58

- Figura 14**– Comparação do crescimento de *Pseudoalteromonas* entre os filtrados produzidos por F1 e F2 e a água utilizada para a alimentação destes filtros. O potencial de crescimento bacteriano foi obtido a partir de um inoculo com concentração final de 10^2 células/ml em cada amostra de água. Os dados representam as médias e desvio padrão das análises em triplicata..... 59
- Figura 15**– Dados de PCM obtidos em amostras de água coletadas em perfil vertical. O crescimento de *Pseudoalteromonas songiae* foi observado a partir de um inóculo com concentração final de 10^2 Células/ml. Os dados representam as medias e desvio padrão das análises realizadas em triplicata, e em três diferentes tempos: 84 dias (A), 99 dias (B) and 114 dias (C). 60
- Figura 16**– Quantidade de carboidratos e proteínas nas camadas dos meios filtrantes de F1 e F2, confrontados com a porcentagem de PCM nas respectivas camadas. Os dados de PCM apresentados foram obtidos no final do período de operação (175° dia)..... 61
- Figura 17**– Quantificação de proteínas e carboidratos em membranas após exposição aos filtrados de F1 e F2 e à água de alimentação dos filtros lentos. A 1ª exposição ocorreu entre o 1° e o 60° dia de operação, enquanto a 2ª exposição ocorreu entre o 88° e o 148° dia. 62
- Figura 18**– Fluxograma partindo da captação até os sistemas de pré-tratamento de água do mar avaliados no estudo. F1 – Filtro lento de areia exposto à luz; F2 – Filtro lento de areia protegido da luz; F3 – Filtro rápido de areia exposto à luz; F4 – Filtro rápido de areia protegido da luz; UF – ultrafiltração. Os sistemas contaram com uma etapa de pré-filtração por filtros de discos. 69
- Figura 19**– Comparação da turbidez registrada nos filtrados obtidos nos filtros lentos (F1e F2), e filtros rápidos (F3 e F4), tendo como referência o permeado obtido em UF. 74
- Figura 20**– Comparação da turbidez registrada nos filtrados obtidos nos filtros lentos (F1e F2), e filtros rápidos (F3 e F4), tendo como referência a água antes da passagem pelos pré-tratamentos (Alimentação). 74
- Figura 21**– Dados de registro diário das vazões indicando o comportamento dos filtros lentos (A) e rápidos (B). Após o registro foi feito o ajuste em cada sistema para a vazão de referência correspondente à $0.4\text{m}^3/\text{m}^2/\text{h}$ (12,5 l/h) para F1 e F2 e $4\text{m}^3/\text{m}^2/\text{h}$ (125 l/h) para F3 e F4. 75
- Figura 22**– Comportamento das vazões dos filtros lentos (F1 e F2) e rápidos (F3 e F4) após recuperação por retrolavagem, com água de alimentação em diferentes condições de turbidez..... 76
- Figura 23**– Quantificação de bactérias totais realizada por citometria de fluxo. Os dados em cada ponto de amostragem representam as médias e desvio padrão das análises em triplicata dos filtros lentos (F1 e F2), filtros rápidos (F3 e F4) e UF. O sistema de UF passou a ser operado após 20 dias do início da operação dos demais sistemas..... 77
- Figura 24**– Quantificação de nanofitoplâncton (2-20 μm) realizada por citometria de fluxo. Os dados em cada ponto de amostragem representam as médias e desvio padrão das análises em triplicata dos filtros lentos (F1 e F2), filtros rápidos (F3 e F4) e UF. Os dados foram coletados apenas a partir do 20° dia de operação. Em todas as amostras de UF o resultado foi = 0..... 78

Figura 25– Quantificação de nanofitoplâncton (2-20µm) realizada por citometria de fluxo. Os dados em cada ponto de amostragem representam as médias e desvio padrão das análises em triplicata dos filtros lentos (F1 e F2), filtros rápidos (F3 e F4) e UF. Os dados foram coletados apenas a partir do 20º dia de operação. Em todas as amostras de UF o resultado foi = 0. 79

Figura 26– Quantificação do acúmulo de carboidratos e proteínas em membranas de osmose reversa expostas à água produzida por filtros lentos (F1 e F2) e filtros rápidos (F3 e F4), tendo como referências as médias obtidas no controle (membrana “limpa”) e em membranas expostas diretamente à água de alimentação. A análise foi realizada em membranas que ficaram expostas por 30 dias em câmaras de fluxo a uma vazão de 12 l/h. 80

Figura 27– Micrografias em MEV realizadas em aumento de 1.000x. A) Corresponde a micrografia da “membrana limpa”, que serviu como controle negativo, sendo possível observar apenas algumas poucas partículas aderidas. B) Nas membranas expostas ao filtrado produzido por F1 foi possível observar grande quantidade de diatomáceas medindo em média 15µm. C) Na membrana exposta ao filtrado de F2 foi observado um número menor de diatomáceas aderidas. A análise foi realizada em membranas que ficaram expostas por 30 dias em câmaras de fluxo a uma vazão de 12 l/h. 81

Figura 28– Micrografias em MEV realizadas em aumento de 1.000x. A) Corresponde à membrana exposta ao filtrado de F3, onde foi possível observar alguns pontos com um biofilme com a presença de EPS. B) Nas membranas expostas ao filtrado de F4 foram observadas algumas diatomáceas maiores com comprimento variando entre 100 e 200 µm. C) Na micrografia feita na membrana exposta ao permeado de UF foram observados cristais de NaCl, porém uma menor quantidade de material aderido em relação aos demais pré-tratamentos. D) Corresponde à membrana exposta à água de alimentação apresentando maior quantidade de material aderido em relação aos pré-tratamentos. A análise foi realizada em membranas que ficaram expostas por 30 dias em câmaras de fluxo a uma vazão de 12 l/h. 82

Figura 29– A imagem à esquerda apresenta a posição de cada tanque na estufa de trabalho (O tanque 1 está em primeiro plano e o tanque 4 está posicionado ao fundo). À direita é apresentado um dos tanques utilizados no experimento ainda com alguns corpos de provas fixados no fundo e nas paredes do tanque. 89

Figura 30– Configuração dos sistemas de tratamento de água do mar testados. FRA corresponde ao tratamento feito apenas com filtro rápido de areia e FRA/FLA corresponde ao tratamento feito por filtro rápido de areia seguido por filtro lento de areia. 90

Figura 31– Variação do oxigênio dissolvido dentro dos tanques. Os dias pares representam os dias em que os peixes foram alimentados e os dias ímpares (exceto o 1º dia de experimento), foram os dias em que os tanques foram aspirados para remoção de material depositado no fundo. 93

Figura 32– Valores de turbidez (UNT) na água de alimentação e dentro dos tanques em FRA (A e B) e FRA/FLA (C e D). 94

Figura 33– Quantificação de proteínas e carboidratos nos corpos de prova expostos aos tratamentos FRA e FRA/FLA. Os dados representam as médias e desvio padrão de 5 réplicas. 96

Figura 34– Aspecto de amostras obtidas em cada tanque após 31 dias de experimento..... 97

Figura 35– Análise por MEV das amostras apresentadas na Figura 34. 97

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1**– Valores de SDI medidos pontualmente em 3 tempos ao longo do período de operação..... 58
- Tabela 2**– Valores de SDI medidos em 3 condições, com os respectivos valores de turbidez na água de alimentação em cada condição avaliada. Os dados referentes ao início da operação foram coletados 2 h após o *start up* dos filtros..... 73
- Tabela 3**– Valores de pH medidos dentro dos tanques nos 31 dias de experimento 92
- Tabela 4**– Valores de temperatura (°C) medidos dentro dos tanques nos 31 dias de experimento.. 92

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A – Área

AOC – *Assimilable Organic Carbon*

ANOVA – *Analysis of Variance*

ASTM – *American Society for Testing and Materials*

BSA – *Bovine Serum Albumin*

CEBIMAR – Centro de Biologia Marinha da Universidade de São Paulo

COD – Carbono Orgânico Dissolvido

COP – Carbono Orgânico Particulado

COT – Carbono Orgânico Total

CSS – Canal de São Sebastião

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DNA – *Deoxyribonucleic Acid*

EPS – *Extracellular Polymeric Substance*

FLA – Filtro Lento de Areia

FRA – Filtro Rápido de Areia

h – Altura

kd- Kilodalton

MEV - Microscopia Eletronica de Varredura

MF – Microfiltração

MFI – *Membrane Fouling Simulator*

NF - Nanofiltração

OR - Osmose Reversa

PCM – Potencial de Crescimento Microbiano

PSI - Pedreira Santa Isabel

PVC - *Polyvinyl Chloride*

Q – Vazão

rDNA - *Ribosomal Deoxyribonucleic Acid*

RNA -*Ribonucleic Acid*

rRNA - *Ribosomal Ribonucleic Acid*

SDI - *Silty Density Index*

SDI₁₅ - *Silty Density Index 15 min.*

SDI₅ - *Silty Density Index 5 min.*

UFC - Unidade Formadora de Colônia

UF - Ultrafiltração

UNT - Unidade Nefelométrica de Turbidez

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1– EMBASAMENTO TEÓRICO	19
1.1 Revisão da Literatura	19
1.1.2 Formação de biofouling em superfícies imersas em água do mar	499
1.1.3 Fatores ligados à formação de biofilmes microbianos em ambientes marinhos	23
1.1.3.1 Bactérias formadoras de biofilmes	23
1.1.3.2 Adesão e crescimento de microalgas e cianobactérias	25
1.1.3.3 Nutrientes biodisponíveis	28
1.1.4 Estratégias para o controle de biofilmes em superfícies expostas à água do mar	31
1.1.4.1 Sistemas de filtros lentos de areia	34
1.1.4.1.1 Fenômenos físicos de retenção de partículas.....	35
1.1.4.1.2 Capacidade de filtração biológica e remoção de nutrientes	37
1.1.4.1.3 Fatores limitantes para a aplicação de filtros lentos de areia	39
1.1.4.2 Sistemas de filtros rápidos de areia biológicos.....	44
1.1.5 Justificativas e organização dos objetivos do trabalho em capítulos	46
CAPÍTULO 2 – PRÉ-TRATAMENTO DA ÁGUA DO MAR POR FILTROS LENTOS DE AREIA: ESTRATÉGIA PARA O CONTROLE DE BIOFILMES EM MEMBRANAS DE OSMOSE REVERSA	47
2.1 Introdução	47
2.2 Objetivos	49
2.2.1 <i>Objetivos gerais</i>	49
2.2.3 <i>Objetivos específicos</i>	49
2.3 Materiais e Métodos	50
2.3.1 <i>Descrição da área de instalação dos sistemas piloto</i>	50
2.3.2 <i>Descrição do sistema de captação de água do mar e do pré-tratamento</i>	50
2.3.3 <i>Análises físico-químicas</i>	53
2.3.4 <i>Potencial de crescimento microbiano (PCM)</i>	53
2.3.5 <i>Monitoramento da formação de fouling biológico em membranas de osmose reversa</i>	54
2.3.6 <i>Quantificação de material biológico aderido ao meio filtrante</i>	55
2.3.7 <i>Análises estatísticas</i>	55
2.4 Resultados e Discussão	56
2.4.1 <i>Monitoramento de parâmetros físico-químicos e hidráulicos</i>	56
2.4.2 <i>Potencial de crescimento microbiano (PCM) das amostras de água</i>	59
2.4.3 <i>Estabelecimento de biofilmes nas camadas do meio filtrante</i>	60

2.4.4 <i>Formação de fouling em membranas de osmose reversa</i>	61
2.5 <i>Conclusões</i>	64
CAPÍTULO 3 – SISTEMAS DE PRÉ-TRATAMENTO DA ÁGUA DO MAR: COMPARAÇÃO DE DESEMPENHO ENTRE FILTROS LENTOS DE AREIA, FILTROS RÁPIDOS DE AREIA BIOLÓGICOS E ULTRAFILTRAÇÃO	66
3.1 <i>Introdução</i>	66
3.2 <i>Objetivos</i>	68
3.2.1 <i>Objetivos gerais</i>	68
3.2.2 <i>Objetivos específicos</i>	68
3.3 <i>Materiais e Métodos</i>	69
3.3.1 <i>Descrição dos sistemas de pré-tratamento de água do mar utilizados no estudo</i>	69
3.3.2 <i>Recuperação das taxas de filtração</i>	70
3.3.3 <i>Análises físico-químicas, potencial de crescimento microbiano (PCM), monitoramento da formação fouling e análises estatísticas.</i>	71
3.3.4 <i>Contagem total de bactérias e microalgas por citometria de fluxo</i>	71
3.3.5 <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	72
3.4 <i>Resultados e Discussão</i>	73
3.4.1 <i>Monitoramento de parâmetros físico-químicos e hidráulicos</i>	73
3.4.2 <i>Capacidade de remoção de bactérias e microalgas</i>	77
3.4.3 <i>Potencial de crescimento microbiano (PCM) das amostras de água</i>	79
3.4.4 <i>Formação de fouling em membranas de osmose reversa</i>	80
3.5 <i>Conclusões</i>	84
CAPÍTULO 4 – TRATAMENTO DA ÁGUA DO MAR POR FILTROS LENTOS DE AREIA NO CONTROLE DE BIOFILMES EM SISTEMAS DE AQUICULTURA	86
4.1 <i>Introdução</i>	86
4.2 <i>Objetivos</i>	88
4.2.1 <i>Objetivos gerais</i>	88
4.2.2 <i>Objetivos específicos</i>	88
4.3 <i>Materiais e Métodos</i>	89
4.3.1 <i>Descrição dos sistemas de tratamento de água do mar e desenho experimental</i>	89
4.3.2 <i>Análises físico-químicas da água</i>	91
4.3.3 <i>Análises de biofilmes aderidos nos tanques</i>	91
4.3.4 <i>Análises estatísticas</i>	91
4.4 <i>Resultados e Discussão</i>	92
4.3.1 <i>Análises físico-químicas</i>	92
4.3.2 <i>Análises de biofilmes aderidos em corpos de prova</i>	94

4.5 Conclusões	99
REFERÊNCIAS	100

CAPÍTULO 1 – EMBASAMENTO TEÓRICO

1.1 Revisão de Literatura

1.1.2 Formação de biofouling em superfícies imersas em água do mar

Um grande desafio encontrado recentemente por diversos setores da economia que exercem suas atividades no mar é o controle do *biofouling*, que consiste no acúmulo indesejado de depósito de origem biológica sobre superfícies. Esta definição pode ser aplicada para o depósito de organismos macroscópicos como hidróides, cracas e bivalves, bem como para microrganismos como bactérias, fungos e microalgas. Qualquer substrato, seja natural ou artificial exposto à água do mar é rapidamente colonizado por organismos, com a formação inicial de biofilmes microbianos (CHARACLIS, 1990; DOBRETSOV; ABED; TEPLITSKI, 2013; FLEMMING et al., 2009; FLEMMING, 2011).

Na área naval, a formação de biofilmes em cascos de navios resulta em um aumento da rugosidade da superfície em contato com a água e conseqüentemente em um maior arrasto na navegação, aumentando o consumo de combustível e a necessidade de frequentes procedimentos limpeza e pintura de cascos com tintas anti-*fouling*. Somente a US Navy tem um custo anual estimado em mais de 50 milhões de dólares voltados para controlar o problema. Porém, o estabelecimento do *biofouling* gera um consumo adicional de combustível estimado em 180 e 260 milhões de dólares por ano (CALLOW; CALLOW, 2002; SCHULTZ et al., 2011; WINNER, 2013).

No ramo da aquicultura, a formação de biofilmes em tanques de cultivo gera a necessidade constante de manejo e limpeza dos tanques, que demanda trabalho do aquicultor e pode ser um fator de estresse para as espécies cultivadas. Além disso, são relatados outros problemas como restrições na troca de água dos tanques, aumento do risco de doenças nas espécies cultivadas, além de danos em diversas estruturas, que prejudicam a produção (CHEN et al., 1993; PATTERSON; TIMMONS et al., 2009; WATTS, 2003). Entre 5 e 10% do custo de produção acaba sendo voltado para métodos de controle e limpeza, que consistem basicamente na remoção mecânica de material aderido e uso de biocidas. Como o uso destes produtos vem sendo cada vez mais restrito pela legislação que regula a produção de alimentos, e devido ao exaustivo trabalho de limpeza de tanques, se faz necessário maior investimento em estratégias para prevenir a formação de biofilmes (FITRIDGE et al., 2012).

Na área industrial são frequentes os problemas de biocorrosão produzida por *biofouling*, que consiste no processo eletroquímico de dissolução metálica iniciado ou acelerado por microrganismos (FERRARI et al., 1995 apud VIDELA, 2003). Esses problemas são relatados em gasodutos de transporte de gás natural, em dutos de distribuição de água potável, em usinas geradoras termoelétricas, hidrelétricas, e nucleares, na indústria química e de processos, na produção de papel, siderúrgicas, refinarias de petróleo, refinarias de álcool, entre outras. Na indústria, além da biocorrosão, a formação de biofilmes pode ainda gerar problemas na redução de transferência de calor em trocadores de calor (DOBRETSOV; ABED; TEPLITSKI, 2013; MELO; BOTT, 1997),

O uso de membranas filtrantes para o tratamento de água também é um processo negativamente impactado pela formação de biofilmes, sobretudo os sistemas de dessalinização por osmose reversa. A formação do biofilmes sobre as membranas leva à redução do fluxo de permeação, aumento da condutividade do permeado produzido, aumento de pressão exigida para o processo, e conseqüentemente o aumento de gastos com energia elétrica e com procedimentos de limpeza das membranas (FLEMMING et al., 1997; PEÑA et al., 2012; SCHNEIDER, TSUTIYA, 2001; VROUWENVELDER et al.; 2010b).

Em sistemas de separação por membranas, o termo *fouling*, é definido como qualquer material indesejado acumulado de maneira irreversível sobre a superfície da membrana (SCHNEIDER; TSUTIYA, 2001). Nas membranas de osmose reversa os tipos de *fouling* que podem ocorrer são: *fouling* inorgânico, gerado pela precipitação de sais; *fouling* coloidal, causado pelo acúmulo de uma camada de substâncias coloidais; *fouling* orgânico, que tem origem a partir da deposição de matéria orgânica natural, além do *biofouling*, que por se tratar do crescimento de biofilmes, demonstra ser mais severo e de difícil controle, sendo considerado o ‘Calcanhar de Aquiles’ dos processos de membrana (FLEMMING et al., 1997).

Um vez que o ambiente aquático concentra grande quantidade de macromoléculas, que consistem em produtos do metabolismo ou restos de organismos, estas substâncias inicialmente adsorvem à superfície de materiais em contato com a água, formando um filme condicionante. Desta forma, por meio de forças eletrostáticas, pontes de hidrogênio e interações de Van der Waals, bactérias são atraídas e aderem a estes substratos (MURTHY; VENKATESAN, 2009), iniciando o processo de formação de biofilmes (**Figura 1**).

Conforme apresentado nos trabalhos de Rijnaarts et al. (1999) e Morisaki e Tabuchi (2009), as forças repulsivas eletrostáticas existentes entre bactérias e superfícies diminuem à medida em que a concentração iônica do meio é aumentada. Desta forma, em água do mar o

problema do *biofouling* pode ser agravado pelas condições do meio, que favorecem a aproximação de bactérias e consequentemente a adesão e formação de biofilmes.

Segundo Characklis e Marshall (1990), com o crescimento bacteriano ocorre a produção de uma matriz de exopolímeros que confere proteção aos microrganismos contra agentes externos, além de adsorver e reter partículas orgânicas e inorgânicas do meio e conferir estabilidade mecânica ao biofilme (**Figura 1**). Essa matriz, também denominada EPS (*Extracellular polymeric substance*), é constituída por proteínas, ácidos nucléicos, lipídeos e carboidratos (TSUNEDA, 2003). Os carboidratos são considerados os constituintes mais abundantes da matriz de biofilmes (DOGSA et al., 2005)

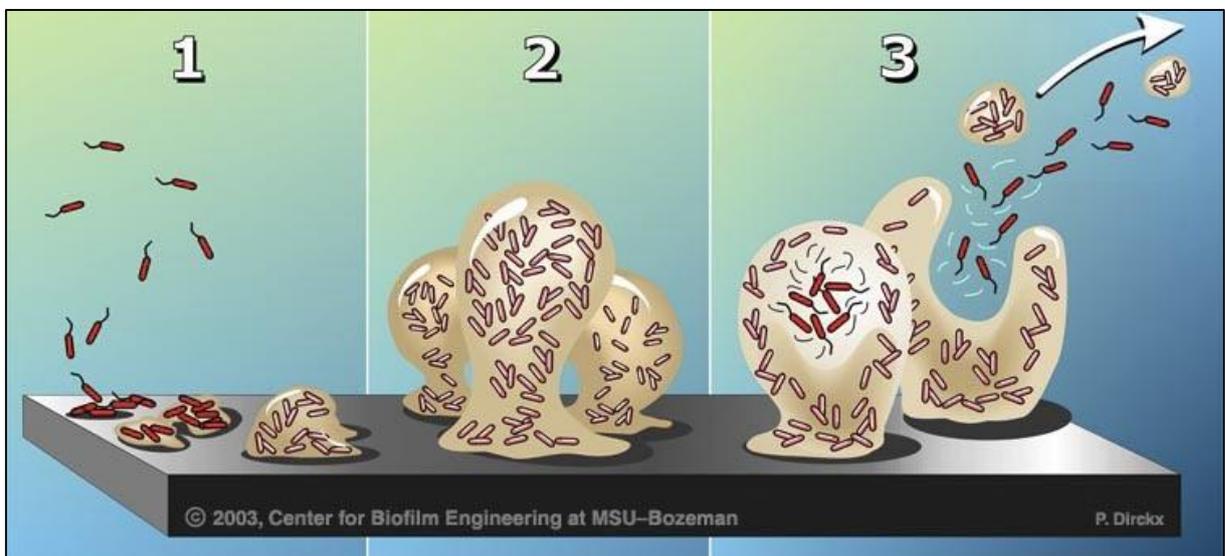


Figura 1– Etapas da formação de biofilmes bacterianos sobre superfícies: iniciando com a aproximação de bactérias planctônicas e adesão irreversível (1), crescimento com produção de EPS (2) e desprendimento ou *Sloughing* (3).

Fonte: Stoodley e Dirckx, 2003.

O *Biofouling* demonstra ser um fenômeno de controle mais complexo quando comparado com outros tipos de *fouling* devido às suas particularidades, tendo em vista a capacidade que microrganismos têm de se multiplicar rapidamente, bem como fenômenos de transporte que auxiliam os microrganismos na colonização de outras superfícies. Mudanças nas concentrações de nutrientes, nas forças de cisalhamento, na temperatura, ou outros fatores ambientais, podem causar o desprendimento (*Sloughing*) de biofilmes, conforme apresentado na **Figura 1**, que transferem células bacterianas e fragmentos de biofilmes para a coluna d'água, possibilitando a colonização de outras superfícies (FLEMMING et al., 2009; VEZA et al., 2008).

A colonização inicial por bactérias gera condições para uma sucessão ecológica, com o posterior assentamento de diatomáceas e outras microalgas, bem como protozoários e larvas de invertebrados, contribuindo assim para o crescimento do biofilme em espessura e diversidade de organismos (COOKSEY; WIGGLESWORTH-COOKSEY, 1995; FLEMMING; LEIS, 2002). Devido a variabilidade na composição, biofilmes tendem a reunir organismos com diferentes metabolismos e estados fisiológicos. Os biofilmes ambientais complexos apresentam um maior nível de variedade estrutural e funcional, em relação aos biofilmes formados em culturas puras ou culturas mistas definidas em laboratório (**Figura 2**). Essa variedade em sistemas naturais tem base na presença de diferentes espécies bacterianas, que coexistem com inúmeras espécies de organismos eucarióticos. Com essa heterogeneidade de populações ocorre a produção de diferentes tipos de EPS. E toda essa estrutura interage com componentes ambientais dissolvidos, coloidais e particulados (NEU; EITNER; PAJE, 2003).

Os mecanismos que contribuem para esta heterogeneidade fisiológica são principalmente: gradientes químicos em microescala (que podem gerar, por exemplo, microambientes aeróbios e anaeróbios no mesmo biofilme), adaptação as condições ambientais, expressão gênica, e variação genotípica por mutação e seleção (STEWART; FRANKLIN, 2008).

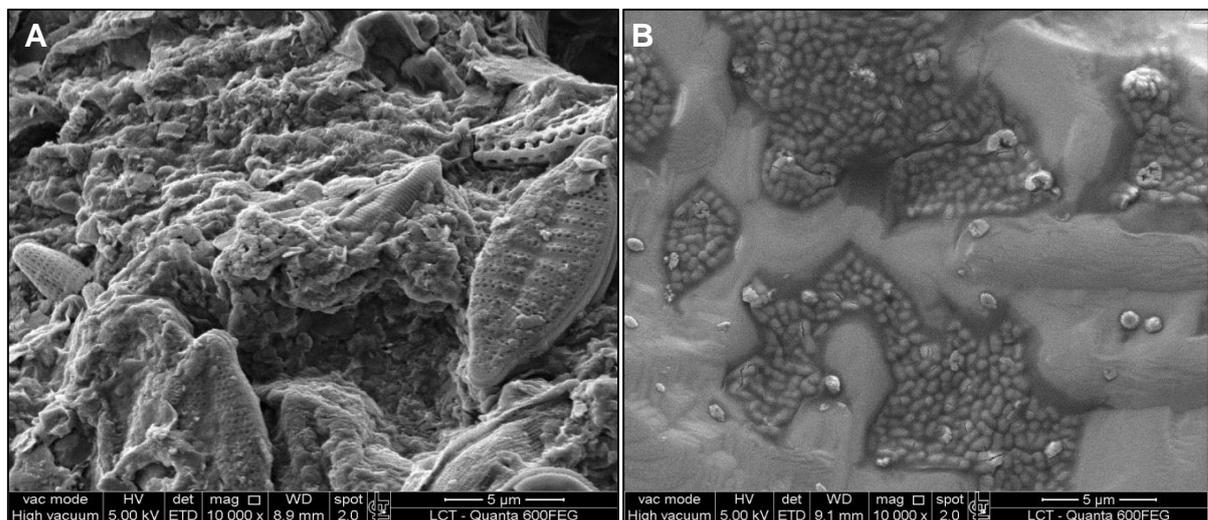


Figura 2– Micrografias em aumento de 10.000x demonstrando estrutura de biofilme complexo formado em ambiente marinho, com microrganismos imersos em EPS (A) e biofilmes formados a partir de cultura pura da bactéria marinha *Pseudoalteromonas spongiae* (B).

1.1.3 Fatores ligados à formação de biofilmes microbianos em ambientes marinhos

1.1.3.1 Bactérias formadoras de biofilmes

Em meio aquático, bactérias são os microrganismos que iniciam a colonização de substratos. A composição do filme condicionante formado sobre superfícies imersas e as características da superfície de células bacterianas planctônicas determinam o grau de adesão aos substratos. Em diferentes ambientes, bactérias podem alterar as características da superfície celular modificando sua afinidade ao filme condicionante. A capacidade de aderir a substratos pode conferir vantagem competitiva às bactérias no processo de colonização de superfícies (SCHNEIDER; MARSHAL, 1994).

No biofilme microbiano formado sobre superfícies imersas, a constituição da comunidade bacteriana varia com o tipo de substrato e com o tempo. Lee et al. (2008), verificaram que em superfícies expostas a água do mar entre 0 e 9 h γ -Proteobactéria (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alteromonas* e outras γ -Proteobactérias não cultiváveis) foram predominantes na comunidade do biofilme, enquanto entre 24 e 36 h ocorreu predominância de α -Proteobactéria (*Loktanella*, *Methylobacterium*, *Pelagibacter* e outras α -Proteobactérias não cultiváveis). Neste caso, algumas espécies de γ -Proteobactérias tiveram o papel de pioneiras na formação do biofilme. XU et al. (2012), também demonstraram o pioneirismo e predominância de γ -Proteobactérias em biofilmes marinhos, embora segundo Ma et al. (2009), no mesmo local de estudo a predominância de bactérias planctônicas foi de α -Proteobactéria, demonstrando que as comunidades bacterianas predominantes em biofilme e na coluna d'água podem diferir.

No trabalho de Dang e Lovell (2000), foram identificados em biofilmes marinhos formados em diferentes superfícies mais grupos de α -Proteobactéria do que γ -Proteobactérias, durante as primeiras 72 h de colonização. Neste caso, bactérias do gênero *Alteromonas*, pertencentes a classe das γ -Proteobactérias foram identificadas apenas nas primeiras 24 h, sugerindo que estas bactérias participam dos estágios iniciais de colonização e em algumas circunstâncias podem ser substituídas por outros grupos de bactérias nas etapas seguintes da colonização de superfícies.

A classe γ -Proteobactérias pertence ao filo Proteobactéria, com grande riqueza de gêneros (~250). Quanto a diversidade metabólica, embora a maioria dos organismos seja quimio-organotrófica, este filo também inclui organismos quimioautotróficos e fototróficos. Grande parte é aeróbia e com capacidade de tolerância a variações de temperatura (GARRITY et al., 2005; KERSTERS, et al., 2006; SCOTT et al., 2006). A classe inclui o gênero de bactérias

gram-negativas *Pseudomonas*, sendo a espécie *Pseudomonas aeruginosa* um organismos modelo para o estudo da formação de biofilmes e que participa dos primeiros estágio da colonização de superfícies imersas em meio aquático (MARTINY et al., 2003; WEI; MA, 2013). De acordo com Nickel et al. (1985), a adesão de *Pseudomonas aeruginosa* à uma superfície pode ocorrer nos primeiros 5 min. de exposição. Quanto ao habitat, esta espécie pode ser encontrada em diversos ambientes incluindo o ambiente marinho (KHAN et al., 2007).

As bactérias marinhas do gênero *Pseudoalteromonas*, também pertencente à classe das γ -Proteobactérias, são amplamente distribuídas no ambiente marinho. Além da serem encontradas sob a forma planctônica na coluna d'água, também estão presentes em muitos outros habitats, aderidas a rochas, macroalgas e animais marinhos. Grande parte das espécies descritas do gênero *Pseudoalteromonas* foram isoladas de hospedeiros eucarióticos (SKOVHUS et al., 2004). A bactéria marinha *Pseudoalteromonas tunicata* é uma espécie formadora de biofilme encontrada em eucariotos e descrita a partir de isolamento de tunicados adultos. Esta espécie produz uma série de substâncias antimicrobianas incluindo a proteína AlpP que pode conferir vantagem durante a competição por espaço e nutrientes na colonização de superfícies (RAO; WEBB; KJELLEBERG, 2005).

A espécies *Pseudoalteromonas spongiae*, isolada da superfície da esponja *Mycale adhaerens*, constituem bactérias esféricas, gram-negativas, sem flagelo, sem motilidade, sem capacidade de formação de esporos e que formam colônias de coloração laranja claro. São heterotróficas, aeróbias estritas, requerem NaCl para seu crescimento (2 – 6%) e crescem em pH entre 5 e 10 e entre 12 e 44 °C. Sendo um organismo positivo para catalase, esterase, alfa quimotripsina, fosfatase ácida, fosfatase alcalina, Dnas, gelatinase, leucina arilamidase, oxidase, protease e tripsina. Com capacidade de crescer em D-glicose, D-frutose, inositol, D-manose, D-maltose, inulina, N-acetilglicosamina, e amido como única fonte de carbono. Sensível à ampicilina, benzilpenicilina, tetraciclina e cloranfenicol (LAU et al., 2005). Huang et al. (2007) apresentam dados em que biofilmes formados por *Pseudoalteromonas spongiae* induziram o assentamento de larvas do Polichaeta *Hydroides elegans*, indicando que biofilmes bacterianos podem controlar as condições das etapas seguintes de sucessão, incluindo o assentamento de invertebrados às superfícies.

A produção de conhecimento acerca das bactérias formadoras de biofilme pode ser fundamental para a prevenção da formação de *biofouling* em superfícies, por meio da escolha de medidas adequadas que controlem, por exemplo, a colonização por microrganismos pioneiros (LEE et al., 2008).

1.1.3.2 Adesão e crescimento de microalgas e cianobactérias

Microalgas são organismos unicelulares predominantemente autotróficos que habitam o ambiente aquático. Constituem o fitoplâncton, que consiste na comunidade de microrganismos fotossintetizantes que compõe o plâncton (PEREIRA; SOARES-GOMES, 2002). Estes organismos desempenham um importante papel nos oceanos, fixando CO₂ em carbono orgânico via fotossíntese, processo denominado produção primária. No ambiente aquático o próprio fitoplâncton constitui uma parcela significativa do carbono orgânico particulado (COP) e as microalgas podem liberar para o meio substâncias extracelulares solúveis, principalmente quando ocorre a morte destes organismos com a lise celular. As substâncias extracelulares liberadas são em grande parte carboidratos e constituem o carbono orgânico dissolvido (COD) (FALKOWSKI; OLIVER, 2007; MAGUE et al., 1980; PIONTEK et al., 2011). Os carboidratos produzidos pelo fitoplâncton são utilizados como fonte de carbono principalmente por bactérias heterotróficas (LIGNELL, 1990; PIONTEK et al., 2011).

São conhecidas cerca de 20.000 espécies de organismos fitoplanctônicos, sendo as microalgas classificadas como: diatomáceas (Bacillariophyceae), dinoflagelados (Dinophyceae), clorofíceas (Chlorophyceae), coccolitoforídeos (Haptophyceae), silicoflagelados (Chrysophyceae) e criptofíceas (Cryptophyceae). Em ambiente marinho as formas mais abundantes de microalgas, tanto em número de indivíduos quanto em espécies, são as diatomáceas e dinoflagelados (PEREIRA; SOARES-GOMES, 2002).

Embora não sejam microalgas de fato, as algas azuis-esverdeadas ou cianobactérias (Cyanophyceae), procariotos pertencentes ao domínio Bacteria, também são incluídas na composição do fitoplâncton, uma vez que esse microrganismos possuem pigmentos fotossintetizantes e tem significativa contribuição nos ciclos biogeoquímicos, contribuindo com cerca de 25% de toda produção primária global e com a fixação de nitrogênio gasoso (N₂). As cianobactérias do gênero *Prochlorococcus* são considerados os menores e mais abundantes organismos fotossintetizantes do planeta. *Synechococcus* é um outro gênero de cianobactérias também amplamente encontrado em ambientes marinhos (BILLER et al., 2014; BULLERJAHN; POST, 2014; VELDHUIS, 2004).

Em termos de tamanho celular, o fitoplâncton é dividido em picofitoplâncton (< 2 µm, inclui as cianobactérias *Prochlorococcus* e *Synechococcus*, além de piceucariotos), nanofitoplâncton (2–20 µm, inclui diatomáceas, clorofíceas, coccolitoforídeos, silicoflagelados e criptofíceas) e microfitoplâncton (> 20 µm, composto principalmente por dinoflagelados e

diatomáceas) (BOSAK et al., 2012; SIEBURTH; SMETACEK; LENZ, 1978). A morfologia e dimensões de alguns gêneros de organismos do fitoplâncton são exemplificados na **Figura 3**.

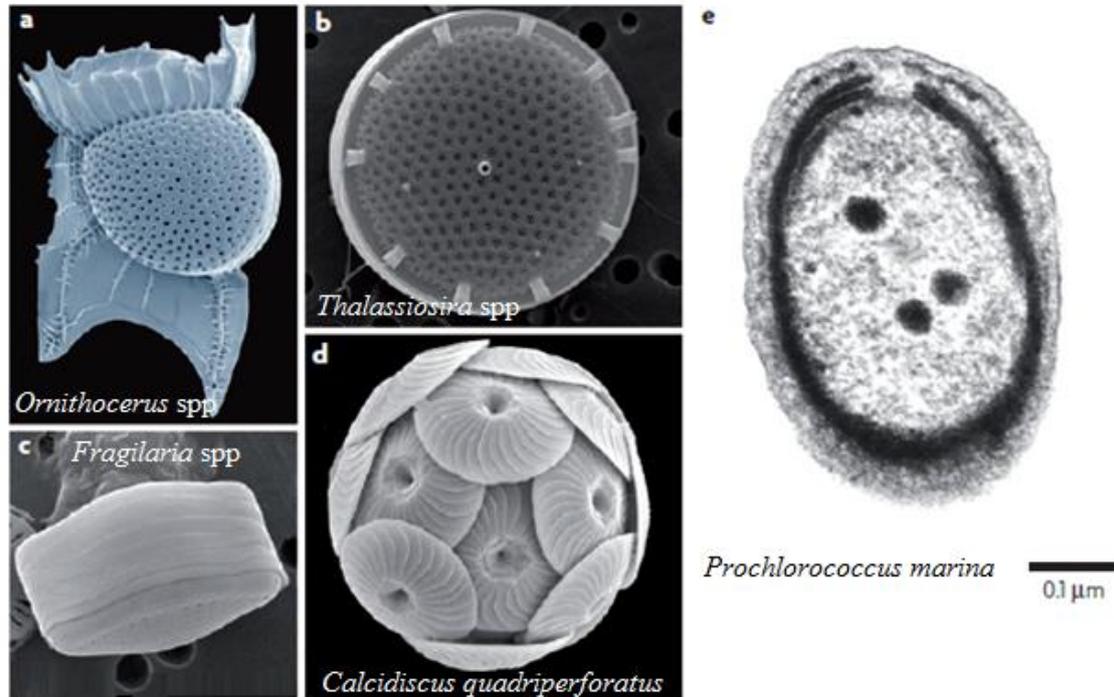


Figura 3. Micrografias destacando características morfológicas e dimensões de alguns organismos fitoplancônicos. A) Dinoflagelado com aprox. 40 μm de diâmetro; B) Diatomácea cêntrica com aprox. 6 μm de diâmetro; C) Diatomácea penada com aprox. 5 μm de comprimento; D) Cocolitoforídeo com aprox. 15 μm de diâmetro. E) Cianobactéria com aprox. 0.3 μm de diâmetro.
Fonte: Falkowski e Oliver (2007), modificada.

Análises demonstram a coexistência no ambiente marinho dos grupos pico, nano e microfitoplâncton. Porém, a predominância de um grupo sobre o outro depende de processos físicos e biológicos que influenciam a disponibilidade de luz e nutrientes. Desta forma, a composição do fitoplâncton pode variar de forma sazonal ou até mesmo ano a ano (SAMMARTINO et al., 2015).

Devido a heterogeneidade dos organismos, considerando fatores como tamanho celular e composição de pigmentos fotossintéticos, diferenças na composição da comunidade fitoplancônica entre regiões podem resultar em diferentes taxas de produtividade primária (FALKOWSKI et al., 2003; GIANNINI, 2016; VALLINA et al., 2014).

De acordo com Villac, Cabral-Noronha e Pinto (2008), diversos estudos avaliando a diversidade da comunidade fitoplancônica do litoral norte do estado de São Paulo, Brasil, principalmente nas áreas que compreendem os municípios de Ubatuba, São Sebastião, Santos e Cananéia, revelaram que a grande maioria de espécies encontradas são de diatomáceas (82%),

seguido de dinoflagelados (16%), e com uma menor contribuição estão os silicoflagelados, coccolitoforídeos e cianobactérias. Estudos realizados durante o outono na região de São Sebastião por Giancesella et al. (1991), demonstraram um predomínio de fitoflagelados (70%) sobre as diatomáceas (22-26%) em relação ao número total de organismos analisados.

As microalgas e cianobactérias fitoplanctônicas também podem aderir à superfícies imersas passando a integrar um biofilme microbiano. Na sucessão ecológica de biofilmes, geralmente a adesão de microalgas ocorre posteriormente às etapas de formação de um filme condicionante de macromoléculas e do biofilme bacteriano. Com a colonização da superfícies por diatomáceas e outras microalgas, o biofilme cresce em espessura e gera condições para o estabelecimento de outros organismos, incluindo uma série de invertebrados marinhos (FLEMMING; LEIS, 2002; MURTHY; VENKATESAN, 2009; RAILKIN, 2004). Assim como as bactérias formadoras de biofilmes, quando estabelecidas sobre uma superfície, as microalgas também produzem um EPS adesivo, constituído principalmente por carboidratos e proteínas (BOONCHAI; KAEWSUK; SEO, 2014; XIAO; ZHENG, 2016). Além de fonte nutricional para os organismos aderidos, o EPS compõe a matriz estrutural do biofilme e é responsável pela aglomeração de células (**Figura 4**).

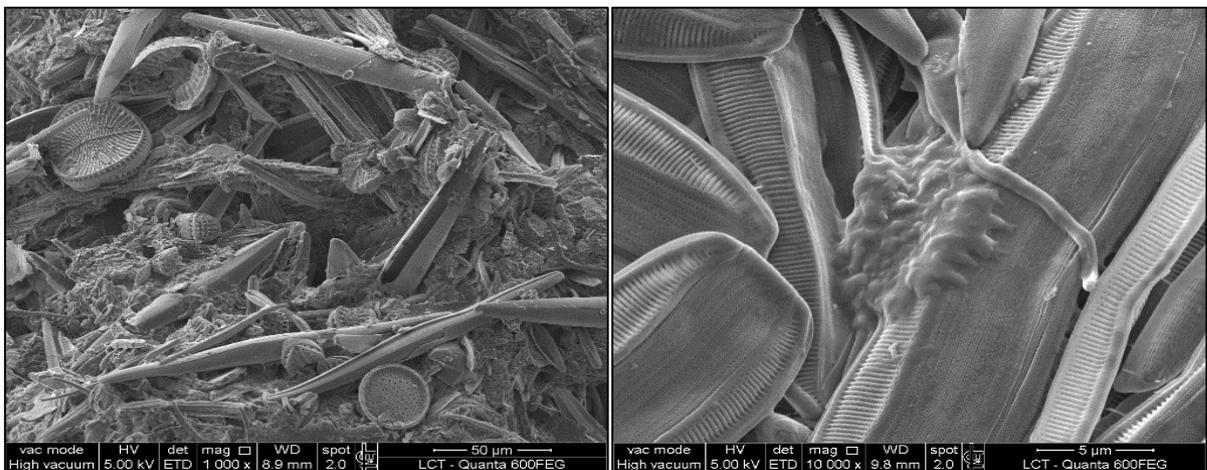


Figura 4. Micrografias destacando microalgas aderidas ao EPS em biofilmes marinhos.

As análises de biofilmes formados em costões rochosos na região de São Sebastião, conduzidas por Gallo (2016), demonstraram de forma geral uma predominância de diatomáceas em relação aos outros grupos, com 71 morfotipos observados, destes, 97% foram diatomáceas penadas, principalmente do gênero *Navicula* e outros morfotipos pertencentes à ordem Naviculares. As análises também confirmam a hipótese de que áreas com alta concentração de nutrientes, como um mangue e pontos de descarte de esgoto, favorecem o crescimento de

microalgas e o desenvolvimento mais acelerado do biofilme. Além disso, foram registrados nesses ambientes biofilmes com uma maior diversidade e riqueza de microalgas em relação à áreas mais oligotróficas. De acordo com Johnson e Roberts (2009), todos os trabalhos revisados associam o aumento da diversidade de espécies nos biofilmes ao enriquecimento de nutrientes no ambiente.

1.1.3.3 Nutrientes biodisponíveis

Microrganismos tendem a aderir a superfícies imersas e crescer a partir do consumo de nutrientes captados da fase aquosa. Desta forma, o crescimento de biofilmes está relacionado a uma fonte de nutrientes disponível (FLEMMING et al., 1997). Para o crescimento de bactérias heterotróficas, principais microrganismos que iniciam a formação de biofilmes, substâncias de baixo peso molecular são mais importantes como substrato comparadas às substâncias de alto peso molecular. Ácidos orgânicos, carboidratos e amino ácidos representam as classes de substâncias de baixo peso molecular predominantes em meio aquático e que constituem a principal fonte de carbono para estes microrganismos (JENSEN, 1983; SUNDH, 1992). Os principais componentes orgânicos dos oceanos são os carboidratos, que podem constituir entre 20 e 30% do carbono orgânico dissolvido. Geralmente em águas abertas ocorre predominância de polissacarídeos em regiões rasas até a faixa de oxigênio mínimo, e monossacarídeos em regiões mais profundas (PAKULSKI; BENNER, 1994). Em águas costeiras, a concentração de carboidratos e outros compostos orgânicos dissolvidos na coluna d'água pode ser influenciada pelo aporte de rios, que carregam matéria orgânica de origem terrígena para os oceanos (GUÉUEN et al., 2006).

Apenas monômeros, incluindo carboidratos, amino ácidos e ácidos orgânicos podem ser assimilados diretamente por bactérias, quando a assimilação destes compostos não é limitada por fenômenos de transporte ou permeabilidade da membrana celular (FURHMAN; FERGUSON, 1986 apud DONDESKI; MUDRYCK; WALCZAK, 1998; LANCELOT, BILLEN, 1984).

Foi demonstrado por Donderski, Mudryck e Walczak (1998) a capacidade de utilização de 14 amino ácidos, 12 carboidratos e 12 ácidos orgânicos por isolados bacterianos marinhos, como única fonte de carbono. Neste estudo 50% dos isolados apresentaram boas condições de crescimento em aspartato, glutamato, histidina, glicina, cisteína e lactato de cálcio, 8% cresceram em fenilalanina e galactose, 10% em ácido glicólico, 11% em ribose, 13% em

ramnose e 15% em arabinose. Apenas uma pequena porcentagem dos substratos orgânicos de baixo peso molecular não foi utilizado pelas bactérias.

O fitoplâncton constitui a principal fonte de carbono para bactérias heterotróficas no ambiente marinho. Bactérias podem metabolizar uma fração significativa de carbono orgânico dissolvido produzido pelo fitoplâncton e remineralizar até 50% da produção primária (AZAM et al., 1983; AZAM, 1998). Conforme apresentado por Hammes (2007) o uso de tratamento com ozônio em uma cultura pura de algas, suspensa em água mineral em com diferentes tempos de exposição, foi capaz de gerar a liberação de uma significativa parcela de carbono orgânico dissolvido, incluindo a fração de matéria orgânica que bactérias heterotróficas podem assimilar para a síntese de biomassa, denominada *Assimilable Organic Carbon* (AOC), em português Carbono Orgânico Assimilável, que constitui um importante parâmetro para avaliação da estabilidade microbiológica de amostras de águas potáveis e marinhas (FLEMMING et al., 1997; VAN DER KOOIJ, 1982; WEINRICH; SCHNEIDER; LE CHEVALLIER, 2011). Em águas potáveis, Van der Kooij (1992), verificou que valores de AOC menores que 10 $\mu\text{g C/l}$, inibem o crescimento de bactérias heterotróficas, controlando a formação de biofilmes.

Nos biofilmes, a produção de EPS desempenha um importante papel na nutrição de microrganismos, devido a capacidade dessa matriz de exopolímeros adsorver substâncias da fase aquosa. Desta forma, a capacidade de assimilação de nutrientes pode ser cerca de 60% maior em biofilmes comparada com bactérias planctônicas, Além disso, em situações de escassez de nutrientes no ambiente, o próprio EPS pode ser consumido como alternativa nutricional (KOBERT et al., 1995). Análises da matéria orgânica de biofilmes demonstraram que macromoléculas como proteínas e carboidratos são os seus principais constituintes (LEE et al., 2009).

Com a ação de enzimas extracelulares (exoenzimas), substâncias orgânicas complexas e particuladas podem ser convertidas em AOC. Grande parte destas enzimas estão envolvidas na decomposição de carboidratos, peptídeos, lipídeos e fósforo orgânico, e em geral, mudanças no padrão de expressão enzimática por parte do biofilme estão relacionadas com a disponibilidade de diferentes fontes de matéria orgânica no ambiente. Como a atividade enzimática e a assimilação de nutrientes são processos intimamente ligados, os microrganismo com maior capacidade de sintetizar exoenzimas possuem maior competitividade no ecossistema (ARNOSTI, 2011, GAJEWSKI; CHRÓST, 1995; ROMANI; ARTIGAS; YLLA, 2012).

Dependendo das necessidades fisiológicas dos biofilmes, algumas mudanças nas características físico-químicas do ambiente e na concentração de determinados compostos, podem limitar o crescimento. A influência da temperatura, pH, concentração de oxigênio,

concentração de fontes de carbono, nitrato e magnésio, podem ser significativas para o crescimento de certos microrganismos (BOUR, 2012; FARKAS et al., 2013). Porém, para resistir às mudanças nas condições ambientais, bactérias podem desenvolver mecanismos que permitem sua adaptação a alterações nestas condições, principalmente na resposta a alterações na disponibilidade de carbono (BOUR, 2012).

A disponibilidade de fósforo também é um fator que determina o crescimento microbiano em meio aquático. Na água do mar, a concentração de fosfato é geralmente menor que 33 $\mu\text{g/L}$ (GARCIA et al., 2006), com uma média de 20 $\mu\text{g/L}$ (OZ REEF, 2007 apud VROUWENVELDER et al., 2010a). Braga e Muller (1998) reportaram durante fenômeno de ressurgência na região de Ubatuba, São Paulo, Brasil, valores de fosfato de 0.43 $\mu\text{g/L}$, enquanto os valores de nitrato e silicato foram 4.6 $\mu\text{g/L}$ e 5.7 $\mu\text{g/L}$, respectivamente. Em experimentos realizados em sistemas de osmose reversa, a redução da concentração de fosfato para valores em torno de 0.3 $\mu\text{g/L}$ permitiu limitar o crescimento de biofilmes sobre as membranas, até mesmo na presença de altos níveis de carbono orgânico (VROUWENVELDER et al., 2010a).

Alguns elementos disponíveis em baixas concentrações na água do mar também podem influenciar o crescimento microbiano. As vitaminas são elementos essenciais para o metabolismo de microrganismos, já que a maioria atua como parte de coenzimas. Como muitas bactérias marinhas são auxotróficas para vitaminas B₁ e/ou B₁₂, a disponibilidade destes elementos pode constituir um fator de limitação de crescimento. Desta forma, o conhecimento sobre a distribuição de vitaminas B no ambiente marinho é importante para se avaliar limitações nutricionais. Recentes determinações de vitamina B por espectrometria de massa em água do mar demonstram que as concentrações podem chegar a valores menores que 1 picomolar (pM) em mar aberto. Assim como vitamina B, o ferro, elemento que desempenha importante papel na respiração e um componente essencial de citocromos e algumas proteínas, também é um composto encontrado em baixas quantidades no ambiente marinho. Mais de 99% do ferro encontrado nos oceanos está ligado a compostos orgânicos, disponíveis em concentrações menores que 100 pM, gerando forte pressão seletiva para desenvolvimento de estratégias para assimilação de ferro por parte de microrganismos (KARL; BJORKMAN, 2015; MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 2004).

A concentração e disponibilidade de nutrientes pode variar sazonalmente em ambiente marinho. Em biofilmes a quantificação química e bioquímica é considerada umas das estratégias mais comuns para se medir biomassa. Wesley e Satheesh (2009), determinaram variações temporais na concentração de nutrientes como carboidratos, proteínas, nitrato, nitrito, fosfato, cálcio e magnésio, em placas de acrílico expostas as águas da costa sudeste da Índia,

durante um ano. Dentre os compostos analisados, foi demonstrado maior concentração de carboidratos nos biofilmes formados sobre as placas. Com exceção dos carboidratos, todos os outros compostos analisados demonstraram uma significativa variação de concentração a cada mês de observação. A concentração de proteínas chegou em seu máximo durante o verão e nitrito e nitrato chegaram em seu máximo durante a primavera. Os resultados apresentados sugerem que a variabilidade temporal observada na concentração de nutrientes em biofilmes é influenciada pela concentração destes nutrientes no meio aquático, enfatizando a necessidade de futuros estudos com foco na dinâmica nutricional de biofilmes em escalas temporais, bem como a relação entre a concentração de nutrientes e composição e densidade da comunidades que compõem o biofilme, para um melhor entendimento acerca do ciclo de nutrientes em biofilmes marinhos.

1.1.4 Estratégias para o controle de biofilmes em superfícies expostas à água do mar

De acordo com Flemming (2011), grande parte das dificuldades em controlar biofilmes em superfícies artificiais expostas à água do mar, utilizadas em processos ou atividades econômicas, está relacionada à falta de métodos para a prevenção e detecção precoce do problema. Para um controle efetivo é necessário limitar a concentração de nutrientes e microrganismos nas correntes de água de alimentação dos sistemas, utilizar superfícies repelentes que dificultem a adesão, utilizar métodos de limpeza eficazes e evitar a aplicação de técnicas de controle pouco efetivas, como uso de biocidas, que matam microrganismos mas não limpam as superfícies, deixando muitas vezes resíduos orgânicos que permitem o restabelecimento de biofilmes. Além disso, é importante a adoção de estratégias de monitoramento das superfícies para diagnosticar o problema o mais breve possível e aplicar o método de controle adequado. Desta forma, é necessário estabelecer uma estratégia *antibiofouling* integrada e eficaz (**Figura 5**).

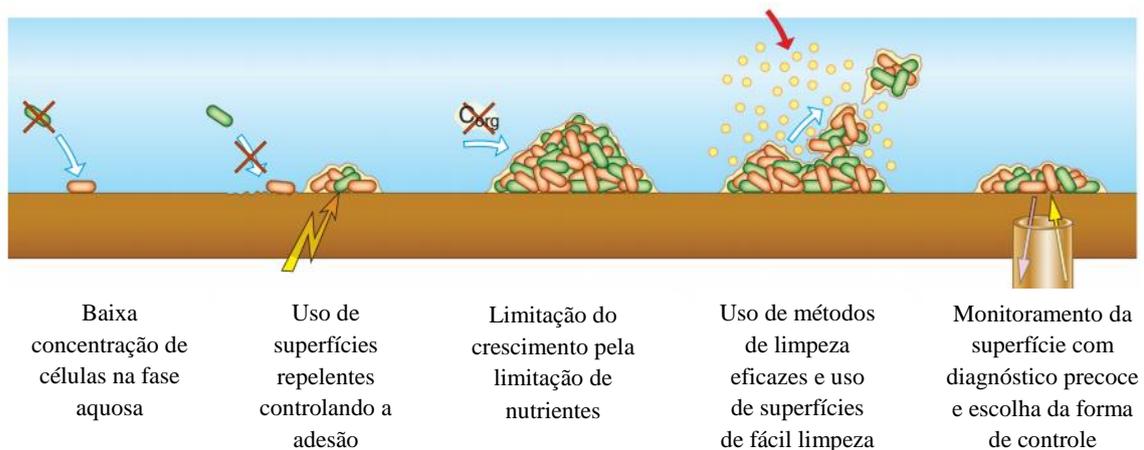


Figura 5. Elementos-chave para uma estratégia *antibiofouling* integrada e eficaz.
Fonte: Flemming (2011), modificada.

Em sistemas de dessalinização de água do mar por osmose reversa, o pré-tratamento da água bruta é utilizado com o propósito de reduzir contaminantes particulados, coloidais, orgânicos, minerais e microbiológicos controlando a formação de biofilmes e outros tipos de *fouling* sobre as membranas.

Os sistemas de pré-tratamento comumente utilizados para água do mar são filtros rápidos granulares, como os filtros de areia e antracito, que podem ser utilizados com a adição prévia de coagulantes, bem como sistemas que empregam membranas porosas, como microfiltração e ultrafiltração (BONNÉLYE; GUEY; DEL CASTILLO, 2008; DARWISH et al., 2016; ELGUERA; BÁEZ, 2005; JEZOWSKA et al., 2009; MITROULI et al., 2008; PRIHASTO; LIU; KIM, 2009; VOUTCHKOV, 2010).

Porém, muitos destes sistemas de pré-tratamento convencionais não são capazes de remover todos os componentes da água bruta que geram biofilmes, principalmente os compostos orgânicos biodegradáveis e alguns microrganismos (FLEMMING et al., 1997; VOUTCHKOV, 2009a; VOUTCHKOV, 2010).

Conforme apresentado por BAE et al. (2014), por meio de análise de 16s rRNA, foi possível constatar que tanto em sistemas compostos por coagulação/floculação seguida por filtros de areia, quanto em sistemas de microfiltração, foi possível identificar nos filtrados produzidos bactérias formadoras de biofilme, pertencentes a classe γ -Proteobactéria. Segundo Lee et al. (2011), microrganismos estão presentes em toda parte, e podem formar biofilmes principalmente na presença de condições favoráveis como disponibilidade de nutrientes. Desta forma, para a prevenção do *biofouling*, uma estratégia viável seria a aplicação de processos biológicos (VAN DER KOOIJ et al., 2007).

A utilização de biofiltros como forma de pré-tratamento, é uma estratégia efetiva para inibir a formação de biofilmes em sistemas de membrana (CHINU et al., 2009; JEONG et al., 2013; NAIDU et al., 2013; SHRESTHA et al., 2014). Os benefícios associados ao uso de sistemas de biofiltração incluem: a remoção de matéria orgânica facilmente biodegradável gerando um efluente biologicamente estável; a remoção de contaminantes; a não utilização de produtos químicos de coagulação, que representa um ganho ambiental e de custos; a simplicidade dos processos de operação e manutenção deste tipo de sistema; e por fim, a melhor eficiência no controle da formação de biofilmes sobre as membranas (HALLÉ, 2009).

O conceito da biofiltração é baseado no emprego de meios filtrantes biologicamente ativos, a fim de consumir nutrientes presentes na água. Desta forma, a redução na disponibilidade de nutrientes a jusante reduz o crescimento de microrganismos nas membranas (MARETH, 2006). Flemming et al. (1997), descreve este conceito como um "biorreator no lugar certo". Em contraste, uma membrana colmatada por biofilmes pode ser considerada um biorreator no "lugar errado". Basicamente os fenômenos que controlam a filtração biológica são: utilização do substrato da fase aquosa; difusão do substrato através do biofilme; transporte de massa entre a fase aquosa e o biofilme; crescimento, morte e decaimento da biomassa (RITTMANN, 1995).

Hu et al. (2005) obtiveram remoção de AOC de até 45% em um biofiltro com meio filtrante composto por zeólitos, operado como pré-tratamento para a água de alimentação em uma planta de osmose reversa. Persson et al. (2006), compararam dois sistemas de biofiltro: um com meio filtrante constituído por carvão ativado, e outro por argila expandida. Ambos os biofiltros foram operados com foco na redução do potencial e formação de biofilmes e apresentaram desempenho similar com remoções de AOC de aproximadamente 30%. Além disso, também foi possível observar redução na concentração de bactérias na água tratada.

Biofiltros constituídos com carvão ativado e antracito apresentaram a vantagem de não utilizar produtos químicos para o funcionamento, e demonstraram significativa remoção de material particulado e matéria orgânica dissolvida. Estes filtros são capazes de remover AOC principalmente pela ação das camadas superiores do meio filtrante onde é possível registrar altos níveis de ATP. Além disso, sua capacidade de remoção de AOC foi observada em sistemas que operaram utilizando água do mar (CHINU et al., 2009; JEONG et al., 2013; NAIDU et al., 2013).

1.1.4.1 Sistemas de filtros lentos de areia

Filtros lentos de areia apresentam duas funções associadas: a redução da turbidez por meio da retenção de partículas e patógenos como nos filtros convencionais e a remoção da matéria orgânica biodegradável e outros elementos biodisponíveis utilizando como mecanismo de remoção o metabolismo microbiano da *schmutzdecke*, camada de biofilme aderido ao meio filtrante (JENKINS et al. 2011; LOGSDON et al., 2002).

Por mais de 200 anos, os filtros lentos de areia têm sido um método eficaz para o controle de contaminantes microbiológicos no tratamento de água. O primeiro sistema utilizado para o abastecimento público de água foi um filtro lento de areia, construído em 1804 pelo engenheiro civil John Gibb, na cidade Pailey, Escócia (HESPANHOL, 1969). Em anos recentes observa-se um interesse renovado na aplicação de filtros lentos de areia, principalmente devido a capacidade de remoção de bactérias, vírus e cistos de protozoários como *Cryptosporidium* (HIJNEN et al., 2007). De acordo com Logsdon et al. (2002), o tamanho efetivo da areia deve variar entre 0,15 e 0,35 mm. Visscher (1990) recomenda que o coeficiente de uniformidade da areia seja menor que 5, preferencialmente menor que 3.

Através do meio filtrante é aplicado um fluxo descendente (**Figura 6**), que em condições normais de operação pode variar entre 0.1 e 0.4 m³/m²/h. Embora, esta taxa de filtração seja recomendada pela maioria dos autores, foram publicados alguns trabalhos empregando taxas de filtrações menores (ADLAN; CAKICI, 2007; ASLAN, 2008). O tempo em que um determinado volume de água permanece no filtro pode variar entre 3 a 12 h, dependendo da taxa de filtração empregada (HUISMAN; WOOD, 1974; LOGSDON et al., 2002). A menos que a água a ser tratada apresente altos valores de turbidez, este tipo de filtro pode operar com estas taxas de filtração sem grandes perdas de carga durante semanas ou até meses. Para o uso direto de filtros lentos de areia a água de alimentação deve apresentar turbidez menor que 5 UNT, e valores de clorofila *a* menores que 0.05 µg/L (CLEASBY, 1991). Acima destes valores o sistema de filtro lento de areia requer uma etapa de pré-filtração para manter um bom desempenho de operação.

De acordo com Di Bernardo, Brandão e Heller, (1999) filtros lentos de areia dispensam a utilização de coagulantes tendo em vista o uso de baixas taxas de filtração e granulometria fina do meio filtrante. Desta forma, estes sistemas se destacam pela simplicidade de operação, que além de não necessitarem de produtos químicos de custo elevado, também não utilizam grandes quantidades de energia elétrica.

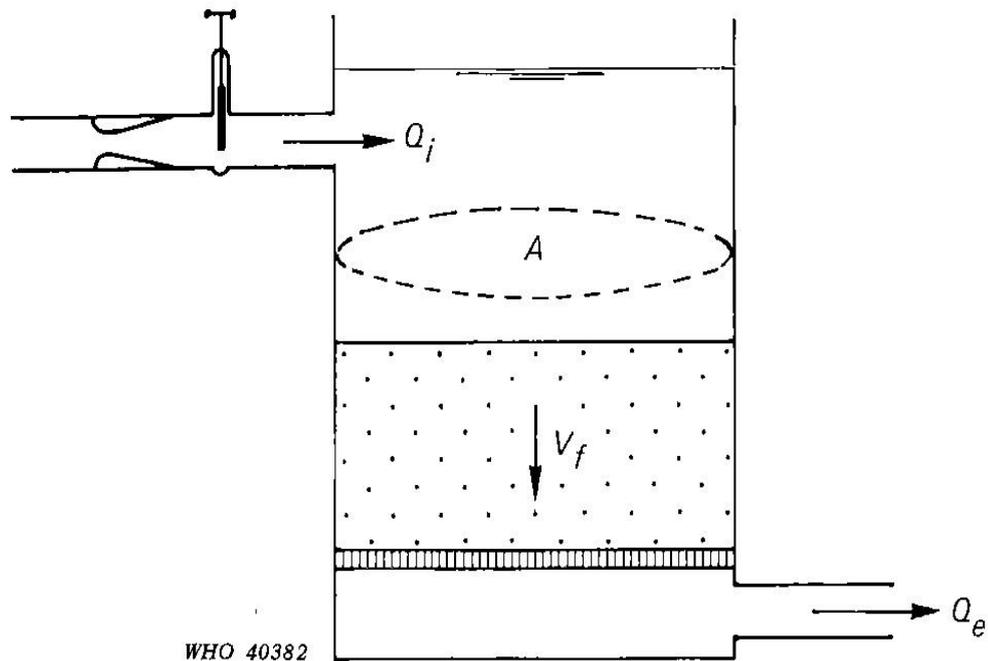


Figura 6- Esquema hidráulico de um filtro lento de areia. Vazão de alimentação (Q_i), a velocidade do fluxo através do meio filtrante (V_f), a vazão do efluente filtrado (Q_e) e a área do filtro (A).
Fonte: Huisman e Wood (1974).

1.1.4.1.1 Fenômenos físicos de retenção de partículas

Durante a operação dos filtros lentos de areia a água bruta percola através do meio filtrante por gravidade. Os mecanismos de transporte pelos quais as partículas em suspensão são colocadas em contato com os grãos de areia do meio filtrante incluem os seguintes processos: retenção física, que constitui a capacidade de interceptação de partículas maiores que os espaços intersticiais formados entre os grãos de areia; sedimentação, que constitui na precipitação de partículas em suspensão sobre o meio filtrante; inércia e forças centrífugas, que permitem que as partículas se movimentem fora da linha de fluxo; difusão, que movimenta as partículas contra as superfícies dos grãos de areia; e as forças de Van der Waals e forças eletrostáticas, que governam fenômenos de atração e repulsão. A propriedade física mais significativa apresentada pela areia é a capacidade de adsorção, fenômeno que ocorre em superfícies em contato com a água, que contribui para a remoção de partículas durante a passagem da água pelo meio filtrante.

Um fator que está relacionado aos mecanismos de remoção é a taxa de filtração, sendo que os processos físicos e biológicos são dependentes da taxa de filtração empregada (Ellis, 1985). Huisman e Wood (1974), reportam que taxas de filtração acima do recomendado, resultam em maior passagem de substrato pelo meio filtrante e dificuldade de retenção de bactérias. Pointer e Slade (1977) verificaram em filtros lentos de areia que taxas de filtração de $0.4 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{h}$, não demonstraram ter efeito sobre a capacidade de remoção de bactérias pelos filtros. Baixas taxas de filtração determinam que as velocidades de escoamento no interior do filtro sejam menores, facilitando assim a atuação dos mecanismos de transporte de nutrientes para a superfície e sua biodegradação pelos biofilmes aderidos (BRITO et al., 2005).

Como outros métodos de biofiltração, os filtros lentos de areia apresentam melhor desempenho com fluxos de alimentação constantes. Variações das taxas de filtração devem ser evitadas ao longo do período de operação (LOGSDON et al., 2002). Quanto maior o tempo de carreira, maior o equilíbrio alcançado entre as diversas populações que colonizam o filtro e melhor é o desempenho de remoção (DE OLIVEIRA, 2012).

Outro fator que se deve considerar para a remoção de microrganismos em filtros lentos de areia é a profundidade do meio filtrante. De acordo com Ellis (1985), para uma remoção de turbidez e bactérias é necessário um meio com profundidade mínima de 30 cm, mas 60 cm é necessário quando também houver a necessidade de remoção de vírus. Murtha e Heller (2003) demonstraram que os 30 cm iniciais do meio filtrante foram responsáveis por quase a totalidade de remoção de células bacterianas. Williams (1987), verificou que praticamente todas as células são retidas nos primeiros 20 cm do meio filtrante, sendo que os primeiros 5 cm são responsáveis por aproximadamente 50% da remoção.

De acordo com Campos, Smith e Graham (2006), grande perda de carga tende a ocorrer nos primeiros 2 cm do meio filtrante. Essa perda de carga na região da *schmutzdecke*, também aumenta em função do tempo e diminui em profundidade no meio filtrante. Grande parte do material depositado tende a se concentrar nos 10 cm iniciais do meio filtrante (**Figura 7**), inclusive matéria orgânica e EPS (DE OLIVEIRA, 2012).

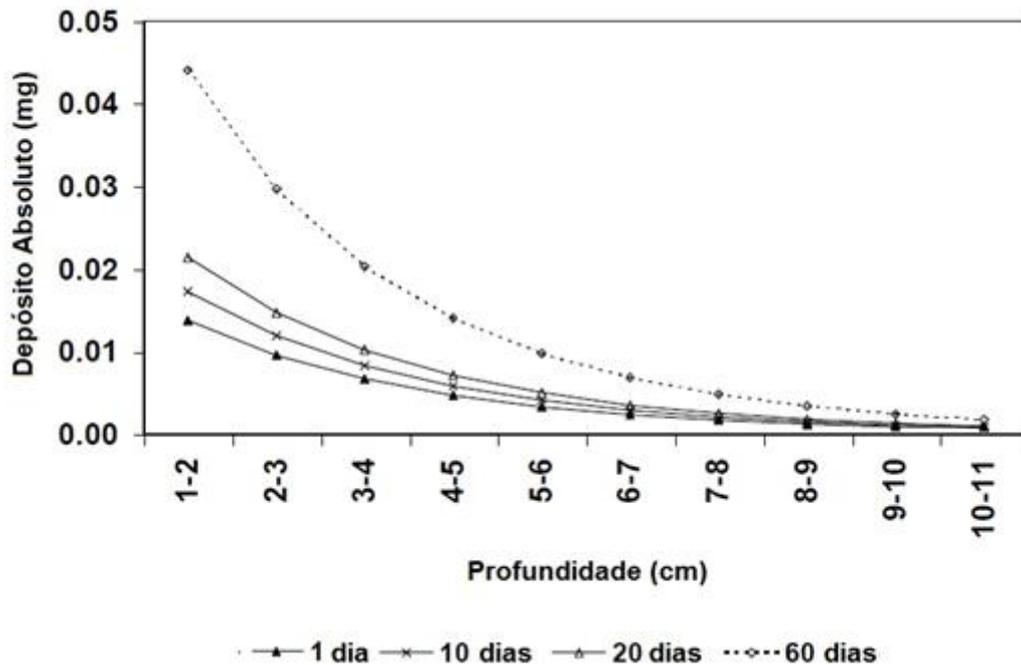


Figura 7. Depósito de material nos centímetros iniciais do meio filtrante em um filtro lento de areia. Fonte: Campos, Smith e Graham, 2006.

De acordo com Pyper e Logsdon (1991) apud Murtha (1998), os filtros podem operar com nível da lâmina d'água sobre o meio filtrante variável ou constante, com a função de proporcionar carga hidráulica suficiente para compensar a perda de carga na filtração. No caso de filtros com lâmina d'água variável, no início da operação é necessário uma coluna de aproximadamente 20 cm apenas, mas após a colmatação, este valor pode subir para até 1,0 m, quando geralmente, se encerram as carreiras. Geralmente se deve prever uma faixa de variação de altura, tendo em vista que maiores alturas reduzem a frequência de limpezas, porém, encarecem a estrutura do filtro.

Em geral, a maioria dos autores reportam que a diminuição em eficiência em filtros lentos de areia está relacionada principalmente ao aumento do tamanho do grão de areia, aumento na taxa de filtração, diminuição do tamanho do meio filtrante e diminuição do tempo de maturação biológica dos filtros (GUCHI, 2015).

1.1.4.1.2 Capacidade de filtração biológica e remoção de nutrientes

Em filtros lentos de areia, a *schmutzdecke* formada no topo do filtro pelo acúmulo de detritos e pela formação de biofilme microbiano, atua como filtro biológico e contribui para o aumento da capacidade de retenção de partículas com o passar do tempo de operação. Isto

ocorre principalmente devido a redução gradual dos espaços entre os grãos de areia, a medida em que a *schmutzdecke* se estabelece. O biofilme formado na superfícies dos grão de areia contribui para o aumento da capacidade de adsorção de partículas (HUISMAN; WOOD, 1974). De acordo com Wheeler, Bartman e Loyd (1988), o EPS gerado por biofilmes aderidos a areia tem papel fundamental na remoção de partículas, promovendo inclusive sítios de adsorção de vírus e bactérias.

A grande maioria dos organismos que colonizam filtros lentos, conforme apresentado por Eighmy et al. (1993), são bactérias heterotróficas, microalgas e protozoários. Podendo geralmente ocorrer também a presença de organismos maiores como nemátodos, anelídeos e artrópodes. Wakelin et al. (2011) analisaram a comunidade microbiana estabelecida em um filtro lento de areia. Os resultados demonstraram que a comunidade de eucariotos era dominada por *Cercozoa*. Outros organismos como protozoários ciliados, microalgas, protozoários ameboides, além de fungos dos filos *Ascomycota* e *Chytridiomycota* também foram detectados. A comunidade de Archeas foi constituída principalmente por membros da ordem *Halobacteriales*. Por divisão de filos, a comunidade bacteriana foi constituída por 43% de Proteobactérias, 24% de Firmicutes, e 16% de Actinobactéria. O crescimento de alguns organismos que se estabelecem no meio filtrante pode ser controlado por meio de predação ou pastagem. Weber-Shirk e Dick (1999), sugerem que a atividade de protozoários é um dos principais fatores que envolvem a remoção de bactérias. Por sua vez, as bactérias e Archeas são os principais agentes de remoção de nutrientes dissolvidos (WAKELIN et al., 2011).

A colonização por algas também desempenha importante papel em filtros lentos de areia. Durante o dia e sob influência da luminosidade, ocorre o crescimento de algas no meio filtrante, que passam a captar dióxido de carbono, nitrato, fosfato e outros nutrientes a partir da coluna d'água para a síntese de biomassa. O processo de fotossíntese libera oxigênio na água, auxiliando os processos de oxidação da matéria orgânica presente no filtro e tornando-a mais facilmente assimilável por microrganismos do biofilme (HUISMAN; WOOD, 1974).

Segundo Jeong et al. (2013), as características do meio filtrante podem implicar na seleção das bactérias que se estabelecem no meio filtrante. Desta forma, um meio que favoreça maior adesão de organismos heterotróficos pode conferir maior capacidade de remoção de AOC.

Trabalhos anteriores avaliaram o desempenho de filtros lentos de areia utilizados como pré-tratamento para processos de dessalinização por osmose reversa e além de controlarem a turbidez e SDI da água (CORRAL et al., 2014) também foram observadas reduções significativas de AOC (VAN DER HOEK et al., 2000). Além da capacidade de remoção de

carbono orgânico, os filtros lentos de areia podem remover outros nutrientes. Nakhla e Farooq, (2003) demonstraram a ocorrência simultânea de processos de nitrificação e desnitrificação em filtros lentos de areia processos. Adams (2006) observou remoção de 63% do nitrogênio e 56% do fósforo em filtros lentos de areia. Uma remoção de 95% de nitrato em filtros lentos de areia foi verificada por Aslan (2008). Porém, aumentos na taxa de filtração podem implicar em reduções nas taxas de remoção de nitrato (ASLAN; CAKICI, 2007; NAKHLA; FAROOQ, 2003).

Em filtros lentos de areia utilizados para o tratamento de efluentes secundários, conforme apresentado por Nancy, Josephine e Lizzy (2014), ocorreu remoção de aproximadamente 94% do fosfato contido na alimentação. E conforme apresentado por Farooq et al. (1994), filtros lentos de areia aplicados ao tratamento terciário de efluentes demonstraram taxas de remoção de nitrato, fosfato e sulfato de 17-30%, 8.3-84% e 5-10%, respectivamente. Porém, de acordo com Saayman (2000), ao analisar a concentração de ortofosfato na entrada e na saída de filtros lentos, foi constatado que além da remoção, pode, em algumas condições, também ocorre a liberação de fosfato do meio filtrante para a coluna d'água, aumentando a concentração do nutriente na saída do filtro.

1.1.4.1.3 Fatores limitantes para a aplicação de filtros lentos de areia

Embora considerada uma tecnologia de baixo custo, de fácil operação, que emprega as filtrações física e biológica associadas, e sem a necessidade de uso de produtos químicos, a aplicação de filtros lentos de areia ainda enfrenta uma série de limitações técnicas. Um fator limitante é a necessidade de períodos de maturação do filtro exigido no início de cada período de operação, entendido como o equilíbrio da comunidade que se forma no meio filtrante, necessário principalmente para que a filtração biológica ocorra de maneira eficiente (BRITO, et al., 2005; HUISMAN; WOOD, 1974). Durante este período, os lentos de areia operam em uma condição sub ótima de desempenho (HAIG, 2014) (**Figura 8**).

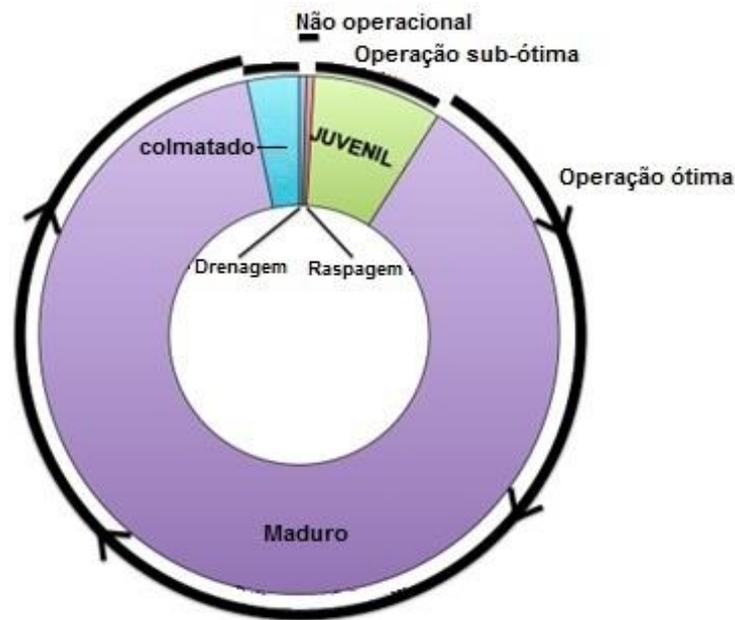


Figura 8. Período de maturação no ciclo de vida de filtros lentos de areia.
Fonte: Haig (2014), modificada.

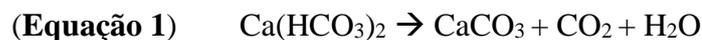
O amadurecimento de filtros lentos é um processo complexo que envolve os mecanismos biológicos e fisiológicos. De acordo com Joubert e Pillay (2008), pode ser necessário um período de maturação de 6-8 semanas para obter um bom desempenho de filtração biológica. Para iniciar a remoção de AOC, por exemplo, pode ser necessário um período superior a 8 semanas (DE OLIVEIRA, 2012). Porém, o tempo de maturação varia em cada sistema e/ou local de instalação, uma vez que o processo de maturação depende de uma série de fatores conjugados, como a concentração de nutrientes na água bruta, temperatura ambiente, quantidade de bactérias presentes no afluente, tamanho efetivo do grão de areia e outras condições relacionadas à operação (HUISMAN; WOOD, 1974). Conforme apresentado por Brito et al. (2005), um aumento da taxa de filtração para obtenção de um volume maior de filtrado, pode comprometer a maturação biológica do filtro. O emprego de fluxo ascendente também foi considerado um fator adverso.

Algumas outras limitações incluem obstruções precoces dos filtros causadas em condições de alta turbidez e altas concentração de algas, que conduzem às interrupções frequentes para limpeza. Quanto aos métodos de limpeza, estes na maioria das vezes envolvem a raspagem manual da *schmutzdecke*, que consiste em um procedimento que pode demandar exaustivo trabalho do operador. Com a remoção de grande parte do biofilme aderido pela raspagem, pode ocorrer a redução da capacidade de biofiltração, necessitando um novo período de maturação (COLLINS; EIGHMY; MALLEY, 1991; HUISMAN; WOOD, 1974).

No caso dos procedimentos de limpeza para recuperação dos filtros, em substituição ao procedimento de raspagem é possível utilizar o método *wet harrowing* que consiste no revolvimento dos primeiros centímetros do meio filtrante onde se forma a *schmutzdecke*, sendo este um procedimento que demanda menor trabalho para o operador em relação ao método de raspagem e necessita um tempo menor de maturação, já que parte do biofilme permanece nas primeiras camadas do filtro (COLLINS; EIGHMY; MALLEY, 1991). Porém, ambos os procedimentos podem ser considerados desvantajosos quando comparados com procedimentos comumente utilizados em filtros rápidos, como a retrolavagem.

Recentemente, Pizzolatti et al. (2015) demonstraram que a retrolavagem também pode ser utilizada em filtros lentos de areia, sem nenhum prejuízo de rendimento em termos de qualidade de água, perda de carga, e duração das carreiras, quando comparada com métodos de limpeza por raspagem.

O controle da qualidade de água de alimentação é um fator determinante para evitar uma obstrução prematura de filtros lentos de areia. É recomendado que a água de alimentação tenha, preferencialmente, até 5 UNT de turbidez, porém o parâmetro mais crítico é a concentração de algas, tendo em vista que florações podem causar rapidamente a obstrução de filtros. As concentrações de clorofila-*a* devem ser preferencialmente inferiores a 0.05µg/l (CLEASBY, 1991; COLLINS; EIGHMY; MALLEY, 1991). Embora alguns tipos de algas possam beneficiar o processo de biofiltração disponibilizando mais oxigênio dissolvido no meio, facilitando a oxidação da matéria orgânica, também pode ocorrer com o processo de fotossíntese uma redução nos níveis de CO₂, levando a uma dissociação do bicarbonato, gerando carbonato e CO₂, conforme **equação 1**. A redução nos níveis de bicarbonato leva a uma diminuição temporária da dureza da água, e conseqüentemente à precipitação de carbonatos insolúveis no meio filtrante (HUISMAN; WOOD, 1974).



A precipitação de carbonato de cálcio pode gerar um aumento do grão da areia que compõe o meio filtrante, sendo este um fenômeno não desejado, uma vez que os filtros são mais efetivos em remoção de partículas com meio filtrante composto por grão finos de areia. Além disso, a precipitação de carbonato pode “cimentar” os grão de areia formando conglomerados, prejudicando a capacidade de filtração. Em caso de meios filtrantes compostos por carvão ativado, este tipo de precipitação pode inibir a capacidade de adsorção do material (LOGSDON, 2008).

No caso de grande concentração de algas na água de alimentação alguns autores recomendam cobrir os filtros para protegê-los da luz. Desta forma, com base nas características da água a ser tratada e na qualidade da água que se quer obter após o tratamento, deve ser estabelecido na fase de projeto se os filtros lentos serão construídos expostos ou protegidos da luz. Embora alguns trabalhos tenham sido publicados sobre este assunto, ainda restam algumas incertezas acerca do desempenho de filtros lentos com e sem cobertura.

Campos et al. (2002) operaram filtros lentos de areia com e sem cobertura. Os resultados demonstraram que a biomassa intersticial no filtro descoberto aumentou com o tempo de operação e decresceu com a profundidade do meio filtrante, havendo desenvolvimento da *schmutzdecke* no topo do meio filtrante. Nos filtros cobertos, houve pouco acúmulo de biomassa com o tempo, e nenhuma correlação foi observada entre a concentração de biomassa e a profundidade do filtro, além de não ter ocorrido o desenvolvimento da *schmutzdecke* nos filtros cobertos. Apesar das diferenças no estabelecimento de biomassa em meio filtrante, não foram observadas diferenças significativas na remoção de carbono orgânico dissolvido e total. Porém, foi observado por Huisman e Wood (1974), que o consumo de oxigênio em filtros descobertos pode ser 10 vezes maior do que em filtros cobertos. No trabalho de Iwase et al. (2006), foi possível verificar que o oxigênio adicional fornecido pela comunidade de algas implicou em um aumento do potencial de biodegradação em filtros lentos. Além disso, o estabelecimento da biomassa de algas em filtros descobertos não gerou nenhum prejuízo de perda de carga em relação aos filtros cobertos.

Os tipos de algas predominantes também são determinantes para o bom desempenho de filtros lentos de areia, uma vez que o crescimento de algas filamentosas gera uma rede de fibras formando uma manta, que sob a influência da luz solar mais intensa produz bolhas de oxigênio, que quando liberadas diminui a resistência no meio filtrante com um aumento do fluxo de filtração. Por outro lado, quando microalgas como diatomáceas são predominantes, esta manta não tem grande desenvolvimento, permitindo maior resistência à filtração (HUISMAN; WOOD, 1974).

Um estratégia utilizada para evitar obstruções precoces, incluindo as que ocorrem pelo elevado aporte de algas, é a aplicação de sistemas de pré-filtração. Conforme apresentado por Iwase et al. (2006), o uso de *roughing filters* de fluxo ascendente como tratamento preliminar foi efetivo para minimizar o aumento da perda de carga em filtros lentos.

O uso de *roughing filters* (filtros com meio filtrante de granulometria mais grossa que a da areia, geralmente construídos com cascalho) é descrito na literatura como etapa comumente utilizada para o pré-tratamento da água de alimentação (HENDRICKS, 1991; WEGELIN,

1996). Filtros de discos também podem ser utilizados com a mesma finalidade (DE OLIVEIRA, 2012). O pré-tratamento da água antes da filtração lenta é imprescindível quando a água a ser tratada está sujeita a mudanças severas nos padrões de qualidade ou quando há elevada concentração de coloides ou de poluentes industriais, comprometendo a capacidade de filtração (HUISMAN; WOOD, 1974).

Outro desafio em filtros lentos de areia é a dificuldade em aumentar a capacidade de biofiltração. Alguns autores recomendam a pré-ozonização da água de alimentação, visando a quebra de ácidos húmicos e fúlvicos, bem como substâncias de alto peso molecular em geral, com o aumento de compostos de fácil assimilação por microrganismos. Também é citado o uso de *nonwoven* (material sintético não tecido) no topo do meio filtrante, visando um aumento no desempenho, tendo em vista que este material possui grande área para adesão de biofilme e grande porosidade (COLLINS; EIGHMY; MALLEY, 1991). Graham e Collins (2014), citam o uso de mantas de polipropileno com maior porosidade do que a areia, que além de melhorarem o desempenho de filtração, ainda eliminam a necessidade de raspagens da camada superior do meio filtrante, já que estas mantas podem ser removidas lavadas e reutilizadas, reduzindo o trabalho de manutenção.

Geralmente filtros lentos são estruturas pesadas e de pouca ou nenhuma mobilidade, pois são construídos com materiais de alta densidade, como areia, pedriscos e cascalhos. Desta forma, são necessários mais estudos visando a substituição dos materiais convencionais por materiais mais leves. Ferraz e Paterniani (2002), verificaram que mantas *nonwoven*, foram eficazes também ao substituir a camada de drenagem de filtros lentos de areia, que geralmente é construída por pedriscos e cascalhos no modelo convencional. Essa substituição ocorreu sem prejuízos a capacidade de remoção de impurezas. A utilização de materiais leves, como o *nonwoven*, pode apresentar benefícios na construção de filtros, com a redução da quantidade de enchimento dos filtros e substituindo materiais que requerem mais trabalho para a manipulação.

Dentre todos os desafios encontrados para o estabelecimento dos filtros lentos de areia como tecnologia viável para o tratamento de água, o mais significativo é que estes sistemas requerem grandes áreas para sua instalação, grandes quantidades de meio filtrante, e mão-de-obra adicional para as etapas de limpeza (CIPOLLINA, 2009). Por exemplo, enquanto a área necessária para a instalação de um filtro lento de areia para o uso industrial é de 1620 m² (para a produção de 486 m³/h a uma taxa de 0.3 m³/m²/h) um filtro rápido de areia ocupa apenas 196 m² para tratar o mesmo volume de água, sendo um aspecto de desvantagem, principalmente em locais onde as áreas disponíveis são limitadas e/ou muito caras (HUISMAN; WOOD, 1974). Em alguns lugares como no Japão, projetos para instalação de sistemas de tratamento de água

por filtração lenta deixaram de ser desenvolvidos e algumas plantas antigas deixaram de ser operadas. Principalmente devido ao interesse por outras alternativas para o uso do solo no país. Além disso, novas tecnologias para o tratamento de água potável também demonstraram ser efetivas na remoção de turbidez e de alguns patógenos como *Cryptosporidium*, gerando certa pressão para a escolha de tecnologias mais compactas ao invés de filtros lentos de areia (YAMAMURA, 2014).

1.1.4.2 Sistemas de filtros rápidos de areia biológicos

Embora os filtros lentos possuam alta capacidade de filtração física e biológica e dispensem a utilização de produtos químicos, com o passar dos anos ocorreu um gradativo abandono de sua utilização em sistemas de abastecimento público de água, em prol de filtros rápidos de areia (HESPANHOL, 1969), principalmente pela maior capacidade de produção de água tratada em um espaço menor comparado aos filtros lentos. Os filtros rápidos são mais compactos, construídos com areia de tamanho efetivo 0.4-1.2 mm, sendo geralmente operados com taxas de filtração entre 5 e 15 m³/m²/h (DI BERNARDO, 2002), embora na literatura estejam descritos filtros rápidos operados com taxas menores (ALBERTS et al., 2015; LEE et al., 2014). Estes filtros são amplamente utilizados no tratamento de água para o abastecimento público e para o uso industrial, contando com uma etapa prévia de clarificação que utiliza coagulantes químicos (DI BERNARDO; BRANDÃO; HELLER, 1999; HELLER; PÁDUA, 2006; MIERZWA; HESPANHOL, 2005).

Os filtros rápidos de areia também podem ser utilizados sem a adição prévia de coagulantes, principalmente aplicados no tratamento de águas subterrâneas para remoção de amônio e nitrito. Esta aplicação é possível devido a microbiota estabelecida no meio filtrante com capacidade de nitrificação (GULAY et al., 2014; LEE et al., 2014; PALOMO et al., 2016). Desta forma, esses sistemas também podem ser denominados filtros rápidos de areia biológicos.

Trabalhos com filtros rápidos biológicos vêm sendo desenvolvidos na Dinamarca, que obtém grande parte da água para o abastecimento público em mananciais subterrâneos. O tratamento é feito principalmente por meio de aeração seguida da passagem da água pelos filtros. Porém, o sistema de tratamento deve garantir qualidade da água para potabilidade, sendo uma grande preocupação a contaminação da água subterrânea por pesticidas (HEDEGAARD; ALBRECHTSEN, 2015). A capacidade de degradação de resíduos de pesticidas em águas subterrâneas tratadas por filtros rápidos biológicos foi demonstrado por Alberts et al., (2015) e Hedegaard e Albrechtsen (2015). Porém, estes filtros possuem baixa capacidade de remoção do

carbono orgânico não volátil (ALBERTS et al., 2015; LEE et al., 2014). De acordo com Alberts et al. (2015), o consumo de oxigênio em processos de oxidação da amônia a nitrato pode competir com a demanda de oxigênio para a degradação de carbono pela respiração de microrganismos.

A adição de coagulante previamente a filtração rápida é tida como uma etapa importante para a remoção de carbono orgânico total, sendo observado maior taxa de remoção quando associadas as etapas de coagulação e biofiltração. Porém, essa eficiência de remoção pode variar de acordo com a composição da matéria orgânica natural (HOZALSKI; GOEL, 1995).

Embora contribua para a remoção de COT, a etapa de coagulação também representa um custo adicional no sistema de tratamento. Embora exista um custo considerado pequeno com a aquisição de produtos químicos, pode haver um alto custo ambiental que envolve o manejo destes produtos e disposição final do lodo produzido (LAU et al.; 2014; PEARCE, 2010). Outra desvantagem da etapa de coagulação é que em ambientes com frequentes alterações na qualidade da água, como é o caso da água do mar, também é necessário realizar frequentemente o *jar-test*, utilizado para definir a melhor combinação das concentrações de produtos químicos e condições de pH ideais em cada situação (BRATBY, 2006). Bar-Zeev et al., (2013) demonstraram que no pré-tratamento para sistemas de osmose reversa, os compostos químicos podem ser substituídos por métodos de biofloculação antes da passagem por filtros rápidos de areia.

A filtração rápida precedida de coagulação e floculação é utilizada em um grande número de plantas de osmose reversa, sendo considerado o método convencional de pré-tratamento da água bruta com foco no controle de *fouling*. Na maioria destes sistemas são utilizados filtros multimídia contendo areia e carvão antracito (BAR-ZEEV et al., 2012; BONNÉLYE; GUEY; DEL CASTILHO, 2008; BREHANT; BONNÉLYE; PEREZ, 2002; LEVI et al., 2015; MITROULI et al., 2009; MITROULI et al., 2008; VOUTCHKOV, 2009b). BAR-ZEEV et al. (2012) demonstraram que filtros rápidos de areia utilizados no pré-tratamento de água do mar em plantas de osmose reversa, foram eficientes na retenção de partículas maiores que 0.35 mm além de moderada eficiência de biofiltração, sendo necessário mais estudos para maximizar o desempenho desta tecnologia como biofiltro.

1.1.5 Justificativas e organização dos objetivos do trabalho em capítulos

O pré-tratamento da água do mar em plantas de dessalinização por osmose reversa é feito tipicamente pelos filtros granulares convencionais, que contam com uma etapa de coagulação e floculação, necessitando o uso de produtos químicos coagulantes. O pré-tratamento da água por sistemas de membranas, como a microfiltração e ultrafiltração, também vem sendo adotado devido principalmente aos benefícios relacionados ao elevado desempenho no preparo da água para a alimentação de osmose reversa. Porém, um pré-tratamento composto por sistemas de membrana também pode apresentar alguns problemas como uma alta incidência de *fouling* e conseqüentemente uma maior necessidade de uso de produtos químicos para limpeza e/ou reposição de elementos de membrana, dentre outros problemas (VOUTCHKOV, 2010). Diante deste cenário, o presente trabalho teve como escopo a avaliação de sistemas de filtros lentos de areia como um método de tratamento alternativo aos tipicamente utilizados nas plantas de osmose reversa para dessalinização de água do mar.

O Capítulo 1 foi constituído por uma compilação de informações para contextualizar o leitor no tema abordado, caracterizar o problema da formação de biofilmes e detalhar os sistemas de tratamento de água do mar estudados. Os objetivos principais do trabalho se concentraram nos Capítulos 2 e 3, que respectivamente, objetivaram avaliar se os de filtros lentos de areia apresentavam alguma capacidade em preparar a água do mar, auxiliando no controle de biofilmes sobre membranas, e comparar o desempenho de filtros de areia biológicos lentos e rápidos e uma unidade de ultrafiltração. O Capítulo 4 consistiu de um trabalho baseado em um objetivo adicional ao projeto, que buscou comparar o desempenho de dois sistemas de baixo custo para o tratamento de água para tanques de aquicultura. Um sistema foi constituído por um filtro rápido de areia seguido de um filtro lento e outro apenas por um filtro rápido. A comparação buscou determinar se haveria diferença de desempenho entre os sistemas para o controle da formação de biofilmes e depósito de material orgânico nos tanques, buscando determinar qual dos sistemas apresentaria melhor eficiência no preparo da água de alimentação dos tanques, refletindo no controle da formação de biofilmes em tanques de cultivo, e conseqüentemente na redução de custos na área da aquicultura.

CAPÍTULO 2 – PRÉ-TRATAMENTO DA ÁGUA DO MAR POR FILTROS LENTOS DE AREIA: ESTRATÉGIA PARA O CONTROLE DE BIOFILMES EM MEMBRANAS DE OSMOSE REVERSA

2.1 Introdução

O emprego de sistemas de pré-tratamento que envolvem a filtração biológica tem se mostrado uma alternativa efetiva para o controle da formação do *biofouling* em membranas principalmente por meio da redução dos níveis de AOC (BOUWER; CROWE, 1988; GRAHAM, 1999; HU et al., 2005; RAY et al., 2002). Weinrich, Schneider e LeChevallier, (2011), avaliaram que em filtros de areia utilizados como etapa de pré-tratamento, a remoção de AOC pela atividade biológica pode chegar a cerca de 80%. Além disso, mais de 32% do AOC foi removido logo na primeira camada de meio filtrante. Van der Hoek et al. (2000), verificaram que um filtro lento de areia, utilizado como etapa de pré-tratamento de água para alimentação de sistemas de osmose reversa, foi capaz de reduzir os valores de AOC gerando água com concentração próxima de 4 µg C/l, menor que o valor recomendado por Van der Kooij (1992), para controle do crescimento de bactérias heterotróficas.

Filtros lentos de areia são sistemas de baixo custo de instalação, de simples operação e capazes de reduzir os níveis de AOC da água do mar, combinando a filtração biológica com altas taxas de remoção de sólidos particulados, e reduzindo o potencial de formação de biofilmes (DE OLIVEIRA, 2012). A ação de filtração biológica ocorre principalmente na *schmutzdecke*, uma camada ativa de biofilme formada no meio filtrante, na interface areia-água (CAMPOS et al., 2002; HUISMAN; WOOD, 1974; JOUBERT; PILLAY, 2008). Além disso, são sistemas que dispensam a utilização de qualquer produto químico durante a operação, tendo em vista que alguns produtos utilizados em sistemas de pré-tratamento representam mais custo ao processo e riscos ambientais (TAKEUCHI et al., 2013).

Embora sejam considerados formas de pré-tratamento eficazes para o controle do *biofouling*, os sistemas convencionais de filtros lentos de areia construídos em tanques podem ter sua aplicação limitada pela disponibilidade de espaço, principalmente quando se necessitam grandes volumes de filtrado, já que a vazão de filtrado deve acompanhar a área do filtro, respeitando as taxas de filtração máximas estabelecidas na literatura (BRITO et al., 2005; HUISMAN; WOOD, 1974; KUBARE; HAARHOFF, 2010; LOGSDON, 2002; WEGELIN, 1996).

De acordo com Martensson e Jabur (2006) é possível expandir a utilização de filtros lentos de areia para novas aplicações, diferentes do uso original para o tratamento de água doce

superficial. Porém, novos desafios devem ser superados para se obter um bom desempenho e operação segura em diferentes condições. Desta forma, para estas novas aplicações, além do conhecimento adquirido no passado, voltado para a aplicação tradicional, é necessário avaliar questões particulares relacionadas as novas condições hidráulicas, químicas e microbiológicas, por meio de novos estudos. Assim, o uso dos filtros lentos de areia para filtração de água do mar pode ser considerada uma destas novas aplicações, como método de pré-tratamento para controlar a formação de biofilmes em membranas de osmose reversa.

2.2 Objetivos

2.2.1 *Objetivos gerais*

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho de filtros lentos de areia como pré-tratamento da água do mar, com foco no controle de biofilmes sobre membranas utilizadas no processo de dessalinização por osmose reversa.

2.2.3 *Objetivos específicos*

- ❖ Verificar se os filtros lentos de areia aplicados como sistemas de pré-tratamento para água do mar são capazes de produzir água de alimentação de acordo com os parâmetros de qualidade recomendados pelos fabricantes de membranas de osmose reversa;
- ❖ Avaliar de que forma as oscilações naturais de turbidez da água do mar interferem no desempenho dos filtros lentos de areia;
- ❖ Quantificar a redução do potencial de crescimento microbiano (PCM) nas amostras de água coletadas antes e depois da etapa de pré-tratamento;
- ❖ Identificar as camadas bioativas do meio filtrante em filtros lentos de areia;
- ❖ Por meio de ensaio utilizando câmaras de fluxo, verificar se o pré-tratamento por filtros lentos é capaz de controlar a formação de biofilmes sobre membranas de osmose reversa;
- ❖ Por meio da quantificação de proteínas e carboidratos, caracterizar o material biológico aderido sobre as membranas quanto a sua composição bioquímica.

2.3 Materiais e Métodos

2.3.1 Descrição da área de instalação dos sistemas piloto

O sistema de pré-tratamento de água do mar constituído por filtros lentos foi instalado no CEBIMar - Centro de Biologia Marinha da USP, situado na Praia do Cabelo Gordo, dentro do Canal de São Sebastião (CSS, **Figura 1**), que possui cerca de 22 km de extensão e separa o município de São Sebastião (continente) de Ilhabela (Ilha de São Sebastião). O trecho mais estreito do Canal, com aproximadamente 3 km de distância ao Sul está localizado entre o mangue do Araçá, em São Sebastião e a Barra Velha, em Ilhabela. O CEBIMar está localizado a aproximadamente 2 km ao sul deste local. Na porção do Canal à Nordeste do CEBIMar estão as regiões mais rasas com fundo composto por sedimento fino, que pode ser ressuspenso elevando a turbidez da água do mar, principalmente pelas correntes geradas pelos ventos de Leste e Nordeste. Na região, eventos como entradas de frentes frias são acompanhados de ventos de sul e sudoeste, que dependendo da intensidade, provocam suspensão de sedimento devido à agitação do mar.

Os experimentos foram realizados entre maio e novembro de 2013, compreendendo principalmente o inverno. Nesta época do ano são constantes as chegadas de frentes frias gerando correntes com predominância de fluxo para Nordeste (CASTRO-FILHO, 1990 apud OLIVEIRA; MARQUES, 2007).

2.3.2 Descrição do sistema de captação de água do mar e do pré-tratamento

O ponto de captação foi instalado no costão rochoso na ponta do Baleeiro, aproximadamente 100 m da praia onde foram instalados os sistemas piloto de pré-tratamento, entre a ponta do Baleeiro e a Ilha Universidade (**Figura 9**). A parte de sucção da linha de captação foi construída com tubos de PVC com $\frac{3}{4}$ " de diâmetro e instalada a uma profundidade de aproximadamente 2 m e a uma distância de aproximadamente 1 m do fundo rochoso. Essa linha foi conectada a uma bomba que efetuou o recalque da água bruta através de mangueiras também com $\frac{3}{4}$ " de diâmetro. A água captada foi então pré-filtrada em filtro de discos Arkal (Amiad® Water Systems, Israel) com capacidade de retenção de partículas maiores que 70 μm . A água foi então armazenada em um reservatório suspenso (4 m de altura) com capacidade de 300 l, e então foi distribuída por gravidade para dois filtros lentos de areia dispostos para operação em paralelo (**Figura 10**).

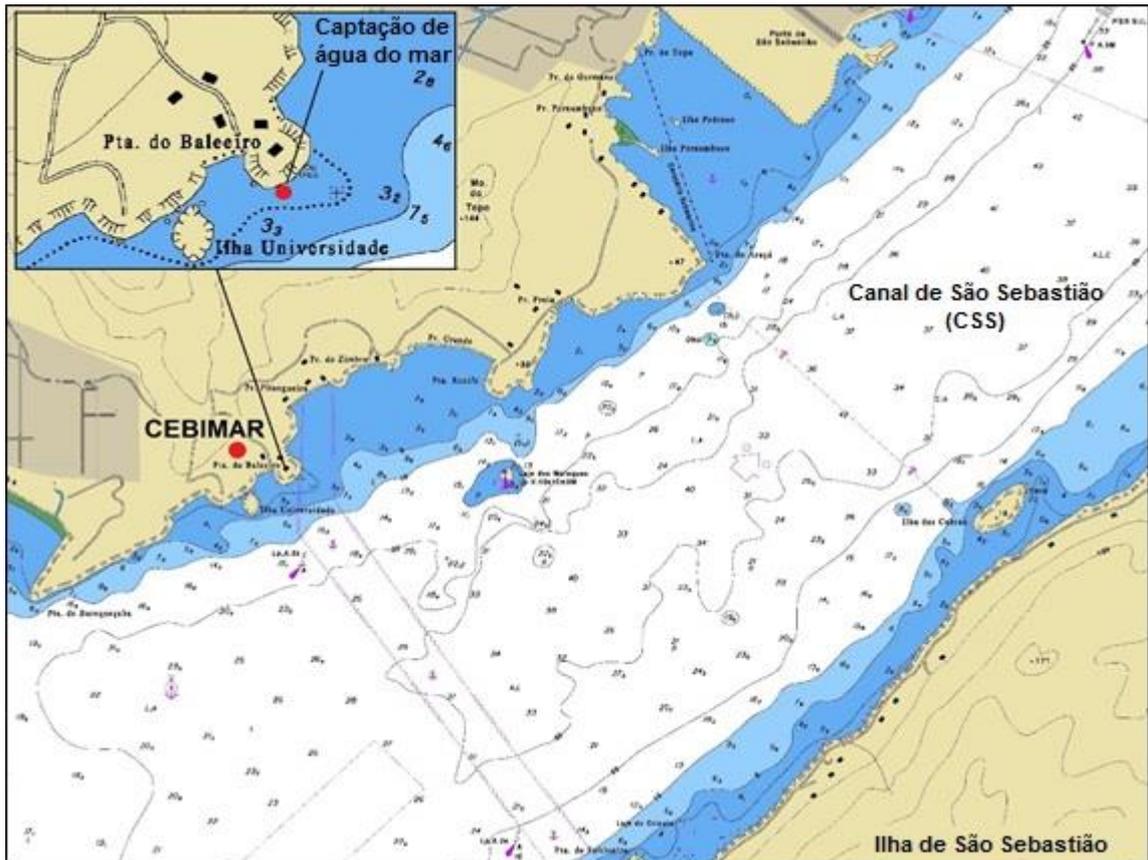


Figure 9. Localização do CEBIMar no Canal de São Sebastião. Em destaque (acima, à esquerda) é apresentado o ponto de instalação da captação de água do mar.

Fonte: Carta náutica GeoTIFF da Marinha do Brasil (2013), modificada.

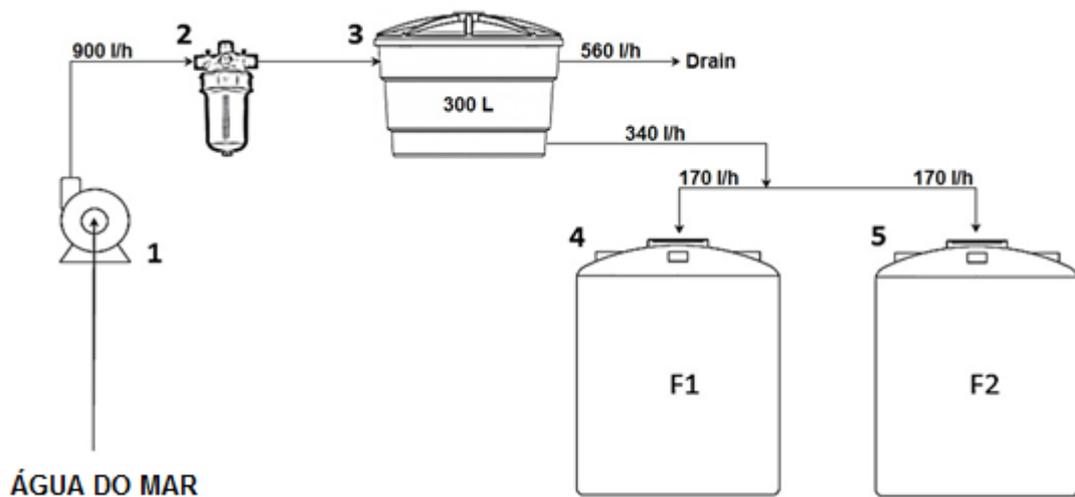


Figura 10. Fluxograma do sistema de pré-tratamento de água do mar constituído por: bomba de captação (1); filtro de discos (2); reservatório de água (3), filtro lento 1 (4); filtro lento 2 (5).

Os filtros lentos foram construídos com areia de classificação fina obtida na Pedreira Santa Isabel Ltda. Para o preparo do meio filtrante a areia foi previamente lavada em bateladas de 150 kg em um tanque com capacidade de 300 l com difusores de ar instalados no fundo, para remoção de partículas finas.

Os filtros foram montados em tanques de polipropileno com capacidade de 2.000 l e o meio filtrante foi montado com uma camada de drenagem de cascalho (20 – 60 mm) com 10 cm espessura e logo acima uma camada de transição também com 10 cm, composta por pedriscos (2 – 8 mm). Acima dos pedriscos foi adicionada uma camada de 60 cm de areia obtida no procedimento de lavagem (**Figura 11**). Ensaio granulométrico demonstraram que a areia obtida possuía um tamanho efetivo de grão em torno de 0.1mm e coeficiente de uniformidade 2.3. Cada filtro foi operado com uma coluna d'água de 60 cm sobre o leito de areia e cada um contou com uma área de filtração de 1.69 m². O tubo de coleta de filtrado foi montado em formato de sifão com a curva situada 10 cm acima da superfície do meio filtrante, para prevenir a drenagem do meio filtrante em caso de interrupção da alimentação do filtro por problemas operacionais.

Os pontos de coleta de amostras de água foram instalados verticalmente na lateral dos filtros. Para a coleta de água de alimentação foi adicionada uma derivação com registro na linha de fornecimento de água para o filtro. Logo abaixo foram instalados os pontos para coleta de água na altura da *schmutzdecke*, e nas profundidades 10 cm, 30 cm e 50 cm do meio filtrante. O último ponto de amostra foi a própria linha de coleta de filtrado (**Figura 11**).

O filtro denominado F1 foi utilizado previamente em outro teste, que inclui um período de maturação com a formação da *schmutzdecke*. Desta forma, foi necessária a recuperação com a remoção da *Schmutzdecke* para este experimento. Já o filtro denominado F2 não havia sido utilizado anteriormente.

Em ambos os filtros foi empregada um taxa de filtração de 0.1 m³/m²/h, correspondente a taxa mínima recomendada na literatura para filtros lentos de areia (BRITO et al., 2005; ELLIS; AYDIN, 1995; HUISMAN; WOOD, 1974; VISSCHER, 1990; WEGELIN, 1996;).

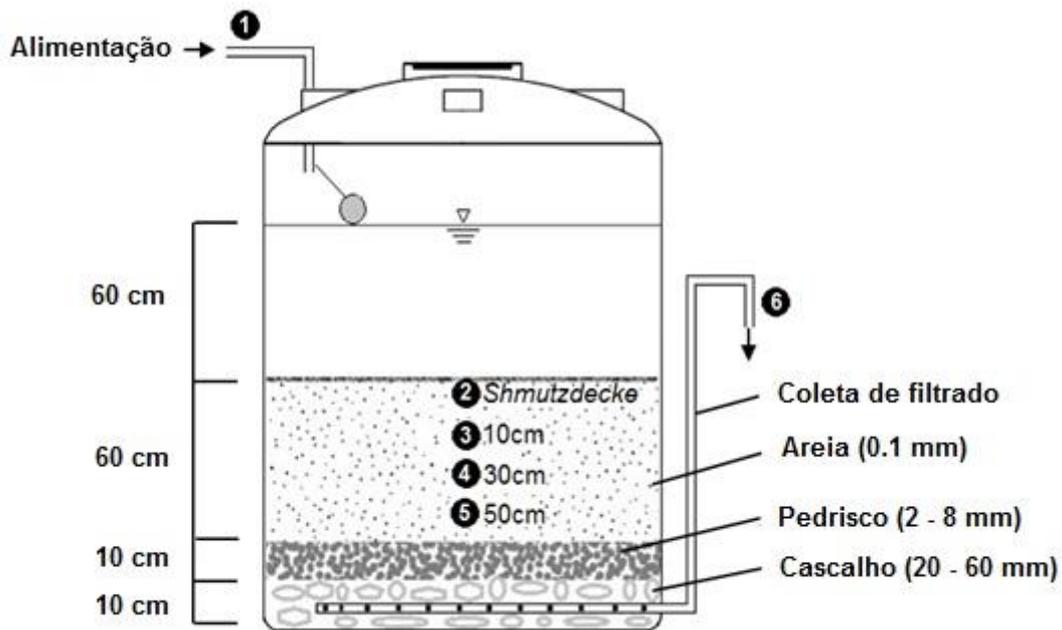


Figura 11. Representação da configuração interna dos filtros lentos de areia, incluindo as camadas que constituem o meio filtrante. Os números de 1 a 6 representam os pontos de amostragem de água.

2.3.3 Análises físico-químicas

Os parâmetros físico-químicos recomendados por fabricantes de membrana para qualificar a água de alimentação foram avaliados após o pré-tratamento. A temperatura e pH foram medidos durante todo o período de operação, assim como a turbidez, obtida por turbidímetro de luz branca 2100Q® (Hach Company, USA). O *Silt density index* (SDI 15 min.) foi determinado seguindo o protocolo D-4189 da *American Society for Testing and Materials* (ASTM).

2.3.4 Potencial de crescimento microbiano (PCM)

O potencial de crescimento microbiano (PCM) foi determinado por meio de teste similar ao empregado na determinação de AOC, descrito originalmente por Van der Kooij et al. (1982) e posteriormente modificado (LE CHEVALLIER et al., 1993; WEINRICH et al., 2009; WEINRICH et al., 2011), sendo utilizado para avaliar o potencial de crescimento de uma cultura padrão em cada amostras de água. Uma vez que não havia disponível para o teste uma cepa bacteriana marinha, dentre aquelas descritas na literatura em testes similares, foram então isoladas bactérias nativas em amostras de água obtidas no local do experimento. Estas bactérias

foram mantidas em cultura pura, e para o teste foi escolhida a cultura com maior taxa de crescimento em amostras de água do mar previamente autoclavadas. A cepa bacteriana escolhida foi posteriormente identificada como *Pseudoalteromonas songiae* (LAU et al, 2005), por meio de sequenciamento 16s rDNA.

Para a determinação do PCM, a coleta de amostras bem como o preparo de material seguiu o protocolo descrito por Weinrich et al., (2009). Após a coleta, as amostras foram filtradas (0.22 µm) e pasteurizadas em banho-maria a 70 °C por 30 min. (LE CHEVALLIER et al., 1993; WEINRICH et al., 2009). O preparo do inóculo bacteriano foi feito transferindo uma colônia de *Pseudoalteromonas songiae* do meio sólido ágar marinho para água do mar filtrada (0.22 µm) e autoclavada (120 °C, 15 min.). As culturas foram aclimatadas por 7 dias, chegando a uma concentração de 10⁵ células/ml. Antes de transferir o inóculo para as amostras, foi realizado um procedimento de lavagem das células para minimizar a contaminação das amostras com AOC residual proveniente do inóculo. Para isto, foi feita centrifugação (5000 rpm por 5 min.) de 15 ml da cultura bacteriana. Então o sobrenadante foi descartado e o *pallet* foi ressuspensionado em 15 ml da solução de lavagem, que consistiu em uma água do mar artificial preparada de acordo com Schneider e Marshall (1994). O procedimento de lavagem foi repetido mais duas vezes e então as bactérias foram inoculadas em cada amostra a uma concentração de 10² células/ml. O crescimento bacteriano foi monitorado a cada 24 h por meio de plaqueamento em ágar marinho até a estabilização do número de colônias. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/ml).

2.3.5 Monitoramento da formação de fouling biológico em membranas de osmose reversa

Amostras de membranas de osmose reversa foram obtidas com a abertura de um módulo de modelo RE2540-SR (CSM[®], Seoul, Korea), que ainda não havia sido utilizado (lacrado e imerso em solução preservante). As membranas foram cortadas em pedaços, cada um com área de 36 cm², que foram deixados de molho por 1 h em água destilada, enxaguados e em seguida colocados em câmaras de fluxo de acrílico. As câmaras foram embaladas em papel alumínio e instaladas na saída de cada ponto de coleta do sistema de pré-tratamento. O fluxo de água nas câmaras foi ajustado inicialmente e mantido durante os períodos de teste a uma vazão de 30 l/h. O primeiro período de testes ocorreu durante os primeiros 60 dias de operação do pré-tratamento e o segundo por mais 60 dias a partir do 88º dia de operação. Para a quantificação de biofilmes nas membranas expostas foi utilizado procedimento de extração com trituração das membranas e desagregação de biofilmes em liquidificador, descrito por Da Costa (2011a)

com a separação de fragmentos de membranas do sobrenadante com o auxílio de um coador. O sobrenadante foi então separado em um frasco para a quantificação de proteínas e carboidratos pelos métodos de Bradford (1976) e Dubois et al. (1956), respectivamente, conforme protocolo descrito por Da Costa (2011b).

2.3.6 Quantificação de material biológico aderido ao meio filtrante

Ao final do experimento, os filtros foram drenados e foram introduzidos no meio filtrante tubos de PVC com diâmetro de 1” para retirar uma coluna de areia e posteriormente obter amostras serrando o tubo nos pontos correspondentes a cada profundidade desejada. Este procedimento foi baseado nos métodos de coleta de testemunho de sedimentos (BOYD, 1995). As profundidades de análise foram correspondentes as dos pontos para coleta de água: *Schmutzdecke*, 10 cm, 30 cm e 50 cm (em ordem descendente).

Para extração de biofilmes aderidos às partículas de areia 10g de areia foi suspensa em 100 ml de água MilliQ e então processadas em liquidificador (Black & Decker IB900) por 2 min. em rotação máxima. Após sedimentação dos grãos de areia maiores, 50 ml do sobrenadante de cada amostra foram separados em frascos para a quantificação de carboidratos (DUBOIS et al., 1956) e proteínas (BRADFORD, 1976).

2.3.7 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas por ANOVA, considerando o fator tempo (correspondente às coletas realizadas ao longo do experimento) e o fator tratamento. Para comparação dos tratamentos em pares, e em cada tempo de coleta, as médias foram analisadas por meio do teste *post-hoc* de Tukey.

2.4 Resultados e Discussão

2.4.1 Monitoramento de parâmetros físico-químicos e hidráulicos

Com base nas análises físico-químicas realizadas, foi possível verificar que os filtros lentos de areia produziram água adequada para a alimentação de sistemas de osmose reversa, segundo os valores sugeridos pelos fabricantes de membrana. Durante o período do experimento a temperatura da água variou entre 16 °C a 24 °C (Média = 21 °C) e o pH entre 7.9 e 8.6. Tanto temperatura quanto pH não sofreram alterações durante a passagem pelos filtros.

Quanto a turbidez, na água bruta foi possível observar uma variação entre 0.7 e 15 UNT (Média = 2.6 UNT) (**Figura 12a**), sendo que os picos de turbidez foram registrados durante eventos de agitação do mar associados com aumento na intensidade dos ventos, como por exemplo, com a chegada de frentes frias. Os filtrados obtidos em F1 e F2 permaneceram durante todo o experimento com turbidez abaixo de 0.3 UNT (**Figuras 12b e 12c**), mesmo durante os picos de turbidez registrados na água bruta. Esses valores são semelhantes aos obtidos por sistemas pré-tratamento de água do mar por UF. Já os valores de SDI determinados nos filtrados foram sempre inferiores a 5, sendo que ao final do experimento, e após período de maturação dos filtros, foram obtidos os menores valores, 2.5 para F1 e 2.8 para F2.

Segundo Collins, Eighmy e Malley Jr. (1991), trabalhos prévios sugerem que a capacidade de remoção em filtros lentos de areia convencionais está mais relacionada com a maturação e profundidade do meio filtrante do que com a taxa de filtração aplicada.

Por meio do monitoramento diário das vazões dos filtros foi possível verificar que ocorreram oscilações na taxa de filtração por perda de carga, o que não interferiu na capacidade de remoção de turbidez dos filtros. Porém, de acordo com Huisman e Wood (1974) oscilações bruscas na taxa de filtração podem causar ruptura do meio filtrante e reduzir a qualidade do filtrado produzido. Nos filtros testados, sempre que necessário, a taxa de filtração foi reajustada ao valor inicial de 0.1 m³/m²/h, por meio da abertura do registro de controle de filtrado. Porém, no final das carreiras dos filtros, este procedimento não foi suficiente para compensar a perda de carga por colmatação.

A taxa de filtração teve comportamento similar em ambos os filtros, em grande parte do tempo. Porém, ao final da carreira, ocorreu o declínio mais rapidamente em F1, que era um filtro recuperado, do que em F2, que era um filtro novo (**Figuras 13a e 13b**).

A perda de carga em filtros ocorre principalmente pela colmatação do meio filtrante pelas partículas suspensas na água, além da produção de EPS pelo biofilme estabelecido no meio filtrante. Porém, neste trabalho não foi observada a contribuição da precipitação de carbonatos insolúveis no processo de colmatação. Isto ocorre, principalmente, devido à quedas na taxa de CO_2 dissolvido, tendendo à dissociação de bicarbonatos em carbonatos + CO_2 . Processo geralmente relacionado com condições que favorecem o crescimento de algas nos filtros, elevando as taxas de O_2 e reduzindo as taxas de CO_2 (HUISMAN; WOOD, 1974).

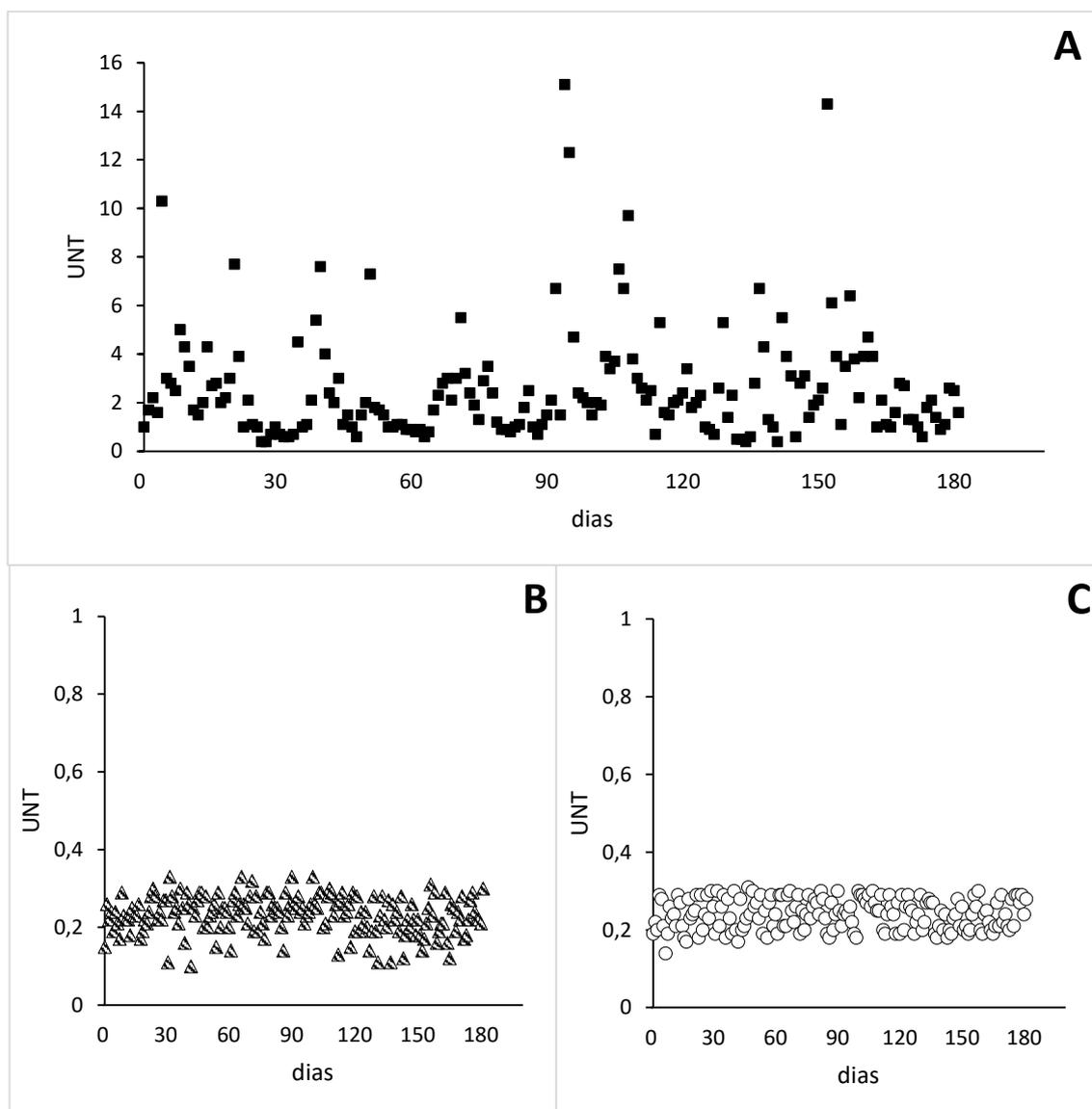


Figura 12. Valores de turbidez medidos diariamente na água de alimentação dos filtros lentos (A), no filtrado de F1 (B) e filtrado de F2 (C).

Tabela 1 – Valores de SDI medidos pontualmente em 3 tempos ao longo do período de operação.

Filtrados	4º dia	60º dia	174º dia
F1	3.9	3.8	2.5
F2	4.2	3.6	2.8

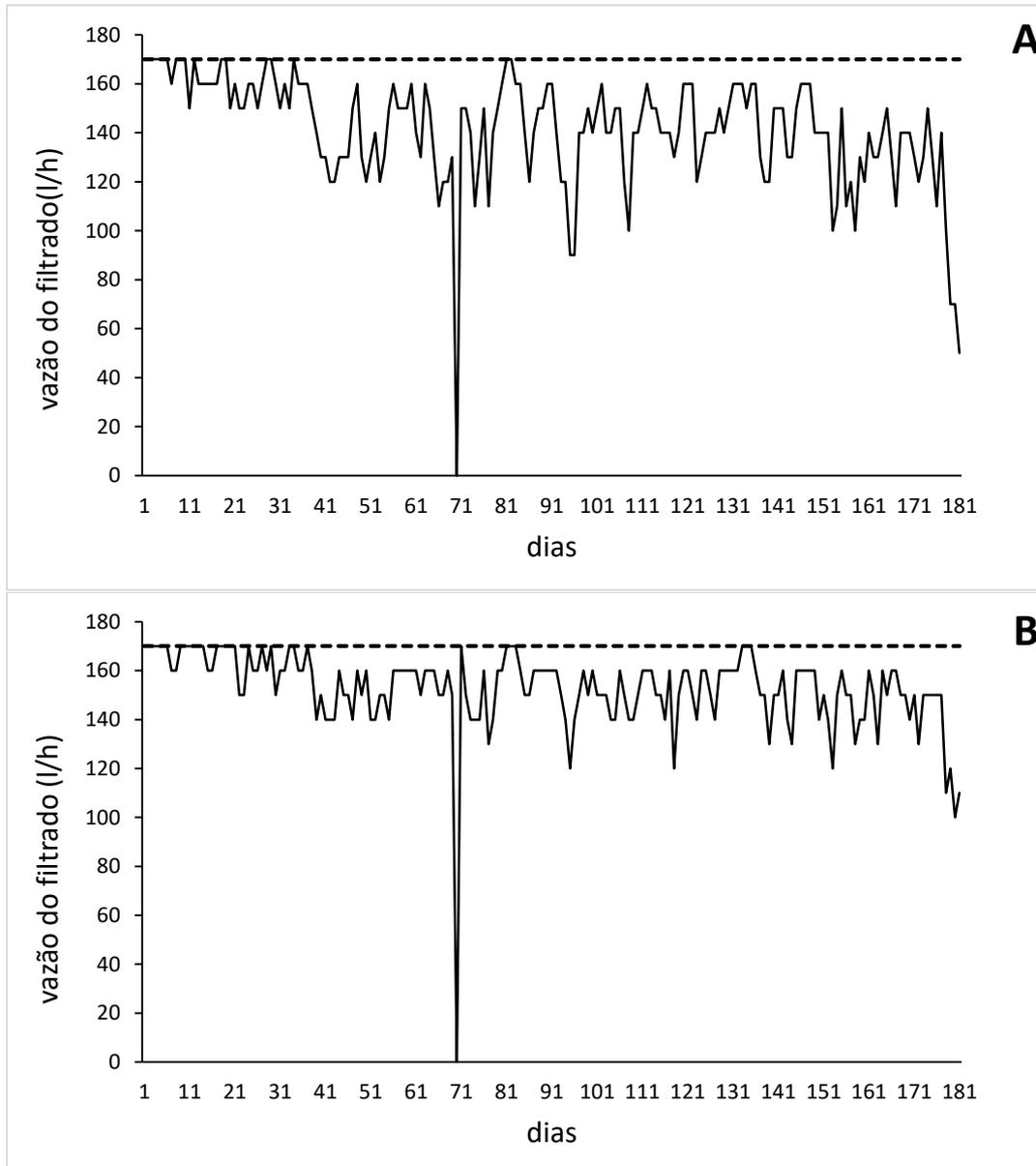


Figura 13. Comportamento das vazões dos filtrados em F1 (A) e F2 (B), demonstrando oscilações nas taxas de filtração durante o período de operação. A linha tracejada acima corresponde a vazão inicialmente ajustada para que os filtros operassem em uma taxa de filtração de $0.1 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{h}$. O ponto com uma queda brusca na vazão no 70º dia de operação, corresponde à interrupção no experimento devido à necessidade de manutenção no sistema de captação de água do mar.

2.4.2 Potencial de crescimento microbiano (PCM) das amostras de água

Em relação ao PCM medido nas amostras de água, foi possível observar que os valores dos filtrados produzidos por F1 e F2 passaram a demonstrar queda após cerca de 2 meses de operação, e foram menores comparados com a água de alimentação dos filtros (**Figura 14**). Estes dados indicam o período de maturação dos filtros necessário para uma efetiva remoção de AOC. Embora os dois filtros tenham demonstrado padrões de PCM semelhantes, na figura 14 é possível verificar que F1 passou a ser mais efetivo no controle de PCM alguns dias antes de F2, possivelmente pelo fato deste ter sido um filtro recuperado, que possibilitou um desenvolvimento mais rápido da atividade microbológica, ao contrário de F2 que iniciou com areia praticamente limpa. Após o período de maturação, em ambos os filtros o potencial de crescimento de *Pseudoalteromonas* foi aproximadamente 1 log menor do que na água de alimentação.

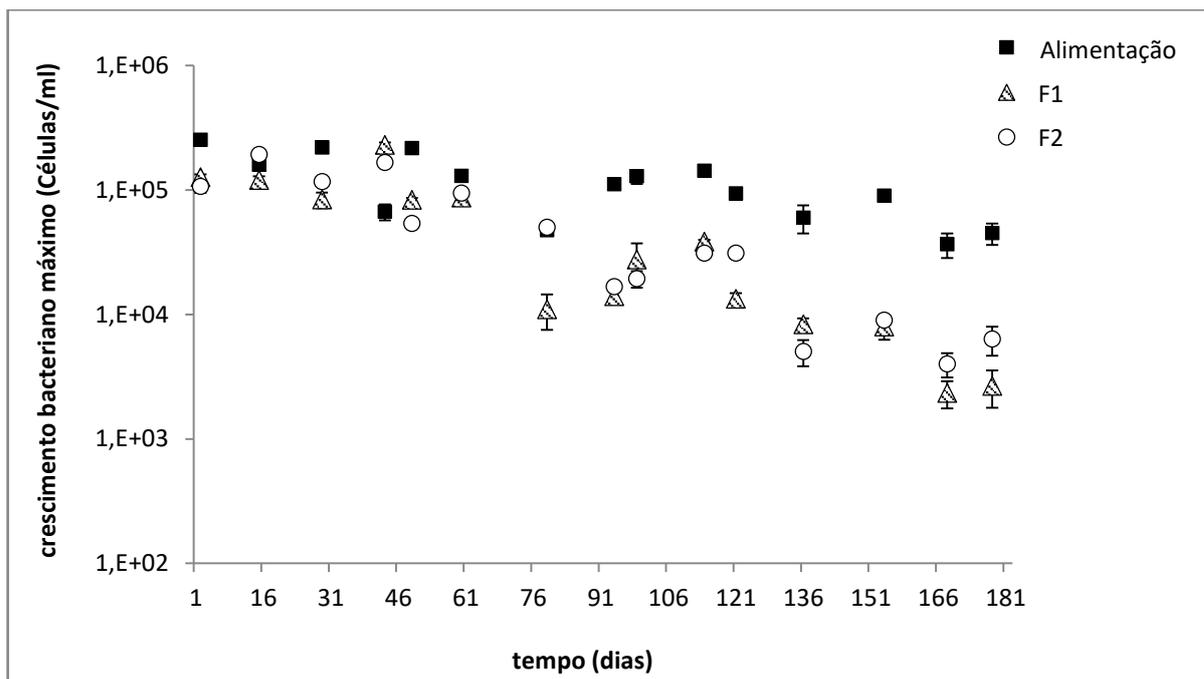


Figura 14. Comparação do crescimento de *Pseudoalteromonas* entre os filtrados produzidos por F1 e F2 e a água utilizada para a alimentação destes filtros. O potencial de crescimento bacteriano foi obtido a partir de um inóculo com concentração final de 10^2 células/ml em cada amostra de água. Os dados representam as médias e desvio padrão das análises em triplicata.

A análise estatística ANOVA das médias de PCM obtidas demonstrou existir variação significativa entre os tratamentos e em função do tempo ($\alpha = 0.05$ e $p < 0.05$). Porém, o teste *post-hoc* de Tukey, comparando os tratamentos dois a dois e em cada tempo, demonstrou que

após 94 dias a diferença das médias entre a água bruta e os demais tratamentos permaneceu, mas as médias entre F1 e F2 não mais diferiram entre si.

Os testes de PCM também foram realizados nas amostras de água obtidas nos pontos de coleta, traçando um perfil vertical da capacidade de remoção de AOC pelos filtros. Estes dados demonstraram que grande parte do AOC é removido logo após passagem pela *Schmutzdecke* reduzindo o PCM abaixo desta camada. Porém, não foi observada redução adicional do PCM na camada do meio filtrante abaixo de 30 cm.

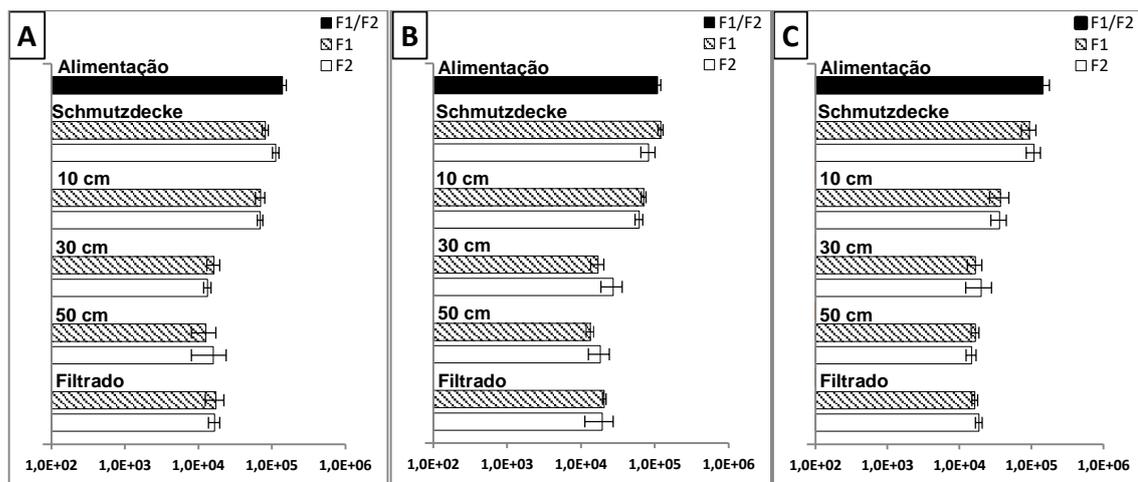


Figura 15. Dados de PCM obtidos em amostras de água coletadas em perfil vertical. O crescimento de *Pseudoalteromonas songiae* foi observado a partir de um inóculo com concentração final de 10^2 Células/ml. Os dados representam as medias e desvio padrão das análises realizadas em triplicata, e em três diferentes tempos: 84 dias (A), 99 dias (B) and 114 dias (C).

2.4.3 Estabelecimento de biofilmes nas camadas do meio filtrante

Por meio de análises por feitas por MEV foi possível observar o estabelecimento de biofilmes microbianos na superfície dos grãos de areia coletados na *Schmutzdecke*, em ambos os filtros testados. Já a areia obtida em regiões mais profundas do meio filtrante (50 cm), apresentou um aspecto mais limpo com pouca colonização microbiana (**Figura 16**).

Uma vez que os carboidratos são os principais componentes da matéria orgânica particulada e dissolvida no ambiente marinho (ALUWIHARE et al., 1997; HUNG et al., 2003; PAKULSKI; BENNER, 1994; RUSSEL et al., 2010), era esperado uma alta concentração destas macromoléculas nas camadas mais superficiais do filtros, tanto devido a deposição e retenção física, como pela produção por microrganismos do biofilme na forma de EPS.

Tanto em F1 como em F2, as concentrações de carboidratos e proteínas nas camadas de areia diminuíram desde a *Schmutzdecke* até 10 cm de profundidade e permaneceram estáveis nas camadas mais profundas. Como demonstrado na **Figura 16**, a quantidade de proteínas e carboidratos nas camadas do meio filtrante são correlacionados com os dados de PCM obtidos em amostras de água coletadas nestas camadas.

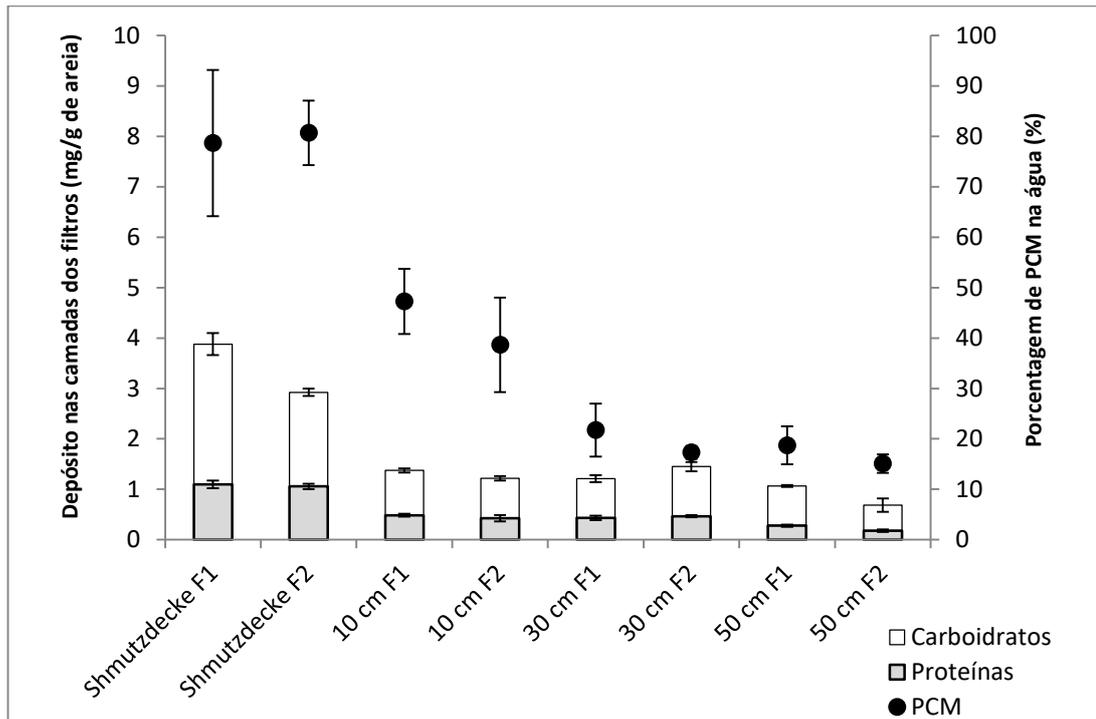


Figura 16. Quantidade de carboidratos e proteínas nas camadas dos meios filtrantes de F1 e F2, confrontados com a porcentagem de PCM nas respectivas camadas. Os dados de PCM apresentados foram obtidos no final do período de operação (175º dia).

2.4.4 Formação de fouling em membranas de osmose reversa

O acúmulo de proteínas e carboidratos sobre as membranas, um indicativo da formação de biofilmes, foi reduzido com pré-tratamento da água por filtros lentos de areia. Mesmo antes de completarem o período de maturação, após 60 dias, F1 e F2 reduziram as concentrações de *fouling* em aproximadamente um terço dos valores medidos sem a filtração lenta (**Figura 17**). Após período de maturação, quando foram verificadas taxas de remoção significativas de AOC pelos filtros, o acúmulo de proteínas foi reduzido em cerca de 80% e o de carboidratos 88%, em relação ao acúmulo registrado nas membranas que não receberam o pré-tratamento.

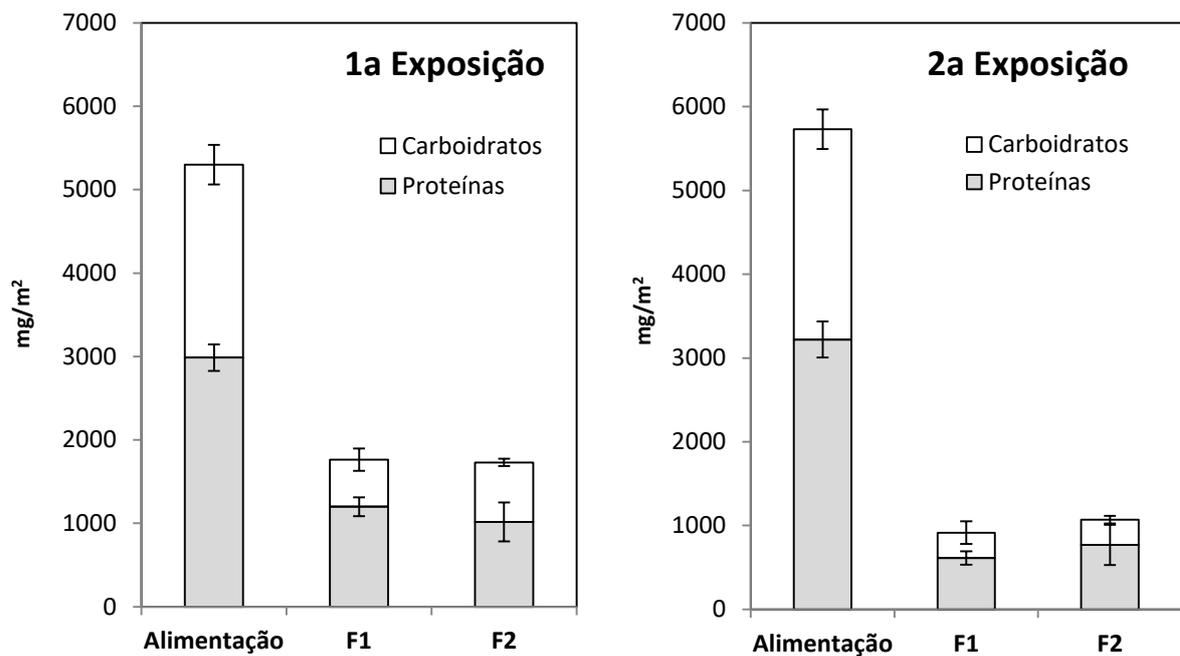


Figura 17. Quantificação de proteínas e carboidratos em membranas após exposição aos filtrados de F1 e F2 e à água de alimentação dos filtros lentos. A 1ª exposição ocorreu entre o 1º e o 60º dia de operação, enquanto a 2ª exposição ocorreu entre o 88º e o 148º dia.

Embora nos filtros lentos a concentração de carboidratos aderidos ao meio filtrante tenha sido maior que a concentração de proteínas (**Figura 16**), no *fouling* formado sobre as membranas foi observado o inverso, com maior predominância de proteínas. Estes resultados concordam com os de Ladner (2009), que sugerem uma deposição preferencial das proteínas sobre as membranas de osmose reversa em relação aos carboidratos, principalmente nos primeiros estágios da formação de *fouling*. Compere et al. (2001), também sugerem que as proteínas são os compostos presentes na água do mar que depositam primeiro sobre superfícies imersas, seguido dos carboidratos.

Uma predominância de proteínas no *fouling* de membranas também pode estar relacionada com os microrganismos que colonizam essas superfícies, principalmente microalgas e bactérias. Khan et al. (2014), também verificaram que as proteínas foram os biopolímeros predominantes no *fouling* de membranas utilizadas no tratamento da água do mar, que contém grande concentração de bactérias heterotróficas. Her et al. (2004), verificou que a matéria orgânica algôgenica formada por cianobactérias foi composta por 68% de proteínas, 22% de carboidratos e 5% de lipídeos. É importante destacar que uma parte das biomoléculas presentes sobre as membranas são sintetizadas pelos microrganismos do biofilme, porém uma outra parte pode ter origem da deposição de substâncias presentes no meio aquático. Snopok e

Kostukevich (2006) verificaram que a taxa de adsorção de proteínas em uma superfície era proporcional à concentração de proteínas na fase aquosa. Wesley e Satheesh (2009), verificaram que o aumento na concentração de uma série de nutrientes na água do mar, incluindo proteínas, carboidratos, nitrato, nitrito e fosfato, coincidiu com o aumento da concentração destes nutrientes em biofilmes.

É importante ressaltar que neste trabalho não foi avaliada a formação de *fouling* de membrana em condições reais de operação em um sistemas de osmose reversa, ou seja, sem a pressão exercida sobre a membrana, necessária para que ocorra a permeação por fluxo tangencial, e que transporta uma maior quantidade de materiais particulados e dissolvidos para a superfície da membrana. Os testes realizados com a exposição de amostras de membranas em câmaras de fluxo contou apenas com a passagem da água em fluxo paralelo à membrana, sem a permeação.

A permeação da água através de uma membrana de osmose reversa, resulta em um fenômeno chamado concentração-polarização, que se refere ao gradiente de concentração de materiais rejeitados que se forma logo acima da superfície da membrana ou sobre a camada de *fouling* (SCHNEIDER; TSUTIYA, 2001). Herzberg e Elimelech (2008) descrevem uma ampla distribuição de células bacterianas formando biofilmes sobre membranas, devido ao aumento da concentração de nutrientes nesta região quando induzido pela concentração-polarização. Desta forma, a necessidade de uma água com baixos teores de nutrientes para a alimentação de sistemas de osmose reversa justifica a aplicação de pré-tratamentos como os filtros lentos de areia, que possuem a capacidade de remoção de nutrientes tanto sob a forma de materiais particulados quanto dissolvidos.

2.5 Conclusões

Os filtros lentos de areia produziram água com qualidade adequada para alimentar sistemas de osmose reversa, levando em consideração os parâmetros recomendados por fabricantes de membranas. A turbidez tanto em F1 como em F2 permaneceu sempre abaixo de 0.3 UNT, mesmo em casos em que a água do mar demonstrou picos de turbidez decorrentes da agitação do mar, por fenômenos climáticos. Foram verificadas algumas oscilações na taxa de filtração decorrentes da perda de carga por colmatação do meio filtrante. Porém, não foram observadas alterações de qualidade da água filtrada decorrentes destas oscilações. Até aproximadamente 180 dias de operação foi possível recuperar as taxas de filtração para 0.1 m³/m²/h, porém, após este período os procedimentos adotados para recuperação das taxas iniciais não foram suficientes para compensar a perda de carga por colmatação.

Em termos de tempo de maturação e desempenho não foram registradas diferenças significativas entre F1, um filtro recuperado pelo método de raspagem da *Schmutzdecke*, e F2, que era um filtro novo. Ambos os filtros testados demonstraram capacidade de controlar o PCM em 1 log comparado com a água sem tratamento. Porém, esta capacidade só foi registrada após cerca de 80 dias de operação. Também foi verificado que a camada do meio filtrante com maior atuação no controle de PCM compreendeu o espaço entre a *Schmutzdecke* e 30 cm. Abaixo desta profundidade não foi registrada nenhuma ação significativa.

Tanto F1 como F2 foram capazes de reduzir o *fouling* de membrana em até aproximadamente 85%, comparado com a água que não passou por este tratamento. Avaliando os dois períodos de exposição das membranas aos filtrados, uma menor quantidade de material biológico aderido foi observada no segundo período de exposição, iniciado a partir do 88º dia de operação, quando comparado com o primeiro período que compreendeu do 1º ao 60º dia. Isto pode ser considerado um indicativo de que o controle no primeiro período foi principalmente devido a capacidade de retenção física de partículas pelos filtros. Já no segundo período de exposição, um maior controle na deposição do *fouling* pode ser explicado pelo aumento da capacidade de filtração biológica. Porém, deve ser destacado que mesmo sem este incremento na filtração biológica, os filtros demonstraram, já no primeiro período, um controle na deposição de material biológico de aproximadamente 78%.

Estudos futuros ainda são necessários para avaliar o desempenho dos filtros lentos em outras condições de operação, tais como exposição e proteção da luz, bem como diferentes taxas de filtração, sobretudo nos sistemas que operam com água do mar. Além disso, informações sobre o balanço de nutrientes através do sistema de filtração e características da comunidade

microbiana estabelecida nos filtros pode auxiliar um melhor entendimento do processo de biofiltração. Para a aplicação dos filtros lentos de areia como pré-tratamento de sistemas de osmose reversa aplicados na dessalinização de água do mar é necessário também compará-los em termos de custo/benefício com as demais tecnologias disponíveis no mercado.

CAPÍTULO 3 – SISTEMAS DE PRÉ-TRATAMENTO DA ÁGUA DO MAR: COMPARAÇÃO DE DESEMPENHO ENTRE FILTROS LENTOS DE AREIA, FILTROS RÁPIDOS DE AREIA BIOLÓGICOS E ULTRAFILTRAÇÃO

3.1 Introdução

O desenvolvimento de sistemas de pré-tratamento, que controlem de forma efetiva a formação de biofilmes sobre membranas de osmose reversa, tem sido tema de inúmeros trabalhos publicados (BEN-DOV et al., 2016; BONNÉLYE; GUEY; DEL CASTILLO, 2008; CHINU et al., 2009; DARWISH et al., 2016; EDZWALD; HAARHOFF, 2011; ELGUERA; BÁEZ, 2005; LAU et al., 2014; MANNOT; LABORIE; CABASSUD, 2016; MITROULI et al., 2008; NAIDU et al., 2013; PRIHASTO; LIU; KIM, 2009; VOUTCHKOV, 2010). Porém, mais estudos são necessários tanto para melhorar o desempenho como para reduzir os custos destes sistemas. O pré-tratamento composto por filtros lentos de areia é capaz de gerar água com qualidade adequada para alimentar unidades plantas de osmose reversa (CORRAL et al., 2014; DE OLIVEIRA, 2012). Além disso, são sistemas de simples operação e demonstram controlar a formação de biofilmes sobre as membranas empregadas na dessalinização de água do mar (DE OLIVEIRA, 2012).

Com o objetivo de conhecer as condições ótimas de desempenho de filtros lentos, alguns trabalhos verificaram a influência de diferentes condições operacionais na capacidade de filtração destes sistemas, como o aumento da taxa de filtração e a exposição do meio filtrante à luz (BRITO et al., 2005; CAMPOS et al., 2002; CAMPOS et al., 2006; ELLIS; AYDIN, 1995). Porém, grande parte dos dados de desempenho publicados se referem à sistemas que operaram com água doce, sendo necessários mais estudos para uma avaliação destes sistemas quando operados como pré-tratamento para água do mar. Por outro lado, uma grande quantidade de estudos foram desenvolvidos para avaliação e melhoria dos sistemas de pré-tratamento convencionais, constituídos por filtros rápidos com meio filtrante composto geralmente por areia e carvão antracito (*dual media filtration*) e que utilizam coagulantes químicos (BARZEEV et al., 2012; MITROULI et al., 2008). Um outro sistema de pré-tratamento bastante utilizado para água do mar é a ultrafiltração (UF), considerado uma alternativa ao pré-tratamento convencional. A UF vem a cada dia conquistando um maior espaço no mercado de sistemas de pré-tratamento e sendo implementada em plantas de dessalinização por osmose reversa de pequeno, médio e grande porte (LAU et al., 2014; MANNOT; LABORIE; CABASSUD, 2016).

A preferência por sistemas de UF como pré-tratamento decorre de sua eficiência na remoção de materiais particulados que chegam com a água do mar, controlando a formação de biofilmes nas membranas (JEZOWSKA et al., 2009; LAU et al., 2014). Além de produzir água de qualidade os sistemas de UF também são compactos, podendo ser arranjados em módulos verticais, o que otimiza o espaço. Porém, assim como a osmose reversa a UF consiste em um sistema de membranas, que além de possuir um custo de implantação mais elevado do que sistemas de pré-tratamento convencionais, também podem sofrer com o problema de *fouling*, incluindo a formação de biofilmes, que conseqüentemente implica em aumento de custos na produção de água tratada. Desta forma, é necessário avaliar alternativas de pré-tratamento da água do mar que apresentem uma vantagem sobre a UF em termos de custo/benefício.

O presente trabalho buscou avaliar o quanto os filtros biológicos de areia, de filtração lenta e rápida (sem o uso de produtos coagulantes), se aproximam de um sistema de referência como a UF, buscando verificar a viabilidade destes sistemas alternativos como pré-tratamento. Isto foi realizado a partir de uma comparação de desempenho entre os filtros lentos de areia, operados na máxima taxa de filtração recomendada, e filtros rápidos de areia, operados na menor taxa de filtração. Além disso, a influência da exposição dos sistemas à luz também foi verificada. Em todos os testes o permeado obtido em um sistema de UF foi utilizado como referência em termos de qualidade de água.

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivos gerais

Com vistas no controle da formação de biofilmes sobre membranas de osmose reversa, este trabalho buscou comparar o desempenho de filtros de areia biológicos lentos e rápidos, e uma unidade de ultrafiltração, aplicados como sistemas de pré-tratamento da água do mar.

3.2.2 Objetivos específicos

- ❖ Comparar entre os sistemas avaliados a capacidade de redução de turbidez e SDI, bem como monitorar as oscilações na taxa de filtração em diferentes condições;
- ❖ Comparar, por meio de citometria de fluxo, o desempenho dos sistemas quanto à capacidade de remoção de bactérias e microalgas a partir da água de alimentação;
- ❖ Determinar o Potencial de Crescimento Microbiano (PCM) nas águas produzidas por cada sistemas de pré-tratamento e ao longo do tempo de operação, identificando nos filtros de areia o período de maturação necessário para remoção de carbono assimilável;
- ❖ Avaliar quantitativamente e qualitativamente o *fouling* biológico formado sobre as membranas.

3.3 Materiais e Métodos

3.3.1 Descrição dos sistemas de pré-tratamento de água do mar utilizados no estudo

Os testes para comparação de desempenho de diferentes sistemas de pré-tratamento foram realizados no CEBIMar-USP, utilizando as instalações e sistemas de captação de estudos anteriores, conforme apresentado no Capítulo 2. Foram instalados dois filtros lentos de areia, ambos com meios filtrantes de 30 cm de altura e areia com tamanho efetivo 0.15 mm e coeficiente de uniformidade 2.3 (areia obtida na Pedreira Santa Isabel Ltda). A granulometria da areia foi obtida após lavagem, conforme item 2.3.2 (capítulo 2). O corpo dos filtros foi construído em um cilindro de material transparente (acrílico) com 20 cm de diâmetro. Um dos filtros permaneceu exposto à luz (**F1**) e o outro filtro recebeu uma cobertura de tecido escuro para proteção da luz (**F2**). Além dos filtros lentos foram também construídos filtros rápidos de areia biológicos, que contaram com meios filtrantes de 70 cm de altura, bem como areia com tamanho efetivo de 0.79 mm e coeficiente de uniformidade 1.35 (areia São João[®] 18/30). Assim como os filtros lentos, os filtros rápidos também foram construídos em cilindros de acrílico de 20 cm de diâmetro e um deles foi exposto à luz (**F3**) e o outro foi coberto (**F4**) (**Figura 18**).

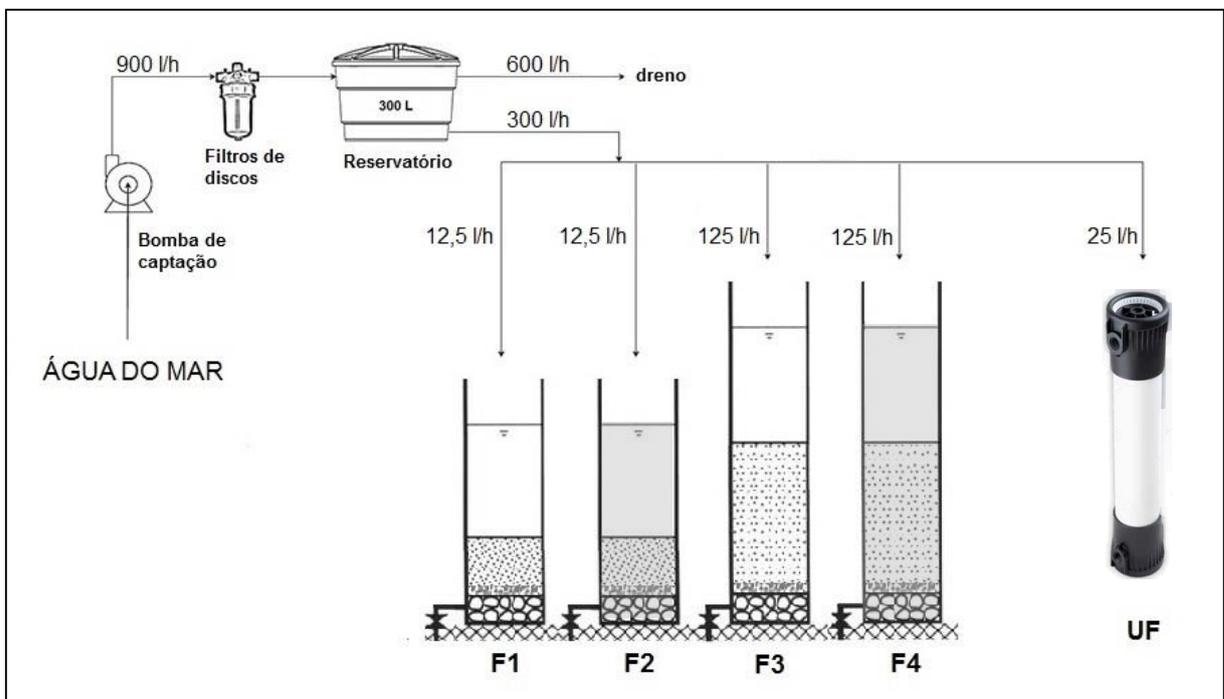


Figura 18. Fluxograma partindo da captação até os sistemas de pré-tratamento de água do mar avaliados no estudo. F1 – Filtro lento de areia exposto à luz; F2 – Filtro lento de areia protegido da luz; F3 – Filtro rápido de areia exposto à luz; F4 – Filtro rápido de areia protegido da luz; UF – ultrafiltração. Os sistemas contaram com uma etapa de pré-filtração por filtros de discos.

Os filtros lentos de areia foram operados a uma taxa de filtração de $0.4 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{h}$ e os filtros rápidos a $4 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{h}$, que correspondem as taxas máxima e mínima recomendadas na literatura para cada tipo de filtro, respectivamente (HUISMAN; WOOD, 1974; LEE et al., 2014). A escolha destas taxas de filtração buscou avaliar se nestas condições de operação os filtros lentos e rápidos se aproximariam em relação ao desempenho.

Como sistema de referência de pré-tratamento foi utilizado um módulo de ultrafiltração Dizzer® P 4040-6.0 (INGE, Greifenberg, Alemanha), com tecnologia multibore® e uma área de filtração de 6 m^2 . Este módulo foi operado a uma taxa de $4 \text{ l}/\text{m}^2/\text{h}$ (aproximadamente), apenas para produção do volume de permeado utilizado no experimento (25 l/h). Como controle positivo foram utilizados os dados obtidos na água de alimentação dos sistemas de pré-tratamento, que passou apenas por um pré-filtro de discos Arkal® (AMIAD, Kibutz Amiad, Israel) com capacidade de retenção de $100 \mu\text{m}$, para remoção dos sólidos mais grosseiros (**Figura 18**).

3.3.2 Recuperação das taxas de filtração

As taxas de filtração foram monitoradas medindo diariamente a vazão na saída de cada sistema, registrando o volume produzido em 1 min. O volume foi coletado em um recipiente plástico e para maior precisão o conteúdo foi transferido para uma proveta de 1 l com graduação de 10 ml.

Quando detectada perda de carga, a abertura do registro de filtrado foi ajustada para recompor a taxa de operação determinada para os testes. Retrolavagens foram realizadas quando este procedimento não foi suficiente para recuperar a taxa. Nos filtros rápidos foi aplicado um fluxo de retrolavagem gradual iniciando com 100 l/h e chegando em um máximo de 600 l/h (10 min. de duração), evitando a perda excessiva de material biológico aderido nas primeiras camadas do meio filtrante. O tempo de duração do procedimento foi determinado em estudo prévio onde foi monitorada a estabilização da turbidez na água de lavagem. Nos filtros lentos, quando grande quantidade de material foi acumulado sobre o meio filtrante, na fase final do experimento, também foi aplicado um contra-fluxo de água (retrolavagens em filtros lentos foram descritas por PIZZOLATI et al., 2015), porém o procedimento foi feito a uma taxa de 30 l/h (2 min.), evitando assim a remoção completa da *schmutzdecke*.

3.3.3 Análises físico-químicas, potencial de crescimento microbiano (PCM), monitoramento da formação fouling e análises estatísticas.

As análises físico-químicas, incluindo turbidez e SDI₁₅, assim como a determinação do PCM, o monitoramento da formação de *fouling* em membranas de osmose reversa (por meio da quantificação de proteínas e carboidratos) e as análises estatísticas foram realizadas conforme descrito na seção Materiais e Métodos do Capítulo 2.

3.3.4 Contagem total de bactérias e microalgas por citometria de fluxo

Para avaliar a capacidade de remoção de bactérias e microalgas pelos sistemas de pré-tratamento, amostras foram coletadas em um béquer de 600 ml estéril. A partir deste recipiente as amostras foram transferidas para microtubo de 2 ml e fixadas com glutaraldeído a uma concentração final de 0.25%. Juntamente com o glutaraldeído foi adicionado ao microtubo o surfactante Pluronic® F-68 (P68, Sigma-Aldrich P5556) a uma concentração final de 0.01% (MARIE, RIGAUT-JALABERT; VAULOT, 2014), então as amostras foram congeladas imediatamente em nitrogênio líquido e estocadas em freezer -80 °C até as análises. Todo o procedimento de coleta foi realizado com proteção das amostras da luz.

As análises foram realizadas no citômetro Accuri C6® (BD Biosciences, San Jose, CA, USA). As amostras foram descongeladas e pesadas antes e depois dos testes para calcular o volume aspirado pelo aparelho. Embora o equipamento registre o volume analisado, o procedimento de pesagem foi preferencialmente adotado, buscando eliminar erros apresentados pelo equipamento quanto ao cálculo do volume da amostra. Uma análise dos pesos de microtubos do mesmo lote verificou que não houve diferença significativa entre os pesos. Desta forma, os microtubos não interferiram significativamente no cálculo do volume aspirado. Primeiramente foi realizada no aparelho a quantificação de células fotossintetizantes por meio da detecção de fluorescência natural (MARIE et al., 2005), a uma taxa de aspiração da amostra de 66 µl/min. Após este teste as amostras foram novamente pesadas para cálculo de volume e então coradas com SYBR Green® (Life Technologies, Eugene, Oregon), que foi diluído na amostra 1:10.000 (RIBEIRO et al., 2016). Após 15 min. as amostras foram lidas no aparelho em uma taxa de 11 µl/min., para quantificação de bactérias.

3.3.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A partir das amostras de membrana de osmose reversa que ficaram expostas nas câmaras de fluxo foram recortados pedaços de membrana de 1cm². As membranas foram aderidas ao suporte do microscópio eletrônico Quanta 600 FEG (FEI, USA) com fitas adesivas dupla face, e então foi feita a metalização com platina para a realização da MEV.

3.4 Resultados e Discussão

3.4.1 Monitoramento de parâmetros físico-químicos e hidráulicos

As análises de turbidez realizadas diariamente indicaram que os pré-tratamentos F1, F2, F3 e F4 demonstraram desempenho semelhante, produzindo água com turbidez sempre inferior a 0.5 UNT, e se aproximando da turbidez do permeado produzido pela UF (**Figura 19**). Este comportamento se manteve mesmo em condições de elevação da turbidez da água de alimentação, provocado pela agitação do mar (**Figura 20**). Assim como a turbidez, os sistemas também foram capazes de controlar o SDI, mesmo logo no início da operação e nas condições de agitação do mar, quando a água concentra grandes quantidades de partículas. Na Tabela 2, são apresentados os valores de SDI obtidos nas três condições avaliadas, incluindo os respectivos valores de turbidez registrados na água de alimentação dos sistemas.

Tabela 2 – Valores de SDI medidos em 3 condições, com os respectivos valores de turbidez na água de alimentação em cada condição avaliada. Os dados referentes ao início da operação foram coletados 2 h após o *start up* dos filtros.

Amostras	Início da operação (turbidez = 2.9 UNT).	Agitação do mar (turbidez = 10.8 UNT)	Final da operação (turbidez = 1.2 UNT)
F1	4.1	2.2	1.9
F2	3.2	2.9	1.6
F3	3.6	2.6	2.3
F4	3.9	2.1	2.1
UF	NA**	0.9	1.0
Alimentação	9,5*	16,1*	6,8*

* SDI₅

**Não Amostrado

Durante todo o período de operação foram registrados 5 eventos em que a turbidez da água de alimentação excedeu o limite de 5 UNT recomendado na literatura para operação de filtros lentos de areia (CLEASBY, 1991), sendo que em dois deles a turbidez chegou ao dobro do recomendado. Outros 7 eventos fizeram a turbidez chegar próxima deste limite (**Figura 20**). Porém, a média de turbidez no período de operação foi 2.4 ± 2 UNT.

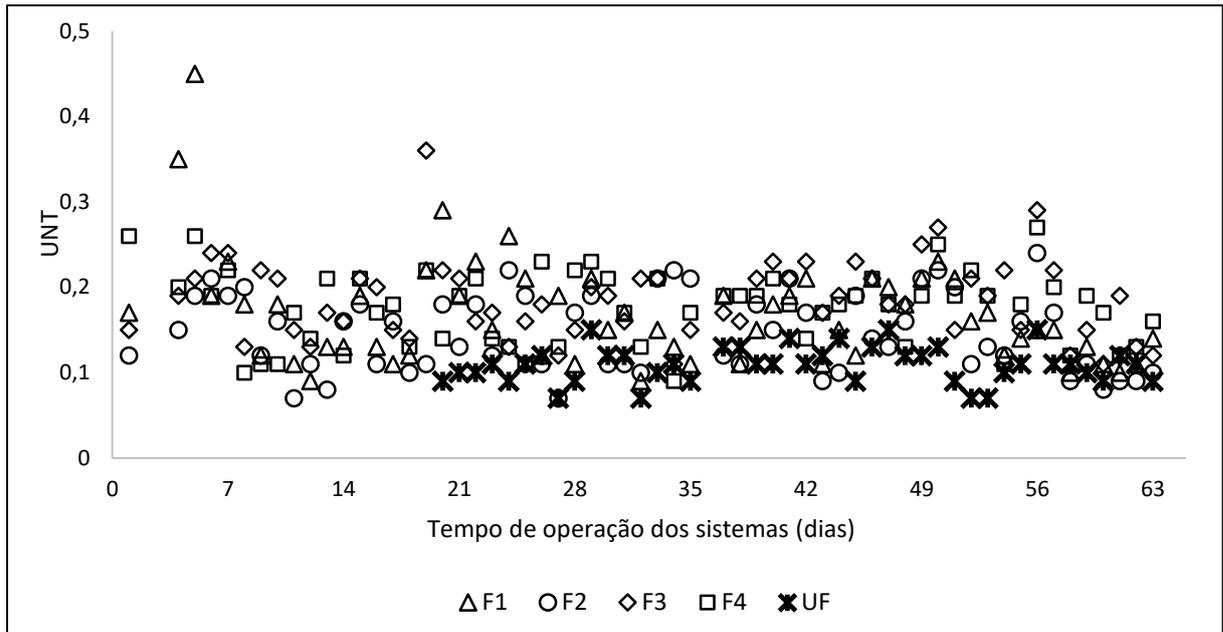


Figura 19. Comparação da turbidez registrada nos filtrados obtidos nos filtros lentos (F1e F2), e filtros rápidos (F3 e F4), tendo como referência o permeado obtido em UF.

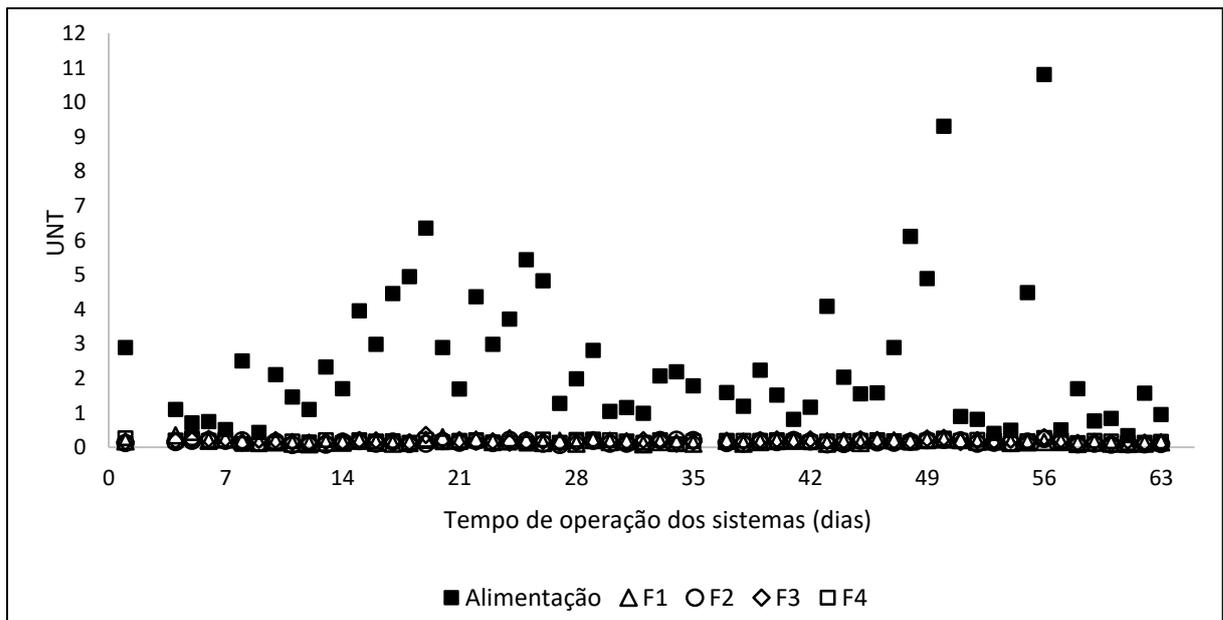


Figura 20. Comparação da turbidez registrada nos filtrados obtidos nos filtros lentos (F1e F2), e filtros rápidos (F3 e F4), tendo como referência a água antes da passagem pelos pré-tratamentos (Alimentação).

Os dados de vazão dos filtrados produzidos por F1, F2, F3 e F4 (**Figuras 21A e 21B**), demonstraram que após a primeira semana, tanto os filtros lentos como os filtros rápidos, não sustentaram mais uma estabilidade na taxa de filtração. Frequentemente, após o reajuste, foi registrada no dia seguinte novamente uma queda na vazão. Em alguns momentos isto ocorreu mesmo após procedimentos de retrolavagens.

Nos filtros rápidos, foram necessárias 6 intervenções com retrolavagens, que ocorreram no 19°, 23°, 25°, 30°, 40° e 58° dia. Para F1 e F2 foram necessários 13 procedimentos de retrolavagem, que ocorreram no 13°, 19°, 25°, 33°, 36°, 38°, 39°, 40°, 41°, 50°, 51°, 56° e 58° dia. No 52° dia, não foi possível recuperar F1 e F2 pelos procedimentos de abertura dos registros e por retrolavagens. Desta forma, foi realizado o procedimento *wet harrowing*, que consiste na drenagem da lâmina d'água do filtro e revolvimento mecânico da *Schmutzdecke*.

A fim de verificar a estabilidade das taxas de filtração após procedimentos de recuperação por retrolavagens, também foram realizados monitoramentos das vazões dos sistemas a cada 1 h. Os resultados demonstraram que quando a turbidez da água de alimentação dos filtros foi menor que 2 UNT as taxas de filtração permaneceram estáveis por pelo menos 8 h (tempo em que foi realizado o monitoramento) (**Figuras 22A e 22B**). Já com uma turbidez de 10,8 UNT, tanto para filtros lentos quanto para filtros rápidos, foi possível observar o declínio das taxas de filtração logo após 1 h (**Figuras 22C e 22D**), sendo que na comparação entre os dois filtros rápidos, este declínio foi mais acentuado para F3, que ficou exposto à luz (**Figura 22 D**).

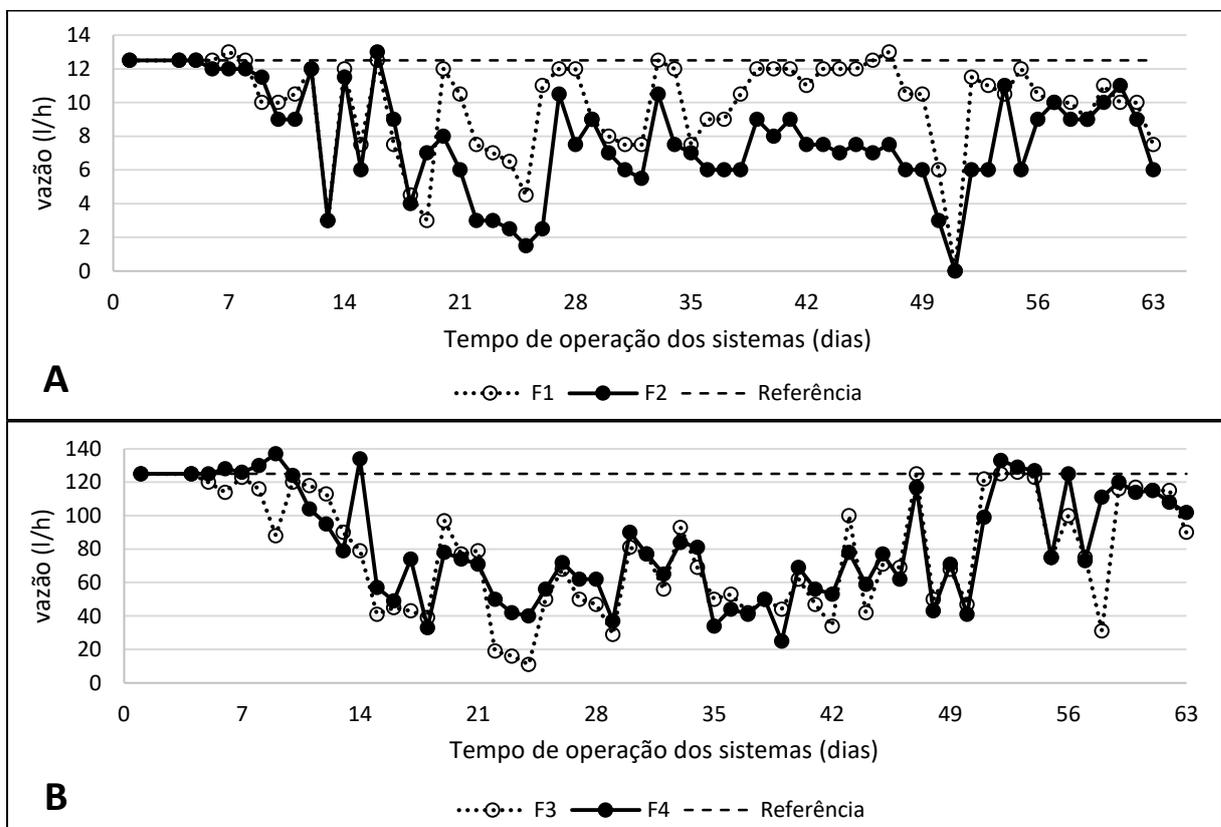


Figura 21. Dados de registro diário das vazões indicando o comportamento dos filtros lentos (A) e rápidos (B). Após o registro foi feito o ajuste em cada sistema para a vazão de referência correspondente à $0.4\text{m}^3/\text{m}^2/\text{h}$ ($12,5\text{ l/h}$) para F1 e F2 e $4\text{m}^3/\text{m}^2/\text{h}$ (125 l/h) para F3 e F4.

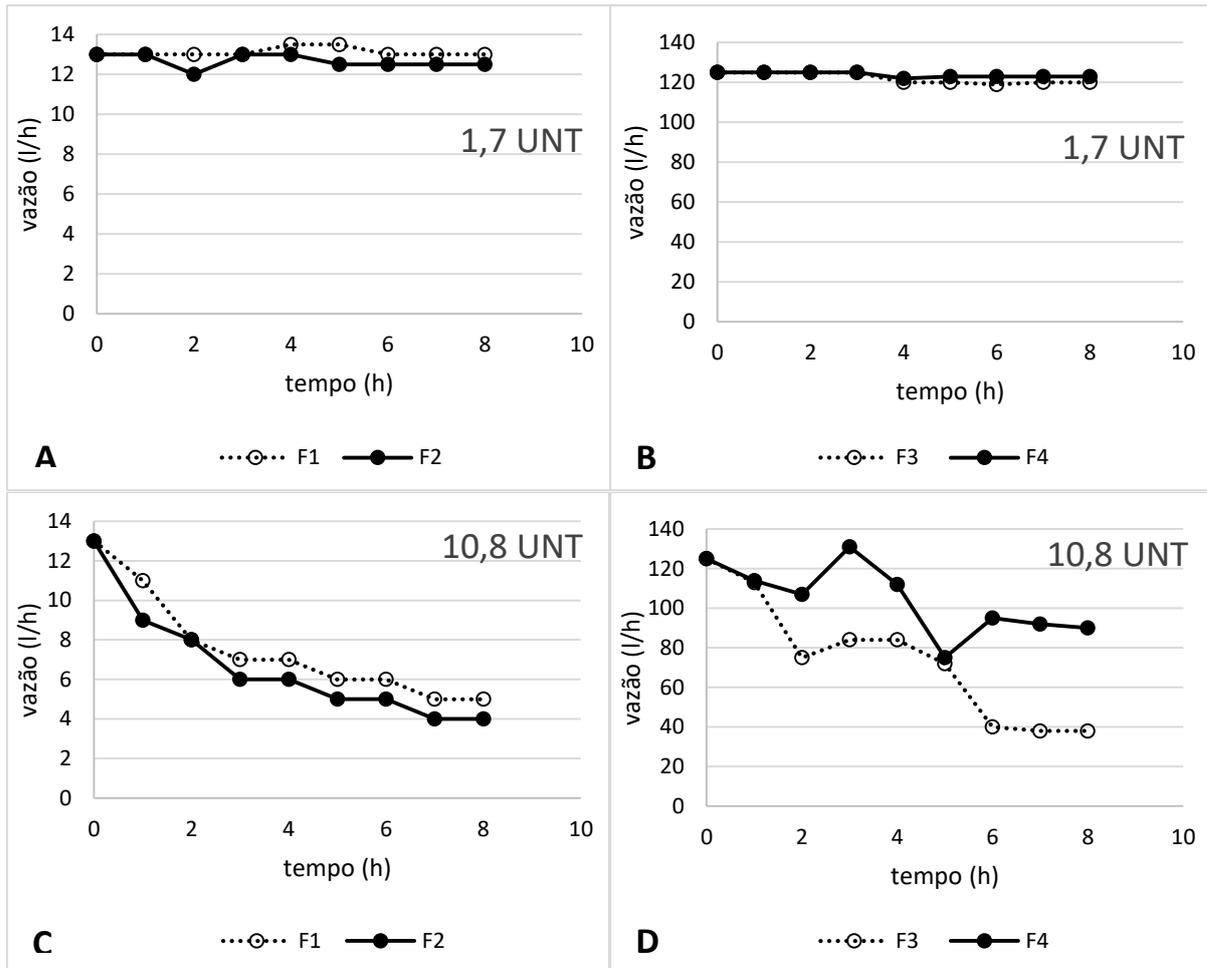


Figura 22. Comportamento das vazões dos filtros lentos (F1 e F2) e rápidos (F3 e F4) após recuperação por retrolavagem, com água de alimentação em diferentes condições de turbidez.

Os resultados obtidos sugerem uma relação entre declínio das taxas de filtração e aumento da turbidez na água de alimentação. Conforme descrito na literatura, águas superficiais com turbidez acima de 5 UNT podem levar ao declínio na performance de filtros de areia (CLEASBY, 1991, COLLINS; EIGHMY; MALLEY JR, 1991), sendo muitas vezes necessário um tratamento prévio da água para o abatimento da turbidez. Porém, uma avaliação da água de alimentação de filtros de areia não deve ser baseada apenas na sua turbidez, sendo necessário também para classificar a água a quantificação de algas (CLEASBY et al., 1984), uma vez que florações destes organismos na água levam à colmatção precoce do meio filtrante, principalmente quando se trata de algas menores como as diatomáceas, que contribuem para o aumento da resistência à passagem da água. Por outro lado, o acúmulo de algas filamentosas na *schmutzdecke* gera a formação de uma malha porosa que reduz a resistência à filtração, além de outros benefícios biológicos (HUISMAN; WOOD, 1974).

3.4.2 Capacidade de remoção de bactérias e microalgas

Embora tenham sido registradas oscilações frequentes na taxa de filtração ao longo do experimento, todos os sistemas de pré-tratamento avaliados demonstraram eficiência na remoção de bactérias a partir da água de alimentação. Porém, os resultados da ANOVA demonstraram diferença significativa de desempenho de remoção de bactérias entre tratamentos ao longo do tempo ($F = 3.32$; F -crítico = 1.59; $p < 0.05$). Por meio do teste *post hoc* de Tukey, foi possível verificar que no ponto referente a coleta do 27º dia de operação não havia diferença significativa entre as médias dos tratamentos F1, F2, F3 e F4. Porém, o teste demonstrou uma diferenciação entre o desempenho de filtros lentos e filtros rápidos a partir do ponto de coleta referente ao 48º dia. Já nos resultados referentes ao 62º dia, não houve diferenças estatísticas significativas entre as médias de F1, F2 e UF, evidenciando que a capacidade de remoção de bactérias pelos filtros lentos tem um incremento após a maturação dos filtros. Por meio do teste Tukey também foi possível verificar que não ocorreu diferença significativa entre o desempenho de filtros cobertos e expostos à luz, após os 27º dia.

Avaliando a figura 23, é possível observar que os filtros lentos foram mais eficientes do que os filtros rápidos na remoção de bactérias, reduzindo as concentrações de bactérias em aprox. 1 log a partir da água de alimentação.

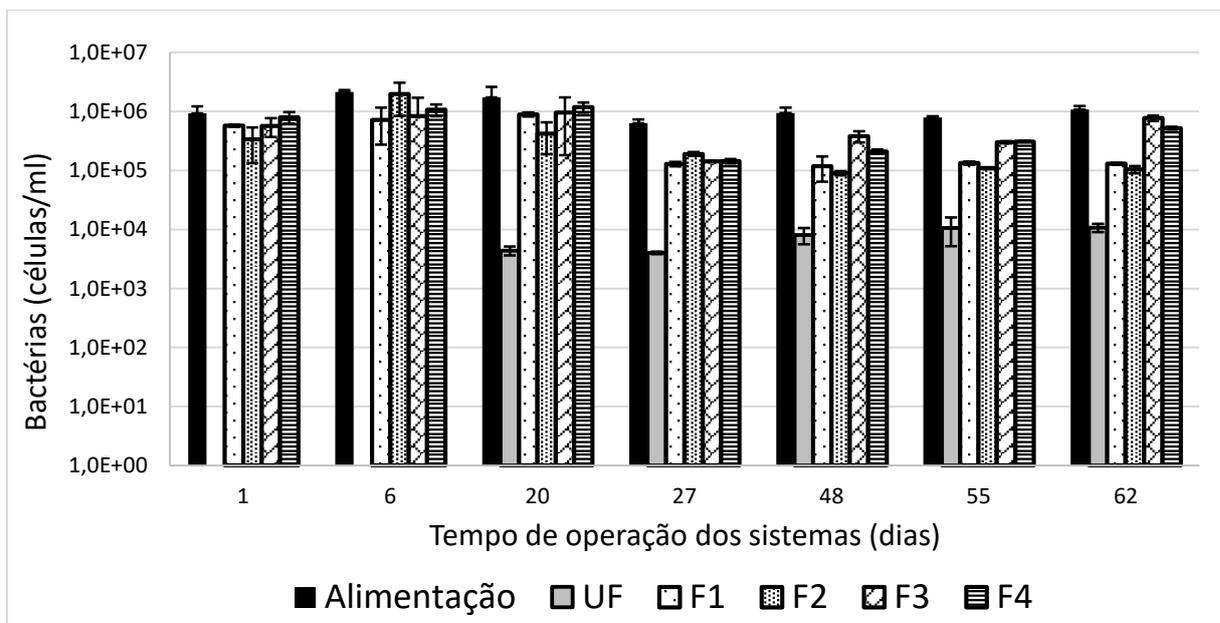


Figura 23. Quantificação de bactérias totais realizada por citometria de fluxo. Os dados em cada ponto de amostragem representam as médias e desvio padrão das análises em triplicata dos filtros lentos (F1 e F2), filtros rápidos (F3 e F4) e UF. O sistema de UF passou a ser operado após 20 dias do início da operação dos demais sistemas.

Dentre os pré-tratamentos avaliados, a UF foi o sistema que demonstrou maior eficiência, uma vez que desde o início da operação reduziu a concentração de bactérias em aprox. 2 log a partir da água de alimentação (**Figura 23**). Conforme descrito no manual de especificações técnicas do módulo de UF Dizzer® P 4040-6.0, as membranas utilizadas no estudo possuem porosidade de aprox. 0.02 μm (INGE, 2014), conferindo ao sistemas de UF capacidade de remover todo o conteúdo de bactérias presente na corrente de alimentação, incluindo também alguns tipos de vírus e substâncias dissolvidas. Porém, as concentrações de bactérias, detectadas nas amostras de permeado, podem ser explicadas pelo crescimento microbiano e posterior dispersão de bactérias no canal de permeado e no interior do registro que controla a vazão de produção.

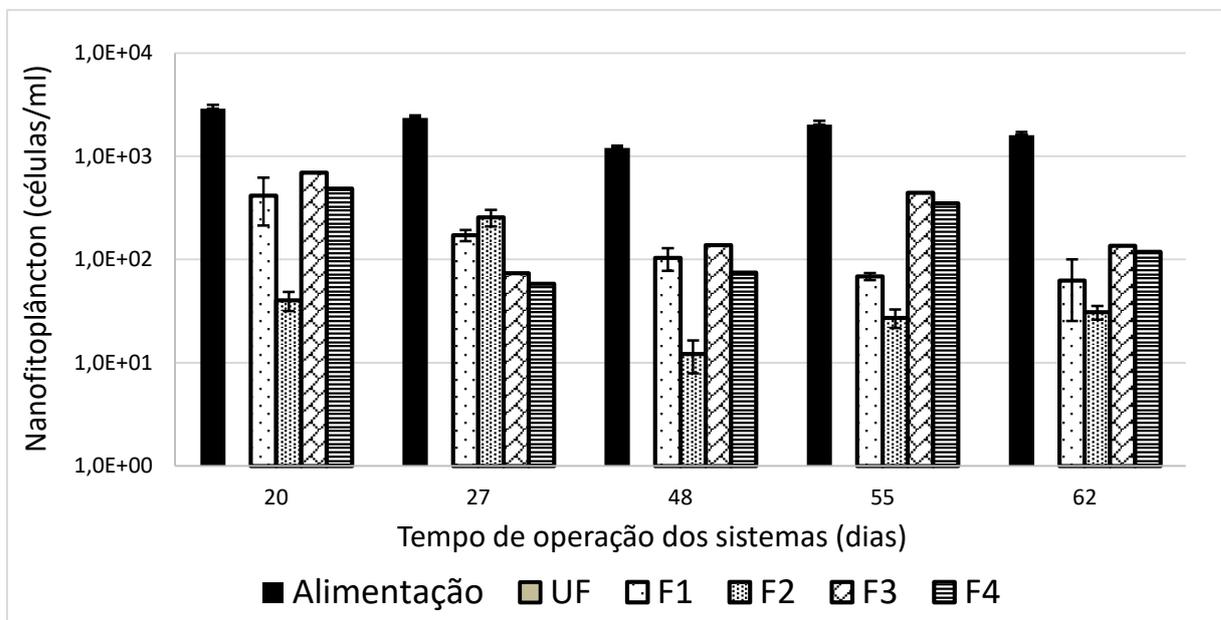


Figura 24. Quantificação de nanofitoplâncton (2-20 μm) realizada por citometria de fluxo. Os dados em cada ponto de amostragem representam as médias e desvio padrão das análises em triplicata dos filtros lentos (F1 e F2), filtros rápidos (F3 e F4) e UF. Os dados foram coletados apenas a partir do 20º dia de operação. Em todas as amostras de UF o resultado foi = 0.

Nas análises de citometria de fluxo para quantificação de nanofitoplâncton, que indicaram nas amostras as concentrações de microrganismos fotossintetizantes com tamanho entre 2-20 μm (abrangendo algumas espécies de diatomáceas, clorófitas, cocolitofóridos, silicoflagelados e criptofíceas), foi possível verificar que apenas a UF demonstrou capacidade de remover completamente estes microrganismos a partir da água de alimentação (**Figura 24**). A análise estatística demonstrou diferenças significativas entre os pré-tratamentos ao longo do tempo ($F = 28.21$; $F\text{-crítico} = 1.74$; $p < 0.05$). Porém, após teste *post hoc* foi possível observar

que não houve diferença significativa entre F3 e F4, e nos pontos referentes ao 55° e 62° dia também não foi mais verificada diferença entre as médias de F1 e F2. Desta forma, a partir deste ponto a cobertura e exposição dos filtros à luz não exerceram influência na capacidade de remoção de nanofitoplâncton.

3.4.3 Potencial de crescimento microbiano (PCM) das amostras de água

Em relação ao PCM medido nas amostras de água, a ANOVA também demonstrou diferenças significativas entre os pré-tratamentos ao longo do tempo ($F = 4.04$; $F\text{-crítico} = 1.47$; $p < 0.05$). Com base nos dados obtidos no teste *post hoc*, foi possível verificar que após 20 dias as médias de F1, F2, F3 e F4 diferiram da água de alimentação, sugerindo neste ponto uma remoção de AOC pelos filtros de areia. Porém, esta capacidade não foi mais observada nos pontos referentes ao 34° e 41° dia de operação, quando o PCM apresentado pelos filtros de areia se igualou novamente ao da água de alimentação. Após 48 dias foi observado novamente redução significativa do PCM pelos filtros de areia e as médias obtidas em F1, F2, F3 e F4 não diferiram estatisticamente das obtidas pelo sistema de UF. Inicialmente a UF apresentou uma capacidade em controlar o PCM maior do que os demais tratamentos analisados. Porém, ao final do experimento o desempenho da UF se igualou ao dos filtros lentos (F1 e F2) (**Figura 25**).

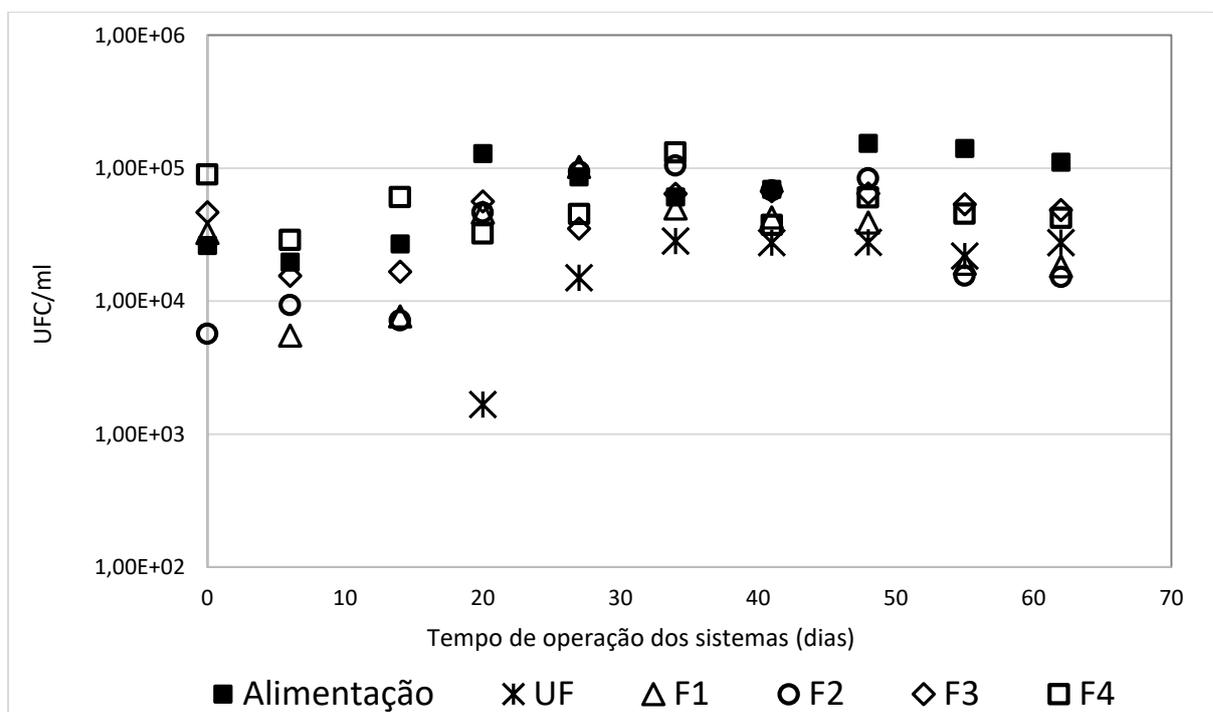


Figura 25. Determinação do PCM por meio do crescimento de células de *Pseudoalteromonas spongiae* inoculadas nas amostras a uma concentração inicial de 10^2 .

3.4.4 Formação de *fouling* em membranas de osmose reversa

O acúmulo de proteínas e carboidratos sobre as membranas expostas em câmaras de fluxo por 30 dias foi controlado por todos os sistemas avaliados, tendo como referência a quantidade de *fouling* obtida na membrana exposta à água de alimentação dos sistemas (que não passou por nenhum pré-tratamento) e na membrana controle (uma membrana “limpa”, ou seja, que não foi exposta a nenhuma das amostras de água).

A comparação estatística demonstrou diferença significativa entre tratamentos quando analisadas as médias tanto para as quantificações de proteínas ($F = 86.49$; F -crítico = 2.84; $p < 0.05$) quanto para carboidratos ($F = 107.88$; F -crítico = 2.85; $p < 0.05$). Observando os dados foi verificado que a UF e os filtros lentos foram mais efetivos no controle do *fouling* de membrana do que os filtros rápidos, sobretudo quando se refere ao controle do acúmulo de proteínas (**Figura 26**). As médias obtidas em F1, F2, UF e no controle não diferiram estatisticamente na análise de quantificação de proteínas. Já para carboidratos, não apresentaram diferenças significativas as médias de F1 e UF.

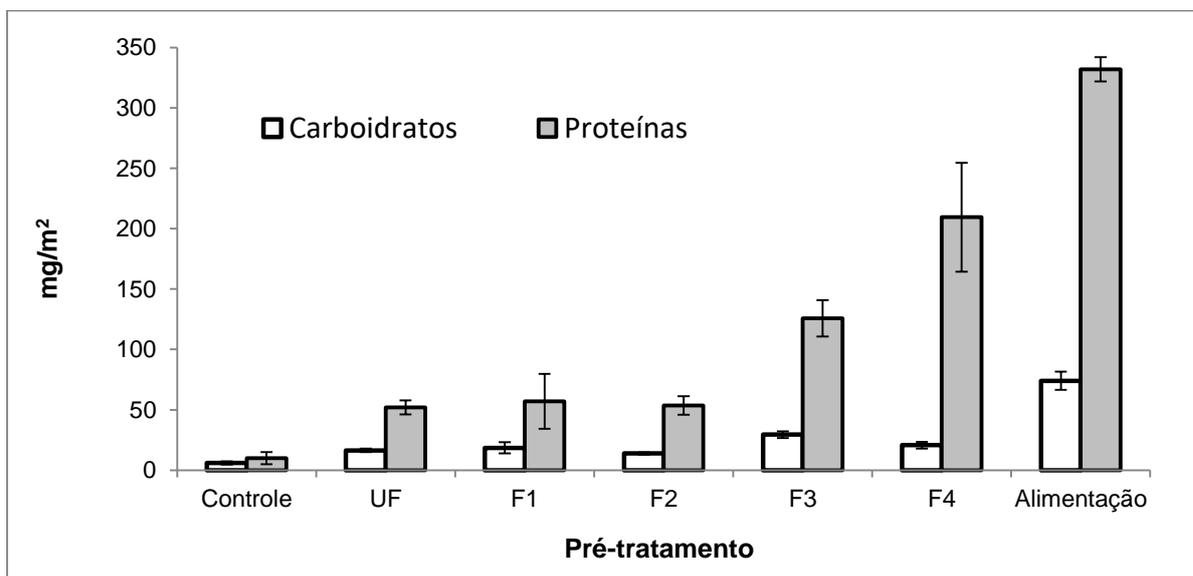


Figura 26. Quantificação do acúmulo de carboidratos e proteínas em membranas de osmose reversa expostas à água produzida por filtros lentos (F1 e F2) e filtros rápidos (F3 e F4), tendo como referências as médias obtidas no controle (membrana “limpa”) e em membranas expostas diretamente à água de alimentação. A análise foi realizada em membranas que ficaram expostas por 30 dias em câmaras de fluxo a uma vazão de 12 l/h.

Os resultados apresentados na **Figura 26** sugerem que em um período de 30 dias, os filtros lentos de areia (tanto cobertos quanto expostos à luz) foram capazes de controlar o *fouling* biológico de membrana com a mesma eficiência demonstrada pelo sistema de UF.

Porém, analisando as micrografias feitas por MEV apresentadas nas **Figuras 27 (A, B, C e D)** e **28 (A, B e C)**, é possível observar microalgas (principalmente diatomáceas) aderidas às membranas expostas aos filtrados de F1 e F2 (**Figuras 27C e 27D**), e como resultado esperado esses microrganismos não estão presentes nas membranas expostas ao permeado da UF (**Figura 27 B**). Desta forma, para que os filtros lentos apresentem realmente um desempenho semelhante ao sistema de UF, controlando efetivamente a formação de *fouling* biológico sobre as membranas, é necessária a utilização de uma outra etapa de filtração à jusante para um polimento da água, como o uso de filtros cartuchos, por exemplo.

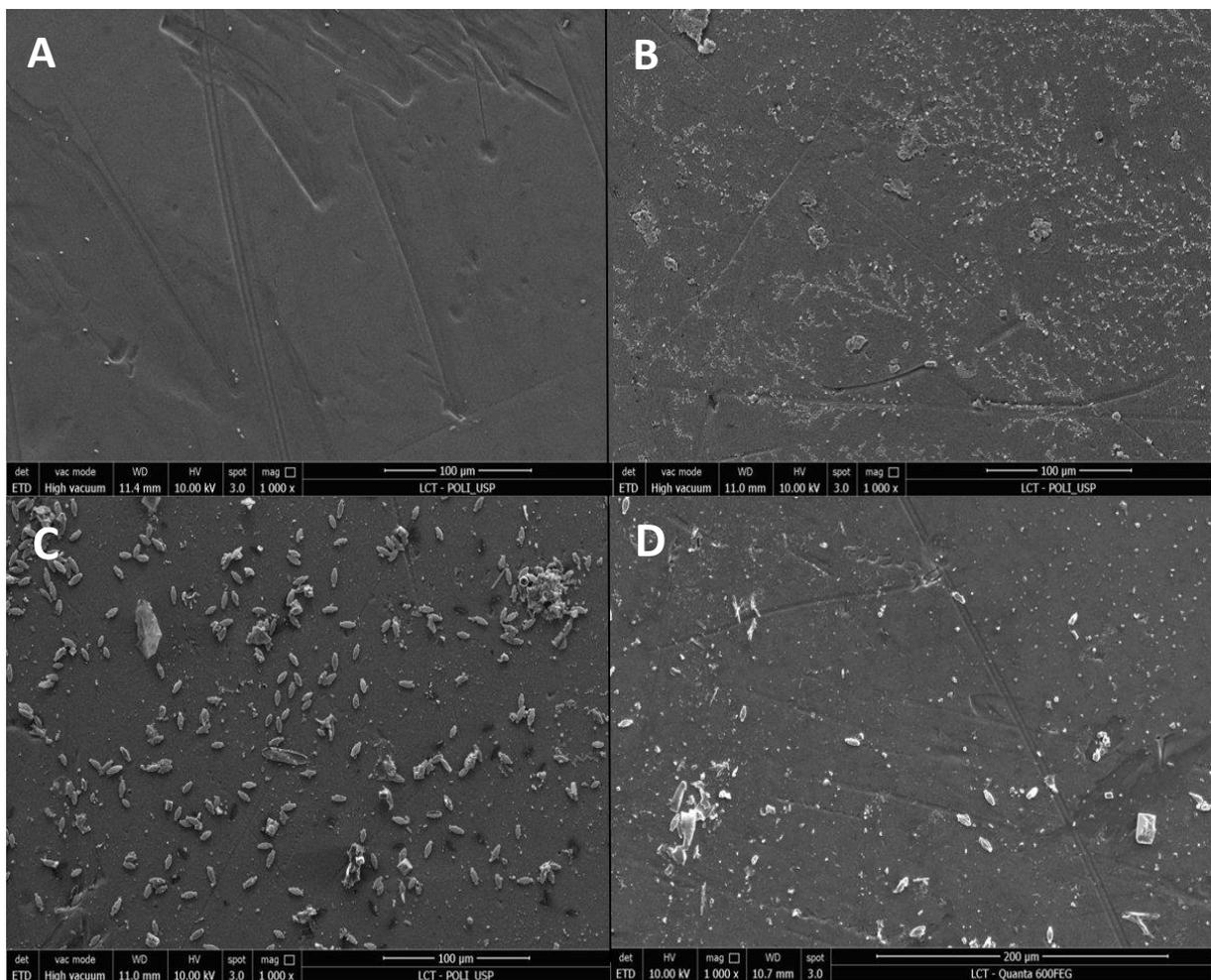


Figura 27. Micrografias em MEV realizadas em aumento de 1.000x. A análise foi realizada em membranas que ficaram expostas por 30 dias em câmaras de fluxo a uma vazão de 12 l/h. A) Corresponde a micrografia da “membrana limpa” que serviu como controle negativo, sendo possível observar apenas algumas poucas partículas aderidas. B) Na micrografia feita na membrana exposta ao permeado de UF foi observado pouca quantidade de material aderido à membrana em relação aos demais pré-tratamentos. C) Nas membranas expostas ao filtrado produzido por F1 (filtro exposto à luz) foi possível observar grande quantidade de diatomáceas medindo em média 15µm. D) Na membrana exposta ao filtrado de F2 (filtro protegido da luz) foi observado um número menor de diatomáceas aderidas em relação à F1.

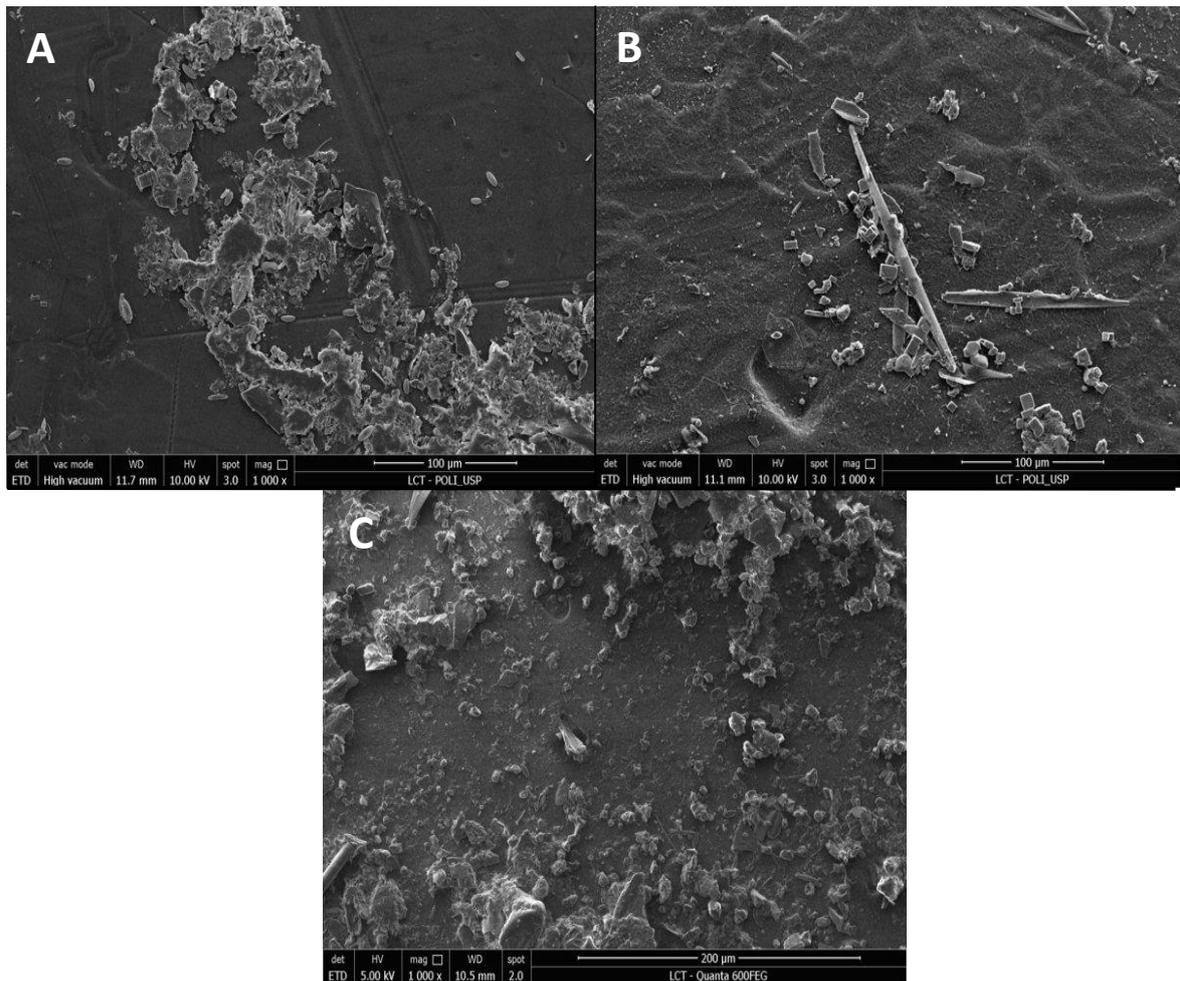


Figura 28. Micrografias em MEV realizadas em aumento de 1.000x. A) Corresponde à membrana exposta ao filtrado de F3, onde foi possível observar alguns pontos com um biofilme com a presença de EPS. B) Nas membranas expostas ao filtrado de F4 foram observadas algumas diatomáceas maiores com comprimento variando entre 100 e 200 μ m. C) Corresponde à membrana exposta à água de alimentação apresentando maior quantidade de material aderido em relação aos pré-tratamentos. A análise foi realizada em membranas que ficaram expostas por 30 dias em câmaras de fluxo a uma vazão de 12 l/h.

Outro resultado observado foi que os filtros rápidos biológicos, sem a utilização de coagulantes químicos, também apresentam algum nível de controle de *fouling* biológico associado à capacidade de remoção de turbidez, bactérias, microalgas e redução do PCM da água do mar. Porém, a quantidade de material biológico aderido às membranas expostas aos filtrados de filtros rápidos foi superior ao observado em filtros lentos (**Figura 26**), o que também foi observado qualitativamente nas comparações das análises por MEV (**Figuras 28 A e B**). Embora os resultados indiquem um desempenho inferior demonstrado pelos filtros rápidos, estes sistemas, que possuem a característica de serem facilmente recuperados por

retrolavagens, podem ser utilizados como uma alternativa de pré-filtração para reduzir a colmatação e prolongar o tempo de carreira dos filtros lentos.

Analisando a constituição do material biológico aderido sobre as membranas, verifica-se que embora seja um indicativo do crescimento de biofilmes, as concentrações de proteínas e carboidratos obtidas também podem ter origem no processo de adsorção direta destas macromoléculas à superfície das membranas (LADNER, 2009; SNOPOK; KOSTUKEVICH, 2006). Conforme apresentado na **Figura 26**, uma maior predominância de proteínas foi observada nos depósitos sobre as membranas, resultado também obtido nos experimentos anteriormente realizados, que foram apresentados no Capítulo 2, o que sugere uma deposição preferencial proteínas sobre as membranas de osmose reversa em relação aos carboidratos (COMPERE et al., 2001; LADNER, 2009).

É importante destacar que os testes aqui descritos foram realizados em condições diferentes àquelas geradas pelos módulos de osmose reversa, uma vez que na operação em condições reais o fenômeno do *fouling* de membrana tende a ser mais severo do que o descrito neste experimento, devido ao fluxo de permeação. Desta forma, para uma melhor avaliação dos sistemas de pré-tratamento, reproduzindo condições semelhantes àquelas encontradas nos módulos de osmose reversa, estes experimentos podem ser repetidos utilizando equipamentos como o simulador de *fouling* de membrana (MFI – *Membrane fouling simulator*) descrito por Vrouwenvelder et al. (2006), construído com os mesmos materiais (incluindo os espaçadores de permeado e alimentação presentes nos elementos de membrana) e que simula as mesmas condições hidráulicas dos módulos reais.

Com base nos dados obtidos, referentes ao desempenho dos sistemas em termos de controle biofilmes em membranas, é possível colocar os filtros lentos como uma possível alternativa para o pré-tratamento de água do mar, já que também apresentam outras vantagens como não utilizarem produtos químicos e consumirem pequenas quantidades de energia elétrica (DI BERNARDO; BRANDÃO; HELLER, 1999). Porém, para auxiliar uma tomada de decisão, ainda é necessário realizar uma comparação entre os filtros lentos de areia e UF em termos de custos de instalação e operação para o tratamento da água do mar.

3.5 Conclusões

Tanto filtros lentos quanto filtros rápidos foram capazes de reduzir a turbidez da água para níveis próximos dos alcançados pela UF. Porém, considerando os fatores operacionais, foi observado que os filtros lentos e rápidos demonstraram instabilidade na taxa de filtração durante o período de operação, com redução da taxa em períodos de agitação do mar, sendo observada correlação das quedas nas taxas de filtração com aumento da turbidez. Por outro lado, quando a água de alimentação apresentou turbidez inferior a 2 UNT, os filtros demonstraram estabilidade na taxa de filtração por pelo menos 8 h após o reajuste da vazão. Em alguns momentos foi possível verificar uma diferença no comportamento entre filtros expostos à luz e filtros protegidos.

Todos os sistemas avaliados foram capazes de produzir água com SDI₁₅ inferior a 3, inclusive em condições de agitação do mar, em que o SDI da água de alimentação chegou a 16 (SDI₅). Porém, os menores valores de SDI foram obtidos no permeado produzido pela UF (com valores em torno de 1). Assim, se o SDI fosse considerado o principal parâmetro de qualidade de água, todos os sistemas analisados estariam aptos para produzir água adequada para alimentar sistemas de osmose reversa. Porém, diferenças de desempenho entre os sistemas relacionadas à capacidade de controlar o *fouling* de membranas foram observadas quando levados em consideração os parâmetros biológicos.

Quanto à eficiência microbiológica, os filtros lentos de areia demonstraram uma capacidade de remoção de bactérias de 1 log em relação à água de alimentação, desempenho superior ao apresentado pelos filtros rápidos, confirmando o resultado esperado que está relacionado as diferentes porosidades apresentadas pelos dois tipos de filtros. Porém, os filtros lentos tiveram desempenho inferior ao sistema de UF, além de necessitarem de um tempo de maturação de aproximadamente 27 dias para demonstrar taxas significativas de remoção de bactérias. Quanto a eficiência de remoção de microalgas com tamanho entre 2-20 µm, nos filtrados de F1 e F2 foram encontradas em média concentrações de 10² célula/ml, o que representou uma capacidade de remoção superior a 1 log em relação à água de alimentação mas inferior aos resultados apresentados pela UF. As micrografias feitas em MEV revelaram que a concentração de células nos filtrados de F1 e F2 resultaram em um biofilme de microalgas sobre as membranas, o que não foi observado nas membranas expostas ao permeado da UF, como esperado.

Em termos de controle do potencial de crescimento microbiano, foi possível observar que ao fim do experimento todos os sistemas alcançaram a mesma taxa de controle. Porém, a

UF demonstrou controlar o PCM desde o início de sua operação, enquanto os filtros de areia biológicos demonstraram tal controle após um período de maturação superior a 50 dias. Desta forma, para esta finalidade é possível utilizar filtros lentos de areia em substituição à UF, buscando uma opção mais barata de pré-tratamento, desde que o tempo de maturação não reflita em prejuízos para o processo. Caso contrário a UF parece ser o pré-tratamento mais indicado para controlar o PCM. Estudos futuros serão necessários para verificar alternativas que reduzam o tempo de maturação de filtros lentos de areia para que estes sistemas sejam mais competitivos.

Na comparação de controle de *fouling*, as concentrações de carboidratos e proteínas quantificadas sobre as membranas indicaram desempenhos semelhantes entre F1 e F2, sugerindo que o fator exposição à luz não influenciou de forma significativa o controle de *fouling* sobre as membranas. Os dados obtidos nas quantificações de carboidratos e proteínas também indicaram que F1 e F2 tiveram desempenho semelhante à UF, o que não foi confirmado nas observações diretas feitas por MEV, que mostraram maior concentração de células (principalmente microalgas) aderidas às membranas em F1 e F2 do que em UF. Embora, tanto F1 como F2 tenham sido capazes de reduzir o *fouling* de membrana em até 85%, comparado com a água que não passou por este tratamento, estes sistemas ainda necessitam etapas adicionais para fornecer água de alimentação para o processo de osmose reversa, ou seja, uma complementação do tratamento à jusante aos filtro lentos que seja mais restritiva, evitando assim que grande quantidade de microrganismos chegue à membrana. Uma alternativa simples seria a utilização de filtros cartucho após os filtros lentos de areia. Além disso, ainda é necessário incluir no pré-tratamento por filtros lentos de areia estratégias ou etapas prévias que permitam uma maior estabilidade da taxa de filtração e reduzam as intervenções necessárias para recuperação das taxas diante das oscilações na quantidade de material suspenso que ocorrem naturalmente na água do mar.

As comparações de desempenho entre os sistemas sugerem que para gerar água adequada para a operação de osmose reversa, incluindo o controle efetivo da formação de biofilmes em membranas, o pré-tratamento poderia ser constituído por uma combinação de alguns dos sistemas avaliados neste trabalho. Desta forma, estudos futuros são necessários para testar estas combinações.

Para uma avaliação mais precisa dos pré-tratamentos aqui estudados, em termos de controle de *fouling*, ainda se faz necessário testar a água produzida por cada sistema em condições semelhantes às aquelas encontradas nos módulos de osmose reversa, utilizando ferramentas como simuladores de *fouling* de membrana que reproduzam as mesmas condições hidráulicas dos módulos reais.

CAPÍTULO 4 –TRATAMENTO DA ÁGUA DO MAR POR FILTROS LENTOS DE AREIA NO CONTROLE DE BIOFILMES EM SISTEMAS DE AQUICULTURA

4.1 Introdução

A formação de biofilmes em tanques de cultivo constitui um grande desafio para a aquicultura, devido à necessidade constante de manejo e limpeza dos tanques, que demanda trabalho do aquicultor e pode ser um fator de estresse para as espécies cultivadas. Além disso, biofilmes podem constituir uma fonte de microrganismos causadores de patologias em peixes (KING et al., 2004; KING et al., 2008, TIMMONS et al., 2009). A colonização de biofilmes sobre a superfície de estruturas imersas está relacionada com a presença microrganismos e nutrientes na água do mar (FLEMMING et al., 1997; LEE et al., 2011). Desta forma, são necessários métodos de tratamento que reduzam os fatores que favorecem a formação de biofilmes em tanques. Além disso, também é necessário que o tratamento utilizado forneça água com qualidade adequada para gerar boas condições de sobrevivência, reprodução e crescimento para os indivíduos cultivados (BOYD; TUCKER, 1998).

A aplicação de filtros biológicos para tratar água de alimentação de tanques pode constituir uma alternativas efetiva no controle da formação de biofilmes, uma vez que estes sistemas atuam na remoção de nutrientes da água (BOUWER; CROWE, 1988; GRAHAM, 1999; RAY et al., 2002). Os filtros lentos de areia são biofiltros que apresentam duas funções associadas: uma é a alta capacidade de redução da turbidez da água por meio da retenção de partículas e patógenos, como nos filtros convencionais, a outra é a remoção da matéria orgânica biodegradável e outros elementos biodisponíveis, utilizando como mecanismo de remoção o metabolismo microbiano da *schmutzdecke*, camada de biofilme aderido ao meio filtrante (CAMPOS et al., 2002; HUISMAN; WOOD, 1974; JOUBERT; PILLAY, 2008; LOGSDON et al., 2002). Além disso, esses sistemas são caracterizados pela operação simples, por não necessitarem de produtos químicos, e por não necessitarem grandes quantidades de energia elétrica, operando por gravidade (DI BERNARDO et al, 1999; HUISMAN; WOOD, 1974).

Alguns estudos descreveram a utilização de filtros lentos de areia como sistema de tratamento de água para aquicultura (DRENNAN et al., 1993; VIGNESWARAN et al., 1991), porém, diante de uma variedade de processos de tratamento recentemente desenvolvidas, estes sistemas deixaram de ser considerados como uma alternativa para o tratamento da água. Além disso, são escassos os dados sobre a aplicação destes sistemas para o tratamento de água do mar. Recentemente foi demonstrado que o uso dos filtros lentos como sistemas de tratamento

de água do mar pode ser uma alternativa para controlar a formação de biofilmes (DE OLIVEIRA, 2012).

Este estudo busca avaliar o uso do filtro lento de areia como uma alternativa para o tratamento de água do mar e abastecimento de sistemas de aquicultura, principalmente em termos de estabilização da turbidez e controle da formação de biofilmes nos tanques de cultivo. Filtros rápidos de areia (do tipo utilizado em piscinas), que haviam sido destinados ao tratamento da água de cultivo de peixes em trabalhos prévios foram utilizados para comparação de desempenho. Além disso, foram também incluídos no sistema proposto como uma etapa de filtração prévia aos filtros lentos, buscando reduzir a perda de carga, principalmente em situações de agitação do mar, já que para o uso direto de filtros lentos de areia a água de alimentação deve apresentar preferencialmente turbidez menor que 5 UNT, e valores de clorofila a menores que 0.05 µg/L (CLEASBY, 1991; LOGSDON et al., 2002). Neste estudo os organismos cultivados foram indivíduos juvenis da espécie *Epinephelus marginatus* (garoupa verdadeira), de grande interesse comercial.

4.2 Objetivos

4.2.1 *Objetivos gerais*

O presente trabalho buscou comparar o desempenho de dois sistemas de tratamento de água para aquicultura, um constituído por um filtro rápido de areia seguido de um filtro lento e outro constituído apenas por filtro rápido, a fim de determinar se haveria diferença de desempenho entre os sistemas para o controle da formação de biofilmes e depósito de material orgânico nos tanques.

4.2.2 *Objetivos específicos*

- ❖ A fim de comparar o desempenho entre os tratamentos avaliados, determinar a qualidade da água na saída dos sistemas e dentro dos tanques, utilizando dados de parâmetros físico-químicos como temperatura, oxigênio dissolvido, amônia total e turbidez.

- ❖ Por meio da quantificação de proteínas e carboidratos em corpos de prova, determinar qual dos tratamentos demonstra melhor eficiência no controle da formação de biofilmes e depósito de material orgânico dentro dos tanques de cultivo de peixes.

4.3 Materiais e Métodos

4.3.1 Descrição dos sistemas de tratamento de água do mar e desenho experimental

Indivíduos juvenis da espécie *Epinephelus marginatus* (garoupa verdadeira), foram cultivados por 31 dias em 4 tanques de fibra de vidro com capacidade de 1000 l cada um. Os tanques consistiram em sistemas de cultivos de fluxo aberto (sem recirculação de água), sendo operados com uma vazão de alimentação de 50 l/h, correspondente a um tempo de retenção hidráulica de 20 h, inferior ao tempo máximo de 24 h para a troca completa da água de tanques de cultivo, recomendado por Timmons et al. (2009). No centro dos tanques foram instalados os tubos de drenagem, pelos quais também foi possível ajustar o nível d'água nos tanques. Os tanques foram dispostos de forma linear dentro de uma estufa, protegidos da chuva, porém expostos a luz do sol (**Figura 29**). Foram então numerados de 1 a 4, sendo que os tanques 1 e 3 (réplicas) foram alimentados com água do mar tratada apenas por filtros rápidos de areia (FRA) (**Figura 30**), do tipo filtro de piscina, construídos com uma camada filtrante de 50 cm de altura feito de areia com tamanho efetivo de 0.79 mm e coeficiente de uniformidade 1.35 (areia São João® 18/30), operado a uma taxa de filtração de 12 m³/m²h.



Figura 29. A imagem à esquerda apresenta a posição de cada tanque na estufa de trabalho (O tanque 1 está em primeiro plano e o tanque 4 está posicionado ao fundo). À direita é apresentado um dos tanques utilizados no experimento ainda com alguns corpos de provas fixados no fundo e nas paredes do tanque.

Nos tanques 2 e 4 (réplicas), além de passar pelos filtros rápidos, a água do mar também passou por um tratamento adicional por filtros lentos de areia (FLA) (**Figura 29**), construídos com um meio filtrante de 30 cm de altura feito com areia fina obtida na Pedreira Santa Isabel Ltda, que após procedimento de lavagem para remoção de partículas finas permaneceu com o tamanho efetivo do grão de 0.15 mm e coeficiente de uniformidade 2.3. O filtro lento foi operado a uma taxa de filtração de 0.1 m³/m²/h.

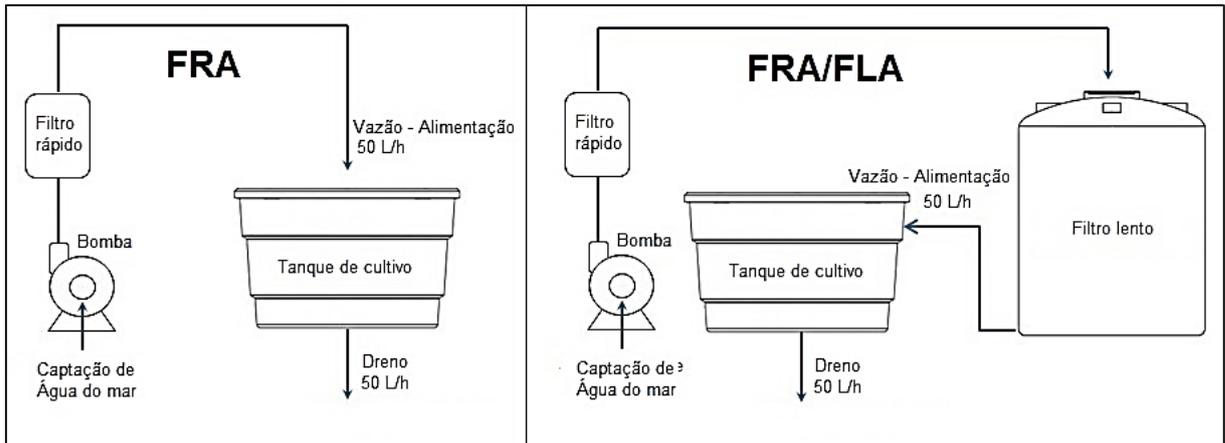


Figura 30. Configuração dos sistemas de tratamento de água do mar testados. FRA corresponde ao tratamento feito apenas com filtro rápido de areia e FRA/FLA corresponde ao tratamento feito por filtro rápido de areia seguido por filtro lento de areia.

Em cada tanque foram colocados 4 peixes, sendo que o peso médio (g) dos peixes nos tanques 1, 2, 3 e 4 foram, respectivamente, 377 ± 71 ; 387 ± 79 ; 379 ± 68 e 415 ± 135 . Anteriormente foi realizado um manejo para controle de ectoparasitas que consistiu na imersão de cada indivíduo em água doce durante aproximadamente 3 min. Após o início do experimento os peixes foram alimentados *ad libitum* a cada 48 h com aproximadamente 96g de alimento por tanque, sendo 16 pedaços de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) congelada, cortados em cubos e pesando aproximadamente 6g cada (peso úmido). Os pedaços de alimento não ingeridos foram removidos após 2 h. Material particulado depositado no fundo dos tanques, como fezes, restos de alimento e outros materiais particulados sedimentáveis, foram removidos um dia após a alimentação, por meio de aspiração com mangueira. Para evitar uma drástica redução nas taxas de oxigênio geradas pela presença de matéria orgânica e/ou elevação repentina da temperatura, foram mantidos difusores de ar fixados no centro do tanque ao fundo.

Para quantificar a formação de biofilmes em cada tanque, foram colados corpos de prova nos fundos e nas paredes dos tanques, constituídos por pedaços de lonas de PVC Sansuy® (material utilizado na confecção de alguns tanques de cultivo), cada um com uma área de 50 cm². Por tanque foram adicionados 30 corpos de prova, sendo que a cada tempo de coleta (5, 15 e 31 dias) foram coletadas 5 réplicas dos corpos de prova do fundo e 5 réplicas da parede de cada tanque.

4.3.2 Análises físico-químicas da água

Temperatura, oxigênio dissolvido (OD) (analisador de oxigênio dissolvido portátil YSI 55[®] Yellow Springs, OH, EUA), pH (pHmetro portátil Qualxtron[®], Singapura), salinidade (refratômetro S/Mill-E ATAGO[®], Tokyo, Japão), turbidez (turbidímetro portátil 2100P HACH[®], Loveland, Colorado, EUA), e amônia (Ammonia Test Kit[®] Red Sea, Houston, TX, EUA), foram monitorados diariamente na água de alimentação e dentro dos tanques. Os dados foram coletados logo pela manhã antes dos procedimentos de alimentação dos peixes ou aspiração do tanque.

4.3.3 Análises de biofilmes aderidos nos tanques

Os corpos de provas coletados foram cortados ao meio (2 pedaços de 25 cm²), um pedaço foi destinado às análises por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (Microscópio Quanta 600 FEG[®], FEI, USA) e a outra para a quantificação de biofilmes.

A extração do biofilme aderido foi realizada cortando os corpos de prova em pequenos pedaços e misturando em liquidificador (IB900 Black Decker[®]) com 100 ml de água milliQ em rotação máxima por 2 min. O sobrenadante líquido foi então peneirado e separado em um tubo cônico plástico, e mantido a -20 °C até o momento da análise. Proteínas e carboidratos foram determinados utilizando os métodos de Bradford (1976) e Dubois et al., (1956), respectivamente.

4.3.4 Análises estatísticas

Os dados obtidos nas quantificações de proteínas e carboidratos foram analisados por ANOVA, considerando um nível de significância: $\alpha = 0.05$, e 3 fatores: Tempo (contendo três níveis: 5, 15 e 31 dias), Tratamento (contendo 4 níveis: FRA-Tanque 1; FRA-Tanque 3; FRA/FLA-Tanque 2 e FRA/FLA-Tanque 4) e réplicas de tanques (duas réplicas para cada tratamento). Com este modelo foram realizadas ao todo quatro análises: Duas para as quantificações de proteínas (proteínas na parede do tanque e proteínas no fundo do tanque) e duas para carboidratos (carboidratos na parede do tanque e carboidratos no fundo do tanque). A comparação entre tratamentos dois a dois em cada tempo de coleta foi realizada por meio do teste *post-hoc* de Tukey

4.4 Resultados e Discussão

4.3.1 Análises físico-químicas

As concentrações de amônia na água dos tanques, foram obtidas por meio de um kit que se baseia em um teste colorimétrico, para comparação da cor produzida em uma tabela contendo uma escala de leitura de cores com as respectivas concentrações. Este kit foi adotado, na falta de um método mais preciso, para verificar uma possível elevação nos níveis de amônia, uma vez que a faixa de concentração letal para peixes marinhos vai de 0.09 a 3.35 mg/l NH₃ (EDDY, 2005). Durante os 31 dias de experimento, em todos os tanques as concentrações de amônia se mantiveram próximo de 0. O pH e a temperatura da água dentro dos tanques também permaneceram estáveis (Tabelas 3 e 4) e ao longo de todo o experimento o valor da salinidade foi 35‰. Todos os parâmetros se mantiveram dentro da faixa considerada adequada para o cultivo de peixes (TIMMONS et al., 2009).

Tabela 3 – Valores de pH medidos dentro dos tanques nos 31 dias de experimento

Tanque	Média	Máx.	Mín.
1	8.0 ± 0.11	8.2	7.9
2	8.1 ± 0.08	8.3	8.0
3	8.1 ± 0.08	8.4	8.0
4	8.1 ± 0.10	2.1	7.8

Tabela 4 – Valores de temperatura (°C) medidos dentro dos tanques nos 31 dias de experimento

Tanque	Média	Máx.	Mín.
1	20.6 ± 0.9	22.7	18.9
2	20.7 ± 0.9	22.2	18.9
3	20.5 ± 1.1	22.7	18.3
4	20.4 ± 1.2	22.6	18.1

Avaliando os dados foi possível observar variações na taxa de OD em todos os tanques ao longo do período de experimento. Quedas na taxa de OD foram observadas principalmente após a alimentação dos peixes e aumentos na taxa de OD foram observados após aspiração do fundo (**Figura 31**). Esta oscilação pode estar relacionada com um aumento na demanda

bioquímica de oxigênio (DBO) e na taxa de respiração microbiana, devido à adição de matéria orgânica na coluna d'água após procedimento de alimentação dos peixes.

A reposição de oxigênio dissolvido em tanques de cultivo de peixe ocorre principalmente pelo processo de difusão de O_2 através da interface ar-água, como aquela produzida no processo de aeração por difusores de ar, e também pelo processo de fotossíntese. Já o consumo de O_2 , ocorre principalmente pela respiração aeróbica dos peixes, de bactérias, do zooplâncton e até mesmo do fitoplâncton, que consome O_2 respirando na fase escura da fotossíntese (BOYD; HANSON, 2010; CHANG; OUYANG, 1988; HARGREAVES; TUCKER, 2002).

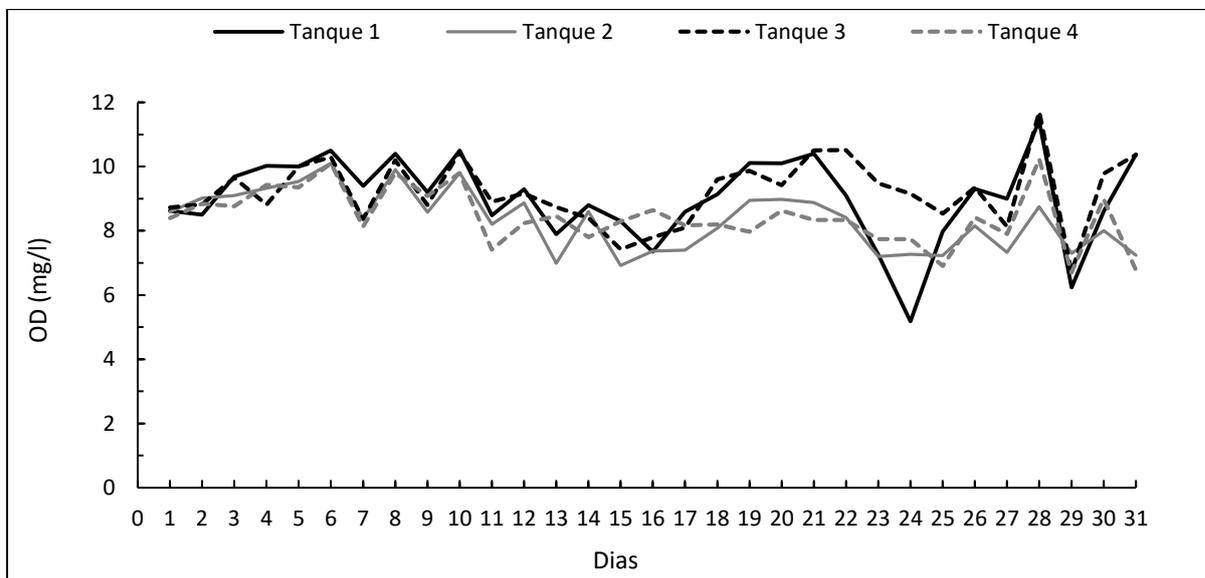


Figura 31. Variação do oxigênio dissolvido dentro dos tanques. Os dias pares representam os dias em que os peixes foram alimentados e os dias ímpares (exceto o 1º dia de experimento), foram os dias em que os tanques foram aspirados para remoção de material depositado no fundo.

O tratamento por meio de FRA/FLA manteve a água dos tanques 2 e 4 sempre abaixo de 1 UNT (**Figuras 32C e 32D**), mesmo em situações de elevação da turbidez da água bruta devido à agitação do mar, enquanto o tratamento apenas por FRA permitiu que a turbidez dos tanques 1 e 3 chegassem a valores superiores a 6 UNT (**Figuras 32A e 32B**). A redução dos valores de turbidez em tanques de cultivo de peixes é um importante fator de controle de algumas doenças causadas por microrganismos, bem como lesões em brânquias causadas pela concentração excessiva de sólidos suspensos, condições que geram estresse para as espécies cultivadas. Porém, algumas espécies de peixes são mais sensíveis às altas concentrações de material particulado suspenso do que outras, que são mais tolerantes (APPLEBY; SCARRATT, 1989; BASH; BERMAN; BOLTON, 2001; ROWE et al., 2002). Um sistema de tratamento

composto por FLA é capaz de remover tanto partículas inertes quanto reduzir o número de bactérias, protozoários e até mesmo alguns vírus (BRITO et al., 2005; ELLIS; AYDIN, 1995; HIJNEN et al., 2004, MURTHA; HELLER, 2003; WAKELIN et al., 2011; WEBER-SHIRK; DICK, 1999).

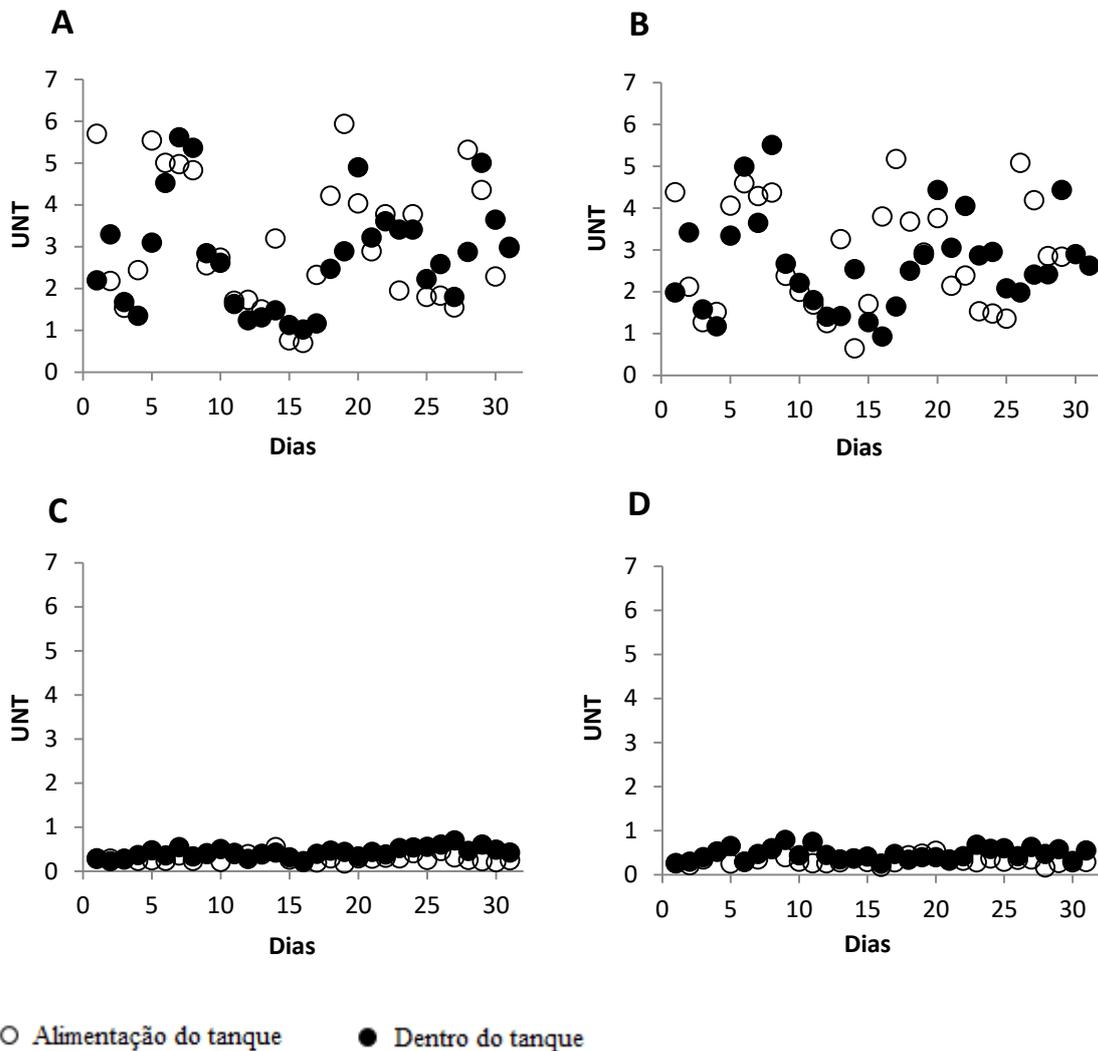


Figura 32. Valores de turbidez (UNT) na água de alimentação e dentro dos tanques em FRA (A e B) e FRA/FLA (C e D).

4.3.2 Análises de biofilmes aderidos em corpos de prova

A ANOVA feita a partir das médias obtidas nas quantificações de proteínas e carboidratos no fundo dos tanques, demonstrou que a diferença entre tratamentos foi significativa tanto para proteínas ($F = 18.5$; F -crítico = 2.79; $p < 0.05$) como para carboidratos ($F = 62.4$; F -crítico = 2.79; $p < 0.05$). Conforme apresentado na **Figura 33**, o acúmulo de

material nos corpos de prova posicionados nos fundos dos tanques foram menores nos tanques 2 e 4, que contaram com água tratada pelo sistema FRA/FLA, sendo esta diferença mais evidente após 31 dias de exposição. Foi possível verificar que FRA/FLA controlou no fundo dos tanques tanto o acúmulo de proteínas quanto o de carboidratos, inclusive que o tratamento feito apenas por FRA resultou em grande concentração de carboidratos nos corpos de prova após 31 dias. Com base nos dados, foi observado que o tratamento constituído por FRA/FLA teve desempenho superior ao tratamento por FRA, controlando o acúmulo de proteínas e carboidratos nos fundos dos tanques logo após 5 dias de exposição dos corpos de prova. Nas imagens dos corpos de prova feitas após 31 dias de exposição, apresentadas na **Figura 34**, é possível observar uma quantidade menor de material aderido nos corpos de prova expostos nos tanques 2 e 4 que contaram com o tratamento por FRA/FLA, porém todas as amostras apresentaram coloração esverdeada típica de biofilmes constituídos por algas. Na **Figura 35**, as análises de MEV evidenciaram uma grande concentração de diatomáceas (de diversos tamanhos) e grande quantidade de material particulado aderido nos corpos de prova nos tanques 1 e 3, que contaram com o tratamento por FRA apenas, enquanto a exposição nos tanques 2 e 4, tratados por FRA/FLA, permitiu a adesão de algumas diatomáceas com tamanho menor e uma menor concentração de material particulado aderido.

Nos corpos de prova posicionados nas paredes dos tanques, foi significativa a diferença entre tratamentos para carboidratos ($F = 18.5$; F -crítico = 2.79; $p < 0.05$). Embora essa diferença tenha sido significativa também para proteínas, a análise demonstrou um valor marginal de significância ($F = 2.84$; F -crítico = 2.79; $p = 0.047$). Na **Figura 33** é possível verificar que a partir de 15 dias a concentração de proteínas nos corpos de prova passou a ser menor com o tratamento FRA/FLA do que com FRA apenas, exceto para o tanque 2, que apresentou alta concentração de proteínas após 31 dias. Para carboidratos, o tratamento por FRA/FLA passou a ser mais efetivo em relação ao tratamento por FRA a partir de 15 dias no tanque 2 e somente após 31 dias no tanque 4. Na **Figura 34**, por meio do registro de imagens dos corpos de prova, praticamente não foi possível observar nenhum material aderido nos corpos de prova tratados por FRA/FLA, já os corpos de prova tratados por FRA somente apresentaram coloração esverdeada característica de biofilmes constituídos por algas. Por meio das análises feitas por MEV (**Figura 35**) foi possível verificar nas paredes dos tanques 1 e 3 diatomáceas semelhantes àsquelas presentes nos fundos dos tanques e material aderido semelhante ao EPS de biofilmes microbianos, enquanto nas paredes dos tanques 2 e 4 não foram observadas diatomáceas e pouco material aderido foi encontrado.

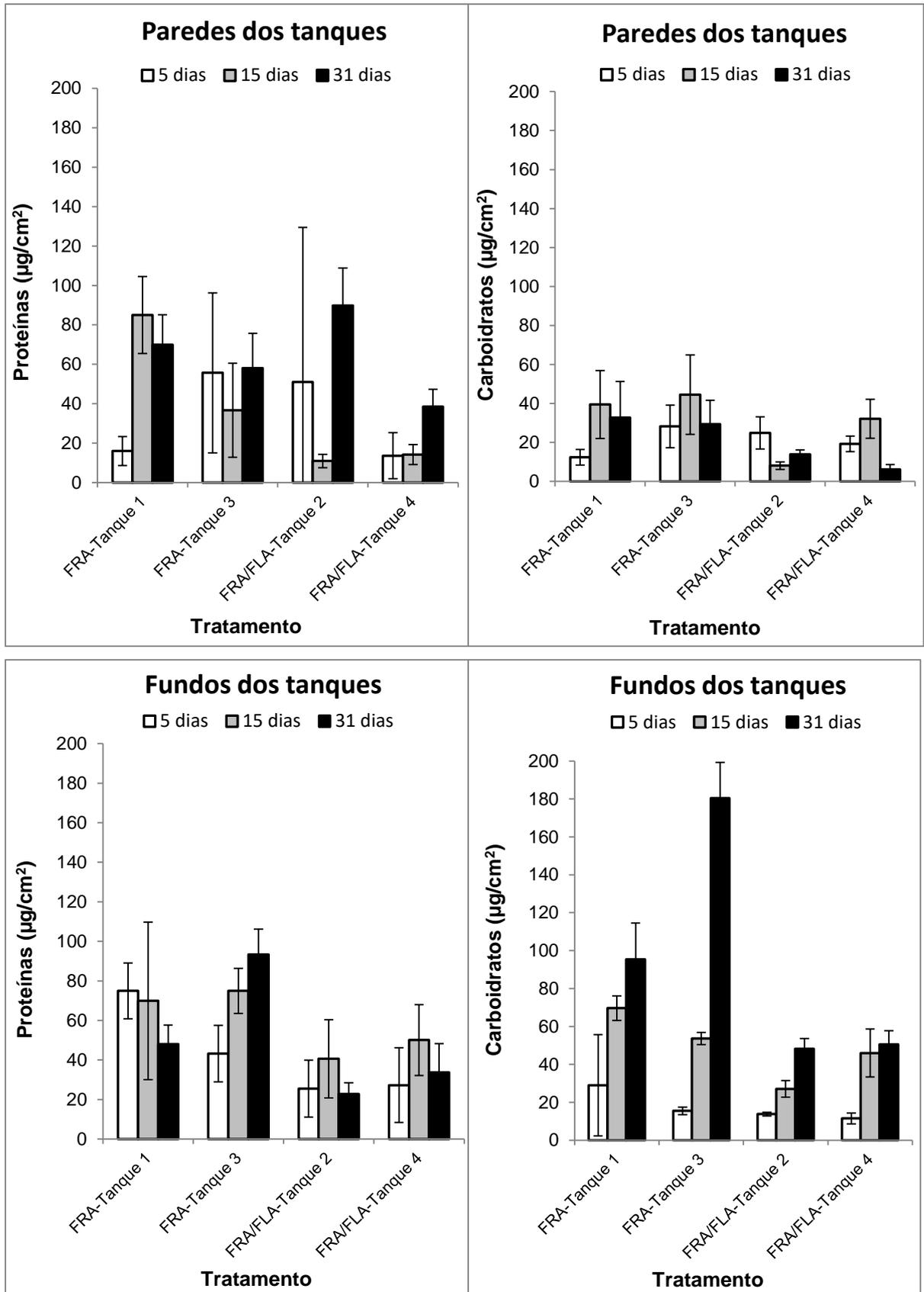


Figura 33. Quantificação de proteínas e carboidratos nos corpos de prova expostos aos tratamentos FRA e FRA/FLA. Os dados representam as médias e desvio padrão de 5 réplicas.

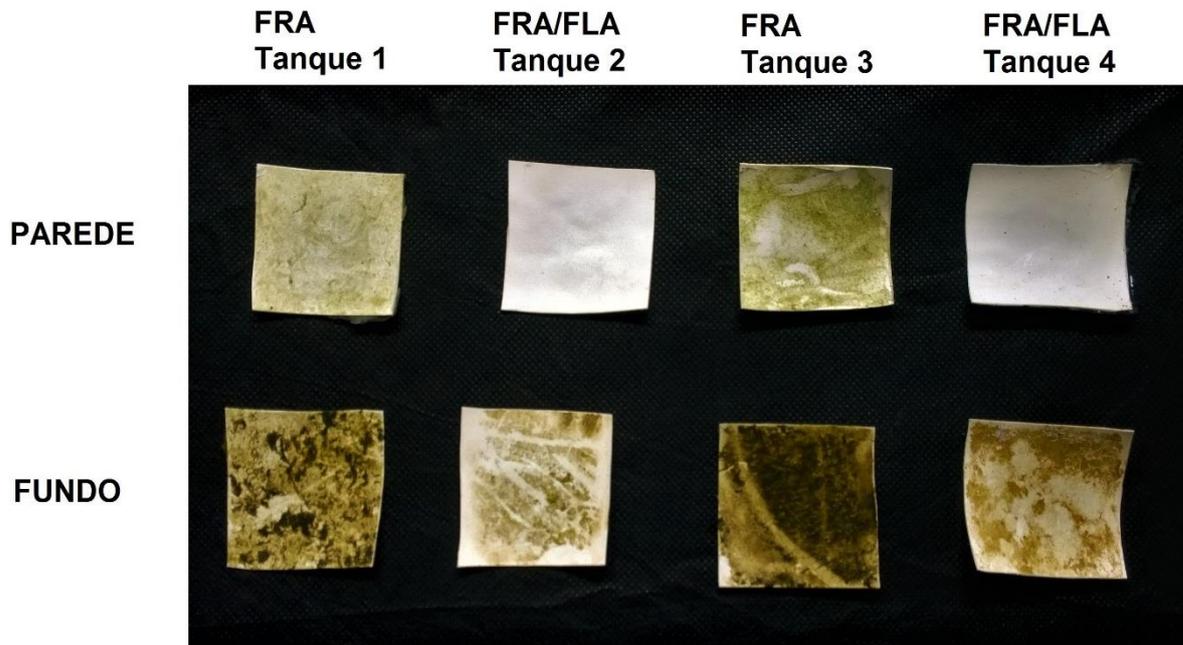


Figura 34. Aspecto de amostras obtidas em cada tanque após 31 dias de experimento.

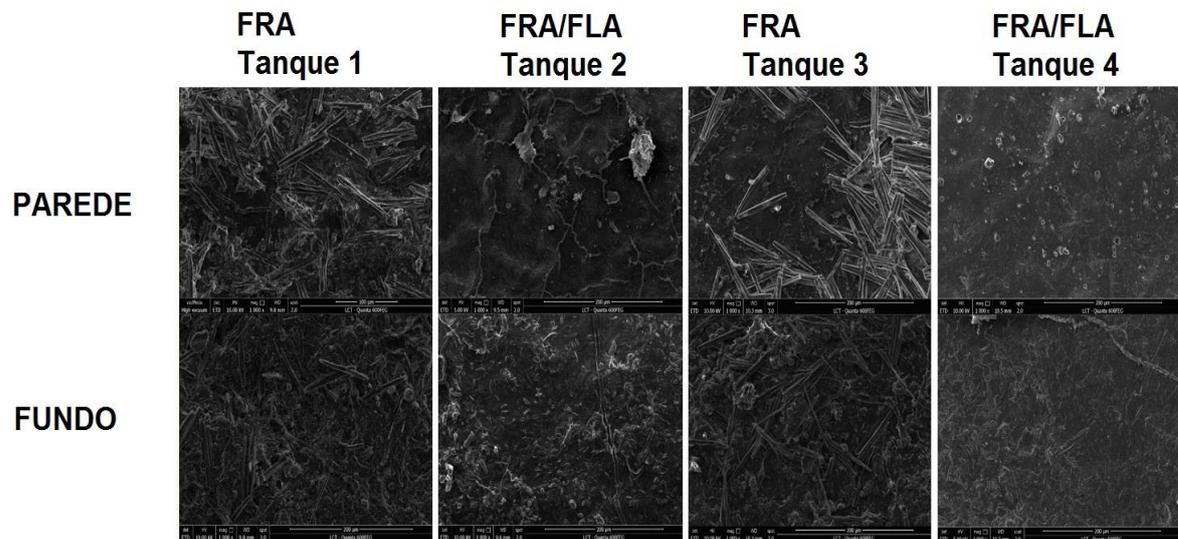


Figura 35. Análise por MEV das amostras apresentadas na **Figura 34**.

Embora os tanques 1 e 3 tenham constituído réplicas do tratamento por FRA e os tanques 2 e 4 réplicas do tratamento FRA/FLA, foram notadas algumas diferenças de desempenho entre as réplicas de tratamentos (**Figura 33**), que foram confirmadas pela análise *post-hoc* (Tukey). Essas diferenças podem ser justificadas pela disposição dos tanques na estufa onde foi desenvolvido o trabalho, onde tanques com o mesmo tratamento sofreram diferentes exposições à luz (influenciando diferentemente o crescimento de algas), uma vez que este fator não foi controlado no experimento. Em termos de quantificação de depósitos, foi observada uma maior

concentração de material aderido no fundo em relação às paredes dos tanques, o que pode ser explicado pelo efeito do processo de sedimentação de partículas, incluindo restos de alimentos, fezes e microrganismos.

De forma geral, embora ambos os tratamentos por filtros de areia sejam de simples implementação e operação, a inclusão de uma etapa de filtração por sistemas de filtros lentos de areia pode refletir em um melhor desempenho no controle da deposição de materiais e formação de biofilmes em tanques de cultivo de peixes.

4.5 Conclusões

A comparação entre os dois tratamentos avaliados demonstrou que FRA/FLA teve um melhor desempenho no controle da formação de biofilmes e deposição de material orgânico nos tanques de cultivo, quando comparado com o tratamento constituído apenas por FRA. Foi observado que FRA/FLA controla melhor a turbidez dos tanques do que FRA, mantendo a turbidez abaixo de 1 UNT mesmo em casos de elevação da turbidez na água bruta. O experimento revelou uma predominância de diatomáceas na constituição do biofilmes formado nos tanques de cultivo. Além disso, também demonstrou que biofilmes e material orgânico se concentram mais no fundo do que nas paredes dos tanques, tanto para FRA/FLA quanto para FRA apenas, possivelmente pela sedimentação de material orgânico suspenso. Assim, a utilização de filtros lentos de areia como parte do tratamento da água do mar pode reduzir a frequência de limpeza dos tanques reduzindo os níveis de estresse das espécies cultivadas.

Estudos futuros devem ser desenvolvidos com foco na aplicação de filtros lentos de areia como tratamento para fornecer água com qualidade para tanques de aquicultura, incluindo testes em culturas de outras espécies e em densidades de estocagem semelhantes às aquelas utilizadas na produção em escala comercial. Testes também devem ser realizados para verificar o desempenho de filtros lentos de areia em sistemas de recirculação de água.

Para um melhor entendimento acerca do estabelecimento de biofilmes em tanques de aquicultura, se faz necessário, em próximos estudos, avaliar nos tratamentos testados a influência de fatores como a intensidade de luz nos tanques e a pastagem do biofilmes mediante a presença de organismos do zooplâncton, que podem passar pelo tratamento chegando aos tanques. O sistema de tratamento composto por um filtro rápido seguido de um filtro lento de areia ainda deve ser comparado em termos de custo e benefício com outros sistemas tipicamente utilizados para tratar água de alimentação de tanques de cultivo de peixes.

REFERÊNCIAS*

- ADAMS, E. **The effectiveness of slow sand filter at a road maintenance facility**. 2006. Master of Science Thesis in Civil Engineering. – University of Hawaii, Hawaii, 2006.
- ALBERTS, C. N.; FELD, L.; ELLEGAARD-JENSEN, L.; AAMAND, J. Degradation of trace concentrations of the persistent groundwater pollutant 2,6-dichlorobenzamide (BAM) in bioaugmented rapid sand filters. **Water Research**, v. 83, p.61-70, 2015.
- ALUWIHARE, L. I.; REPETA, D. J.; CHEN, R. G. A major biopolymeric component to dissolved organic carbon in surface sea water. **Nature**, v. 387, p. 166-169, 1997.
- APPLEBY, J. A.; SCARRATT, D. J. Physical effects of suspended solids on marine and estuarine fish and shellfish, with special reference to ocean dumping: A literature review. **Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences**, n. 1681, 1989.
- ARNOSTI, C. Microbial Extracellular Enzymes and the Marine Carbon Cycle. **Annual Review of Marine Science**, v. 3, p. 401-425, 2011.
- ASLAN, S. Biological nitrate removal in a laboratory-scale slow sand filter. **Water SA**, v. 34, n. 1, p. 99-106, 2008.
- ASLAN, S.; CAKICI, H. Biological denitrification of drinking water in a slow sand filter. **Journal of Hazardous Materials**, v. 148, n. 1-2, p. 253-258, 2007.
- ASTM. D4189-07: **Standard Test Method for Silt Density Index (SDI) of Water**. ASTM International, West Conshohocken, PA, 2007, 3 p.
- AZAM, F. Microbial control of oceanic carbon flux: the plot thickens. **Science**, v. 280, p. 694–696, 1998.
- AZAM, F.; FENCHEL, T.; FIELD, J. G. GRAY, J. S.; MEYER-REIL, L. A.; THINGSTAD, F. The ecological role of water-column microbes in the sea. **Marine Ecology – Progress Series**, v. 10, p. 257-263, 1983.
- BAE, H.; JEONG, D.; KIM, H.; KIM, S.; LEE, S. Dynamic shift in community structures of biofilm-forming bacteria by the pre-treatment systems of seawater reverse osmosis processes. **Desalination**, v. 343, p. 17-25, 2014.
- BAE, H.; KIM, H.; JEONG, S.; LEE, S. Changes in the relative abundance of biofilm forming bacteria by conventional sand-filtration and microfiltration as pretreatments for seawater reverse osmosis desalination. **Desalination**, v. 273, p. 258–266, 2011.
- BAR-ZEEV, E.; BELKIN, N.; LIBERMAN, B.; BERMAN, T.; BERMAN-FRANK, I. Rapid sand filtration pretreatment for SWRO: Microbial maturation dynamics and filtration efficiency of organic matter. **Desalination**, v. 286, p. 120–130, 2012.

* De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BAR-ZEEV, E.; BELKIN, N.; LIBERMAN, B.; BERMAN-FRANK, I.; BERMAN, T. Biofloculation: Chemical free, pre-treatment technology for the desalination industry. **Water Research**, v. 47, n. 9, p. 3093-3102, 2013.

BASH, J.; BERMAN, C.; BOLTON, S. **Effects of turbidity and suspended solids on Salmonids**. Washington State Department of Transportation, 2001, 66 p.

BEN-DOV, E.; BEM-DAVID, E.; MESSALEM, R.; HERZBERG, M.; KUSHMARO, A. Biofilm formation on RO membranes: the impact of seawater pretreatment. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, p. 4741-4748, p. 2016.

BILLER, S. J.; BERUBE, P. M.; LINDELL, D.; CHISHOLM, S. W. *Prochlorococcus*: the structure and function of collective diversity. **Nature Reviews: Microbiology**, v. 13, p. 13-27, 2014.

BONNÉLYE, V. GUEY, L.; DEL CASTILLO, J. UF/MF as RO pre-treatment: the real benefit. **Desalination**, v. 222, p. 59-65, 2008.

BOONCHAI, R.; KAEWSUK, J.; SEO, G. Effect of nutrient starvation on nutrient uptake and extracellular polymeric substance for microalgae cultivation and separation. **Desalination and Water Treatment**, v. 55, n.2, p. 360-366, 2014.

BOUR, M. E. Starvation Conditions Effects on Carbohydrate Metabolism of Marine Bacteria. In: CHAG, C-F. Carbohydrates – **Comprehensive studies on glycobiology and glycotecnology**. Rijeka, Croacia: InTech, 2012.

BOUWER, E.J.; CROWE, P. B. Biological processes in drinking water treatment. **Journal of the American Water Works Association**. v. 80, n. 9, p. 82-93, 1988.

BOSAK, S.; SILOVIC, T.; LJUBESIC, Z.; KUSPILIC, G. Phytoplankton size structure and species composition as an indicator of trophic status in transitional ecosystems: the case study of a Mediterranean fjord-like karstic bay. **Oceanologia**, v. 54, n. 2, p. 255-286, 2012.

BOYD, C. E. **Bottom soils, sediment and pond aquaculture**. New York: Chapman and Hall, 1995.

BOYD, C. E.; HANSON, T. Dissolved-oxygen concentrations in pond aquaculture. **Global Aquaculture Advocate**, jan./feb., 2010.

BOYD, C. E.; TUCKER, C. S. **Pond aquaculture water quality management**. Dordrecht, Holanda: Kluwer Academic Publishers, pp. 707, 1998.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–54, 1976.

BRAGA, E. S.; MULLER, T. J. Observation of regeneration of nitrate, phosphate and silicate during upwelling off Ubatuba, Brazil, 23°S. **Continental Shelf Research**, v. 18, n. 8, p. 915-922, 1998.

BRATBY, J. **Coagulation and flocculation in water and wastewater treatment**. London, UK: IWA Publishing, 2006, 407 p.

BRITO, L. L. A.; CARDOSO, A. B.; SALVADOR, D. P.; HELLER, L. Amadurecimento de filtros lentos de areia e remoção de microrganismos indicadores de qualidade da água ao longo da profundidade do leito: uma avaliação em instalação piloto. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 4, p. 307-317, 2005.

BULLERJAHN, G. S.; POST, A. F. Physiology and molecular biology of aquatic cyanobacteria. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 1-2, 2014.

CALLOW, M. E.; CALLOW, J. A. Marine Biofouling: a sticky problem. **Biologist**, v. 49, n. 1, p. 1-5, 2002.

CAMPOS, L. C.; SU, M. F. J.; GRAHAM, N. J. D.; SMITH, S. R. Biomass development in slow sand filters. **Water Research**, v. 36, n. 18, p. 4543-4551, 2002.

CAMPOS, L. C.; SMITH, S. R.; GRAHAM, N. J. D. Use of a novel simulation model to define the behaviour of covered and uncovered slow sand filters, p. 104-112. In: GIMBEL, R.; GRAHAM, N. J. D.; COLLINS, R. **Recent progress in slow sand and alternative biofiltration processes**, London, UK: IWA Publishing, pp. 549, 2006.

CASTRO-FILHO, B.M. Wind driven currents in the Channel of São Sebastião: winter, 1979. **Boletim do Instituto Oceanográfico**, v. 38, n. 2, p. 111-132, 1990.

CHANG, W. Y. B.; OUYANG, H. Dynamics of dissolved oxygen and vertical circulation in fish ponds. **Aquaculture**, v. 74, p. 263-273, 1988.

CHARACKLIS, W. G. Microbial biofouling. In: CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. **Biofilms**. New York, NY: John Wiley, 1990. p. 523-584.

CHEN, S.; TIMMONS, M. B.; ANESHANSLEY, D. J.; BISOGNI JR, J. J. Suspended solids characteristics from recirculating aquacultural systems and design implications. **Aquaculture**, v. 112, p. 143-155, 1993.

CHINU, K. J.; JOHIR, A. H.; VIGNESWARAN, S.; SHON, H. K.; KANDASAMY, J. Biofilter as pretreatment to membrane based desalination: Evaluation in terms of fouling index. **Desalination**, v. 249, p. 77-84, 2009.

CIPOLLINA, A.; MICALE, G.; RIZZUTI, L. Seawater desalination: conventional and renewable energy processes. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 2009, 302 p.

CLEASBY, J. L. Source water quality and pretreatment options for slow sand filters. In: LOGSDON, G. **Slow sand filtration**. Reston, Va: American Society of Civil Engineers, p. 69-100, 1991.

CLEASBY, J.L.; HILMOE, D. J.; DIMITRACOPOULOS, C. J. Slow sand and direct in-line filtration of a surface water. **Journal-American Water Works Association**, v.76, n. 12, p.44-45, 1984.

COLLINS, M. R.; EIGHMY, T. T.; MALLEY, J. P. Evaluating modifications to slow sand filters. **Journal of American Water Works Association**, v. 83, n. 9, p. 62-70, 1991.

COMPERE, C.; BELLON-FONTAINE, M.N.; BERTRAND, P.; COSTA, D.; MARCUS, P.; POLEUNIS, C.; PRADIES, C.M.; RONDOT, B.; WALLS, M.G. Kinetics of conditioning layer formation on stainless steel immersed in seawater. **Biofouling**, v. 17, p. 129-145, 2001.

COOKSEY, K. E.; WIGGLESWORTH-COOKSEY, B. Adhesion of bacteria and diatoms to surfaces in the sea – a review. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 9, p. 87-96, 1995.

CORRAL, A. F.; YENAL, U.; STRICKLE, R.; YAN, D.; HOLLER, E.; HILL, C.; ELA, W. P.; ARNOLD, R. G. Comparison of slow sand filtration and microfiltration as pretreatments for inland desalination via reverse osmosis. **Desalination**, v. 334, p. 1-9, 2014.

DA COSTA, T. R. **Coleta de biofilmes suspensos e aderidos**. São Paulo: ICB II USP, 2011a. 34 p. Relatório de Validação da Rede PROSAB Microbiologia para o Saneamento Básico. Área: bacteriologia. Disponível em <http://www.prosabmicrobiologia.org.br/rede/manuais>.

DA COSTA, T. R. **Quantificação de carboidratos em amostras de biofilmes suspensos e aderidos**. São Paulo: ICB II USP, 2011b. 15 p. Relatório de Validação da Rede PROSAB Microbiologia para o Saneamento Básico. Área: bacteriologia. Disponível em <<http://www.prosabmicrobiologia.org.br/rede/manuais>>.

DANG, H.; LOVELL, C. R. Bacterial primary colonization and early succession on surfaces in marine waters as determined by amplified rRNA gene restriction analysis and sequence analysis of 16S rRNA genes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 2, p. 467-475, 2000.

DARWISH, M. A. Needed seawater reverse osmosis pilot plant in Qatar. **Desalination and Water Treatment**, v. 57, p. 3793-3819, 2016.

DE OLIVEIRA, F. F. **Avaliação de filtros lentos de areia como pré-tratamento para o controle de biofouling em plantas de osmose reversa aplicadas na dessalinização de água do mar**. 2012. 122 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

DI BERNARDO, L. Rapid Filtration. In: Jo Smet; Christine van Wijk. (Org.). **Small Community Water Supplies - Technology, People and Partnership**. 1 ed. Delft: IRC - International Water and Sanitation Centre, 2002, v. 1, p. 1-588.

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

DOBRETSOV, S. ABED, R. M. M.; TEPLITSKI, M. Mini-review: Inhibition of biofouling by marine microorganisms. **Biofouling**, v. 29, n. 4, p. 423-441, 2013.

DOGSA, I.; KRIECHBAUM, M.; STOPAR, D.; LAGGNER, P. Structure of Bacterial Extracellular Polymeric Substances at Different pH Values as Determined by SAXS. **Biophysical Journal**, p. 2711-2720, 2005.

DONDERSKI, W.; MUDRYCK, Z.; WALCZAK, M. Utilization of low molecular weight organic compounds by marine neustonic and planktonic bacteria. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 7, n. 5, p. 279-283, 1998.

DRENNAN, D. G.; RAHMAN, M. M.; MALONE, R. F. Slow sand filtration technologies for the containment of non-indigenous species in recirculating aquaculture effluents. In: WANG, J. K. (ed). **Techniques for modern aquaculture**. St. Joseph, Michigan: American Society of Agricultural Engineers, 1993, p. 335-344.

DUBOIS, M.; GILLESK, A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

EDDY, F. B. Ammonia in estuaries and effects on fish. **Journal of Fish Biology**, v. 67, n.6 p. 1495-1513, 2005.

EDZWALD, J. K.; HAARHOFF, J. Seawater pretreatment for reverse osmosis: Chemistry, contaminants, and coagulation. **Water Research**, v. 45, p. 5428-5440, 2011.

EIGHMY, T.T.; COLLINS, M.R.; MALLEY JR, J.P.; ROYCE, J.; MORGAN, D. Biological Enhanced Slow Sand Filtration for Removal of Natural Organic Matter. **AWWA Research Foundation**, p. 33-69, 1993.

ELGUERA, A. M.; BAÉZ, S. O. P. Development of the most adequate pre-treatment for high capacity seawater desalination plants with open intake. **Desalination**, v. 184, p. 173-183, 2005.

ELIMELECH, M.; PHILLIP, W. A. The future of seawater desalination: Energy, technology and the environment. **Science**, v. 333, p. 712-717, 2011.

ELLIS, K.V. Slow Sand Filtration. **CRC Critical Reviews in Environmental Control**, v. 15, n. 4, p. 315-354, 1985.

ELLIS, K. V.; AYDIN, M. E. Penetration of sólids and biological activity into slow sand filters. **Water Reserach**, v. 29, n. 5, p. 1333-1341, 1995.

FALKOWSKI, P. G.; LAWS, E. A.; BARBER, R. T.; MURRAY, J. W. Phytoplankton and Their Role in Primary, New, and Export Production. In: FASHAM, M. J. R. **Ocean Biogeochemistry: The role of the ocean carbon cycle in global change**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2003, p. 99-121.

FALKOWSKI, P. G.; OLIVER, M. J. Mix and match: how climate selects phytoplankton. **Nature Reviews: Microbiology**, v. 5, p. 813-819, 2007.

FAROOQ, S.; AL-YOUSEF, A. K.; AL-LAYLA, R. J.; ISHAQ, A. M. Tertiary treatment of sewage effluent via pilot scale slow sand filtration. **Environmental Technology**, v. 16, p. 15-28, 1994.

FERRARI, M. D.; DE MELE, M. F. L.; VIDELA, H. A. **Manual práctico de biocorrosão e biofouling para a indústria**. RT XV-C CYTED, Madrid, 1995, p. 4-26.

FERRAZ, C. F.; PATERNIANI, J. E. S. Redução da espessura da camada suporte através da substituição por mantas não-tecidas na filtração lenta de águas de abastecimento. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 7, n. 1, p. 8-15, 2002.

FLEMMING, H-C. Reverse osmosis membrane biofouling. **Experimental Thermal and Fluid Science**, v. 14, p. 382-391, 1997.

FLEMMING, H-C. Microbial Biofouling: Unsolved Problems, Insufficient Approaches, and Possible Solutions. In: FLEMMING, H-C.; WINGENDER, J.; SZEWZYK, U. **Biofilm Highlights**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, p. 87-109, 2011.

FLEMMING, H-C. Why Microorganisms live in biofilms and the problem of biofouling. In: _____. **Marine and industrial biofouling**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, p. 3-12, 2009.

FLEMMING H-C; LEIS A. Sorption properties of biofilms. In: BITTON, G. (ed.) **Encyclopedia of environmental microbiology**, v. 5. New York, NY: John Wiley and Sons, 2002, p. 2958–2967.

FLEMMING, H-C.; SCHAULE, G. Biofouling on membranes: A microbiological approach. **Desalination**, v. 70, p. 95-118, 1988.

FITRIDGE, I.; DEMPSTER, T.; GUENTHER, J. NYS, R. The impact and control of biofouling in marine aquaculture: a review. **Biofouling**, v. 28, n. 7, p. 649-669, 2012.

FURHMAN J.; FERGUSON R.L. Nanomolar concentrations and rapid turnover of dissolved free amino acids in seawater: greement between chemical and microbiological measurements. **Marine Ecology - Progress Series**, v. 33, p. 237-242, 1986.

GALLO, D. G. **Efeito de efluentes sobre o sistema biofilme-herbívoros em costões rochosos subtropicais**. 2015. 47 f. Dissertação (Mestrado). Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

GAJEWSKI, A. J.; CHRÓST, R. J. Production and enzymatic decomposition of organic matter by microplankton in a eutrophic lake. **Journal of Plankton Research**, v.17, n.4, p. 709-728, 1995.

GARCIA, H.E.; LOCARNINI, R.A.; BOYER, T.P.; ANTONOV, J.I. World Ocean Atlas 2005. In: LEVITUS, S. Nutrients (Phosphate, Nitrate, Silicate). **NOAA Atlas NESDIS 64**, vol. 4. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., 2006, 396 p.

GARRITY, G. M., BELL, J. A.; LILBURN. T. Class III. Gammaproteobacteria class. nov., p. 1. In: BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R.; STALEY, J. T.; GARRITY, G. M. **Bergey's manual of systematic bacteriology**, 2nd ed., v. 2. New York, NY: Springer, 2005, 1106 p.

GIANNINI, M. F. C. **The influence of phytoplankton pigments composition and dominant cell size on fluorescence-derived photo-physiological parameters and implications for primary production rates**, 2016. 131 f. Tese (Doutorado em Oceanografia). Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

GIANESELLA, S. M. F.; KUTNER, M. B. B.; SALDANHA-CORRÊA, F. M.; POMPEU, M. Assessment of plankton community and environmental conditions in São Sebastião Channel prior to the construction of a produced water outfall. **Revista Brasileira de Oceanografia**, v. 47, n. 1, p. 29-46, 1999.

GRAHAM, N. D. J. Removal of humic substances by oxidation/biofiltration processes: a review. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 9, p.141-148, 1999.

GRAHAM, N. D. J.; COLLINS, M. R. Slow sand filtration: Recent research and application perspectives. In: NAKAMOTO, N.; GRAHAM, N. J. D.; COLLINS, M. R.; GIMBEL, R. **Progress in slow sand and alternative biofiltration process: Further developments and applications**. London, UK: IWA Publishing, pp. 570, 2014.

GREENLEE, L. F.; LAWLER, D. F.; FREEMAN, B. D.; MARROT, B.; MOULIN, P. Reverse osmosis desalination: Water sources, technology, and today's challenges. **Water Research**, v. 43, p. 2317-2348, 2009.

GUÉGUEN, C.; GUO, L.; WANG, D.; TANAKA, N.; HUNG, C-C. Chemical Characteristics and Origin of Dissolved Organic Matter in the Yukon River. **Biogeochemistry**, v. 77, n. 2, p. 138-155, 2006.

GUCHI, E. Review on slow sand filtration in removing microbial contamination and particles from drinking water. **American Journal of Food and Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 47-55, 2015.

HAIG, S-J. **Characterising the functional ecology of slow sand filters through environmental genomics**. 2014. p. 1-296. Ph. D. thesis – University of Glasgow, 2014.

HALLÉ, C. **Biofiltration in drinking water treatment: reduction of membrane fouling and biodegradation of organic trace contaminants**. 2009. p. 1-329. Ph. D. thesis - Delft University of Waterloo, Ontario, Canada, 2009.

HAMMES, F. A.; MEYLAN, S.; SALHI, E. KOSTER, O.; EGLI, T.; VON GUNTEN, U. Formation of assimilable organic carbon (AOC) and specific natural organic matter (NOM) fractions during ozonation of phytoplankton. **Water Research**, v. 41, p. 1447-1454, 2007.

HARGREAVES, J. A.; TUCKER, C. S. Measuring dissolved oxygen concentration in aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center, Publication n. 4601, 2002.

HELLER, L.; DE PÁDUA, V. L. **Abastecimento de água para consumo humano**, Vol. 2. 2ª ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2010, 872 p.

HENDRICKS, D.W. Manual of design for slow sand filtration. **American Water Works Association Research Foundation**, 1991, 247 p.

HER, N.; AMY, G.; PARK, H-R.; SONG, M. Characterizing algogenic organic matter (AOM) and evaluating associated NF membrane fouling. **Water Research**, v. 38, p. 1427–1438, 2004.

HERZBERG, M.; ELIMELECH, M. Physiology and genetic traits of reverse osmosis membrane biofilms: a case study with *Pseudomonas aeruginosa*. **The ISME Journal**, v. 2, p. 180-194, 2008.

HESPANHOL, I. **Investigação sobre o comportamento e aplicabilidade de filtros lentos no Brasil**. 1969. 134 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública). Faculdade de Higiene e Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1969.

HIJNEN, W. A. M.; DULLEMONT, Y. J.; SCHIJVEN, J. F.; HANZENS-BROUWER, A. J.; ROSIELLE, M.; MEDEMA, G. J. Removal and fate of *Cryptosporidium parvum*, *Clostridium perfringens* and small-sized centric diatoms (*Stephanodiscus hantzschii*) in slow sand filters. **Water Research**, v. 41, p. 2151-2162, 2007.

HIJNEN, W. A. M.; SCHIJVEN, J. F.; BONNÉ, P.; VISSER, A.; MEDEMA, G. J. Elimination of viruses, bacteria and protozoan oocysts by slow sand filtration. **Water Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 147-154, 2004.

HOZALSKI, R. M.; GOEL S.; BOUWER, E. J. TOC removal in biological filters: optimizing the coagulant dosage offers the most effective means of maximizing TOC removal; biofiltration may be used to augment removals. **Journal - American Water Works Association**, v. 87, n. 12, p. 40-52, 1995.

HU, J. Y.; SONG, L. F.; ONG, S. L.; PHUA, E. T.; NG, W. J. Biofiltration pretreatment for reverse osmosis (RO) membrane in a water reclamation system. **Chemosphere**, v. 59, p. 127-133, 2005.

HUANG, L. N.; WEVER H. D.; DIELS, L. Diverse and distinct bacterial communities induced biofilm fouling in membrane bioreactors operated under different conditions, **Environmental Science & Technology**, v. 42, p. 8360–8366, 2008.

HUNG, C-C.; GUO, L.; SANTSCI, P.H.; ALVARADO-QUIROZ, N.; HAYE, J.M. Distributions of carbohydrate species in the Gulf of Mexico. **Marine Chemistry**. v. 81, p. 119–135, 2003.

HUISMAM, L.; WOOD. W. E. **Slow Sand Filtration**. Genebra, Suíça: World Health Organization, 1974, 122 p.

IWASE, N.; KINOSHITA, S.; KOJIMA, M.; NAKAMOTO, N. Role of algal growth and photosynthesis in slow sand filters as an advanced waste water treatment. In: GIMBEL, R.; GRAHAM, N. J. D.; COLLINS, R. **Recent progress in slow sand and alternative biofiltration processes**, London, UK: IWA Publishing, 2006, 549 p.

JENKINS, M. W.; TIWARI, S. K.; DARBY, J. Bacterial, viral and turbidity removal by intermittent slow sand filtration for household use in developing countries: Experimental investigation and modeling. **Water Research**, v. 45, p. 6227-6239, 2011.

JEONG, S.; BAE, H.; NAIDU, G.; JEONG, D.; LEE, S.; VIGNESWARAN, S. Bacterial community structure in a biofilter used as a pretreatment for seawater desalination. **Ecological Engineering**, v. 60, p. 370-381, 2013.

JEZOWSKA, A.; BOTTINO, A.; CAPANNELLI, G.; FABBRI, C.; MIGLIORINI, G. Ultrafiltration as direct pre-treatment of seawater – a case study. **Desalination**, v. 245, p.723–729, 2009.

JOUBERT, E. D.; PILLAY, B. Visualisation of the microbial colonisation of a slow sand filter using an environmental scanning electron microscope. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 2, p. 1-7, 2008.

KARL, D. M.; BJORKMAN, K. M. Dynamics of dissolved organic phosphorus. In: HANSEL, D. A.; CARLSON, C. A. **Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter**, 2^a Ed. London UK: Elsevier Academic Press, 2015, 712 p.

KERSTERS, K., DEVOS, P., GILLIS, M., SWINGS, J., VANDAMME, P. & STACKEBRANDT, E. Introduction to the Proteobacteria. In: DWORKIN, M.; FALKOW, S.; ROSENBERG, E.; SCHLEIFER, K. H.; STACKEBRANDT, E. **The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria**, New York: Springer, 2006, p. 1155.

KHAN, M. T.; BUSCH, M.; MOLINA, V. G.; EMWAS, A-H.; AUBRY, C.; CROUE, J-P. How different is the composition of the fouling layer of wastewater reuse and seawater desalination RO membranes?. **Water Research**, v. 59, p. 271-282, 2014.

KHAN, N. H.; ISHII, Y.; KIMATA, N.; NISHIO, T.; ESAKI, H.; NISHIMURA, M.; KOGURE, K. Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from open ocean and comparison with freshwater, clinical and animal isolates. **Microbial Ecology**, v. 53, n. 2, p. 173–186, 2007.

KIM, J-H.; KIM, Y-J.; QURESHI, T. I. Assimilable organic carbon generation from algogenic organic matter in drinking water. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 35, p. 245-253, 2009.

KING, R. K.; FLICK JR, G. J.; PIERSON, M. D.; SMITH, S. A.; BOARDMAN, G. D.; COALE JR, C. W. Identification of bacterial pathogens in biofilms of recirculating aquaculture systems. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 13, n. 1, 2004.

KING, R. K.; FLICK JR, G. J.; SMITH, S. A.; PIERSON, M. D.; BOARDMAN, G. D.; COALE JR, C. W. Response of bacterial biofilms in recirculating aquaculture systems to various sanitizers. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 20, n. 2, 2008.

KOBERT, D. R.; LAWRENCE, J. R.; LAPPING-SCOTT, H. M.; COSTERTON, F. W. Growth of microorganisms on surfaces. In: LAPPING-SCOTT, H. M.; COSTERTON, F. W, eds. **Microbial biofilms**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995, 328 p.

KUBARE, M.; Haarhoff, J. Rational design of domestic biosand filters. **Journal of Water Supply: Research and Technology – AQUA**, v. 59, n.1, p. 1-15, 2010.

LADNER, D. A. **Effects of bloom-forming algae on fouling of integrated membrane systems in seawater desalination**. 2009. 183 f. Ph. D. thesis (Environmental Engineering in Civil Engineering) – University of Illinois at Urbana-Champaign, 2009.

LANCELOT, C.; BILLEN, B. Activity of heterotrophic bacteria and its coupling to primary production during the spring phytoplankton bloom in the southern bight of the North Sea. **Limnology and Oceanography**. V.29, n.4, p. 721-730, 1984.

LAU, W. J.; GOH, P. S.; ISMAIL, A. F.; LAI, S. O. Ultrafiltration as a pretreatment for seawater desalination: A review. **Membrane Water Treatment**, v. 5, n. 1, p. 15-29, 2014.

LAU, S. C. K. TSOY, M. M. Y.; LI, X.; DOBRETSOV, S.; PLAKHOTNIKOVA, Y.; WONG, P-K.; QIAN, P-Y. *Pseudoalteromonas spongiae* sp. nov., a novel member of the α -Proteobacteria isolated from the sponge *Mycale adhaerens* in Hong Kong waters. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, p. 1593-1596, 2005.

LECHEVALLIER, M. W.; SHAW, N. E.; KAPLAN, L. A.; BOTT, T. L. Development of a rapid assimilable organic carbon method for water. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 5, p. 1526-1531, 1993.

LEE, C. O.; BOE-HANSEN, R.; MUSOVIC, S.; SMETS, B.; ALBRECHTSEN, H-J.; BINNING, P. Effects of dynamic operating conditions on nitrification in biological rapid sand filters for drinking water treatment. **Water Research**, v. 64, p. 226-236, 2014.

LEE, J.; JUNG, J-Y.; KIM, S.; CHANG, I. S.; MITRA, S. S.; KIM, I. S. Selection of the most problematic biofoulant in fouled RO membrane and the seawater intake to develop biosensors for membrane biofouling. **Desalination**, v. 249, p. 125-136, 2009.

LEE, J.; KIM, I. S. Microbial community in seawater reverse osmosis and rapid diagnosis of membrane biofouling. **Desalination**, v. 273, p.118–126, 2011.

LEE, J-W.; NAM, J-H.; KIM, Y-H.; LEE, K-H.; LEE, D-H. Bacterial communities in the initial stage of marine biofilm formation on artificial surfaces. **The Journal of Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 174-182, 2008.

LIGNELL, R. Excretion of organic carbon by phytoplankton: its relation to algal biomass, primary productivity and bacterial secondary productivity in the Baltic Sea. **Marine Ecology Progress Series**, v. 68, p. 85-99, 1990.

LOGSDON, G.; GARY S.; KOHNE, R.; ABEL, S.; LABONDE S. Slow sand filtration for small water systems. **Journal of Environmental Engineering and Science**, v. 1, p. 339–348, 2002.

MA, Y.; XIONG, H. J.; TANG, S. M.; YANG, Q. S.; LI, M. J. Comparison of the community structure of planktonic bacteria in ballast water from entry ships and local sea water in Xiamen Port. **Progress in Natural Science**, v. 19, p. 947-953, 2009.

MADDAH, H.; CHOGLA, A. Biofouling in reverse osmosis: phenomena, monitoring, controlling and remediation. **Applied Water Science**, p. 1-15, 2016.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10^a ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004, 608 p.

MAGUE, T. H.; FRIBERG, E.; HUGHES, D. J.; MORRIS, I. Extracellular release of carbon by marine phytoplankton; a physiological approach. **Limnology Oceanography**, v. 25, n. 2, p. 262-279, 1980.

MANNOT, M.; LABORIE, S.; CABASSUD, C. Granular activated carbon filtration plus ultrafiltration as a pretreatment to seawater desalination lines: Impact on water quality and UF fouling. **Desalination**, v. 383, p. 1-11, 2016.

MARETH, B. **A reverse osmosis treatment process for produced water: Optimization, process control, and renewable energy application.** 2006. 77 f. Ph. D. thesis - Texas A&M University, USA, 2006.

MARIE, D.; RIGAUT-JALABERT, F.; VAULOT, D. An improved protocol for flow cytometry analysis of phytoplankton cultures and natural samples. **Citometry Part A**, v. 85, p. 962-968, 2014.

MARIE, D.; SIMON, N.; VAULOT, D. Phytoplankton cell counting by flow cytometry. In: ANDERSEN, R. A. **Algal Culturing Techniques.** Academic Press, 2005, p. 253-267.

MARTENSSON, J.; JABUR, H. S. Mishaps linked to incorrect use of slow sand filters. In: GIMBEL, R.; GRAHAM, N. J. D.; COLLINS, M. R. **Recent progress in slow sand filters and alternative biofiltration processes.** London, UK: IWA Publishing, 2006.

MARTINY, A. C.; JØRGENSEN, T. M.; ALBRECHTSEN, H.-J.; ARVIN, E.; MOLIN, S. Long-term succession of structure and diversity of a biofilm formed in a model drinking water distribution system. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 11, p. 6899-6907, 2003.

MELO, L. F.; BOTT, T. R. Biofouling in water systems. **Experimental Thermal and Fluid Science**, v. 14, p. 375-381, 1997.

MIERZWA, J. C.; HESPANHOL, I. **Água na indústria: Uso racional e reúso.** São Paulo: Oficina de Textos, 2005, 143 p.

MITROULI, S. T.; YIANTSIOS, S. G.; KARABELAS, A. J.; MITRAKAS, M.; FØLLESDAL, M.; KJOLSETH, P. A. Pretreatment for desalination of seawater from an open intake by dual-media filtration: Pilot testing and comparison of two different media. **Desalination**, v. 222, p. 24-37, 2008.

MITROULI, S. T.; KARABELAS, A. J.; YIANTSIOS, S. G.; KJOLSETH, P. A. New granular materials for dual-media filtration of seawater: Pilot testing. **Separation and Purification Technology**, v. 65, p. 147-155, 2009.

MOLINA, V. G.; ORIOL, G. G.; MARTÍN, J. S. Ultrafiltration Advanced Cleaning Research and Modeling Applied to Seawater. **Water Conditioning & Purification**, november, 2012, 4 p.

MORISAKI, H.; TABUCHI, H. Bacterial attachment over a wide range of ionic strengths. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 74, p. 51-55, 2009.

MOSSET, A.; BONNELYE, V.; PETRY, M.; SANZ, M. A. The sensitivity of SDI analysis: from RO feed water to raw water. **Desalination**, v. 222, p. 17-23, 2008.

MURTHA, N. A. **Avaliação da influência de variáveis hidráulicas, parâmetros de projeto e das características da água bruta na eficiência de filtros lentos de areia.** 1998. 208 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 1998.

MURTHA, N.A.; HELLER, L. Avaliação da influência de parâmetros de projeto e das características da água bruta no comportamento de filtros lentos de areia. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.8, n.4, p. 267-277, 2003.

MURTHY, P. S.; VENKATESAN, R. Why Microorganisms live in biofilms and the problem of biofouling. In: FLEMMING, H-C. **Marine and industrial biofouling**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, p. 3-12, 2009.

NAIDU, G.; JEONG, S.; VIGNESWARAN, S.; RICE, S. A. Microbial activity in biofilter used as a pretreatment for seawater desalination. **Desalination**, v. 309, p.254-260, 2013.

NAKHLA, G.; FAROOQ, S. Simultaneous nitrification-denitrification in slow sand filters. **Journal of Hazardous Materials**, v. 96, n. 2-3, p. 291-303, 2003.

NANCY, A. B.; JOSEPHINE, M.; LIZZY, M. A. Slow sand filtration of secondary sewage effluent: Effect of sand bed depth on filter performance. **International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology**, v.3, n. 8, p. 15090-15099, 2014.

NEU, T. R.; EITNER, A.; PAJE, M. L. Development and architecture of complex environmental biofilms. In: KRUMBAIN, W. E.; PATERSON, D. M.; ZAVARZIN, G. A. Fossil and recent biofilms: **A natural history of life on earth**. Dordrech, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2003, 487 p.

NICKEL, J. C.; RUSESKA, I.; WRIGHT, J. B.; COSTERTON, J. W. Tobramycin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* cells growing as a biofilm on urinary catheter material. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 27, n. 4, p. 619-624, 1985.

OLIVEIRA, O.M.P.; MARQUES, A.C. Dinâmica sazonal das massas de água no canal de São Sebastião (SE Brasil) de março de 2005 a maio de 2006. In: **XII Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar - XII COLACMAR**. Florianópolis, Brasil, 2007.

OZ REEF. **Natural Sea Water Composition**. Disponível em: <[http://ozreef.org.library/tables/natural_sea_water_composition.html](http://ozreef.org/library/tables/natural_sea_water_composition.html)>, 2007.

PAKULSKI, J. D.; BENNER, R. Abundance and distribution of dissolved carbohydrates in the ocean. **Limnology and Oceanography**, v. 39, n. 4, p. 930-940. 1994.

PALOMO, A.; FOWLER, S. J.; GULAY, A.; RASMUSSEN S.; SICHERITZ-PONTEN, T.; SMETS, B. F. Metagenomic analysis of rapid gravity sand filter microbial communities suggests novel physiology of *Nitrospira* spp. **The ISME Journal**, v. 10, p. 2569-2581, 2016.

PATTERNSON, R. N.; WATTS, K. C. Micro-particles in recirculating aquaculture systems: microscopic examination of particles. **Aquacultural Engineering**, v. 28, p. 115-130, 2003.

PEARCE, G. SWRO pre-treatment: Cost and sustainability. **Filtration + Separation**, p. 36-38 Março/Abril, 2010.

PEÑA, N.; GALLEGO, S.; DEL VIGO, F.; CHESTERS, S. P. Evaluating impact of fouling on reverse osmosis membranes performance. **Desalination and Water Treatment**, v.51, p.958-968, 2013.

PEREIRA, R. C.; SOARES-GOMES, A. **Biologia Marinha**. Rio de Janeiro: Interciência, 2002, 382 p.

PERSSON, F. G. HEINICKE, W. UHL, T. HEDBERG, M. HERMANSSON. Performance of direct biofiltration of surface water for reduction of biodegradable organic matter and biofilm formation potential. **Environmental Technology**, v. 27, n. 9, p. 1037-1045, 2006.

PIONTEK, J.; HANDEL, N.; BODT, C.; HARLAY, J.; CHOU, L.; ENGEL, A. The utilization of polysaccharides by heterotrophic bacterioplankton in the Bay of Biscay (North Atlantic Ocean). **Journal of Plankton Research**, v. 33, n. 11, p. 1719-1735, 2011.

PIZZOLATTI, B. S.; SOARES, M.; ROMERO, L.; SENS, M. L. Comparison of backwashing with conventional cleaning methods in slow sand filters for small-scale communities. **Desalination and Water Treatment**, v. 54, n. 1, p. 1-7, 2015.

POINTER, S. F. B.; SLADE, J. S. The removal of viruses by slow sand filtration: Progress in water technology. **A Journal of the International Association of Water Pollution Research**, v. 9, n. 1, p. 75-88, 1977.

PRIHASTO, N.; LIU, Q-F.; KIM, S-H. Pre-treatment strategies for seawater desalination by reverse osmosis system. **Desalination**, v. 249, p. 308-316, 2009.

PYPER, G.R.; LOGSDON, G. S. Slow sand filter design. In: LOGSDON, G. S. **Slow Sand Filtration: Report to Committee on slow sand filtration**. New York: American Society of Civil Engineers, p122-148, 1991.

QUEVEDO, N.; SANZ, J.; OCEN, C.; LOBO, A.; TEMPRANO, J.; TEJERO, I. Reverse osmosis pretreatment alternatives: Demonstration plant in the seawater desalination plant in Carboneras, Spain. **Desalination**, v. 265, p. 229–236, 2011.

RAILKIN, A. I. **Marine Biofouling: colonization processes and defenses**. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press, 2004, 303 p.

RAO, D.; WEBB, J. S.; KJELLEBERG, S. Competitive Interactions in Mixed-Species Biofilms Containing the Marine Bacterium *Pseudoalteromonas tunicata*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 4, 2005.

RAY, C. T.; GRISCHEK, J.; SCHUBERT, J.Z.; WANG, T.F. A perspective of riverbank filtration. **Journal of American Water Works Association**, v. 94, n. 4, p. 149-160, 2002.

RESEARCH AND MARKETS. **Reverse Osmosis Membrane Market by Material Type, by End-Use Industry & Application, and by Region - Global Trends & Forecast to 2021**. Research and Markets, pp. 183, 2016. Acesso em: 28/01/2017. Disponível em: <http://www.researchandmarkets.com/research/3p25d5/reverse_osmosis>.

RIBEIRO, C. G.; MARIE, D.; SANTOS, A. L.; BRANDINI, F. P.; VAULOT, D. Estimating microbial populations by flow cytometry: Comparison between instruments. **Limnology and Oceanography: Methods**, v. 14, p. 750-758, 2016.

RIJNAARTS, H. H. M.; NORDE, W.; LYKLEMA, J.; ZEHNDER, A. J. B. DLVO and steric contributions to bacterial deposition in media of different ionic strengths. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 14, p. 179–195, 1999.

RITTMANN, B.E. Fundamental and application of biofilm processes in drinking water treatment, In: HRUBEC, J. (Ed.). Quality and treatment of drinking water. **The handbook of environmental chemistry**. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 1995.p. 31.

ROMANI, A. M.; ARTIGAS, J.; YLLA, I. Extracellular Enzymes in Aquatic Biofilms: Microbial Interactions Vs Water Quality Effects in the Use of Organic Matter. In: LEAR, G. LEWIS, G. D. **Microbial Biofilms: Current Research and Applications**. Poole, UK: Caister Academic Press, 2012, 228 p.

ROWE, D. K.; SUREN, A. M.; MARTIN, M.; SMITH, J. P.; SMITH, B.; WILLIAMS, E. Lethal turbidity levels for common freshwater fish and invertebrates in Auckland streams. **Auckland Regional Council**, 2002.

RUSSEL, L. M.; HAWKINS, L. N.; FROSSARD, A. A.; QUINN, P. K.; BATES, T. S. Carbohydrate-like composition of submicron atmospheric particles and their production from ocean bubble bursting. **Proceedings of National Academy of Science**, v. 107, p. 6652-6657, 2010.

SAAYMAN, G. B. Advanced water treatment with ozone and slow sand filtration. In: **WISA Biennial Conference**, 2000, Anais... Sun City, South Africa, 2000.

SAEED, M. O.; JAMALUDDIN, A.T.; TISAN, I. A.; LAWRENCE, D. A.; AL-AMRI, M. M.; CHIDA, K. Biofouling in a seawater reverse osmosis plant on the Red Sea coast. Saudi Arabia. **Desalination**, v. 128, n. 2, p. 177–190, 2000.

SAMMARTINO, M.; DI CICCO, A.; MARULLO, S.; SANTOLERI, R. Spatio-temporal variability of micro-, nano- and picophytoplankton in the Mediterranean Sea from satellite ocean colour data of SeaWiFS. **Ocean Science**, v. 11, p. 759-778, 2015.

SCHNEIDER, R. P.; MARSHAL, K. C. Retention of the Gram-negative marine bacterium SW8 on surfaces - effects of microbial physiology, substratum nature and conditioning films. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 2, p. 387-396, 1994.

SCHNEIDER, R. P.; TSUTIYA, M, T. **Membranas Filtrantes para o tratamento de água, esgoto e água de reuso**. São Paulo: ABES – Associação Brasileira de Engenharia Ambiental, 2001, 234 p.

SCHULTZ, M. P.; BENDICK, J. A.; HOLM, E. R.; HERTEL, W. M. Economic impact of biofouling on a naval surface ship. **Biofouling**, v. 27, n. 1, p. 87-98, 2011.

SCOTT, K. M.; SIEVERT, S. M.; ABRIL, F. N.; BALL, L. A.; BARRETT, C. J. BLAKE, R. A.; BOLLER, A. J.; CHAIN, P. S.; CLARK, J. A.; DAVIS, C. R.; DETTER, C.; DO, K. F.; DOBRINSKI, K. P.; FAZA, B. I.; FITZPATRICK, K. A.; FREYERMUTH, S. K.; HARMER, T. L.; HAUSER, L. J.; HUGLER, M.; KERFELD, C. A.; KLOTZ, M. G.; KONG, W. W.; LAND, M.; LAPIDUS, A.; LARIMER, F. W.; LONGO, D. L.; LUCAS, S.; MALFATTI, S. A.; MASSEY, S. E.; MARTIN, D. D.; MCCUDDIN, Z.; MEYER, F.; MOORE, J. L.; OCAMPO JR, L. H.; PAUL, J. H.; PAULSEN, I. T.; REEP, D. K.; REN, Q.; ROSS, R. L.; SATO, P. Y.; THOMAS, P.; TINKHAM, L. E.; ZERUTH, G. T. The genome of deep-sea vent chemolithoautotroph *Thiomicrospira crunogena* XCL-2. **PLoS Biol**, v. 4, n. 12, e 383, p. 2196-2212, 2006.

SHRESTHA, A.; JEONG, S.; VIGNESWARAN, S.; KANDASAMY, J. Seawater biofiltration pre-treatment system: comparison of filter media performance. **Desalination and Water Treatment**, v. 54, p. 6325-6332, 2014.

SIEBURTH, J. M.; SMETACEK, V.; LENZ, J. Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. **Limnology Oceanography**, v. 23, n. 6, p. 1256-1263, 1978.

SKOVHUS, T. L.; RAMSING, N. B.; HOLMSTROMÖ, C.; KJELLEBERG, S.; DAHLLÖF, I. Real-time quantitative PCR for assessment of abundance of *Pseudoalteromonas* species in marine samples. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 2373-2382, 2004.

SNOPOK, B. A.; KOSTUKEVICH, E.V., 2006. Kinetic studies of protein–surface interactions: a two-stage model of surface-induced protein transitions in adsorbed biofilms. **Analytical Biochemistry**, v. 348, p. 222–231, 2006.

STEWART, P. S.; FRANKLIN, M. J. Physiological heterogeneity in biofilms. **Nature Reviews: Microbiology**, v. 6, p. 199-210, 2008.

STOODLEY, P.; DIRCKX, P. Biofilm formation in 3 steps. **Montana State University, Bozeman, Center for Biofilm Engineering**, 2003. Disponível em: <<http://www.biofilm.montana.edu/resources/images/multicellularextracellular/biofilm-formation-3-steps.html>>. Acesso em: 29/06/2015.

SUNDH, I. Biochemical composition of dissolved organic carbon derived from phytoplankton and used by heterotrophic bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 09, p. 2938-2947, 1992.

TAKEUCHI, K.; ITO, Y.; TOKUNAGA, K.; NAGAI, M.; IWAHASHI, H. The study of environmentally friendly pretreatment system. **Desalination and Water Treatment**, v. 51, p. 1874-1880, 2013.

TENZER, B.; ADIN, A.; PRIEL, M. Seawater filtration for fouling prevention under stormy conditions. **Desalination**, v.125, p. 77–88, 1999.

TIMMONS, M. B.; EBELING, J. M.; PIEDRAHITA, R. H. **Acuicultura en sistemas de recirculación (Spanish Edition)**. Ithaca, NY: Cayuga Aqua Ventures, LLC, 2009, 959 p.

TSUNEDA, S.; AIKAWA, H.; HAYASHI, H.; YUASA, A.; HIRATA, A. Extracellular polymeric substances responsible for bacterial adhesion onto solid surface. **FEMS Microbiology Letters**, v. 223, p. 287-292, 2003.

VALLINA, S. M.; FOLLOWS, M. J.; DUTKIEWICZ, S.; MONTOYA, J. M.; CERMENO, P.; LOREAU, M. Global relationship between phytoplankton diversity and productivity in the ocean. **Nature Communications**, v. 5, p. 1-10, 2014.

VAN DER HOEK, J. P.; HOFMAN, J. A. M. H.; BONNÉ, P. A. C.; NEDERLOF, M. M.; VROUWENWELDER, H. S. Ro treatment: selection of pretreatment scheme based on fouling characteristics and operating conditions based on environmental impact. **Desalination**, v. 127, p. 89–101, 2000.

VAN DER KOOIJ, D. Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth. **Journal of the American Water Works Association**, v. 84, p. 57-65, 1992.

VAN DER KOOIJ, D.; VISSER, A.; HIJNEN, W. A. M. Determining the concentration of easily assimilable organic carbon in drink water. **Journal of the American Water Works Association**, v.74, p. 540-545, 1982.

VAN DER KOOIJ, D.; HIJNEN, W.; CORNELISSEN, E.; VAN AGTMAAL, J.; BAAS, K.; GALJAARD, G. Elucidation of membrane biofouling processes using bioassays assessing the microbial growth potential of feed water. In: **Proceedings AWWA Membrane Technology Conference**. Tampa Bay, USA, 2007, 6 p.

VELDHUIS, M. J. W.; KRAAY, G. W. Phytoplankton in the subtropical Atlantic Ocean: towards a better assessment of biomass and composition. **Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers**, v. 51, n. 4, p. 507-530, 2004.

VEZA, J. M.; ORTIZ, M.; SADHWANI, J. J.; GONZALEZ, J. E.; SANTANA, F. J. Measurement of biofouling in seawater: some practical tests. **Desalination**, v. 220, p. 326–334, 2008.

VIDELA, H. A. **Biocorrosão, biofouling e biodeterioração de materiais**. 1ª ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher, 2003.

VIGNESWARAN, S.; CASIANO, V. L.; POLPRASET, C. Application of coarse-media slow sand filtration in aquaculture. **Water Science and Technology**. v. 23, p. 1817-1824, 1991.

VILLAC, M. C. CABRAL, V. A. P.; PINTO, T. O. The phytoplankton biodiversity of the coast of the state of São Paulo, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 3, 2008.

VISSCHER, J. T. Slow sand filtration: design, operation, and maintenance. **Journal of American Water Works Association**, v.82, n.6, p. 67–71, 1990.

VOUTCHKOV, N. Considerations for selection of seawater filtration pretreatment system. **Desalination**, v. 261, p. 354-364, 2010.

VOUTCHKOV, N. Alternatives for seawater treatment. **Everything About Water**, p. 26-34, 2009a.

VOUTCHKOV, N. SWRO pre-treatment systems: Choosing between conventional and membrane filtration. **Filtration & Separation**, v. 46, p. 5-8, 2009b.

VROUWENVELDER, J. S.; BAYER, F.; DAHMANI, K.; HASAN, N.; GALJAARD, G.; KRUIHOF, J. C.; VAN LOSDRECHT, M. C. M. Phosphate limitation to control biofouling. **Water Research**, v. 44, p. 3453-3466, 2010a.

VROUWENVELDER, J. S.; BUTER, J.; RIVIERE, M.; VAND DER MEER, W, G. J.; VAN LOSDRECHT, M. C. M.; KRUIHOF, J. C. Impact of flow regime on pressure drop increase and biomass accumulation and morphology in membrane systems. **Water Research**, v. 44, p. 689-702, 2010b.

VROUWENVELDER, J. S.; GRAF VON DER SCHULENBURG, D. A.; KRUIHOF, J. C.; JOHNS, M. L.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Biofouling of spiral-wound nanofiltration and reverse osmosis membranes: A feed spacer problem. **Water Research**, v. 43, p. 583-594, 2009.

VROUWENVELDER, J. S.; PAASSEN, J. A. M.; WESSELS, L. P.; VAN DAM, A. F.; BAKKER, S. M. The Membrane Fouling Simulator: A practical tool for fouling prediction and control. **Journal of Membrane Science**, v. 281, p. 316–324, 2006.

VROUWENVELDER, J. S.; VAN DER KOOIJ, D. Diagnosis, prediction and prevention of biofouling of NF and RO membranes. **Desalination**, v. 139, p. 65-71, 2001.

WAKELIN, S.; PAGE, D.; DILLON, P.; PAVELLIC, P.; ABELL, G. C. J.; GREGG, A. L.; BRODIE, E.; DESANTIS, T. Z.; GOLDFARB, K. C.; ANDERSON, G. Microbial community structure of a slow sand filter schmutzdecke: a phylogenetic snapshot based on rRNA sequence analysis. **Water Science & Technology: Water Supply**, v. 11, n. 4, p. 426-436, 2011.

WEBER-SHIRK, M. L.; DICK, R. I. Bacterivory by a chrysophyte in slow sand filters. **Water Research**, v. 33, n. 3, p. 631-638, 1999.

WEGELIN, M. **Surface water treatment by roughing filters: a design, construction and Operation manual**. Gallen, Suiça: Swiss Centre for Development Cooperation in Technology and Management (SKAT), 1996, 161 p.

WEI, Q.; MA, L. Z. Biofilm Matrix and Its Regulation in *Pseudomonas aeruginosa*, **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 10, p. 20983-21005, 2013.

WEINRICH, L. A.; GIRALDO, E.; LECHEVALLIER, M. W. Development and application of a bioluminescence-based test for assimilable organic carbon in reclaimed waters. **Applied and Environmental Microbiology**, v.75, p.7385–7390, 2009.

WEINRICH, L. A.; SCHNEIDER, O. D.; LeCHEVALLIER, M. W. Bioluminescence-Based Method for Measuring Assimilable Organic Carbon in Pretreatment Water for Reverse Osmosis Membrane Desalination. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 3, p. 1148–1150, 2011.

WESLEY, S. G.; SATHEESH, S. Temporal variability of nutrient concentration in marine biofilm developed on acrylic panels. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** v.379, p. 1–7, 2009.

WHEELER, D.; BARTMAN, J. ; LOYD, B.J. The removal of viruses by filtration through slow sand filtration. In: GRAHAM, N. J. D. **Slow sand filter: recent developments in water treatment technology**. New York, USA: John Wiley & Sons, 1988, 423 p.

WILLIAMS, P. G. A study of bacteria reduction by slow sand filtration. In: **IWPC BIENNIAL CONFERENCE**, 1987, Port Elizabeth. National Institute for water Research, Pretoria, South Africa , 1987.

WINNER, C. To banish biofouling. **Oceanus Magazine**, v. 50, n. 2, p. 8-11, 2013.

XIAO, R.; ZHENG, Y. Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications. **Biotechnology Advances**, v. 34, n.7, p. 1225-1244, 2016.

XU, C.; YAN, Q.; MA, Y. Microorganisms colonizing surface in coastal marine water as revealed by 16S rRNA gene clone library analysis. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 45, p. 7271-7277, 2012.

YAMAMURA, S. Overview on the current condition of slow sand filtration and its challenges in Japan. In: NAKAMOTO, N.; GRAHAM, N. J. D.; COLLINS, M. R.; GIMBEL, R. **Progress in slow sand and alternative biofiltration process: Further developments and applications**. London, UK: IWA Publishing, 2014, 570 p.

ZHANG, M.; JIANG, S.; TANUWIDJAJA, D.; VOUTCHKOV, N.; HOEK, E. M. V.; CAI, B. Composition and variability of biofouling organisms in seawater reverse osmosis desalination plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 13, p. 4390-4398, 2011.