UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

Antonio Wagner Lamon

CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES EM FILTROS LENTOS DOMICILIARES OPERADOS EM FLUXO CONTÍNUO E INTERMITENTE COM O USO DE MICROSSENSORES

São Carlos - SP - 2020 -

Antonio Wagner Lamon

CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES EM FILTROS LENTOS DOMICILIARES OPERADOS EM FLUXO CONTÍNUO E INTERMITENTE COM O USO DE MICROSSENSORES

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Hidráulica e Saneamento.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lyda Patricia Sabogal Paz

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos - 2020 -

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

Lamon, Antonio Wagner CARACTERIZAÇÃO DE BIOFILMES EM FILTROS LENTOS DOMICILIARES OPERADOS EM FLUXO CONTÍNUO E INTERMITENTE COM O USO DE MICROSSENSORES / Antonio Wagner Lamon; orientadora Lyda Patricia Sabogal-Paz. São Carlos, 2020.
Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2020.
1. Biofilmes. 2. Oxigênio dissolvido. 3. Potencial

I. Biofilmes. 2. Oxigenio dissolvido. 3. Potencial de oxidação-redução. 4. Microssensores. 5. Filtro lento em areia domiciliar. I. Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Bacharel ANTONIO WAGNER LAMON.

Título da tese: "Caracterização de biofilmes em filtros lentos domiciliares operados em fluxo contínuo e intermitente com o uso de microssensores ".

Data da defesa: 19/06/2020.

Comissão Julgadora:

Aprovado

Resultado:

Profa. Dra. Lyda Patricia Sabogal Paz (Orientadora) (Escola de Engenharia de São Carlos/EESC-USP)

Prof. Titular José Roberto Campos (Escola de Engenharia de São Carlos/EESC-USP)

Aprovado Prof. Dr. Arnaldo Sarti (Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP - Araraguara)

Dra. Valéria Del Nery (Bio Proj Tecnologia)

Prof. Dr. Fernando Guimarães Aguiar (Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovado

Aprovedo

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento: Prof. Dr. Eduardo Mario Mendiondo

Presidente da Comissão de Pós-Graduação: Prof. Titular Murilo Araujo Romero

Este trabalho dedica-se à:

Meus queridos filhos Leonardo Lamon e Murilo Lamon com muito carinho;

Meus pais, Luiz Clovis Lamon e Antonina Neyde Marchetti Dadico Lamon, como mais uma forma de gratidão, e

Minha querida irmã Leila Maria Lamon Ribas e cunhado Luiz Antonio Guimarães Ribas – por todo seu apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado oportunidade e forças para concluir este trabalho.

Agradeço ao Professor José Roberto Campos, cujo apoio foi imprescindível para a conclusão desta pesquisa, por seu incentivo e pelas oportunidades – *estendo-lhe minhas mãos, segure-as se precisar e obrigado por tudo!* GRATIDÃO!

Agradeço a Prof.ª Lyda Patricia Sabogal-Paz pela orientação deste trabalho.

Agradeço aos meus filhos Leonardo Lamon e Murilo Lamon pelo amor, carinho, companheirismo e incentivo.

Agradeço a todos os colegas do Departamento de Hidráulica e Saneamento que, direta ou indiretamente, contribuíram para a conclusão deste trabalho, em especial: Adriana Poli Miwa, Andre Canale Garcia, Márcia Magro Campos, Prof^a. Maria Bernadete Amâncio Varesche Silva, Prof. Edson Cesar Wendland, Prof. Marcelo Zaiati, Prof. Marco Antonio Penalva Reali, Maria Cecilia Scansani, Roberto César Bergamo, Valderes Aparecida Picon Terroni.

Agradeço ao amigo Valdecir Aparecido de Arruda por toda sua ajuda e orientação com desenhos e ilustrações.

Expresso minha sincera gratidão ao Prof. Fernando Guimarães Aguiar, por sua valorosa amizade e por sua ajuda com o sistema de aquisição de dados.

Agradeço a Secretaria de Pós-graduação do SHS – Maria Auxiliadora de Campos Altieri Pin e Priscila Carla Toselli de Almeida por seu apoio e incentivo.

Meus agradecimentos ao Prof. Juliano José Corbi por seu apoio, amizade e incentivo.

Agradeço a Dra. Eloisa Pozzi por seu apoio com as análises microbiológicas e por sua valorosa amizade, e aos colegas de Laboratório: Bárbara Luiza Souza Freitas, Fernando César Andreoli e Ulisses C. Terin. Meu sincero agradecimento e admiração ao Dr. Paulo Marcos Faria Maciel, por sua cordial atenção, sua amizade e apoio incondicional.

Meus sinceros agradecimentos ao Prof. Woodrow Nelson Lopes Roma, por todo o aprendizado, por sua ajuda e amizade.

Agradeço a meus grandes amigos Leandro Joaquim e Everton Schefer por sua amizade, e pela energia que ela sempre me traz.

Agradeço ao Serviço Autônomo de Água e Esgoto de São Carlos (SAAE), em especial, à Gerente de Operações de Tratamento de Água e Esgoto, Dra. Leila Jorge Patrizzi.

Meus agradecimentos ao órgão financiador deste trabalho: *Global Challenges Research Fund (GCRF) UK Research and Innovation (SAFEWATER; EPSRC Grant Reference EP/P032427/1).*

Epígrafe

"Estamos face a face com nosso destino, e devemos encontrá-lo com muita coragem e resolução. Para nós é a vida de ação, da extenuante performance do dever; deixe-nos viver nos arreios, esforçando-nos vigorosamente; deixe-nos correr o risco de nos desgastarmos do que enferrujarmos".

Theodore Roosevelt

RESUMO

LAMON, A.W. **Caracterização de biofilmes em filtros lentos domiciliares operados em fluxo contínuo e intermitente com o uso de microssensores.** 2020. 338 p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2020.

O panorama social e econômico e as características regionais diferenciadas colocam o Brasil em condição distinta no que concerne ao acesso à água potável. No entanto, a Organização Mundial de Saúde alerta que no país, aproximadamente 4 milhões de pessoas não têm acesso à água potável, dos quais 91% estão localizados na região rural. A falta de condições sociais e econômicas impõe barreiras efetivas para a instalação de estações para tratamento de água, fazendo com que a busca por soluções a nível doméstico se torne opção disponível para comunidades localizadas em regiões isoladas do país. Dentro desse prisma, a utilização de filtros de areia em escala familiar (FLDs) é uma tecnologia acessível e perfeitamente adaptável à realidade de famílias que não dispõem de água tratada. O desempenho dos filtros de areia em pequena escala tem sido estudado por inúmeros pesquisadores, entretanto, a participação dos biofilmes que naturalmente se formam nas diferentes camadas filtrantes, ainda necessita de aprofundamento para melhor entendimento de seu funcionamento, no contexto do abastecimento familiar. A qualidade da água produzida por dois filtros lentos em areia, sendo um operado em fluxo contínuo (F1) e outro em fluxo intermitente (F2) durante 8 meses de operação foi avaliada. O filtro em fluxo contínuo apresentou remoção média de turbidez de 75,9% \pm 3,99; a remoção de coliformes totais foi de 1,6 \pm 0,04 log e para *E. coli* 2,2 \pm 1 log. O filtro em fluxo intermitente removeu 74,8% \pm 4,11 de turbidez; a remoção de coliformes totais foi de $1,4 \pm 0,06 \log$ e para *E.coli* $1,6 \pm 0,01 \log$. Não foi constatada diferença significativa na eficiência de remoção da água produzida pelo filtro intermitente (F2) e a produção do mesmo filtro no período de pausa maior (15 h) (F2pp) para os parâmetros de turbidez (p=0,304); cor aparente (p=0,216) e cor verdadeira (p=0,891). Por meio de análises de coupons submetidos à água de diferentes camadas dos filtros lentos em areia, foram constatadas diferenças significativas na espessura dos biofilmes formados em diferentes camadas dos filtros operados em modo contínuo e intermitente, cuja composição essencialmente química, conduziu à formação de gradientes de oxigênio dissolvido em seu interior. Nos coupons instalados nos FLDs também foi evidenciada a presença de microorganismos como: bactérias, ciliados, rotíferos, flagelados, amebas tecadas e hifas de fungos. Mediante a avaliação da depleção de OD que ocorre nas amostras de manta não tecida dos filtros lentos em areia para uso doméstico, conforme análise de variância; pôde ser observado não haver diferença significativa entre as amostras de F1 e F2 (p=0.985). No entanto, foi possível se estabelecer uma relação entre o progressivo aumento da depleção de OD que ocorre nas mantas não tecidas durante o tempo de operação dos FLDs e a eficiência de remoção de turbidez dos filtros. O aumento da depleção de OD nas mantas não tecidas foi associado à deposição de material particulado de coloração amarelada.

Palavras-chave: Biofilmes, Oxigênio dissolvido, Potencial de oxidação-redução, microssensores, filtro lento em areia domiciliar

ABSTRACT

LAMON, A.W. Characterization of biofilms at household slow filters operated in continuous and intermittent flow by using microsensors. 2020. 338 p. Doctor of Science Thesis. São Carlos School of Engineering, University of São Paulo, São Carlos, 2020.

The social and economic outlook and the differentiated regional characteristics put Brazil in a different condition concerning access to quality drinking water. However, the World Health Organization alerts that in the country, approximately 4 million people don't have access to drinking water, of which 91% are located in the rural area. The lack of social and economic conditions imposes effective barriers for the installation of treatment plants, and the search for point of use (POU) solutions becomes an available option for communities located in isolated areas of the country. From this point of view, the use of slow sand filters in family scale (SSF) corresponds to the accessible technology and perfectly adaptable to the reality of families that don't have access to treated water. The performance of slow sand filters has been studied by countless researchers, however, the functioning of the biofilms that naturally form in the different filtering layers, still needs to be deepened to better understand its functioning, in the context of family supply. The water quality produced by two slow sand filters, one operated in continuous flow (F1) and the other in intermittent flow (F2) during 8 months operation was evaluated. The continuous flow filter showed an average turbidity removal of 75.9% \pm 3.99; the total coliforms removal was 1.6 \pm 0.04 log and for *E. coli* 2.2 \pm 1 log. The intermittent flow filter removed 74.8% \pm 4.11 of turbidity, the total coliforms removal was $1.4 \pm 0.06 \log$ and for *E. coli* $1.6 \pm 0.01 \log$. There was no significant difference in the removal efficiency of the water produced by the intermittent filter (F2) and the production of the same filter in the longest pause period (15 h) (F2pp) for turbidity parameters (p = 0.304); apparent color (p = 0.304); 0.216) and true color (p = 0.891). By analyzing *coupons* subjected to water from different layers of the slow sand filters, significant differences were found in the thickness of the biofilms formed in different layers of the filters operated in continuous and intermittent mode, whose essentially chemical composition led to the formation of dissolved oxygen gradients inside. The coupons installed in the SSFs also showed the presence of microorganisms such as: bacteria, ciliate, rotifers, flagellates, woven amoebae and fungus hyphae. For the evaluation of DO depletion that occurs in samples of non-woven blanket from slow sand filters for domestic use, according to analysis of variance; it was observed that there was no significant difference between the F1 and F2 samples (p = 0.985). However, it was possible to establish a relationship between the progressive increase in the DO depletion that occurs in non-woven blankets during the operation time of the SSFs and the turbidity removal efficiency of the filters. The increase in DO depletion in the non-woven blankets was associated with the deposition of yellowish-colored particulate matter.

Key-words: Biofilms, dissolved oxygen, oxidation-reduction potential, microsensors, household slow sand filter.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3. 1 - Distribuição dos recursos hídricos do Brasil por região
Figura 3. 2 - Esquema de filtro lento em areia para uso domiciliar47
Figura 3. 3 - Estrutura do filtro lento em areia em escala domiciliar proposto por Freitas (2017)48
Figura 3. 4 - Fenômeno da difusão responsável pela formação de cauda em ensaios com traçadores e
perturbação do tipo pulso com entrada (t1) e saída (t2) do traçador em poros
Figura 3. 5 - Resultado de ensaios com traçador efetuados em FLD57
Figura 3. 6 - Ilustração de Biofilme Heterogêneo em um modelo conceitual65
Figura 3. 7 - Dinâmica da formação e crescimento de biofilmes
Figura 3. 8 - Modelo conceitual de heterogeneidade do biofilme
Figura 3. 9 - Modalidades de migração ou proliferação dos biofilmes sobre superfícies colonizadas.
Figura 3. 10 - Ilustração da sinalização bacteriana (QS)71
Figura 3. 11 - Ilustração de EPS: A) Estrutura; B) Estrutura celular, e C) Estrutura dos flocos77
Figura 3. 12 - Ilustração das camadas LP-EPSs e LC-EPSs no contexto da expansão de novas colônias
de biofilmes
Figura 3. 13 - Ilustração do fenômeno da desidratação de biofilmes e perda das EPSs79
Figura 3. 14 - Aderência de EPSs sobre superfícies. A) superfície hidrofóbica; B) superfície
hidrofílica
Figura 3. 15 - Ilustração esquemática das interações de XDLVO: A) Interações EL, B) Interações
LW, e C) Interações AB
Figura 3. 16 - Ilustração de: A) ponte iônica, e B) emaranhado polimérico envolvidos por adesivo
incrustante (EPS)
Figura 3. 17 - Ilustração esquemática de alguns mecanismos de colmatação de filtros: A) colmatação
dos poros; B) formação de camadas de EPS aderindo os coloides; C) formação de biofilmes espessos,
e D) efeitos da pressão osmótica
Figura 3. 18 - Foto microscópica de microssensor de OD e componentes internos
Figura 3. 19 - Foto microscópica da ponta sensível de microssensores de OD - resolução espacial
igual ao diâmetro da ponta sensível do microssensor
Figura 3. 20 - Microperfis típicos obtidos com a aplicação de microssensores em biofilme
Figura 3. 21 - Ilustração do posicionamento de microssensores para obtenção de perfis
Figura 3. 22 - Foto microscópica de microssensor de OD após rompimento da ponta sensível90
Figura 3. 23 - Leituras do microssensor de OD durante a calibração (1pps)92
Figura 3. 24 - Gráfico de teste de depleção de OD em micro e macrossensor
Figura 3 25 – OD: medições com microssensores e método de Winkler 94

Figura 3. 26 - Microssensor de POR do tipo combinado	96
Figura 3. 27 - Microperfil de POR sobre eletrodo de fibra de carbono	96
Figura 3. 28 - Perfil de oxigênio dissolvido obtido com microssensor	98
Figura 3. 29 - Perfil de oxigênio dissolvido e densidade óptica em biofilme	99
Figura 3. 30 - Sistema servo-assistido (stepper) para posicionamento de microssensores	100
Figura 3. 31 - Módulo Driver para comando do micro-stepper e set-up para aplicação	de
microssensores	101
Figura 3. 32 - Ilustração de CFXs: (a) sem recirculação; (b) com recirculação, e (c) com recircula	ção
e câmara de mistura	103

Figura 5. 1 - FLDs contínuo e intermitente	143
Figura 5. 2 - Ensaio com solução de traçador, com duas injeções do tipo degrau e uma injeção do	tipo
degrau invertido, em filtro intermitente. A) filtro intermitente; B) Filtro contínuo	145
Figura 5. 3 - Curva de distribuição do tempo de residência – ensaios de filtro em fluxo contínuo.	147
Figura 5. 4 - Modelos baseados em extremos de idealidade para caracterização do escoamento	em
filtro contínuo	148
Figura 5.5 - Turbidez – Evolução temporal nas 8 carreiras de filtração a partir de dados diário	os (o
eixo Y do gráfico possui escala logarítmica, dessa forma, 0,1 corresponde a zero)	154
Figura 5. 6 - Eficiência de remoção de turbidez dos FLDs em 8 meses de operação	155
Figura 5. 7 - Exemplo da convenção adotada para posterior exposição dos resultados obtido por n	neio
das análises com microssensores em coupons (definição da espessura do biofilme)	160
Figura 5. 8 - Microperfis de OD – coupons da CFX E (mês 1).	161
Figura 5. 9 - Microperfis de OD - coupons da CFX F1-1 (mês 1)	161
Figura 5. 10 - Microperfis de OD – coupons da CFX F1-2 (mês 1)	162
Figura 5. 11 - Microperfis de OD – coupons da CFX F1-3 (mês 1)	162
Figura 5. 12 - Microperfis de OD – coupons da CFX F2-1 (mês 1)	162
Figura 5. 13 - Microperfis de OD – coupons da CFX F2-2 (mês 1)	163
Figura 5. 14 - Microperfis de OD – coupons da CFX F2-3 (mês 1)	163
Figura 5. 15 - Microperfis de OD – <i>coupons</i> da CFX E (mês 2).	164
Figura 5. 16 - Microperfis de OD – <i>coupons</i> da CFX F1-1 (mês 2)	165
Figura 5. 17 - Microperfis de OD – coupons da CFX F1-2 (mês 2)	165
Figura 5. 18 - Microperfis de OD – coupons da CFX F1-3 (mês 2)	165
Figura 5. 19 - Microperfis de OD – coupons da CFX F2-1 (mês 2)	166
Figura 5. 20 - Microperfis de OD – <i>coupons</i> da CFX F2-2 (mês 2)	166
Figura 5. 21 - Microperfis de OD – <i>coupons</i> da CFX F2-3 (mês 2)	166
Figura 5. 22 - Microperfis de OD – <i>coupons</i> da CFX E (mês 3).	167
Figura 5. 23 - Microperfis de OD – coupons da CFX F1-1 (mês 3)	168
Figura 5. 24 - Microperfis de OD – <i>coupons</i> da CFX F1-2 (mês 3)	168
Figura 5. 25 - Microperfis de OD – <i>coupons</i> da CFX F1-3 (mês 3)	168
Figura 5. 26 - Microperfis de OD – coupons da CFX F2-1 (mês 3)	169
Figura 5. 27 - Microperfis de OD – coupons da CFX F2-2 (mês 3)	169
Figura 5. 28 - Microperfis de OD – coupons da CFX F2-3 (mês 3)	169
Figura 5. 29 - Microperfis de OD - <i>coupons</i> : A) filtro contínuo e B) filtro intermitente (mês 4)	170
Figura 5. 30 - Microperfis de OD - <i>coupons</i> : A) filtro contínuo e B) filtro intermitente (mês 5)	172
Figura 5. 31 - Microperfis de OD - coupons: A) filtro contínuo e B) filtro intermitente (mês 6)	173

Figura 5. 32 - Microperfis de OD – <i>coupons</i> : A) filtro contínuo e B) filtro intermitente (mês 7)175
Figura 5. 33 - Microperfis de OD – <i>coupons</i> : A) filtro contínuo e B) filtro intermitente (mês 8)176
Figura 5. 34 - Amostra de manta não tecida sendo analisada com microssensor de OD
Figura 5. 35 - Ilustração da aplicação de Microssensores nas mantas não tecidas182
Figura 5. 36- Microperfis de OD obtido em 3 amostras – avaliação de manta não tecida virgem. 183
Figura 5. 37 - Microperfil de OD da Figura 5.36 em alta resolução no eixo Y184
Figura 5. 38 - Microperfil de OD obtido em amostra de manta e sinalização gráfica adotada 185
Figura 5. 39 - Microperfis de OD da manta não tecida: A) do filtro contínuo (F1); B) do filtro
intermitente F2 (mês 1)
Figura 5. 40 - Microperfil de OD da manta não tecida: A) do filtro contínuo F1; B) do filtro
intermitente (F2) (mês 2)
Figura 5. 41 - Microperfil de OD da manta não tecida: A) do filtro contínuo F1; B) do filtro
intermitente F2 (mês 3)
Figura 5. 42 - Microperfis de OD: manta não tecida de "F1" e "F2" (mês 4)190
Figura 5. 43 - Microperfil de OD: manta não tecida de F1 e F2 (mês 5)190
Figura 5. 44 - Microperfil de OD: manta não tecida de F1 e F2 (mês 6)191
Figura 5. 45 - Microperfil de OD: manta não tecida de F1 e F2 (mês 7)191
Figura 5. 46 - Microperfil de OD: manta não tecida de F1 e F2 (mês 8)192
Figura 5. 47 - Gráfico que correlaciona as máximas depleções de OD verificadas nas amostras de
manta não tecida e a turbidez da água produzida por F1 e F2 em 3 carreiras de filtração195
Figura 5. 48 - Microperfis do Potencial de Oxidação-redução referentes a 8 meses de operação dos
FLD: A) filtro contínuo (F1) e B) do filtro intermitente (F2)197
Figura 5. 49 - Análises do potencial de respiração da biomassa obtidas nas mantas ao final das 8
carreiras de filtração: A) F1 e B) F2
Figura 5. 50 - Fotos de filmes nas mangueiras das CFXs de F1: A) F1-1; B) F1-2; C) F1-3202
Figura 5. 51 - Fotos de filmes nas mangueiras das CFXs de F2: A) F2-1; B) F2-2; C) F2-3202
Figura 5. 52 - Ilustração da escala de coloração degradê observada visualmente nas mangueiras das
CFXs
Figura 5. 53 - Análises de Turbidez obtidas durante todo o período experimental: A) mês1; B) mês 2;
C) mês 3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8206
Figura 5. 54 - Análises de Cor Aparente obtidas durante o período experimental: A) mês1; B) mês 2;
C) mês 3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8209
Figura 5. 55 - Análises de Cor Verdadeira obtidas durante o período experimental: A) mês1; B) mês
2; C) mês 3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8212
Figura 5. 56 - Análises de oxigênio dissolvido obtidas durante o período experimental: A) mês1; B)
mês 2; C) mês 3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8215

Figura 5. 57 - Análises de condutividade obtidas durante o período experimental: A) mês1; B) mês
2; C) mês 3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8218
Figura 5. 58 - Análises de coliformes obtidas durante o período experimental: A) mês1; B) mês 2; C)
mês 3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8221
Figura 5. 59 - Análises de E. coli obtidas durante o período experimental: A) mês1; B) mês 2; C) mês
3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8
Figura 5. 60 - Depleção de OD nas mantas de F1 e F2
Figura 5. 61 - Espessura dos biofilmes formados nos coupons. A) referente ao filtro F1; B) referente
ao filtro F2
Figura 5. 62 - A) Espessura dos biofilmes formados nos coupons de F1; F2 e E; B) Ilustração para
identificação dos pontos
Figura 5. 63 - Microperfis de OD obtidos na primeira carreira de filtração. A) F1; B) F2230
Figura 5. 64 - Microperfis de OD obtidos na segunda carreira de filtração. A) F1; B) F2231
Figura 5. 65 - Microperfis de OD obtidos na terceira carreira de filtração. A) F1; B) F2231
Figura 5. 66 - Linhas de tendência que representam uma aproximação matemática do crescimento
logarítmico dos biofilmes durante o mês 1. A) F1, e B) F2232
Figura 5. 67 - Linhas de tendência que representam uma aproximação matemática do crescimento
logarítmico dos biofilmes durante o mês 2. A) F1, e B) F2233
Figura 5. 68 - Linhas de tendência que representam uma aproximação matemática do crescimento
logarítmico dos biofilmes durante o mês 3. A) F1, e B) F2234

LISTA DE TABELAS

Tabela 3. 1 - Causas infecciosas da diarreia	69
Tabela 3. 2 - Avaliação da eficiência filtros lentos em areia. 4	1
Tabela 4. 1 - Assentamento do material filtrante e especificações das peneiras. 10)7
Tabela 4. 2 - Sequência de equações para obtenção dos modelos.	20
Tabela 4. 3 - Parâmetros dos modelos baseados em extremos de idealidade.	20
Tabela 4. 4 - Parâmetro da dispersão de baixa intensidade. 12	21
Tabela 4. 5 - Modelo de dispersão de alta intensidade. 12	21
Tabela 4. 6 - Variáveis físico-químicas e microbiológicas, periodicidade e horários de coletas 13	8
Tabela 4. 7 - Descrição dos métodos/equipamentos utilizados	59
Tabela 4. 8 - Escala quantitativa para estimativa de micro-organismos e biofilmes14	1
Tabela 5. 1 - Resultado do teste de traçadores para o filtro contínuo (F1). 14	6
Tabela 5. 2 - Valores dos parâmetros de modelos baseados em extremos de idealidade para medid	la
de escoamento em filtro contínuo14	9
Tabela 5. 3 - Valores dos coeficientes de correlação entre os modelos e os dados experimentais14	9
Tabela 5. 4 - Caracterização da água bruta, água clarificada e da água produzida pelos FLDs em	8
carreiras de filtração15	52
Tabela 5. 5 - Avaliação do filtro intermitente: coleta de rotina e do período de pausa (15h)15	68
Tabela 5. 6 - Resultado das 4 semanas de análises dos coupons (mês 1)16	<i>i</i> 4
Tabela 5. 7 - Resultado das 4 semanas de análises dos coupons (mês 2)16	57
Tabela 5. 8 - Resultado das 4 semanas de análises dos <i>coupons</i> (mês 3)17	0'
Tabela 5. 9 - Resultado das análises dos coupons no final do mês 4	'1
Tabela 5. 10 - Resultado das análises dos <i>coupons</i> no final do mês 5	'3
Tabela 5. 11 - Resultado das análises dos coupons no final do mês 6	'4
Tabela 5. 12 - Resultado das análises dos <i>coupons</i> no final do mês 7	6'
Tabela 5. 13 - Resultado das análises dos coupons no final do mês 8	'7
Tabela 5. 14 - Máxima depleção de OD observada em cada microperfil das mantas de F1 e F2 19	13
Tabela 5. 15 - Potencial de biorespiração das amostras de manta não tecida do FLD operado em mod	lo
contínuo – F1)0
Tabela 5. 16 - Potencial de biorespiração das amostras de manta não tecida do FLD operado em mod	lo
intermitente – F2)0
Tabela 5. 17 - Pontos que apresentaram diferença significativa na espessura do biofilme analisad	lo
nos <i>coupons</i> 23	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AB	Interações de Lewis (Short-ranged Lewis acid-base)
AD	Modelo de dispersão de alta intensidade
AI-1	Bactérias tipo auto-induzidas
AI-2	Interações interespécies bacterianas
Asf	Área superficial dos filtros (49.087,38 mm ²)
Atc	Área das tomadas de coleta (19,63 mm ²)
BAC	Carvão biologicamente ativado (Biologically Activated Carbon)
BATH	Aderência bacteriana ao hidrocarbono (Bacterial Adhesion to Hydrocarbon)
BD	Modelo de dispersão de baixa intensidade
BOD	Biochemical oxygen demand
BOM	Matéria Orgânica Biodegradável (Biodegradable Organic Matter)
BRP	Potencial de biorespiração (Biomass Respiration Potential)
BSF	Biofiltros de Areia (Biosand Filter)
CAG	Carvão ativado granular
CAWST	Centre for Affordable Water and Sanitation Technology
C _{CF}	Concentração de traçador no fluxo principal (mgL ⁻¹)
C _{CP}	Concentração de traçador nos poros (mgL ⁻¹)
CFX	Célula de fluxo
COD	Demanda química de Oxigênio (Chemical Oxygen Demand)
CSLM	Confocal Scanning Laser Microscopy
CSTR	Reator com escoamento de mistura completa (Continuous Stirred Tank Reactor)
CU	Coeficiente de uniformidade
D ₁₀	Diâmetro efetivo (mm)
D ₁₀₀	Diâmetro máximo (mm)
Da	Demanda de OD da amostra
DBP	Desinfecção por produto (Desinfection by Product)
DE	Disruptor endócrino
di	Abertura dos poros da peneira (mm).
DLVO	Teoria clássica (Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek)
DOC	Carbono Orgânico Dissolvido (Dissolver Organic Carbon)
ds	Diâmetro médio de Sauter (mm);
DTR	Diferença do tempo de retenção
$D/\mu L$	Relação admensional que caracteriza dispersão em todo o reator
е	Índice de vazios

E	Distribuição do tempo de retenção (DTR)
$E_{ m H}$	Medidas eletrométricas de potencial REDOX
EL	Dupla camada eletrostática (Electrostatic Double Layer)
E_{ob}	Potencial medido (mV)
EPS	Substâncias poliméricas extracelulares (<i>Extracellular Polymeric Substances</i>)
E(t)	Distribuição do tempo de residência (DTR)
ETA	Estações de tratamento de água
E_{θ}	DTR em função do tempo de E_{θ} residência adimencional
FISH	Hibridização fluorescente in situ (Fluorescence In Situ Hybridization)
FLA	Filtro lento em areia
FLD	Filtro lento em escala domiciliar
F (t)	Normalização da concentração
IC	Carbono inorgânico (Inorganic Carbon)
LBR	(Leach Bed Reactor – LBR)
LC-EPS	Ligações coesas de substância polimérica extracelular
LED	Diodo emissor de luz (Light Emissor Diode)
LP-EPS	Ligações de perda de substância polimérica extracelular
LW	Interações de Van Der Waalls
MBR	Biorreatores de membrana (Membrane Bioreactors)
MCA	Metros de coluna d'água
MDI	Índice de Dispersão de Morril
ME	Microscópio eletrônico
MIB	2-Metilisoborneol
MOB	Bactérias oxidantes de metano (Methane Oxidizing Bacteria)
MS2	Bacteriófago que infecta E. Coli e outros membros do Enterobacteriaceae
MSU	Montana State University - EUA
Ν	Modelo de número de reatores em série
N-CSTR	N continuous stirred tank reactor model
NMP	Número mais provável (NMP/100ml)
OD	Oxigênio Dissolvido (mgL ⁻¹)
OMS	Organização mundial de saúde (World Heath Organization – WHO)
Pe	Parâmetro do modelo de dispersão de baixa intensidade
Pe ₂	Parâmetro do modelo de dispersão de alta intensidade
PFR	Reator com escoamento pistonado (Plug Flow Reactor)
рН	Percentual hidrogeniônico
POP	Poluentes Orgânicos Persistentes

POR	Potencial de oxidação-redução (mV)
POU	Sistema para aplicação no ponto de uso (Point-Of-Use)
pps	Taxa de aquisição de dados – ponto por segundo
Q(t)	Função que representa a vazão de saída do reator em um tempo respectivo
QS	Quórum Sensing
r ²	Coeficiente de determinação
RBC	Contator biológico rotativo (Rotating Biological Contactor)
REDOX	Potencial de oxidação-redução (Reduction Oxidation Potential)
refA	Referência desejada
refB	Referência utilizada na medição
RSF	Filtração rápida de areia (Rapid Sand Filtration)
SI	Sistema internacional de unidades
SMP	Produtos microbianos solúveis (Soluble Microbial Products)
SS	Sólidos suspensos (mg/L)
SSF	Filtro lento em areia (Slow Sand Filter)
t ₁	Início da perturbação do pulso
t_2	Término da perturbação do pulso
t90	Tempo em que 90% em massa do traçador passou pelo reator
t ₁₀	Tempo em que 10% em massa do traçador passou pelo reator
$t(M_{10\%})$	Tempos em que 10% do traçador aplicado deixa o reator (h)
$t(M_{90\%})$	Tempos em que 90% do traçador aplicado deixa o reator (h)
TC	Carbono total (Total Carbon)
TDH	Tempo de detenção hidráulica (h)
TMR	Tempo médio de retenção (h)
TOC	Carbono orgânico total (Total Organic Carbon) (mg/L)
TCO	Taxa de consumo de oxigênio (mgL ⁻¹ /10min)
TCO _{cod}	consumo de O2 necessário para a oxidação da fração orgânica biodegradável
TCO nitrificação	consumo de O2 necessário para a oxidação dos compostos nitrogenados (NH4, NO2)
uC	Unidade de Cor (<i>Color Unit</i> – CU)
uH	Unidade de Cor Unidade Hazen (mgPt-Co/L)
UNICEF	Fundo das Nações Unidas para a Infância (United Nations Children's Fund)
uT	Unidade de Turbidez
V(M _{10%})	Volume em que 10% do traçador aplicado deixa o reator
V(M _{90%})	Volume em que 90% do traçador aplicado deixa o reator
V _{CFX}	Vazão definida para a CFX para o período
Vep	Corresponde a vazão de produção efetiva para o período (48 L/dia ⁻¹)

VMP	Valor Máximo Permitido
XDLVO	Teoria clássica de DLVO, estendida por Van Oss, incluindo as interações de Lewis (<i>Short-ranged Lewis acid-base</i> – AB)
xi	Fração mássica retida em cada peneira (mm)
ρd	Resultado da divisão da diferença da massa do conjunto e a massa da amostra pelo volume
	do cilindro (g/cm ³)
ρs	Massa especifica da amostra (g/cm3);
3	Porosidade
$\overline{\theta_h}$	Tempo de residência médio (h)
σ^2	Variância DTR (h)
θ	Tempo de residência adimensional (h)
σ_{θ}^2	Variância adimensional

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	32
2.	HIPÓTESES E OBJETIVOS	35
2.1	Hipótese	35
2.2	OBJETIVO GERAL	35
2.3	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	36
3.1	ABASTECIMENTO DE ÁGUA EM COMUNIDADES RURAIS	36
3.2	DOENÇAS CAUSADAS POR VEICULAÇÃO HÍDRICA	37
3.3	TECNOLOGIAS DE TRATAMENTO DE ÁGUA	40
3.4	HISTÓRICO SOBRE FILTRAÇÃO LENTA	42
	3.4.1 Fundamentação básica da filtração lenta domiciliar	44
3.5	ESTRUTURA E MODALIDADES DE FILTROS LENTOS DE AREIA	46
	3.5.1 Diferenças na produção de FLDs em modo contínuo e intermitente	49
3.6	ASPECTOS OPERACIONAIS DOS FLDS	50
	3.6.1 Adaptação de micro-organismos nos FLDs	50
	3.6.2 Impactos da temperatura	54
	3.6.3 Distribuição de Tempo de Residência e ensaios hidrodinâmicos	55
	3.6.4 Amadurecimento e limpeza	58
	3.6.5 A importância do oxigênio dissolvido no afluente	60
	3.6.6 Potencial de respiração da biomassa (BRP)	62
3.7	BIOFILMES	63
	3.7.1 Conceito geral de biofilmes	63
	3.7.2 A estrutura dos biofilmes	66
	3.7.3 Biofilmes e a filtração lenta em areia	72
	3.7.4 Aderência dos Biofilmes	74
3.8	SUBSTÂNCIA POLIMÉRICA EXTRACELULAR (EPS)	76
	3.8.1 Estrutura e distribuição do EPS	77
	3.8.2 Propriedades de aderência das EPSs	80
	3.8.3 Influência das EPSs nos mecanismos de colmatação de filtros	82
3.9	MICROSSENSORES PARA ESTUDOS DE BIOFILMES	84
	3.9.1 Microssensores de OD – Princípios de funcionamento e calibração	91
	3.9.2 Microssensores de POR – Princípios de funcionamento e calibração	94
	3.9.3 Análises com microssensores – Definição da superfície de biofilmes	97
3.10	SISTEMA SERVO-ASSISTIDO PARA APLICAÇÃO DE MICROSSENSORES	100

3.11	CÉLULAS DE FLUXO PARA ESTUDOS DE BIOFILMES	101
4.	MATERIAL E MÉTODO	104
4.1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS	104
	4.2 Seleção de materiais e estrutura dos filtros lentos de areia	106
	4.2.1 Montagem dos filtros contínuo e intermitente	108
	4.2.2 Caracterização dos materiais	110
4.3	MONTAGEM DO SISTEMA DE FILTRAGEM EXPERIMENTAL	112
4.4	Descrição operacional dos filtros lentos de areia para uso doméstico – $F1 \to F2$	116
	4.4.1 Pré-tratamento da água para alimentação dos filtros	116
	4.4.2 Método de operação do filtro lento domiciliar em modo contínuo (F1)	116
	4.4.3 Método de operação do filtro lento domiciliar em modo intermitente (F2)	118
4.5	CARACTERIZAÇÃO DO ESCOAMENTO DOS FLDS	118
4.6	CÉLULAS DE FLUXO (CFXS) PARA CULTIVO DE BIOFILMES EM COUPONS	121
4.7	MATERIAL SUPORTE PARA CULTIVO DO BIOFILME (COUPONS)	124
4.8	DEFINIÇÃO DO FLUXO D'ÁGUA PARA ALIMENTAÇÃO DAS CFXs	126
4.9	SUPORTES PARA AMOSTRAS DE MANTA NÃO TECIDA PARA ANÁLISES	129
4.10	Fabricação de microssensores de OD	131
4.11	FABRICAÇÃO DOS MICROSSENSORES DO POTENCIAL DE OXIDAÇÃO-REDUÇÃO (POR)	134
4.12	ANÁLISES DO POTENCIAL DE RESPIRAÇÃO DA BIOMASSA (BRP)	135
4.13	Metodologia analítica	137
4.14	CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	140
4.15	Considerações sobre análises de biofilmes aderidos nas paredes das mangueir	AS DE
SAÍD	A DAS CFXs	141
4.16	ANÁLISES ESTATÍSTICAS APLICADAS	141
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	143
5.1	Construção dos FLDs	143
5.2	ENSAIOS HIDRODINÂMICOS DOS FILTROS LENTOS DE AREIA PARA USO DOMICILIAR	144
	5.2.1 Investigação sobre anomalias de escoamento	144
	5.2.2 Determinação das curvas de distribuição do tempo de residência em FLDs	147
5.3	Avaliação da perda de carga dos filtros lentos de areia F1 e F2	150
5.4	Avaliação da eficiência dos FLDs	151
	5.4.1 Remoção de turbidez dos FLDs	153
	5.4.2 Remoção de Cor nos FLDs	155
	5.4.3 Variações de pH	156
	5.4.4 Condutividade elétrica	156
	5.4.5 Remoção de Coliformes Totais e <i>E.coli</i>	157

	5.4.6 Decaimento de Oxigênio Dissolvido nos FLDs	158
	5.4.7 Produção do filtro intermitente (F2) e produção no período de pausa (F2pp)	158
5.5	CONSIDERAÇÕES PRELIMINARES SOBRE ANÁLISES COM MICROSSENSORES NOS COUPONS	159
5.6	MICROPERFIS DE OD NOS <i>COUPONS</i> PARA ANÁLISE DOS BIOFILMES	161
	5.6.1 Considerações preliminares sobre análises com microssensores nas mantas	181
	5.6.2 Avaliação preliminar da permeabilidade de OD das mantas não tecidas	182
5.7	MICROPERFIS OBTIDOS COM MICROSSENSOR DE OD NAS AMOSTRAS DE MANTA NÃO TECID.	a.187
5.8	Potencial de oxidação-redução das amostras de manta não tecida de F1 e F2	196
5.9	Potencial de biorespiração (BRP) das amostras de manta de F1 e F2	198
5.10) Avaliação do biofilme aderido às mangueiras de saída das CFXs de F1 e F2	201
5.11	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	206
	5.11.1 Variáveis físico-químicas das 8 carreiras de filtração de F1 e F2	206
	5.11.2 Depleção de oxigênio dissolvido das mantas de F1 e F2 – microperfis de OD	226
	5.11.3 Espessura dos biofilmes nos <i>coupons</i> de F1 e F2 – microperfis de OD	227
	5.11.4 Comparação entre filtros contínuo e intermitente na formação de biofilmes nos co	oupons
		229
	5.11.5 Crescimento dos biofilmes nos <i>coupons</i> durante os primeiros 3 meses de operação	ão 230
6.	CONSIDERAÇÕES SOBRE A HIPÓTESE	236
7.	CONCLUSÕES	237
7. 8.	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	237
7. 8. 9.	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS APÊNDICES	237 240 258
7. 8. 9. APÊ	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS APÊNDICES ÊNDICE 1	237 240 258 258
7. 8. 9. APÊ 1. A	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS APÊNDICES ÊNDICE 1 Altura piezométrica de (F1) e (F2) nas 8 carreiras de filtração	237 240 258 258 258
7. 8. 9. APÊ 1. A APÊ	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS APÊNDICES ÊNDICE 1 Altura piezométrica de (F1) e (F2) nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 2	237 240 258 258 258 266
 7. 8. 9. APÊ 1. A APÊ 1. E^v 	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS APÊNDICES ÊNDICE 1 Altura piezométrica de (F1) e (F2) nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 2 EVOLUÇão temporal da remoção de Cor Aparente nas 8 carreiras de filtração	237 240 258 258 258 266 266
7. 8. 9. 1. A APÊ 1. E ^v APÊ	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS APÊNDICES ÊNDICE 1 Altura piezométrica de (F1) e (F2) nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 2 Evolução temporal da remoção de Cor Aparente nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 3	237 240 258 258 258 266 266 267
 7. 8. 9. APÊ 1. A APÊ 1. E^x APÊ 1. Ex 	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS APÊNDICES ÊNDICE 1 Altura piezométrica de (F1) e (F2) nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 2 Evolução temporal da remoção de Cor Aparente nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 3 Evolução temporal da Cor Verdadeira nas 8 carreiras de filtração	237 240 258 258 258 266 266 267 267
 7. 8. 9. APÊ 1. E^x APÊ 1. Ex APÊ 	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS APÊNDICES ÊNDICE 1 Altura piezométrica de (F1) e (F2) nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 2 Evolução temporal da remoção de Cor Aparente nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 3 Evolução temporal da Cor Verdadeira nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 4	237 240 258 258 258 266 266 267 267 268
 7. 8. 9. APÊ 1. E^x APÊ 1. Ex APÊ 1. E^x APÊ 1. E^x 	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS APÊNDICES ÊNDICE 1 Altura piezométrica de (F1) e (F2) nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 2 Evolução temporal da remoção de Cor Aparente nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 3 Volução temporal da Cor Verdadeira nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 4 Evolução temporal das variações de pH nas 8 carreiras de filtração	237 240 258 258 258 266 266 267 267 268 268
7. 8. 9. APÊ 1. A APÊ 1. E ^v APÊ 1. E ^v APÊ	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS APÊNDICES ÊNDICE 1 Altura piezométrica de (F1) e (F2) nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 2 Evolução temporal da remoção de Cor Aparente nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 3 Evolução temporal da Cor Verdadeira nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 4 Evolução temporal das variações de pH nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 5	237 240 258 258 258 266 266 267 267 268 268 268 268
 7. 8. 9. APÊ 1. E^v 	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS APÊNDICES ÊNDICE 1 Altura piezométrica de (F1) e (F2) nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 2 Evolução temporal da remoção de Cor Aparente nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 3 Evolução temporal da Cor Verdadeira nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 4 Evolução temporal das variações de pH nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 5 Evolução temporal da condutividade elétrica nas 8 carreiras de filtração	237 240 258 258 258 266 266 267 267 268 268 268 269 269
 7. 8. 9. APÊ 1. E[*] 	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS APÊNDICES ÊNDICE 1 Altura piezométrica de (F1) e (F2) nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 2 Evolução temporal da remoção de Cor Aparente nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 3 Evolução temporal da Cor Verdadeira nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 4 Evolução temporal das variações de pH nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 5 Evolução temporal da condutividade elétrica nas 8 carreiras de filtração ÊNDICE 5	237 240 258 258 258 266 266 267 267 268 268 268 269 269 269 269 270
 7. 8. 9. APÊ 1. E^v 	CONCLUSÕES REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	237 240 258 258 258 266 266 267 267 268 268 268 269 269 269 269 270 270
 7. 8. 9. APÊ 1. E¹ APÊ 	CONCLUSÕES	237 240 258 258 258 266 266 267 267 268 268 268 269 269 269 270 270 271
7. 8. 9. APÊ 1. A APÊ 1. E ^v APÊ 1. E ^v APÊ 1. E ^v APÊ 1. E ^v APÊ 1. E ^v APÊ 1. E ^v	CONCLUSÕES	237 240 258 258 258 266 266 267 267 268 268 269 269 269 270 270 271 271

1. EVOLUÇÃO TEMPORAL DAS VARIAÇÕES DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO NAS 8 CARREIRAS DE FILTRAÇÃO.			
APÊNDICE 9			
1. ANÁLISES MICROSCÓPICAS QUANTITATIVAS PARA IDENTIFICAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS E			
BIOFILMES			
APÊNDICE 10			
1. MICRO-ORGANISMOS OBSERVADOS NA PRIMEIRA CARREIRA DE FILTRAÇÃO (MÊS 1)276			
2. MICRO-ORGANISMOS OBSERVADOS NA SEGUNDA CARREIRA DE FILTRAÇÃO (MÊS 2)			
3. MICRO-ORGANISMOS OBSERVADOS NA TERCEIRA CARREIRA DE FILTRAÇÃO (MÊS 3)290			
4. MICRO-ORGANISMOS OBSERVADOS NA QUARTA CARREIRA DE FILTRAÇÃO (MÊS 4)			
5. MICRO-ORGANISMOS OBSERVADOS NA QUINTA CARREIRA DE FILTRAÇÃO (MÊS 5)			
6. MICRO-ORGANISMOS OBSERVADOS NA SEXTA CARREIRA DE FILTRAÇÃO (MÊS 6)			
7. MICRO-ORGANISMOS OBSERVADOS NA SÉTIMA CARREIRA DE FILTRAÇÃO (MÊS 7)318			
8. MICRO-ORGANISMOS OBSERVADOS NA OITAVA CARREIRA DE FILTRAÇÃO (MÊS 8)			
9. MICRO-ORGANISMOS OBSERVADOS NAS MANGUEIRAS DAS CFXS (MÊS 8)			

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A água constitui componente fundamental na dinâmica da natureza, por ser imprescindível para a geração e manutenção de todas as formas de vida. Trata-se do recurso natural mais importante, participa e dinamiza todos os ciclos ecológicos (TUNDISI, 2003), além de ser de fundamental importância para diversos processos industriais.

Embora o planeta todo possua um ciclo hidrológico único, o volume de cada um de seus componentes varia em suas diferentes regiões e bacias hidrográficas (PIELOU, 1998), porém, parte das áreas úmidas do mundo tem sido destruídas no decorrer do último século em decorrência das transformações do meio ambiente promovidas por ações antrópicas.

O mundo todo está vivenciando um cenário de escassez de água ocasionado pelo mau uso, e de acordo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2014), a água tornou-se recurso escasso para um bilhão de habitantes no planeta. Tal ocorrência é habitualmente atribuída à combinação de indisponibilidade de reservas naturais de qualidade, além do crescimento demográfico. Os aspectos qualitativos desse valoroso recurso também são alvo de preocupação, ao considerar que a poluição do meio aquático ocasiona alterações de suas características físico-químicas e biológicas, que acabam por inviabilizar seu uso até mesmo para dessedentação humana.

Torna-se oportuno observar que essas interações que ocorrem entre os meios físico, biótico e socioeconômico definem com efetividade o ambiente no qual, a princípio, o meio físico condiciona as características dos meios socioeconômico e biótico, por meio de influxos de energia e matéria (BITAR, 1995). Nesse contexto, o panorama social e econômico, e características regionais diferenciadas, colocam o Brasil em condição distinta no que concerne ao acesso à água potável de qualidade. A despeito dessa afirmação, a Organização Mundial da Saúde alerta que no Brasil, aproximadamente 4 milhões de pessoas não tem acesso à água potável, dos quais 91% estão localizados na região rural.

Com profundas implicações do ponto de vista econômico, a má qualidade da água consumida é a maior responsável pelas doenças endêmicas nos países em desenvolvimento. No meio rural, o risco de ocorrência de surtos de doenças de veiculação hídrica se torna inda mais elevado, dado à possibilidade de contaminações bacterianas como *E. coli* e *Salmonella*. Como fator agravante, considera-se também as precárias condições de armazenamento, além de sua captação nas proximidades de fontes pontuais de contaminação como: áreas de pastagem, fossas ou rios e mananciais contaminados, condição esta, que exige muitas vezes o deslocamento de habitantes até regiões distantes na busca por água mais limpa e abundante.

Na região do semiárido do Brasil, por exemplo, os moradores de pequenas comunidades rurais são obrigados a percorrer grandes distâncias para terem acesso à água devido à escassez, não

obstante ao fato de, na maioria das vezes, tal recurso apresentar baixa qualidade. Muitas vezes, a água consumida apresenta níveis de cor e turbidez acima dos valores máximos recomendados por normas nacionais e internacionais, criadas com o intuito de estabelecer critérios, para adequação ao consumo humano seguro.

Além das opções de tecnologia de tratamento hoje disponíveis para adequação das características físico-químicas e biológicas da água, existe também a inexorável necessidade de avaliação da própria comunidade a ser beneficiada. A falta de condições sociais e econômicas impõe barreiras efetivas para a instalação de estações para tratamento de água, fazendo com que a busca por soluções a nível individual doméstico (*Point of Use –* POU) se torne opção disponível para comunidades localizadas em regiões isoladas do país, o que torna necessário o desenvolvimento e aprimoramento de tecnologias apropriadas à realidade local, aplicáveis diretamente no ponto de uso.

A Organização Mundial da Saúde reconhece o tratamento residencial de água POU como sendo uma intervenção que atende de forma imediata à necessidade de consumo humano, considerando tratar-se de alternativa de baixo custo e rápida implantação (WHO, 2007).

Dentro desse contexto, a filtração lenta representa tecnologia simples e economicamente favorável para tais comunidades. Os sistemas de filtração lenta aplicáveis para o tratamento de água diretamente no POU representam opção acessível para comunidades de baixa renda, podendo ser instalado em áreas rurais ou urbanas (KENNEDY et al., 2012).

Filtros lentos em areia (FLAs), ou filtros lentos domésticos (FLDs) constituem sistema simples, operado em pequena escala, e consiste em um compartimento fechado, dentro do qual, um leito de areia selecionada é acomodado sobre camadas de pedregulho, nesse leito, ocorre a degradação de contaminantes contidos na água bruta (KUBARE & HAARHOFF, 2010), com a viabilidade de operação em modo contínuo ou intermitente.

A construção dos FLDs pode ser concluída a partir de materiais de fácil acesso às comunidades remotas, tornando essa tecnologia um atrativo às populações de baixa renda e que não tem acesso à sistemas de tratamento e distribuição de água potável. Um programa conjunto de monitoramento da OMS e UNICEF, produziu dados sobre a avaliação global do abastecimento de água e saneamento e descreve como acesso razoável, a disponibilidade de pelo menos 20 litros por pessoa, por dia, a partir de fonte a um quilômetro de distância do usuário (OMS e UNICEF, 2000). Neste contexto, o presente trabalho baseia-se na tecnologia de filtração lenta domiciliar a partir de filtros de areia, para produção diária de 48 L de água para cada filtro.

Muitos pesquisadores têm se dedicado ao aperfeiçoamento desses sistemas de filtração lenta, ao considerarem que a melhor caracterização de processos que envolvem o meio físico em termos qualitativos ou quantitativos, deve ser tomada como um dos alicerces para o sucesso do próprio empreendimento. Melhorias foram implementadas no que se refere aos aspectos hidrodinâmicos, geométricos, rendimento e eficiência, entretanto, pouca acuidade tem sido dada à formação dos biofilmes que ocorrem no interior dos filtros e em suas diferentes camadas, além de sua importância e efetiva participação no funcionamento do sistema.

A operação dos filtros possibilitou a avaliação da formação de biofilmes em três setores internos de filtros operados em modo contínuo e intermitente, e da água clarificada, considerando a especificidade da biota existente em cada setor. Para tanto, foi aplicada a técnica de microscopia óptica comum e de contraste de fase para caracterização da biota de cada setor, além do acompanhamento diário de parâmetros físico-químicos de controle para qualidade da água potável.

Foi também aplicada a técnica de microssensores para estudos de biofilmes, para detecção de parâmetros químicos (oxigênio dissolvido e potencial de oxidação-redução), além do potencial de biorrespiração.

Quando comparados aos macrossensores, os microssensores apresentam vantagens relacionadas à sua estrutura miniaturizada, que se revelam como sendo de extrema importância para o contexto da presente pesquisa, podendo ser aplicado em agregados microbiados (biofilmes) em pequeno volume de amostra, com alta resolução espacial e sem que ocorram danos à estrutura do biofilme.

Além das vantagens que a miniaturização dos eletrodos revela, soma-se a alta velocidade de resposta, e baixa sensibilidade à agitação, bem como, a ausência do efeito da depleção de OD pelo próprio eletrodo, que é comum em macrossensores polarográficos. Essa facilidade também viabilizou a obtenção de análises do potencial de biorespiração de amostras de manta não tecida aplicadas aos FLDs, essenciais para a avaliação da intensidade da atividade microbiológica aeróbia no meio em questão.

Com a aplicação de microssensores foram obtidos microperfis unidimensionais de OD, nos quais são observados gradientes perpendiculares ao biofilme em estudo e sua fase líquida, conforme a modelação matemática proposta inicialmente por Wanner e Gujer (1986). Esse tipo de modelo consiste em ferramenta adequada quando se deseja descrever as conversões macroscópicas que ocorrem no interior dos biofilmes (GONZALEZ, 2009).

A importância desse estudo se relaciona ao melhor entendimento do funcionamento dos biofilmes que se formam nos filtros lentos em areia, sua efetiva participação no processo de purificação da água e influência no processo de colmatação dos filtros.

A presente pesquisa foi financiada pelo *Global Challenges Research Fund (GCRF) UK Research and Innovation (SAFEWATER; EPSRC Grant Reference EP/P032427/1)*, mediante convênio com a Universidade de São Paulo.

2. HIPÓTESES E OBJETIVOS

2.1 Hipótese

Hipótese: Nos FLDs, a formação de biofilmes a partir da colonização de micro-organismos que chegam ao leito filtrante dispersos no meio líquido, contribui efetivamente com o processo de purificação da água produzida pelos filtros lentos em areia operados em fluxo contínuo ou intermitente.

Premissa da Hipótese: O processo de purificação da água a partir do uso de filtração lenta em areia apresenta progressiva melhor eficiência de remoção no decorrer do tempo de operação, devido à maturação do meio filtrante, como resultado da colonização de micro-organismos formadores de biofilmes e retenção de partículas inertes suspensas.

2.2 Objetivo geral

• Investigar a formação de biofilmes na filtração lenta domiciliar e sua relação com a eficiência.

2.3 Objetivos específicos

- Avaliar a formação do biofilme desenvolvido em filtros lentos domiciliares empregando microssensores de oxigênio dissolvido e de POR para obtenção de microperfis, em conjunto com microscopia óptica e de contraste de fase.
- Avaliar a eficiência dos filtros operados em fluxo contínuo e intermitente, a partir de análises físico-químicas e microbiológicas, correlacionando-a à formação progressiva dos biofilmes durante o tempo de operação.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Abastecimento de água em comunidades rurais

Em comunidades desprovidas de sistemas de saneamento básico, a população vive em condições precárias de insalubridade e hábitos de higiene. Naturalmente, essa ocorrência faz com que essas regiões apresentem um quadro de extrema vulnerabilidade, favorecendo em muito a proliferação de doenças, sobretudo em regiões desprivilegiadas pela distribuição de recursos hídricos, conforme ilustra a Figura 3.1.



Figura 3.1 - Distribuição dos recursos hídricos do Brasil por região.

Fonte: Tomaz (2001).

Esse fato ocorre até mesmo em países com grandes reservas hídricas como o Brasil, e parte do problema se atribui à distribuição naturalmente irregular desse recurso, compondo um cenário típico, no qual as grandes metrópoles possuem sistemas de captação, tratamento e distribuição de água, enquanto o mesmo não ocorre no interior dos territórios. O Nordeste brasileiro, ainda tem sua situação agravada por suas características climáticas, e um histórico de secas severas.

Segundo o IBGE (2013), a região Nordeste do Brasil detém 18% do total da área correspondente às bacias hidrográficas em território brasileiro, e corresponde ao terceiro lugar entre as cinco Grandes Regiões brasileiras, logo depois das regiões Norte e Centro-Oeste. As diversidades dos regimes hidrológicos dos rios nordestinos provem das variações pluviométricas da região, da diversidade das características físicas (presença relativa de rochas cristalinas e sedimentares) e da configuração da rede hidrográfica, além de sua vegetação e morfologia, fatores esses; que contribuem efetivamente com a variabilidade da lâmina escoada anualmente.

Nesse prisma, devido à irregularidade na distribuição de recursos hídricos, o Brasil deixa de ser o primeiro, e passa a ser o vigésimo terceiro país do mundo, no qual aproximadamente 36% das moradias (aproximadamente 20 milhões de residências) não têm acesso à água tratada adequadamente, segundo dados do IBGE (2011).
Não bastasse a distribuição irregular dos recursos hídricos no Brasil, e os problemas socioeconômicos que progressivamente limitam o acesso da população à água tratada, ainda existem os efeitos inexoráveis das variações climáticas.

Habitualmente o critério para captação de água bruta no contexto de famílias ou comunidades que habitam regiões remotas que não dispõem de sistemas de abastecimento, passa por ponderações que envolvem 3 aspectos distintos: i) aspectos qualitativos; ii) aspectos quantitativos), e iii) aspectos logísticos. Há de se considerar a ocorrência de conflitos entre os 3 aspectos ponderados, quando ocorre a necessidade de busca por água por parte de comunidades remotas. Esses conflitos comumente têm como causa: variações climáticas, tempo disponível para coleta e condições de saúde, entre outros.

3.2 Doenças causadas por veiculação hídrica

Para grande parte da população mundial, a captação e armazenamento de água são essenciais, e fazem parte de sua rotina diária. Sobre essa relação (captação/armazenamento), é possível se obter ampla documentação relacionando-a à contaminação que pode conduzir às doenças, entretanto, junto às implicações referentes a captação e armazenamento, a água que é utilizada para dessedentação deve passar por tratamento adequado, para a eliminação de micro-organismos patogênicos.

A água quando desprovida de tratamento adequado para consumo humano, representa um dos principais veículos de micro-organismos e parasitas causadores de doenças, sendo caracterizada historicamente como efetivo elemento de risco à saúde da população que a consome. Entre os patógenos mais comuns, se destacam: *Salmonella* spp, *Escherichia coli, Shigella* spp, *Campylobacter* (FREITAS, 2002).

A hepatite A, é causada pelo vírus A da hepatite (HAV) do gênero *Hepatovirus*. Embora o conhecimento da doença exista desde as antigas civilizações grega, romana e chinesa, o primeiro relato escrito de sua incidência ocorreu na ilha de Minorca – Espanha, no século XVIII (COCKAYNE, 1912). O vírus transmissor pode ser encontrado na água de rios, lagos, mar etc. e no solo, alimentos, etc. com considerável resistência no ambiente, com infecciosidade podendo chegar a duas semanas (SOBSEY et al., 1988).

A infecção é transmitida por veiculação hídrica; fecal-oral; alimentos e disseminação pessoal. Condições precárias de saneamento e higiene favorecem infecções entéricas. O período de incubação da doença pode variar de 15 a 45 dias; a clínica é assintomática em 90% dos casos de

adultos e pode variar até a forma mais grave com letalidade inferior a 1% (HEYMANN, 2004). A infecção por hepatite A, assim como a diarreia, representam um indicador de precariedade nas condições sanitárias da população.

Evidências sugerem que os impactos das doenças transmitidas por veiculação hídrica como a diarreia, têm sido subestimados; sobretudo para populações carentes que não dispõem de recursos financeiros ou capacitação técnica, que viabilizem a melhor qualidade da água consumida (PETKOVIC et al., 2011).

A diarreia representa a principal causa de morbidez e mortalidade infantil. Em âmbito global, estimativas sugerem que a diarreia é responsável por mais de 1.6 milhões de mortes anualmente (WHO, 2006).

Kosek et al. (2003) relatam que a mortalidade ocasionada por diarreia diminuiu durante as últimas quatro décadas, contudo, um estudo sobre a incidência global da doença no mesmo período, sugere não ter ocorrido uma diminuição substancial na morbidez de adultos e crianças. A criança, no mundo em desenvolvimento experimenta 3 ou mais episódios de diarreias por ano, acarretando mais de 4 bilhões casos anualmente (STAUBER et al., 2006).

A contaminação também pode ser introduzida após a captação, ou até mesmo, após a aplicação de tratamento apropriado, a partir da presença de micro-organismos nos utensílios e reservatórios, devido à utilização recipientes de armazenamento e equipamento de coleta não higienizados, além da higiene pessoal. Como exemplo dessa ocorrência, em estudo efetuado em Honduras (região rural), investigadores documentaram maiores concentrações de *E. coli* em reservatórios domésticos de água, quando comparados a amostras coletadas diretamente na fonte (TREVETT et al., 2004).

Nesse sentido, a higiene pessoal ao se manipular reservatórios e sistemas de coleta também constitui fator de extrema importância na precaução da contaminação. Fatores relacionados ao armazenamento seguro aumentaram o interesse de pesquisadores sobre as formas de contaminação doméstica da água após a coleta, focados em compreender as práticas do gerenciamento doméstico de água potável no ponto de consumo (*point-of-use* – POU) e implementar melhorias que assegurem a qualidade da água.

Intervenções para melhoria da qualidade da água potável visando a redução da diarreia e outras doenças têm como objetivo primário a remoção de patógenos que ocorrem na água bruta. Tais patógenos incluem larga gama de micro-organismos (parasitas bactérias e vírus). A Tabela 3.1 apresenta uma lista de patógenos que são causa comum de doenças ocasionadas por veiculação hídrica.

Vírus	Bactérias	Parasitas
Adenovírus entéricos	Escherichia coli	Entamoeba hystolitica
Enterovírus	Salmonella spp.	Giardia intestinalis
Rotavírus	Shigella spp.	Cryptosporidium (spp.)
Calicivírus	Vibrio cholera	
Astrovírus	Campylobacter spp.	
Hepatite A/E	Yersinia enterocolytica	
	Clostridium difficile	

Tabela 3.1 - Causas infecciosas da diarreia.

Fonte: adaptado de Dennehy, (2005); Maier et al., (2000).

A ocorrência de diarreia está vinculada a uma variedade de fatores. Como exemplo, nos Estados Unidos da América, os vírus (não especificamente por veiculação hídrica), são a causa mais comum da diarreia. Para países menos desenvolvidos Dennehy (2005) relata que parasitas, bactérias e vírus representam significante ameaça para saúde e risco de doença de diarreia. Eisenberg et al. (2006) documentaram casos de diarreia como resultado de todas as três classes de patógenos: *E. coli*, Rotavirus e *Giárdia*.

Além da presença de micro-organismos responsáveis pela transmissão de doenças por veiculação hídrica, existem também compostos químicos sintéticos ou naturais e seus metabolitos (compostos orgânicos, intermediários ou finais em processos de metabolismo). Esses compostos oferecem potencial de alterar o funcionamento normal dos sistemas endócrinos, e passaram a ser identificados como interferentes, desreguladores, perturbadores ou disruptores endócrinos. São definidos como "substâncias puras ou agregados de substâncias exógenas que alteram as funções de sistemas endócrinos, causando efeitos adversos na saúde de organismos sadios, de seus descendentes, ou subpopulações" (WHO, IPCS, ILO, UNDP, 2002). O 17α-etinilestradiol constitui um dos mais importantes disruptores endócrinos sintéticos, sendo o principal componente estrogênico utilizado na fabricação de pílulas anticoncepcionais (HESPANHOL, 2012).

Recentemente, nanomateriais ou nanopartículas (dispersão de partículas ou partículas sólidas com tamanhos entre 1 e 100 nanômetros) que apresentam propriedades diferentes daquelas apresentadas pelos mesmos materiais em dimensões habituais, passaram a constituir os poluentes emergentes com potencial para causar perturbações degenerativas sobre a saúde humana (HUSSAIN et al., 2009).

O tópico "sistemas de filtração POU" tem sido revisado e pesquisas revelam seu valoroso impacto na prevenção da diarreia, e outras doenças de veiculação hídrica, de maneira a mudar os paradigmas dominantes sobre intervenções na água, higiene e saneamento (CLASEN et al., 2006).

3.3 Tecnologias de tratamento de água

Os sistemas aplicados ao tratamento de água para abastecimento seguem a norma vigente de potabilidade da água para consumo humano do Ministério da Saúde (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017), (Portaria de Consolidação nº 5 de 2017) e dispõe sobre o padrão de potabilidade e os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano.

De maneira geral, as técnicas aplicáveis para tratamento de água são divididas em três grupos: i) sistemas com filtração rápida; ii) sistemas com filtração lenta, e iii) sistemas com tratamentos avançados. A rigor, qualquer água, sob o ponto de vista técnico, é passível de ser tratada, entretanto, o custo do tratamento, aliado ao risco sanitário podem inviabilizar seu tratamento

Independente da fonte de contaminação seja ela natural ou antrópica, a reversão desses processos de degradação com o intuito de devolver à água características de potabilidade condizentes com a necessidade humana, constitui um desafio desde épocas mais remotas, e tem conduzido o homem em sua busca pela implantação de sistemas adequados para purificação da água.

Nos primórdios da utilização dos sistemas de filtração, as maiores preocupações em relação à purificação da água estavam relacionadas a seus aspectos estéticos, desconsiderando a caracterização química e microbiológica como fatores preponderantes na prevenção de doenças, sendo que, muitas delas, nem mesmo eram reconhecidas como sendo transmitidas por veiculação hídrica. No início do século XIX, as preocupações com o aspecto estético como indicador de qualidade da água, foram suplementadas perante os avanços da tecnologia de filtração (MARNOTO, 2008).

A implantação mundial de sistemas para tratamento e distribuição de água durante o século XX, resultou em expressiva redução na incidência das doenças ocasionadas por veiculação hídrica. Como exemplo, no início do século XX, as maiores causas de doenças ocasionadas por veiculação hídrica nos Estados Unidos da América eram reconhecidamente a cólera e tifoide (patógenos bacterianos). Durante o período de 1920 a 1941, mais de 80.000 casos de febre tifoide foram relatados, porém; desde 1971, apenas 282 casos foram reportados – essa redução no número de casos se atribui a implantação de melhorias nos sistemas de purificação e distribuição de água potável (CRAUN et al., 2006).

Sistemas para tratamento de água potável, habitualmente apresentam capacidade variável no que tange à remoção das três principais classes de micro-organismos; sistemas típicos apresentam capacidade de redução bacteriana entre 5 log e 6 log, mas são menos eficientes na remoção de vírus e parasitas. Um exemplo típico da variabilidade na eficiência de remoção dos sistemas de tratamento foi relatado por Payment et al. (1985) em sua avaliação sobre a remoção de vírus e bactérias em vários estágios de estações de tratamento de água no Canadá, na ocasião, foi observado que 7% das amostras testadas apresentaram coliformes termotolerantes.

Para filtros lentos domiciliares muitos estudos têm reportado o desempenho de efetiva e atuação na redução de bactérias, vírus e turbidez de água potável. A remoção de bactérias tem sido reportada em até 2 log, dependendo das condições operacionais e de amadurecimento da biota ativa no filtro (BAUMGARTNER et al., 2007). Segundo Murtha e Heller (2003), os filtros lentos removem de 2 a 3 log de *Escherichia coli* e coliformes totais (Tabela 3.2).

Parâmetro	Remoção	
Escherichia coli	2log a 3log	
Cor verdadeira	28% a 41%	
Cor aparente	45% para cor de até 30 uH	
Turbidez do efluente	< 2uT	
Coliformes totais	2log a 3log	

Tabela 3. 2 - Avaliação da eficiência filtros lentos em areia.

Fonte: Murtha e Heller (2003).

Conforme referenciado por Manz (2007), o filtro lento domiciliar (FLD) também conhecido como *Biosand Filter* (BSF), ou biofiltro de areia, é capaz de remover 100% dos parasitas contidos na água se o biofilme estiver plenamente desenvolvido. Nessa condição, esses filtros são capazes de proporcionar a remoção de até 2 log de vírus e bactérias, colaborando efetivamente para a diminuição da incidência de diarreia, além de outras doenças ocasionadas por veiculação hídrica.

A eficiência do FLD na remoção de bactérias e matéria orgânica biodegradável (*biodegradable organic matter* – BOM), aliada ao seu baixo custo e simplicidade, naturalmente conduziu esse tipo de sistema de tratamento a ser o mais indicado para pequenas comunidades, ou regiões remotas, as quais habitualmente não são atendidas por sistemas de tratamento e distribuição de água potável.

A filtração oferece maior eficiência na remoção de micro-organismos como protozoários e ovos helmintos. Filtros em areia (anaeróbios) para tratamento de águas subterrâneas também são empregados com sucesso na remoção de sulfato, Fe e Nitrato de fontes subterrâneas simuladas, porém, as concentrações de arsênico do efluente continuaram acima das indicações estabelecidas pela WHO (2008) para água potável, conforme consta nos trabalhos de Kathryn et al. (2016).

A filtração pode ser aplicada no tratamento de grande número de contaminantes orgânicos e inorgânicos, em águas superficiais ou subterrâneas (LAUDERDALE, 2011), em diferentes configurações, aplicáveis ao tratamento biológico de água potável (RITTMANN & McCARTY, 2001). Porém, um pequeno número de tecnologias de tratamento biológico é operado a partir do método de crescimento suspenso, no qual ocorre a flotação livre das bactérias e micro-organismos hidraulicamente mantidos dentro de um reator. Brown (2007) descreve alguns dos sistemas operados a partir de biofilmes: i) sistemas de biofilmes de leito fixo; ii) sistemas de biofilmes de leito fluidificado, e iii) reatores de membrana do tipo *hollow-fiber*.

3.4 Histórico sobre filtração lenta

Apesar da aparente simplicidade de sua definição devido à sua comum ocorrência no mundo contemporâneo, o termo filtro tem etimologia derivada do latim *philtru* e do grego *phíltron*, e entende-se por filtro um dispositivo que seleciona o que passa por ele, permitindo a passagem apenas do produto designado filtrado.

A inexorável aplicabilidade dos filtros na atualidade sobrepõe em muito o imaginável. Estão presentes em automóveis, aviões, motores, máquinas agrícolas, indústrias alimentícias e farmacêuticas, além de incontável número de procedimentos laboratoriais e medicinais. Acrescentase a esta ampla lista, sua aplicação mais antiga e mais importante: purificar a água para o consumo humano.

A busca por sua melhor eficiência precede há 2.000 anos a.C, época em que ocorreram as primeiras experiências desenvolvidas para deixar a água mais limpa e agradável ao paladar. Passou então a constar na lista de elementos necessários à sobrevivência e desde que, como resultado, atribuísse sabor e aspecto agradáveis à água. No passado as pessoas não associavam seu consumo à ocorrência de muitas doenças (PINHEIRO, 2015).

Vários métodos de purificação foram iniciados pelo egípcio Imhotep (2655 – 2600 a.C.), o primeiro homem na história a buscar aprofundamento dos conhecimentos sobre a medicina. Diversos métodos foram desenvolvidos, desde a fervura da água, ou sua colocação em recipientes de metal quente, até a filtragem na areia e carvão bruto (PINHEIRO, 2015).

Apenas séculos mais tarde, Hipócrates (460 - 370 a.C), o famoso "pai da medicina", iniciou seus estudos para purificação da água, criando seu próprio purificador com o intuito de cuidar de seus pacientes com água mais limpa. Tal criação ficou conhecida como "luva de Hipócrates", e era constituído por um saco de tecido, através do qual, a água era filtrada, de maneira a reter os sedimentos presentes (PINHEIRO, 2015).

Provavelmente, o primeiro uso comercial reconhecido de filtração para tratamento de água ocorreu em 1804 em Paisley-Escócia. Naquela ocasião, o sistema de tratamento poderia remover "turvação" e organismos de patógenos e consistia em um filtro de areia lento experimental, projetado e construído por John Giba. A água produzida pelos filtros foi vendida ao público a um *halfpenny* por galão. A ajuda de colaboradores trouxe melhorias aos detalhes práticos do sistema, e em 1829 o método foi inicialmente adotado para fornecimento público; ocasião em que James Simpson construiu uma instalação para tratamento de água – *Chelsea Water Company* – *London*. Em 1952 a prática da filtração se estabeleceu, e suas vantagens se tornaram mais evidentes. Nessa trajetória, a *Metropolis Water Act* em Londres passou a requerer que toda a água proveniente do rio Thames localizado a 5 milhas de distância da catedral de St. Paul passasse a ser filtrada antes de ser distribuída à população (HUISMAN & WOOD, 1974)

Os filtros lentos em areia de John Giba não foram apenas o primeiro sistema de tratamento de água municipal efetivo. Eles também eram, provavelmente, o primeiro exemplo de tratamento biológico da água, mesmo que, provavelmente, naquela época a maior atribuição dada ao êxito do sistema foi atestada apenas com base nas ações físicas da filtração, sem considerar o envolvimento biológico ativo presente naquele intento. O sistema obteve sucesso no que diz respeito à melhoria estética da água e, consequentemente, da melhoria da saúde pública, e induziu as metrópoles ao uso dos filtros lentos em areia pela Europa e Estados Unidos no início do século XIX (HUISMAN & WOOD, 1974).

No final do século XX a população mundial duplicou. Em contrapartida, o consumo de água quadruplicou. Além, desses números, é estimado que esse consumo aumente cerca de 35% no decorrer das duas primeiras décadas do século XXI (OECD, 2001).

Caso essa taxa de aumento no consumo de água se mantenha até 2025, o consumo de água será igual às reservas de água doce aproveitáveis, de maneira que, os oito bilhões de pessoas consumirão mais água que o volume de água doce que a natureza disponibiliza (IHT, 1997). Nesse sentido, além da falta de água, a demanda por sistemas de tratamento adequados também poderá ser um problema.

No decorrer do tempo, o sistema de filtração lenta em areia demonstrou ser capaz de proporcionar grande eficiência, por permitir que parâmetros físico-químicos e microbiológicos da

água tratada sejam adequados a padrões aceitáveis para o consumo humano; aliado a isso, sua simplicidade operacional, eficiência e redução da utilização de produtos químicos para desinfecção o coloca em posição de destaque, sobretudo quando aplicado em regiões remotas para atendimento de populações carentes.

No entanto, a despeito de sua atratividade, os dispositivos POU não são apropriados para situações universais e vários aspectos devem ser considerados, como: i) simplicidade de uso; ii) custo; iii) volume tratado; iv) sustentabilidade local; v) aceitabilidade cultural, e vi) eficiência do tratamento (ELLIOTT *et al.*, 2008).

Foi estimada a instalação de mais de 300.000 de FLDs de areia em mais de 69 países até junho de 2011, distribuídos mundialmente por Organizações sem fins lucrativos (CAWST, 2012; KENNEDY et al., 2012; BERBERT, 2016).

3.4.1 Fundamentação básica da filtração lenta domiciliar

A filtração lenta em areia não pode ser apenas considerada pela ação mecânica de coar que naturalmente ocorre quando a água que passa entre os poros de determinado material. A ação física constitui apenas parte do processo da filtração e o resultado final é consequência de uma série de fenômenos simultâneos que podem ser classificados como ações físicas, químicas, biológicas e bioquímicas (MARNOTO, 2008).

Fundamentalmente, os filtros lentos em areia possuem ação superficial. São compostos por uma estrutura contendo um leito filtrante, habitualmente formado por uma ou mais camadas de material granular (areia, pedras ou carvão), adequadamente sobrepostos a um sistema de drenagem. A alimentação dos filtros é feita pela parte superior, e o diferencial de pressão necessário para que ocorra a passagem da água pelo elemento filtrante (areia) ocorre em fluxo descendente de forma lenta.

O processo de remoção ocorre mediante a passagem da água pelo elemento filtrante, e no decorrer dessa passagem, as impurezas contidas na água bruta inicialmente entram em contato com a superfície do leito de areia depositado na camada superficial do filtro, na qual, com o decorrer do tempo de operação, se forma a camada biológica (aderida às partículas de areia que compõem o filtro), também conhecido como *schmutzdecke*, zoogloea, biofilme, ou, a partir de um senso mais simplificado, também conhecido como torta. O biofilme constitui o elemento ativo nos filtros, responsável pela remoção de patógenos e contaminantes da água, e sua formação ocorre de forma espontânea no decorrer de período que pode variar de dias a meses (HUISMAN & WOOD, 1974).

A variação temporal na formação dos biofilmes no interior dos filtros lentos de areia depende essencialmente de características físico-químicas e microbiológicas do afluente. Os biofilmes são parte da fundamentação básica do funcionamento da filtração lenta, e dado a sua importância, e direta relação com o desenvolvimento desta pesquisa, serão abordados aspectos relacionados a sua formação, estrutura, atividade e relação com a eficiência de remoção dos FLDs.

Os filtros lentos de areia, submetem o material granular do meio filtrante a cumprir dupla função, ou seja, a areia não cumpre apenas a função mecânica de filtragem, mas também funciona como estrutura suporte para biocrescimento, de maneira a sustentar a formação dos biofilmes aderidos. Existem várias configurações descritas, porém, tipicamente são usadas duas camadas com areia e uma terceira camada base constituída por antracito ou pedregulho. A utilização de carvão ativado acrescenta custos ao projeto, mas também acrescenta capacidade de adsorção e características de fluidização (NAJM et al., 2005).

Muitas investigações têm levado a comparações entre materiais suporte não adsorsivas (areia e antracito), ou adsorsivas (carvão ativado) para avaliação da melhor eficiência na remoção biológica de BOM (WANG et al., 1995; 1992; PRÉVOST et al., 1995).

Independentemente do tipo de material utilizado, a melhor degradação da BOM deve ser equilibrada com o desempenho hidráulico do filtro, e considerado o tamanho do material suporte que também afetará a área superficial disponível e o TDH. O GAC, por exemplo, abriga de três a oito vezes mais biomassa quando comparado ao antracito, devido à maior área de superfície disponível para aderência microbiana (WANG et al., 1995).

Nos estudos de Urfer et al. (1997), foram feitas revisões de diferentes trabalhos científicos, e a conclusão foi que na comparação entre filtros construídos com antracito e areia, o resultado médio do desempenho foi muito parecido, no que concerne à remoção da matéria orgânica biodegradável.

A seleção de tamanho também representa importante característica do material suporte, no que concerne a suas propriedades para a atividade dos micro-organismos. A área superficial dos grãos de areia é de extrema importância para a fixação do biofilme, e tem profundas implicações na melhoria da degradação da matéria orgânica biodegradável (ZHANG & HUCK, 1996b). Materiais suporte maiores naturalmente permitem maior velocidade ao fluxo hidráulico, e essa energia pode influenciar negativamente na formação dos biofilmes, que podem ter sua estrutura comprometida por tensões de cisalhamento.

Segundo Liu (2001), revela que em filtros para purificação de água, a formação de biofilmes usualmente se dividem em dois estágios: i) período de desenvolvimento de uma biomassa inicial, e ii) período de estabilidade dinâmica (em uso), no qual a biomassa ativa participa efetivamente no processo de purificação em meio a um comportamento coordenado. Entretanto, pode-se acrescentar a esse ciclo um terceiro estágio, que seria: a perda da estabilidade dinâmica, ocasionada pela queda da produção em decorrência da colmatação dos filtros, como resultado da proliferação dos biofilmes.

Após a aderência e o início da colonização de micro-organismos sobre o material suporte, tem início a produção das substancias polimérica extracelulares (EPSs), que constituem a principal força de aderência que ocorre nos biofilmes, devido à presença de substância lodosa produzida pelos micro-organismos em atividade. Durante o período de maturação de filtros de areia, a BOM e sedimentos em livre suspenção presentes na água bruta são depositados sobre o leito arenoso, impulsionados pelo fluxo hidráulico ou por sedimentação natural, se tornando o habitat para microorganismos e bactérias formadoras do biofilme.

Nos filtros de areia, o biofilme aeróbio forma ramificações viscoso sobre os grãos de areia, principalmente sobre o leito arenoso, devido a maior disponibilidade de OD e maior aporte nutricional provenientes da água bruta. Essas formações gelatinosas promovem a aderência de partículas em suspensão presentes no meio liquido, retendo partículas biodegradáveis suspensas da água bruta até que sejam reduzidos por processo microbiológico. Entretanto, o acúmulo dos biofilmes progressivamente impõe barreira ao fluxo de água, necessitando periodicamente ser removido por limpeza mecânica ou retrolavagem.

Apesar da necessidade de limpeza ser mais evidente na camada de biofilme que se forma na superfície dos filtros, as demais camadas inferiores apresentam diminuição da condutividade hidráulica no decorrer do tempo de operação (YOUNG-ROJANSCHI & MADRAMOOTOO, 2014).

3.5 Estrutura e modalidades de filtros lentos de areia

O procedimento utilizado para funcionamento do filtro lento doméstico (FLD) é muito parecido aos filtros lentos convencionais, entretanto, a filtração lenta dirigida para uso coletivo apresenta maior complexidade e custo (MANZ, 2007; SHIGEOKA, 2016). Os FLD representam solução prática e viável para populações não dispõem de serviço público de água potável.

A organização CAWST (*Center for Affordable Water and Sanitation Technology*) tem se dedicado ao treinamento técnico e consultoria para fornecimento de água e saneamento básico a populações carentes. CAWST (2009) descreve a construção de um FLD, iniciando pela obtenção de um container como compartimento externo (estrutura) do filtro em escala domiciliar. A organização recomenda a utilização de recipiente feito em concreto, plástico ou qualquer material que seja impermeável, atóxico e que tenha alta resistência à oxidação. Dentro do recipiente é depositado (a partir da camada inferior) cascalho grosso (pedregulho), areia média e, então, areia fina, todos lavados e peneirados.

CAWST (2009) salienta que o nível d'água deve ser mantido no mínimo 5,0 cm acima da camada de areia fina e a água coletada na saída do filtro proposto deve ser desinfetada com cloro, além de ser armazenada em recipiente higiênico e em locais adequados.

A estrutura simplificada dos filtros FLDs permite sua construção com matéria prima diversificada, como: tubos de PVC, reservatórios plásticos ou concreto.

O FLD desenvolvido por CAWST é mostrado na Figura 3.2.





O filtro difundido por CAWST (2010) foi projetado de maneira a atender a demanda de uma residência. O fluxo intermitente de operação é obtido por meio de uma modificação feita na abertura de saída do filtro, na forma de sifão invertido, com o intuito de se manter um nível mínimo d'água constante no interior do filtro.

Em uma proposta simplificada, Freitas (2017) indica a construção de filtros de areia com base na aplicação de materiais de fácil obtenção. Nessa concepção, o autor descreve a construção a partir de tubos habitualmente aplicados em construção civil. A ideia central foi o estudo de filtros lentos de baixo custo construtivo, para tratamento de águas com risco microbiológico, como proposta para comunidades isoladas. O filtro é ilustrado na Figura 3.3.

Figura 3.3 - Estrutura do filtro lento em areia em escala domiciliar proposto por Freitas (2017).

Fonte: Freitas (2017).

3.5.1 Diferenças na produção de FLDs em modo contínuo e intermitente

O regime de operação intermitente ou contínuo basicamente se aplica ao mesmo tipo de filtro, e essa diversidade operacional se restringe apenas a forma de alimentação dos FLDs.

A operação dos filtros de modo intermitente e contínuo foi descrita por Young-Rojanschi e Madramootoo (2014), que compararam os dois tipos de filtros em operação. Para ambos os filtros foi feita alimentação de 2 L de água por dia, durante o período de 60 dias. Os autores concluíram que houve maior eficiência nos filtros operados continuamente para remoção das variáveis analisadas: *E. coli*, MS2 (Bacteriófago que infecta *E. coli* e outros membros do *Enterobacteriaceae*) e turbidez.

A operação dos filtros de areia no modo intermitente é simplificada e demanda apenas o abastecimento do sistema na medida em que seja necessário, e esse procedimento é feito pelo topo do filtro. Para manutenção da bioatividade do filtro é recomendado seu abastecimento pelo menos duas vezes ao dia com cerca de 20 litros de água, dependendo do volume de vazios intergranulares do leito (AHAMMED & DAVRA, 2011). A taxa de filtração obtida pelo sistema pode chegar a 9,6 m^3/m^2 .d, conforme descreve o manual de CAWST (2009).

A configuração do FLD em fluxo intermitente reduz a dependência de energia elétrica para alimentação, facilitando a construção e manutenção em comunidades isoladas, porém, essa modalidade de operação dos filtros provoca variações diárias podendo ser prejudicial à atividade biológica interna. Evidentemente, essas observações se referem exclusivamente a instalações de pequenas dimensões (domiciliares).

Quando a opção de operação for do modo contínuo, a alimentação pode ser feita por bombeamento diretamente para o filtro, ou por gravidade. Ainda que a operação em modo contínuo não coloque em risco a atividade biológica por não impor variações drásticas no nível d'água, o FLD em fluxo contínuo requer maior espaço na residência e apresenta maior complexidade operacional aos usuários. Essas desvantagens podem inviabilizar a transferência da tecnologia em comunidades isoladas e com escassez de recursos (FREITAS, 2017).

A operação no modo contínuo habitualmente é facilitada com a incorporação de dispositivo (válvula tipo boia) para controle efetivo do nível d'água no interior do filtro. Essa implementação não é onerosa e confere segurança ao sistema de filtração (FREITAS, 2017; MACIEL & SABOGAL-PAZ, 2018).

3.6 Aspectos operacionais dos FLDs

3.6.1 Adaptação de micro-organismos nos FLDs

Uma consideração importante que envolve qualquer processo biológico é o tempo necessário para se alcançar a efetiva estabilidade na atividade microbiológica, que varia dependendo de fatores físico-químicos, biológicos e operacionais do sistema. Essa preocupação diz respeito não apenas ao período inicial de operação (*start-up*), mas também se reflete após determinado tempo de parada do processo em questão (por questões operacionais), no qual pode ocorrer acúmulo significativo de compostos orgânicos, além do comprometimento da biota ativa. Segundo Liu et al. (2001) são requeridos de 20 a 40 dias em temperatura de 20 °C para se alcançar a estabilidade em FLD, favorecendo a remoção da matéria orgânica biodegradável. Esse período necessário para se alcançar a estabilidade operacional, habitualmente recebe o nome de "aclimatação" ou "amadurecimento".

Testes efetuados por Ahammed e Davra (2011) por meio de experimentos laboratoriais, concluíram que o FLD apresentou baixa eficiência na remoção de bactérias durante o período de maturação. Elliott et al. (2008), observaram que após a limpeza dos filtros, o desempenho fica prejudicado e esse efeito persiste nos filtros por pedido de 4 a 6 semanas seguintes. Tais resultados levaram a questionamentos sobre a garantia de água segura fornecida a usuários de FLD, antes do período de amadurecendo, e também depois de sua limpeza, principalmente em casos nos quais não haja pós-tratamento.

Não é indicada a utilização do cloro como pré-tratamento, pois pode diminuir o tempo de adaptação e aumenta a robustez do biofilme ativo. Essa contraindicação se torna ainda mais relevante quando necessária a operação em ambientes com baixa temperatura nos quais, em alguns casos, a aclimatação pode levar vários meses (WESTERHOFF et al., 2005).

Outro método utilizado para acelerar o amadurecimento, consiste na inoculação de filtros a partir de material biológico, ou biomassa solúvel que esteja estabilizada em outros filtros em operação, dessa maneira, pode-se obter a redução do tempo da ativação da atividade biológica propiciando a ocorrência de rápida colonização microbiológica (WESTERHOFF et al., 2005; CHAN et al., 2018). Kalyl et al. (2020) revelam que a adição de comida para peixes no afluente contribuiu com a formação da comunidade biológica no leito arenoso e na manta não tecida, sugerindo que a adição de nutrientes é um potencial agente para o amadurecimento dos FLDs.

A adição de nutrientes também tem o potencial de diminuição do tempo de estabilização biológico, por aumentar a taxa de crescimento celular (HOZALSKI & BOUWER, 2001; LAUDERDALE & BROWN, 2007). Minimizar o tempo de parada para manutenção dos filtros se torna importante para manutenção da atividade biológica (VOKES, 2007), essa afirmação se

fundamenta em vários aspectos: i) aspectos nutricionais; ii) fornecimento de OD para a biota aeróbia ativa, e iii) a necessária hidratação para sustentação dos biofilmes.

A biota ativa no interior de filtros lentos em areia pode ser muito vasta. Além das bactérias heterotróficas e do grupo coliforme, outros tipos de micro-organismos são habitualmente encontrados na água, principalmente em amostras que não passaram por efetivo processo de tratamento adequado.

A despeito de seu diminuto tamanho como indivíduos, o grupo microbiano das bactérias contribui tanto na degradação e remineralização de material orgânico dissolvido na água (Bernhard et al. 2005), quanto no sustento da biomassa no universo (Horner-Devine et al. 2003), portanto, constituem importante agente no processo de purificação da água.

A maioria das bactérias patogênicas é heterotrófica e são capazes de transformar em energia detritos orgânicos e uma variedade de substratos de carbono incluindo aminoácidos, lipídios, glicolipídios e carboidratos (RECHE et al., 2010).

A estrutura e dinâmica das comunidades de bactérias heterotróficas são intensamente influenciadas por elementos, como disponibilidade de alimento e temperatura (COMTE et al. 2006). Carbono orgânico dissolvido (COD) liberado por organismos aquáticos e predação podem ser fatores limitantes da abundância e produção bacteriana (THOMAZ, 1999).

O processo de purificação por meio da atividade bacteriana ocorre geralmente pela oxidação química e microbiológica dos agentes contaminantes. As bactérias originárias do processo de purificação, habitualmente chegam até os filtros por meio da água bruta de entrada, habitam o interior do filtro lento usando o material contido no afluente como alimento. Nessa etapa, o metabolismo (dissimilação) e assimilação constituem a forma como as bactérias oxidam parte do alimento a fim de obter a energia necessária para seu metabolismo, no qual, parte dessa energia é destinada para seu crescimento e reprodução (KIKKAWA, 2008).

As bactérias são altamente populosas na parte superficial dos filtros de areia, de maneira que, a maior parte da matéria orgânica biodegradável (*biodegradable organic matter* – BOM) disponível na água bruta é consumida nessa região, e consequentemente; nessa região se observa a maior formação da (*extracellular polimeric substances* – EPS). A disponibilidade de alimento, entre outros fatores, equaliza a população bacteriana, reduzindo sua quantidade durante a falta de nutrientes disponíveis no afluente.

Nessa ocorrência, as bactérias mortas servem de alimento para bactérias que vivem em regiões mais profundas do filtro. Micro-organismos e outras matérias orgânicas são gradualmente quebrados e convertidos na água como, dióxido de carbono, e sais inorgânicos como sulfatos, nitratos e fosfatos, e finalmente, deixam o filtro com o efluente (KIKKAWA, 2008).

Amebas tecadas (tecamebas) são protozoários que apresentam uma carapaça amarelada devido à precipitação de compostos de ferro em sua superfície (EIKELBOOM, 2000). Esses microorganismos indicam condições de nitrificação quando a concentração de matéria orgânica é baixa – DBO₅ menor que 20 mgL⁻¹ (EIKELBOOM, 2000).

Entre o grupo sem teca estão as amebas como a *Amoeba proteus*, encontrada em corpos de água permanentes e também a ameba causadora da disenteria, *Entamoeba hystolitica*, cujos cistos podem passar das fezes humanas e contaminar as águas doces, infectando outras pessoas através da água de consumo (ROCHA, 2003).

Protozoários também fazem parte do processo. A classe Sarcodina inclui amebas nuas e amebas tecadas (que secretam uma carapaça, ou a constroem utilizando partículas minerais). Entre o grupo sem teca estão as amebas como a *Amoeba proteus*, encontrada em corpos de água permanentes e também a ameba causadora da disenteria, *Entamoeba hystolitica*, cujos cistos podem passar das fezes humanas e contaminar as águas doces, infectando outras pessoas através da água de consumo (ROCHA 2003). Os fungos apresentam grande diversidade e são amplamente difundidos em diferentes ambientes. Possuem grande importância na decomposição de material vegetal de origem terrestre que cai na água, influindo de maneira decisiva no transporte de materiais entre o meio terrestre e o meio aquático (ROCHA, 2003).

Os fungos e as bactérias são os micro-organismos responsáveis por vários ciclos biogeoquímicos, entre eles, o ciclo do carbono, no qual devolvem ao ambiente, em período de tempo reduzido, o carbono incorporado às substâncias orgânicas dos seres vivos que pereceram (LARSEN, 2004).

Hifas de fungos compreendem um grupo variado de organismos heterotróficos. Muitos são saprófitos que digerem matéria orgânica morta e dejetos orgânicos. São essenciais na decomposição de ligninas e de outros compostos derivados da madeira (BLACK, 2008). Crescem em condições específicas, como: baixo pH, toxicidade e em meio com deficiência de nitrogênio (BITTON, 2005).

Os ciliados são amplamente distribuídos e utilizados como indicadores de qualidade de água, sendo também utilizados para clarificação de água em unidades de tratamento de esgoto (BRUSCA & BRUSCA, 2007). Ciliados são protozoários redondos ou ovalados (20 a 400 µm), ativamente móveis por meio de batimento ciliar, sendo que, alguns possuem agrupamentos de cílios (cirros) que os fazem rastejar por entre as partículas floculares. Em particular, os ciliados representam papel importante na cadeia alimentar de águas doces, sua herbívora sobre bactérias e flagelados, sendo responsável pela transferência de energia em uma cadeia alimentar alternativa, a alça (*loop*) microbiana; têm também importante papel no tratamento de esgotos, produzindo efluentes limpos (ROCHA, 2003).

Esses micro-organismos se alimentam de material particulado, fragmentos de matéria orgânica, bacterial ou, de outros protozoários menores, como flagelados (EIKELBOOM, 2000). Podem viver em concentrações baixas de oxigênio dissolvido, podendo também ser indicadores de toxicidade (JENKINS et al., 2004), ou de ambientes eutrofizados (PELD, 2007)

As águas com acúmulo de matéria orgânica podem conter grandes populações de bactérias das quais os protozoários se alimentam. Por isso os protozoários provavelmente desempenham função importante na despoluição de ecossistemas naturais (CURDS, 1992).

Durante muito tempo deu-se maior importância aos protozoários parasitas negligenciandose as espécies de vida livre. Hoje sabe-se que os protozoários de vida livre desempenham papel fundamental nas cadeias tróficas de ambientes naturais, nos processos de autopurificação em estações de tratamento de água e de dejetos de esgoto, assim como indicadores biológicos de qualidade de água (ROCHA, 2003).

Protozoários podem adotar a forma de cistos quando o ambiente se torna desfavorável para a sobrevivência. Na forma cística, arredondada o protozoário diminui de volume, perde organelas e forma uma estrutura arredondada resistente. Quando os fatores ambientais, como exemplo, pH, salinidade, temperatura, oxigênio dissolvido e nutrientes se tornam mais favoráveis, o microorganismo passa para a forma ativa. São micro-organismos pequenos (5 a 20 µm) com formas ovais ou alongadas. São ativamente móveis pela ação de um ou mais flagelos. Algumas espécies alimentam-se de material particulado, como células bacterianas, entretanto, a maioria das espécies absorvem os nutrientes dissolvidos, matéria orgânica solúvel, por meio da parede celular (EIKELBOOM, 2000; JENKINS et al., 2004). Portanto, sua presença pode indicar um acumulo das concentrações de DBO solúvel. Nesse sentido, como fator positivo, a presença de protozoários nos FLDs favorece a degradação da matéria orgânica biodegradável.

A ocorrência pode estar ligada ao aumento de turbidez que, por sua vez, pode estar associada ao aumento das concentrações de matéria orgânica biodegradável. Muitos deles indicam baixas concentrações de oxigênio dissolvido (OD) e elevada carga orgânica disponível (JENKINS et al., 2004). Frequentemente a presença de flagelados é associada à matéria em decomposição e são utilizados como indicadores de ambientes eutrofizados (PELD, 2007).

Rotíferos possuem várias formas e são maiores (50 a 500 µm), com estrutura mais complexas, se comparadas com a dos protozoários. São importantes na estabilização de resíduos orgânicos. Alimentam-se de partículas maiores (bactérias e outros sólidos) e são considerados como organismos polidores dos sistemas aeróbios de tratamento de águas residuárias. Devido à sua capacidade de revolver partículas dos flocos, permite novas superfícies de absorção, além de facilitar a penetração de oxigênio dissolvido no meio e contribuir para a redução da DBO (EIKELBOOM,

2000). Os rotíferos ajudam na depuração de ambientes com poluição orgânica e são muito diversificados, habitam os mais variados ambientes aquosos, no entanto, a maioria é de água doce (ANTONIO, 2016).

Não foram encontradas informações disponíveis consistentes a respeito da diversidade de protozoários, vírus e bactérias habitualmente utilizadas como afluentes para FLDs no Brasil. Informações fragmentadas puderam ser agregadas, mas torna-se impossível obter uma estimativa global relacionada ao total de espécies ou mesmo de gêneros conhecidos (ROCHA, 2003).

3.6.2 Impactos da temperatura

A variação térmica impõe efeitos impactantes nas estruturas, na atividade e na diversidade das comunidades microbiológicas ativas em biofilmes (MOLL et al., 1999; FONSECA et al., 1999), e está diretamente relacionada a taxa de crescimento de micro-organismos, além da intensidade de seu metabolismo, interferindo diretamente na eficiência e tempo de amadurecimento dos FLDs. Essa taxa de crescimento dobra a cada 10 °C de aumento na temperatura, além disso, a taxa nutricional microbiana e sua atividade variam proporcionalmente às oscilações térmicas impostas (MADIGAN et al., 2000).

Investigações ao longo do tempo têm demonstrado que a temperatura e a seleção de material filtrante utilizado constituem fatores importantes que afetam diretamente o processo de filtração lenta (LIU, 2001; URFER, 1998). Essas afirmações corroboram com a ideia de que o crescimento inicial, bem como a remoção de BOM, fica limitado quando a operação dos filtros ocorre em condições de baixa temperatura (MOLL et al., 1999).

Como exemplo, os estudos de Liu (2001) demonstraram que filtros utilizando antracito ou CAG operados em temperatura de 20°C, puderam suportar maior biomassa ativa por unidade de filtração, quando comparados a outros filtros operados em temperaturas inferiores; além disso, a cinética de biodegradação de geosmina e MIB (2-Metilisoborneol) pode ser aumentada em filtros operados em temperaturas mais altas, devido ao maior volume de biomassa habitualmente observado sob tais condições.

Temperaturas mais elevadas favorecem o aparecimento de bactérias Gram-positivas e redutoras de sulfato, no entanto, bactérias gram-negativas e microeucariotas preferem temperaturas mais baixas (LIU, 2001), e essas características impõem diferenças na eficiência dos FLDs quando impostas diferentes temperaturas de operação.

3.6.3 Distribuição de Tempo de Residência e ensaios hidrodinâmicos

A distribuição dos tempos de saída de cada elemento fluido em determinado reator é denominada distribuição do tempo de residência (DTR). Essa distinção ocorre devido ao fato de elementos fluidos que entram em um reator percorrerem diferentes caminhos; consequentemente, demoram tempos distintos para sair dele (LEVENSPIEL, 1999).

Fogler (2004) esclarece que DTR não é único em um reator, porém, ele é capaz de identificar o tipo de mistura e caracterizar o escoamento, oferecendo informações importantes.

Segundo Fogler (2004), o DTR pode ser determinada experimentalmente por meio da injeção de solução inerte denominada traçador, na entrada do reator em estudo em um tempo t=0, posteriormente, é feita a medição da concentração do traçador na saída, em função do tempo. Segundo o autor, é necessário que o traçador apresente características como: i) não ser reativo; ii) ser completamente solúvel na mistura; iii) possuir propriedades físicas similares às do meio fluido do reator e, iv) não adsorver nas paredes ou outras superfícies integrantes do reator em estudo

A injeção de traçador produz perturbações classificadas como tipo pulso ou degrau. Na perturbação tipo pulso, uma quantidade de traçador é repentinamente injetada no reator no tempo mais curto possível (FOGLER, 2004). Na sequência, se efetua o registro das concentrações de traçador que ocorrem na saída do reator em relação ao tempo. A curva E (ou DTR) é obtida diretamente pela razão da concentração de saída (registrada em unidade de tempo) pela quantidade total de traçador injetado (LEVENSPIEL, 1999). Para efetivação da perturbação tipo pulso, a dispersão de traçador deve ser significante entre o local de injeção e a entrada no sistema (FOGLER, 2004).

Foi demonstrado por Jimenez et al. (1988), o efeito de cauda em curvas DTR em ensaios com perturbação do tipo pulso quando alguns traçadores são aplicados ao sistema de filtração (Figura 3.4).

Figura 3. 4 - Fenômeno da difusão responsável pela formação de cauda em ensaios com traçadores e perturbação do tipo pulso com entrada (t1) e saída (t2) do traçador em poros.



Nota: C_{CP} : concentração de traçador nos poros; C_{CF} : concentração de traçador no fluxo principal; t₁: momento em que ocorre difusão de traçador do fluxo principal para os poros; t₂: momento em que a perturbação do pulso termina. Fonte: Adaptado de Jimenez et al. (1988).

Os autores esclarecem que antes da introdução do traçador, os poros do meio granular possuem apenas água, de maneira que a concentração de traçador nos poros (C_{CP}) é zero. Tão logo a perturbação em pulso percorre o meio, a concentração de traçador no fluxo principal (C_{CF}) aumenta e ocorre a formação de gradientes. Nesse momento (t_1), ocorre difusão de traçador do fluxo principal para os poros. Quando a perturbação do pulso termina (t_2), C_{CF} diminui e se torna menor que C_{CP} , dessa forma, o gradiente é invertido e a difusão ocorre no outro sentido. Nos ensaios hidrodinâmicos, a situação é detectada em longos decaimentos de curva resposta, ou seja, a formação de cauda é decorrente das características do traçador e não do escoamento (MACIEL, 2018).

A perturbação tipo degrau ocorre com a injeção contínua de traçador em concentração constante. A injeção é mantida até que as leituras de concentração de traçador que ocorrem na saída e na entrada do reator sejam iguais (FOGLER, 2004).

A normalização da curva de concentração que ocorre na saída por tempo tem como resultado a curva F, que por sua vez, pode ser diferenciada, dando origem a curva E (LEVENSPIEL, 1999). Existem desvantagens na utilização de perturbações do tipo degrau que foram apontadas por Fogler (2004): i) pode ser difícil manter a concentração de traçador na entrada; ii) a obtenção da DTR envolve procedimentos de diferenciação, o que pode conduzir a erros graves, e iii) requer grande quantidade de traçador, o que pode representar um problema econômico em caso de traçadores onerosos. Aplicados aos FLDs, ensaios de traçadores, foram realizadas por Elliott et al. (2008), Lynn et al. (2013) e Young-Rojanschi e Madramootoo (2015), os quais abordam a possibilidade de se analisar a ocorrência de efeitos de parede nos FLDs, não havendo a formação de curva DTR, por se tratar de filtros não contínuos e a abordagem não é capaz de gerar modelos baseados em extremos de idealidade (mistura completa e escoamento pistonado).

Elliott et al. (2008) ressaltam a rápida ascensão do registro de condutividade e rápida queda ilustrada na Figura 3.5, como indícios do escoamento pistonado. Nesse contexto, foi calculado o índice de dispersão de Morrill (MDI) (Equação 1 – TCHOBANOGLOUS et al., 2003), em sistema de operação contínua com comportamento análogo ao intermitente em curva de condutividade por número de volumes do filtro em estudo (volume acumulado/volume do filtro) (Figura 3.5)

$$MDI = \frac{t_{90}}{t_{10}}$$
Eguação 3.1

Em que:

t₉₀: tempo em que 90% em massa do traçador passou pelo reator; t₁₀: tempo em que 10% em massa do traçador passou pelo reator.

Figura 3.5 - Resultado de ensaios com traçador efetuados em FLD.



Fonte: Elliott et al. (2008).

Devido aos intervalos que ocorreram entre as alimentações, o tempo entre as porcentagens de saída de traçador, podem ser excessivos em FLDs operados em modo intermitente, conduzindo a falhas nas interpretações de resultados caso se aplique o MDI. Dessa forma, o MDI modificado –

MDIm, proposto por Lynn et al. (2013), pode conduzir a melhor interpretação dos resultados, considerando a razão entre volumes acumulados na saída de quantidades de traçador aplicado ao sistema.

$$MDI_m = \frac{v_{90}}{v_{10}}$$
 Equação 3.2

Em que:

V₉₀: volume acumulado no qual 90% em massa do traçador passou pelo filtro;

V10: volume acumulado no qual 10% em massa do traçador passou pelo filtro.

O índice de curto circuito pode ser obtido por meio da Equação 3 (Tchobanoglous et al., 2003).

$$I = \frac{ti}{tr}$$
Equação 3.3

Em que:

I: índice de curto circuito;

ti: tempo em que o traçador aparece inicialmente, e

tr: tempo de residência teórico (razão do volume para vazão), em reatores pistonados *I*=1 e mistura perfeita *I*=0.

3.6.4 Amadurecimento e limpeza

Para a construção de FLDs, a areia deve ser limpa e livre de pequenas partículas como argila, material orgânico e outras impurezas. A areia de quartzo limpa é, normalmente, negativamente carregada, e impede a aderência de micro-organismos e bactérias também negativamente carregadas (ação de repulsão). Entretanto, o leito do filtro inicia lentamente o processo de drenagem, e tem início o processo de retenção do particulado suspenso. Nesse processo, as BOM contidas na água bruta servirão como matéria prima para a formação dos biofilmes. Esse período inicial que perdura até que o filtro desenvolva gradualmente uma camada biologicamente ativa, é conhecido como período de amadurecimento ou período de maturação, e pode apresentar variações temporais em decorrência de fatores como: aplicação de pré-tratamentos, disponibilidade de micro-organismos no meio líquido, variações térmicas e variabilidade da concentração de BOM, ou matéria orgânica natural NOM, entre outros fatores.

A partir do *start-up*, e no decorrer da passagem da água bruta pelos interstícios do leito arenosos, partículas em suspenção e micro-organismos ficam imobilizadas nos interstícios porosos do leito filtrante, cuja permeabilidade depende diretamente das características granulométricas e de compactação do leito de areia. Partículas positivamente carregadas se aderem sobre o leito arenoso, e consequentemente, favorecem os micro-organismos a se aderirem ao material suporte, principalmente na parte superior dos filtros (superfície do leito de areia), dando início a formação de colônias bacterianas.

Na medida em que o volume de material particulado e BOM contidos na água bruta entram pelo filtro, o biofilme encontra condições favoráveis ao seu desenvolvimento e proliferação, na mesma proporção em que dão início aos mecanismos de degradação da matéria orgânica contida na água bruta (KIKKAWA, 2008).

Huisman e Wood (1974) referenciam que o amadurecimento dos filtros de areia pode levar de 1 a 3 semanas, porém esses números possuem profundas implicações com a vazão e características da água bruta. Ainda assim, os inexoráveis efeitos da temperatura se fazem presentes, constituindo importante fator para o período de amadurecimento dos filtros, considerando-se que o aumento de 10 °C na água, dobra a taxa respiratório dos micro-organismos, influenciando efetivamente no tempo de amadurecimento dos filtros.

É bastante comum a adoção de semeadura como método de aceleração do período de amadurecimento dos filtros de areia, ou seja, a inoculação de filtros novos a partir de inóculos obtidos de filtros que estejam em efetiva operação, e com atividade biológica estabelecida. Esse procedimento consiste na remoção de lodos ativados (biofilmes) que se formam na parte superior do leito de areia de filtros em operação, e posterior diluição na camada líquida permanente da superfície de novos filtros, de maneira a acelerar o processo de amadurecimento por meio da maior abundância de microorganismos presentes no meio líquido, que rapidamente se depositam na camada superficial do leito, dando origem as colônias.

A biocamada (camada superior do leito de areia), na qual se desenvolvem o "*schumutzdecke*" (hoje entendida como uma camada na qual ocorre intensa atividade microbiológica), foi estimada por Huisman e Wood (1974) como tendo de 30 a 40 cm, valores esses que também dependem dos fatores: taxa de vazão, qualidade do afluente e temperatura. Nos sistemas de filtração lenta tradicionais, existe a necessidade de limpeza, ou raspagem da camada superficial de areia (aproximadamente 2,0 cm), sua lavagem e posterior reposição (PATERNIANI & ROSTON, 2003). Em decorrência dessa limpeza, é imperativo que se espere a formação de nova camada biológica antes de se iniciar o consumo da água produzida pelo filtro lento em areia de forma segura.

Manz (2007) sugere que na filtração lenta domiciliar, a camada superficial não precisa ser retirada para manutenção, bastando agitar vigorosamente o meio filtrante e, após a sedimentação da areia, retira-se o material suspenso (biofilmes) na água com o auxílio de uma concha.

Os procedimentos de limpeza aparecem com diversidade de sugestões: remoção da camada superficial de areia, agitação e remoção do material sobrenadante, remoção e limpeza de manta não tecida ou retrolavagem. Independentemente do método utilizado, o período de amadurecimento após a limpeza é de extrema importância para manutenção da boa qualidade da água potável.

Paterniani e Conceição (2004) concluíram que o uso de areia de construção civil, juntamente com manta não tecida no topo da camada de areia, é eficiente para o tratamento de água para pequenas comunidades e, além disso, a manta é facilmente retirada do filtro, lavada para remoção do *Schmutzdecke*, e posterior reinstalação. Magalhães e Sabogal-Paz (2013) relatam maior eficiência e facilidade na manutenção de filtros lentos domiciliares quando utilizada manta não tecida.

3.6.5 A importância do oxigênio dissolvido no afluente

A colonização dos biofilmes aderidos ao meio suporte e seu gradual crescimento ocorre devido a sua utilização do substrato e do oxigênio dissolvido, criando gradientes de concentrações de oxigênio dissolvido e nutrientes nos biofilmes.

Biofilmes também são moldados pela força de direção (*driving force*) que difunde os nutrientes para o biofilme. Por meio dessa biorreação ocorre a remoção de BOM nos processos de filtração, nos quais a difusão e consumo de oxigênio dissolvido contido no meio líquido se processa simultaneamente com a difusão e degradação de BOM (LIU, 2001).

Segundo Buzunis (1995), a purificação da água bruta por meio dos filtros lentos de areia constitui um bioprocesso aeróbio, no qual, a biologia ativa nos filtros requer o mínimo de 3 mgL⁻¹ de oxigênio dissolvido. Na ausência de OD suficiente para suportar a vida bacteriana que promove a redução de compostos agressivos, o desempenho do sistema se compromete; e na ocorrência desse tipo de cenário, caso tenha início a decomposição anaeróbia e a degradação do biofilme colonizado sobre o material suporte, compostos como enxofre, hidrogênio e amônia serão produzidos, levando o efluente a apresentar odor e paladar comprometidos.

A fim de monitorar o processo de purificação dos filtros, o oxigênio dissolvido pode ser medido em diferentes camadas, e considerando-se que bactérias executam a oxidação da BOM com a redução de OD, isso pode ser usado como indicação de atividade biológica (HUCK et al., 2000) – conceito do potencial de respiração da biomassa (*biomass respiration potential* – BRP). Mudanças

no consumo de OD nas seções do filtro podem indicar que: i) as cargas de BOM mudaram; ii) a atividade da comunidade microbiológica mudou e/ou, iii) a taxa de vazão foi alterada.

Em ocasiões nas quais os filtros são operados com elevadas taxas de aplicação, esse efeito faz com que os micro-organismos passem a habitar regiões mais profundas do leito arenoso, aumentando a profundidade da biocamada ativa. A colonização de micro-organismos em regiões mais profundas do leito filtrante também é favorecida quando é utilizada maior granulometria da areia, e esse fator possuem intima relação com a maior capacidade de penetração do oxigênio dissolvido, essencial para a existência da biota aeróbia.

Nos filtros biologicamente ativados, substratos biodegradáveis doadores de elétrons são oxidados pelas reações REDOX canalizadas pelas enzimas bacterianas. O oxigênio dissolvido usualmente serve como receptor de elétrons, sendo essencial para a oxidação biológica do substrato nos filtros; nessas reações, os doadores de elétrons mais relevantes na água potável são: BOM, NH₄⁺, Fe²⁺, Mn²⁺, NO₂⁻, H₂ dissolvido e muitas espécies reduzidas de enxofre (RITTMANN & HUCK, 1989).

Para a oxigenação da camada superior do leito de areia e do biofilme local, o nível constante de 5,0 cm de água acima do leito do FLD, assim como os 100 - 150 cm do SSF convencional, conferem as condições necessárias para a manutenção do biofilme aeróbio formado e sua oxigenação (YOUNG-ROJANSCHI & MADRAMOOTOO, 2014), desde que essa camada líquida não se mantenha estagnada por longo período. Os autores também salientam que caso a camada de água permanente seja reduzida, o nível de oxigênio dissolvido na superfície do material suporte pode apresentar valores muito baixos no decorrer do período de residência da água, e esse efeito se acentua em regiões de clima mais quentes.

É recomendado que essa camada líquida não tenha menos que de 5.0 cm, a fim de que ocorra a incorporação do oxigênio proveniente da atmosfera por meio da difusão, porém, não deve ter menos de quatro centímetros, considerando-se que nos dias quentes, a água pode evaporar e secar a biocamada trazendo prejuízos à biomassa (BERBERT, 2016). Elliot et al (2008) sugerem a construção de um dispositivo que, conectado ao difusor, controle a carga hidráulica com o intuito de diminuir a vazão do filtro, garantindo o funcionamento do filtro de modo contínuo. Maciel e Sabogal-Paz (2018) sugerem a instalação de válvula tipo bois para manutenção do nível da camada líquida.

A concentração de oxigênio dissolvido no afluente possui estreita relação com a temperatura e pressão local (Lei de Henry), nesse sentido, quanto menor a temperatura, maior a capacidade de absorção do gás (O₂) pelo meio liquido (difusão). Entretanto, nesse tipo de condição (queda da temperatura), embora ocorra a maior disponibilidade de OD, a atividade e o conteúdo da biomassa diminuem, em decorrência do comprometimento do metabolismo dos micro-organismos; esse efeito

também possui intima relação com o tempo de amadurecimento dos filtros. O conteúdo de biomassa estimado em um filtro biológico constitui um núcleo conceitual nos modelos para filtros aplicados à purificação de água potável (ZHANG & HUCK, 1996a; HOZALSKI, 1996; WANG et al., 1995). Destaca-se que, na prática, a maioria dos filtros lentos é operada com nível de água variável.

3.6.6 Potencial de respiração da biomassa (BRP)

O conceito de potencial de respiração da biomassa (*biomass respiration potential* - BRP) contida em filtros para purificação de água foi originalmente proposto por Urfer e Huck (2001). O conceito é fundamentado no consumo de oxigênio dissolvido disponível na água bruta, como resultado da respiração aeróbia, enquanto promove a remoção de componentes da BOM em amostras de água contendo material suporte de filtros colonizadas por micro-organismos ativos, ou amostras de biomassa suspensa. Teoricamente, diante da expectativa de sistemas com operacionalidade adequada, espera-se que ocorra uma boa relação entre a biomassa e a BRP.

A estimativa de parâmetros da cinética da filtração constitui difícil tarefa na modelagem de filtros, e no passado, pesquisadores dependiam de experimentos que não eram especificamente projetados para estimativas desses parâmetros (ZHANG & HUCK, 1996a), ou de experimentos especiais, nos quais as reais condições dos filtros de água não podem ser bem simuladas (HOZALSKI, 1996). Nesse sentido, torna-se importante o estabelecimento de métodos mais simples e acurados para a estimativa de parâmetros chave da cinética para aplicações em modelos para água potável baseados em biofilmes. Em sistemas de tratamento biológico, a aplicação de análises respirométricas da biomassa representa método efetivo para a determinação das características de biodegradabilidade dos afluentes e a intensidade da atividade biológica do sistema.

Um método simples pode ser aplicado para medição da atividade da biomassa ativa em filtros para água potável. Como resultado pode-se obter o BRP, permitindo a caracterização da atividade aeróbia biologicamente ativa em pequenas porções de biofilmes, com base no consumo de oxigênio dissolvido presente no substrato. A presença de bactérias anaeróbias é ignorada para o teste de BRP, pois a quantidade de substrato degradado é provavelmente menor, se comparado à participação das bactérias aeróbias nesse processo (URFER & HUNCK, 2001).

3.7 Biofilmes

3.7.1 Conceito geral de biofilmes

Os biofilmes habitualmente possuem o aspecto gelatinoso, também são conhecidos como *schmutzdecke*. A etimologia da palavra é composta por "*schmutz*", da lingua alemã que significa sujidade e "*decke*", termo de procedência escandinava que pode ser traduzido como película ou camada (AZEVEDO NETO, 1979). Embora os biofilmes e as EPSs possuam intima relação, há de se considerar as implicações específicas desses elementos de maneira isolada, principalmente, dado a sua efetiva importância na fundamentação teórica de funcionamento, manutenção e eficiência de sistemas biológicos para tratamento. Dessa forma, no Capítulo 3.8 é dado maior aprofundamento sobre as EPSs, na tentativa de se isolar este tema das discussões sobre biofilmes, a despeito da íntima relação entre ambos os temas, ao ponto de tornar-se necessária a ocorrência de discussões paralelas.

A concordância de opiniões de pesquisadores da área, no que se refere à conceituação do termo "biofilme" não é unânime, embora, aparentemente, ele seja autoexplicativo. A terminologia gera controvérsias em diferentes áreas de pesquisa e, muitas vezes, por razões plausíveis. Uma delas é que a palavra "filme", semanticamente tem implicação com uma camada contínua e bastante fina, e apesar dessa definição, muitas estruturas biológicas, além do biofilme, não são continuas, e muitas outras, raramente poderiam ser chamadas de "finas", podendo alcanças espessuras variadas.

O biofilme inicia seu desenvolvimento como material planctônico, ou *freefloating*, bactérias entram em contato e se aderem a determinada superfície, em uma proporção que corresponde a pequena fração do volume total de biofilme, habitualmente 15% (COSTERTON, 2010). O material restante (85%) é constituído principalmente por uma matriz extracelular composta exopolissacarídeos (EPS) produzido pelas bactérias residentes, que começam excreta-la quase imediatamente após sua aderência ao material suporte (RAY & TRIPLETT, 2011).

O processo de formação dos biofilmes eventualmente conduz à colonização de superfícies, e como resultado de uma complexa rede de ligações, pode conduzir a consequências variadas, que incluem até mesmo a bioincrustação ou biodeterioração da superfície (LEWANDOWSKI, 1994).

Agregados microbianos presentes em separação de fases ar-líquido ou líquido-líquido, ou agregados flutuantes como flocos ou grânulos, enquadram-se igualmente na definição de biofilmes; no entanto, apesar da ubiquidade dos biofilmes serem geralmente associados a finos filmes microbianos que rapidamente se formam na maioria das superfícies sólidas, podendo apresentar espessuras da ordem de milímetros ou micrometros; a espessura de alguns biofilmes pode atingir vários centímetros, como no caso dos tapetes de algas (XAVIER et al., 2003).

A taxa de crescimento dessas estruturas é função da abundância nutricional contida no meio líquido, entre outros fatores. Wimpenny & Colasanti (2006) se referem a aplicação de modelagem para avaliação de crescimento celular de biofilmes, e sugerem que sua estrutura é amplamente determinada pela concentração do substrato.

Nos biofilmes, componentes dissolvidos podem ser adicionados ou consumidos em inúmeros processos de transformação bióticos ou abióticos. Assume-se então, que todo o transporte de substrato ocorre pela difusão molecular, condição na qual; outros mecanismos de transporte de massa como a convecção, representam um importante papel analisado em vários estudos (MORGENROTH et al., 2000).

Segundo Lewandowski (1994), sistemas com biofilmes oferecem difusividade limitada, e as condições químicas nas proximidades, e no interior dos biofilmes podem variar significativamente em distancias de poucos micrometros, consequentemente, a informação obtida mediante análises do afluente é limitada, e deve ser examinada antes de qualquer conclusão relativa à formação do biofilme.

Pesquisas sobre biofilmes geralmente são desenvolvidas com base em hipóteses fundamentadas em modelos conceituais de processos. Esses modelos têm sua consistência testada continuamente por meio de resultados experimentais acumulados. Nesse contexto, se os resultados acumulados mostram que um modelo, ou parte dele, não é consistente com a evidência experimental, essa dúvida é convertida na hipótese de pesquisa relevante e, futuramente, é testada. Se os testes colaboram com a inconsistência entre o modelo conceitual e a evidência experimental, o modelo conceitual é alterado (LEWANDOWSKI & BEYENAL, 2007).

Muitos dos efeitos que a estrutura do biofilme tem sobre os processos que os envolvem são hipotéticos, e certamente, se manterão hipotéticos até que ferramentas adequadas sejam desenvolvidas para quantificar a estrutura de biofilmes e correlaciona-las à intensidade com que a estrutura supostamente influencia determinado processo (LEWANDOWSKI & BEYENAL, 2007).

Existe inconsistência entre os arquivos experimentais, e os modelos conceituais raramente requerem mudanças completas; entretanto, muitas vezes, fragmentos do modelo conceitual necessitam ser revistos. Por exemplo, o modelo conceitual de heterogeneidade do biofilme ilustrado na Figura 3.6, que mostra uma camada fina e descontinuada de micro-organismos na base do biofilme. Essa camada foi introduzida no modelo para acomodar o conceito de células diferenciais anaeróbias no crescimento de biofilmes sobre superfícies eletricamente condutoras, que são habitualmente observadas por pesquisadores de corrosão microbiologicamente induzidas (LEWANDOWSKI & BEYENAL, 2007).



Figura 3.6 - Ilustração de Biofilme Heterogêneo em um modelo conceitual.

Fonte: Adaptado de Lewandowski & Beyenal, (2007).

Este modelo foi introduzido porque vários resultados experimentais não puderam ser mostrados dentro das bases do então existente, "modelo conceitual de estrutura de biofilme relativamente homogêneo". Em inúmeros casos, o acúmulo de biofilme resulta no *biofouling*, que constitui problema recorrente em ambientes industriais, consistindo, comumente, na associação de biofilmes com partículas orgânicas, precipitados cristalinos ou produtos de corrosão (GONZALEZ, 2013).

Dada a abrangência do assunto, o interesse de pesquisadores de diferentes áreas conduziu à investigação de diversos sistemas de biofilmes, utilizando extensa disponibilidade de técnicas. Desse estudo multidisciplinar, originou-se a descrição de variados tipos de estrutura de biofilmes e a formulação de modelos conceituais (STOODLEY et al. 1999). Entretanto, sabe-se que modelos conceitualmente formulados a partir da observação de sistemas específicos de biofilmes, não devem ser adotados em contexto universal desse tipo de sistema, a exemplo do ocorrido com o modelo de Costerton et al. (1994), designado *water channel model*.

Para tal afirmação, cabe salientar que enumeras variações estruturais dos biofilmes podem ser observadas em um mesmo sistema, caso sejam impostas variações em suas condições de operação (VAN LOOSDRECHT et al. 1995). Nesse contexto, segundo Stoodley et al. (1999), a visão conceitual de que a estrutura de biofilmes pode demonstrar elevada heterogeneidade espacial e temporal, apresenta maior consistência. Além disso, há de se considerar a evidência de que cada comunidade microbiana é única.

Do processo de estruturar modelos conceituais sobre biofilmes e de testar hipóteses, derivou a necessidade de desenvolvimento de ferramentas capazes de elucidar os mecanismos utilizados pelo biofilme, bem como, sua função. Dentro desse enfoque, e tratando-se de elementos microscópicos que muitas vezes atingem poucas centenas de micra de espessura, a primeira ideia que surge é a utilização de microscopia como instrumento investigativo e, nessa direção, nas décadas recentes, a evolução da microeletrônica proporcionou a criação de microscópios de alta capacidade de ampliação, portanto, capazes de trazer à luz, a identificação de micro-organismos colaboradores dos mais variados processos que envolvem biofilmes, abrangendo quase todas as áreas da ciência: i) medicina; ii) alimentos; iii) bebidas; iv) metalurgia; etc.

A microscopia moderna disponibiliza dezenas de particularidades do ponto de vista óptico e constitui a única técnica – hoje disponível – para estudos da morfologia de micro-organismos e sua estrutura celular. O avanço das técnicas de microscopia de fluorescência, confocal laser, microscopia de força atômica e outros que envolvem a integração da automação eletrônica, têm ajudado significativamente as pesquisas sobre alterações estruturais e estudos de biofilmes (AHMAD & KHAN, 2012). Os microscópios eletrônicos (ME) são usados em estudos para biofilmes e ultraestruturas, sejam elas, biológicas ou não, oferecendo alta resolução de imagem.

Campos et al. (2006) destacam que poucos estudos relacionam a biomassa da *Schmutzdecke* com a efetividade do tratamento, entretanto, os trabalhos com foco na modelagem do biofilme, sempre a indicam como um parâmetro bem sensitivo na eficiência do SSF (CAMPOS, et al, 2006; SCHIJVEN et al. 2013)

O melhor entendimento da relação entre estrutura e atividade dos biofilmes, e os fatores que fisicamente influenciam em sua formação, representam extrema importância para o emprego de biofilmes em sistemas de tratamento de água, esgoto, ambientes industriais ou clínicos que se utilizam de processos microbiológicos (STOODLEY et al. 1999).

3.7.2 A estrutura dos biofilmes

Biofilmes bacterianos são notadamente heterogêneos em virtualmente todos os parâmetros que podem ser medidos com precisão. Essa heterogeneidade: estrutural, fisiológico, químico, ecológico, elétrica, etc., é apontada como sendo a causa de muitas características diferenciadas nos fenômenos de aderência (oposta ao planctônico). Culturas puras são virtualmente inexistentes no mundo (fora de laboratórios); micro-organismos, assim como outros organismos, existem em comunidades nas quais ocorre grande variedade de interações.

Por estrutura de biofilmes entende-se a forma tridimensional (3D) do biofilme agregado à distribuição espacial das substâncias imobilizadas, tanto bióticas como abióticas. A forma do biofilme define sua interface de contato com o meio líquido, e por meio dessa interface, ocorre todo o

transporte de massa de solutos, com distâncias difusionais que definem os microambientes do biofilme. A distribuição espacial de substâncias imobilizadas possui intima relação com a distribuição espacial de EPS, células bacterianas, e eventualmente de partículas inorgânicas. A estrutura do biofilme também pode ser descrita por meio de propriedades morfológicas, como: espessura, densidade, forma da superfície e etc. (XAVIER et al., 2003).

A estrutura dos biofilmes representa um papel importante em sua atividade, e é sempre relacionada ao conjunto das condições hidrodinâmicas do meio, além da disponibilidade de nutrientes, e nesse contexto, a forma física do biofilme influencia diretamente na transferência de massa das espécies químicas envolvidas em seu processo de formação, pois esses agregados microbianos são ambientes densamente empacotados, proporcionando limitada penetração do fluxo líquido, apesar de se observar fluxo de líquido ocorrendo nos poros de biofilmes (DE BEER et al., 1994; STOODLEY et al., 1999). Sua formação consiste no resultado de uma rede de processos que incluem: i) adsorção; ii) desadsorção; iii) aderência; iv) desaderência, v) crescimento microbiológico, e vi) decaimento endógeno (CHARACKLIS, 1990).

Revisões sobre a estrutura básica de biofilmes revelam a existência de pelo menos três modelos conceituais: i) biofilme em mosaico heterogêneo; ii) biofilme com canal de água penetrável, e iii) biofilme denso, porém, quando é dada consideração aos efeitos de recurso de crescimento, pode ser que todas as três variantes estejam corretas, mas formam concentrações de substrato extensamente diferentes (WIMPENNY & COLASANTI, 2006).

O estudo da natureza da distribuição de OD no interior de biofilmes estruturalmente heterogêneos (por exemplo), claramente demonstra a importância da arquitetura do biofilme no transporte de oxigênio e aporte de nutrientes que são utilizados pelos micro-organismos em suas atividades metabólicas (DE BEER et al., 1994).

Além disso, a estrutura dos biofilmes pode influenciar efetivamente no funcionamento de filtros, em fatores como: i) taxas de redução; ii) estabilidade da operação; iii) resistência ao arrasto do fluido; iv) desaderência do biofilme, e v) microbiologia do biofilme.

Stoodley et al. (1999), também destacam quatro fatores que mais influenciam na estrutura de biofilmes: i) características geométricas da superfície do substrato; ii) características dos microorganismos que constituem o biofilme; iii) condições hidrodinâmicas, e iv) disponibilidade de nutrientes.

Biofilmes também podem assumir outras configurações: i) uma mistura homogênea de biomassa, e ii) partículas não-biológicas distribuídas separadamente. A morfologia real do biofilme pode também apresentar combinações dessas duas variações (LIU, 2001).

Lewandowski e Beyenal (2007), concluíram que o aprofundamento dos conhecimentos fomentado pelo surgimento de novas técnicas analíticas sobre a dinâmica de formação dos biofilmes, permite descrever um ciclo, no qual ocorrem quatro etapas (Figura 3.7).



Figura 3.7 - Dinâmica da formação e crescimento de biofilmes.

Fonte: Adaptado de CBE (2017).

i) Período de aderência ou colonização (período em que micro-organismos em flotação livre pelo afluente se conectam ao material suporte, dando início à colonização bacteriana);
ii) Período de crescimento (tem início a formação das EPSs que auxiliam na aderência do biofilme);

iii) Desaderência (o biofilme em sua fase "madura" inicia o processo de fragmentação), e

iv) Flotação (nesta etapa, micro-organismos e fragmentos do biofilme formado se dispersam, e em livre flotação pelo meio liquido, dão origem a novas colônias, e ou, a expansão da colônia existente).

A fase de aderência dos biofilmes sobre o meio suporte é considerada como sendo a mais importante, e ocorre durante o período de maturação dos filtros em um fenômeno microscópico.

A observação microscópica indica que biofilmes aderidos não são planos e que a distribuição de micro-organismos não é uniforme, ao contrário; multi espécies de biofilmes formam estruturas de alta complexidade que contem regiões vazias (ocas), cavidades, poros e filamentos com células dispostas em microcolônias. A importância da arquitetura dos biofilmes heterogêneos consiste em prover mecanismos de aglomeração para as comunidades microbianas e sua aderência sobre a superfície do material suporte, e oferece proteção da luz ultravioleta e toxinas. Canais e regiões vazias que se formam naturalmente no interior da EPS permitem o fluxo de água, e o consequente aporte de

nutrientes que alimentam as colônias de micro-organismos, além da remoção de dejetos. Esses canais permitem a mobilidade da biota existente, seja em sua busca por alimento, predação entre espécies, ou para a expansão de novas colônias (KOLTER & GREENBERG, 2006; STEWART & FRANKLIN, 2008; SIQUEIRA-CASTRO et al., 2016, HAIG et al., 2015; BICHAI et al., 2014).

Hwang et al. (2014) demonstraram uma tendência ao aumento da proporção de patógenos oportunistas no biofilme de filtros lentos de areia, comparado a sua fonte de água, sugerindo que tais patógenos se prenderam à camada biológica e à superfície da areia enquanto água flui pelo filtro.

A maioria dos biofilmes não é composta por uma única espécie de bactéria. Ainda que, a maioria exista como uma comunidade heterogênea altamente organizada, na qual existe intercâmbio de interações entre as espécies bacterianas residentes (COSTERTON, 2010). A Figura 3.8 apresenta uma ilustração conceitual de biofilme heterogêneo.





Fonte: Adaptado de Ray & Triplett (2011).

Biofilmes também são dinâmicos e responsivos ao ambiente em que habitam. Células bacterianas podem se separar do biofilme individualmente ou em aglomerações no estágio de desaderência ou flotação. Quando eles se separam em aglomerações, os biofilmes se tornam mais frágeis e são reduzidas sua característica de autoproteção contra agentes antimicrobianos. Nas condições certas, os biofilmes podem migrar também durante certo tempo por superfícies, em uma variedade de modos, como: i) desagregação ou flotação; ii) fluidez; iii) semeadura por dispersão; iv) ondulações, e v) rolagem, dessa maneira; perpetuando sua propagação, como ilustra a Figura 3.9 (MSU, 2017).

Figura 3. 9 - Modalidades de migração ou proliferação dos biofilmes sobre superfícies colonizadas.



Fonte: Adaptado de CBE (2017).

Todos os materiais apresentam certas propriedades solido-elásticas e viscosidade fluídica. Biofilmes podem apresentar vários aspectos (líquido, sólido), muito parecidos com lodo ou limo, portanto, se adequam na categoria dos materiais viscoelásticos. Como os sedimentos e material planctônico em suspensão no substrato se aderem nas EPSs contidas nos biofilmes, sua morfologia pode apresentar camadas com depósitos de ferrugem ou cálcio, tornando-os menos fluídicos, e nessa configuração, apresentam aspecto sólido frágil (MSU, 2017).

Em populações de planctônicas, os sinais químicos produzidos pelas células não estão concentrados o bastante para causar mudanças na expressão genética, porém, em biofilmes, o EPS (material matriz) assegura a proximidade das células, permitindo notáveis concentrações de sinais moleculares, gerados em quantidade suficiente para efetuar mudanças no comportamento celular.

Esse sistema de reconhecimento populacional recebeu o nome de "*quórum sensing*" (QS) (WATERS & BASSLER, 2005; RIVAS et al., 2005), e foi observado primeiramente na bactéria marinha *Vibrio fischeri*, que pode produzir luz depois que uma população suficiente se estabelece em determinado ecossistema (MSU, 2017).

QS geralmente envolve a produção, liberação e detenção de sinais químicos moleculares, e também permite a comunicação celular e expressão de genes específicos em resposta a mudanças na densidade da população celular (HOOSHANGI & BENTLEY, 2008). Quando o limiar de sinais induzidos é alcançado, receptores nas células próximas são ativados, e o gene desejado é expresso pela comunidade microbiana do biofilme; por exemplo, a desagregação de um aglomerado de bactérias, ou a ativação de um mecanismo de resistência (COSTERTON, 2010).

Populações bacterianas ativarão alguns genes, apenas quando elas puderem detectar (por sinalização celular), que sua população é numerosa o bastante, para efetuar de maneira vantajosa, o início da atividade genética. Por exemplo, alguns patógenos bacterianos não produzirão toxinas até que eles sintam que uma população adequada foi estabelecida, a fim de estabelecer sua sobrevivência às defesas do anfitrião (MSU, 2017) (Figura 3.10).



Figura 3. 10 - Ilustração da sinalização bacteriana (QS).

Fonte: Adaptado de Techhydra (2013).

Existem dois processos QS para bactérias: o tipo autoinduzido (AI-1) é habitualmente associado com a comunicação interespécies, e o tipo AI-2 envolve as interações interespécies (MILLER & BASSLER, 2001).

Yeon et al. (2009) constataram a ocorrência da regulação de QS em filtros; entretanto, os sistemas regulatórios por QS são diversificados para diferentes espécies de bactérias (KALIA, 2013), e nesse sentido, uma investigação aprofundada sobre as regulações de QS que ocorrem entre comunidades bacterianas presentes em filtros, conduziria a melhor compreensão de como esses fatores influenciam a produção e caracterização das EPSs geradas em biofilmes desses sistemas.

A descoberta de que células simples são capazes de comportamento coordenado no interior dos biofilmes, permite uma nova avaliação das estratégias de sobrevivência celular. Também existem evidências de que a sinalização celular pode regular a diferenciação de células em subpopulações de micro-organismos que levam a diferentes atividades dentro da comunidade microbiana de uma única espécie (MSU, 2017).

Biofilmes formados em ambientes de água potável habitualmente apresentam estruturas descontinuadas, ou fragmentadas (LANGLAIS et al., 1991; LU & HUCK, 1993). Essa afirmação pode ser verificada por meio de estimativas preliminares, a partir de resultados obtidos por métodos para medições da biomassa no biofilme, e nesse contexto; em filtros com ausência ou precariedade de partículas biológicas no afluente, a configuração do biofilme assume diferentes formas, inclusive, representada por uma configuração de sobreposição (particulado não biológico em biomassa sobreposta) que pode ser observada a partir de análises microscópicas (AHMAD et al., 1998).

Os métodos de microscopia permitem um exame de biofilmes vivos, e no seu estado hidratado, a análise morfológica vem a ser uma valiosa ferramenta para a investigação da influência de condições ambientais ou do impacto de mutações específicas na estrutura de biofilmes, e nesse sentido, conclusões importantes dos estudos de biofilmes foram baseadas em investigações de carácter qualitativo derivado de interpretações visuais de imagens de microscopia (HEYDORN et al., 2000).

3.7.3 Biofilmes e a filtração lenta em areia

A chave para qualquer processo de tratamento biológico bem-sucedido consiste na acumulação de grande número de micro-organismos (biomassa imobilizada ou suspensa), capaz de efetuar a biodegradação da matéria orgânica. Nesse âmbito, a biomassa ativa é habitualmente caracterizada como: i) biomassa suspensa, e ii) biomassa aderida (LIU, 2001). Reatores para tratamento de água que utilizam micro-organismos imobilizados na forma de biofilme são extensamente empregados. Nessas unidades, o biofilme pode ser comparado com microssistemas complexos, com estruturas microbiológica e reacional estratificadas, cujas funções e mecanismos precisam ser melhor compreendidos (BISHOP & YU, 1999).

Processos de biofilmes são vantajosos e são requeridos quando o índice de crescimento proporcionado pela composição nutricional disponível no substrato é pequeno. A água bruta destinada ao consumo humano, habitualmente apresenta baixíssimas concentrações de matéria orgânica, e constitui claramente um desses casos, nos quais se torna vantajosa a utilização de biofilmes (RITTMANN & HUCK, 1989). Biofilmes estão presentes nos processos biológicos em filtração lenta em areia (RITTMANN & HUCK, 1989).
Em biofilmes formados para sistemas biológicos de tratamento de águas residuárias, ocorre rica variedade microbiológica, que é favorecida pela abundância nutricional do substrato, no entanto, em sistemas biológicos para tratamento de água, ocorrem a baixa concentração e múltiplos componentes de matéria orgânica, favorecendo o crescimento de bactérias oligotróficas heterotróficas. Essas, são caracterizados como sendo capazes de sobreviver e funcionar metabolicamente quando o substrato apresenta concentrações nutricionais muito baixas de nutrientes (ATLAS & BARTHA, 2000).

Na maioria dos sistemas biológicos de tratamento, a principal meta é a remoção de BOM e/ou remoção de amônia, porém, em outras aplicações os processos biológicos têm sido usados com sucesso na remoção de ferro e manganês (MOUCHET, 1992). Quando ocorrem níveis substancialmente altos de amônia na fonte de água, bactérias autotróficas (nitrificantes) podem se tornar dominantes.

A presença de organismos patógenos em filtros bem desenvolvidos é improvável, devido ao fato de patógenos serem geralmente incapazes de competir com bactérias de crescimento rápido (CAMPER et al., 1985; BOUWER & CROWE, 1988; CAMPER et al., 1999), no entanto, nas investigações de LeChevallier (1990 a, b) foi constatada a presença de coliformes em filtros de carvão ativado.

Campos et al. (2006) destacam que poucos estudos relacionam a biomassa da *Schmutzdecke* com a efetividade do tratamento na remoção de matéria orgânica, entretanto, os trabalhos com foco na modelagem do biofilme, sempre a indicam como um parâmetro bem sensitivo na eficiência dos sistemas de filtração lenta de areia (CAMPOS et al., 2006; SCHIJVEN et al., 2013). Estudos recentes têm sido direcionados a investigações do biofilme dos filtros e às complexas reações que ocorrem no interior dessas estruturas (HWANG et al., 2014; HAIG et al., 2015, 2015b).

No contexto dos filtros lentos em areia, os micro-organismos contidas no biofilme provém do afluente e compões uma comunidade no decorrer do tempo de operação (Prem e Manjeet, 2018; Pfannes et al., 2015).

A biota habitualmente encontrada em FLDs inclui algas, protozoários, bactérias e pequenas células vivas, e a quantidade de micro-organismos, bem como, sua variedade relativa de espécies, são adaptados às características da fonte de água bruta, além, do ambiente do FLD (Buzunis, 1995).

O processo de formação da camada biológica também inclui a sedimentação das partículas e catabolismo microbiano e do material particulado que chega ao filtro pelo meio líquido. Jones et al. (2011), relatam que biofilmes ricos em bacteroidetes e sequencias fungais afiliadas com *Cryptomycota* foram observados em filtros lentos, os quais estão envolvidos na degradação de compostos orgânicos complexos.

Segundo Huisman e Wood (1974), as condições encontradas no interior dos FLDs não são apropriadas para a multiplicação de bactérias intestinais, normalmente encontradas no corpo humano em temperatura de 37°C, e que não sobrevivem em temperaturas abaixo de 30°C.

Os canais existentes no interior do biofilme propiciam a locomoção, busca por alimento, reprodução e penetração de OD necessário à sobrevivência dos micro-organismos presentes. A camada biológica constitui um ecossistema aeróbio, portanto, os níveis de OD são críticos para sua rápida formação (Manz, 2004).

Os FLDs apresentam a maior eficiência quando o biofilme está formado (filtro maduro), no entanto, o biofilme sofre alteração com consequente redução da eficiência de tratamento se a água permanecer estagnada no interior da unidade (Fewster et al., 2004; Freitas e Sabogal-Paz, 2019), devido ao natural decaimento de oxigênio dissolvido disponível à vida microbiológica aeróbia, além da diminuição da disponibilidade nutricional.

Freitas e Sabogal-Paz (2019), relataram um efeito importante que ocorre nos FLDs em função da formação dos biofilmes; o aumento da perda de carga com consequente queda na produção de água tratada. Isto acontece porque as concentrações de material suspenso contido na água a ser tratada, juntamente com as EPSs, obstroem os interstícios do leito filtrante – manta não tecida e o topo da areia fina – causando redução do tempo das carreiras de filtração e, portanto, aumentando a necessária frequência da manutenção dos FLDs.

3.7.4 Aderência dos Biofilmes

Superfícies imersas em meio líquido contendo nutrientes, rapidamente são cobrertas por micro-organismos, dando origem ao biofilme aderido, que pode ser observado sobre a superfície do material suporte poucos minutos depois do *start-up* de reatores (BISHOP & KINNER, 1986). O tempo necessário para início da colonização dos micro-organismos e aderência dos biofilmes possui ampla variabilidade relacionada a fatores como: i) características inerentes do meio de cultura (micro-organismos); ii) características do meio líquido; iii) características da superfície; iv) temperatura, e v) características hidrodinâmicas do sistema.

O efeito das características do material suporte na cinética de degradação de substratos, bem como, na aderência e crescimento de biofilmes é tema de considerável importância em sistemas tratamento de água e esgoto, e muitos trabalhos demonstram um comum acordo no que se refere à cinética de degradação de compostos orgânicos, porém, a proporção de publicações reduz consideravelmente quando se buscam informações relativas às diferenças de superfícies expostas à biofilmes ou a influência de suas cargas (SARTI et al., 2016).

Os efeitos da aderência são fortemente influenciados pela carga elétrica das regiões da superfície exposta (CAPDEVILLE & NGUYEN, 1990). A aderência ocorre imediatamente em superfícies carregadas positivamente, mas pode levar muitas horas no caso de cargas negativas, e a duração desse período de aderência inicial depende de vários fatores, como: i) a natureza do material suporte (BEACHY, 1981); ii) carga da superfície exposta ao substrato (BELKHADIR, 1986); iii) a natureza e concentração nutricional do substrato (RITTMAN & HUCK, 1989); iv) a temperatura (LIU, 2001; URFER, 1998), etc.

As propriedades de determinado biofilme aderido sobre material suporte dependem efetivamente da qualidade da água em contato com a superfície, e pode afetar drasticamente as propriedades da superfície, por exemplo: a corrosão, perda de permeabilidade, porosidade, translucidez, etc.

Nesse contexto, existem duas características do material suporte que são de particular importância em pesquisas sobre biofilmes e a produção de EPS: a química e a rugosidade superficial do material. As características de aderência e colonização dos biofilmes são bastante exploradas; se aderem facilmente a rochas, metais, madeira, cerâmicas, materiais sintéticos, vidros e até mesmo em tecidos humanos (infecções).

A colonização tem início nas cavidades do material suporte, e nesse caso, superfícies rugosas são favoráveis ao desenvolvimento dos biofilmes. Dois fenômenos ocorrem durante o crescimento do biofilme: i) o crescimento logaritmo, e ii) a taxa constante de acumulação, que continua até sua parcial desaderência e estado estacionário. A formação dos biofilmes é bem definida por esses dois fenômenos, porém, a influência que diferentes materiais utilizados como suporte exerce sobre esses fenômenos não foi suficientemente estudada (SARTI et al., 2016).

A possibilidade de que a aderência de biofilmes sobre superfícies inertes seja afetada por interações eletrostáticas têm sido exploradas com a esperança de que tais interações possam ajudar no estabelecimento de procedimentos para a prevenção da formação de biofilmes e produção de EPSs sobre a superfície de materiais eletricamente condutivos. Além disso, muita atenção tem sido dada aos efeitos hidrofóbicos na aderência entre micro-organismos e superfícies. Castonguay et al. (2006) relatam que a formação de biofilmes por *E. Coli* é estimulada por interações sinergéticas e mecanismos da capacidade de aderência das bactérias.

Há de se considerar também os efeitos da hidrofobicidade que participam do fenômeno de aderência. Partículas hidrofóbicas suspensas na água tendem a interagir com partículas também hidrofóbicas, do que com a água (LEWANDOWSKI & BEYENA, 2007) (ver Capítulo 3.9.3).

As forças eletrostáticas, (*Van der Waals force*) também contribuem para a aderência quando moléculas estão próximas. O potencial eletrostático promove atração entre as partículas de cargas

opostas, e repele partículas com a mesma carga elétrica. Areia limpa de quartzo possui carga negativa, e dessa forma, atraem partículas com carga positiva como cristais de carbonato e íons metálicos (ferro, alumínio, manganês, cobre, etc.). Partículas coloidais de origem orgânica geralmente apresentam carga negativa, e assim, são repelidas pela areia limpa, ainda que elas fiquem atraídas pelas cargas positivas acumuladas nos grãos de areia superficiais (HUISMAN & WOOD, 1974).

No que concerne à aderência dos biofilmes, diferentes características intrínsecas dos materiais como: afinidade iônica, rugosidade, geometria, porosidade, condutividade, hidrofobicidade e etc. têm sido exaustivamente exploradas por pesquisadores, tanto por seus aspectos positivos (exemplo: reatores que utilizam biomassa imobilizada), como por aspectos negativos (exemplo: incrustação e corrosão).

Com vistas à importância desse tema, muitas propostas surgiram no decorrer dos últimos anos, e como forma de facilitar o desenvolvimento de pesquisas sobre o argumento, a habilidade dos biofilmes em se aderirem na superfície de objetos construídos a partir de vidro, tem sido explorada por diversos autores como facilidade para o cultivo de biofilmes em condições controladas, propiciando posterior análise laboratorial (GONZALEZ, 2009; MARIE-HÉLÈNE et al., 2006; GONZALEZ et al., 2011).

Lewandowski e Beyenal (2007) descrevem a construção de reatores tipo *flat-plate* de canal aberto, que viabilizam o estudo de biofilmes formados sobre base de vidro, a partir de análises microscopia e microssensores. Esse tipo de reator tem sido amplamente utilizado no Laboratório de Microssensores e Biofilmes da EESC-USP.

3.8 Substância polimérica extracelular (EPS)

Geesey (1982) definiu as EPSs como substâncias extracelulares poliméricas de origem biológica que participam na formação de agregados microbianos.

A exata definição da origem das EPSs é complexa, e por conveniência, existe ampla concordância referenciada como substância polimérica presente no interior de agregados microbianos, e essa substância polimérica solúvel presente nos biofilmes ou em lodos suspensos foi considerada como SMP (LIN et al., 2014).

Acima de 99% dos micro-organismos vivem e crescem dentro de polímeros biosintéticos (biopolímeros) como formas agregadas, e o termo EPS foi fundamentado na descrição desses biopolímeros. Estudos recentes relativos a micro-organismos e EPSs, habitualmente se referem a exopolissacarídeos, polissacarídeos extracelulares e exopolímeros, porque polissacarídeos foram

considerados como o componente mais abundante naquela fase (LIN et al., 2014), entretanto, as possíveis definições de EPSs se expandiram com o passar do tempo.

Ainda que geralmente seja assumido que as EPSs sejam compostas primariamente por polissacarídeos, elas também podem conter proteínas e ácidos nucleicos (HALL-STOODLEY et al., 2004).

Existe uma concordância amplamente referenciada de que os polissacarídeos e proteínas são os maiores componentes das EPSs (LIU & FANG, 2003; YU, 2008; BURA et al., 1998)

Outros componentes como: ácidos húmicos, ácidos nucleicos, lipídeos e ácidos úricos, também parecem estar presentes em algumas quantidades de EPSs, e influenciam efetivamente sua estrutura e distribuição (LIU & FANG, 2003; NIELSEN et al., 1996).

3.8.1 Estrutura e distribuição do EPS

As EPSs apresentam uma estrutura tridimensional com aparência gelatinosa ou lodosa, em uma matriz altamente hidratada (Figura 3.31 - A), na qual os micro-organismos são agrupados em condição de parcial imobilidade (WINGENDER et al., 1999). Por definição, os EPSs ficam localizados dentro ou fora da superfície das células, no entanto, o local é bastante heterogêneo. Os EPSs envolvem as bactérias, ou se condensam em flocos, e provavelmente, possuam uma estrutura dinâmica de dupla camada: i) a primeira camada apresenta ligações coesas (LC – EPSs), que se mantém firmemente ligada nas regiões internas; ii) a segunda camada apresenta ligações fracamente encadernadas, ou ligações de perda (LP - EPSs), que se difundem na camada exterior (Figura 3.11 - B, C) (POXON & DARBY, 1997).



Figura 3. 11 - Ilustração de EPS: A) Estrutura; B) Estrutura celular, e C) Estrutura dos flocos.

Fonte: Adaptado de Lin et al. (2014).

As LP–EPSs se difundem na camada exterior dos biofilmes, e apresentam maior solubilidade e dispersão, portanto, são as primeiras a sentir os efeitos de eventual desidratação, ou a presença de agentes oxidantes. Pelas LP-EPSs e por meio da difusão, ocorre o aporte de nutrientes essenciais ao biofilme. É através dessa camada das EPSs que ocorre a dispersão do biofilme, que em livre flotação pelo substrato, transporta em sua matriz o material biológico necessário para semear novas colônias, ou expandir a colônia original, proporcionando a necessária estabilidade mecânica (Figura 3.12).

Figura 3. 12 - Ilustração das camadas LP-EPSs e LC-EPSs no contexto da expansão de novas colônias de biofilmes.



Fonte: Adaptado de Ústav (2017).

A matriz de EPS não apenas une as células do lodo e determina a estabilidade mecânica dos flocos de lodo formados, mas também provê uma camada protetora para as células contra influências adversas do ambiente (por exemplo: agentes oxidantes).

A estrutura da matriz é o resultado de complexas interações que ocorrem dentro dos componentes de EPSs, nas quais as ligas de hidrogênio, acoplamentos e o efeito de ponte de cátions multivalentes cumprem função essencial, como exemplo, uma forma dos polissacarídeos alcançarem a função estrutural ocorre por acoplamento com lipídios (CONRAD et al., 2003). McSwain et al. (2005) relatam que proteínas foram localizadas principalmente na região central, enquanto células e polissacarídeos foram localizados na extremidade exterior de flocos de lodo aeróbio ou de grânulos.

As LP-EPSs são constituídas por matrizes altamente hidratadas, e tendem a formar um lodo dispersivel que não apresenta borda bem definida. O material disperso por essa borda, eventualmente se desprende por razões variadas, como: i) maturidade do biofilme; ii) ocorrência de instabilidade

hidráulica, etc. O material disperso passa a semear novos espaços sobre o material suporte por meio da livre flotação no substrato, ou se envolve no mesmo núcleo auxiliando na expansão da colônia primariamente formada, entretanto, devido à sua maior fluidez, esse material está fortemente relacionado a colmatação de filtros. Su et al. (2013) referenciam que a proporção do conteúdo LP-EPSs observada em seus estudos foi de aproximadamente 1/5 de conteúdo de LC-EPSs. Foi informado que as LP-EPSs estão mais significativamente relacionadas com a estagnação de fluxo hidráulico em filtros, se comparado a LC-EPSs (WANG et al., 2009).

A estagnação do fluxo constitui fator importante na operação de filtros de areia e alguns cuidados são amplamente abordados em vasta revisão bibliográfica, no sentido de se evitar a falta de água na camada superior do leito de areia, com o intuito de se manter a hidratação necessária para a atividade microbiológica.

Na ausência de hidratação, a EPS responsável pela preservação da biota ativa é o primeiro elemento a apresentar alterações morfológicas condizentes com os efeitos da desidratação (Figura 3.13). Na ilustração, observa-se que as LP-EPSs, assim como sua porção solúvel, correspondem ao primeiro setor a ser afetado pela desidratação do biofilme.

Figura 3. 13 - Ilustração do fenômeno da desidratação de biofilmes e perda das EPSs. BIOFILME HIDRATADO BIOFILME DESIDRATADO



Fonte: Adaptado de Weijun et al. (2015).

Devido à estrutura distinta, EPSs possuem ampla área superficial, e apresentam numerosos grupos funcionais, exercendo grandes influências nas características de físico-químicas dos flocos de lodo, que incluem: i) hidrofobicidade; ii) floculação; iii) aderência; iv) sedimentação, e v)

propriedades de desidratação, em um contexto que afeta significativamente o funcionamento de filtros e MBRs por ocorrência da incrustação (LIN et al., 2014).

3.8.2 Propriedades de aderência das EPSs

A formação e aderência das EPSs em filtros tem múltiplas origens que incluem: excreção celular, lise celular, desprendimento de células superficiais de materiais e sorção ambiental, e podem ser caracterizados basicamente em quatro categorias: i) características nutritivas da água; ii) controle operacional dos filtros; iii) aditivos nutricionais; iv) pré-tratamento. Referências bibliográficas sobre o efeito desses fatores na produção das EPSs foram amplamente sumarizadas por Lin et al. (2014), entretanto, dos estudos referenciados pelos autores, as conclusões são bastante controversas ou mesmo inconsistentes, provavelmente devido a diferenças das condições de produção das EPSs avaliadas, além dos métodos aplicados nesses estudos.

As EPSs oferecem alta habilidade de aderência a superfícies devido a sua composição e estrutura. Conforme a Figura 3.14, as cadeias das EPSs são tipicamente flexíveis, e contêm regiões hidrofóbicas e hidrofílicas, permitindo o depósito das EPSs ou biofilmes em ambos os tipos de superfície (hidrofóbicas e hidrofílicas). A aderência das EPSs em material suporte aquático ocorre com base em muitas interações ou mecanismos. A teoria clássica (*Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek* – DLVO) assume que as superfícies que interagem são quimicamente inertes, foi desenvolvida para descrever a dupla camada eletrostática (*electrostatic double layer* – EL) e as interações de Lifshitz-van Der Waalls (LW) entre as superfícies de substâncias (VERWEY, 1947).

Figura 3. 14 - Aderência de EPSs sobre superfícies. A) superfície hidrofóbica; B) superfície hidrofílica.



Esta teoria poderia ser aplicada para descrever interações relativas aos EPSs. Porém, para flocos de biofilmes e superfícies de substrato, frequentemente foram observadas ligas de hidrogênio que exercem um impacto na adesão quando ocorre o contato um entre ambos (HERMANSSON, 1999). Em alguns casos, este tipo de interação se apresenta muito mais intensamente que as interações LW e EL, e considerando a importância das ligas de hidrogênio, Van Oss (1995) estendeu a teoria clássica de DLVO (primeira teoria usada para elucidar as interações envolvendo a aderência de bactérias), incluindo o as interações de Lewis (*Short-ranged Lewis acid-base –* AB), e construiu a teoria de XDLVO. Essa nova abordagem considera que a energia livre total de interação entre duas superfícies imersas em um meio aquoso, é a soma das forças de Lifshitz-van Waals (LW), interações polares (AB), interações da dupla camada elétrica (DL) e forças de movimento Brownian (BR).

São ilustrados estes três tipos de interações na Figura 3.15. Para calcular as interações de XDLVO, as propriedades superficiais da superfície de contato, inclusive potencial Zeta e diferentes componentes de tensão superficial, devem ser caracterizados usando medidores de potencial Zeta (Zetâmetros), e a medição do ângulo de contato combinadas com a equação estendida por Yong (VAN OSS et al., 1988).

Figura 3. 15 - Ilustração esquemática das interações de XDLVO: A) Interações EL, B) Interações LW, e C) Interações AB.



 \bigcirc Meio negativamente carregado δ^+ Meio levemente positivo δ^- Meio levemente negativo Fonte: Adaptado de Lin et al. (2014).

O real processo de aderência das EPSs é muito mais complexo que o descrito pela teoria de XDLVO, pois outras interações ou mecanismos são envolvidos nesse processo. O EPS contendo grupos ionizantes, pode reagir com cátions covalentes (por exemplo: Ca2b, Mg2b) dando origem a formas complexas. Este fenômeno é conhecido como pontes iônicas (Figura 3.16). Essas pontes iônicas não apenas neutralizam as cargas negativas transportadas pelas EPSs, mas também fortalecem a estrutura do biofilme, facilitando a aderência de substâncias incrustantes que resultam na colmatação de filtros (TANG et al., 2009).

Figura 3. 16 - Ilustração de: A) ponte iônica, e B) emaranhado polimérico envolvidos por adesivo incrustante (EPS).



Fonte: Adaptado de Lin et al. (2014).

3.8.3 Influência das EPSs nos mecanismos de colmatação de filtros

As EPSs definem efetivamente a morfologia dos biofilmes, que são consideradas como fator chave na colmatação de filtros, sendo geralmente caracterizada por dois parâmetros: tamanho dos flocos e dimensão fractal. Os tamanhos dos flocos estão relacionados à estabilidade do biofilme e a força de cisalhamento imposta pelo fluxo hidráulico, também são amplamente controlados pelas interações intermoleculares da estrutura do biofilme (LIAO et al., 2002), além de fatores ligados à aspectos nutricionais intrínsecos da água bruta.

Essas interações habitualmente incluem pontes de íons e emaranhados poliméricos nos quais EPSs têm importante papel. EPSs podem apenas atuar como "cola" que mantem as células unidas por meio dessas interações, e nesse sentido, foi reportado que maior conteúdo de EPS corresponde a maior estabilidade do biofilme (SHARGHI & BONAKDARPOUR, 2013).

Entretanto, não obstante sua efetiva participação na estrutura dos biofilmes, as EPSs afetam severamente a permeabilidade dos leitos filtrantes no decorrer do tempo de operação, diminuindo efetivamente a produção (ZHANG et al., 2006), e esse efeito abrange vários mecanismos que incluem: porosidade do meio filtrante, colmatação, formação de camada de material gelatinoso, formação de torta, contensão de coloides e efeitos da pressão osmótica, entre outro. Alguns desses efeitos são ilustrados na Figura 3.17.



Fonte: Adaptado de LIN et al. (2014).

As EPSs são os principais componentes da colmatação do meio filtrante, e sua capacidade de aderência entre flocos na formação de biofilmes, pode ser considerada como um estágio secundário da obstrução dos poros desses elementos. A operação contínua dos filtros habitualmente leva à formação de biofilmes sobre a superfície filtrante (Figura 3.17 - B), e esse processo tem sido reportado como sendo um efeito termodinâmico e hidrodinâmico (HONG et al., 2013).

Na camada de biofilme que se forma nos processos de filtração, a variação do potencial químico da água com a camada mais profunda do biofilme (Figura 3.17 - D). A drenagem da água a partir do lado de menor potencial químico, para o lado de maior potencial pode superar um gradiente osmótico de pressão, e dessa forma, a pressão osmótica pode ser considerada como existente durante a filtração nas camadas do biofilme (LIN et al., 2014). A resistência à filtração de uma superfície filtrante como os biofilmes formados sobre os filtros, é primariamente causada pela resistência hidráulica e efeitos da pressão osmótica (GAO et al., 2011), nessa condição, é necessária a remoção dos biofilmes.

A remoção das EPSs pode ser efetuada por ação física ou química, que são habitualmente eficazes para desalojar os EPSs aderidos. No contexto dos filtros de areia se observa facilidade ainda maior, devido a pequena área de contato proporcionada pelo material suporte (areia fina), além do curto tempo de operação entre as paradas para manutenção do leito de areia. Para limpeza de EPSs

em FLDs, a remoção, limpeza e reposição da camada superior do leito arenoso, ou a limpeza da manta não tecida são preferíveis, pois a limpeza por ação química pode comprometer a operacionalidade do sistema nas operações subsequentes, sendo esse um aspecto importante a ser observado na manutenção dos filtros de areia.

Independentemente da aplicabilidade na manutenção de filtros de areia, ainda que em um contexto doméstico (POU), a eficiência dos métodos químicos para remoção das EPSs e agentes incrustantes é bastante conhecida por sua robustez. Esses métodos incluem a aplicação de hipoclorito de sódio (NaClO), hidróxido de sódio (NaOH), ácido clorídrico (HCl), e ácido cítrico, sendo os mais utilizados na limpeza química de EPSs em MBRs (por exemplo), aos quais, a retrolavagem ou aplicação de ultrassom, também constituem importantes métodos de limpeza das EPSs. Em geral, NaClO e NaOH são eficientes na remoção de substâncias orgânicas incrustantes relacionadas às EPSs devido a seus efeitos de oxidação e hidrólise alcalina, no entanto, HCl pode quebrar estruturas associadas à metais (KIM et al., 2011).

3.9 Microssensores para estudos de biofilmes

O interesse em dispositivos microanalíticos altamente integrados promoveu o desenvolvimento de tecnologias híbridas de fabricação, que viabilizam a miniaturização e integração de todas as fases associadas a procedimentos bioanalíticos em um único dispositivo. Nesse âmbito, o desenvolvimento de plataformas microfluídicas para as áreas ambientais, bioquímica e, mais recentemente, aplicações de biologia celular, apresentou um exponencial crescimento na última década (PUI-OCK et al., 2008; MARTINEZ-CISNEROS et al., 2014).

Dada a importância da investigação dos fenômenos físicos, químicos e biológicos que ocorrem no interior de complexas estruturas biológicas (biofilmes) a partir da utilização de métodos pouco intrusivos e capazes de quantificar espécies químicas em seu interior; microssensores têm assumido notória posição como recursos indispensáveis no estudo de pequenas amostras de consórcios de micro-organismos presentes em sistemas biológicos de tratamento, além de outras diversas aplicações em química analítica, biotecnologia, medicina, estudos ambientais, indústria farmacêutica e alimentícia, com disponibilidade de bibliografias sobre a aplicação de microssensores para estudos de biofilmes nessas áreas.

Microssensores são instrumentos considerados indispensáveis para os estudos avançados de biofilmes e de pequenas amostras biológicas, pois permitem a sondagem de microambientes, bem como, a quantificação de químicos locais em microescala e volume, com alta resolução espacial, oferecendo informações que são difíceis de obter com a utilização de outros métodos analíticos (GONZALEZ, 2009).

Não obstante a grande atratividade dessa técnica, a aquisição desses dispositivos miniaturizados é dificultosa e onerosa para o mercado Brasileiro, além do fato de haver implicações do ponto de vista operacional para se utilizar de dispositivos com notável sensibilidade; como no caso dos microssensores para oxigênio dissolvido, que estão entre os mais aplicados para estudos de biofilmes.

Entre as vantagens para a utilização dessa técnica para estudos de biofilmes e pequenas amostras biológicas, podem-se citar; i) a aplicação de eletrodos com alta velocidade de resposta (< 1 s); ii) baixa sensibilidade à agitação; iii) ausência de depleção; iv) necessidade de pequeno volume de amostra, e v) alta resolução espacial.

Ao se considerar as vantagens dessa técnica, a provável razão para se utilizar dispositivos com dimensões tão pequenas (da ordem de 5 a 20 μ m) podem parecer bastante óbvias, mas encontram barreiras consistentes do ponto de vista operacional. Em essência, não faria o menor sentido se utilizar dispositivos tão sensíveis e capazes de gerar microperfis com resolução espacial de 5 μ m (por exemplo), sem que houvesse a disponibilidade conjunta de mecanismos sensíveis para posicionamento dos microssensores (*micro-steppers*), sistema para leitura e aquisição de dados, e por último; mas não menos importante, dispositivos (células de fluxo – ver JACKSON et al., 2001) que ofereçam condições favoráveis para o cultivo controlado do biofilme aderido, sob fluxo de baixa velocidade – objetivo do presente estudo.

Com a aplicação de microssensores é possível se obter muitas informações a respeito do transporte de massa mediante o estudo de biofilmes em baixa velocidade de escoamento, não excedendo a poucos centímetros por segundo, entretanto, existem situações em que o biofilme cresce em alta velocidade de escoamento (poucos metros por segundo), e esses biofilmes não oferecem fácil acessibilidade para inspeções *in situ*, devido ao fato de geralmente se acumularem em condutores (tubos) (LEWANDOWSKI & STOODLEY, 1995).

Lewandowski e Beyenal (2007) relatam que a partir de medições feitas com microssensores, dois tipos distintos de fatores podem ser quantificados:

> Fatores caracterizados pela atividade microbiana no biofilme, como exemplo: a taxa do consumo de nutrientes ou geração de subprodutos a partir do metabolismo de micro-organismos, e

 Fatores caracterizados pela transferência de nutrientes da solução (*bulk*) para o biofilme e dentro do biofilme; como exemplo: a profundidade de penetração de nutrientes, o coeficiente de transferência de massa, e a difusividade.

Diferentes tipos de microssensores para avaliação de variáveis distintas, tais como: O_2 , N_2O , SO_4^{2-} , NO_3^{-} , N-amoniacal (NH₃), H₂O₂, pH, CO₂, Sulfatos e POR representam ferramentas específicas para o estudo de biofilmes em sistemas para tratamento biológico (por exemplo).

Na Figura 3.18 é apresentada foto de microssensor para medição da concentração de oxigênio dissolvido em biofilme, e a parte mais importante do eletrodo é a ponta sensível, que deve ser pequena, com poucos micrometros de diâmetro, de maneira a não danificar a estrutura do biofilme em estudo (LAMON, 2014).



Figura 3. 18 - Foto microscópica de microssensor de OD e componentes internos.

Especificamente, os microssensores podem ser considerados recursos efetivos no estudo de biofilmes, devido ao tamanho reduzido, aliada à alta resolução espacial. São instrumentos capazes de proceder a aquisição de microperfis de concentração de substratos distintos em sistemas de biofilmes, por meio dos quais, é possível se analisar da atividade microbiana nos microambientes, sem que haja dano aos sistemas biológicos em estudo. Características excepcionais desses instrumentos permitem ainda o estudo de fenômenos hidrodinâmicos em biofilme, bem como a determinação de sua espessura.

A aplicação de microssensores se faz essencial na elucidação da formação e desenvolvimento do biofilme em escala micrométrica, a fim de possibilitar a compreensão dos processos bioquímicos que ocorrem em seu interior.

Fonte: O autor.

O micrometro ou micrômetro é habitualmente usado para medições precisas, e constitui unidade de comprimento do Sistema Internacional de Unidades (SI), cujo símbolo é expresso como μ m. Essa unidade equivale a milésima parte do milímetro, ou a 1 milionésimo de metro (1x10⁻⁶).

O termo "microssensor" é frequentemente usado quando se faz referência a um pequeno sensor eletroquímico, a exemplo dos microeletrodos utilizados por Beyenal & Lewandowski (2001), ou Gonzalez (2009), para medições de concentrações químicas em biofilme, ou até mesmo para o monitoramento ambiental (LAMON, 2014). Nesse âmbito, torna-se mais adequado especificar fatores que se requer para um microssensor adequado para estudos em biofilme, do que tentar justificar arbitrariamente qualquer seleção linear, e se referir a ela como "micro", não obstante à atratividade que essa técnica oferece aos pesquisadores de biofilmes.

Microssensores utilizados para estudos de biofilmes são construídos com formas alongadas, e corpo com diâmetros variados, cuja ponta sensível muitas vezes apresenta menos de 10 μ m de diâmetro; ainda que, durante o seu processo de fabricação ocorram variações com a produção de sensores de 20; 30; 50 ou até mesmo de 100 μ m de diâmetro, sendo as últimas, menos recomendadas para aplicação em biofilme, porém, podem ser utilizados para outras investigações, como em estudos de ecossistemas efetuados por Lamon (2014).

Outra razão de expressiva importância para a seleção de microssensores com ponta bastante fina, é que a resolução espacial é frequentemente igual ou maior que o diâmetro da ponta sensível do sensor, logo; quanto maior a resolução espacial, maior a resolução gráfica dos microperfis obtidos por meio dessa técnica, podendo alcançar, como exemplo; a resolução espacial de 20 μ m (Figura 3.19).

Figura 3. 19 - Foto microscópica da ponta sensível de microssensores de OD – resolução espacial igual ao diâmetro da ponta sensível do microssensor.



Fonte: o autor.

O diâmetro em torno de 20 µm pode ser considerado como bastante promissor, por oferecer excelente resolução espacial por ser pouco intrusivo e ser grande o suficiente para resistir a abusos moderados do operador. Sensores menores que 20 µm possibilitam ainda, a obtenção de perfis que permitem a observação de gradientes no interior dos micronichos sem que haja danos nas estruturas do biofilme em estudo (LEWANDOWSKI & BEYENAL, 2003).

Como a espessura da maioria dos biofilmes atinge geralmente poucas dezenas de micrometros, e as medições são realizadas dentro do espaço ocupado por biofilmes nas soluções de imersão (bulk) e nas proximidades do biofilme, torna-se fácil se imaginar o porquê do uso de microssensores com dimensões menores que 20 µm e a necessidade de serem feitas medições em microescala. Tão logo obtidos os microperfis, a determinação da localização da superfície do biofilme com intuito de medição das camadas reativas, segue ao critério de observação do final do primeiro ponto de inflexão do perfil.

A Figura 3.20 apresenta exemplos típicos do gradiente de oxigênio dissolvido em biofilmes aderido sobre diferentes materiais suporte aplicáveis em sistema para tratamento de águas residuárias, para estudos das zonas aeróbias e anaeróbias na microestrutura, com alta resolução de leitura (20 µm) (ONO, 2007).



Figura 3. 20 - Microperfis típicos obtidos com a aplicação de microssensores em biofilme.



Na Figura 3.20 se observa a espessura total dos biofilmes e o gradiente da concentração de OD na camada reativa aeróbia e anaeróbia em diferentes materiais. A partir do momento em que o microssensor atinge a superfície do biofilme, a concentração de oxigênio dissolvido tende à diminuição rapidamente, em decorrência do consumo de oxigênio pela microbiota presente no biofilme em sua atividade metabólica.

A inserção dos microssensores em biofilmes heterogêneos habitualmente é precedida pela escolha do local da amostra onde visualmente ocorra maior densidade de material aderido. Essa escolha pode ser feita por microscopia ou mesmo a olho nu, evitando-se que o microssensor atinja regiões ocas, de maneira a direcionar as análises em busca dos *clusters* (Figura 3.21).

Figura 3. 21 - Ilustração do posicionamento de microssensores para obtenção de perfis.



Fonte: Adaptado de CBE (2017).

A inserção de microssensores nas regiões mais densas, nas quais ocorre maior número de *clusters*, obviamente proporciona resultados diferenciados quando comparadas a inserções feitas em regiões onde ocorrem os interstícios (vazios) ou canais dos biofilmes. Como exemplo, na Figura 3.21. (visão do biofilme em um plano paralelo ao substrato), é possível se notar as duas possibilidades, e o resultado de medições de microperfis de OD em ambas as posições, demonstraria a ocorrência de maior concentração de OD nas regiões vazias do biofilme como consequência da menor atividade microbiológica.

É muito comum a observação de microperfis, nos quais mesmo quando todo oxigênio dissolvido foi consumido, o microssensor prossegue, alcançando maior profundidade, na qual a

concentração de oxigênio dissolvido medida é muito próxima de zero. Essa região pode estar relacionada com a zona anaeróbia presente no biofilme, habitualmente localizada próxima à superfície do material suporte.

As medições não são interrompidas mediante a observação de regiões anaeróbias, o sistema de leitura automatizado prossegue a aquisição de dados até que a ponta sensível do microssensor atinja a superfície do material suporte e literalmente se quebre (GONZALEZ, 2009). A quebra da ponta sensível do microssensor gera um pico de corrente elétrica medida pelo sistema de leitura, sinalizando efetivamente a base do biofilme (Figura 3.22). A despeito de ser dispendioso, esse método de sinalização é bastante eficiente – microssensores são descartáveis e não reutilizados.

Figura 3. 22 - Foto microscópica de microssensor de OD após rompimento da ponta sensível.



Fonte: o autor.

A partir dos resultados das medições com microssensores, pode-se definir, por exemplo, qual material suporte teria aplicação mais adequada (considerando-se a especificidade de cada sistema) em reatores com biomassa imobilizada para os processos bioquímicos necessários para remoção de nitrogênio em sistemas biológicos (Sarti et al., 2016).

A técnica utilizada para se mensurar a estrutura química no interior de biofilmes com o uso de microssensores é habitualmente utilizada em conjunto com outras técnicas comuns, como: microscopia ocular, *confocal scanning laser microscopy* (CSLM) e *fluorescence in situ hybridization* (FISH) (GONZALEZ et al., 2011; LEWANDOWSKI & BEYENAL, 2003). Em combinação com outras técnicas, microssensores oferecem informações adicionais sobre a "química local", associada a presença e distribuição de vários grupos fisiológicos de micro-organismos e a estrutura física de agregados microbianos no biofilme.

A utilização de várias técnicas em conjunto se insere em um contexto de alto desempenho no que tange à qualidade e confiabilidade dos resultados obtidos, e constituem ferramentas efetivas para estudos de biofilmes, vastamente aplicados nas áreas de biotecnologia, sendo essa, área interdisciplinar fortemente ligada à pesquisa científica e tecnológica.

3.9.1 Microssensores de OD – Princípios de funcionamento e calibração

Para microssensores polarográfico tipo Clark para medições de OD, quando a tensão de polarização (-0,8 Volt) é aplicada entre catodo e anodo, o oxigênio se difunde através da membrana de silicone, atinge a superfície do catodo e é imediatamente reduzido. Essa reação produz variações na corrente elétrica do circuito cuja intensidade é proporcional à área do eletrodo, ao número de elétrons que alcançam o mesmo, e ao fluxo das espécies eletroativas, que são, por sua vez, proporcionais à concentração do oxigênio do lado externo da membrana.

A redução do oxigênio é alcançada em potencial entre 0,5 a 1,2 Volts. Aplicando-se a tensão de 0,8 Volt (inversamente polarizada), tipicamente se obtém as condições de limite de corrente (LAMON, 2014), e a reação no catodo se deve somente a taxa de transferência de massa, consequentemente, a corrente mensurada é equivalente à concentração de oxigênio dissolvido ao redor da ponta sensível do sensor. O eletrólito usado é (1M) KCl. E o oxigênio é reduzido no eletrodo de platina (catodo) na seguinte reação:

Reações do Catodo:
$$2e^{-} + \frac{1}{2}O_{2} + H_{2}O \rightarrow 2 OH^{-}$$
 Equação 3.4

Pelos elétrons derivados da meia-reação que ocorre no eletrodo de referência Ag/AgCl (anodo):

Reações do Anodo:
$$2Ag + 2Cl^2 \rightarrow 2AgCl + 2e^2$$
 Equação 3.5

$$\text{Fotal de Reações:} \qquad \frac{1}{2} \text{ O}_2 + \text{H}_2\text{O} + 2\text{Ag} + 2\text{Cl}^- \rightarrow 2 \text{ OH}^- + 2\text{AgCl} \qquad \text{Equação } 3.6$$

Após a conexão com a fonte de tensão de polarização (0,8 Volt), os microssensores devem permanecer inativos antes da obtenção das medidas de OD, a fim de se obter a polarização. Esse

processo demanda tempo que varia de acordo com algumas características construtivas dos microssensores que fogem ao controle de fabricação, e o tempo pode variar habitualmente entre 1 e 10 minutos.

Tão logo ocorra a polarização, a calibração é feita de acordo com o método utilizado por Lu & Yu (2002). O microssensor, então, é submetido à água saturada com N₂ (0 mg O₂l⁻¹), (habitualmente pode ser usada solução de Sulfito de Sódio a 5%), e após estabilização da leitura, o microssensor é submetido a água saturada com oxigênio (7,8 mg O₂l⁻¹), considerada a dependência das condições de pressão atmosférica e temperatura locais. Como a curva de calibração é linear, dois pontos são suficientes e a corrente elétrica medida é diretamente proporcional à concentração de OD no meio líquido (LEWANDOWSKI & BEYENAL, 2007). O método de calibração adotado por Lamon (2014) permite obter elevado grau de repetitividade e estabilidade nas leituras de oxigênio dissolvido, esse desempenho pode ser observado na Figura 3.23.



Figura 3. 23 - Leituras do microssensor de OD durante a calibração (1pps).

Fonte: Lamon (2014).

Lamon (2014) descreve a utilização de microssensores para análises laboratoriais, e apresenta vantagem inquestionável no que concerne ao efeito da depleção desses dispositivos quando comparados a macrossensores, em testes comparativos de medições efetuadas com macrossensor polarográfico de OD da marca YSI® modelo 5100 e microssensores de OD (ambos *Clark-type*). Medições foram aquisicionadas e registradas pelo autor utilizando os dois métodos de medição durante 20 minutos em água saturada com OD (sem agitação) para observação da depleção promovida pelos eletrodos. (Figura 3.24).



Figura 3. 24 - Gráfico de teste de depleção de OD em micro e macrossensor.

Na Figura 3.24 se observa a expressiva diferença entre os registros das medições de oxigênio dissolvido. Segundo Lamon (2014), microssensores de OD não apresentam depleção dado a diminuta quantidade de O₂ que permeia por sua membrana seletiva, e é reduzido em seu interior para gerar os sinais de corrente elétrica, entretanto; nas medições efetuadas com macrossensores o decaimento dos sinais é bastante expressivo, e em apenas 2 minutos de medição ocorreu cerca de 40% de redução do valor de saturação inicialmente medido, esse decaimento se acentuou até 10 minutos da medição chegando a aproximadamente 70% do valor de saturação inicial.

A ausência da depleção em medições obtidas por meio da utilização de microssensores para medições de OD conduziu ao desenvolvimento de método analítico aplicado no presente trabalho, que permitiu a medição da ocorrência de atividade microbiológica aeróbia em pequenas amostras contendo biofilmes, em auxílio às determinações feitas por microscopia, proporcionando parâmetros do potencial da taxa de respiração da biota ativa em amostras de manta não tecida dos filtros em estudo. O gráfico da Figura 3.25 apresenta um estudo comparativo de medições com microssensores quando comparados com o método de Winkler para medições de concentração de oxigênio dissolvido (APHA, 2012), no qual as amostras com concentrações variadas de OD foram medidas com microssensores e imediatamente coletada para análise de Winkler.



Figura 3. 25 – OD: medições com microssensores e método de Winkler.

Por meio do gráfico da Figura 3.25 é possível se notar a semelhança das medições de OD efetuadas com os dois métodos descritos. Devido à alta velocidade de resposta dos microssensores de OD (< 1 s), o tempo necessário para se efetuar a coleta de amostras para avaliações pelo método de Winkler, pode ser o responsável por pequenas variações observadas, ainda que sejam desprezíveis.

3.9.2 Microssensores de POR – Princípios de funcionamento e calibração

Microssensores para POR pertencem ao grupo de sensores potenciométricos, cujo princípio de medição é bastante simples, cujas implicações foram amplamente discutidas por Lamon (2014).

Uma diferença de potencial é medida entre dois eletrodos (catodo e anodo). A faixa de medição fica entre -1 e +1 Volt, e é medida por meio de eletrômetro com alta impedância de entrada, habitualmente conectado a um sistema de aquisição de dados com *software* especialmente escrito para a aplicação, cuja arquitetura permite a inserção de fatores de calibração, leitura e registro.

A determinação de POR é obtida por meio da medição da diferença de potencial entre dois eletrodos, sendo o primeiro fabricado com material inerte (normalmente Platina, Ouro ou Grafite), em contato com o meio aquoso, e o segundo, um eletrodo de referência estável, com um potencial de oxido-redução padrão (conhecido), que entra em contato com o analito por meio de uma ponte salina. Nesse circuito, o eletrodo de trabalho permanece ativo, transferindo ou recebendo elétrons do eletrodo de referência (LAMON, 2014).

Microssensores para POR são construídos a partir dos mesmos métodos aplicados para moldagem de componentes utilizados em microssensores de OD, no que concerne à moldagem de vidraria fina e preparação de anodos e catodos (LAMON, 2014; LEWANDOWSKI & BEYENAL, 2007). Estando selados os componentes internos e provisionadas as conexões elétricas, o microssensor passa por rápido processo de calibração, o que é feito a partir da obtenção de dois pontos de calibração com soluções padrão de +228 mV e +475 mV. Como o eletrodo responde linearmente, dois pontos de calibração são suficientes e o *software* utilizado para as leituras, salva as calibrações que antecedem a cada aplicação do microssensor de POR.

Na obtenção do potencial padrão obtida com eletrodos de referência cujo potencial é conhecido, é necessária uma conversão a partir da observação da diferença de potencial medida entre os eletrodos, que é aplicada na Equação 3.4:

$$E_{ob \mid refB} = E_{ob \mid refA} - E_{refB \mid refA}$$
(Equação 3.7)

Em que:

*ref*A: referência desejada;*ref*B: referência utilizada na medição, e*E_{ob}*: potencial medido.

A ponta sensível dos microssensores de POR (5 a 10 µm) permite a obtenção de microperfis no interior de biofilmes com altíssima resolução de leitura. Os microssensores combinados (com catodo e anodo inseridos no mesmo compartimento) de POR (Figura 3.26) possuem o compartimento externo similar aos microssensores de OD, com exceção da abertura lateral na qual é instalada a ponte salina.



Figura 3. 26 - Microssensor de POR do tipo combinado.

- 1. Catodo de trabalho
- 2. Ponte salina
- 3. Compartimento externo
- 4. Anodo AgAg/Cl
- 5. Eletrólito KCl 1M

Fonte: Lamon (2014).

Como exemplo do resultado tipicamente obtido por meio da aplicação de microssensores de POR para estudos de biofilmes, na Figura 3.27 é apresentado um microperfil obtido em biofilme aderido sobre eletrodo de manta de fibra de carbono, aplicada no estudo de Gonzalez (2013) sobre a geração de energia elétrica em reatores para tratamento de esgoto.





Fonte: Gonzalez (2013).

3.9.3 Análises com microssensores – Definição da superfície de biofilmes

Segundo Lewandowski e Beyenal (2007), a hidrodinâmica que ocorre no interior de reatores biológicos afeta não apenas a pressão, mas também a taxa do transporte de nutrientes do substrato para o biofilme. Nos modelos para biofilmes, a taxa das reações é igual a taxa de transporte de reagentes para a superfície dos biofilmes, porém, os modelos conceituais de transporte de massa na superfície dos biofilmes mostram a camada de difusão próxima a superfície do biofilme e também assume que essa camada de difusão compreende toda a resistência do transporte de massa para o biofilme.

Nesses modelos, a taxa de transporte de massa para o biofilme é computada como o fluxo de nutrientes através da camada de difusão. Assumindo que o perfil da concentração de nutrientes nessas camadas seja linear, o fluxo pode ser computado pela primeira Lei de Fick, entretanto, o resultado desses cálculos depende da posição da superfície do biofilme em determinado perfil de concentração, mas a determinação da exata posição dessa superfície não constitui tarefa fácil.

Nos perfis obtidos por meio de microssensores, as regiões acima do filme contêm informações sobre o transporte de substrato para o biofilme, e o perfil abaixo da superfície do biofilme contem informação sobre a presença de atividade microbiológica (LEWANDOWSKI, 1994), dessa forma, torna-se importante a definição da superfície do biofilme para qualquer conclusão analítica.

O problema em se localizar a superfície do biofilme em um perfil de concentração de nutrientes (por exemplo), conduziu a estudos paralelos sobre o tema. Conceitualmente, a superfície do biofilme se localiza no primeiro ponto de inflexão dos perfis, entretanto, conforme pode ser observado na Figura 3.28, a posição desse ponto muitas vezes não é bem definida, tornando difícil sua designação, e esse efeito torna-se ainda pior quando se trata de gráficos feitos a partir de sinais ruidosos, nos quais os dados inseridos estejam dispersos, podendo induzir a erros de interpretação sobre a real medição da superfície do biofilme (LEWANDOWSKI & BEYNAL, 2007).



Figura 3. 28 - Perfil de oxigênio dissolvido obtido com microssensor.

Fonte: Adaptado de Lewandowski & Beyenal (2007).

Para designação da superfície do biofilme em determinado perfil, obtido de maneira experimental, Lewandowski et al. (1991) desenvolveram dispositivo analógico constituído por um microssensor eletroquímico *Clark-type* para medições de oxigênio dissolvido, anexado a um microssensor de fibra óptica de 10 µm de diâmetro para medição de intensidade luminosa. As pontas sensíveis foram posicionadas ao mesmo nível horizontal. Um diodo emissor de luz (LED) foi instalado abaixo de um disco de Petri, no qual foi cultivado o biofilme em estudo. Assim, os sensores combinados mediram ao mesmo tempo a concentração de OD e a intensidade luminosa, porém, o perfil de densidade ótica mudou abruptamente ao tocar a superfície do biofilme.

Na Figura 3.29, a partir de microperfis de OD e de densidade ótica sobrepostos, foi possível se localizar a superfície do biofilme no microperfil de OD. O microperfil de densidade ótica demonstrou que a superfície do biofilme se encontra no final do primeiro ponto de inflexão do microperfil de OD, em posição 0,60 mm acima da superfície do material suporte – no gráfico *I* representa a intensidade de luz local, e I_0 representa a máxima intensidade de luz.



Figura 3. 29 - Perfil de oxigênio dissolvido e densidade óptica em biofilme.

Fonte: Adaptado de Lewandowski & Beyenal (2007).

Baseados nesse resultado, e devido ao fato de que a construção de microssensores combinados (OD e óptico) demanda muito trabalho, Lewandowski & Beyenal (2007) convencionam o final do primeiro ponto de inflexão nos perfis de concentração como sendo a superfície do biofilme. Essa "regra" tem sido reforçada por enumeras outras medições, e é usada em muitas outras computações (LEWANDOWSKI et al. 1991; DeBEER et al. 1994).

Nas medições de OD por meio de microssensores, a forma dos microperfis é determinada por fatores diversos, como:

- Taxa de absorção do gás imposta pelo substrato; que é função da concentração de micro-organismos e sua afinidade pelo substrato;
- Taxa de transporte de substrato através do filme, que depende da difusividade do substrato através do biofilme, e
- iii) Taxa de transporte do substrato para o biofilme, que é uma função da taxa de absorção microbiana no substrato; difusividade do substrato através da água e hidrodinâmica próxima a superfície do biofilme.

A forma do perfil de concentração é simultaneamente influenciada por todos esses fatores, consequentemente, a interpretação dos microperfis é complexa, mas muitos progressos foram obtidos na extração de informações de microperfis. Um procedimento para cálculo de parâmetros cinéticos foi apresentado por Lewandowski et al. (1991), porém, esses procedimentos requerem que a água esteja estagnada acima do biofilme, resultando em uma concentração linear de substrato no decorrer

da difusão da camada limite, que, naturalmente; simplifica o cálculo. Outras condições são também abordadas pelos autores.

3.10 Sistema servo-assistido para aplicação de microssensores

Usualmente, microssensores para estudos de biofilmes têm a operação de introdução no biofilme efetuada pelo uso de micromanipuladores servo-assistidos (*micro-stepper*), controlados via *software* especialmente escrito para a aplicação (DE LA ROSA & YU, 2004).

O mecanismo permite a introdução do microssensor de forma criteriosa com passos préprogramados que podem variar de 5 a 200 µm de profundidade entre cada leitura do microssensor. Por meio do *software* de controle é determinado o comprimento dos passos (µm) e o tempo de pausa entre cada passo (s). Durante a pausa, o *software* procede a leitura do parâmetro em estudo e vincula esses dados à posição atual do *micro-stepper* em sincronismo, dando origem a uma planilha habitualmente arquivada no formato .txt. Na Figura 3.30 se observa um *micro-stepper* para obtenção de microperfis, utilizado no Laboratório de Microssensores e Biofilmes da EESC-USP.

Figura 3. 30 - Sistema servo-assistido (stepper) para posicionamento de microssensores.



- 1 Servo-motor do eixo Y
- 2 Servo-motor do eixo X
- 3-Servo-motor do eixo Z
- $4 Base \ suporte$
- 5-Microssensor
- 6 Biofilme em estudo
- 7 Haste suporte

Fonte: o autor.

O *micro-stepper* é conectado eletronicamente à um módulo *driver* fabricado exclusivamente para esta aplicação (Figura 3.31). O *driver*, assim como o picoamperímetro Hp 4140B que mede a corrente elétrica produzida pelos microssensores, são conectados à uma placa de aquisição da marca National Instruments®, modelo NI PCI-GPIB IEEE 488.2 *Interface card* 188513E-01L (*onboard*). O *set-up* foi descrito por Gonzalez (2009), e é utilizado no Laboratório de microssensores e Biofilmes da EESC/USP.

Figura 3. 31 - Módulo Driver para comando do micro-stepper e set-up para aplicação de microssensores.



Fonte: o autor.

3.11 Células de fluxo para estudos de biofilmes

Células de Fluxo (CFX) também conhecidas como LBR (*leach bed reactor* – LBR), ou reator de canal aberto (*open-channel flat-plate reactor*), provavelmente representam o maior grupo de reatores compactos para estudos de biofilmes. Ainda que sua geometria seja bastante variada a fim de reproduzir os aspectos dinâmicos dos processos que envolvem a formação dos biofilmes, todos operam sob o mesmo conceito: Quando operados sob condições bem controladas, o biofilme cresce sobre o fundo, nas paredes do reator, e sobre objetos imersos que estejam em contato com o meio líquido. A popularidade desses reatores é determinada por sua conveniência, pois permitem o monitoramento da estrutura do biofilme e sua atividade ao mesmo tempo (LEWANDOWSKI & BEYENAL, 2007).

Não existem CFXs para uso universal, que possam atender a todas as pesquisas de biofilmes de maneira apropriadas. Embora muitos processos de biofilmes que acontecem em meio natural possam ser reproduzidos nas CFXs, a complexidade das interações físico-químicas e biológicas, além do acesso à nutrientes, superfície e fase gasosa que ocorrem no interior de reatores compartimentados, podem vir a comprometer a fiel reprodução dos biofilmes em CFXs. Essa questão exige uma análise crítica sobre as condições estruturais e operacionais, a fim de minimizar interpretações paralelas nos resultados de estudos de biofilmes.

Assim, por razões práticas, torna-se conveniente se distinguir dois tipos de variáveis em estudos de biofilmes: i) variáveis medidas, e ii) variáveis controladas, que são termos autoexplicativos. Nesse contexto, a terminologia "relevância de estudo" define a extensão em que os resultados de estudos de biofilmes em CFXs refletem o desempenho de reatores biológicos em escala real, e o termo relevância de estudo serve para lembrar que os estudos feitos em CFXs proporcionam resultados que dependem de escolhas feitas sobre o tipo de CFX, e condições operacionais e não reproduzem efetivamente os processos que ocorrem em reatores em escala plena de maneira fiel.

No interior das CFXs, e sob condições hidrodinâmicas bem definidas, alguns estudos requerem a introdução de lâminas de microscópio (lâminas ou lamínulas de vidro) acondicionadas convenientemente. No final do experimento, lâminas podem ser removidas e conduzidas para análises microscópicas e/ou microssensores. Estudos sobre biofilmes também podem ser conduzido no próprio fundo de vidro das CFXs para crescimento de biofilme.

O crescimento de biofilmes sobre lâminas de vidro é muito usado em estudos nos quais as amostras devem ser removidas do reator, e posteriormente seguir por diferentes procedimentos analíticos, como no caso de testes de eficácia antimicrobiana ou para a descrição temporal da acumulação de biofilmes (tema desta pesquisa) (LEWANDOWSKI & BEYENAL, 2007).

Lewandowski e Beyenal (2007) descrevem a construção de reatores tipo *Flat-Plate* de canal aberto, que viabilizam a análise de biofilmes formados sobre base de vidro a partir de microscopia e microssensores, e esse tipo de reator tem sido amplamente utilizado no Laboratório de Microssensores e Biofilmes da EESC-USP.

A aplicabilidade das células de fluxo para vários estudos de biofilmes demanda da utilização de configurações diversificadas no que se refere não apenas a sua geometria, mas também às condições operacionais, de maneira a "reproduzir" o ambiente operacional dos biofilmes em estudo. Basicamente, as CFXs são operadas em 3 configurações distintas (Figura 3.32).



Figura 3. 32 - Ilustração de CFXs: (a) sem recirculação; (b) com recirculação, e (c) com recirculação e câmara de mistura.

Fonte: Adaptado de Lewandowski & Beyenal (2007).

A partir da seleção da escolha de uma CFX que pareça adequada para determinado estudo, o pesquisador define muitas opções operacionais (conscientemente ou não) como: qual processo de biofilme será enfatizado; qual será o compromisso, e quais análises serão possíveis, ou não.

Nas CFXs é possível se reproduzir várias funções de reatores naturais de biofilmes, com o benefício do estudo de biofilmes isolados. No entanto, esses benefícios muitas vezes impõem limitações sobre a relevância dos resultados, que são diretamente afetados pelas escolhas pelo tipo de CFX e pelas condições experimentais e, nesse sentido, torna-se importante a atenção sobre tais limitações; ainda que o pesquisador resolva ignorá-las posteriormente.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 Considerações iniciais

O período experimental da presente pesquisa, incluiu 8 meses de operação, nos quais foram efetuadas 8 carreiras de filtração (1 a cada mês), com início no dia 01 de junho de 2018 e término dia 30 de janeiro de 2019.

As condições climáticas para o período experimental condizem com a distribuição das estações para o ano de 2018 e início de 2019, com exceção do período chuvoso, que habitualmente ocorre no verão, porém, para o ano de 2018, o período de maior incidência de chuvas ocorreu na primavera:

- Outono: de 20 de março (13h15min) a 21 de junho (7h07min).

- Inverno: de 21 de junho (7h07min) a 22 de setembro (22h54min).

- Primavera: de 22 de setembro (22h54min) a 21 de dezembro (19h23min) – período chuvoso.

- Verão: de 21 de dezembro (19h23min) a 20 de março de 2019 (18h58min).

Na Figura 4.1 é apresentada a estrutura operacional e as etapas desenvolvidas nesta pesquisa.

Figura 4.1 - Estrutura experimental.



Fonte: o autor.

4.2 Seleção de materiais e estrutura dos filtros lentos de areia

Toda a montagem estrutural dos dois filtros lentos de areia para uso domiciliar foi feita nas instalações do Departamento de Hidráulica e Saneamento (Campus I – USP), da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC). A água bruta aplicada aos filtros lentos domésticos (FLDs) foi proveniente do Rio Monjolinho (Córrego Espraiado) de São Carlos-SP.

Para a parte estrutural dos filtros (Figura 4.2) foram empregados materiais fabricados em PVC da linha água adutora (Defofo), com diâmetro interno de 260 milímetros. Os materiais foram doados pela empresa Mexichem Brasil (Amanco), e as demais conexões hidráulicas foram obtidas em lojas do ramo de materiais de construção da cidade de São Carlos-SP.

Figura 4. 2 - Estrutura dos filtros lentos de areia para uso doméstico. A) filtro operado em modo contínuo; B) filtro operado em modo intermitente (medidas em centímetros).



Fonte: o autor.

Para a seleção das areias utilizadas nos filtros, foram efetuados ensaios granulométricos em diferentes amostras de areia, no laboratório de preparação de amostras no Departamento de Geotecnia da EESC – USP Campus I. Para metodologia de referência foi consultada a Norma Brasileira ABNT-NBR 11799 (ABNT, 2016a). Como resultado, foram escolhidas amostras que mais se aproximaram das características de interesse (D₁₀, CU, e porcentagem de grãos finos), conforme recomendações de CAWST (2010).

As areias obtidas com as especificações desejadas foram lavadas manualmente utilizando baldes e água do poço artesiano da EESC-USP Campus I. Uma porção de água e uma de areia foi misturada e aguardados 5 segundos para sedimentação dos grãos, posteriormente, o sobrenadante foi rejeitado, e o processo foi repetido consecutivas vezes até que se atingisse a turbidez do sobrenadante com valor menor que 10 NTU. Após concluída a lavagem, as porções dos materiais foram secas ao sol sobre lonas plásticas, e na sequência, as amostras foram peneiradas.

Acima da superfície filtrante do leito arenoso de ambos os filtros foi adequadamente instalada uma manta não tecida de material sintético, com 2,8 mm de espessura, composta por fibras 25 µm, obtida em loja de aviamento local.

O material que compõe o leito filtrante de ambos os FLDs teve a seguinte composição: i) 7,5 cm de pedregulho grosso na parte inferior; ii) 5 cm de pedregulho fino; iii) 5 cm de areia grossa; iv) 50 cm de areia média na camada superior, e v) camada sobreposta de manta não tecida. Na Tabela 4.1, é descrito o material utilizado no meio filtrante e a especificação de abertura das peneiras utilizadas.

Sequência de Inserção dos materiais		Componentes do meio Filtrante	Espessura passante das peneiras superiores (mm)	Espessura passante das peneiras inferiores (mm)
5ª	Sobreposta	Manta não tecida de 2,8 mm, fios 25 µm	-	-
4 ^a	Superior	Areia média	1,5 x 1,5 ¹	-
3ª	Superior intermediária	Areia grossa	3 x 7 ²	1,5 x 1,51
2ª	Base intermediária	Pedregulho fino	5 x 12 ³	5 x 8 ⁴
1 ^a	Base	Pedregulho grosso	11,5 x 11,5 ⁵	5 x 12 ³

Tabela 4.1 - Assentamento do material filtrante e especificações das peneiras.

Nota: Nome popular das peneiras: ¹peneira de fubá; ²peneira de arroz; ³peneira de café; ⁴peneira de feijão, e ⁵peneira construída com tela utilizada em galinheiros.

4.2.1 Montagem dos filtros contínuo e intermitente

A fim de contribuir efetivamente com tecnologias adaptadas às comunidades, foram considerados aspectos de transferência de tecnologia, no que concerne a menor complexidade no uso de ferramentas, equipamentos e habilidades específicas. Nesse contexto, foram utilizados materiais e ferramentas simples e de fácil acesso.

Após a finalização da parte estrutural dos filtros, teve início o preenchimento com as camadas de pedregulhos e areias. Para essa etapa, foram seguidas as recomendações da norma ABNT-NBR 11799 (ABNT, 2016a).

O meio filtrante foi inserido com o filtro cheio de água para que ocorresse a estratificação do meio granular e para evitar a formação de bolsões de ar. As camadas de materiais que constituíram o leito filtrante e suas respectivas medidas em relação a base do corpo dos filtros lentos de areia são descritas na Figura 4.3.



Figura 4.3 - Medidas das camadas que constituem o leito filtrante dos FLDs.

Fonte: o autor.

Para o acompanhamento da perda de carga por meio de piezômetros, e coleta de amostras d'água dos pontos pré-definidos para alimentação das células de fluxo (CFXs), foram adaptados no corpo estrutural de ambos os filtros, espigões em aço inoxidável AISI 316 de 3/8". Mangueiras de silicone transparentes foram conectadas e sobrepostas a escalas graduadas para marcação do nível.

Em cada filtro lento em areia, foram instaladas 6 tomadas com piezômetros para avaliação das 6 séries de perda de carga nas camadas do leito filtrante, e mais 3 tomadas para alimentação de
células de fluxo (CFXs). As conexões foram adaptadas no corpo dos filtros em conformidade com a descrição métrica da Figura 4.4.

Figura 4. 4 - Conexões para piezômetros e saídas de abastecimento para células de fluxo (CFXs). A) filtro contínuo (F1); B) filtro intermitente (F2).



Fonte: o autor.





4.2.2 Caracterização dos materiais

Ensaios de solubilidade dos materiais filtrantes foram efetuados com base na NBR 11799 (ABNT, 2016a). Os ensaios para a quantificação da massa específica das areias e pedregulhos foram realizados segundo a ABNT-NBR 6458 (ABNT, 2016b), utilizando o método com picnômetro. Posteriormente, a determinação da porosidade do material filtrante foi obtida.

Tão logo obtidas as massas específicas dos materiais que compõem o leito filtrante, foi possível realizar ensaios para determinar os índices de vazios máximo e mínimo, com base na NBR 12004 (1990) e NBR 12051 (1991). Para determinar os índices de vazios máximo e mínimo, foi utilizado um suporte com cilindro de prova de volume de 995,48 cm³ e 5,66 kg de massa. As amostras foram preenchidas no suporte e calibrados os seus respectivos volumes com o cilindro, posteriormente, o conjunto foi pesado a fim de se obter os índices de vazios pela Equação 4.1.

$$e = \frac{\rho_s}{\rho_d} - 1$$
 (Equação 4.1)

Em que:

 ρ_s : massa especifica da amostra (g/cm³), e

 $ρ_d$: resultado da divisão da diferença da massa do conjunto e a massa da amostra pelo volume do cilindro (g/cm³).

Posteriormente, foi possível calcular a porosidade máxima e mínima do material filtrante, segundo a Equação 4.2.

$$\mathcal{E} = \frac{e}{1+e}$$
(Equação 4.2)

Em que:

e: índice de vazios;

E: porosidade.

Segundo a NBR 6458 (ABNT, 2016b), é recomendado o método com picnômetro somente para amostras que passam em peneira de 4,8 mm. Dessa forma, para as amostras de pedregulhos com granulometria superior, as determinações da massa específica, do índice de vazios e da porosidade, podem não ser precisas. Por essa razão, durante o preenchimento dos filtros com esse tipo de material filtrante, foram medidos os volumes de água necessários para encobrir as camadas de pedregulhos, método este, utilizado por Elliott et al. (2008). Dessa forma, viabilizou-se a comparação dos volumes obtidos na prática, com os calculados em teoria.

Para avaliação do volume total de água armazenado no filtro, ou seja, a quantidade de água necessária para cada alimentação, foi realizada a somatória do volume de água estacionária (na camada superior ao meio filtrante), e somados: i) o volume de vazios calculado nas camadas filtrante

de areia; ii) o volume medido de água armazenada nas camadas de pedregulhos, e iii) o volume de água armazenada nas tubulações de saída do filtro.

4.3 Montagem do sistema de filtragem experimental

A Figura 4.5 mostra a montagem experimental e os componentes aplicados para alimentação dos dois filtros lentos domiciliares, operados em modo contínuo (designado como F1) e modo intermitente (designado como F2).





Fonte: o autor.

Para coleta de água bruta para alimentação dos dois filtros lentos de areia operados em modo contínuo (**F1**) e intermitente (**F2**), foi necessária a instalação de uma rede provisória de aproximadamente 25 metros de comprimento com 1 polegada de diâmetro e uma motobomba de 1 cv conectada à adutora. Os filtros, foram instalados nas dependências do Laboratório de Microssensores e Biofilmes do Departamento de Hidráulica e Saneamento da EESC/USP.

Para o *stand* de montagem dos dois filtros operados em modo contínuo (**F1**) e intermitente (**F2**), e acessórios, foi construído um suporte com estrutura em aço metalon retangular de 3 x 5 cm, e parede de 2 mm. A estrutura contou com duas bases, sendo a primeira (maior) a 35 cm de altura do piso, para apoio dos dois filtros de areia, 2 bombas dosadoras, células de fluxo, acessórios e tanque de sedimentação.

Uma segunda base mais elevada (2 metros do piso), serviu como suporte para um reservatório de 50 L operado em nível constante para alimentação do filtro contínuo (**F1**). Ambas as bases de apoio receberam a cobertura de chapas de aço de 3 mm, devidamente soldadas, e apropriadamente pintadas com esmalte sintético na cor preto-fosco, a fim de se evitar oxidação. As medidas do suporte de montagem estão na Figura 4.6.

Figura 4. 6 - Hack para montagem dos filtros de areia e acessórios (medidas em metros).



Fonte: o autor

Toda a montagem experimental e componentes aplicados na instalação/ operação FLD, operados em modo contínuo (F1) e intermitente (F2) são descritos nas legendas da Figura 4.7 A e B.



Figura 4.7 - A e B fotos e legendas do *hack* de montagem.

LEGENDAS: 1. Filtro Lento em Areia – contínuo (F1); 2. Filtro Lento em Areia – intermitente (F2); 3. Reservatório de água clarificada; 4. Tanque de sedimentação (200 Litros); 5. Bomba dosadora para captação do filtro intermitente; 6. Bomba dosadora para captação do filtro contínuo; 7. Tubulação para descarte de efluentes; 8. Reservatório da produção do filtro intermitente; 9. Células de Fluxo contendo *coupons* (filtro contínuo); 10. Células de Fluxo contendo *coupons* (filtro contínuo); 11. Reservatório elevado para o filtro contínuo (50 litros); 12. Termômetro para o filtro contínuo; 13. Termômetro para o filtro intermitente; 14. Válvula para ajuste de vazão do filtro contínuo; 15. Válvula de saída do filtro intermitente; 16. Válvula para descarte da produção do filtro intermitente.

Fonte: o autor.



LEGENDAS: 1, 2 e 3- Baldes para alimentação do filtro intermitente; 4- Tanque de sedimentação (200 litros); 5- Manta não tecida para coagem (espessura 2.8 mm com fibras de 25 μ m); 6- Reservatório de água clarificada para alimentação do filtro contínuo, contendo bomba submersa de aquário da marca Jeneca® HM-5063 (30 litros); 7- Célula de Fluxo contendo *coupons* em água clarificada; 8- Torneira de saída de água sedimentada; 9- Válvula de descarte de lodo; 10- Saída do reservatório elevado para alimentação do filtro contínuo; 11- Reservatório elevado para o filtro contínuo (50 litros) em nível constante; 12- Entrada de água clarificada; 13- Extravasor do reservatório; 14- Tubulação de entrada de água bruta para o tanque de sedimentação.

Fonte: o autor

Os dois filtros lentos de areia para uso doméstico operados em fluxo contínuo (**F1**) e intermitente (**F2**) foram operados em temperatura controlada ($25^{\circ}C\pm2$) durante todo o tempo experimental (8 meses), por meio de condicionador de ar eletronicamente controlado, da marca Carrier® Split piso/teto de 35.000 BTU/h, a fim de se restringir a ocorrência de variações abruptas de temperatura, e facilitar a calibração dos microssensores.

4.4 Descrição operacional dos filtros lentos de areia para uso doméstico – F1 e F2

4.4.1 Pré-tratamento da água para alimentação dos filtros

Diariamente, no período da manhã (8 h), o sistema de bombeamento da água bruta do rio Monjolinho foi acionado para enchimento do tanque para sedimentação de 200 L (clarificação por 24 horas). Nesse tanque, foi adaptada uma válvula de ³/₄" a 10 cm do fundo para descarte semanal de lodo acumulado. Também foi adaptada uma torneira a 25 cm do fundo do reservatório, para drenagem de água destinada a alimentação dos filtros. O tanque de clarificação foi mantido tampado, sendo aberto apenas para coleta de amostras, manutenção e limpeza semanal.

Também diariamente, no período da manhã (08:00 horas), com a utilização de manta não tecida (50 cm x 50 cm) adaptada na saída da torneira do tanque de sedimentação, foi feita a filtragem da água, obtendo-se assim, a água clarificada para alimentação diária dos dois FLDs.

Após a retirada da água clarificada necessária para alimentação dos filtros diariamente (total 96 litros), o tanque de sedimentação foi novamente cheio com água bruta para utilização no dia posterior. Semanalmente foi feito o descarte de lodo do tanque de sedimentação e limpeza interna.

Dessa forma, é importante salientar que o único pré-tratamento aplicado à água bruta utilizada durante todo o tempo experimental da presente pesquisa (8 meses), foi a sedimentação das partículas e filtragem com manta não tecida de 2,8 mm com fibras de 25 µm para a obtenção de água clarificada.

4.4.2 Método de operação do filtro lento domiciliar em modo contínuo (F1)

O reservatório de 30 L (Figura 4.7 B – legenda 6) foi preenchido em duas etapas toda manhã com água clarificada. Esse reservatório continha em seu interior uma bomba submersa do tipo usado em aquários (Jeneca® HM-5063), para alimenta o reservatório elevado de 50 L (Figura 4.9 A – legenda 11), que alimentou o filtro operado em modo contínuo (**F1**) durante o período experimental.

O filtro contínuo foi produzido com uma válvula de nível em seu interior do tipo boia para controle de nível máximo. Por meio de válvula (tipo agulha), instalada na saída de água filtrada, a vazão de produção foi controlada manualmente 3 vezes ao dia, a fim de se obter a produção diária de 48 litros de água filtrada, considerando-se que essa produção pode atender as necessidades essenciais de uma família. Porções da água produzida foram coletadas para as análises físico-químicas e biológicas diárias e o restante foi descartado.

No início de cada carreira de filtração, as mantas não tecidas foram removidas e lavadas com água do poço artesiano do Campus I USP.

O procedimento era feito com o auxílio de garrafa contendo de 2L de água, na qual foi feito um orifício na tampa, com o auxílio de um arame quente de 3 mm.

Jatos d´água limpa proveniente do poço artesiano do Campus I da USP foram direcionados na parte inferior das mantas para remoção das impurezas.

Após a lavagem da manta, as mesmas eram cuidadosamente reinstalada no respectivo filtro lento em areia, e nova carreira de filtração foi iniciada.

Na Figura 4.8 se observa a manta de **F1**, no momento que antecede à lavagem. A coloração amarelada é resultado da retenção de material particulado orgânico e inorgânico proveniente da água bruta.



Figura 4.8 - Manta removida para lavagem mensal. A) manta de F1.

Fonte: o autor.

4.4.3 Método de operação do filtro lento domiciliar em modo intermitente (F2)

Três baldes (Figura 4.7 B – legendas 1, 2 e 3) foram preenchidos toda manhã com água clarificada, até o volume de 16 litros cada, perfazendo o total de 48 L para abastecimento diário intermitente, sendo efetuadas as alimentações manualmente 3 vezes ao dia, nos horários: 8:00 horas, às 12:00 horas e às 17:00 horas. A válvula de saída do filtro intermitente (**F2**) foi mantida totalmente aberta, dessa forma, sua produção diária foi a mesma do filtro operado em modo contínuo (**F1**) (48 litros/dia). Porções da água produzida foram coletadas para as análises físico-químicas e biológicas obtidas diariamente e o restante foi descartado.

Assim como efetuado no filtro operado em modo contínuo (**F1**), no início de cada mês (início de cada carreira de filtração), a manta não tecida de **F2** foi removida, lavada e reinstalada.

4.5 Caracterização do escoamento dos FLDs

A caracterização do escoamento foi efetuada com a utilização de um medidor de condutividade acoplada a interface *Go!Link*® conectado a um microcomputador para aquisição de dados via *software Logger Lite – Vernier Software & Technology –*processamento em ambiente *Windows*® e *Origin*®.

A sonda foi apropriadamente instalada em recipiente tipo sifão conectado à saída do filtro contínuo (**F1**), e as análises foram feitas em triplicata. Para a calibração do condutivimetro, foi utilizada como traçador solução 100 mgL⁻¹ de NaCl e água obtida no poço artesiano da EESC-USP, contendo propriedades de concentração de NaCl próximas a zero.

Para o filtro em fluxo intermitente, foi analisada a concentração de saída do traçador do filtro. Para tanto, foram feitas duas alimentações com solução de traçador de concentração de 100 mgL⁻¹, seguida de três alimentações com água subterrânea, sem adição de traçador, para completa saída do traçador dos filtros.

No **F1**, o traçador foi aplicando na forma de degrau, conforme recomendado por Levenspiel (1999) e Terin e Sabogal-Paz (2019). A taxa de filtração foi mantida em 0,90 m³m⁻¹dia⁻¹ ao longo dos testes. As curvas de concentração do traçador em relação ao tempo (C *vs* t) foram plotadas e o tempo de detenção hidráulico (TDH) foi estimado. O escoamento foi ajustado conforme os modelos de dispersão (baixa e alta) e de número de reatores em série (N-CSTR) e o Índice de dispersão (MDI), como descrito por Tchobanoglous et al. (2003).

Para o filtro contínuo (F1), realizou-se a alimentação com solução de traçador até que a concentração efluente fosse igual a afluente. Nesse filtro foi possível fazer o equacionamento para

determinação do tempo médio de residência e a determinação de modelos baseados em extremos de idealidade. As equações desta metodologia foram extraídas de Levenspiel (1999) e Fogler (2004).

Pela Equação 4.3 se obteve a normalização dos dados de concentração (C/C_{máx}) para obtenção da curva F.

$$C = \frac{C}{C_{máx}}$$
 Equação 4.3

Na Equação 4.4, a curva de distribuição do tempo de residência (E, s⁻¹) é obtida pela diferenciação da curva F:

$$E = dF/dt$$
 Equação 4.4

Assim, a partir da curva E:

 Obtém-se o tempo médio de residência da água (t_m, s) no filtro com fluxo contínuo, pela Equação 4.5:

$$t_m = \int E(t).t.dt$$
 Equação 4.5

2). Concebem-se modelos de escoamento baseados em extremos ideais para os filtros contínuos. Não é possível obter esses modelos para os filtros intermitentes, pois o regime permanente é uma condição de contorno. A sequência de equações para obtenção dos modelos é apresentada na Tabela 4.2:

Equação Correspondente	Modelo/Variável
$\Theta = \frac{t}{t_m}$	Θ: tempo adimensional
$\mathbf{E}_{\Theta} = t_m . E(t)$	E ₀ Distribuição do tempo de Residência adimensional
$\sigma^2 = \int_0^\infty (t - t_m)^2 . E(t) . dt$	Variância
$\sigma_{\theta}^2 = \frac{\sigma^2}{t_m^2}$	Variância adimensional

Tabela 4.2 - Sequência de equações para obtenção dos modelos.

Fonte: o autor.

Os parâmetros dos modelos baseados em extremos de idealidade são obtidos a partir da variância adimensional. O primeiro deles é o de número de reatores de mistura completa em série (N-CSTR), de maneira que, quando maior o número de N (parâmetro do modelo), mais próximo do escoamento pistonado é o reator. O parâmetro e modelo são apresentados nas equações da Tabela 4.3:

Tabela 4.3 - Parâmetros dos modelos baseados em extremos de idealidade.

Equação Correspondente	Modelo/Variável
$N = \frac{1}{\sigma_{\theta}^2}$	N: parâmetro do modelo de número de reatores de mistura perfeita.
$E_{\Theta N} = \frac{N. (N. \Theta)^{N-1}}{(N-1)!} e^{-N\Theta}$	$E_{\Theta N}$: distribuição do tempo de residência adimensional do modelo de número reatores de mistura perfeita.

Fonte: o autor.

Outro modelo é o de dispersão de baixa intensidade e de alta intensidade. O parâmetro desses modelos é o número de Peclet. O parâmetro da dispersão de baixa intensidade, seguido do modelo são apresentados pelas equações da Tabela 4.4.

Tabela 4. 4 - Parâmetro da dispersão de baixa intensidade.

Equação Correspondente	Modelo/Variável
$Pe = \frac{2}{\sigma_{\theta}^2}$	P _e : parâmetro do modelo de dispersão de baixa intensidade
$E_{\Theta BD} = \frac{1}{2.\sqrt{\pi.(Pe)}} \cdot exp\left[-\frac{(1-\Theta)^2}{4.(Pe)}\right]$	$E_{\Theta BD}$: distribuição do tempo de residência adimensional do modelo de dispersão de baixa intensidade.

Fonte: o autor.

O parâmetro para o modelo de dispersão de alta intensidade denominou-se Pe₂, sua determinação e o modelo são apresentados nas equações da Tabela 4.5.

Equação Correspondente	Modelo/Variável
$\sigma_{\Theta}^{2} = \frac{2}{Pe_{2}} + \frac{8}{(Pe_{2})^{2}}$	P _{e2} : parâmetro do modelo de dispersão de alta intensidade
$E_{\Theta AD} = \frac{1}{2 \cdot \sqrt{\pi \cdot (Pe_2)}} \cdot exp\left[-\frac{(1-\Theta)^2}{4 \cdot \Theta(Pe_2)}\right]$	$E_{\Theta AD}$: distribuição do tempo de residência adimensional do modelo de dispersão de alta intensidade.

Fonte: o autor.

A rotina de cálculos de diferenciação e integração foi realizada com uso do *software* Origin® Lab 8.5.

4.6 Células de fluxo (CFXs) para cultivo de biofilmes em coupons

Sete células de fluxo foram construídas e adaptadas nos FLDs para cultivo de biofilmes:

- 3 distribuídas em diferentes camadas do filtro em fluxo contínuo (F1);
- 3 distribuídas em diferentes camadas do filtro em fluxo intermitente (F2), e
- 1 para água clarificada que alimenta **F1**.

As células de fluxo foram construídas com material inerte (PVC branco), a partir de tubos com diâmetro de 75 mm.

Peças de 10 cm de tubos de PVC foram unidas com tampas (Caps) do mesmo material.

Para conexão hidráulica foram adaptadas 2 conexões do tipo espigão de 7 mm x ¹/₄' (roscado) em aço inoxidável AISI 316 nas células. O volume útil no interior das CFXs foi de \approx 400 mL. A parte inferior serviu como base de apoio quando instaladas sobre o *stand* de montagem dos filtros lentos de areia **F1** e **F2** (Figura 4.9).

Figura 4.9 - Célula de fluxo (CFXs) construída em PVC de 75 mm de diâmetro.



Fonte: o autor

As tampas (caps) da parte inferior das células de fluxo foram coladas com silicone aos tubos de PVC de 75 mm x 10 cm de comprimento, porém; as tampas da parte superior foram apenas lixadas e encaixadas, com pressão suficiente para não ocorrerem vazamentos; mas de maneira a permitir sua abertura para retirada periódica de material (*coupons*) para posterior análises.

As CFXs foram instaladas nos filtros de areia de maneira a serem alimentadas com água proveniente de 3 regiões distintas de cada filtros lentos de areia, portanto; portadoras da biota ativa que é predominante dessas regiões; além de uma CFX instalada na entrada do filtro contínuo (**F1**), condutora de água clarificada.

Devido ao fato de a produção de **F1** e **F2** ser a mesma, e a água clarificada que alimenta ambos também ter origem na mesma batelada diária, optou-se para aplicação de apenas 1 CFX para água clarificada, designada "**E**".

Considerando-se que os FLDs receberam a designação de **F1** para o filtro operado em modo contínuo, e **F2** para o filtro operado em modo intermitente, sobre cada tampa das CFXs foi feita anotação para identificação do filtro e da região de instalação, fazendo referência ao filtro (**F1** ou **F2**) e a posição de instalação, sendo "**1**" imediatamente abaixo das mantas não tecidas, "**2**" base do leito de areia média e "**3**" para a região de pedra grossa – saída de água filtrada, portanto:

- E CFX de alimentação do filtro operado em modo contínuo (água clarificada),
- F1-1 Diretamente abaixo da manta não tecida do filtro operado em modo contínuo; e
- **F1-2** Camada inferior ao leito de areia fina do filtro operado em modo contínuo;
- **F1-3** Camada inferior ao filtro operado em modo contínuo (saída de água filtrada);
- F2-1 Diretamente abaixo da manta não tecida do filtro operado em modo intermitente.
- F2-2 Camada inferior ao leito de areia fina do filtro operado em modo intermitente;
- **F2-3** Camada inferior ao filtro operado em modo intermitente (saída de água filtrada);

A Figura 4.10 ilustra o esquema de instalação das CFXs e suas respectivas posições:

Figura 4. 10 - Disposição das CFXs instaladas nos respectivos filtros de areia em estudo.



Fonte: do autor.

Para maior facilidade de identificação das posições de coleta, cada resultado gráfico apresentado no presente trabalho, foi acompanhado de uma pequena ilustração relativa ao filtro lento em areia contínuo (F1) ou intermitente (F2) e ao ponto de coleta que se refere, conforme ilustrações da Figura 4.11.





Fonte: o autor.

4.7 Material suporte para cultivo do biofilme (*coupons*)

A facilidade dos biofilmes se aderirem na superfície de objetos construídos a partir de vidro foi observada por diversos autores (GONZALEZ, 2009; GONZALEZ et al., 2011; LEWANDOWSKI & BEYENAL, 2007; MARIE-HÉLÈNE et al., 2006), como facilidade para o cultivo de biofilmes em condições controladas.

Lâminas retangulares de vidro habitualmente aplicadas em análises de microscopia foram utilizadas, medindo 37 mm (C) x 25 mm (L) x 1,0 mm (E). As lâminas receberam tratamento superficial em uma das faces (jato de areia), efetuado na oficina mecânica do Instituto de Física de São Carlos, para obtenção de superfície mais rugosa. Esse procedimento visou propiciar a aderência dos biofilmes (Figura 4.12).

Figura 4. 12 - Fotos microscópicas de amostras de lâminas de vidro tratadas superficialmente com jato de areia em diferentes escalas de ampliação: A) 100 µm e B) 10 µm.



Fonte: o autor.

As lâminas foram inseridas nas células de fluxo (CFXs) como *coupons*, com o intuído de serem submetidas à biota de 3 diferentes regiões dos dois filtros de areia), além de uma CFX instalada em série com a tubulação que abasteceu o filtro contínuo **F1**, designada como **E**. As lâminas foram dispostas verticalmente a fim de permitir o contato com o fluxo de água, de maneira a serem submetidas ao progressivo crescimento do biofilme em sua superfície.

Com o auxílio de suporte feito de mangueira de silicone adequadamente cortada e moldada em formato de anel, cada célula de fluxo acomodou 8 lâminas de microscópio (*coupons*) que foram identificadas e instaladas verticalmente no fundo das CFXs (Figura 4.13). Este método permitiu facilitar a posterior remoção progressiva das lâminas, que foram imediatamente levadas para as análises com microssensores e de microscopia microbiológica em recipientes identificados, contendo o mesmo substrato do interior das respectivas CFXs em que foram coletadas.

Figura 4. 13 - Foto de CFX aberta contendo 8 lâminas de vidro e anel feito em mangueira de silicone para fixação no fundo.



Fonte: o autor.

No momento da instalação, todas as CFXs e lâminas foram manuseadas com luvas de procedimento, e adequadamente lavadas com água deionizada, álcool e novamente água deionizada antes de sua instalação, a fim de se evitar contaminações. As CFXs foram reabastecidas com novas lâminas estéreis para cultivo de biofilme ao final de cada carreira de filtração (1 mês cada carreira).

4.8 Definição do fluxo d'água para alimentação das CFXs

A característica do fluxo corresponde a fator de extrema importância (entre outros), no que concerne às taxas de crescimento, transferência de massa e arquitetura dos biofilmes em sistemas dinâmicos.

As dificuldades inerentes a esta atividade (cultivo de biofilmes) foram ponderadas, pois a busca pela reprodução mais aproximada das condições em que os biofilmes se desenvolvem em condição natural, ou no sistema biológico em estudo, habitualmente constitui um desafio para pesquisadores dessa área, e demanda cuidadosa avaliação.

No caso dos filtros de areia para uso doméstico, essas dificuldades se revelaram em vários aspectos, pois a coleta de amostras do interior dos filtros durante o processo de operação, sem que ocorra qualquer distúrbio no leito, ou interferência em seu funcionamento, constitui desafio.

Com base nessas considerações, foram estabelecidos critérios para instalação das CFXs, que permitiram se estabelecer o cultivo do biofilme sobre o material suporte escolhido (lâminas de vidro), sob condições que reproduziram o ambiente interno de cada setor dos dois filtros (**F1** e **F2**).

A CFX com designação "E" que correspondem à célula de fluxo instalada de maneira a cultivar o biofilme a partir da água clarificada, e foi instalada em série com a tubulação de entrada do filtro operado em modo contínuo, de maneira que toda água que entra para o filtro, passe por seu interior, e tenha contato com as lâminas internas (*coupons*). Esse esquema de instalação permite que a velocidade de fluxo no interior da CFX "E" seja efetivamente a mesma velocidade de produção do filtro operado em modo contínuo (48 litros por dia), portanto, o cultivo de biofilmes nessa condição, serviu como base de estudo para a formação de biofilmes da água clarificada utilizada em ambos os filtros lentos de areia (**F1** e **F2**).

Para definição da vazão de trabalho das CFXs instaladas no corpo dos filtros, foi estabelecido um critério para que a vazão de coleta nos pontos não ultrapasse a vazão que percola em fluxo descendente pela área em planta de ambos os filtros lentos de areia. A partir desse critério, se evitou que ocorressem os seguintes fenômenos nos parâmetros de controle:

- A ocorrência de um caminho preferencial para o fluxo d'água nas tomadas de coleta, devido a vazão excessiva, caso a vazão de coleta seja maior que a vazão que percola no leito do filtro de areia;
- Garantir que a velocidade da água no interior das CFXs seja o mais semelhante possível ao que percola no interior dos filtros de areia, a fim de reproduzir as condições internas de crescimento do biofilme.

Com vistas para essas importantes implicações, o método estabelecido para definição da vazão em fluxo no interior das CFXs se fundamentou nos seguintes fatores:

- i) Cálculo da área superficial dos filtros (250 mm $Ø = 49.087,38 \text{ mm}^2$);
- ii) Cálculo da área das tomadas de coleta (espigões de aço inoxidável), instaladas no corpo dos FLDs (5 mm $Ø = 19,63 \text{ mm}^2$), e
- iii) Levantamento da produção dos filtros no decorrer do período de 1 dia de operação (48 Ldia⁻¹).

Com base nesses dados, a definição da vazão para as CFXs foi definida por meio da divisão da vazão efetiva de produção diária, pela área superficial dos filtros (49.087,38 mm²). Obtida a vazão

por 1 mm², esse valor foi multiplicado pela área do orifício dos espigões de coleta (19,63 mm²), instalados no corpo de ambos os filtros (Equação 4.6):

$$V_{CFX} = \frac{Vep}{Asf} \times Atc$$
 Equação 4.6

Em que:

 V_{CFX} : vazão definida para a CFX para o período (mLdia⁻¹); Vep: vazão de produção efetiva para o período (48 L/dia⁻¹); Asf: área superficial dos filtros (49.087,38 mm²), e Atc: área das tomadas de coleta (19,63 mm²).

A partir da Equação 4.6 foi estabelecida a vazão nas CFXs para 20 mLdia⁻¹ em cada ponto de coleta. Sendo essa vazão muito pequena e de difícil controle, foram utilizadas 2 bombas dosadoras da marca GILSON® Mod. MINIPLUS de 3 canais (1 bomba para cada filtro lento em areia).

Com o uso de mangueiras plásticas de 4 mm (para se evitar a penetração de oxigênio), as entradas das 6 CFXs (3 para cada filtro de areia) foram conectadas às respectivas tomadas de amostra distribuídas no corpo dos filtros, e as saídas das CFXs foram conectadas com mangueiras de silicone de 3 mm às 2 bombas dosadoras da marca GILSON® (Figura 4.14), a fim de se obter efetivo controle sobre a vazão de fluxo que percorre as CFXs.

Figura 4.14 - Bomba dosadora da marca GILSON® Mod. MINIPLUS 3.



Fonte: o autor.

Os filtros foram operados de maneira a se reproduzir com a maior fidelidade possível as condições de uso doméstico, habitualmente observadas quando utilizados em comunidades carentes.

4.9 Suportes para amostras de manta não tecida para análises

A fim de facilitar a remoção semanal de amostras das mantas de ambos os filtros (F1 e F2) para análises microscópicas e com microssensores, foram fabricados dois suportes de PVC torneados em formato de anel, que foram adaptados no centro das mantas.

Os suportes foram construídos a partir de dois anéis, sendo que, o anel de menor diâmetro (externo 48 mm, interno 35 mm e com 1 cm de espessura) se encaixa perfeitamente no interior do anel de maior diâmetro (externo 60 mm, interno 47,5 mm e também com 1 cm de espessura). Ambos os anéis foram fabricados com um canal torneado, dentro do qual a manta não tecida foi prensada com firmeza. Na Figura 4.15 se observam os dois anéis, ainda sem a manta.



Figura 4. 15 - Anéis de PVC para facilitar a remoção de amostras da manta para análises.

Fonte: o autor.

No anel de menor diâmetro, foi adaptada uma alça fabricada em arame de aço inoxidável de 1 mm de diâmetro, a fim de facilitar a remoção semanal para análise e posterior reinstalação imediata nos filtros **F1** e **F2** (Figura 4.16).



Figura 4. 16 - Detalhe da alça em aço inoxidável que facilita a remoção para análises.

Fonte: o autor.

Ambas as mantas a serem instaladas nos filtros foram cortadas e adaptadas com os respectivos anéis de PVC (Figura 4.17 A e B). Cada amostra de manta teve a área de 13,8 cm2.

Figura 4. 17 - Amostra de manta não tecida. A) conectada ao suporte, B) removida.



Fonte: o autor.

Para a obtenção dos microperfis com microssensores aplicados nas mantas dos filtros de areia, as amostras foram retiradas, e imersas em um frasco com 50 mL de água coletada no próprio local em que a amostra estava instalada, as amostras foram levadas individualmente para o *stand* de microssensores para acompanhamento da evolução do biofilme por meio da aplicação de

microssensores de oxigênio dissolvido e de potencial REDOX, além de análises do potencial de respiração da biomassa imobilizada (BRP).

4.10 Fabricação de microssensores de OD

A construção e aplicação dos microssensores polarográficos tipo Clark de oxigênio dissolvido (OD) foi efetuada no Laboratório de Microssensores do Departamento de Hidráulica e Saneamento de São Carlos – USP, o projeto dos microssensores foi baseado nos trabalhos de Lewandowski & Beyenal (2007); Lamon et al. (2008); Gonzalez (2009); Gonzalez (2013); Lamon (2014), e Sarti et al. (2016).

Microssensores foram apropriadamente projetados e fabricados e aplicados na presente pesquisa pelo próprio autor; foram produzidos, selecionados (diâmetro da ponta sensível < 20 μ m e tempo de resposta < 1 s), calibrados e devidamente armazenados no Laboratório de Microssensores e Biofilmes da EESC/USP.

A produção seguiu a necessidade de consumo momentâneo devido às dificuldades inerentes da fabricação desse tipo de microssensor, que apresenta considerável perda no processo de fabricação (+/- 30%). Na Figura 4.18 é presentado o método de fixação dos microssensores em suportes adequadamente preparados para a calibração. A bancada de calibração continha um braço móvel para fixação dos microssensores, becker contendo 1 litro de água saturada de O₂ e frasco contendo solução de sulfito de sódio (5%).



Figura 4. 18 - Stand de calibração para microssensores de OD.

3

- 1 Microssensor de OD tipo Clark;
- 2 -Suporte;
- 3 Solução de Sulfito de Sódio (5%);
- 4 Backer com água saturada de O2.

Fonte: o autor.

Para medições de OD foram construídos e aplicados microssensores polarográficos *Clark-type* amperométricos, conectados a amperômetro pA HP® 4140B e sistema de aquisição de dados com *software* especialmente escrito para a aplicação em linguagem LabView®, conforme descrito por Lamon et al. (2008). Os microssensores de OD aplicados foram sensores combinados (catodo e anodo acondicionados em um mesmo compartimento), ambos imersos em solução eletrolítica. Todos os eletrodos passaram por calibração que antecedeu a todas as medições, conforme Lu & Yu (2002); Gonzalez (2009, 2013) e Lamon (2014).

As calibrações e medições foram feitas em temperatura controlada (25 °C), nas instalações do Laboratório de Microssensores e Biofilmes da EESC/USP, que conta com *set-up* adequadamente construído para pesquisas com microssensores para estudos de biofilmes e outras amostras biológicas (Figura 4.19).

Figura 4. 19 - Set-up para estudos de biofilmes do Laboratório de Microssensores e Biofilmes.



Fonte: o autor.

- 1 Amperômetro HP® 4140B;
- 2-Potenciômetro Keithley® 6517A;
- 3-Microcomputador i5; 2GB, 1TB;
- 4 Driver para servo-motor 1D;
- 5 Driver para servo-motores 3D;
- 6 Micromanipulador servo-assistido 1D;
- 7 Micromanipuladores servo-assistidos 3D, e
- 8 Célula de fluxo em estudo.

A Figura 4.20 apresenta o método utilizado para fixação do microssensor de OD para a aplicação em *coupon* imerso em água coletada na CFX de origem da amostra. Microssensores foram fixados no suporte do *micro-stepper* e conectados eletricamente ao sistema de aquisição de dados.



Figura 4. 20 - Coupon em placa de Petri sendo analisado com microssensor de OD.

- 1 Microssensor de OD;
- 2 Suporte do *micro-stepper*;
- 3 Terminal elétrico do catodo;
- 4 Terminal elétrico do anodo;
- 5 Coupon em análise, e
- 6 Placa de Petri com água.

Fonte: o autor.

4.11 Fabricação dos microssensores do potencial de oxidação-redução (POR)

A construção e aplicação dos microssensores de POR também foi efetuada no laboratório supracitado, e seguiu aos mesmos princípios de construção dos microssensores de OD, no que tange à moldagem de vidraria fina para construção de componentes internos e externos.

Para esta pesquisa, foram aplicados efetivamente 16 microssensores de POR. Microssensores, com diâmetro da ponta sensível <10 μ m. A aplicação dos microssensores foi feita o laboratório. A produção desse tipo de microssensor, assim como os de OD, também apresentam considerável perda no processo de fabricação (+/- 20%).

Os microssensores aplicados foram sensores não combinados (catodo e anodo em compartimentos separados). Como anodo de referência foi utilizado um eletrodo do tipo calomelano recarregável Modelo R682C Hg/HgCl Calomelano 115 mm da marca Analion®.

As medições de POR a partir de microssensores seguiram aos métodos utilizados por Lewandowski & Beyenal (2007); Gonzalez (2013); Lamon (2014).

Os microssensores potenciométricos para POR foram conectados a eletrômetro Keithley® 6517A, e sistema de aquisição de dados com *software* especialmente escrito para a aplicação em linguagem LabView®, semelhante ao proposto por Lamon et al. (2008).

Todos os eletrodos utilizados passaram por prévia calibração conforme Lewandowski & Beyenal (2007), Lamon (2014) e Gonzalez (2013); com o uso de soluções padronizadas para calibração de POR (+228 mV e +475 mV).

A calibração antecedeu a todas as medições. As aplicações de microssensores de POR foram feitas em temperatura controlada (25 °C), com a utilização do *setup* das instalações do Laboratório (Figura 4.21). As amostras de manta não tecida foram imersas em água previamente coletada do ponto de instalação das mantas.



Figura 4. 21 - Microssensor de POR sendo aplicado em amostra de manta não tecida.

Fonte: o autor.

4.12 Análises do potencial de respiração da biomassa (BRP)

A ausência da depleção em medições de OD feitas com microssensores, conduziu ao desenvolvimento de método analítico utilizado no Laboratório para medições do potencial de respiração da biomassa (BRP) das amostras de mantas instaladas nos filtros.

Para tanto, foi construída uma célula fechada, a fim de não permitir a penetração de oxigênio no líquido de imersão das amostras durante as medições de OD.

A célula para BRP foi construída a partir de um espaçador composto por 2 anéis de borracha com diâmetro interno de 5 cm e 3 mm de espessura prensados nas bordas de um anel de PVC de 8 cm de diâmetro externo. O conjunto espaçador foi prensado entre 2 placas de vidro de 100 mm (L) x 100 mm (C) x 3,0 mm (E), de maneira a formar um compartimento capaz de acondicionar a amostra de manta não tecida confinada em seu interior, contendo aproximadamente 40 mL de água do poço artesiano do Campus I USP.

A placa de vidro da parte superior (tampa) foi furada com broca diamantada (Ø 10 mm), e neste orifício, foi introduzido e colado um pequeno tubo de mangueira de silicone nas medidas 12 mm (E) x 6 mm (I) x 15 mm (C). As propriedades elásticas da mangueira de silicone foram apropriadas para o propósito, considerando-se a necessidade de vedação e fixação de 1 microssensor

de OD previamente calibrado e instalado na posição vertical. Na base do tubo de silicone foi introduzida uma agulha curvada de seringa hipodérmica, a fim de proporcionar alívio à pressão imposta no momento de introdução do microssensor (Figura 4.22).





Fonte: o autor.

As amostras de manta não tecida foram inseridas individualmente na célula para análise de BRP, fechadas, e a partir desse momento, foi feita a aquisição de dados do consumo de OD (depleção) por 10 min, com taxa de aquisição de 1 pps (ponto por segundo), dando origem a perfis do potencial de biorespiração (BRP) para cada amostra de manta não tecida. A escala de leitura de OD foi padronizada para mostragem de 0 a 8 mgL⁻¹, sendo 7,8 mgL⁻¹ o valor de saturação local.

Assim, foi obtida a taxa de consumo de oxigênio dissolvido (TCO) que ocorreu nas amostras de manta não tencida (13,8 cm²) durante 10 minutos.

Análises de BRP das amostras de manta não tecida de F1 e F2 foram efetuadas mensalmente, ao final de cada carreira de filtração, condição esta que, em hipótese, as amostras de manta agregam a maior quantidade de biofilme, portanto, ao todo, foram efetuadas 8 análises de BRP para o filtro lento em areia contínuo (F1) e 8 análises para o filtro intermitente (F2).

4.13 Metodologia analítica

No início de cada mês, após a retirada dos *coupons* para análises, todas as 7 células de fluxo (CFXs) tiveram seu fluxo de entrada parado e foram esvaziadas, limpas com álcool etílico 96° e lavadas abundantemente com água deionizada e a seguir, receberam novos *coupons* de vidro (8 em cada CFX). Posteriormente, foram reinstaladas no ponto de origem para nova carreira de filtração (de 30 dias). Todo o procedimento foi feito com o devido cuidado e auxilio de luvas de procedimento para se evitar contaminações.

As análises com microssensores de OD efetuadas semanalmente nos *coupons* proporcionaram um vislumbre diferenciado do progressivo crescimento do biofilme nas amostras. Entretanto, o conjunto de operações que englobam esta pesquisa, incluem: i) pré-tratamento da água bruta; ii) operação dos filtros; iii) coleta de amostras; iv) análises físico-químicas laboratoriais; v) análises microbiológicas (microscopia), e vi) fabricação, seleção, calibração e aplicação dos microssensores. Essas ações perfeitamente sincronizadas demandaram esforço, sobretudo, aquelas que envolvem a fabricação e testes dos microssensores.

Por essas razões, durante os 3 primeiros meses de operação formam efetuadas análises semanais com microssensores de OD nos *coupons* instalados nas células de fluxo (CFXs) e nas amostras de manta não tecida, além de análises mensais de POR e do potencial de respiração da biomassa (BRP) das amostras de manta não tecida de ambos os filtros lentos de areia (**F1** e **F2**).

A partir do quarto mês de operação, as análises que incluem a aplicação de microssensores passaram a ser efetuadas ao final de cada uma das carreiras de filtração de F1 e F2.

As análises microbiológicas por microscopia trinocular dos *coupons* coletados das CFXs, foram efetuadas mensalmente durante todo o período experimental (8 meses).

Durante todo o período experimental, foram efetuadas análises físico-químicas e microbiológicas laboratoriais diárias para turbidez, temperatura e cor aparente (excetuando-se os sábados e domingos por questões operacionais do laboratório LATAR), e análises semanais de condutividade, pH, cor verdadeira, *E. coli* e coliformes totais. O horário das coletas coincidiu com o ensaio de traçadores.

As análises físico-químicas e microbiológicas foram efetuadas conforme definido na Tabela 4.6.

Amostras	Parâmetro Analítico									
	Turbidez (uT)	рН	Cor aparente (uH)	Cor verdadeira (uH)	Condutividade (µS/cm ²)	Coliformes Chromocult® (UFC100mL ⁻¹)	<i>E-coli</i> Chromocult® (UFC100mL ⁻¹)	OD (mgL ⁻¹)	Temp. (°C)	Horário de Coleta da amostra
Água bruta	Diária	Semanal	Diária	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal	Semana 1	Diária	08:00
Água clarificada	Diária	Semanal	Diária	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal	Semana 1	Diária	08:00
Água produzida (F1)	Diária	Semanal	Diária	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal	Semana 1	Diária	10:00
Água produzida (F2)	Diária	Semanal	Diária	Semanal	Semanal	Semanal	Semanal	Semana 1	Diária	10:00
Água produzida (F2pp) (Período de pausa maior 15h)	Diária	Semanal	Diária	Semanal	Semanal	-	-	Semana 1	Diária	08:00

Tabela 4. 6 - Variáveis físico-químicas e microbiológicas, periodicidade e horário	3 de coletas.
--	---------------

o autor.

Os métodos analíticos utilizados na pesquisa são descritos na Tabela 4.7.

Parâmetro de Analítico	Unidade	Método/Equipamento	
Condutividade Elétrica	µS/cm ³	Método 2510B - Condutivimetro Digimed® DM-32	
Oxigênio Dissolvido	mgL ⁻¹	Método Amperométrico - Microssensores polarográficos combinados tipo Clark	
pH	-	Método Potenciométrico – pHmetro Digimed® DM-20	
Temperatura	°C	Analógico – Termômetro de bulbo de mercúrio	
Turbidez	uT	Método Nefelométrico - Turbidímetro HACH® 2100N	
Cor aparente	uC	Método Colorimétrico - Colorímetro Digimed® DM-COR	
Cor Verdadeira	uC	Método Colorimétrico - Colorímetro Digimed® DM-COR	
Coliformes totais	UFC/100mL	Mátada mambrana filtranta com Chromonylt@ (0222) - / C-1:1	
Escherichia coli	UFC/100mL	Metodo memorana mirane com Chromocunto (9222) e/ou Comento	
Espessura do Biofilme	μm	Micro-stepper - Custom made	
Perda de carga	mm	Método Piezométrico – Piezômetros verticais	
Microperfis de OD	mgL ⁻¹	Amperométrico – Microssensores polarográficos combinados tipo Clark	
Microperfis de POR	mV	Potenciométrico – Microssensores não combinados	
Potencial de respiração da biomassa (BRP) OD	mgL ⁻¹	Amperométrico – Microssensores polarográficos combinados tipo Clark (1pps/ 10 min).	

Tabela 4.7 - Descrição dos métodos/equipamentos utilizados.

Fonte: o autor.

Para avaliação da remoção de turbidez, foram consideradas as análises referentes a produção do FLD operado em modo contínuo (**F1**) e a produção do filtro intermitente (**F2pp**). **F2pp** representa a produção do filtro intermitente no período de pausa maior (15 h).

Parâmetros convencionados para as análises com microssensores para esta pesquisa:

- Passos de medição a cada 20 μm de profundidade (1 captura do valor de OD ou POR a cada 20 μm em que o microssensor é introduzido na amostra);
- Tempo de intervalo entre cada captura do valor de OD ou POR: 1 pps (a cada 1s foram aquisicionadas as medições).
- Valor de saturação de OD: 7,8 mgL⁻¹; considerando-se a altitude local (850 m) e a temperatura de trabalho (25 °C), obtido com água saturada de O₂.
- Para a obtenção do valor zero de concentração para calibração de microssensores de OD, foi utilizada solução de sulfito de sódio a 5%.
- Considerando-se a resposta linear dos microssensores polarográficos de OD tipo Clark, foram utilizados dois pontos de calibração (LAMON, 2014; LEWANDOWSKI & BEYENAL, 2007; GONZALEZ, 2009).

- Todas as amostras de manta não tecida, bem como os *coupons*, foram analisados diretamente imersas em amostras água cuidadosamente coletadas dos pontos (CFXs) em que o material a ser analisado foi inicialmente instalado.
- Microssensores de POR foram previamente calibrados em solução padrão +228 mV e +475 mV a 25 °C.
- As linhas gráficas aparecem espessas (exemplo da Figura 5.6), porém, trata-se da proximidade dos pontos, cuja aquisição de dados é feita em alta resolução (1 pps). Dessa forma, os pontos foram omitidos dos gráficos de apresentação dos resultados, a fim de se melhorar a visualização.

4.14 Considerações sobre as análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Processos Biológicos do Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos – USP Campus II – com o apoio da Técnica Especializada Dra. Eloisa Pozzi.

Para o procedimento analítico, foi utilizado microscópio trinocular para aquisição de imagens (microscópio óptico Olympus® BX 60, acoplado a câmera Olympus® DP74). As técnicas utilizadas foram microscopia óptica comum e de contraste de fase. A câmera foi conectada a um microcomputador PC i7. O sistema utiliza *software* Olympus® CellSens Dimension 1.14 para aquisição de imagens em ambiente Windows®.

Os *coupons* coletados mensalmente pertinente a cada carreira de filtração (8), foram cuidadosamente removidos das células de fluxo (CFXs), e acondicionados em tubos de Falcon, imersos em água coletada do interior das CFXs de origens dos respectivos *coupons*. Os tubos de Falcon contendo as amostras foram devidamente identificados e encaminhados para análises microbiológicas no mesmo dia da coleta.

Para apresentação dos dados das análises microbiológicas, as tabelas contendo apresentação mensal dos resultados obtidos seguirão ao padrão descrito na Tabela 4.8, na qual foi adotado um esquema de representação simbólica, para contagem relativa do número de micro-organismos presentes no sistema em estudo.

Valor simbólico	Frequência	Descrição
-	Nenhuma	Micro-organismos não observados.
+	Rara	Micro-organismos raramente observados.
+ +	Comum	Micro-organismos observados com baixa frequência.
+++	Muito comum	Micro-organismos observados com elevada frequência.
+ + + +	Abundante	Micro-organismos observados predominantemente.

Tabela 4. 8 - Escala quantitativa para estimativa de micro-organismos e biofilmes.

Fonte: o autor.

4.15 Considerações sobre análises de biofilmes aderidos nas paredes das mangueiras de saída das CFXs

A partir do primeiro mês de operação de ambos os filtros lentos de areia (**F1** e **F2**) foi possível de observar a crescente formação de biofilmes nas paredes internas das mangueiras de silicone de 3/8" que conectam as saídas das células de fluxo (CFXs) às bombas dosadoras.

Como método para avaliação microbiológica do biofilme aderido às paredes internas das mangueiras, ao final do período experimental (8 meses), as mangueiras foram desconectadas das respectivas CFXs. Com o auxílio de um bastão de vidro de 2 mm de espessura e 30 cm de comprimento esterilizado com álcool 96 GL e água deionizada, o biofilme foi cuidadosamente raspado do interior das mangueiras.

O material foi acondicionado em frascos e devidamente identificado para análises microbiológicas. Para as análises, foi utilizado microscópio trinocular para aquisição de imagens (microscópio óptico Olympus® BX 60, acoplado a câmera Olympus® DP74). As técnicas utilizadas foram microscopia óptica comum e de contraste de fase. A câmera foi conectada a um microcomputador PC i7. O sistema utiliza *software* Olympus® CellSens Dimension 1.14 para aquisição de imagens em ambiente Windows®.

4.16 Análises estatísticas aplicadas

O teste estatístico *One-way* ANOVA foi aplicado para a avaliação da depleção de OD observada nas manatas dos FLDs **F1**, **F2**; para as medições de espessura de biofilmes dos *coupons* e aos dados de eficiência de remoção. Para os dados de *E. coli* e coliformes totais foi aplicado o teste

estatístico Mann-Whitny (*two samples*). Os testes estatísticos foram feitos com a utilização do *software* PAST® *Version* 2.17c (*Baschart/Boxplot*) (Palaeontological Statistics) criado por Hammer et al. (2001), tendo sido considerado como diferença significativa os valores de p<0,05.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Construção dos FLDs

Os dois filtros lentos em areia (Figura 5.1) foram construídos em PVC, com diâmetro interno de 250 mm (área superficial = 0,049 m²), utilizando os protótipos descritos por Freitas (2017) e Terin e Sabogal- Paz (2019) como projeto base – com adaptações. A estrutura dos filtros foi elaborada a partir de tubos de PVC da linha Defofo de 250 mm cedidos pela empresa AMANCO® (Figura 5.1).

Figura 5.1 - FLDs contínuo e intermitente.



Fonte: o autor.

O leito filtrante foi constituído por camada de 55 cm de areia fina, com tamanho efetivo (D_{10}) de 0,153 mm, coeficiente de uniformidade (UC) de 1,68 e porosidade de 45%. A camada suporte consistiu em 5 cm de areia grossa (tamanho dos grãos entre 1,5 e 3 mm), 5 cm de pedregulho fino (tamanho dos grãos entre 5 e 8 mm) e 7,5 cm de pedregulho médio (tamanho dos grãos entre 12 e 15 mm). Os materiais foram previamente lavados com água de poço, secos ao sol e peneirados com peneiras de fácil acesso em comunidades rurais brasileiras (e.g. peneiras de arroz, feijão, fubá, etc.).

No topo da camada de areia fina foi instalada uma manta não tecida (peso específico \pm 0,2 g cm⁻³, 100% poliéster e espessura de 2 mm). O uso da manta facilitou a limpeza dos filtros, conforme descrito por Maciel e Sabogal-Paz (2018).

A remoção semanal de amostras de manta não tecida para análises por microssensores foi realizada utilizando dispositivo exclusivo confeccionado com discos de PVC de 48 mm de diâmetro (tipo macho e fêmea) fixados nas mantas de ambos os FLDs. As amostras foram removidas semanalmente e, após, reinstaladas nos respectivos FLDs.

A taxa média de filtração se manteve em $0.90 \pm 0.8 \text{m}^3 \text{m}^2 \text{dia}^{-1}$ para o filtro contínuo e 8,81 $\pm 0.3 \text{m}^3 \text{m}^{-2}$ para o filtro intermitente. A média diária de produção foi a mesma de ambos os FLAs (48 Ldia), entretanto, a produção de **F2** diminuiu em relação do tempo, após as alimentações do filtro, devido ao regime intermitente.

5.2 Ensaios hidrodinâmicos dos filtros lentos de areia para uso domiciliar

5.2.1 Investigação sobre anomalias de escoamento

Ensaios hidrodinâmicos foram realizados com o propósito de se identificar a ocorrência de caminhos preferenciais ou efeito de parede nos filtros em estudo. Na Figura 5.2 é apresentado o resultado do ensaio de traçador do filtro intermitente, feito em triplicata.

A concentração do traçador variou na faixa de 0 mgL⁻¹ a 98 mgL⁻¹ ao longo dos testes (Figura 5.2 a, b). No filtro intermitente foram necessárias 3 alimentações para se remover totalmente o traçador do filtro, resultado similar foi obtido por Terin e Sabogal-Paz (2019). Na Figura 5.2a verifica-se o padrão de aumento e diminuição da concentração do traçador, resultado análogo ao reportado por Bradley et al. (2011), Maciel e Sabogal-Paz (2018), Sabogal-Paz et al. (2020) e Terin e Sabogal-Paz (2018).
Figura 5. 2 - Ensaio com solução de traçador, com duas injeções do tipo degrau e uma injeção do tipo degrau invertido, em filtro intermitente. A) filtro intermitente; B) Filtro contínuo.



A) Filtro Intermitente





Fonte: o autor.

A ocorrência do efeito de caminho preferencial ou efeito de parede foi considerada desprezível no meio filtrante, pois não houve saída de traçador no volume correspondente à camada de areia fina.

O MDI do filtro contínuo foi de 1,87 \pm 0,15, levemente superior aos reportados por Elliott et al. (2008) com MDI de 1,3 e Bradley et al. (2011) com MDI de 1,4; contudo, o MDI obtido (\leq 2,0) caracteriza o filtro como um reator *plug-flow*, de acordo com a classificação estabelecida por USEPA (1986) e Tchobanoglous et al. (2003).

O tempo médio de retenção (TMR) para o filtro contínuo foi de 464 min \pm 42,66 e este tempo foi utilizado para coletar as amostras de água filtrada visando avaliar eficiência. O modelo N-CSTR foi o que melhor se ajustou às características do escoamento com r² = 0,66 e N=21. De acordo com Levenspiel (1999), quanto mais alto o valor de N, mais o reator se aproxima ao modelo *plugflow*. Sabogal-Paz et al. (2020) reportaram resultado inferior de N (17) e superior para r² (0.75), operando o filtro contínuo para produção diária de 2,9 \pm 0,9 L. O resultado da modelagem do escoamento dos filtros contínuos baseados em extremos de idealidade é apresentado na Tabela 5.1.

Estatística	TMR	N- CSTR		Modelo dispersão	de baixa	Modelo dispersão	de alta
		Ν	r ²	D/µL	r^2	D/µL	r^2
Média	464	21	0,66	0,024	0,57	0,022	0,62
Desvio padrão	1,16	0,24	0,005	0,0003	0,005	0,0003	0,006

Tabela 5.1 - Resultado do teste de traçadores para o filtro contínuo (F1).

Notas: TMR: Tempo de médio retenção hidráulica; N-CSTR: N-Modelo de reator de agitação contínua; N: número de tanques de agitação; r^2 : coeficiente de determinação; D/µL: grupo sem dimensão que caracteriza dispersão em todo o reator (perto de zero denota desprezível dispersão, ainda que se trate de reator *plug flow*).

A partir da perspectiva do desenvolvimento da camada biológica e processos de remoção em filtros lentos, um reator *plug-flow* sugere que o mesmo tempo está disponível para todas as parcelas de água que entram no FLDs auxiliando, o tratamento da água (Sabogal-Paz et al., 2020).

5.2.2 Determinação das curvas de distribuição do tempo de residência em FLDs

Na Figura 5.3 se encontra a curva de distribuição do tempo de residência. O tempo médio de residência no filtro contínuo foi de 464 ± 1 min (7h 44 min). Este resultado indica que a água tratada pelo filtro deve ser coletada após este período para medidas de comparação com água afluente (cálculos de eficiência de remoção de variáveis de estudo). Foi considerado o tempo de residência para a coleta de amostras no experimento.

Em taxas de filtração de 1,2 m³m⁻²d⁻¹ Freitas (2017) obteve TMR de 350 \pm 22 min e Terin (2017) de 417 \pm 32 min, na operação de FLDs com geometria semelhante à deste trabalho. Young-Rojanschi e Madramootoo (2014) não considerou o cálculo do TMR para operação em fluxo contínuo de FLDs.



Figura 5.3 - Curva de distribuição do tempo de residência - ensaios de filtro em fluxo contínuo.

Fonte: o autor.

Os modelos baseados em extremos ideais de escoamento são apresentados na Figura 5.4.



Figura 5. 4 - Modelos baseados em extremos de idealidade para caracterização do escoamento em filtro contínuo.



Freitas (2017) operando em taxa de filtração de 1,22 m³m⁻²d⁻¹ encontrou o valor de N de 11 \pm 8 para modelo de igual geometria a de filtro contínuo. Entretanto, apesar das diferenças na taxa de filtração de Freitas (2017), foram obtidos valores próximos do parâmetro N, como indicativo de similaridade dos FLDs em função da proximidade do escoamento pistonado. Na Tabela 5.2 são apresentados valores dos parâmetros de modelos baseados em extremos de idealidade para medida de escoamento em filtro contínuo.

Parâmetro	Medida 1	Medida 2	Medida 3	
	• •			
Ν	20	21	21	
Pe	41	42	42	
Pe ₂	44,85	45,95	45,70	
Observação:				
N: parâmetro do modelo de N reatores de mistura perfeita em série;				
Pe: parâmetro do modelo de dispersão de baixa intensidade, e				
Pe ₂ : parâmetro do modelo de dispersão de alta intensidade.				
-				

 Tabela 5. 2 - Valores dos parâmetros de modelos baseados em extremos de idealidade para

 medida de escoamento em filtro contínuo.

Na Tabela 5.3 são indicados os valores dos coeficientes de correlação entre os modelos e os dados experimentais:

Tabela 5.3 - Valores dos coeficientes de correlação entre os modelos e os dados experimentais.

	Coeficiente de Correlação			
MODELO	Medida 1	Medida 2	Medida 3	
N reatores em série	0,80	0,81	0,81	
Dispersão baixa intensidade	0,75	0,76	0,76	
Dispersão de alta intensidade	0,78	0,79	0,79	

Fonte: o autor.

Para o filtro contínuo, a resposta ao estímulo degrau é apresentada na Figura 5.2 B, em três medições. Não houve difusão do traçador antes do início da saída, a aproximadamente 350 min de ensaio. Na Figura 5.3 se encontra a curva de distribuição do tempo de residência obtida popr meio da Equação 4.5. O tempo médio de residência no filtro contínuo foi de 464 \pm 1 min (7h 44 min). Este resultado indica que a água tratada pelo filtro deve ser coletada após este período para medidas de comparação com água afluente (cálculos de eficiência de remoção de variáveis de estudo).

5.3 Avaliação da perda de carga dos filtros lentos de areia F1 e F2

As sucessivas carreiras de filtração ocasionam a retenção de materiais suspensos no leito filtrante, tendo como principal consequência, a progressiva perda de carga, que acarreta a queda de produção de água dos filtros lentos de areia – quando usada concepção semelhante à adotada – estando o reinício das carreiras de filtração associado à diminuição da eficiência das unidades de filtração (SINGER et al., 2017). No entanto, durante os 8 meses experimentais de ambos os filtros (**F1** e **F2**), não foram observadas perdas de carga expressivas, se comparadas a Maciel (2018).

Esse efeito ocorreu devido ao fato de que inicialmente foi definida a obtenção de carreiras de filtração com duração de 1 mês, a fim de se obter avaliações do crescimento dos biofilmes em espaços de tempo iguais (8 carreiras de filtração de 1 mês cada), portanto, os filtros **F1** e **F2** não foram operados com carreiras de filtração longas o bastante para que houvesse a colmatação, que levaria à perda de carga expressiva.

Menores carreiras de filtração implicariam na obtenção de biofilmes reduzidos para análises, por outro lado, na opção por carreiras de filtração maiores, consequentemente, a colmatação ocorreria em tempos diferenciados para cada carreira de filtração e para cada filtro, comprometendo a comparação dos biofilmes.

Considerando-se as características físico-químicas e microbiológicas da água bruta utilizada na presente pesquisa (rio Monjolinho), estima-se que seria possível se obter carreiras de filtração com tempo de duração maior, até que houvesse a colmatação. Essa afirmação considera relatos de estudos anteriores, de autores que se utilizaram da água do mesmo manancial em estudos com filtros lentos de areia, como Freitas (2019) e Terin (2019), que obtiveram carreiras de filtração de aproximadamente 60 dias, e Maciel (2018), que registrou carreiras de 85 dias. É comum o registro de carreiras de filtração com tempos maiores em experimentos que envolvem filtros lentos de areia, como Elliott et al. (2008), que registraram carreiras de filtração de 50 dias; Nair et al. (2014) registraram 86 dias.

Algumas variações foram observadas nos piezômetros instalado na camada superior dos FLDs (camada de água estacionária). Esse efeito ocorreu pelo fato de ambos os filtros terem sido alimentados por meio de válvula tipo boia. Devido à movimentação feita no decorrer da operação para remoção de amostra da manta não tecida, além das impurezas contidas na água clarificada, ocorreram pequenas variações de nível, entretanto, as demais regiões do leito filtrante responderam a esses estímulos.

Ambos os filtros lentos de areia (**F1** e **F2**) foram operados com produção de 48 litros/dia, o registro das leituras dos piezômetros instalados ao longo da estrutura dos filtros **F1** e **F2** possibilitou o acompanhamento da do nível de água das diferentes camadas dos FLDs.

A série completa da evolução da altura piezométrica dos filtros operados em modo contínuo (**F1**) e intermitente (**F2**) nas 8 carreiras de filtração para cada FLD é apresentada no APÊNDICE 1.

5.4 Avaliação da eficiência dos FLDs

Para a presente pesquisa foi previamente definida a obtenção de 8 carreiras de filtração com duração de 1 mês cada, independentemente do nível de colmatação dos FLDs. O amadurecimento dos filtros acontece de maneira lenta, com aproximadamente 1 mês para obtenção da máxima eficiência, conforme descrito por CAWST (2012). A qualidade da água em todas as fases do experimento é reportada na Tabela 5.4 e esta, apresentou melhor qualidade ao longo do tempo em relação ao afluente, como reportado por Ho et al. (2007), CAWST (2012) e Grutzmacher et al. (2002).

	Água Bruta	Água Clarificada	FLD co	ontínuo (F1)	FLD inter	mitente (F2pp)	Valor
Variáveis	Valor (M ± DP)	Valor (M ± DP)	Valor (M ± DP)	Remoção (R) ou variação (V) (%) (M ± DP)	Valor (M ± DP)	Remoção (R) ou variação (V) (%) (M ± DP)	P Entre os FLD
Temperatura (°C)	$20,8 \pm 1,9$	$21,6 \pm 1,2$	$23,3 \pm 1,5$	$1,6 \pm 6,8(V)$	22,6 ± 1,4	$1\pm 6,5(V)$	3,53
рН	$6{,}60\pm0{,}17$	$6{,}83\pm0{,}18$	$7,1 \pm 0,2$	$0,3 \pm 1(V)$	$6,9 \pm 0,2$	0,1 ± 1(V)	0,008 ED
OD(mgL ⁻¹)	6,33 ± 0,49	6,41 ± 0,48	5,6±0,6	0,7 ± 11,5(V)	5,7 ± 0,6	$0,7 \pm 11(V)$	0,826
Condutividade (µScm)	57,09 ± 8,82	54,1 ± 8,28	53,0 ± 7,1	-1,2 ± 2,2 (V)	53,1 ± 7,3	-1,1 ± 2(V)	0,953
Turbidez (NTU)	19,69 ± 21,09	12,8 ± 13,94	3,0 ± 3,9	75,9 ± 31,1(R)	3,2 ± 4,1	74,8 ± 32,1(R)	0,744
Cor Aparente (uC)	83,58 ± 55,49	58,93 ± 37,26	15,7 ± 16,8	$73,4 \pm 28,5(R)$	$16,1 \pm 15,5$	72,8% ± 26,4(R)	0,834
Cor Verdadeira (uC)	48,29 ± 33,34	$34,28 \pm 21,17$	14,5 ± 16,0	$57,5 \pm 46,8(R)$	$16,2 \pm 16,7$	52,7% ± 48,9(R)	0,52
Coliformes Totais (CFU100mL)	7062 ± 3331	5744 ± 4322	33,3 ± 46,4	1,6 log ± 0,04 log	45,2 ± 66,8	1,4 log ± 0,06 log	0,715
E.coli (CFU100mL)	371 ±799	207 ± 294	0,9 ± 1,1	2,2 log ± 1log	$2,5 \pm 2,5$	$\begin{array}{c} 1,6 \log \\ \pm 0,01 \log \end{array}$	0,02 ED

Tabela 5. 4 - Caracterização da água bruta, água clarificada e da água produzida pelos FLDs em 8 carreiras de filtração.

Nota: M: media; DP: desvio padrão; (ED): estatisticamente diferente quando o valor de *p*<0,05.

Fonte: o autor.

5.4.1 Remoção de turbidez dos FLDs

Para turbidez, o **F1** apresentou eficiência de remoção levemente superior (75,91%) se comparado ao **F2pp** (74,81%) durante o período experimental (8 meses), contudo, não houve diferença estatística significativa entre os filtros (p=0,744). Remoções na faixa de 70% a 96% em ensaios de laboratório e em campo têm sido reportadas (CAWST, 2012; Frank et al., 2014; Jenkins, 2011), portanto, foi obtida eficiência de remoção ideal, não obstante ao fato de que no mês 5 ocorreram picos de 160 NTU e no mês 6, picos de 70 NTU na água bruta, contrariando a recomendação de CAWST (2012), que preconiza a utilização de água para FLDs com turbidez máxima de 50 NTU.

Frank et al. (2014) reportam que na operação de FLDs cujo afluente apresenta maiores níveis de turbidez, os resultados na remoção de turbidez são melhores. Entretanto, foi observada melhor taxa de remoção de turbidez no segundo mês de operação (91,8 % \pm 0,14 para **F1** e 87,0% \pm 0,36 para **F2pp**), no qual o valor médio do afluente (água clarificada) foi de 4,43 \pm 0,76 NTU.

Na Figura 5.5 pôde ser avaliada a evolução temporal dos FLDs na remoção de turbidez durante as 8 carreiras de filtração. No quinto mês de operação, por se tratar de período de chuvas intensas, se observou maior turbidez do afluente $33,7 \pm 25,4$ NTU. As taxas de remoção foram de $83,6\% \pm 7,2$ para **F1** e $82,9\% \pm 7,25$ para **F2pp**. Isso indica resultados similares aos observados por Jenkins (2011); CAWST (2012) e Frank et al. (2014).



Figura 5. 5 - Turbidez – Evolução temporal nas 8 carreiras de filtração a partir de dados diários (o eixo Y do gráfico possui escala logarítmica, dessa forma, 0,1 corresponde a zero).

A partir da Figura 5.5 pôde-se notar que a água produzida por ambos FLDs apresentou valores de turbidez acima do limite máximo de 1.0 NTU, recomendado pelo Ministério da Saúde (2017) e pela World Health Organization (WHO, 2017), portanto, ocorre a necessidade de aplicação de pós-tratamento para o consumo seguro.

Para melhor avaliação da eficiência de remoção de turbidez dos FLDs no que concerne a água produzida por F1 e F2pp, a Figura 5.6 apresenta as taxas de remoção atribuída aos filtros nas 8 carreiras de filtração.



Figura 5.6 - Eficiência de remoção de turbidez dos FLDs em 8 meses de operação

Fonte: o autor.

5.4.2 Remoção de Cor nos FLDs

Ellis e Wood (1985) relatam que a filtragem lenta constitui processo com baixa remoção de substâncias húmicas, no entanto, assim como para turbidez, no segundo mês de operação foram obtidos os melhores resultados de eficiência na remoção de cor aparente. Para **F1** foi obtida remoção de 92,2% \pm 1,35 e para **F2pp** 87,9% \pm 2,45. Não foi constatada diferença significativa no parâmetro de cor aparente produzida por ambos os FLDs neste período (*p*=0,8345).

O gráfico da evolução temporal para a variável de cor aparente nos FLDs consta no APÊNDICE 2.

Para cor verdadeira, no segundo mês de operação a remoção foi de 80,6% \pm 1,7 para **F1** e 81,77% \pm 0,77 para **F2pp**. Não foi constatada diferença significativa no parâmetro de cor verdadeira produzida pelos FLDs neste período (*p*=1).

O gráfico da evolução temporal para a variável de cor verdadeira nos FLDs costa no APÊNDICE 3.

5.4.3 Variações de pH

Na água produzida pelos FLDs, o valor médio de pH do afluente (6,83 ± 0,18 pH) foi elevado para 7,1 ± 0,2 pH para **F1** e 6,9 ± 0,2 pH para **F2pp** em decorrência do contato da água com o meio filtrante. Para este parâmetro, em ambos os FLDs, foi observado leve aumento do pH, porém, esse aumento foi maior para **F1**, portanto, houve diferença significativa entre ambos os FLDs (p=0,008).

O valor médio do pH de água filtrada no Brasil habitualmente fica entre 6,0 e 9,5 e o aumento do pH depois do processo de filtração lenta em areia também foi constatado por Freitas e Sabogal-Paz (2019).

Murphy et al. (2010) atribuem esse fenômeno à lixiviação de carbonato de cálcio em filtros construídos com estrutura em concreto. No caso de FLDs construídos em PVC, Freitas e Sabogal-Paz (2019) atribuíram o fenômeno à lixiviação do material que compõe o leito filtrante. Kalyl et al. (2020) também relataram aumento do pH em estudo sobre o amadurecimento de FLDs. Kennedy et al. (2012) reportaram que o pH e OD tiveram decaimento durante a operação de FLDs, e atribuíram esse fenômeno à oxidação de carbono.

A faixa de pH da água produzida pelos FLDs em estudo esteve dentro do padrão de potabilidade recomendado pelo Ministério da Saúde (2017) (pH entre 6 e 9,5).

O gráfico da variação temporal para a variável de pH em 8 meses de operação nos FLDs costa no APÊNDICE 4.

5.4.4 Condutividade elétrica

Para condutividade o valor médio do afluente em 8 meses de operação foi de $54,2 \pm 8,28$ µScm. A água produzida por **F1** apresentou valor médio de $53,00 \pm 7,11$ µScm e para **F2pp** $53,09 \pm 7,3$ µScm, portanto, a condutividade elétrica permaneceu estável, assim como observado por Freitas e Sabogal-Paz (2019). O resultado obtido é compatível com as características do manancial e o efeito de lixiviação do leito filtrante não resultou em efetivo aumento da condutividade, conforme

observado por Sabogal-Paz et al. (2020), que utilizaram afluente com baixas concentrações de íons minerais para alimentação de FLDs. Kalyl et al. (2020) também relataram estabilidade na condutividade elétrica de água produzida por FLDs. Não foi observada diferença significativa entre os FLDs em estudo (p=0,953).

O gráfico da variação temporal para a variável de condutividade elétrica a partir de análises semanais coletadas em 8 meses de operação nos FLDs costa no APÊNDICE 5.

5.4.5 Remoção de Coliformes Totais e E.coli

A redução de coliformes totais foi de $1,6 \pm 0,04$ log para **F1** e de $1,4 \pm 0,06$ log para **F2**, contudo, diferenças estatísticas significativas não foram observadas entre ambos os FLDs (*p*=0,714). O gráfico da evolução temporal da remoção de coliformes totais, a partir da média mensal de análises semanais coletadas nos 8 meses de operação nos FLDs costa no APÊNDICE 6.

A redução de *E.coli* para **F1** foi de $2,21 \pm 1$ log e de $1,6 \pm 0,01$ log para **F2**. Foi observada diferença significativa entre a remoção de ambos os FLDs (*p*=0,018), pois **F1** apresentou melhor eficiência de remoção. Maciel e Sabogal-Paz (2018) obtiveram taxa de remoção de *E.coli* acima de 1,0 log, após 14 dias de operação de FLDs operados em modo contínuo e intermitente, abastecidos do mesmo manancial.

Assim como Freitas e Sabogal Paz (2019), foi observado o progressivo aumento da eficiência de remoção de *E.coli* durante a operação dos FLDs, estando essa tendência associada a maturação dos biofilmes (ELLIOTT et al., 2008). Entretanto, a presença de micro-organismos na água produzida pelos filtros em estudo sinaliza a necessidade de pós-tratamento, conforme referenciado por CAWST (2009), além de ser reservada em recipiente higienizado e em locais protegidos, de maneira a atender as determinações da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2017) e do Ministério da Saúde (2017) para água potável.

O gráfico da evolução temporal da remoção de *E. coli*, a partir da média mensal de análises semanais coletadas nos 8 meses de operação nos FLDs costa no APÊNDICE 7.

5.4.6 Decaimento de Oxigênio Dissolvido nos FLDs

A decaimento de oxigênio dissolvido em relação ao afluente observada na água produzida pelos FLDs foi de $11,45\% \pm 0,83$ para **F1** e para $10,97\% \pm 0,70$ para **F2**. Esta redução está associada a ação de micro-organismos em suas atividades metabólicas, bem como, a ação química do substrato (TAFT et al., 1980). Kennedy et al. (2012) reportaram que o pH e OD tiveram decaimento durante a operação de FLDs, e atribuíram esse fenômeno à oxidação de carbono.

Durante rodo o período experimental, os níveis de concentração de OD do afluente e da água produzida pelos FLDs esteve abaixo do valor de saturação local (7,8 mgL⁻¹). Diferenças significativas não foram observadas na concentração de OD entre os FLDs (p=0,8266). O gráfico da variação temporal para a variável de OD em 8 meses de operação nos FLDs costa no APÊNDICE 8.

5.4.7 Produção do filtro intermitente (F2) e produção no período de pausa (F2pp)

Para avaliação da água produzida pelo filtro operado em modo intermitente (**F2**) com coletas efetuadas às 13:00 p.m. e a produção do mesmo filtro, quando coletadas amostras do período de pausa maior (15 h) 8:00 a.m. (**F2pp**) (Tabela 5.5).

	FLD inter	mitente (F2)	FLD interr	nitente (F2pp)	Valor
Variáveis	Valor (M ± DP)	Remoção (%) ou Variação (V)	Valor (M ± DP)	Remoção (%) ou Variação (V)	p entre FLDs
рН	$7,0 \pm 0,2$	+0,17 (V)	$6,9 \pm 0,2$	+0,14 (V)	0,421
$OD (mgL^{-1})$	5,5 ± 0,6	-0,94 (V)	$5,7 \pm 0,6$	-0,7 (V)	0,101
Condutividade (µScm)	54,3 ± 7,2	-0,14 (V)	53,1 ± 7,3	-1,1 (V)	0,457
Turbidez (NTU)	3,7 ± 4,1	71,3%	3,2 ± 4,1	74,8%	0,304
Cor Aparente (uH)	$18,1 \pm 14,7$	69,4%	16,1 ± 15,6	72,8 %	0,216
Cor Verdadeira (uH)	16,7 ± 12,6	51,4%	$16,2 \pm 16,7$	52,7%	0,891

Tabela 5. 5 - Avaliação do filtro intermitente: coleta de rotina e do período de pausa (15h).

Nota: M: média aritmética; DP: desvio padrão; V: Variação.

Fonte: o autor

Foi efetuada comparação da água produzida pelo filtro intermitente e em seu período de pausa maior (15 h). Conforme referenciam CAWST, 2012 e Sabogal-Paz et al., 2020, o período de pausa maior é necessário para que os processos físico-químicos e microbiológicos que envolvem o tratamento de água ocorram no interior da unidade. Entretanto, quando comparada a produção de **F2** e **F2pp**, foi constatada a não ocorrência de diferença significativa nas variáveis adotadas para comparação.

Freitas e Sabogal Paz (2019) relataram não haver diferença significante (p=0,3969) na remoção de cor aparente independentemente do tipo de operação ou período de pausa de FLDs. A presença de altos níveis de cor aparente em amostras coletadas de FLDs é atribuída ao fato de que esse tipo de filtro praticamente não reduz essa variável, conforme relatado por Ellis e Wood (1985). Os autores relatam que a filtragem lenta constitui processo com baixa remoção de substâncias húmicas.

5.5 Considerações preliminares sobre análises com microssensores nos coupons

Durante os 8 meses de estudo (8 carreiras de filtração) foram obtidos microperfis de OD nos biofilmes aderidos sobre os *coupons* fabricados a partir de lâminas de vidro e instalados nas CFXs.

Nas medições efetuadas, não foi observado o primeiro ponto de inflexão nas retas gráficas dos microperfis. Essa constatação inviabilizou a efetiva medição da espessura dos biofilmes, por se tratar da sinalização analógica que evidencia a camada limite (a superfície dos biofilmes), segundo observado por Lewandowski et al. (1994) e Gonzalez (2009).

A partir dessa constatação, convencionou-se estabelecer a medição da espessura dos biofilmes considerando-se a superfície do biofilme no ponto em que as retas gráficas começam a apresentar a efetiva queda das concentrações de OD, após percorrer a camada líquida acima da amostra (*coupon*).

Por outro lado, para definição da base do biofilme, ou da região em que o biofilme efetivamente se adere ao material suporte, ocorreu literalmente a quebra da ponta sensível do microssensor ao tocar no material rígido (lâmina de vidro – *coupon*), gerando assim, um pico de corrente elétrica no sistema de aquisição de dados, que sinaliza a base do biofilme.

De posse da sinalização gráfica desses dois eventos (localização do início da queda de OD, e pico de corrente elétrica gerada no momento da quebra do microssensor), foi possível mensurar efetivamente a espessura dos biofilmes analisados, considerando-se também, o comprimentos dos passos entre os pontos de medição que são programados via *software*; no caso da presente pesquisa, a distância convencionada entre cada ponto de medição foi de 20 µm ou 0,02 mm.

A Figura 5.7 ilustra um exemplo do método adotado para medição da espessura dos biofilmes aderidos nas amostras (*coupons* de lâminas de vidro).

Figura 5.7 - Exemplo da convenção adotada para posterior exposição dos resultados obtido por meio das análises com microssensores em *coupons* (definição da espessura do biofilme).





A partir do exemplo, adotado na Figura 5.7, a superfície do biofilme está localizada no ponto da reta em que tem início o declínio da concentração de OD (ponto **A**). O ponto "**B**" sinaliza a base do biofilme sobre o material suporte, e o ponto "**C**" sinaliza o pico de corrente elétrica gerado no momento da efetiva quebra da ponta sensível do microssensor.

Com base no critério adotado, torna-se possível inferir, que o biofilme em análise possui espessura de $3.220 \,\mu\text{m}$ (medição entre os pontos **A** e **B**) – o ponto **C** será omitido das apresentações gráficas.

5.6 Microperfis de OD nos coupons para análise dos biofilmes

As Figuras 5.8 a 5.14 ilustram os microperfis de OD obtidos nos *coupons*. Os gráficos expõem a evolução do crescimento do biofilme em cada ponto de coleta (CFX), durante a primeira carreira de filtração (mês 1). As análises foram feitas semanalmente (4 análises mensais).



Figura 5.8 - Microperfis de OD - coupons da CFX E (mês 1).

Figura 5.9 - Microperfis de OD - coupons da CFX F1-1 (mês 1).





Figura 5. 10 - Microperfis de OD - coupons da CFX F1-2 (mês 1).

Figura 5. 11 - Microperfis de OD - coupons da CFX F1-3 (mês 1).



Figura 5. 12 - Microperfis de OD - coupons da CFX F2-1 (mês 1).



Fonte: o autor



Figura 5. 13 - Microperfis de OD – coupons da CFX F2-2 (mês 1).

Figura 5. 14 - Microperfis de OD - coupons da CFX F2-3 (mês 1).



Na Tabela 5.6 é apresentado o resultado das análises com microssensores nos *coupons* (mês 1), sinalizando o ponto de coleta e a espessura do biofilme analisado semanalmente.

CFX	E	Espessura do biofilme (µm)				
Origem do <i>coupon</i>	(semana 1)	(semana 2)	(semana 3)	(semana 4)		
Ε	3.420	4.140	4.420	5.280		
F1-1	3.040	3.420	4.160	4.660		
F1-2	1.880	3.360	3.760	4.440		
F1-3	2.860	3.320	3.920	4.260		
F2-1	3.280	3.680	4.240	4.760		
F2-2	2.620	3.020	4.060	4.540		
F2-3	1.640	2.800	3.440	4.360		

Tabela 5. 6 - Resultado das 4 semanas de análises dos coupons (mês 1).

As Figuras 5.15 a 5.21 ilustram os microperfis de OD obtidos nos *coupons*. Os gráficos expõem a evolução do crescimento do biofilme em cada ponto de coleta (CFX), durante a segunda carreira de filtração (mês 2).

Figura 5. 15 - Microperfis de OD – coupons da CFX E (mês 2).





Figura 5. 16 - Microperfis de OD - coupons da CFX F1-1 (mês 2).

Figura 5. 17 - Microperfis de OD - coupons da CFX F1-2 (mês 2).



Figura 5. 18 - Microperfis de OD - coupons da CFX F1-3 (mês 2).



Fonte: o autor.



Figura 5. 19 - Microperfis de OD - coupons da CFX F2-1 (mês 2).

Figura 5. 20 - Microperfis de OD - coupons da CFX F2-2 (mês 2).



Figura 5. 21 - Microperfis de OD – coupons da CFX F2-3 (mês 2).



Fonte: o autor.

Na Tabela 5.7 consta o resultado das análises com microssensores nos coupons (mês 2).

CFX	Espessura do biofilme (µm)				
Origem					
do	(semana 1)	(semana 2)	(semana 3)	(semana 4)	
coupon					
Ε	3.240	3.660	4.080	4.500	
F1-1	3.660	3.900	4.080	4.280	
F1-2	1.380	2.940	3.060	3.460	
F1-3	1.080	1.900	2.620	2.980	
F2-1	1.820	2.260	3.580	4.600	
F2-2	2.160	2.840	3.440	3.780	
F2-3	1.440	2.380	2.980	3.580	

Tabela 5.7 - Resultado das 4 semanas de análises dos coupons (mês 2).

Fonte: o autor.

As Figuras 5.22 a 5.28 ilustram os microperfis de OD obtidos nos *coupons*. Os gráficos expõem a evolução do crescimento do biofilme em cada ponto de coleta (CFX), durante a terceira carreira de filtração (mês 3).

Figura 5. 22 - Microperfis de OD - coupons da CFX E (mês 3).





Figura 5. 23 - Microperfis de OD – coupons da CFX F1-1 (mês 3).

Figura 5. 24 - Microperfis de OD - coupons da CFX F1-2 (mês 3).



Figura 5. 25 - Microperfis de OD - coupons da CFX F1-3 (mês 3).





Figura 5. 26 - Microperfis de OD - coupons da CFX F2-1 (mês 3).

Figura 5. 27 - Microperfis de OD - coupons da CFX F2-2 (mês 3).



Figura 5. 28 - Microperfis de OD - coupons da CFX F2-3 (mês 3).



Fonte: o autor.

CFX	E	Espessura do biofilme (µm)				
Origem						
do	(semana 1)	(semana 2)	(semana 3)	(semana 4)		
coupon						
Ε	2.860	3.280	3.540	4.080		
F1-1	3.220	3.600	3.720	4.620		
F1-2	1.540	1.980	2.780	3.600		
F1-3	2.260	2.500	3.240	3.480		
F2-1	2.960	3.960	4.260	4.600		
F2-2	3.000	3.180	3.500	4.180		
F2-3	1.620	2.780	3.200	4.000		

Na Tabela 5.8 consta o resultado das análises com microssensores nos coupons (mês 3).

Tabela 5.8 - Resultado das 4 semanas de análises dos coupons (mês 3).

Fonte: o autor.

Na Figura 5.29 A e B, são apresentados os microperfis de OD obtidos nos *coupons* referente a quarta carreira de filtração, a partir da qual, foi efetuada 1 análise mensal para cada ponto de coleta (mês 4).

Figura 5. 29 - Microperfis de OD - coupons: A) filtro contínuo e B) filtro intermitente (mês 4).





Na Tabela 5.9 consta o resultado das análises com microssensores nos coupons (mês 4).

Tabela 5.9 - Resultado das análises dos coupons no final do mês 4.

CFX	Espessura do biofilme (µm)
Origem do coupon	(Final do mês 4)
Ε	4.140
F1-1	3.900
F1-2	3.420
F1-3	3.060
F2-1	4.920
F2-2	3.780
F2-3	3.460

Fonte: o autor.

Nas Figuras 5.30 A e B, constam os microperfis de OD obtidos nos *coupons* referente a quinta carreira de filtração (mês 5).



Figura 5. 30 - Microperfis de OD - coupons: A) filtro contínuo e B) filtro intermitente (mês 5).

Na Tabela 5.10 consta o resultado das análises com microssensores nos coupons (mês 5).

CFX	Espessura do biofilme (µm)
Origem do coupon	(Final do mês 5)
Ε	5.880
F1-1	4.880
F1-2	4.280
F1-3	3.740
F2-1	5.120
F2-2	4.660
F2-3	4.540

Tabela 5. 10 - Resultado das análises dos coupons no final do mês 5.

Nas Figuras 5.31 A e B, constam os microperfis de OD obtidos nos *coupons* referente a sexta carreira de filtração (mês 6).

Figura 5. 31 - Microperfis de OD – *coupons*: A) filtro contínuo e B) filtro intermitente (mês 6).



Fonte: o autor



Na Tabela 5.11 consta o resultado das análises com microssensores nos coupons (mês 6).

CFX	Espessura do biofilme (µm)
Origem do coupon	(Final do mês 6)
Ε	5.460
F1-1	4.820
F1-2	4.340
F1-3	4.000
F2-1	4.940
F2-2	4.820
F2-3	4.420
Fonte: o autor.	

Tabela 5. 11 - Resultado das análises dos coupons no final do mês 6.

Nas Figuras 5.32 A e B, constam os microperfis de OD obtidos nos *coupons* referente a sétima carreira de filtração (mês 7).



Figura 5. 32 - Microperfis de OD - coupons: A) filtro contínuo e B) filtro intermitente (mês 7).

Na Tabela 5.12 consta o resultado das análises com microssensores nos coupons (mês 7).

CFX	Espessura do biofilme (µm)
Origem do coupon	(Final do mês 7)
Ε	4.320
F1-1	4.440
F1-2	4.220
F1-3	3.800
F2-1	5.040
F2-2	4.600
F2-3	4.420

Tabela 5. 12 - Resultado das análises dos *coupons* no final do mês 7.

Nas Figuras 5.33 A e B, constam os microperfis de OD obtidos nos *coupons* referente a oitava carreira de filtração (mês 8).

Figura 5. 33 - Microperfis de OD - coupons: A) filtro contínuo e B) filtro intermitente (mês 8).



Fonte: o autor



Na Tabela 5.13 consta o resultado das análises com microssensores nos coupons (mês 8).

CFX	Espessura do biofilme (µm)
Origem do coupon	(Final do mês 8)
Ε	4.280
F1-1	4.040
F1-2	3.700
F1-3	3.240
F2-1	4.360
F2-2	4.060
F2-3	3.820

Tabela 5. 13 - Resultado das análises dos *coupons* no final do mês 8.

Pôde ser notada a ocorrência de biofilmes bastante espessos em todos os microperfis, e com um padrão de crescimento muito parecido, inclusive ao final primeira carreira de filtração (30 dias de operação), e essa constatação, contraria a expectativa de que durante o primeiro mês de operação, estando a atividade microbiológica ainda em fase de aporte de micro-organismos e início da colonização, e o leito arenoso ainda estéril, seriam obtidos microperfis de biofilmes pouco desenvolvidos. CAWST (2012) descreve que o amadurecimento dos FLDs ocorre de maneira lenta, com aproximadamente 1 mês.

A espessura média obtida ao final das carreiras de filtração, entre todos os pontos de medição distribuídos no leito dos FLDs foi de 4.660 \pm 163,57 μ m para **F1** e de 4.553 \pm 163,57 μ m para **F2**. Os biofilmes obtidos foram muito espessos, até mesmo se comparados a biofilmes cultivados em

sistemas de tratamento de esgoto, nos quais habitualmente se constata vasta biota ativa, como nos microperfis de Sarti et al. (2016); que obtiveram biofilmes com espessura entre 771 µm e 1954 µm em sistemas para tratamento de água residuária, utilizando diferentes materiais como mídia. Wimpenny & Colasanti (2006) recorreram à modelagem matemática para avaliação de crescimento de biofilmes e sugerem que sua estrutura é amplamente determinada pela concentração do substrato e disponibilidade nutricional (entre outros). Nesse sentido, considerando-se que os FLDs possuem ação superficial e é pouco provável que nas camadas inferiores dos FLDs ocorra a disponibilidade nutricional necessária para o crescimento de biofilmes com a espessura constatada (>3mm) em todas as camadas.

Ainda, outras importantes características puderam ser observadas nos microperfis para avaliação dos biofilmes formados nas diferentes camadas dos FLDs.

No primeiro mês de operação (por exemplo), nos microperfis da quarta semana de **F1-1**, segunda semana de **F1-3**, quarta semana de **F1-3**, terceira semana de **F2-2** e quarta semana de **F2-2**, foi evidenciado o decaimento de OD ao longo do microperfil e, posteriormente, a recuperação das concentração de oxigênio dissolvido para níveis mais elevados. Tais ocorrências são incompatíveis com a formação de gradientes de OD habitualmente observados no interior dos micronichos dos biofilmes, em decorrência da atividade microbiológica aeróbia e formação das EPSs (LEWANDOWSKI & BEYENAL, 2003; LEWANDOWSKI, 1994).

Esta mesma constatação foi evidenciada em inúmeros microperfis de **F1** e **F2**, em diferentes camadas dos filtros lentos de areia durante todo o período experimental, entretanto, para os microperfis da célula de fluxo "**E**", esse efeito foi mais expressivo nos microperfis do mês 4, no qual a concentração inicial de OD foi de 6,8 mgL⁻¹, houve então o decaimento para 4,5 mgL⁻¹, posteriormente, ocorreu a retomada para nível mais elevado, chegando a 5 mgL⁻¹.

Nos *coupons* da CFX **E**, que recebem água clarificada de **F1**, foi verificada maior quantidade de micro-organismos que nos outros *coupons* distribuídos em outras camadas dos FLDs (ver APÊNDICE 9), em todas as carreiras de filtração, o que demonstra que os FLDs exercem uma efetiva barreira aos micro-organismos. Na sexta carreira de filtração. Entre os metazoários que foram identificados nos *coupons* da CFX **E**, destaca-se a presença, de rotíferos, aparentemente em número reduzido, que também foram identificados por Bichai et al. (2014) em filtros lentos em areia.

Para todos os microperfis de OD obtidos em todas as carreiras de filtração, não foi possível a observação clara do primeiro ponto de inflexão, que define a camada limite, ou a superfície do biofilme, conforme referenciado por Lewandowski et al. (1994); DeBEER et al. (1994) e Lewandowski & Beyenal, (2007), sendo este, um indicativo de baixa atividade microbiológica, não obstante ao fato de que Bactérias foram identificadas em todas as amostras, e predominam em todas as condições de estudo dos *coupons* na presente pesquisa, principalmente nos meses os quais o afluente apresentou maiores níveis de turbidez (meses 5 e 6).

De acordo com Eikelboom (2000), bactérias possuem nutrição autotrófica ou heterotrófica, alimentam-se da matéria orgânica dissolvida ou em suspensão, portanto, podem oferecer um efeito positivo nos FLDs, auxiliando efetivamente no processo de purificação da água. As bactérias predominaram em todas as condições de estudo da presente pesquisa (*coupons*), principalmente nos meses em que a água bruta apresentou maiores níveis de turbidez (mês 5: 55,1 ± 35,23 NTU e mês 6: $138,5 \pm 37,24$ NTU).

Com base nos resultados obtidos nas análises dos *coupons* para este estudo, os organismos encontrados foram do reino Protista como, *Ciliophora* (Ciliados), *Chlorophyta* (Algas Verdes), *Heterokonta* (Algas) e *Mastigophora* (Flagelados), além das *Rotífera* (animais microscópicos aquáticos), sendo que, os que mais predominaram em todos os *coupons* analisados, independente do período foram os do filo *Mastigophora* e *Heterokonta*.

Também pôde ser verificada a elevada espessura dos biofilmes analisados; com baixa depleção de OD, se comparados a microperfis obtidos em sistemas de biofilmes com vasta biota ativa, como os observados por Sarti et al. (2016); Gonzalez (2009) e Lewandowski (1994), e ausência de regiões anaeróbias em perfis com elevada espessura. Conclui-se se tratar de filmes cuja composição é essencialmente química, com camadas estratificadas, podendo ter origem no afluente ou no material lixiviado que compõe o próprio leito filtrante. Similarmente, Sabogal-Paz et al. (2020) operaram FLDs a partir de afluente contendo baixa concentração mineral e condutividade elétrica (3,24 \pm 0,78 μ Scm), mas obtiveram água produzida por filtro operado em modo contínuo com 36,2 \pm 10,4 μ Scm e em filtro intermitente 30,0 \pm 8,0 μ Scm, tendo sido esse resultado atribuído ao contato da água com o material que compõe o leito filtrante.

Outro importante indício que pôde ser observado nos microperfis obtidos em todas as carreiras de filtração, foi o decaimento de OD de maneira muito lenta, diferente do habitualmente observado em sistemas de biofilmes aplicados em sistemas de tratamento de águas residuárias (por exemplo), cuja atividade microbiológica proporciona a rápida depleção do OD, que é utilizado pelos micro-organismos em sua atividade metabólica, conforme demonstrado por Lewandowski, (1994) e Sarti et al., (2016). Segundo Lewandowski (1994), sistemas com biofilmes oferecem difusividade limitada, e as condições químicas nas proximidades e no interior dos biofilmes podem variar dramaticamente em distâncias de poucos micrometros, o que não pôde ser verificado nos microperfis obtidos nos *coupons* expostos às diferentes camadas dos FLDs em estudo.

Por meio das análises microscópicas e de contraste de fase efetuadas nos *coupons*, foi constatada elevada presença de flagelados em todos os 8 meses experimentais - em diferentes

períodos climáticos. Esse fato demonstra a sua capacidade de adaptação independentemente da ocorrência de disponibilidade nutricional ou em locais com menor eutrofização. Provavelmente, essa ubiquidade dos flagelados está relacionada ao seu grande leque de adaptações, principalmente no que se refere a sua versatilidade alimentar (MEDEIROS, 2012). Esses micro-organismos se alimentam de material particulado, como células bacterianas, e absorvem nutrientes dissolvidos, matéria orgânica solúvel, por meio da parede celular (EIKELBOM, 2000; JENKINS et al., 2004), portanto sua presença nos FLDs pode indicar um acúmulo das concentrações de DBO solúvel. Os ciliados e flagelados parecem estar mais ligados à disponibilidade alimentar, do que ao nível trófico do ambiente, vez que, esses ambientes são apropriados para as algas, bactérias e flagelados.

Até mesmo nos microperfis obtidos nos meses 5 e 6, nos quais houve grande intensidade de chuvas, e consequentemente, os mais altos níveis de Turbidez, Cor Aparente e Cor, os microperfis seguiram basicamente o mesmo padrão de crescimento dos outros meses de operação, apesar do fato de que no 5° mês de operação foram identificados, além de micro-organismos flagelados, maior abundância de tecamebas (tecamebas), que indicam condições de nitrificação quando a concentração de matéria orgânica é baixa – DBO₅ menor que 20 mgL⁻¹ (EIKELBOOM, 2000).

Rotíferos estão entre os metazoários que foram identificados nas amostras de biofilmes coletadas dos *coupons*, destaca-se a presença, aparentemente, em número reduzido na amostra **E** mês 6.

Há de se considerar que as bactérias são extremamente capazes de se autorreproduzir e podem existir individualmente (organismos planctônicos) ou em formas complexas em comunidades integradas e funcionais (biofilmes) (DAVEY & O'TOOLE, 2000; DINICOLA et al., 2014), nesse sentido, a baixa densidade de bactérias e micro-organismos observadas nas amostras, além da pequena quantidade de *clusters* formados por EPSs, não correspondem à formação de biofilmes com espessura aproximada de $4.267 \pm 586 \,\mu\text{m}$ (4,2 mm), conforme avaliado nos *coupons* nesta pesquisa.

Com base nessas constatações, a interpretação dos microperfis e análises microscópica ocular e de contraste de fase, conduzem a inferir tratar-se de biofilmes cuja composição é predominantemente química, na qual a atividade microbiológica é extremamente pequena, não obstante ao fato de terem sido observados níveis relativamente elevados de depleção de OD em alguns casos. A depleção de OD verificada, pode ter origem na deposição estratificada de materiais componente do leito dos FLDs, além de materiais em suspensão no meio liquido que permeiam o leito filtrante. A estratificação desses materiais sobrepostos em camadas sobre os *coupons* elucida a obtenção de microperfis cuja concentração de OD decai e depois aumenta, além da ocorrência de microperfis muito longos, consequência da espessa camada formada, não obstante ao fato de que em nenhum dos microperfis foi constatada a presença de regiões anóxicas, habitualmente observados em microperfis de OD com espessura maior que 1.000 μ m (1mm), conforme obtidos por Sarti et al.,
(2016). Ahmad et al. (1998) também constataram que em filtros, devido à ausência ou precariedade de partículas biológicas no afluente, a configuração do biofilme assume diferentes formas, inclusive, representado por configurações de sobreposição (particulado não biológico em biomassa sobreposta) que pode ser observada a partir de análises microscópicas. Outros autores como Laglais et al. (1991) e Lu & Huck (1993) também constataram a habitual presença de biofilmes com estrutura descontinuada ou fragmentada em ambientes de água potável.

A classificação quantitativa dos micro-organismos observados nos *coupons* de F1 e F2 é apresentada no APÊNDICE 9.

A análise microbiológica para visualização dos micro-organismos por meio de microscopia óptica comum e de contraste de fase efetuada nos dos *coupons* de **F1** e **F2**, é apresentada no APÊNDICE 10.

5.6.1 Considerações preliminares sobre análises com microssensores nas mantas

A Figura 5.34 demonstra a aplicação de microssensor de OD em amostra de manta não tecida.

Figura 5. 34 - Amostra de manta não tecida sendo analisada com microssensor de OD.



1 – Microssensor de OD;

- 2 Suporte do *micro-stepper*;
- 3 Reservatório contendo água de imersão da amostra;
- 4 Amostra de manta não tecida;
- 5 Terminal elétrico de conexão do microssensor (Anodo), e
- 6 Terminal elétrico de conexão do microssensor (Catodo).

Fonte: o autor.

Assim como nos *coupons*, não foi possível a observação clara de pontos de inflexões nas retas dos microperfis obtidos nas mantas dos filtros lentos de areia operados em modo contínuo (**F1**) e intermitente (**F2**) em todas as análises mensais.

Por se tratar de material permeável, dotado de superfície irregular com espessura nominal de 2,8 mm e fibras de 25 µm, tornou-se complexa a localização precisa da manta nos microperfis obtidos, lembrando que os microssensores foram introduzidos na seção transversal, atravessando literalmente a espessura de 2,8 mm das mantas, conforme ilustração da Figura 5.35.

Figura 5. 35 - Ilustração da aplicação de Microssensores nas mantas não tecidas.



Fonte: o autor.

5.6.2 Avaliação preliminar da permeabilidade de OD das mantas não tecidas

Para prévia avaliação, foram obtidos microperfis de oxigênio dissolvido (em triplicata) em amostras virgens de manta não tecida, isentas de qualquer material aderido. As medições foram feitas a fim de se avaliar a permeabilidade de oxigênio dissolvido, no material selecionado para compor a superfície dos filtros lentos de areia para uso doméstico (manta não tecida, branca, com espessura nominal de 2,8 mm e fios de 25 µm).

Amostras de manta de aproximadamente 13 cm² foram lavadas e imersas durante 24 horas em 100 mL de água deionizada. Posteriormente, por meio de aeração forçada, a mesma água foi saturada até atingir valor de saturação local (aproximadamente 7,8 mgL⁻¹).

Teve início a obtenção de microperfil de OD em toda a seção transversal da manta, que possui 2,8 mm (2.800 µm), conforme ilustra o gráfico da Figura 5.36. Para os microperfis em questão, também foram programados passos de 20 µm com taxa de aquisição de 1 pps.



Figura 5. 36- Microperfis de OD obtido em 3 amostras - avaliação de manta não tecida virgem.

Fonte: o autor.

No gráfico apresentado, nota-se que não ocorreu a efetiva depleção de OD nas amostras de manta que foram analisadas em escala de amostragem gráfica de OD de 0 a 9 mgL⁻¹. Entretanto, devido à alta sensibilidade dos microssensores de OD, foi possível se otimizar essa resolução de leitura dos mesmos perfis, a fim de melhor visualização da dinâmica de penetração dos microssensores nas amostras e suas leituras (Figura 5.37).



Figura 5. 37 - Microperfil de OD da Figura 5.36 em alta resolução no eixo Y.

Fonte: o autor.

No gráfico da Figura 5.37 pôde-se observar o ponto aproximado de entrada do microssensor nas amostras de manta não tecida (**A**), e o ponto aproximado de saída (**B**). As amostras foram posicionadas horizontalmente, e a introdução dos microssensores foi feita verticalmente.

Devido à alta resolução de leitura, pôde-se observar diminutas oscilações, nos pontos de leitura, que sinalizam a presença de microbolhas de ar que remanescem presas nos interstícios da manta (picos altos), ou, em posições em que a ponta sensível do microssensor (10 a 20 μ m) toca diretamente as fibras (25 μ m) e vedam momentaneamente a ponta sensível do microssensor (picos baixos).

Nas regiões anteriores ao ponto "**A**" (camada liquida acima da manta) e posteriores ao ponto "**B**" (camada liquida abaixo da manta) se nota a tendência à estabilidade de leitura, sendo mantida a mesma concentração de OD de cada perfil (inicial e final), trata-se da concentração de OD da água de imersão das amostras. A retomada das concentrações de OD no ponto "**B**" ocorre devido a não existência de substrato efetivamente rígido na parte inferior da manta, que possa ocasionar a quebra da ponta sensível do microssensor, sinalizando assim, a base do material suporte, conforme observado por Maciel (2018).

Por meio do método preliminar adotado, foi possível se constatar que as mantas não tecidas de 2,8 mm não oferecem efetiva barreira à penetração de oxigênio dissolvido, e nem constituem barreira à penetração dos microssensores, portanto, nesse aspecto, são adequadas para a proposta dos filtros lentos de areia para uso domiciliar aplicados na presente pesquisa.

O gráfico da Figura 5.38 apresenta um microperfil de OD obtido como teste preliminar em amostra de manta não tecida submetida durante 30 dias de operação em filtro lento em areia, a fim de se definir o método de interpretação gráfica adotado na presente pesquisa.



Figura 5. 38 - Microperfil de OD obtido em amostra de manta e sinalização gráfica adotada

Fonte: o autor.

O gráfico da Figura 5.38 contém sinalizações nas expressões gráficas que apontam a posição da amostra de manta na linha gráfica obtida. O modelo de interpretação foi adotado a fim de se demonstrar características quantitativas (espessura do biofilme), e qualitativas (nível máximo da depleção de OD observado no interior da amostra de manta não tecida) das amostras de manta não tecida aplicadas na superfície do leito arenoso dos filtros lentos de areia contínuo (**F1**) e intermitente (**F2**).

No gráfico pode ser observado que inicialmente, o microssensores de OD percorre a água de imersão da amostra, cuja concentração de OD foi de 7,25 mgL⁻¹. Convencionou-se manter aproximadamente 200 μ m da reta como parâmetro da concentração inicial e final de OD em todos os gráficos obtidos nos resultados deste trabalho.

No ponto de referência "**A**" teve início o "lento" decaimento da concentração de OD (com ausência de inflexões), atingindo o valor mínimo de 4,8 mgL⁻¹ no interior da manta (máxima depleção observada). A partir do ponto de referência "**D**" pode-se notar o início da recuperação das

concentrações de OD em direção aos níveis de origem (7,25 mgL⁻¹), em um ângulo ascensional superior ao ângulo de decaimento que ocorreu na entrada da manta. Esse efeito ocorre porque na parte superior da manta se encontra maior quantidade de material depositado e biofilmes que depletem o oxigênio dissolvido.

Os valores de OD observados no início (ponto **A**) e no final do perfil (ponto **E**), são os mesmos (7,25 mgL⁻¹), devido ao fato de o microssensor haver literalmente atravessado a manta, entrando em contato novamente com o meio liquido de imersão que se encontra na parte inferior da amostra, contendo a mesma concentração de OD do início do perfil. Após a observação de concentrações de OD iguais às iniciais do perfil, também foi mantida a aquisição de dados por aproximadamente 200 μ m.

Como é de conhecimento que a espessura nominal das mantas é de 2,8 mm (2.800 μ m), e se observou graficamente o ponto "**D**" (face inferior da manta), torna-se possível se inferir que a manta está situada entre os pontos "**B**" e "**D**". Nesse contexto, a distância entre os pontos "**A**" e "**B**" do gráfico, representa o biofilme formado sobre a amostra de manta não tecida, portanto; com aproximadamente 800 μ m de espessura.

A partir da observação dos níveis máximo de OD (do meio líquido) e mínimos (interior da manta) que chegou a 4,8 mgL⁻¹ no ponto "**C**", se obteve a depleção máxima de OD na amostra, que foi de 2,45 mgL⁻¹.

O material utilizado (manta não tecida de 2,8 mm) possui espessura maior que a camada de biofilme observada em sua superfície, entretanto, é imprescindível se considerar que se trata de material permeável, portanto, nos interstícios da manta também ocorre a formação de biofilme, cuja densidade pode apresentar variações expressivas.

Perante essa constatação, e devido ao fato de não ter sido observado o primeiro ponto de inflexão que define a camada limite conforme relatado por Lewandowski et al. (1994), optou-se por considerar para a presente pesquisa, apenas a depleção máxima de OD observada nas amostras de manta não tecida como parâmetro para avaliação dos FLDs e análises estatísticas, e não a espessura dos biofilmes formados nas mantas.

5.7 Microperfis obtidos com microssensor de OD nas amostras de manta não tecida

Os microperfis de OD obtidos das amostras de manta não tecida referentes ao mês 1 são apresentados na Figura 5.39 A e B, respectivamente para **F1** e **F2**.









Fonte: o autor

B) Filtro intermitente

187

Fonte: o autor.

Os microperfis de OD obtidos das amostras de manta não tecida referentes ao mês 2 são apresentados na Figura 5.40 A e B, respectivamente para F1 e F2.





A) Filtro contínuo

Fonte: o autor



B) Filtro intermitente

Fonte: o autor

Os microperfis de OD obtidos das amostras de manta não tecida referentes ao mês 3 são apresentados na Figura 5.41 A e B, respectivamente para F1 e F2.

Figura 5. 41 - Microperfil de OD da manta não tecida: A) do filtro contínuo F1; B) do filtro intermitente F2 (mês 3).





Fonte: o autor



B) Filtro intermitente

Fonte: o autor

Na Figura 5.42, são apresentados os resultados das análises de OD feitas com microssensores nas amostras de manta não tecida de **F1** e **F2** no mês 4, a partir do qual, foi efetuada 1 medição com microssensor para cada FLDs ao final de cada carreira de filtração.



Figura 5. 42 - Microperfis de OD: manta não tecida de "F1" e "F2" (mês 4).

Na Figura 5.43, são apresentados os resultados das análises de OD feitas com microssensores nas amostras de manta não tecida de **F1** e **F2** no mês 5.



Figura 5. 43 - Microperfil de OD: manta não tecida de F1 e F2 (mês 5)



Fonte: o autor

191

Na Figura 5.44, são apresentados os resultados das análises de OD feitas com microssensores nas amostras de manta não tecida de F1 e F2 no mês 6.



Figura 5. 44 - Microperfil de OD: manta não tecida de F1 e F2 (mês 6)

Fonte: o autor

Na Figura 5.45, são apresentados os resultados das análises de OD feitas com microssensores nas amostras de manta não tecida de F1 e F2 no mês 7.

Figura 5. 45 - Microperfil de OD: manta não tecida de F1 e F2 (mês 7)



Fonte: o autor

Na Figura 5.46, são apresentados os resultados das análises de OD feitas com microssensores nas amostras de manta não tecida de **F1** e **F2** no mês 8.



Figura 5. 46 - Microperfil de OD: manta não tecida de F1 e F2 (mês 8)

Fonte: o autor

Por meio da obtenção dos microperfis de OD nas amostras de manta não tecida de **F1** e **F2**, foi possível se observar que no decorrer do tempo de operação dos filtros, ambas as amostras apresentam progressiva depleção de oxigênio dissolvido na medida em que o microssensor de OD foi sistematicamente introduzido nas amostras. Na Tabela 5.14 é apresentada a depleção máxima de OD verificada. Os microperfis foram obtidos semanalmente durante os três primeiros meses de operação dos FLDs e a partir do quarto mês, foram obtidos ao final de cada carreira de filtração.

Mês de	FLD	Máxima depleção verificada nas mantas (mgL ⁻¹)						
referência		1ª Semana	2ª Semana	3 ^a Semana	4 ^a Semana			
Mês 1	Contínuo (F1)	0,72	1,56	1,74	2,32			
	Intermitente (F2)	1,08	1,63	2,18	3,68			
Mês 2	Contínuo (F1)	1,42	1,46	1,52	2,22			
	Intermitente (F2)	0,87	1,36	1,99	2,53			
Mês 3	Contínuo (F1)	0,99	1,05	1,24	1,72			
	Intermitente (F2)	0,43	1,02	1,12	2,05			
Mês 4	Contínuo (F1)	-	-	-	1,10			
	Intermitente (F2)	-	_	_	1,60			
Mês 5	Contínuo (F1)	-	-	-	1,11			
	Intermitente (F2)	-	_	_	1,26			
Mês 6	Contínuo (F1)	-	-	-	2,28			
	Intermitente (F2)	-	-	-	2,40			
Mês 7	Contínuo (F1)	-	-	-	0,98			
	Intermitente (F2)	-	-	-	1,50			
Mês 8	Contínuo (F1)	-	-	-	2,75			
	Intermitente (F2)	-	-	-	2,75			

Tabela 5. 14 - Máxima depleção de OD observada em cada microperfil das mantas de F1 e F2.

Para todos os microperfis, foi constatado que os valores máximos de depleção de OD foram localizados nas proximidades da parte inferior das amostras de manta, que fica em contato com a superfície do leito filtrante dos FLDs. Em todos os microperfis não foi observada a presença de regiões anaeróbias, pois as medições se mantiveram acima de 1,0 mgL⁻¹. Cabe destacar que baixas concentrações de OD oferecem limitações ao desenvolvimento do biofilme (Donlan, 2002).

Assim como observado nos microperfis obtidos nos *coupons* não foram constatadas inflexões nas linhas gráficas dos microperfis que sinalizam a camada limite (superfície do biofilme) relatada por Lewandowski et al. (1994) e o decaimento de OD ocorreu de maneira lenta. Também foi observada a ausência de regiões anaeróbias, mesmo no interior dos interstícios porosos das amostras de manta não tecida.

Todas as medições de OD obtidas com microssensores revelaram a ausência de um primeiro ponto de inflexão, que poderia determinar a superfície do biofilme (camada limite), em auxilio a efetiva medição da espessura da camada biológica (Lewandowski et al., 1994). Entretanto, foi evidenciada a presença de gradientes da concentrações de OD, com significativa depleção, todavia, relativamente pequena, se comparadas a microperfis obtidos em biofilmes aderidos em mídias aplicadas ao tratamento de águas residuárias (por exemplo) nos quais, habitualmente se nota o rápido decaimento de OD a partir da camada limite, chegando em alguns casos, a anoxia na base de biofilmes com poucos micrometros de espessura, como os verificados por Ono (2007) e De LA Rosa & Yu (2004).

O acúmulo de material particulado é parte integrante da formação do biofilme, e dependendo do ambiente em que o biofilme é formado, pode ser composto por materiais não celulares como cristais minerais, partículas de corrosão, argila ou partículas de lodo (Donlan, 2002). Nesse sentido, o acumulo de material particulado aliado à presença de micro-organismos colabora efetivamente com a formação de gradientes de OD no biofilme. Considerando-se a expectativa de que a maior parte da filtração lenta em areia é conduzida por diversa gama de micro-organismos (Wakelin et al., 2011), a progressiva depleção de OD verificada, pode limitar o desenvolvimento microbiológico, por restringir o acesso da biota ativa ao oxigênio proveniente da água (Ranjan & Prem, 2018), levando o processo de filtração à colmatação.

Não foram efetuadas análises microscópicas das amostras de manta não tecida de ambos os FLDs, entretanto, nos *coupons* instalados na célula de fluxo designada **E**, a qual esteve em contato com o mesmo afluente recebido pelas mantas não tecidas, foram identificadas bactérias e micro-organismos Flagelados. Segundo Eikelboom, 2000 e Jenkins et al. (2004), a essa categoria de micro-organismos, pertencem algumas espécies que se alimentam de material particulado contido no meio líquido, como células bacterianas, porém, a maioria das espécies absorvem nutrientes dissolvidos, matéria orgânica solúvel e nesse contexto, essas características dos flagelados corroboram positivamente com o processo de purificação da água nos FLDs, em sua primeira barreira filtrante – a manta não tecida.

Os microperfis do FLD operado em modo intermitente (F2) apresentaram maior depleção de OD no final da carreira de filtração, porém, com menor eficiência na redução de turbidez que F1. Conclui-se que nos microperfis de F2 é observada maior depleção de OD, em decorrência da forma com que biofilme se adere à amostra de manta não tecida em condição de fluxo hidráulico intermitente. Essa afirmação se baseia no fato de que ambos os FLDs, tem a mesma especificação do leito filtrante e foram abastecidos com o mesmo afluente, portanto, com potencial de formação de biofilmes com estruturas muito semelhantes.

A condição de fluxo de alimentação contínua ou intermitente também influencia na forma com que o material particulado e a matéria orgânica biodegradável, que se encontra em suspenção no meio liquido é sedimentado sobre as mantas, consequentemente, também influencia na transferência de massa em microescala (Lewandowski & Boltz, 2011), podendo ser esta a razão da ocorrência de algumas diferenças na eficiência de remoção de FLDs operados em fluxo contínuo e intermitente reveladas por diversos autores (Maciel, 2018; Freitas e Sabogal-Paz, 2019; Maciel e Sabogal-Paz, 2018; Sabogal-Paz et al., 2020; Terin e Sabogal-Paz, 2019). Nesse contexto, torna-se oportuno se estabelecer uma relação consistente entre a depleção máxima de OD observada nas 3 carreiras de

filtração, nas quais foram obtidos microperfis semanais de OD, e a eficiência ne remoção de turbidez dos FLDs operados em modo contínuo (**F1**) e intermitente (**F2**) (Figura 5.47).





Nota: * Medições da máxima depleção de OD verificada semanalmente nas mantas de F1 e F2pp (mgL⁻¹). Fonte: o autor.

Por meio da Figura 5.47, se verifica o efeito do amadurecimento dos FLDs durante os primeiros 30 dias de operação (CAWST, 2012). Durante o primeiro mês de operação a eficiência de remoção de turbidez de **F1** foi de 83,13% \pm 0,82 e **F2** foi de 80,1% \pm 1,31. No entanto, ao final da primeira carreira de filtração o nível máximo de depleção de OD na manta não tecida de **F1** foi de 2.32 mgL⁻¹ e de **F2** foi de 3.68 mgL⁻¹.

A verificação de biofilmes que oferecem maior depleção para F2 do que para F1 se manteve em todas as carreiras de filtração, contudo, as diferenças de eficiência na remoção de F1 e F2 são muito tênues e se alternam no decorrer durante o tempo de operação ilustrado na Figura 5.47. As diferenças na eficiência de remoção entre F1 e F2 foi analisada estatisticamente em Capítulo posterior. A partir da Figura 5,47, conclui-se que biofilmes mais espessos colaboram positivamente com o resultado dos FLDs (produção de água potável), o que pode ser obtido ao longo do tempo de operação no processo conhecido como maturação dos FLDs (CAWST, 2012).

Os gradientes de OD em biofilmes aderidos em FLDs ainda não foram investigados com o uso de microssensores, mas segundo Ranjan & Prem (2018), a matéria orgânica juntamente com micro-organismos em meio líquido rico em oxigênio dissolvido torna-se ambiente favorável para a formação de biofilmes. Dessa forma, a depleção de OD verificada nas amostras de manta dos FLDs, está diretamente relacionada não apenas à respiração de micro-organismos em suas atividades metabólicas (Ranjan & Prem, 2018), mas principalmente pela ação química de material particulado depositado sobre as amostras de manta não tecida, que são carreadas pela água afluente (TAFT et al., 1980).

Nesse efeito, o crescente aporte do material suspenso contido no meio líquido, aliado ao também acúmulo das EPSs produzida pelos micro-organismos em suas atividades metabólicas, conduzem à natural colmatação dos FLDs, caracterizada pelo aumento da perda de carga, que diminui a produção de água, também sendo responsável pela diminuição da difusividade do oxigênio dissolvido no biofilme. Em seus estudos sobre a natureza da distribuição de OD em biofilmes, De Beer et al. (1994) também concluíram a importância da estrutura do biofilme no transporte de OD e aporte de nutrientes que são utilizados pelos micro-organismos em suas atividades metabólicas.

Além da diminuição da difusividade de OD, também fica comprometido o transporte de massa do substrato que ocorre pela difusão molecular, condição esta em que, segundo Morgenroth et al. (2000), outros mecanismos de transporte de massa, como a convecção, passam a ser comprometidos.

O teste estatístico (HAMMER et al., 2001) aplicado aos dados da depleção de OD nas amostras de manta não tecida de **F1** e **F2** e indicaram que não houve diferença significativa entre os FLDs durante 8 meses de operação (p=0,98).

5.8 Potencial de oxidação-redução das amostras de manta não tecida de F1 e F2.

Na Figura 5.48 A e B são apresentados os resultados das análises feitas com microssensores de POR nas amostras de manta não tecida de **F1** e **F2** ao final de cada carreira de filtração, durante os 8 meses de operação.

Figura 5. 48 - Microperfis do Potencial de Oxidação-redução referentes a 8 meses de operação dos FLD: A) filtro contínuo (F1) e B) do filtro intermitente (F2).



A) Filtro contínuo (F1).

Fonte: o autor.





Não foram encontrados relatos anteriores sobre análises de potencial de oxidação-redução $(E_{\rm H})$ em mantas de filtros lentos em areia com microssensores. No entanto, dados sobre o potencial de oxidação-redução necessitam de análise criteriosa, considerando-se que nem sempre a cinética permite que as condições de equilíbrio termodinâmico sejam estabelecidas em ambientes complexos e que se alteram constantemente, como no caso dos FLDs.

Para ambos os FLDs, se observou que o potencial de oxidação-redução (em escala de +1V a -1V) da água clarificada se manteve na faixa entre +248 mV e +289 mV durante os 8 meses de experimento, demonstrando característica efetivamente oxidante (JARDIM, 2014; LAMON, 2014). Nas amostras de água clarificada, cujo pH foi de $6,83 \pm 0,18$, o oxigênio deve ser o principal receptor de elétrons quando o potencial redox medido está próximo a +400 mV conforme referenciado por Jardim (2014).

Decaimentos quase imperceptíveis do potencial REDOX foram observados no interior das amostras de manta, porém, tão logo os microssensores atravessaram as amostras, e entraram em contato com o meio liquido na parte inferior das mantas (assim como nas medições de OD), o potencial de oxidação-redução restabelece os valores iniciais.

Dessa forma, pôde-se constatar que, apesar de as amostras de manta terem acumulado biofilmes espessos durante todas as carreiras de filtração, a reatividade do material acumulado nas amostras de manta, tanto na parte superficial, parte interna e a inferior (que fica em contato com a superfície do leito de areia fina) é essencialmente oxidante, pois não foram observadas regiões com potencial redutor.

5.9 Potencial de biorespiração (BRP) das amostras de manta de F1 e F2

A Figura 5.49 A e B apresenta o resultado de 8 meses (1 ao mês), das análises de BRP efetuadas na amostra de manta não tecida com área de 13,8 cm², aplicadas nos filtros operado em modo contínuo (**F1**) e intermitente (**F2**). A partir dos gráficos, pôde-se observar apenas um leve decaimento das concentrações de OD após 10 min de análise, observação esta, válida para as 8 análises efetivadas para cada FLDs. Nos gráficos, no eixo Y, foi necessária a adoção de faixa restrita entre 7 e 7,8 mgL⁻¹ de OD, dessa forma, foi possível revelar o pequeno declínio das concentrações de OD.

Figura 5. 49 - Análises do potencial de respiração da biomassa obtidas nas mantas ao final das 8 carreiras de filtração: A) F1 e B) F2.



A) Filtro contínuo (F1)







Apenas a partir da resolução gráfica adotada (0,1 mgL⁻¹), pôde-se monitorar o leve decaimento das concentrações de OD que ocorreram durante o intervalo de tempo de 10 minutos de análise, conforme método adotado por Andreottola et al. (2005).

Os gráficos que seguem uma trajetória bem definida, demonstram que o decaimento de OD foi muito lento. Essa observação é válida para todos os 8 meses de operação (8 carreiras de filtração), para ambos os filtros lentos de areia, **F1** e **F2**.

As Tabelas 5.15 e 5.16 expõem os valores da demanda de OD (diferença ente valor de OD inicial e final), obtidas por meio das análises do potencial de biorespiração das amostras de manta não tecida com área de 13,8 cm² de **F1** e **F2**, respectivamente para cada uma das 8 carreiras de filtração. Esses dados foram vinculados ao valor médio de turbidez correspondente ao mesmo período de operação.

Tabela 5. 15 - Potencial de biorespiração das amostras de manta não tecida do FLD operado em modo contínuo – F1.

F1	Mês 1	Mês 2	Mês 3	Mês 4	Mês 5	Mês 6	Mês 7	Mês 8
(BRP) OD inicial	7,32	7,43	7,52	7,60	7,59	7,34	7,31	7,38
(BRP) OD final	7,22	7,36	7,35	7,43	7,12	7,08	7,08	7,16
Demanda de OD (10 min.)	0,100	0,072	0,179	0,173	0,467	0,258	0,232	0,216
Média mensal Turbidez	5,48	4,43	5,99	5,21	33,67	21,71	13,19	12,69
(água clarificada)	±0,81	$\pm 0,76$	$\pm 2,02$	$\pm 0,75$	± 25,4	$\pm 5,31$	$\pm 8,39$	$\pm 7,79$

Fonte: o autor.

Tabela 5. 16 - Potencial de biorespiração das amostras de manta não tecida do FLD operado em modo intermitente – F2.

F2	Mês 1	Mês 2	Mês 3	Mês 4	Mês 5	Mês 6	Mês 7	Mês 8
(BRP) OD inicial	7,45	7,54	7,66	7,72	7,47	7,49	7,45	7,55
(BRP) OD final	7,35	7,47	7,49	7,55	7,08	7,27	7,23	7,33
Demanda de OD (10 min.)	0,100	0,069	0,173	0,166	0,394	0,223	0,220	0,212
Média mensal Turbidez	5,48	4,43	5,99	5,21	33,67	21,71	13,19	12,69
(água clarificada)	±0,81	$\pm 0,76$	$\pm 2,02$	$\pm 0,75$	± 25,4	$\pm 5,31$	$\pm 8,39$	$\pm7,79$

Fonte: o autor.

A ausência de decaimentos significativos de oxigênio dissolvido verificada em todos os perfis, representa atividade extremamente pequena de micro-organismos aeróbios ativos nas amostras de manta não tecida de ambos os filtros lentos de areia. Urfer e Huck (2001) descreveram o consumo de oxigênio dissolvido disponível na água bruta, como resultado da respiração aeróbia, enquanto promove a remoção de componentes da BOM em filtros.

Nos meses de operação **5** e **6**, foram observados maiores níveis de turbidez da água bruta que alimentou os dois FLDs, consequentemente, apesar de ter se mantido ainda muito baixo, o potencial de biorespiração apresentou níveis mais elevados nesses meses.

Andreottola et al. (2005) descrevem os principais termos que contribuem com o valor final da TCO (taxa de consumo de oxigênio). Dentre eles, o aumento da TCO nos meses 5 e 6 pode ser atribuído aos fatores: i) consumo de oxigênio para a oxidação do substrato carbônico (TCO_{cod}): consumo de oxigênio necessário para a oxidação da fração orgânica biodegradável presente no líquido e para a síntese de novos materiais celulares, e ii) consumo de oxigênio para a nitrifição (TCO_{nitrificação}): consumo de oxigênio necessário para a oxidação dos compostos nitrogenados (NH₄, NO₂). No entanto, os valores obtidos da TCO, mesmo nos meses 5 e 6, são extremamente baixos, tornando improvável qualquer atribuição.

Em um contexto geral, ao serem comparadas as concentrações de OD que ocorrem na entrada (afluente) e nas saídas dos FLDs (água produzida), se observa habitualmente o decaimento das concentrações de OD. No presente estudo o valor médio de OD do afluente foi de $6,41 \pm 0,48$ mL⁻¹, sendo que a água produzida por **F1** teve $5,6 \pm 0,6$ mL⁻¹ e por **F2** $5,7 \pm 0,6$ mL⁻¹. Diversos autores também relatam a queda de OD na água produzida pelos FLDs (KENNEDY et al., 2012; MACIEL & SABOGAL-PAZ, 2018; PFANNES et al., 2015; SABOGAL-PAZ, 2020).

Com base nos resultados de BRP obtidos, conclui-se que as mantas não tecidas oferecem um efeito passivo e não plenamente ativo no que tange ao decaimento de OD habitualmente verificado em FLDs. A redução de OD verificada na água produzida pelos FLDs está associada a ação de microorganismos em suas atividades metabólicas (HUCK et al., 2000), mas neste caso, majoritariamente, deve-se a ação química do substrato referenciada por Taft et al. (1980). Esse efeito ocorre não apenas na superfície do leito arenoso (manta não tecida), mas em todas as camadas do leito filtrante. Todavia, torna-se de extrema importância ressaltar que tais afirmações evidenciadas são resultantes de método analítico aplicado à água de estudo caracterizada no presente trabalho.

5.10 Avaliação do biofilme aderido às mangueiras de saída das CFXs de F1 e F2

Na Figura 5.50 A, B e C pode-se observar as diferentes formações de coloração em um efeito degrade nas mangueiras das CFXs do filtro lento em areia operado em modo continuo (**F1**) após 8 meses de operação.



Figura 5. 50 - Fotos de filmes nas mangueiras das CFXs de F1: A) F1-1; B) F1-2; C) F1-3.

Fonte: o autor.

Na Figura 5.51 A, B e C se observa o mesmo efeito nas mangueiras, porém, pertinente ao filtro lento em areia operado em modo intermitente (**F2**) após 8 meses de operação.

Figura 5. 51 - Fotos de filmes nas mangueiras das CFXs de F2: A) F2-1; B) F2-2; C) F2-3.



Fonte: o autor.

Por meio das Figura 5.50 e 5.1, nota-se o tom escuro do material coletado do interior das paredes das mangueiras de saída das células de fluxo (CFXs) para análises microscópicas. Entretanto, o material coletado da mangueira de saída da célula de fluxo designada "E" (entrada de água clarificada de **F1**) é muito mais claro que o restante das amostras coletadas nas demais CFXs de ambos os FLD, esse fenômeno sugere que o material precipitado coletado das mangueiras tem origem fundamentalmente no interior de ambos os filtros lentos em areia para uso doméstico (**F1** e **F2**), entretanto, com maior tempo de operação, é possível que essa ocorrência se reverta.

Não foram localizados textos científicos que relatam a produção de material particulado por FLDs e essa constatação necessita de maior aprofundamento a fim de se destacar, não apenas a origem desse material, mas também seus efeitos para o consumidor de água produzida pelos FLDs. A princípio, a dispersão de materiais minerais constatada nos FLDs pode representar uma característica favorável, quando aplicado à água de chuva como afluente, conforme observado por Sabogal-Paz et al. (2020) em pesquisa com afluente com baixa concentração mineral.

Na Figura 5.52, uma escala relativa de coloração degrade foi introduzida entre as ilustrações dos dois filtros (**F1** e **F2**) a fim de se facilitar o entendimento da distinção de tonalidades do material coletado, observadas nas 3 regiões dos filtros e na CFX designada "**E**" (água clarificada).

Figura 5. 52 - Ilustração da escala de coloração degradê observada visualmente nas mangueiras das CFXs.



Fonte: o autor.

A observação da presença de material precipitado mais denso nas camadas superiores de ambos os filtros lentos de areia, coincide com os resultados obtidos por meio dos microperfis obtidos com microssensores de OD nos *coupons*, que demonstraram a formação de biofilmes mais espessos nas camadas superiores dos filtros operados em modo contínuo (**F1**) e intermitente (**F2**), quando comparados às camadas inferiores, além de serem condizentes com a progressivo processo de purificação da água ao passar pelas camadas internas dos filtros lentos de areia em fluxo descendente.

A formação de biofilmes apenas nos 20 cm de mangueira das curvas de saída das células de fluxo (CFXs), possibilita inferir-se a hipótese de tratar-se da formação/deposição de filmes essencialmente químicos, ou de um precipitado mineral, considerando-se o comprimento total das mangueiras que foi de aproximadamente 1 metro cada, mas apenas a primeira curva (20 cm após as saídas das CFXs) ficou impregnada pela deposição em questão. Sabogal-Paz et al. (2020) relataram resultado análogo ao operarem FLDs com água de preparo isenta de minerais, com condutividade elétrica de $3,24 \pm 0,78$ mScm, tendo como resultado, água produzida pelo filtro contínuo com $36,2 \pm 10,44$ mScm e no filtro intermitente $30,0 \pm 8,0$ mScm.

Sabe-se que, na hipótese de biofilmes (aglomerado microbiológico imerso em EPSs), a proliferação no interior de mangueiras de silicone é favorecida, devido a permeabilidade do gás O₂ proporcionada pelo material (Silicone) conforme descrito por Declerck et al. (2009) e Marion-Ferey et al. (2002) em estudos sobre a formação de biofilmes em tubos de distribuição de água. Dessa forma, seria condizente que toda a extensão das mangueiras de saída estivesse impregnada por biofilmes, e não apenas os primeiros 20 cm – observação válida para todas as células de fluxo (CFXs) instaladas. A evidência analítica em questão também sugere tratar-se de filmes cuja formação é predominantemente química, não obstante ao fato de terem sido identificado micro-organismos no material coletado das paredes internas das mangueiras de saída d'água das CFXs.

No material coletado das mangueiras para análises de microscopia, foram identificadas bactérias e micro-organismos ciliados. Esses micro-organismos possuem cirros que os fazem rastejar por entre partículas floculares, possivelmente, como no caso do material acumulado nas paredes das mangueiras de descarte das células de fluxo. Eikelboom (2000), relata que esses organismos se alimentam de material particulado, como fragmentos de matéria orgânica, bacterial, ou de outros protozoários menores, como flagelados que estiveram presentes majoritariamente em todos os pontos de coleta (*coupons*). Jenkins, et al. (2004), afirmam que os ciliados podem sobreviver em baixas concentrações de OD, como é o caso do confinamento das CFXs que operaram sob baixa vazão de água (20mLdia⁻¹), podendo ser indicadores de toxicidade.

Hifas de fungos foram observados na amostra coletada da mangueira de saída da CFX designada **F1-1**. Haig et al. (2015) também relataram a presença desses micro-organismos em FLDs. Trata-se de um grupo variado de organismos heterotróficos. Muitos são saprófitos que digerem matéria orgânica morta e dejetos orgânicos e são essenciais na decomposição de ligninas e de outros compostos derivados da madeira (BLACK, 2008). Crescem em condições específicas, como: baixo pH, toxicidade e em meio com deficiência de nitrogênio (BITTON, 2005) e esses fatores, podem justificar sua presença na camada superior do FLD em estudo, considerando-se que nessa camada, a água ainda não passou por todo o processo de purificação dos FLDs.

A partir do fato de que esses micro-organismos foram identificados no interior do leito filtrante dos FLDs, pode-se concluir positivamente que ele corroboram com a depuração da água produzida pelos FLDs, no entanto, eles também estiveram presentes nas mangueiras de saída das CFXs (**F1-3** e **F2-3**), as quais captam água produzida por ambos os FLDs, denotando a necessidade de aplicação de pós tratamento para o consumo seguro da água produzida.

O resultado das análises microbiológicas de contagem dos micro-organismos observados nas paredes internas das mangueiras das CFXs é apresentado no APÊNDICE 9 e a análise microbiológica para visualização dos *clusters* de biofilmes e micro-organismos por meio de microscopia óptica comum e de contraste de fase, é apresentada no APÊNDICE 10.

5.11 Análises estatísticas

5.11.1 Variáveis físico-químicas das 8 carreiras de filtração de F1 e F2

TURBIDEZ

As Figuras 5.53 A, B, C, D, E, F, G, H apresentam os *boxplot* referentes ao resultados das análises de Turbidez, obtidas durante os 8 meses de operação (8 carreiras de filtração), convencionados: água bruta (**AB**), água clarificada (**AC**), água de produção do FLD operado em modo contínuo (**F1**), água de produção do FLD operado em modo intermitente (**F2**), e água de produção de **F2** no período de pausa (**F2pp**).

Figura 5. 53 - Análises de Turbidez obtidas durante todo o período experimental: A) mês1; B) mês 2; C) mês 3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8.



Fonte: o autor.



Fonte: o autor.

Para o parâmetro de turbidez, conforme análise de variância, pôde ser observada a ocorrência de diferenças significativa (p<0,05) entre as amostras:

- <u>Mês 1</u>: AB \neq AC (*p*=0,0001); AB \neq F1 (*p*=0,0001); AB \neq F2 (*p*=0,0001); AB \neq F2pp (*p*=0,0001); AC \neq F1 (*p*=0,0001); AC \neq F2 (*p*=0,0001); AC \neq F2pp (*p*=0,0001).
- Mês 2: AB ≠ AC (p=0,0001); AB ≠ F1 (p=0,0001); AB ≠ F2 (p=0,0001); AB ≠ F2pp (p=0,0001); AC ≠ F1 (p=0,0001); AC ≠ F2 (p=0,0001); AC ≠ F2pp (p=0,0001); F1 ≠ F2 (p=0,0001).
- <u>Mês 3</u>: AB ≠ AC (*p*=0,0001); AB ≠ F1 (*p*=0,0001); AB ≠ F2 (*p*=0,0001); AB ≠ F2pp (*p*=0,0001); AC ≠ F1 (*p*=0,0001); AC ≠ F2 (*p*=0,0001); AC ≠ F2pp (*p*=0,0001).
- <u>Mês 4</u>: AB ≠ AC (*p*=0,0001); AB ≠ F1 (*p*=0,0001); AB ≠ F2 (*p*=0,0001); AB ≠ F2pp (*p*=0,0001); AC ≠ F1 (*p*=0,0001); AC ≠ F2 (*p*=0,0001); AC ≠ F2pp (*p*=0,0001).
- <u>Mês 5</u>: AB \neq AC (*p*=0,019); AB \neq F1 (*p*=0,0001); AB \neq F2 (*p*=0,0001); AB \neq F2pp (*p*=0,0001); AC \neq F1 (*p*=0,001); AC \neq F2 (*p*=0,0021); AC \neq F2pp (*p*=0,0013).
- Mês 6: AB ≠ AC (p=0,0001); AB ≠ F1 (p=0,0001); AB ≠ F2 (p=0,0001); AB ≠ F2pp (p=0,0001); AC ≠ F1 (p=0,0001); AC ≠ F2 (p=0,0001); AC ≠ F2pp (p=0,0001).
- <u>Mês 7</u>: AB ≠ AC (*p*=0,0497); AB ≠ F1 (*p*=0,0001); AB ≠ F2 (*p*=0,0001); AB ≠ F2pp (*p*=0,0001); AC ≠ F1 (*p*=0,0001); AC ≠ F2 (*p*=0,0001); AC ≠ F2pp (*p*=0,0001).
- <u>Mês 8</u>: AB ≠ AC (*p*=0,0151); AB ≠ F1 (*p*=0,0001); AB ≠ F2 (*p*=0,0001); AB ≠ F2pp (*p*=0,0001); AC ≠ F1 (*p*=0,0001); AC ≠ F2 (*p*=0,0001); AC ≠ F2pp (*p*=0,0001).

A partir da análise estatística aplicada foram constatadas diferenças significativas entre a água bruta e a água clarificada em todos os 8 meses de operação dos FLDs. Também foi constatada diferença significativa entre a água clarificada e a água produzida por **F1**, **F2** e **F2pp**. Entretanto, apenas no segundo mês de operação foi constatada diferença significativa entre a água produzida por **F1** e **F2** (p = 0,0001).

Nos meses **5** e **6** (Figura 5.53 E e F), foram observados os maiores níveis de turbidez, em decorrência do período de chuvas para a região de São Carlos – SP. Para a água bruta, no mês 5 foi registrada grande variação de turbidez e máximo de 160 NTU com valor médio de 53,09 \pm 35,23 NTU, no mês 6 também foi registrada grande variação e máximo de 69 NTU com valor médio de 34,49 \pm 13,60 NTU. Para esses meses, o nível de turbidez esteve acima do que preconiza CAWST (2012) para FLDs.

COR APARENTE

As Figuras 5.54 A, B, C, D, E, F, G, H apresentam os resultados das análises de Cor Aparente, obtidas durante os 8 meses de operação.

Figura 5. 54 - Análises de Cor Aparente obtidas durante o período experimental: A) mês1; B) mês 2; C) mês 3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8.









Para o parâmetro de cor aparente, conforme análise de variância; pôde ser observada a ocorrência de diferenças significativa entre as amostras:

- Mês 1: AB ≠ AC (p=0,0005); AB ≠ F1 (p=0,0001); AB ≠ F2 (p=0,0001); AB ≠ F2pp (p=0,0001); AC ≠ F1 (p=0,0001); AC ≠ F2 (p=0,0001); AC ≠ F2pp (p=0,0001); F1 ≠ F2 (p=0,0308).
- Mês 2: AB ≠ AC (p=0,0001); AB ≠ F1 (p=0,0001); AB ≠ F2 (p=0,0001); AB ≠ F2pp (p=0,0001); AC ≠ F1 (p=0,0001); AC ≠ F2 (p=0,0001); AC ≠ F2pp (p=0,0001); F1 ≠ F2 (p=0,0001).

- Mês 3: AB ≠ AC (p=0,0001); AB ≠ F1 (p=0,0001); AB ≠ F2 (p=0,0001); AB ≠ F2pp (p=0,0001); AC ≠ F1 (p=0,0001); AC ≠ F2 (p=0,0001); AC ≠ F2pp (p=0,0001); F1 ≠ F2 (p=0,0004).
- Mês 4: AB ≠ AC (p=0,0001); AB ≠ F1 (p=0,0001); AB ≠ F2 (p=0,0001); AB ≠ F2pp (p=0,0001); AC ≠ F1 (p=0,0001); AC ≠ F2 (p=0,0001); AC ≠ F2pp (p=0,0001).
- Mês 5: AB ≠ AC (p=0,0001); AB ≠ F1 (p=0,0001); AB ≠ F2 (p=0,0001); AB ≠ F2pp (p=0,0001); AC ≠ F1 (p=0,0001); AC ≠ F2 (p=0,0001); AC ≠ F2pp (p=0,0001).
- Mês 6: AB ≠ AC (p=0,0001); AB ≠ F1 (p=0,0001); AB ≠ F2 (p=0,0001); AB ≠ F2pp (p=0,0001); AC ≠ F1 (p=0,0001); AC ≠ F2 (p=0,0001); AC ≠ F2pp (p=0,0001).
- <u>Mês 7</u>: AB ≠ AC (*p*=0,0001); AB ≠ F1 (*p*=0,0001); AB ≠ F2 (*p*=0,0001); AB ≠ F2pp (*p*=0,0001); AC ≠ F1 (*p*=0,0001); AC ≠ F2 (*p*=0,0001); AC ≠ F2pp (*p*=0,0001).
- Mês 8: AB ≠ AC (p=0,0075); AB ≠ F1 (p=0,0001); AB ≠ F2 (p=0,0001); AB ≠ F2pp (p=0,0001); AC ≠ F1 (p=0,0001); AC ≠ F2 (p=0,0001); AC ≠ F2pp (p=0,0001).

Assim como para turbidez, nos meses de operação **5** e **6** (outubro e novembro), foram observados os maiores níveis de Cor Aparente, em decorrência do período de chuvas. No mês 5 foi constatado nível máximo de 168,75 \pm 64,35 uC na água bruta, e no mês 6, foi de 138,5 \pm 37,24 uC.

Por meio de análise estatística, foi constatada diferença significativa em todos os meses de operação, no que se refere a água bruta e água clarificada; água bruta e produção de **F1**, **F2** e **F2pp** e também da água clarificada e produção de **F1**, **F2** e **F2pp**. Entretanto, apenas no início da operação dos FLDs, nos meses 1 (p=0,005), 2 (p=0,0001) e 3 (p=0,0001) foi constatada diferença significativa entre a produção de **F1** e **F2**, nos demais meses não houve diferença significativa na remoção de turbidez entre **F1** e **F2**.

COR VERDADEIRA

Nas Figuras 5.55 A, B, C, D, E, F, G, H constam os resultados das análises de Cor Verdadeira, obtidas durante os 8 meses de operação.

Figura 5. 55 - Análises de Cor Verdadeira obtidas durante o período experimental: A) mês1; B) mês 2; C) mês 3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8.



Fonte: o autor.



Fonte: o autor.

Para o parâmetro de cor verdadeira, conforme análise de variância; pôde ser observada a ocorrência de diferenças significativa entre as amostras:

- <u>Mês 1</u>: AB ≠ F1 (*p*=0,0006); AB ≠ F2 (*p*=0,0039); AB ≠ F2pp (*p*=0,0002); AC ≠ F1 (*p*=0,0039); AC ≠ F2 (*p*=0,0268); AC ≠ F2pp (*p*=0,0007).
- Mês 2: AB ≠ F1 (p=0,0001); AB ≠ F2 (p=0,0001); AB ≠ F2pp (p=0,0001); AC ≠ F1 (p=0,0001); AC ≠ F2 (p=0,0010); AC ≠ F2pp (p=0,0001); F1 ≠ F2 (p=0,0001); F2 ≠ F2pp (p=0,0001).
- <u>Mês 3</u>: AB \neq F1 (*p*=0,0001); AB \neq F2pp (*p*=0,0008); AC \neq F1 (*p*=0,0021); AC \neq F2pp (*p*=0,0078).
- Mês 4: AB ≠ F1 (p=0,0010); AB ≠ F2 (p=0,0024); AB ≠ F2pp (p=0,0013); AC ≠ F1 (p=0,0046); AC ≠ F2 (p=0,0111); AC ≠ F2pp (p=0,0058).

- <u>Mês 5</u>: Não foram observadas diferenças significativas.
- Mês 6: AB ≠ AC (p=0,0006); AB ≠ F1 (p=0,0001); AB ≠ F2 (p=0,0001); AB ≠ F2pp (p=0,0001); AC ≠ F1 (p=0,0003); AC ≠ F2 (p=0,0001); AC ≠ F2pp (p=0,0004).
- <u>Mês 7</u>: $AB \neq F1$ (*p*=0,0028); $AB \neq F2$ (*p*=0,0072); $AB \neq F2pp$ (*p*=0,0199).
- <u>Mês 8</u>: $AB \neq F1$ (*p*=0,0041); $AB \neq F2$ (*p*=0,0244); $AB \neq F2pp$ (*p*=0,0398).

Para o parâmetro de cor verdadeira no mês 5 não foram observadas diferenças significativas entre todos os pontos de coleta. Todos apresentaram picos acima de 70 uC devido ao período de maior chuva. Nos outros meses de operação, ouve considerável variabilidade nas diferenças estatísticas observadas para todos os pontos de coleta.

No segundo mês de operação foi observada diferença significativa entre todos os pontos de coleta. Ressalta-se que neste mês ocorreu a melhor eficiência de remoção de turbidez para ambos os FLDs.

OXIGÊNIO DISSOLVIDO

As Figuras 5.56 A, B, C, D, E, F, G, H apresentam os resultados das análises de Oxigênio Dissolvido, obtidas durante os 8 meses de operação.

Figura 5. 56 - Análises de oxigênio dissolvido obtidas durante o período experimental: A) mês1; B) mês 2; C) mês 3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8.



Fonte: o autor.



Fonte: o autor.

Para o parâmetro de oxigênio dissolvido, conforme análise de variância; pôde ser observada a ocorrência de diferenças significativa entre as amostras:

- <u>Mês 1</u>: Não foram observadas diferenças significativas.
- <u>Mês 2</u>: $AB \neq F1$ (*p*=0,0317); $AB \neq F2$ (*p*=0,0473); $AB \neq F2pp$ (*p*=0,0353).
- <u>Mês 3</u>: Não foram observadas diferenças significativas.
- <u>Mês 4</u>: AB \neq F2 (*p*=0,0067); AC \neq F2 (*p*=0,0029).
- Mês 5: AB ≠ F1 (p=0,0461); AB ≠ F2 (p=0,0002); AB ≠ F2pp (p=0,0201); AC ≠ F1 (p=0,0491); AC ≠ F2 (p=0,0002); AC ≠ F2pp (p=0,0215).
- Mês 6: AB ≠ F1 (p=0,0003); AB ≠ F2 (p=0,0001); AB ≠ F2pp (p=0,0002); AC ≠ F1 (p=0,0001); AC ≠ F2 (p=0,0001); AC ≠ F2pp (p=0,0001).
- <u>Mês 7</u>: Não foram observadas diferenças significativas.
- <u>Mês 8</u>: Não foram observadas diferenças significativas.

Nos meses de operação 1, 3, 7 e 8 não foram observadas diferenças significativas na concentração de OD entre todos os pontos de coleta. Nos meses 5 e 6 (de maior chuvas) foi constatada diferença significativa nas concentrações de OD entre: água bruta e **F1**, **F2** e **F2pp**; e entre a água clarificada e **F1**, **F2** e **F2pp**. A ocorrência de diferença significativa no meses de verão pode ter relação com o aumento da temperatura que, consequentemente, aumenta as taxas metabólicas dos micro-organismos presentes no leito filtrante, conforme referenciado por Comte et al. (2006).

CONDUTIVIDADE

As Figuras 5.57 A, B, C, D, E, F, G, H apresentam os resultados das análises de Condutividade, obtidas durante os 8 meses de operação.

Figura 5. 57 - Análises de condutividade obtidas durante o período experimental: A) mês1; B) mês 2; C) mês 3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8.







Fonte: o autor.

Para o parâmetro de condutividade, conforme análise de variância; pôde ser observada a ocorrência de diferenças significativa entre as amostras:

- <u>Mês 1</u>: Não foram observadas diferenças significativas.
- <u>Mês 2</u>: Não foram observadas diferenças significativas.
- <u>Mês 3</u>: Não foram observadas diferenças significativas.
- <u>Mês 4</u>: Não foram observadas diferenças significativas.
- <u>Mês 5</u>: $AB \neq F1$ (*p*=0,0018); $AB \neq F2$ (*p*=0,0018); $AB \neq F2pp$ (*p*=0,0020).
- <u>Mês 6</u>: Não foram observadas diferenças significativas.
- <u>Mês 7</u>: Não foram observadas diferenças significativas.
- <u>Mês 8</u>: Não foram observadas diferenças significativas.

Para a variável de condutividade elétrica, foi confirmada diferença significativa apenas no mês 5, entre a água bruta e **F1**, **F2** e **F2pp**. Neste mês, a condutividade da água bruta atingiu picos acima de 60 μ Scm (63,34 ± 9,19 μ Scm), porém, a água produzida pelos FLDs se manteve em 49,34 ± 1,87 μ Scm para **F1**, 49,35 ± 1,25 para **F2** e 59,52 ±1,55 para **F2pp**.

COLIFORMES TOTAIS

As Figuras 5.58 A, B, C, D, E, F, G, H apresentam os resultados das análises de coliformes totais, obtidas durante os 8 meses de operação.

Figura 5. 58 - Análises de coliformes obtidas durante o período experimental: A) mês1; B) mês 2; C) mês 3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8.



Fonte: o autor.



Fonte: o autor.

Para o parâmetro de coliformes, conforme análise de variância; pôde ser observada a ocorrência de diferenças significativa entre as amostras:

- <u>Mês 1</u>: $AB \neq AC$ (*p*=0,0155); $AB \neq F1$ (*p*=0,0002); $AB \neq F2$ (*p*=0,0002).
- <u>Mês 2</u>: $AB \neq AC$ (*p*=0,0171); $AB \neq F1$ (*p*=0,0003); $AB \neq F2$ (*p*=0,0003).
- <u>Mês 3</u>: AB \neq F1 (*p*=0,0001); AB \neq F2 (*p*=0,0001); AC \neq F1 (*p*=0,0002); AC \neq F2 (*p*=0,0002).
- Mês 4: AB ≠ AC (p=0,0054); AB ≠ F1 (p=0,0001); AB ≠ F2 (p=0,0001); AC ≠ F1 (p=0,0002); AC ≠ F2 (p=0,0002).
- <u>Mês 5</u>: $AB \neq F1$ (*p*=0,0070); $AB \neq F2$ (*p*=0,0071).

- Mês 6: AB ≠ AC (p=0,0093); AB ≠ F1 (p=0,0001); AB ≠ F2 (p=0,0001); AC ≠ F1 (p=0,0002); AC ≠ F2 (p=0,0002).
- <u>Mês 7</u>: AB \neq F1 (*p*=0,0001); AB \neq F2 (*p*=0,0001); AC \neq F1 (*p*=0,0016); AC \neq F2 (*p*=0,0016).
- <u>Mês 8</u>: Foram observadas diferenças significativas entre todos os pontos de coleta.

Para a variável de coliformes totais, apenas no mês 8 foram observadas diferenças significativas entre todos os pontos de medição.

Em todas as carreiras de filtração, os níveis de Coliformes Totais da água produzida pelos filtros lentos de areia operados em modo contínuo e intermitente apresentaram considerável redução, no entanto, estiveram acima do valor recomendado pelo Ministério da Saúde (2017), que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. A Portaria preconiza que em sistemas ou soluções alternativas coletivas que abastecem menos de 20.000 habitantes, apenas uma amostra, entre as amostras examinadas no mês, poderá apresentar resultado positivo; entretanto, a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2017) preconiza o valor máximo de 1 log.

Escherichia coli

As Figuras 5.59 A, B, C, D, E, F, G, H apresentam os resultados das análises de *E. Coli*, obtidas durante os 8 meses de operação.

Figura 5. 59 - Análises de *E. coli* obtidas durante o período experimental: A) mês1; B) mês 2; C) mês 3; D) mês 4; E) mês 5; F) mês 6; G) mês 7, e H) mês 8.



Fonte: o autor.





Para cada carreira de filtração, conforme análise de variância, pôde ser observa a ocorrência de diferenças significativa entre as amostras coletadas, para o parâmetro de *Escherichia coli*:

- <u>Mês 1</u>: $AB \neq F1$ (*p*=0,0165); $AB \neq F2$ (*p*=0,0185).
- <u>Mês 2</u>: "ERRO DE VARIÂNCIA".
- <u>Mês 3</u>: "ERRO DE VARIÂNCIA".
- <u>Mês 4</u>: "ERRO DE VARIÂNCIA".
- <u>Mês 5</u>: Não foi observada diferença significativa.
- Mês 6: AB ≠ AC (p=0,0412); AB ≠ F1 (p=0,0002); AB ≠ F2 (p=0,0002), AC ≠ F1 (p=0,0080); AC ≠ F2 (p=0,0080).

- <u>Mês 7</u>: $AB \neq F1$ (*p*=0,0035); $AB \neq F2$ (*p*=0,0035).
- <u>Mês 8</u>: AB \neq F1 (*p*=0,0002); AB \neq F2 (*p*=0,0002); AC \neq F1 (*p*=0,0002); AC \neq F2 (*p*=0,0002).

As análises estatísticas apresentaram erro de variância nos meses 2, 3 e 4 de operação dos FLDs. O software utilizado apresenta mensagem de erro quando um dos itens analisados contém todos os valores iguais (meses 2 e 3 F1 = 0 e mês 4 F1 = 2). Apenas no mês 5 não foi constatada diferença significativa entre os pontos de coleta, não obstante ao fato de que neste mês foi observado pico com 5.300 NMP/100mL⁻¹, sendo este, o maior valor verificado durante todo o período experimental.

Para todas as carreiras de filtração, os níveis de *Escherichia Coli* da água produzida pelos filtros lentos de areia operados em modo contínuo e intermitente apresentaram considerável redução, no entanto, a maioria estiveram acima do valor recomendado pela Portaria, do Ministério da Saúde (2017), que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. A portaria preconiza que na água para consumo humano, ocorra ausência em 100 mL de amostra; entretanto assim como para a variável de coliformes Totais, a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2017) preconiza o valor máximo de 1 log.

5.11.2 Depleção de oxigênio dissolvido das mantas de F1 e F2 – microperfis de OD.

A determinação da espessura efetiva dos biofilmes formados nas mantas de **F1** e **F2** ficou comprometida pela ausência de pontos de inflexões que pudessem determinar a superfície do biofilme, método esse, utilizado por diversos autores (LEWANDOWSKI et al. 1991; DeBEER et al. 1994; LEWANDOWSKI & BEYENAL, 2007; SARTI et al., 2016). Além desse fator, há de se considerar a colonização de micro-organismos nos interstícios das mantas, cuja densidade pode exibir diferentes variações. Dessa forma, na Figura 5.60 foram analisados os valores da depleção de OD nas mantas de **F1** e **F2**, obtidos ao final de cada carreira de filtração (8 meses).

Figura 5. 60 - Depleção de OD nas mantas de F1 e F2.



Fonte: o autor.

Para avaliação da depleção de OD que ocorre nas amostras de manta não tecida dos filtros **F1** e **F2**, conforme análise de variância; pôde ser observado não haver diferença significativa entre as amostras (p = 0.985).

Uma comparação foi feita no momento da lavagem das mantas de ambos os filtros lentos de areia **F1** e **F2**, após cada carreira de filtração. A sensibilidade ao toque manual revelou que a manta do filtro intermitente (**F2**) tem aspecto mais espesso, liso e aveludado, por outro lado; a manta do filtro operado em modo contínuo (**F1**) tem aspecto mais áspero. Considerando-se que ambas as mantas foram submetidas à mesma água clarificada, durante o mesmo período de tempo (30 dias), e filtraram o mesmo volume de água diariamente (48 L). Conclui-se que essas diferenças cinestésicas ocorrem devido a forma com que o fluxo hidráulico (contínuo ou intermitente) percola os interstícios porosos das amostras de manta, conduzindo o material particulado suspenso no meio líquido e afetando a acomodação nas fibras das mantas de maneira diferenciada.

5.11.3 Espessura dos biofilmes nos coupons de F1 e F2 – microperfis de OD

Na Figura 5.61 A e B são apresentados os resultados das análises efetuadas com microssensores de oxigênio dissolvido nos *coupons* instalados nas células de fluxo de **F1** e **F2**, durante as 8 carreiras de filtração (8 meses).



Figura 5. 61 - Espessura dos biofilmes formados nos *coupons*. A) referente ao filtro F1; B) referente ao filtro F2.



Para avaliação da espessura do biofilme formado nos *coupons* do filtro lento em areia operado em modo contínuo (**F1**), conforme análise de variância; pôde ser observada diferença significativa entre os seguintes pontos:

- $E \neq F1-2$ (p = 0,0031);
- $E \neq F1-3$ (*p* = 0,0002);
- F1-1 \neq F1-3 (p = 0,0015).

Na avaliação da espessura do biofilme formado nos *coupons* do filtro lento em areia operado em modo intermitente (**F2**), conforme análise de variância; pôde ser observada diferença significativa entre os seguintes pontos:

- $E \neq F2-3$ (*p*=0,023);
- F2-1 \neq F2-3 (*p*=0,017).

Para ambos os FLDs foram constatadas diferenças significativas na formação de biofilmes nos *coupons* instalados na camada superior de ambos os FLDs (**F1-1** e **F2-1**) e a camada inferior dos FLDs (**F1-3** e **F2-3**). Considerando-se que a camada superior dos FLDs permanece em contato com a água após ter passado pelas mantas e a camada inferior permanece em contato com o efluente (água filtrada), essa constatação condiz com a expectativa, pois a água filtrada, que contem menor carga orgânica e biológica, oferece menor propensão à formação de biofilmes. Castonguay et al. (2006)

relatam que a formação de biofilmes por *E. coli* é estimulada por interações sinergéticas e mecanismos da capacidade de aderência das bactérias, que neste caso, é reduzida pela ação de purificação dos FLDs. Da mesma maneira, também foi constatada diferença significativa entre o ponto **E**, que esteve em contato com a água clarificada, e os pontos **F1-3** e **F2-3** que estiveram em contato com a água produzida pelos FLDs.

5.11.4 Comparação entre filtros contínuo e intermitente na formação de biofilmes nos coupons

A avaliação comparativa da formação de biofilme entre os **F1** e **F2** é apresentada na Figura 5.62 A e B.

Figura 5. 62 - A) Espessura dos biofilmes formados nos *coupons* de F1; F2 e E; B) Ilustração para identificação dos pontos.



Fonte: o autor.

Conforme análise de variância; pôde ser observada diferença significativa na espessura do biofilme entre os pontos descritos na Tabela 5.17, referente aos filtros **F1** e **F2**, além do ponto **E** (água clarificada):

CFXs de F1	CFXs de F2		
	F2-1	F2-2	F2-3
F1-1	-	-	-
F1-2	<i>p</i> = 0,001	-	-
F1-3	<i>p</i> = 0,0001	<i>p</i> = 0,01	-

 Tabela 5. 17 - Pontos que apresentaram diferença significativa na espessura do biofilme analisado nos *coupons*.

Fonte: o autor.

Entre as poucas diferenças observadas na comparação dos *coupons* de F1 e F2, não foi possível se estabelecer uma relação consistente no que concerne à ação microbiológica, portanto, as diferenças associadas a F1 e F2 podem estar relacionadas à hidráulica (fluxo contínuo ou intermitente).

5.11.5 Crescimento dos biofilmes nos coupons durante os primeiros 3 meses de operação

Durante as 3 primeiras carreiras de filtração, foram obtidos microperfis de OD semanais dos *coupons* instalados nas células de fluxo (CFXs) dos filtros operados em modo contínuo **F1** e intermitente **F2**, além da CFX designada "**E**" (água clarificada).

Os microperfis de OD obtidos durante as 3 primeira carreira de filtração são apresentados na Figura 5.63 A e B; Figura 5.64 A e B; Figura 5.65 A e B.



Figura 5. 63 - Microperfis de OD obtidos na primeira carreira de filtração. A) F1; B) F2.

Fonte: o autor.



Figura 5. 64 - Microperfis de OD obtidos na segunda carreira de filtração. A) F1; B) F2.

Fonte: o autor.

Figura 5. 65 - Microperfis de OD obtidos na terceira carreira de filtração. A) F1; B) F2.



Fonte: o autor.

A obtenção de microperfis semanais no decorrer dos primeiros 3 meses de operação dos filtros lentos de areia **F1** e **F2**, permitiu a elaboração de ajustes em curvas logarítmicas, cuja equação representa uma aproximação matemática do modelo de crescimento dos biofilmes analisados nos *coupons* apresentados nas Figura 5.66 A e B para o mês 1, Figura 5.67 A e B para o mês 2 e Figura 5.68 A e B referente ao mês 3.



Figura 5. 66 - Linhas de tendência que representam uma aproximação matemática do crescimento logarítmico dos biofilmes durante o mês 1. A) F1, e B) F2.

Fonte: o autor.



Fonte: o autor.



Figura 5. 67 - Linhas de tendência que representam uma aproximação matemática do crescimento logarítmico dos biofilmes durante o mês 2. A) F1, e B) F2.

Fonte: o autor.



Fonte: o autor.



Figura 5. 68 - Linhas de tendência que representam uma aproximação matemática do crescimento logarítmico dos biofilmes durante o mês 3. A) F1, e B) F2.

Fonte: o autor.



Fonte: o autor.

A partir da avaliação sobre o crescimento dos biofilmes nos *coupons* durante os primeiros 3 meses de operação, foi possível se estabelecer uma aproximação matemática de modelo logaritmo de crescimento dos biofilmes no decorrer do tempo de operação, em carreiras de filtração de 1 mês.

Essa relação temporal ajustar-se com o referenciado por CAWST (2012), que relata o amadurecimento dos FLDs de maneira lenta, com aproximadamente 1 mês para obtenção da máxima eficiência. Ho et al. (2007) e Grutzmacher et al. (2001) também reportaram que a água produzida por FLDs apresentou melhor qualidade em relação ao afluente ao longo do tempo.

A operação dos FLDs na presente pesquisa não incluiu carreiras de filtração com tempos de duração longos o bastante para que houvesse a colmatação. Maciel e Sabogal-Paz (2018) relataram carreiras de filtração com 180 dias com o uso de água de estudo preparada com água de poço, para que ocorresse a colmatação de FLDs. Na condição de colmatação, o crescimento dos biofilmes passa a apresentar limitações impostas por seu ciclo natural, abordado por Ray & Triplett (2011), o qual se encerra com o desprendimento parcial da camada biológica para formação de novas colônias.

Liu (2001) relata que em FLDs, a formação de biofilmes habitualmente se divide em dois estágios: i) período de desenvolvimento de uma biomassa inicial, e ii) período de estabilidade dinâmica (em uso), no qual a biomassa ativa participa efetivamente no processo de purificação em meio a um comportamento coordenado. Com base nos resultados das análises dos *coupons*, pode-se acrescentar a esse ciclo um terceiro estágio, que seria: a perda da estabilidade dinâmica da relação tempo/crescimento do biofilme, provocada pela queda da produção em decorrência da colmatação dos filtros, como resultado da proliferação dos biofilmes.

6. CONSIDERAÇÕES SOBRE A HIPÓTESE

No que concerne às avaliações feitas nas amostras de manta não tecida do filtro contínuo e intermitente e por meio dos resultados obtidos, foi possível se estabelecer uma relação entre a máxima depleção de OD verificada nos biofilmes, e a eficiência de remoção dos FLDs. Foi constatado que o progressivo aumento da depleção de OD, que ocorre em função do crescimento dos biofilmes na camada superficial dos filtros, acompanha potencialmente a melhoria na eficiência de remoção durante as carreiras de filtração.

No entanto, algumas características específicas dos biofilmes analisados, sinalizam tratar-se de filmes químicos nas amostras de manta não tecida, não obstante ao fato de terem sido identificados micro-organismos presentes. A ausência de inflexões iniciais nos microperfis que sinalizam a camada limite dos biofilmes, e análises do potencial de biorespiração das amostras com ausência de consumo de OD, corroboram efetivamente com essa constatação.

Ainda, com relação aos *coupons* instalados em diferentes camadas dos FLDs, foi também constatada a ausência de sinalizações gráficas de corroborariam com a hipótese da ocorrência de biofilmes em diferentes camadas do leito filtrante. Assim como na camada superficial dos FLDs (mantas não tecidas), foi constatada a ocorrência de filmes cuja composição é essencialmente química, não obstante ao fato de também terem sido identificados micro-organismos nos *coupons*.

Nesse enfoque, considerando-se a ação superficial dos FLDs, a progressiva eficiência de filtração no decorrer do tempo de operação, está associada ao também progressivo aporte de material particulado suspenso no meio líquido, que gradualmente colapsa os interstícios porosos da manta não tecida, restringindo potencialmente a passagem de impurezas.

Ainda, a presença de micro-organismos contribui com pequena parcela da remoção de matéria orgânica biodegradável e o conjunto desses fatores, aproxima a água produzida pelos FLDs aos padrões nacionais e internacionais de potabilidade, no que tange à remoção de turbidez e micro-organismos, não obstante ao fato de ter sido constatada a necessidade de implantação de pós-tratamento para consumo seguro da água produzida pelos FLDs objetos desta pesquisa.

Cabe enfatizar, que as considerações sobre a hipótese deste trabalho estão diretamente fundamentadas na operação e análise de filtros lentos em areia para uso doméstico abastecidos com água do córrego Monjolinho de São Carlos-SP no ano de 2018 e 2019.

7. CONCLUSÕES

Os filtros lentos em areia operados em modo contínuo e intermitente demosntraram similaridade na eficiência de remoção. Entretanto o Filtro operado em modo contínuo (F1) apresentou melhor eficiência na remoção de *E.coli*.

Microssensores de OD e POR utilizados na presente pesquisa demonstraram ser ferramentas eficientes para análises de biofilmes por proporcionarem a obtenção de perfis de OD e POR em microescala. As células de fluxo (CFXs) e os *coupons* projetados para esta aplicação foram adequadas para o crescimento de biofilmes em condições controladas, oferecendo versatilidade para a coleta periódica de amostras.

Análises com microssensores de OD efetuadas nas amostras de manta não tecida dos filtros operados em modo contínuo (**F1**) e intermitente (**F2**), demonstraram a ocorrência de depleção de oxigênio dissolvido quando a água clarificada passa pelos interstícios das mantas, entretanto, essas depleções são muito pequenas se comparadas às que ocorrem em sistemas de biofilmes intensamente colonizados, como no caso de mídias aplicadas em reatores para tratamento de águas residuárias. As análises estatísticas dos dados obtidos revelam não haver diferença significativa entre ambas as mantas (de **F1** e **F2**), do ponto de vista da depleção de OD.

As análises do potencial de biorespiração (BRP) das amostras de manta não tecida de F1 e F2 também demonstraram haver atividade microbiológica aeróbia muito pequena. Os valores de depleção de OD foram muito pequenos nas 8 carreiras de filtração. Os resultados obtidos de BRP foram pouco superiores nos meses de operação 5 e 6, nos quais os níveis de turbidez e cor aparente também foram maiores, em virtude do período chuvoso. A pequena TCO observada em todas as carreiras de filtração pode ser resultante da reação química do material depositado nas amostras de manta não tecida.

Nos microperfis de POR efetuados nas amostras de manta não tecida de **F1** e **F2**, foi evidenciada a predominância de reações oxidantes, tendo sido observada variação muito pequena do potencial de oxirredução durante todo o período experimental, portanto, exclui-se a possibilidade da ocorrência de reações redutoras na superfície, no interior, ou mesmo na parte inferior das amostras de manta não tecida.

As análises com microssensores de OD para obtenção de microperfis em *coupons* instalados em diferentes camadas dos filtros lentos de areia **F1** e **F2**, revelaram a presença de filmes cuja composição é predominantemente química, e deplete o oxigênio dissolvido no meio líquido (filmes químicos), a despeito de terem sido identificados micro-organismos em seu interior. Essa constatação se fundamenta nos seguintes aspectos analíticos:

- i) Os microperfis de OD obtidos nos *coupons* revelaram ausência de ponto de inflexão nas curvas gráficas, no início do decaimento de OD, que sinalizaria a camada limite, ou superfície de biofilmes;
- ii) A espessura dos biofilmes observados (alguns deles superior a 5.000 µm), são incompatíveis com a densidade e comunidade microbiológica observada por meio das análises de microscopia óptica comum e de contraste de fase, fato que reforça um estudo mais aprofundado;
- iii) As análises microbiológicas por microscopia efetuadas nos *coupons* ao final de cada uma das 8 carreiras de filtração, revelaram a ocorrência de biofilmes com pouca densidade de EPSs, prevalecendo a deposição de material precipitado, de aparência amarelada e escura;
- iv) A obtenção de microperfis de oxigênio dissolvido em amostras de biofilmes intensamente colonizados, habitualmente apresentam rápido decaimento das concentrações de OD, e revelam a presença de regiões reativas de baixo consumo de oxigênio a partir de aproximadamente 1.000 μm de espessura. No entanto, nos *coupons* submetidos a todas as camadas dos filtros lentos de areia (F1 e F2); não obstante ao fato de terem sido evidenciados filmes espessos (~4.000 μm), não foi observada a presença de regiões anóxicas em nenhum dos microperfis de OD obtidos durante as 8 carreiras de filtração total de 91 microperfis. O ambiente anaeróbio é essencial para a ocorrência de reações de redução, como por exemplo, a desnitrificação, que reduz o nitrato a N₂. A ausência do O₂ é necessária para garantir que o nitrato seja utilizado como receptor de elétrons no lugar do oxigênio;
- v) No decorrer de alguns dos microperfis de OD obtidos nos *coupons*, após considerável depleção de oxigênio dissolvido, pôde ser observada a retomada do OD a níveis mais elevados, mesmo no interior do biofilme. Esse resultado gráfico é incompatível com a formação de gradientes de OD habitualmente observados no interior dos micronichos dos biofilmes em decorrência da atividade microbiológica. Essa constatação corrobora com a hipótese de tratar-se de filmes de natureza essencialmente química (depósitos de material precipitado de coloração amarelada), cuja lenta deposição apresenta variações em sua densidade, que ocorrem em detrimento das variações da turbidez da água em tratamento, que por sua vez, esteve naturalmente em constante variação durante o período experimental, em um contexto capaz de propiciar a formação de camadas com densidade variada sobre os *coupons*. Essas formações necessitam de investigação mais aprofundada, a fim de se identificar sua composição, proveniência e suas implicações no funcionamento dos FLDs
- vi) Por meio das análises microbiológicas feitas com microscopia ocular e de contraste de fase,
 pôde ser identificada biota nas camadas dos FLDs contendo flagelados, bactérias, tecamebas

e no quinto mês de operação, a presença de cistos, entretanto, em todos os meses de operação, foi observada diminuta quantidade de *clusters* de material aderido (EPS), visualizada apenas por meio de análise de microscopia, devido a pequena população de micro-organismos, prevalecendo a presença de material precipitado de coloração amarelada.

Ainda, no que concerne às análises feitas com microssensores de OD nos *coupons* instalados nas CFXs para obtenção de microperfis de OD, foi possível se concluir a tendência crescente na espessura dos biofilmes no decorrer do tempo de operação de ambos os FLDs, em uma aproximação matemática de modelo de crescimento logarítmico.

Por meio das análises de variáveis físico-químicas e microbiológicas para avaliação da qualidade da água produzida no decorrer das 8 carreiras de filtração, foi avaliada a eficiência dos FLDs utilizados, entretanto, ocorreu a necessidade da aplicação de sistema de pós-tratamento para desinfecção, pois as variáveis de turbidez, cor, coliformes totais e *E.coli*, em alguns períodos da operação dos FLDs apresentaram valores acima do recomendados pelo padrão de potabilidade do Ministério da Saúde. Como possível solução e considerando-se a aplicação dos FLDs em comunidades carentes, pode ser adotada a adição de 2 mL de água sanitária a cada 48 L de água produzida pelos FLDs. Com a produção diária de 48 L, seria necessário aproximadamente, 1 litro de água sanitária por ano, o que representa solução de baixo custo para pós-tratamento.

Foi possível se estabelecer uma relação entre o crescimento dos biofilmes aderidos nas amostras de manta não tecida, a máxima depleção de OD verificada, e a eficiência de remoção dos FLDs, na qual se verificou que o progressivo aumento da depleção de OD, que ocorre em função do crescimento dos biofilmes, acompanha potencialmente a melhoria na eficiência de remoção de turbidez durante as carreiras de filtração.

Torna-se importante ressaltar que os resultados e conclusões da presente pesquisa são condizentes com as características físico-químicas e microbiológicas da água bruta utilizada (Rio Monjolinho – São Carlos-SP), durante o período experimental (junho de 2018 a janeiro de 2019), além dos aspectos estruturais e operacionais dos filtros lentos de areia para uso domiciliar empregados na presente pesquisa.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT (2016a). Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT-NBR 11799. Material filtrante
 Areia, antracito e pedregulho Especificação. Rio de Janeiro RJ. Segunda edição 16/11/2016. ICS 93.025;91.100.15. ISBN 978-85-07-06658-3. 2016.
 - ____. (2016b). Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT-NBR 6458. Grãos de pedregulho retidos na peneira de abertura 4,8 mm Determinação da massa específica, da massa específica aparente e da absorção de água. Rio de Janeiro RJ. Versão corrigida 09/08/2017.ICS 13.080.01, ISBN 978-85-07-06571-5. 2016.
 - ___. (1990) Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12004 MB 3324: Solo Determinação do índice de vazios máximo de solos não coesivos. ABNT, 6p, 1990.
 - ____. (1991) Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12051 MB 3388: Solo Determinação do índice de vazios mínimo de solos não coesivos. ABNT, 14p, 1991.
- AHAMMED, M. M. & DAVRA, K. (2011). Performance evaluation of biosand filter modified with iron oxide-coated sand for household treatment of drinking water. Elsevier. doi:10.1016/j.desal.2011.03.065. Destination 276 (2011) 287–293.
- AHMAD, I. & KHAN, M. S. A., (2012). Microscopy in mycological research with especial reference to ultrastructures and biofilm studies Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Technology. (A. Méndez-Vilas, Ed.) Department of Agricultural Microbiology, Aligarh Muslim University, Aligarh - 202002. 2012 FORMATEX-Índia.
- AHMAD, R.; AMIRTHARAJAH, A.; AL-SHAWWA, A.; HUCK, P. (1998). *Effects of Backwashing on Biological Filters*. Journal AWWA, 90(12):62-73.
- ANDREOTTOLA, G.; OLIVEIRA, E. L.; FOLADORI, P.; DALLAGO, L.; PETERLINI, R.; CADONNA, M. (2005). *Método respirométrico para o monitoramento de processos biológic*os. Eng. Sanit. Ambient. Vol.10 - Nº 1 - jan/mar 2005, 14-23.
- ANTONIO, W. S. (2017). O uso de vídeos como ferramenta didática, na exploração de microambientes e exposição de microrganismos existentes. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Instituto de Biologia curso de graduação em Ciências Biológicas. Monografia apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro-RJ. 2016.
- APHA; AWWA; WEF. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. United States of America. 2012.
- ATLAS, R. M. AND R. BARTHA (2000). *Microbial Ecology, Fundamentals and Applications*, 4th edition, BenjaminlCummings Publishing Company Inc., Redwood City, CA.
- AZEREDO, J.; VISSER, J.; OLIVEIRA R. (1999). Exopolymers in bacterial adhesion: interpretation in terms of DLVO and XDLVO theories. Elsevier. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 14 (1999) 141–148.
- AZEVEDO NETTO, J. M. A. (1979). Técnica de Abastecimento e Tratamento de Água Volume 2. 2ª edição S. Paulo; CETESB, 1979.

- BAUMGARTNER, J.; MURCOTT, S.; EZZATI, M. (2007). Reconsidering 'appropriate technology': the effects of operating conditions on the bacterial removal performance of two household drinking-water filter systems, Environ. Res. Lett. 2 (2007) 1–6.
- BEACHY, E. H. (1981). Bacterial adherence. J. Infect. Dis., 143, 3 325-345.
- BELKHADIR, R. (1986). *Etude fondamentale des biomasses fixées*. Description et modelistion des film biologiques anaérobies, Thèse de Doctorat no 18, INSA. Toulouse.
- BERBERT, A. C. (2016). Uso da Dinâmica dos Fluidos Computacional para Selecionar Configurações de Saída em Filtro de Bioareia em Operação Intermitente ou Contínua. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Engenharia Civil. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Engenharia Urbana. Maringá-PR, (2016).
- BERNHARD, A.E.; COLBERT, D.; McMANUS, J. & FIELD, K.G. (2005). Microbial community dynamics based on 16S rRNA gene profiles in a Pacific Northwest estuary and its tributaries. Microbial Ecology, 52: 115-128, doi:10.1016/j. femsec.2004.10.016.
- BEYENAL, H. and LEWANDOWSKI, Z. (2001). *Mass transport dynamics, activity, and structure of sulfate reducing biofilms*. *AIChE*. **47**, 1689-1697.
- BICHAI, F.; DULLEMONT, Y.; HIJNEN, W.; BARBEAU, B. (2014). Predation and transport of persistent pathogens in GAC and slow sand filters: A threat to drinking water safety? water re search 6 4 (2 0 1 4) 2 9 6 e 3 0 8.
- BISHOP, P. L. & KINNER, N. E. (1986). Aerobic fixed-film process. In Biotechnology, 8, ed. W. Schonborn. 139-148, VCH, RFA, Germany.
- BISHOP, P. L. & YU, TONG. (1999). *A microelectrode study of redox potential change in biofilms*. Water Science and Technology. Volume 39, Issue 7, 1999, Pages 179-185.
- BITAR, O. Y. (1995). Curso de Geologia aplicada ao meio ambiente, Publicação ABGE, 247 p., 1995.
- BITTON, G. (2005). Wastewater microbiology. A John Wiley & Sons, Inc., Publiscation. Hoboken, New Jersey. USA. 729 p. 2005.
- BLACK, J. G. (2008). *Microbiology: Principles and Explorations*. John Wiley & Sons, 2 de jan de 2008 422 p.
- BOUWER, E. J. AND P. B. CROWE (1988). *Biological Processes in Drinking Water Treatment*. Jour. AWA, 80(9): 82-93.
- BRADLEY, I. M. (2011). *Iron oxide amended biosand filters for virus removal*. Thesis Master of Science. University of Illinois at Urbana-Champaign. USA. 2011.
- BROWN, J. (2007). Biological Treatments of Drinking Water. The Bridge, 37(4):30-36.

BRUSCA R., BRUSCA G. (2007). Invertebrados. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

- BURA, R.; M. CHEUNG, B. LIAO, J. FINLAYSON, B.C. LEE, I.G. DROPPO, G.G. LEPPARD, S. N. LISS (1998). Composition of extracellular polymeric substances in the activated sludge floc matrix, Water Sci. Technol. 37 (1998) 325–333.
- BUZUNIS, B. (1995). *Intermittently Operated Slow Sand Filtration*, Unpublished Master's of Engineering, The University of Calgary, Calgary, Canada.
- CAMPER A. K; P. BUTTERFIELD; B. ELIIS AND C. ALBERNATHY (1999). Coliforms in *Biofilrns: an overview*. Proc. A WA WQTC, Tampa, FL.
- CAMPER, A. K; M. W. LECHEVALLIER; S. C. BROADWAY AND G. A. MCFETERS (1985). Growth and Persistence of Pathogens on Granular Activated Carbon Filters, Appl. Environ. Microbiol., 50:6: 1378.
- CAMPOS, L. C.; SMITH, S. R.; GRAHAM, N. J. D. (2006). *Deterministicbased model of slow sand filtration. I: model development.* Journal of Environmental Engineering 132, 872-886, 2006).
- CAPDEVILLE, B. & NGUYEN, K. M. (1990). *Kinetcs and modelling of aerobic film growth*. Wat. Sci. Technol., 22, ¹⁄₂ 149-170.
- CASTONGUAY, MARIE-HÉLÈNE; VAN DER SCHAAF, S.; KOESTER, W.; KROONEMAN, J.; VAN DER MEER, W.; HARMSEN, H.; LANDINI, P. (2006). Biofilm formation by Escherichia coli is stimulated by synergistic interactions and co-adhesion mechanisms with adherence-proficient bacteria. DOI:10.1016/j.resmic.2005.10.003. Research in Microbiology 157 (2006) 471–478.
- CAWST (2009). Center for Affordable Water and Sanitation Technology. Biosand filter manual design, construction, installation, operation and maintenance. Disponível em: < https://www.calvin.edu/academic/engineering/senior-design/SeniorDesign09-10/team02/web/Biosand_Manual_English.pdf>. Acesso em: 14/11/2017.
 - ____. (2010). *Center for Affordable Water and Sanitation Technology*. *Annual Report*. Disponível em:<https://www.cawst.org/files/documents/governance/Annual%20Reports/2010_CAWST_Annual_Report.pdf>. Acesso em: 14/11/2017.
 - _____. (2012). Center for Affordable Water and Sanitation Technology. **Biosand Filter Construction Manual.** 190p. Disponivel em: https://resources.cawst.org/construction-manual/a90b9f50/biosand-filter-construction-manual. Acesso em: 14/11/2017.
- CBE (2017). Center for Biofilm Engineering. Why are biofilm chemistry and biology so spatially heterogeneous? Gradients have been measured in biofilm. Chapter 10 Diffusion in Biofilms. Section 3 Biofilm Gradients. Disponível em: https://www.cs.montana.edu/webworks/projects/stevesbook/contents/chapter010/section003/blue/page001.html>. Acesso em: 31/10/2017.
- CHAN, C. C. V.; NEUFELD, K.; CUSWORTH, D.; GRAVRILOVIC, S.; NGAI, T. (2015). Investigation of the effect of grain size, flow rate and diffuser design on the CAWST Biosand Filter Performance. International Journal for Service Learning in Engineering, v.10, n. 1,p. 1-23, 2015.
- CHAN, S; PULLERITSA, K.; RIECHELMANNA, J.; PERSSONB, K. M.; RADSTROM, P.; PAUL. C. J. (2018). *Monitoring biofilm function in new and matured full-scale slow sandfilters*

usingflow cytometric histogram image comparison (CHIC). Water Research. Volume 138, 1 July 2018, Pages 27-36. https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.032.

- CHARACKLIS, W. G.; M. H. TURAKHIA AND N. ZELVER (1990). Transport and interracial transfer phenomena. Biofilms. W. G. Characklis and K. C. Marshall. New York, Wiley Interscience: 316-340.
- CLASEN, T.; ROBERTS, I.; RABIE, T.; SCHMIDT, W.; & CAIRNCROSS, S. (2006). *Interventions to improve water quality for preventing diarrhoea.* Cochrane Database Syst Rev, 3, CD004794.
- COCKAYNE, E. A. (1912). Catarrhal jaundice, sporadic and epidemic and its relation to acute yellow atrophy of the liver. Q J Med 1912; 6:1-29.
- COMTE, J.; JACQUET, S.; VIBOUD, S.; FONTVIEILLE, D.; MILLERY, A.; PAOLINI, G. & DOMAIZON, I. (2006). *Microbial community structure and dinamics in the largest natural french lake (Lake Bourget)*. Microbial Ecology, 52: 72-89, doi:10.1007/s00248-004-0230-4.
- CONRAD, A.; M. K. SUUTARI; M. M. KEINANEN; A. CADORET; P. FAURE; L. MANSUYHUAULT; J. C. BLOCK (2003). Fatty acids of lipid fractions in extracellular polymeric substances of activated sludge flocs, Lipids 38 (2003) 1093–1105.
- COSTERTON, J. W.; Z. LEWADOWSKI; D. DEBEER; D. CALDWELL; D. KORVER AND G. JAMES (1994). "*Biofilms, the customized microniche*." J Bacteriol 176(8): 2137-2142.
- COSTERTON, J. W. (2010). *Biofilms: definition, clinical implications, chemotherapeutics, effects on periimplantitis.* Presentation delivered at AAOMS Dental Implant Conference. Chicago, IL, December 4, 2010.
- CRAUN, M. F.; CRAUN, G. F.; CALDERON, R. L. & BEACH, M. J. (2006). Waterborne outbreaks reported in the United States. J Water Health, 4 Suppl 2, 19-30.
- CURDS, C.R. (1992). **Protozoa and the water industry**. New York: Cambridge University Press, 1992.
- DAVEY, M. E. E O'TOOLE, G.A. (2000). *Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics*. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 64, 847-867.
- DE BEER, D.; P. STOODLEY AND Z. LEWADOWSKI (1994). "Liquid flow in heterogeneous biofilms." Biotech Bioeng 44: 636-641.
- DECLERCK, P.; BEHETS, J.; MARGINEANU, A.; VAN HOEF, V.; DE KEERSMAECKER, B.; OLLEVIER, F. (2009). *Replication ofLegionella pneumophilainbiofilms of water distribution pipes*. Elsevier. Microbiological Research164 (2009) 593-603.
- DE LA ROSA, C. & YU, T. (2004). Development of an automation system to evaluate the threedimensional oxygen distribution in wastewater biofilms using microsensors. Sensors and Actuators B: Chemical, 113(1), 47-54. doi:10.1016/j.snb.2005.02.025. 2005.

- DeBEER, D.; SRINIVASAN, R.; STEWART, P. S. (1994). Direct Measurement of Chlorine Penetration into Biofilms during Disinfection. Applied and Environmental Microbiology, Dec. 1994, p. 4339-434. Vol.60, N°.12.
- DENNEHY, P. H. (2005). Acute diarrheal disease in children: epidemiology, prevention, and treatment. Infect Dis Clin North Am, 19(3), 585-602.
- DINICOLA, S.; DE GRAZIA1, G.; CARLOMAGNO; J.P. PINTUCCI (2014). N-acetylcysteine as powerful molecule to destroy bacterial biofilms. A systematic review. European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2014; 18: 2942-2948.
- DONLAN, R. M. (2002). Biofilms: Microbial Life on Surfaces. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA. Emerging Infectious Diseases. Vol. 8, No. 9, September 2002.
- EIKELBOOM, D. H. (2000). Process Controlo f Activated Sludge Plants by Microscopic Investigation. ISNB 1.900222.29.9. English edition published by IWA Publishing, Alliance House; 12 Caxton Street, London SW 1H 0QS, UK (2000).
- EISENBERG, J. N.; CEVALLOS, W.; PONCE, K.; LEVY, K.; BATES, S. J.; SCOTT, J. C. (2006). Environmental change and infectious disease: how new roads affect the transmission of diarrheal pathogens in rural Ecuador. Proc Natl Acad Sci U S A, 103(51), 19460-19465.
- ELLIS, K.V.; WOOD, W.E. (1985). *Slow sand filtration*. Crit Ver Environ Control. 1985;15:315-354.
- ELLIOTT, M. A.; STAUBER, C. E.; KOKSAL, F.; DIGIANO, F. A.; SOBSEY, M. D. (2008). *Reduction of E. Coli, echovirus type 12 and bacteriophages in an intermittently operated householdscale slow sand filter.* Water Res. Vol:42 2662p–2670p, 2008.
- ESCOBAR, I.; RANDALL, A.; TAYLOR, J. (2001). Bacterial growth in distribution systems: Effect of assimilable organic carbon and biodegradable dissolved organic carbon. Environmental Science & Technology, 35(17): 3442-3447.
- FEWSTER, E.; MOL, A.; WIESSENT-BRANDSMA, C. (2004). The Bio-sand Filter. Long term sustainability: userhabits and technical performance evaluated. Presentation given at the 2003 International Symposium on Household Technologies for Safe Water, 16–17 June, 2004, Nairobi, Kenya.
- FOGLER, H. S. (2004). *Elements of Chemical Reaction Engineering, Third Edition*. Prentice-Hall, 2004.
- FONSECA, A. C.; MOLL, D.; MATHEIS, W.; SUMMERS, R. S. AND MILTNER, R. J. (1999) Impact of temperature on biofilter performance and microbial community structure. Annual AWWA conference, Chicago, IL.
- FREITAS, B. L. S. (2017). Filtros lentos em escala domiciliar como alternativa de tratamento de águas com alto risco microbiológico em comunidades isoladas. Dissertação (Mestrado). 206f. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

- FREITAS, B.L., SABOGAL-PAZ, L.P., 2019. Pretreatment using Opuntia cochenillifera followed by household slow sand filters: technological alternatives for supplying isolated communities. Environ. Technol. 1–12. https://doi.org/10.1080/09593330.2019.1582700.
- FREITAS, V. P. S. (2002). Padrão físico-químico da água de abastecimento público da Região de Campinas. Revista Instituto Adolfo Lutz, Campinas, v. 61, n. 1, p. 51-58, 2002.
- GAO, W. J.; H. J. LIN, K.T. LEUNG, H. SCHRAFT, B. Q. LIAO, (2011). Structure of cake layer in a submerged anaerobic membrane bioreactor, J. Membr. Sci. 374 (2011) 110–120.
- GEESEY, G. G. (1982). *Microbial exopolymers*: ecological and economic considerations, ASM News 48 (1982) 9–14.
- GONZALEZ, B. C.; SPÍNOLA, A. L. G.; LAMON, A. W.; ARAUJO; J. C. AND CAMPOS, J. R. (2011). The use of microsensors to study the role of the loading rate and surface velocity on the growth and the composition of nitrifying biofilms. Water Sacience & Technology, doi: 10.2166/wst.2011.716, 64.8, 2011.
- GONZALEZ. B. C. (2009). Confecção de microssensores e sua aplicação para estudos de biofilme empregado no tratamento de águas residuárias. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos SP.

__. (2013). Geração de energia elétrica a partir de eletrodos imersos em sistema do tipo célula a combustível composta por reator anaeróbio e reator aeróbio operados em série alimentados com esgoto sanitário. 2013. 187f. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos – SP.

- GRÜTZMACHER, G., B€OTTCHER, G., CHORUS, I., BARTEL, H., (2002). *Removal of microcystins by slow sand filtration. Environ. Toxicol.* 17, 386e394. https://doi.org/10.1002/tox.10062.
- HAIG, S. J.; QUINCE, C.; DAVIES, R. L.; DOREA, C. C.; COLLINS, G. (2015). *The relationship between microbial community evenness and function in slow sand filters*. mBio v. 6(5), p. e) 729-15, 2015.
- HAIG SARAH-JANE , MELANIE SCHIRMER, ROSALINDA D'AMORE, JOSEPH GIBBS, ROBERT L DAVIES, GAVIN COLLINS & CHRISTOPHER QUINCE (2015). Stable-isotope probing and metagenomics reveal predation by protozoa drives E. coli removal in Slow sand filters. School of Engineering, University of Glasgow, Glasgow, UK; 2School of Biological. The ISME Journal (2015) 9, 797–808 & 2015 International Society for Microbial Ecology All rights reserved 1751-7362/15.
- HALL-STOODLEY, L; COSTERTON, J. W. AND STOODLEY, P. (2004). *Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. Nature Reviwers Microbiology* 2(2):95-108.
- HAMMER, O.; HARPER, D. A.T. AND RYAN, P. D. (2001). *PAST: Paleontological Statistics* software package for education and data analysis. Paleontologia Electronica 4(1):9 pp.

- HERMANSSON, M. (1999). *The DLVO theory in microbial adhesion*, Colloid Surf. B 14 (1999) 105–119.
- HESPANHOL, I. (2012). **Poluentes Emergentes, Saúde Pública e Reúso Potável Direto,** in Maria do Carmo Calijuri e Davi Gasparian Fernandes Cunha (coords.). Engenharia Ambiental Conceitos, Tecnologia e Gestão. São Paulo, Elsevier Campus 2012, cap. 20, pp. 501-37.
- EYDORN, A.; B. K. ERSBOLL; M. HENTZER; M. R. PARSEK; M. GIVSKOV AND S. MOLIN (2000). "Experimental reproducibility in fl ow-chamber biofi lms." Microbiology 146: 2409-2415.
- HEYMANN, D. L. (2004). *Control of communicable diseases manual*. 18th Ed. Washington DC: American Public Health Association; 2004.
- HO, L., HOEFEL, D., SAINT, C.P., NEWCOMBE, G. (2007). Degradation of microcystin-LR through biological sand filters. Pract. Period. Hazard. Toxic, Radioact. Waste Manag. 11, 191e196. https://doi.org/10.1061/(ASCE)1090-025X(2007)11:3(191).
- HONG, H.; W. PENG; M. ZHANG; J. CHEN; Y. HE; F. WANG; X. WENG; H. YU; H. LIN (2013). *Thermodynamic analysis of membrane fouling in a submerged membrane bioreactor and its implications*, Bioresour. Technol. 146 (2013) 7–14.
- HOOSHANGI, S.; BENTLEY, W. E. (2008). From unicellular properties to multicellular behavior: bacteria quorum sensing circuitry and applications, Curr. Opin. Biotechnol. 19 (2008) 550–555.
- HORNER-DEVINE, M.; CARNEY, K. & BOHANNAN, B. (2003). An ecological perspective on bacterial biodiversity. Proceedings of the Royal Society London, 271: 113-122, doi: 10.1098/rspb.2003.2549.
- HOZALSKI, R. M. (1996). Removal of Biodegradable Organic Matter in Drinking Water Biofilters: Experimental Studies and Model. Development, Ph.D. thesis, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA.
- HOZALSKI, R.; BOUWER, E. (2001). Non-Steady State Simulation of BOM Removal in Drinking Water Biofilters: Applications and Full-Scale Validation. Water Research, 35(1):211-223.
- HUCK, P., COFFEY, B., AMIRTHARAJAH, A., BOUWER, E. (2000). *Optimizing Filtration in Biological Filters.* Water Research Foundation Final Report, Denver, CO:
- HUISMAN, L; WOOD, W. E. (1974). *Slow Sand Filtration*. WHO -World Health Organization, Geneva, 1974.
- HUSSAIN, S. M.; BRAYDICH-STOLLE, L. K.; SCHRAND, A. M.; MURDOCK, R. C.; YU, K. O.; MATTIE, D. M.; SCHLAGER, J. J.; TERRONES, M. (2009). Toxicity Evaluation for Safe Use of Nanomaterials: Recent Achievements and Technical Challenges, in Advanced Materials, 21, 2009, pp. 1.549-59.
- HWAG, H. G.; KIM, M. S.; SHIN, S. M. and HWANG, C. H. (2014). Risk assessment of the schmutzdecke of biosand Filter: identification of an opportunistic pathogen in schmutzdecke developed by an unsafe water source. Int. J. Environ. Res. Public Health v.11, p.2022-2048,2014.

- IBGE (2011). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística Produto Interno Bruto dos Municípios. Contas Nacionais 36: Rio de Janeiro. 2011. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pibmunicipios/2005/pibmunic2005.pdf>. Acesso em 19/03/2012.
- IBGE (2013). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística Hidroquímica dos mananciais subterrâneos Nordeste. Rio de Janeiro. 2013.
- IHT (1997). INTERNATIONAL HERALD TRIBUNE. *The world's freshwater supplies: The crunch is here*. International Herald Tribune, Sep. 30, 1997. p. 13-15.
- JACKSON, G.; BEYENAL, H.; REES, W. M.; AND LEWANDOWSKI, Z. (2001). Growing reproducible biofilms with respect to structure and viable cell counts. ELSEVIER, Journal of Microbiological Methods 47 (2002) 1-10.
- JARDIM, W. F. (2014). Medição e interpretação de valores do potencial redox (*E*_h) em matrizes ambientais. Quim. Nova, Vol. 37, No. 7, 1233-1235, 2014. http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140207.
- JENKINS, D.; RICHARD, M. G.; DAIGGER, G. T. (2004). Manual of the causes and controlo of activated sludge bulking, foaming, and other solids separations problems. Lewis Publishers. A CRC Press Company. Boca Raton. London New York Washington, D.C. 2004. ISBN 1-84339-046-9.
- JIMENEZ, B.; NOYOLA, A.; CAPDEVILLE, B.; ROUSTAN, M.; FAUP, G. (1988). *Dextran blue colorant as a reliable tracer in submerged filters*. Wat. Res. v 22, n 10. p 1253-1257. 1988.
- KALIA, V.C. (2013). *Quorum sensing inhibitors: an overview*, Biotechnol. Adv. 31 (2013) 224–245.
- KALYL GOMES CALIXTO, LYDA PATRICIA SABOGAL-PAZ, ELOISA POZZI AND LUIZA CINTRA CAMPOS (2020). *Ripening of household slow sand filter by adding fish food*. IWA Publishing 2020. Journal of Water, Sanitation and Hygiene for Development | 10.1 | 2020.
- KATHRYN V. SNYDER; TARA M. WEBSTER; GIRIDHAR UPADHYAYA; KIM F. HAYES; LUTGARDE RASKIN (2016). Vinegar-amended anaerobic biosand filter for the removal of arsenic and nitrate from groundwater. Journal of Environmental Management 171 (2016) 21e28.
- KENNEDY, T. J.; HERNANDEZ, E. A.; MORSE, A. N.; ANDERSON, T. A. (2012). Hydraulic Loading Rate Effect on Removal Rates in a BioSand Filter: A Pilot Study of Three Conditions. Water, Air, & Soil Pollution. Vol: 223, Issue 7, 4527-4537, 2012.
- KIKKAWA, I. (2008). *Modification of a biosand filter in the northern region of ghana*. Dissertação Mestrado. B.S. Chemical Engineering University of Tokio Japan.
- KIM, M. J.; B. SANKARARAO; C. K. YOO (2011). Determination of MBR fouling and chemical cleaning interval using statistical methods applied on dynamic index data, J. Membr. Sci. 375 (2011) 345–353.

- KOLTER, R.; AND E. P. GREENBERG (2006). *Microbial sciences: The superficial life of microbes.* Nature 441(7091):300-302.
- KOSEK, M., BERN, C., & GUERRANT, R. L. (2003). *The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000.* Bull World Health Organ, 81(3), 197-204.
- KUBARE, M. & HAARHOFF, J. (2010). Rational design of domestic biosand filters, J. Water Supply Res. Technol. AQUA 59 (2010) 1–15.
- LAMON, A.W.; CAMPOS, J. R.; SARTI, A. (2008). Sistema avançado para avaliação de crescimento de biofilmes aeróbio/anaeróvios por meio de microssensores. In: XXXI CONGRESSO INTERAMERICANO AIDIS. Santiago – Chile, 2008.
- LAMON, A. W. (2014). Aplicação de microssensores no monitoramento de oxigênio dissolvido, potencial REDOX e temperatura em estudos limnológicos. Universidade de São Paulo. Escola de Engenharia de São Carlos. São Carlos - SP. Dissertação (mestrado).
- LANGLAIS, B.; RECKHOW, D.A.; BRINK, D.R. (1991). Ozone in water treatment: application and engineering. Lewis Publishers, Chelsea.
- LARSEN, I. (2004). **O ensino de microbiologia e sua abordagem prática**. 2004. Dissertação (Licenciatura em Ciências Biológicas) Universidade Estadual do Oeste do Paraná UNIOESTE, Campus de Cascavel, 2004.
- LAUDERDALE, C. V. (2011). Engineered biofiltration for enhanced hydraulic and water treatment performance. Dissertação (Mestrado). Universidade of Flórida USA, August 2011.
- LAUDERDALE, C.; BROWN, J. (2007). *A Novel Biological Treatment Approach for the Treatment of Algal Metabolites.* Poster presented the AWWA Annual Conference and Exhibition, Ontario, Canada, June 24-28.
- LeCHEVAILIER, M. W. (1990a). *Microbiology of Activated Carbon, in: McFeters, G. A.* (Ed.), Drinking Water Microbiology, Springer-Verlag, New York.
- _____. (1990b). Colifonn Regrowth in Drinking Water: A Review. Jour. AWWA, 82: 1 1:74.
- LEVENSPIEL, O. (1999). *Chemical reacting engineering*. Industrial & engineering chemistry research, 1999.
- LEVENSPIEL, O. (2000). Engenharia das Reações Químicas. 3 ed. São Paulo. Ed. Edgard Blucher LTDA.
- LEWANDOWSKI, Z. & BEYENAL, H. (2003). *Use of microsensor to study biofilm.* Edited by Lens, S.; Moran, A. P.; Mahony, T.; Stoodley, P.; O'flaherty, V. *Biofilms in medicine, Industry and Environmental Biotechnology: Caharacteristics, Analysis and Control.* London-UK, Cap.21, p.374-411.
- LEWANDOWSKI, Z. & BEYENAL, H. (2007). *Fundamentals of Biofilm Research*. Book. CRC Press. 6000 Broklen Sound Parkway NW, Suit 300. Boca Raton. ISBN: 0-8493-3541-8, p.28. 2007.

- LEWANDOWSKI, Z. And BOLTZ, J. (2011). *Biofilms in Water and Wastewater Treatment*. Elsevier B.V. 2011. DOI: 10.1016/B978-0-444-53199-5.00095-6.
- LEWANDOWSKI, Z. & STOODLEY, P. (1995). Flow induced vibrations, drag force, and pressure drop in conduits covered with biofilm. Wat. Sci. Tech. 32(8), 19-26.
- LEWANDOWSKI, Z. (1994). *Dissolved Oxygen Gradients Near Microbially Colonized Surfaces*. Biocorrosion. Section III. CRC Press, Inc. 1994.
- LEWANDOWSKI, Z.; WALSER, G.; CHARACKLIS, W. G. (1991). *Reaction kinetics in biofilms*. Biotechnology and Engineering. **DOI:** 10.1002/bit.260380809. Vol. 38, Issue 8,p.877-882.
- LIAO, B. Q.; D. G. ALLEN, G. G. LEPPARD, I. G. DROPPO, S. N. LISS (2002). Interparticle interactions affecting the stability of sludge flocs, J. Colloid Interface Sci. 249 (2002) 372– 380.
- LIN, H.; M. ZHANG; F. WANG; F. MENG; B.-Q. LIAO; H. HONG; J. CHEN; W. GAO (2014). A critical review of extracellular polymeric substances (EPSs) in membrane bioreactors: characteristics, roles in membrane fouling and control strategies, J. Membr. Sci. 460 (2014) 110–125.
- LIU, X. (2001). *Drinking water biofiltration: assessing key factors and improving process evaluation*. Evaluation Doctoral (Thesis). University of Waterloo, Ontario-Canada, 2001.
- LIU, X.; HUCK, P.; SLAWSON, R. (2001). *Factors Affecting Drinking Water Biofiltration*. Journal AWWA, 93(12):90-101.
- LIU, Y. & FANG, H. H. P. (2003). Influences of extracellular polymeric substances (EPS) on flocculation, settling, and dewatering of activated sludge, Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 33 (2003) 237–273.
- LOGSDON, G. S., KOHNE, R., ABEL, S. & LABONDE, S. (2002). Slow sand filtration for small water systems. J. Enviorn. Eng. Sci. 1(5), 339–348.
- LU, P. & HUCK, P. M., (1993). Evaluation of methods for measuring biomass and biofilm thickness in biological drinking water treatment. Proc. AWWA Water Quality Technology Conference (WQTC), Miami, Florida, AWWA, Denver, CO, 1415 – 1456.
- LU, R. AND YU, T. (2002). Fabrication and evaluation of an oxygen microelectrode applicable to environmental engineering and science. Journal of Environmental Engineering and Science, 2002, 1(3): 225-235, https://doi.org/10.1139/s02-011.
- LYNN, T.J., WANJUGI, P., HARWOOD, V.J., ERGAS, S.J., (2013). Dynamic performance of biosand filters. J. Am. Water Works Assoc. 105 (10), E587–E595. https://doi.org/ 10.5942/jawwa.2013.105.0116.
- MACIEL, P. M. F. (2018). Filtração lenta domiciliar como alternativa de tratamento de água em comunidades isoladas: eficiências com e sem controle de nível da água e aceleração do amadurecimento. 2018. 268 p.Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2018.

- MACIEL, P.M., SABOGAL-PAZ, L.P. 2018. Household slow sand filters with and without water level control: continuous and intermittent flow efficiencies. Environmental Technology. https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1515988https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1515 988.
- MADIGAN, M. T.; J. M. MARTINKO & J. PARKER. (2000). *Brock biology of microorganisms*, 9th ed., Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 991 pp.
- MAGALHÃES, E. V; SABOGAL PAZ, L. P. (2013). Filtração Lenta Domiciliar como Alternativa de Tratamento de Água para Comunidades Isoladas do Brasil – Desafios na Construção. Relatório final. Pesquisa de iniciação científica PIBIC/CNPq/USP, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos.
- MAIER, R. M.; PEPPER, I. L. & GERBA, C. P. (2000). *Environmental Microbiology*: Academic Press.
- MANZ, DAVID (2004). New Horizons for Slow Sand Filtration Published in the Proceedings of the Eleventh Canadian National Conference and Second Policy Forum on Drinking Water and the Biennial Conference of the Federal-Provincial-Territorial Committee on Drinking Water, Promoting Public Health through Safe Drinking Water, April 3–6, 2004, Calgary, Alberta; 2004; 682–92.
- MANZ, D. H. (2007). *Biosand Water Filter Technology Hosehold Concrete design*. Calgary, Alberta. [s.n.], 2007. 38p.
- MARIE-HÉLÈNE CASTONGUAY A, SASKIA VAN DER SCHAAF B., WOLFGANG KOESTER A, JANNEKE KROONEMAN C, WALTER VAN DER MEER D, HERMIE HARMSEN B., PAOLO LANDINI (2006). Biofilm formation by Escherichia coli is stimulated by synergistic interactions and co-adhesion mechanisms with adherence-proficient bacteria. doi:10.1016/j.resmic.2005.10.003. Research in Microbiology 157 (2006) 471–478.
- MARION-FEREY, K.; PASMORE, M.; STOODLEY, P.; WILSON, S.; HUSSON, G.P.; COSTERTON, J.W. (2002). Biofilm removal from silicone tubing: an assessment of the efficacy of dialysis machine decontamination procedures using an in vitro model. The Journal of Hospital Infection. January 2003. Volume 53, Issue 1, Pages 64-71. DOI: https://doi.org/10.1053/jhin.2002.1320.
- MARNOTO, M. J. E. (2008). Expansão da areia durante a retrolavagem dos filtros lentos influência sobre a qualidade da água para abastecimento e a duração das carreiras. Universidade Federal de Santa Catarina. TCC Engenharia Sanitária Ambiental. Florianópolis – SC.
- MARTINEZ-CISNEROS, C. S.; SANCHEZ, S.; XI, W. AND SCHMIDT, O. G. (2014). Ultracompact Three-Dimensional Tubular Conductivity Microsensors for Ionic and Biosensing Applications. Institute for Integrative Nanosciences, IFW Dresden, Helmholtzstrasse 20, 01069 Dresden, Germany. ACS Publications© 2014 American Chemical Society. dx.doi.org/10.1021/nl500795k - Nano Lett. 2014, 14, 2219–2224.
- McSWAIN, B. S.; R. L. IRVINE, M. HAUSNER, P. A. (2005). Wilderer, Composition and distribution of extracellular polymeric substances in aerobic flocs and granular sludge, Appl. Environ. Microbiol. 71 (2005) 1051–1057.

- MEDEIROS, M. L.Q. (2012). Protozoários de Vida Livre em Ambientes Aquáticos do RN: ocorrência, caracterização e importância para a educação básica. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.
- MILLER, M. B.; BASSLER, B. L. (2001). *Quorum sensing in bacteria*, Annu. Rev. Microbiol. 55 (2001) 165–199.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (2017). PORTARIA DE CONSOLIDAÇÃO N° 5, DE 28 DE SETEMBRO DE 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Disponível em: < https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/marco/29/PRC-5-Portaria-de-Consolida----o-n---5--de-28-de-setembro-de-2017.pdf>. Acesso em out. 2019.
- MOLL, D. M.; SUMMERS, R. S.; FONSECA, A. C.; MATHEIS, W. (1999). Impact of temperature on drinking water biofilter performance and microbial community structure. Environ. Sci. Technol. 33 (14), 2377e2382.
- MORGENROTH, E.; EBERL, H. AND VAN LOOSDRECHT, M. C. M (2000). *Evaluating 3-D* and 1-D mathematical models for mass transport in heterogeneous biofilms. Water Science and Technology Vol 41 No 4–5 pp 347–356 © IWA Publishing 2000.
- MOUCHET, T. (1992). From conventional to biological removal of iron and manganese in France, jour. AWWA, 84:4:158 (1992).
- MSU, (2017). What are the key characteristics of Biofilms? Biofilm Basics: Section 4. Center for Biofilm Engineering. Montana State University – Bozeman – USA. Disponível em: http://www.biofilm.montana.edu/biofilm-basics/key_characteristics_of_biofilms.html. Acesso em: 13/09/2017.
- MURPHY, H..M; McBEAN, E.A.; FARAHBAKHSH K. (2010). A critical evaluation of two pointof-use water treatment technologies: can they provide water that meets WHO drinking water guidelines? J Water Health. 2010: 611–630.
- MURTHA, N.A; HELLER L. (2003). Avaliação da Influência de Parâmetros de Projeto e das Características da Agua Bruta no Comportamento de Filtros Lentos de Areia. Engenharia Sanitária e Ambiental. Brasil, Vol. 8 Nº 4. pp. 257 267, Out/Dez 2003.
- NAIR, A. T.; AHAMMED, M. M.; DAVRA, K. (2014). Influence of operating parameters on the performance of a household slow sand filter. Water Science and Technology-Water Supply, v. 14, n. 4, p. 643-649, 2014.
- NAJM, I.; KENNEDY, M.; NAYLOR, W. (2005). *Lignite versus bituminous GAC for biofiltration a case study*. Journal of AWWA, 97(1), 94-101.
- NIELSEN, P. H.; B. FROLUND; K. KEIDING (1996). Changes in the composition of extracellular polymeric substances in activated sludge during anaerobic storage, Appl. Microbiol. Biotechnol. 44 (1996) 823–830.
- OECD (2001). Organization for Economic Co-Operation and Development.Environment Outlook,Paris.2001.Disponívelem:

<http://dev.ulb.ac.be/ceese/CEESE/documents/ocde%20environment%20outlook.pdf.>. Acesso em: 30 de agosto de 2017.

- OMS e UNICEF (2000). *Global Water Supply and Sanitation Assessment 2000 Report*, WHO/UNICEF, Geneva/New York.
- ONO, A. F. (2007). Estratégias de operação de reatores aeróbio/anóxico operados em batelada seqüencial para remoção de nitrogênio de água residuária industrial. Dissertação (mestrado) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2007.
- PATERNIANI, J. E. S.; CONCEIÇÃO, C. H. Z. (2004). Eficiência da pré-filtração lenta no tratamento de água para pequenas comunidades rurais. Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia, v. 1, n. 1, p. 17-24, 2004.
- PATERNIANI, J. E. S. & ROSTON, D. M. (2003). Tecnologias para Tratamento e Reuso da Água no Meio Rural. In: HAMADA, E. (Ed.) Água, agricultura e meio ambiente no Estado de São Paulo: avanços e desafios. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003.
- PAYMENT, P.; TRUDEL, M. & PLANTE, R. (1985). Elimination of viruses and indicator bacteria at each step of treatment during preparation of drinking water at seven water treatment plants. Appl Environ Microbiol, 49(6), 1418-1428.
- PELD, (2007). Pesquisas Ecológicas de Longa Duração. Protozoários Planctônicos. Paraná, 2007.
- PETKOVIC, S.; GREGORIC, E.; SLEPCEVIC, V.; BLAGOJEVIC, S.; GAJIC, B.; KLJUJEV, I.; ŽARKOVIĆ, B.; DJUROVIC, N.; DRASKOVIC, R. (2011). Contamination of local water supply systems in suburban Belgrade. Urban Water Journal. Volume 8, 2011 - Issue 2.
- PFANNES, K. R.; KILIAN M. W. LANGENBACH; GIOVANNI PILLONI; TORBEN STÜHRMANN1; KATHRIN EURINGER; TILLMANN LUEDERS; THOMAS R. NEU; JOCHEN A. MÜLLER; MATTHIAS KÄSTNER; RAINER U. MECKENSTOCK. (2015). Selective elimination of bacterial faecal indicators in the Schmutzdecke of slow sand filtration columns. DOI 10.1007/s00253-015-6882-9. Appl Microbiol Biotechnol (2015) 99:10323–10332.
- PIELOU, E. C. (1998). Freshwater. Chicago, The University of Chicago Press, 1998.
- PINHEIRO, J. (2015). A origem do filtro d'água. Início dos estudos sobre água. Disponível em: https://afamilia.com.br/blog/agua/como-surgiu-filtro-de-agua/. Acesso em: 24/08/2017.
- POXON, T. L.; J. L. DARBY (1997). *Extracellular polyanions in digested sludge: measurement and relationship to sludge dewaterability,* Water Res. 31 (1997) 749–758.
- PREM RANJAN AND MANJEET PREM (2018). Schmutzdecke A Filtration Layer of Slow Sand Filter. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences ISSN: 2319-7706 Volume 7 Number 07 (2018). Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci (2018) 7(7): 637-645.
- PRÉVOST, M., P. NIQUETTE, R G- MACLEAN, D. THIBAULT, P. LHNCE AND R DESJARDINS (1995). *Removal of Various Biodegradable Organic Compounds by First and Second Stage Filtration*. Proc. 12" Ozone World Congress, Lille, France, pp.53 1-545.
- PUI-OCK, S.; RUCHIRAWAT, M.; GASCOYNE, P. (2008). Dielectrophoretic field-flow fractionation system for detection of aquatic toxicants. Analytical Chemistry. 2008;80(20):7727–7734.
- RANJAN PREM AND PREM MANJEET (2018). Schmutzdecke- A Filtration Layer of Slow Sand Filter. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci (2018) 7(7): 637-645.
- RAY, J. M. & TRIPLETT, R. G. (2011). What is the Role of Biofilms in Severe Head and Neck Infections? Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Baylor College of Dentistry, Texas A&M Health Science Center. Oral Maxillofacial Surg Clin N Am 23. DOI:10.1016/j.coms.2011.07.002, (2011) 497–505.
- RECHE, M. H. L. R.; Mariana, L.; Fiuza, M. P. (2010). Bactérias e bioindicadores de qualidade de águas de ecossistemas orizícolas da região sul do brasil. Oecologia Australis 14(2): 452-463, Junho 2010 doi:10.4257/oeco.2010.1402.08.
- RITTMANN, B. E. AND P. M. HUCK (1989). *Biological Treatment of Public Water Supplies*, CRC Critical Reviews in Environmental Control, lg(2): 1 19-184.
- RITTMANN, B., McCARTY, P. (2001). *Environmental Biotechnology*. McGraw-Hill, Boston, Massachusetts.
- RIVAS, M.; M. SEEGER; D.S. HOLMES; E. JEDLICKI (2005). A lux-like quorum sensing system in the extreme acidophile Acidithiobacillus ferrooxidans, Biol. Res. 38 (2005) 283–297.
- ROCHA, O. (2003). Águas Doces. Avaliação do estado do conhecimento da diversidade biológica do brasil cobio/mma gtb/cnpq Nepam/Unicamp. Laboratório de Limnologia Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva Universidade Federal de São Carlos UFSCAR. 2003.
- SABOGAL-PAZ, LYDA PATRICIA; LUIZA CINTRA CAMPOS; ANNA BOGUSH; MELISA CANALES (2020). Household slow sand filters in intermittent and continuous flows to treatwater containing low mineral ion concentrations and Bisphenol A. Science of the Total Environment 702 (2020) 135078.
- SARTI, A.; LAMON, A. W.; ONO, A. AND FORESTI, E. (2016). A new device to select carriers for biomass immobilization and application in an aerobic/anaerobic fixed-bed sequencing batch biofilm reactor for nitrogen removal. doi: 10.2166/wst.2016.410. Water Science and Technology, 74(11), 2666-2674.
- SCHIJVEN, J; BOUWKNEGT, M; HUSMAN, R; MARIA, A; RUTJES, S; SUDRE, B; SUK, JE; SEMENZA, JC. (2013). A decision support tool to compare waterborne and foodborne infection and/or illness risks associated with climate change. Risk Anal. 2013; 33(12):2154 – 2167. DOI: 10.1111/risa.12077 [PubMed: 23781944].
- SHARGHI, E. ABDOLLAHZADEH; BONAKDARPOUR, B. (2013). The study of organic removal efficiency and halophilic bacterial mixed liquor characteristics in a membrane bioreactor treating hypersaline produced water at varying organic loading rates, Bioresour. Technol. 149 (2013) 486 – 495.
- SHIGEOKA, C. Y. (2016). Filtração lenta em escala domiciliar como alternativa de tratamento de água para comunidades isoladas do Brasil. 2016. Monografia (Trabalho de Conclusão de

Curso em Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2016.

- SINGER, S.; SKINNER, B.; CANTWELL, R. E. (2017). *Impact of surface maintenance on BioSand filter performance and flow.* Journal of Water and Health, v. 15, n. 2, p. 262-272, Apr 2017.
- SIQUEIRA-CASTRO, I. C. V.; JULIANE ARAÚJO GREINERT-GOULART; TAIS RONDELLO BONATTI; SANDRA YAMASHIRO; REGINA MAURA BUENO FRANCO. (2016). First report of predation of Giardia sp. cysts by ciliated protozoa and confirmation of predation of Cryptosporidium spp. Oocysts by ciliate species. DOI 10.1007/s11356-016-6689-y. Environ Sci Pollut Res (2016) 23:11357–11362.
- SOBSEY, M. D.; SHILEDS, P. A.; HAUCHMAN, F. S. (1988). Survival and persistence of hepatitis A virus in environmental samples. In: Zuckerman AJ, editor. Viral hepatitis and liver disease: proceedings. New York: Wiley-Liss; 1988. p. 121-4.
- STAUBER, C. E.; ELLIOTT, M. A.; KOKSAL, F.; ORTIZ, G. M.; DIGIANO, F. A. & SOBSEY, M. D. (2006). Characterisation of the biosand filter for E. Coli reductions from household drinking water under controlled laboratory and field use conditions. Water Sci Technol, 54(3), 1-7.
- STEWART, P. S. AND FRANKLIN, M. J. (2008). *Phisiological heterogeneity in biofilm. Nature* Reviews Microbiology 6(3):199-210.
- STOODLEY, P., J. D.; BOYLE, D.; DE BEER AND LAPPIN-SCOTT, H. M. (1999). "Evolving perspectives of biofilm structure." Biofouling 14(1): 75-90.
- SU, X.; Y. TIAN; H. LI; C. WANG (2013). New insights into membrane fouling based on characterization of cake sludge and bulk sludge: an especial attention to sludge aggregation, Bioresour. Technol. 128 (2013) 586–592.
- TAFT, L. L.; TAYLOR, W.; HARTWIG, E. O.; LOFTUS, R. (1980). Seasonal Oxygen Depletion in Chesapeake Bay JAY L. Estuaries Research Federation. Vol. 3, No. 4, p. 242-247 December 1980.
- TANG, C. Y.; Y. N. KWON; J. O. LECKIE (2009). The role of foulant-foulant electrostatic interaction on limiting flux for RO and NF membranes during humic acid fouling – theoretical basis, experimental evidence, and AFM interaction force measurement, J. Membr. Sci. 326 (2009) 526–532.
- TCHOBANOGLOUS, G; BURTON F. L; STENSEL, H. D. (2003). Wastewater Engineering: Treatment and Reuse. 4 ed. McGraw-Hill. New York. 2003.
- TECHHYDRA (2013). Quorum Sensing: Bacterial Communication in Chemical Signals. Science and Technology News. Disponivelem: < http://techhydra.com/technews/science/chemistry/quorum-sensing-bacterial-communication-in-chemical-signals/>. Acesso em: 30/10/2017.
- TERIN, U.C.; SABOGAL-PAZ, L.P. (2018). Microcystis aeruginosa and microcystin-LR removal by household slow sand filters operating in continuous and intermittent flows. Elsevier. Water Research 150 (2019) 29e39.

- THOMAZ, S.M. (1999). O papel ecológico das bactérias e teias alimentares microbianas em ecossistemas aquáticos. Pp. 147- 167. In: M.L.M. Pompêo (ed.). Perspectivas da Limnologia no Brasil. São Luís, MA. 198p.
- TOMAZ, P. (2001). Economia de água para empresas e residências: Um estudo atualizado sobre o uso racional da água. São Paulo: Editora Hermano & Bugelli Ltda., 2001.
- TREVETT, A. F., CARTER, R., & TYRREL, S. (2004). Water quality deterioration: a study of household drinking water quality in rural Honduras. Int J Environ Health Res, 14(4), 273-283.
- TUNDISI, J. G. (2003). Ciclo hidrológico e gerenciamento integrado. Gestão das águas/Artigos. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/pdf/cic/v55n4/a18v55n4.pdf>. Acesso em: 24/08/2017.
- URFER, D. and HUCK, P. M. (2001). *Measurement of biomass activity in drinking water biofilters using a respirometric method*. Pergamon. Elsevier. Wat. Res. Vol. 35, No. 6, pp. 1469–1477, 2001.
- URFER, D. I.; HUCK, P. M.; BOOTH, S. D. J.; AND COFFEY, B. M. (1997). *Biological Filtration for BOM and Particle Rernovd:* A Critical Review. Jour. AWWA, 89: 12:83-98.
- USEPA (1986). UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Municipal Wastewater Disinfection*. Design Manual EPA/625/1-86/021. Cincinatti, Ohio, 247 pp., 1986.
- ÚSTAV (2017). *Ústav biochemie a mikrobiologie*. Disponível em: http://old-biomikro.vscht.cz/en/research/groups/rokoska/projects.php. Acesso em: 27/10/2017.
- VAN LOOSDRECHT, M. C. M., D. EIKELBOOM, A. GJALTEMA, A. MULDER, L. TIJHUIS AND J. J. HEIJNEN (1995). "*Biofi Im structures.*" Water Sci Technol 32(8): 35-43.
- VAN OSS, C. J. (1995). Hydrophobicity of biosurfaces origin, quantitative determination and interaction energies, Colloid Surf. B 5 (1995) 91–110.
- VAN OSS, C. J.; GOOD, R. J.; CHAUDHURY, M. K. (1988). Additive and nonadditive surface tension components and the interpretation of contact angles, Langmuir 4 (1988) 884–891.
- VERWEY, E. J. W. (1947). Theory of the stability of lyophobic colloids, J. Phys. Colloid Chem. 51 (1947) 631–636.
- VOKES, C. (2007). Impact of Ozone and Biological Filtration on Water Quality Parameters in Arlington, Texas. Ozone Science and Engineering, 29:261-271.
- WAKELIN, S.; D. PAGE, P. DILLON, P. PAVELIC, G. C. J. ABELL, A. L. GREGG, E. BRODIE, T. Z. DESANTIS, K. C. GOLDFARB AND G. ANDERSON (2011). *Microbial community structure of a slow sand filter schmutzdecke: a phylogenetic snapshot based on rRNA sequence analysis*. IWA Publishing 2011 Water Science & Technology: Water Supply, 11.4, 2011.

- WANNER, O. & GUJER, W. (1986). *A multispecies biofilm model.* Biotechnology and Bioengineering. First published:March 1986. https://doi.org/10.1002/bit.260280304.
- WANG, J. Z.; R. S. SUMRNERS AND RI J. MILTNER (1995). *Biofiltration Performance*: Part 1, Relationship to Biomass. Jour. AWA, 87: 1255-63.
- WANG, Z.; Z. WU; S. TANG (2009). Extracellular polymeric substances (EPS) properties and their effects on membrane fouling in a submerged membrane bioreactor, Water Res. 43 (2009) 2504–2512.
- WATERS, C. M.; BASSLER, B. L. (2005). *Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria*, Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 21 (2005) 319–346.
- WEIJUN ZHANG; SIWEI PENG; PING XIAO; JIE HE; PENG YANG; SHIWEI XU; DONGSHENG WANG (2015). Understanding the evolution of stratified extracellular polymeric substances in full-scale activated sludges in relation to dewaterability. RSC Advances. DOI:10.1039/C4RA13379J. Issue 2, 2015.
- WESTERHOFF, P.; SUMMERS, R.; CHOWDHURY, Z.; KOMMINENI, S. (2005). *Ozone-Enhanced Biofiltration for Geosmin and MIB Removal.* Water Research Foundation Final Report. Denver, CO.
- WHO (2004). World Health Organization. *Guidelines for drinking water quality*. Geneva: WHO; 2004.

___. (2006). World Health Organization and United Nations Children's Fund. *Meeting the MDG Drinking Water and Sanitation Target: The Urban and Rural Challenge of the Decade*. Disponível em: < http://www.wssinfo.org/pdf/JMP_06.pdf>. Acesso em: 30/03/2008.

_____. (2007). World Health Organization and United Nations Children's Fund. *Combating Waterborne Disease at the Household Level*. World Health Organization, Geneva. 2007.

____. (2008). World Health Organization and United Nations Children's Fund. *Guidelines for Drinking-water Quality*, third ed. Geneva.

- _____. (2014). World Health Organization. *Progress on Drinking Water and Sanitation 2014 update*. WHO and UNICEF. 2014.
- WHO, IPCS, ILO, UNDP. (2002). Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors. Edited by Terri Damstra, Sue Barlow, Aake Bergman, Robert Kavlock, Glen Van Kraak. World Health Organization, International Programme on Chemical Safety, International Labor Organization, EHO/PCS/EDC/02.2. Geneva, Switzerland, 2002.
- WIMPENNY, J. W. T.; COLASANTI, R. (2006). A unifying hypothesis for the structure of microbial biofilms based on cellular automation models. FEMS Microbial Ecol (1997) 22 (1):1-16. DOI: https://doi.org/10/1111/j.1574-6941.1997.tb00315.x.

WINGENDER, J.; T. R. NEU; H.-C. FLEMMING (1999). *Microbial Extracellular Polymeric Substances: Characterization, Structure and Function, Springer,* Berlin; New York, 1999.

- XAVIER, J. B.; PICIOREANU, C.; ALMEIDA, J. S.; VAN LOOSDRECHT; M. C. M. (2003). Monitorização e modelação da estrutura de biofilmes. Biomatemática - Boletim de Biotecnologia 76, 2–13.
- YEON, K. M.; W. S. CHEONG; H. S. OH; W.N. LEE; B. K. HWANG; C. H. LEE; H. BEYENAL; Z. LEWANDOWSKI (2009). Quorum sensing: a new biofouling control paradigm in a membrane bioreactor for advanced wastewater treatment, Environ. Sci. Technol. 43 (2009) 380–385.
- YOUNG-ROJANSCHI, C. & MADRAMOOTOO, C. (2014). Intermittent versus continuous operation of biosand filters. Water Res. Vol 49, 1p–10p, 2014.
- YOUNG-ROJANSCHI, C. & MADRAMOOTOO, C. (2015). Comparing the performance of biosand filteroperated with multday residance periods. Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua (2015) 64 (2): 157–167.
- YU, T. (2008). *Behaviour of bacterial extracellular polymeric substances from activated sludge: a review*, Int. J. Environ. Pollut. 32 (2008) 78–89.
- ZHANG, J.; H.C. CHUA, J. ZHOU, A.G. FANE (2006). *Factors affecting the membrane performance in submerged membrane bioreactors,* J. Membr. Sci. 284 (2006) 54–66.
- ZHANG, S., HUCK, P. (1996a). *Removal of AOC in biological water treatment processes: a kinetic modeling approach.* Water Research, 30(5),1195-1207.
- ZHANG, S., HUCK, P. (1996b). *Biological Water Treatment: A Kinetic Modeling Approach.* Water Research, 30(2):456-464.

9. APÊNDICES

APÊNDICE 1

1. Altura piezométrica de (F1) e (F2) nas 8 carreiras de filtração.



Figura 1A - Altura piezométrica (primeira carreira de filtração). A) filtro F1; B) filtro F2.





Fonte: o autor.



Figura 2A - Altura piezométrica (segunda carreira de filtração). A) filtro F1; B) filtro F2.

Fonte: o autor.



Fonte: o autor.



Figura 3A - Altura piezométrica (terceira carreira de filtração). A) filtro F1; B) filtro F2.





Figura 4A - Altura piezométrica (quarta carreira de filtração). A) filtro F1; B) filtro F2.



Fonte: o autor.



Fonte: o autor.



Figura 5A- Altura piezométrica (quinta carreira de filtração). A) filtro F1; B) filtro F2.

Fonte: o autor.



Fonte: o autor.



Figura 6A - Altura piezométrica (sexta carreira de filtração). A) filtro F1; B) filtro F2.

Fonte: o autor.



Fonte: o autor.



Figura 7A - Altura piezométrica (sétima carreira de filtração). A) filtro F1; B) filtro F2.

Fonte: o autor.



Fonte: o autor.



15

Série4

Tempo de operação (dias)

Série3

20

25

Série5

30

A)

Série6

Figura 8A - Altura piezométrica (oitava carreira de filtração). A) filtro F1; B) filtro F2.

Fonte: o autor.

5

Série1

10

Série2



Fonte: o autor.

1. Evolução temporal da remoção de Cor Aparente nas 8 carreiras de filtração.

Figura 1B - Cor Aparente – Evolução temporal nas 8 carreiras de filtração a partir de dados diários (o eixo Y do gráfico apresenta escala logarítmica, dessa forma, 0,1 corresponde a zero).



Fonte: o autor.

1. Evolução temporal da Cor Verdadeira nas 8 carreiras de filtração.

Figura 1C. Cor Verdadeira – Evolução temporal nas 8 carreiras de filtração a partir de dados semanais (o eixo Y do gráfico apresenta escala logarítmica, dessa forma, 1 corresponde a zero).



Fonte: o autor.

1. Evolução temporal das variações de pH nas 8 carreiras de filtração.





Fonte: o autor.

1. Evolução temporal da condutividade elétrica nas 8 carreiras de filtração.





1. Evolução temporal da remoção de coliformes totais nas 8 carreiras de filtração.





1. Evolução temporal da remoção de *E. coli* nas 8 carreiras de filtração.





Nota: Durante toda a 3^a carreira de filtração foi obtido valor zero UFC/100mL para produção de **F1**. Fonte: o autor.

1. Evolução temporal das variações de oxigênio dissolvido nas 8 carreiras de filtração.





1. Análises microscópicas quantitativas para identificação de micro-organismos e biofilmes.

As Tabelas 1I a 9I apresentam os resultados obtidos nas análises quantitativas de microorganismos identificados nos coupons e das mangueiras de alimentação das CFXs.

Coupons Mês 1	BIOFILME	BACTÉRIAS	PROTOZOÁRIOS	METAZOÁRIOS
Ε	+ + +	+ +	-	-
F1-1	+	+ +	flagelados +	-
F1-2	+	+ +	flagelados +	-
F1-3	+	+ +	flagelados +	-
F2-1	+	+ +	-	-
F2-2	+	+ +	-	-
F2-3	+	+ +	-	-

Tabela 1I - Identificação de micro-organismos (Mês 1).

Fonte: o autor

Tabela 2I - Identificação de micro-organismos (Mês 2)

Coupons Mês 2	BIOFILME	BACTÉRIAS	PROTOZOÁRIOS	METAZOÁRIOS
Ε	+ + +	+ +	flagelados + +	-
F1-1	+ +	+ +	flagelados + +	-
F1-2	+	+ +	flagelados +	-
F1-3	+	+ +	flagelados +	-
F2-1	+ +	+ +	flagelados +	-
F2-2	+ +	+ +	flagelados +	-
F2-3	+	+ +	flagelados +	-

Fonte: o autor

Tabela 3I - Identificação de micro-organismos (mês 3).

<i>Coupons</i> Mês 3	BIOFILME	BACTÉRIAS	PROTOZOÁRIOS	METAZOÁRIOS
Ε	++	++	-	-
F1-1	++	++	Flagelados +	-
F1-2	+	++	Flagelados +	-
F1-3	+	++	Flagelados +	-
F2-1	+	++	Flagelados +	-
F2-2	+	++	Flagelados +	-
F2-3	+	++	Flagelados +	-

<i>Coupons</i> Mês 4	BIOFILME	BACTÉRIAS	PROTOZOÁRIOS	METAZOÁRIOS
Ε	+ + + +	+ +	+ + flagelados	-
F1-1	+ +	+ $+$	+ + flagelados	-
F1-2	++	+ $+$	+ flagelados	-
F1-3	++	+ $+$	+ flagelados	-
F2-1	++	+ $+$	+ flagelados	-
F2-2	+	+ $+$	+ flagelados	-
F2-3	+	+ +	-	-

Tabela 4I - Identificação de micro-organismos (mês 4).

Fonte: o autor

Tabela 5I - Identificação de micro-organismos (mês 5).

Coupons Mês 5	BIOFILME	BACTÉRIAS	PROTOZOÁRIOS	METAZOÁRIOS
Ε	+ + +	+ + +	-	-
F1-1	+ +	+ + +	-	-
F1-2	+ +	+ + +	-	-
F1-3	+ +	+ $+$	-	-
F2-1	+ +	+ $+$	tecamebas +	-
F2-2	+ +	+ +	tecamebas +	-
F2-3	++	+ +	tecamebas + + flagelados +	-

Fonte: o autor

Tabela 6I - Identificação de micro-organismos (mês 6).

Coupons Mês 6	BIOFILME	BACTÉRIAS	PROTOZOÁRIOS	METAZOÁRIOS
Ε	+ + +	+ + + +	flagelados + + +	rotíferos +
F1-1	+ +	+ + +	flagelados + +	-
F1-2	+ +	+ + +	flagelados +	-
F1-3	+ +	+ + +	flagelados +	-
F2-1	+ +	+ + +	cistos + +	-
F2-2	+ +	+ + +	-	-
F2-3	+ + +	+ + +	-	-

<i>Coupons</i> Mês 7	BIOFILME	BACTÉRIAS	PROTOZOÁRIOS	METAZOÁRIOS
Ε	+++	+++	+ + + + flagelados ++	-
F1-1	+ +	+ + +	flagelados +	-
F1-2	+ + +	+ + +	flagelados +	-
F1-3	+ + +	+ + +	flagelados +	-
F2-1	+ + +	+ + +	flagelados +	-
F2-2	+ + + +	+ + +	flagelados +	-
F2-3	+ + + +	+ + +	flagelados +	-

Tabela 7I - Representação quantitativa de micro-organismos referente ao mês 7.

Fonte: o autor.

Tabela 8I - Identificação de micro-organismos (mês 8).

Coupons Mês 8	BIOFILME	BACTÉRIAS	PROTOZOÁRIOS	METAZOÁRIOS
Ε	+ + +	+ + + +	+++	-
F1-1	+ + +	+ + +	flagelados ++	-
F1-2	+ + +	+ + +	-	-
F1-3	+ + +	+ +	-	-
F2-1	+ + + +	+ +	flagelados +	-
F2-2	+ + +	+ + +	tecamebas+ flagelados +	-
F2-3	+ + + + +	+ + +	-	-

Fonte: o autor

Tabela 9I - Contagem relativa de micro-organismos presentes nas mangueiras das CFXs (Mês 8).

Mangueiras de saída CFXs	BIOFILME/ Precipitado	BACTÉRIAS	HIFAS DE FUNGOS	PROTOZOÁRIOS	METAZOÁRIO
Ε	+ + + +	+ + + +	-	tecamebas + +	-
F1-1	+ + + +	+ +	+++	ciliados rastejantes +	-
F1-2	+ + + +	+ +	-	-	-
F1-3	+ + + +	+ +	-	-	-
F2-1	+ + + +	+ +	-	flagelados +	-
F2-2	+ + + +	+ +	-	-	-
F2-3	+ + + +	+++	-	-	-

1. Micro-organismos observados na primeira carreira de filtração (mês 1)

Figura 1J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "E" em diferentes ampliações ao final da primeira carreira de operação (Mês 1).



Fonte: o autor.

Figura 2J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-1" em diferentes ampliações ao final da primeira carreira de operação (Mês 1).



Fonte: o autor.

Figura 3J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-2" em diferentes ampliações ao final da primeira carreira de operação (Mês 1).



Fonte: o autor.

Figura 4J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-3" em diferentes ampliações ao final da primeira carreira de operação (Mês 1).



Fonte: o autor.

Figura 5J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-1" em diferentes ampliações ao final da primeira carreira de operação (Mês 1).



Fonte: o autor.

Figura 6J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-2" em diferentes ampliações ao final da primeira carreira de operação (Mês 1).



Fonte: o autor.

Figura 7J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-3" em diferentes ampliações ao final da primeira carreira de operação (Mês 1).



Fonte: o autor.

2. Micro-organismos observados na segunda carreira de filtração (mês 2)

Figura 8J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "E" em diferentes ampliações ao final da segunda carreira de operação (Mês 2).



Fonte: o autor.

Figura 9J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-1" em diferentes ampliações ao final da segunda carreira de operação (Mês 2).



Fonte: o autor.

Figura 10J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-2" em diferentes ampliações ao final da segunda carreira de operação (Mês 2).



Fonte: o autor.

Figura 11J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-3" em diferentes ampliações ao final da segunda carreira de operação (Mês 2).



Fonte: o autor.

Figura 12H. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-1" em diferentes ampliações ao final da segunda carreira de operação (Mês 2).



Fonte: o autor.

Figura 13J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-2" em diferentes ampliações ao final da segunda carreira de operação (Mês 2).



Fonte: o autor.
Figura 14J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-3" em diferentes ampliações ao final da segunda carreira de operação (Mês 2).



Fonte: o autor.

3. Micro-organismos observados na terceira carreira de filtração (mês 3)

Figura 15J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "E" em diferentes ampliações ao final da terceira carreira de operação (Mês 3).



Fonte: o autor.

Figura 16J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-1" em diferentes ampliações ao final da terceira carreira de operação (Mês 3).



Fonte: o autor.

Figura 17J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-2" em diferentes ampliações ao final da terceira carreira de operação (Mês 3).



Fonte: o autor.

Figura 18J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-3" em diferentes ampliações ao final da terceira carreira de operação (Mês 3).



Fonte: o autor.

Figura 19J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-1" em diferentes ampliações ao final da terceira carreira de operação (Mês 3).



Fonte: o autor.

Figura 20J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-2" em diferentes ampliações ao final da primeira carreira de operação (Mês 3).



Fonte: o autor.

Figura 21J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo designada "F2-3" em diferentes ampliações ao final da terceira carreira de operação (Mês 3).



Fonte: o autor.

4. Micro-organismos observados na quarta carreira de filtração (mês 4)

Figura 22J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "E" em diferentes ampliações ao final da quarta carreira de operação (Mês 4).



Fonte: o autor.

Figura 23J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-1" em diferentes ampliações ao final da quarta carreira de operação (Mês 4).



Fonte: o autor.

Figura 24J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-2" em diferentes ampliações ao final da quarta carreira de operação (Mês 4).



Fonte: o autor.

Figura 25J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-3" em diferentes ampliações ao final da quarta carreira de operação (Mês 4).



Fonte: o autor.

Figura 26J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-1" em diferentes ampliações ao final da quarta carreira de operação (Mês 4).



Fonte: o autor.

Figura 27J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-2" em diferentes ampliações ao final da quarta carreira de operação (Mês 4).



Fonte: o autor.

Figura 28J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-3" em diferentes ampliações ao final da quarta carreira de operação (Mês 4).



Fonte: o autor.

5. Micro-organismos observados na quinta carreira de filtração (mês 5)

Figura 29J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "E" em diferentes ampliações ao final da quinta carreira de operação (Mês 5).



Fonte: o autor.

Figura 30J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-1" em diferentes ampliações ao final da quinta carreira de operação (Mês 5).



Fonte: o autor.

Figura 31J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-2" em diferentes ampliações ao final da quinta carreira de operação (Mês 5).



Fonte: o autor.

Figura 32J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-3" em diferentes ampliações ao final da quinta carreira de operação (Mês 5).



Fonte: o autor.

Figura 33J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-1" em diferentes ampliações ao final da quinta carreira de operação (Mês 5).



Fonte: o autor.

Figura 34J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-2" em diferentes ampliações ao final da quinta carreira de operação (Mês 5).



Fonte: o autor.

Figura 35J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-3" em diferentes ampliações ao final da quinta carreira de operação (Mês 5).



Fonte: o autor.

6. Micro-organismos observados na sexta carreira de filtração (mês 6)

Figura 36J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "E" em diferentes ampliações ao final da sexta carreira de operação (Mês 6).



Fonte: o autor.

Figura 37H. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-1" em diferentes ampliações ao final da sexta carreira de operação (Mês 6).



Fonte: o autor.

Figura 38J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-2" em diferentes ampliações ao final da sexta carreira de operação (Mês 6).



Fonte: o autor.

Figura 39J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-3" em diferentes ampliações ao final da sexta carreira de operação (Mês 6).



Fonte: o autor.

Figura 40J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-1" em diferentes ampliações ao final da sexta carreira de operação (Mês 6).



Fonte: o autor.

Figura 41J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-2" em diferentes ampliações ao final da sexta carreira de operação (Mês 6).



Fonte: o autor.

317

Figura 42J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-3" em diferentes ampliações ao final da sexta carreira de operação (Mês 6).



Fonte: o autor.

7. Micro-organismos observados na sétima carreira de filtração (mês 7)

Figura 43J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "E" em diferentes ampliações ao final da sétima carreira de operação (Mês 7).



Fonte: o autor.

Figura 44J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-1" em diferentes ampliações ao final da sétima carreira de operação (Mês 7).



Fonte: o autor.

Figura 45J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-2" em diferentes ampliações ao final da sétima carreira de operação (Mês 7).



Fonte: o autor.

Figura 46J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-3" em diferentes ampliações ao final da sétima carreira de operação (Mês 7).



Fonte: o autor.

Figura 47J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-1" em diferentes ampliações ao final da sétima carreira de operação (Mês 7).



Fonte: o autor.

Figura 48J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-2" em diferentes ampliações ao final da sétima carreira de operação (Mês 7).



Fonte: o autor.

Figura 49J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-3" em diferentes ampliações ao final da sétima carreira de operação (Mês 7).



Fonte: o autor.
8. Micro-organismos observados na oitava carreira de filtração (mês 8)

Figura 50J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "E" em diferentes ampliações ao final da oitava carreira de operação (Mês 8).



Fonte: o autor.

Figura 51J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-1" em diferentes ampliações ao final da oitava carreira de operação (Mês 8).



Fonte: o autor.

Figura 52J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F1-2" em diferentes ampliações ao final da oitava carreira de operação (Mês 8).



Fonte: o autor.

Figura 53J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo designada "F1-3" em diferentes ampliações ao final da oitava carreira de operação (Mês 8).



Fonte: o autor.

Figura 54J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-1" em diferentes ampliações ao final da oitava carreira de operação (Mês 8).



Fonte: o autor.

Figura 55J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-2" em diferentes ampliações ao final da oitava carreira de operação (Mês 8).



Fonte: o autor.

Figura 56J. – A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica observada no *coupon* da Célula de Fluxo "F2-3" em diferentes ampliações ao final da oitava carreira de operação (Mês 8).



Fonte: o autor.

9. Micro-organismos observados nas mangueiras das CFXs (mês 8)

Figura 57J. – Análises do material coletado da mangueira da Célula de Fluxo "E" ao final das oito carreiras de filtração (mês 8): A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica em diferentes ampliações.



Fonte: o autor.

Figura 58J. – Análises do material coletado da mangueira da Célula de Fluxo "F1-1" ao final das oito carreiras de filtração (mês 8): A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica em diferentes ampliações.



Fonte: o autor.

Figura 59J. – Análises do material coletado da mangueira da Célula de Fluxo "F1-2" ao final das oito carreiras de filtração (mês 8): A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica em diferentes ampliações.



Fonte: o autor.

Figura 60J. – Análises do material coletado da mangueira da Célula de Fluxo "F1-3" ao final das oito carreiras de filtração (mês 8): A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica em diferentes ampliações.



Fonte: o autor.

Figura 61J. – Análises do material coletado da mangueira da Célula de Fluxo "F2-1" ao final das oito carreiras de filtração (mês 8): A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica em diferentes ampliações.



Fonte: o autor.

Figura 62J. – Análises do material coletado da mangueira da Célula de Fluxo "F2-2" ao final das oito carreiras de filtração (mês 8): A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica em diferentes ampliações.



Fonte: o autor.

Figura 63J. – Análises do material coletado da mangueira da Célula de Fluxo "F2-3" ao final das oito carreiras de filtração (mês 8): A) Foto microscópica do biofilme; B) e C) Fotos microscópicas da comunidade microbiológica em diferentes ampliações.



Fonte: o autor.