

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE COMPOSTOS FARMACOLÓGICOS EM
FILTROS DE CARVÃO GRANULAR BIOLÓGICAMENTE ATIVADO EM ESCALA
DE LABORATÓRIO**

Rívea Medri Borges
Bióloga

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luís de Carvalho
Co-orientador: Dr. Alessandro Minillo

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia - UNESP – Campus de Ilha Solteira, para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil. Área de Conhecimento: Recursos Hídricos e Tecnologias Ambientais.

Ilha Solteira - SP
Setembro/2010

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da UNESP - Ilha Solteira.

B732a Borges, Rívea Medri.
Avaliação da remoção de compostos farmacológicos em filtros de carvão granular biologicamente ativado em escala de laboratório / Rívea Medri Borges. -- Ilha Solteira : [s.n.], 2010.
88 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Recursos Hídricos e Tecnologias Ambientais, 2010

Orientador: Sérgio Luiz de Carvalho
Co-orientador: Alessandro Minillo
Inclui bibliografia

1. Água – Purificação. 2. Filtros de carvão granular biologicamente ativado. 3. Biofilme. 4. Compostos farmacológicos.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ILHA SOLTEIRA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Avaliação da remoção de compostos farmacológicos em filtros de carvão granular biologicamente ativado em escala de laboratório

AUTORA: RIVEA MEDRI BORGES

ORIENTADOR: Prof. Dr. SERGIO LUIS DE CARVALHO

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. ALESSANDRO MINILLO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE em ENGENHARIA CIVIL, Área: RECURSOS HIDRICOS E TECNOLOGIAS AMBIENTAIS, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ALESSANDRO MINILLO

Departamento de Engenharia Civil / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Prof. Dr. EDSON PEREIRA TANGERINO

Departamento de Engenharia Civil / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

Prof. Dr. MAURICIO LUIZ SENS

Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental / Universidade Federal de Santa Catarina - Florianópolis/SC

Data da realização: 24 de setembro de 2010.

“As pesquisas não mudam a realidade.

Quem muda a realidade é o homem.

As pesquisas mudam o olhar do homem.

Mudando o homem, ele muda a realidade.

Nada nos impede de fazer isso,

a não ser, o medo de ousar.”

(Marcio Pochmann)

Dedico

Aos meus pais,

Gilberto Medri Borges e Orlanda Marba Borges,

que em todos os momentos me deram apoio, incentivo, compreensão e amor.

e que lutaram bravamente para este sonho se tornar realidade.

A vocês todo meu amor.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me dar força interior e equilíbrio espiritual para executar um bom trabalho; luz nos momentos de incerteza e por suprir todas as minhas necessidades.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Edson P. Tangerino por abrir a mim as portas do mundo científico e pelo apoio e dedicação quase paternal concedido durante toda a trajetória pelos caminhos da ciência. Ao Prof. Dr. Sérgio Luis Carvalho por ter aceitado essa orientação após as dificuldades burocráticas e pela ótima referência que sempre será na minha vida pessoal. Ao Dr. Alessandro Minillo, pela confiança em mim depositada, a amizade, a orientação, os conselhos, a dedicação, por me orientar pelos caminhos da ciência, pela arte de pensar o trabalho acadêmico com rigor e disciplina, propiciando-me a fundamentação básica, sem a qual este trabalho não existiria. A vocês, meu eterno agradecimento, saibam que estarão sempre no meu coração.

À minha família, pelo contínuo apoio em todos os momentos, sendo fundamentais na construção, fortalecimento e coerência de meus valores. Agradeço de forma muito carinhosa a minha mãe pela paciência infinita, o amparo acolhedor nos momentos difíceis e sua crença absoluta na capacidade de realização a mim atribuída que foram, indubitavelmente, os elementos propulsores para realização desta dissertação.

Aos amigos, que fizeram parte dessa trajetória, muitas vezes me oferecendo amparo material e espiritual. Em especial aos membros do “quarteto fantástico”, Oduvaldo (Véio), Luis Gustavo (Chico) e Danilo (Bicudo), fundamentais na minha evolução moral, intelectual e espiritual, obrigado pelo companheirismo, a vocês meu eterno carinho.

A todos os companheiros do Laboratório de Saneamento, pela saudável convivência que tanto contribuiu para que eu aprendesse a trabalhar em equipe e descobrir que “juntos somos mais fortes”. Em especial ao Rossi pela amizade, ao Dr. William Deodato Isique por somar a nossa equipe com enorme dedicação e esforço que tanto enriqueceram esse trabalho, e ao Prof. Tsunao Matsumoto pelas oportunidades de aprendizado.

A Profa. Dra. Heloiza Ferreira Alves do Prado que embarcou conosco no sonho desse projeto e com sua grande ajuda fez possível torná-lo em realidade.

A Profa. Eliana Gertrudes de Macedo Lemos e a toda a sua equipe do Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas pela grande contribuição que conferiu prestígio e valor ao meu trabalho de mestrado.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela oportunidade de realização desse trabalho e pela bolsa concedida durante os anos do curso. A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP pelo financiamento desse projeto.

A todos os colegas e professores da Pós Graduação em Engenharia Civil pelo convívio e aprendizado.

A todos que contribuíram para a realização desse trabalho saibam que voar alto tem o inconveniente de muitas vezes ser um vôo solitário, obrigado por estarem ao meu lado durante esse vôo, a vocês minha eterna gratidão.

RESUMO

A contaminação por compostos farmacêuticos nos ambientes aquáticos e sua difícil remoção no tratamento convencional de água representam um desafio às companhias de saneamento. O uso de carvão ativado granular (CAG) em filtros em conjunto com o tratamento de água em ETAs tem demonstrado resultados satisfatórios, porém apresenta uma capacidade de adsorção limitada, o que requer sua regeneração periódica nos leitos dos filtros. Entretanto, durante o funcionamento dos filtros CAG, estes são naturalmente colonizados por microorganismos capazes de degradarem uma diversidade de compostos. Todavia, os fármacos são susceptíveis a degradação por microorganismos presentes na água, nos sedimentos e nos efluentes de esgoto orgânicos. Diante destes aspectos, o presente projeto avaliou a remoção dos fármacos: diclofenaco de sódio, ibuprofeno, naproxeno e amoxicilina por meio de filtros de carvão com atividade biológica (CAB) em condições de laboratório durante 24 semanas, bem como a biodegradação desses compostos por microorganismos aderidos nesses biofiltros, e a identificação filogenética dos microorganismos participantes no processo de degradação dos fármacos testados. Os resultados obtidos demonstram a remoção expressiva dos fármacos acima de 80% em filtração com carvão ativado. Foi constatada a biodegradação dos fármacos, possivelmente por bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Burkholderia*, *Cupriavidus*, *Pseudomonas*, *Shinella*, e *Sphingomonas* presentes no biofilme, o que infere sobre a participação destes microorganismos durante o processo de biofiltração. A presença de microorganismos com potencial de metabolização pode ser uma alternativa para aumentar o tempo de uso dos filtros carvão nas Estações de Tratamento de Água. A possibilidade de isolar microorganismos específicos ou consórcios microbianos adaptados em remover os compostos farmacêuticos, a partir de águas naturais, pode representar uma medida considerável para o controle e remoção destas substâncias, possibilitando aumento na qualidade do tratamento da água, principalmente quando as condições adequadas para a biodegradação puderem ser identificadas, e impostas em sistemas de biofiltração.

Palavras-chave: Tratamento de água. Filtros de carvão granular biologicamente ativado. Biofilme. Compostos farmacológicos.

ABSTRACT

The contamination by pharmaceutical compounds in aquatic environments and its difficult removal in the conventional water treatment represents a challenge to the sanitation companies. The use of granular activated carbon (GAC) in filters combined with the treatment in Water Treatment Plants (WTP) has showed satisfactory results, although presents a limited adsorption's capacity, which requires its periodical regeneration in the filters beds. During the functioning of the GAC filters, though, those are naturally colonized by microorganisms capable of degrading a whole sort of compounds. In the other hand, the drugs are susceptible to degradation by microorganisms presents in the water, in sediments and in organic effluent's sewage. Given these aspects, the project evaluated the removal of the drugs: sodium diclofenac, ibuprofen, naproxen and amoxicillin by the carbon with biological activity (BAC) in laboratory condition during 24 weeks, and the biodegradation of these compounds by microorganisms stucked in those biofilters, and the phylogenetic identification of the microorganisms participating in the degradation process of the tested drugs. The results demonstrate the expressive removal of the drugs above 80% using filtration with activated granular carbon. It was established the biodegradation of the pharmaceuticals, possibly by bacterias of the genera *Bacillus*, *Burkholderia*, *Cupriavidus*, *Pseudomonas*, *Shinella*, and *Sphingomonas* presents in the biofilm, which infers about the microorganism's participation during the biofiltration process. The presence of the microorganisms with metabolism's potential might be on alternative to increase the carbon's filter's timing in the WTP's. The possibility of isolating specific microorganisms or microbial consortia that are adapted to remove the drugs compounds from natural water may represent a considerable measure for the control and removal of those substances, enabling an increase in the water treatment's quality mainly when the proper conditions for biodegradation can be identified and imposed in biodegradation systems.

Keywords: Water treatment. Filters biological activated granular carbon. Biofilm. Pharmacological compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Fluxograma das possíveis vias de transferências dos compostos farmacológicos ao meio ambiente.	5
Figura 2.	Fluxograma típico da tecnologia de tratamento convencional.	8
Figura 3.	Sistema de Tratamento Convencional de Água.....	10
Figura 4.	Microfotografia tirada da superfície de grânulos de carvão.....	14
Figura 5.	Opções de locação do CA no tratamento de água.	17
Figura 6.	Microfotografia de biofilme formado em partículas de carvão ativado em laboratório, com matriz de exopolissacarídeo densa e estruturada evidenciando uma complexa comunidade de bacilos e cocobacilos (a) e cocos e bacilos (b). ...	22
Figura 7.	Principais processos envolvidos na formação de um biofilme (A) e acumulação de biofilme ao longo do tempo (B).	24
Figura 8.	Superfície do carvão ativado granular (A) com destaque aos contaminantes adsorvidos e difusos no interior dos poros (B).....	26
Figura 9.	Representação teórica do carbono orgânico dissolvido (COD) removido por adsorção e degradação biológica ao longo do tempo.	27
Figura 10.	Localização da Lagoa do Ipê (A), Município de Ilha Solteira, SP.....	30
Figura 11.	Tratamentos contendo os fármacos, com destaque para (a) galão inoculado com microorganismos e (b) sem inoculo.....	32
Figura 12.	Classificação BET de isothermas de adsorção.....	34
Figura 13.	Filtros de carvão confeccionados para os ensaios de remoção de fármacos (a), com detalhamento de sua estrutura (b).....	35
Figura 14.	Configuração do sistema experimental com filtros de carvão colonizados e não colonizados por microorganismos.	36
Figura 15.	Perfil cromatográfico de padrões de fármacos: 1- Amoxicilina (T.R: 8.36); 2- Naproxeno (T.R: 11.38), 3- Diclofenaco (T.R: 12.33) e 4- Ibuprofeno (T.R: 12.50). Coluna: LC Column Shim-pack C ₁₈ (250 mm x 4.6 mm ID, partículas de 5,0 µm), comprimentos de onda (240 e 280 nm).	38
Figura 16.	Crescimento das colônias de bactérias após o plaqueamento.	39
Figura 17.	Plaqueamento por esgotamento em estrias (A) e tubos de ensaio contendo o meio de cultivo inclinado (B).....	40
Figura 18.	Concentrações de ibuprofeno quantificados entre os tratamentos testados durante o ensaio.	43
Figura 19.	Concentrações de diclofenaco de sódio quantificados entre os tratamentos testados durante o ensaio	43
Figura 20.	Concentrações de naproxeno quantificados entre os tratamentos testados durante o ensaio.	44

Figura 21. Percentual de redução do oxigênio dissolvido nos filtros CAB e CAG.	48
Figura 22. Distribuição dos valores de remoção de amoxicilina nos filtros CAG e CAB.	49
Figura 23. Distribuição dos valores de remoção de naproxeno nos filtros CAG e CAB.	49
Figura 24. Distribuição dos valores de remoção de diclofenaco nos filtros CAG e CAB.	50
Figura 25. Distribuição dos valores de remoção de ibuprofeno nos filtros CAG e CAB.....	50
Figura 26. Valores quantificados de amoxicilina nas amostras afluentes (Água Estudo) e efluentes dos filtros CAB (a) e CAG (b).....	52
Figura 27. Valores quantificados de naproxeno nas amostras afluentes (Água de Estudo) e efluentes dos filtros CAB (a) e CAG (b).....	53
Figura 28. Valores quantificados de diclofenaco nas amostras afluentes (Água de Estudo) e efluentes dos filtros CAB (a) e CAG (b).....	54
Figura 29. Valores quantificados de ibuprofeno nas amostras afluentes (Água de Estudo) e efluentes dos filtros CAB (a) e CAG (b).....	55
Figura 30. Atuação da enzima β -Lactamase no anel β -lactâmico.	58
Figura 31. Possível rota de degradação de ibuprofeno por <i>Sphingomonas sp.</i>	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações médias de fármacos detectados no meio ambiente.	6
Tabela 2. Eficiência de remoção de compostos farmacológicos durante o tratamento convencional.	13
Tabela 3. Classificação dos poros conforme o diâmetro.	104
Tabela 4. Qualidade da água para tratamento por meio da filtração lenta e as características da água da Lagoa do Ipê.	30
Tabela 5. Características dos compostos farmacológicos em estudo.	33
Tabela 6. Valores médios de pH da água de estudo afluente e efluente dos filtros testados durante o ensaio.	46
Tabela 7. Valores máximo, médio e mínimo de COD do afluente e efluente dos filtros testados durante o ensaio e remoção em relação à água bruta de cada filtro.	47
Tabela 8. Caracterização dos isolados obtidos dos filtros biológicos de carvão e disponibilizados no GeneBank.	57

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVO	3
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1	<i>Contaminação Ambiental por Fármacos</i>	4
3.2	<i>Tratamento de Água de Abastecimento</i>	8
3.2.1	<i>Tratamento de Água de Abastecimento com Fármacos</i>	12
3.3	<i>Carvão Ativado</i>	13
3.3.1	<i>Capacidade adsortiva do carvão ativado</i>	15
3.4	<i>Uso de filtros biológicos no tratamento de água</i>	18
3.5	<i>Filtros biológicos de carvão</i>	19
3.6	<i>Funcionamento de um filtro CAB</i>	21
3.7	<i>Composição do biofilme no CAB</i>	21
3.8	<i>Formação de biofilmes</i>	23
3.9	<i>Atividade do biofilme no CAB</i>	24
3.10	<i>Remoção de substâncias na água pelo biofilme do CAB</i>	25
4	MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1	<i>Características da água utilizada no experimento</i>	29
4.2	<i>Ensaio de Biodegradação dos fármacos</i>	31
4.2.1	<i>Preparação da água do estudo com fármacos</i>	31
4.2.2	<i>Delineamento do ensaio de biodegradação de fármacos</i>	31
4.3	<i>Ensaio de Filtração Biológica dos Fármacos</i>	32
4.3.1	<i>Preparação da água do estudo com fármacos</i>	32
4.3.2	<i>Seleção do Carvão Ativado Granular</i>	33
4.3.3	<i>Preparação dos filtros de carvão ativado biológico</i>	34
4.3.4	<i>Delineamento do ensaio de remoção de fármacos em filtros CAB em laboratório</i>	35
4.4	<i>Extração dos fármacos das amostras</i>	36
4.5	<i>Análises dos fármacos em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)</i>	37
4.6	<i>Remoção dos fármacos</i>	38
4.7	<i>Isolamento e caracterização fenotípica dos microrganismos nos filtros CAB</i>	38
4.8	<i>Caracterização genotípica dos microrganismos nos filtros CAB</i>	40

4.8.1	<i>Extração de DNA dos isolados e amplificação do gene 16S rRNA</i>	40
4.8.2	<i>Análises das seqüências</i>	41
4.9	<i>Tratamento estatístico dos dados obtidos</i>	41
5	RESULTADOS	42
5.1	<i>Biodegradação dos fármacos</i>	42
5.2.1	<i>Influência dos valores de pH durante o ensaio de remoção de fármacos</i>	45
5.2.2	<i>Efeito da temperatura nos ensaios de remoção de fármacos</i>	46
5.2.3	<i>Quantificação do Carbono Orgânico Dissolvido (COD) nos filtros de carvão</i>	46
5.2.4	<i>Quantificação do Oxigênio Dissolvido nos filtros de carvão</i>	47
5.2.5	<i>Remoção dos fármacos nos filtros biológicos de carvão</i>	48
5.2.6	<i>Caracterização do biofilme dos filtros de carvão biologicamente ativado</i>	56
6	CONCLUSÕES	62
7	RECOMENDAÇÕES	63
	REFERÊNCIAS	64
	ANEXO	77

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento econômico e social de qualquer país está diretamente associado à disponibilidade de água de boa qualidade e a capacidade de conservação dos seus recursos hídricos (TUNDISI, 1999). Por se tratar de um recurso natural escasso e desigualmente distribuído, e por desempenhar papel vital para o sustento de toda a vida, a água atualmente exerce grande influência nas relações político/econômicas globais, sendo que sua escassez e baixa qualidade são fatores limitantes ao crescimento sustentável de qualquer sociedade. Porém, os modelos de desenvolvimento adotados pela humanidade não têm levado em conta, há muito tempo, a manutenção do equilíbrio dos sistemas ambientais, fato que pode ser evidenciado pela queda na qualidade das águas mundiais (TUNDISI, 1999).

Nas últimas décadas, a crescente expansão dos centros urbanos, das indústrias, da agricultura, e da pecuária, tem contribuído com o aumento na contaminação de rios, lagos e reservatórios. A inexistência de um crescimento populacional planejado, fundamentado em critérios ambientais, deu origem a um cenário crítico, onde se observa que resíduos gerados por centros urbanos e industriais, somados as descargas difusas (de origem urbana e agrícola) despejam diariamente diversas substâncias químicas estranhas aos seres vivos, que deterioram os corpos hídricos.

Dentre as substâncias sintéticas cada vez mais presentes nos ambientes aquáticos, estão os compostos farmacêuticos, que se encontram na formulação de uma série de medicamentos, tais como antimicrobianos, analgésicos, antiinflamatórios, e contraceptivos orais (FENT et al., 2006). O surgimento no ambiente natural desses compostos advém principalmente pelo uso intenso e extensivo no tratamento de doenças; sendo esses excretados pelo organismo na forma não metabolizada ou como metabólitos ativos, sendo introduzidos no meio ambiente, principalmente, a partir do lançamento via efluentes municipais nos corpos receptores das águas servidas, ou pelos efluentes de indústrias que os utilizam em suas atividades (CALAMARI et al., 2003 apud REIS FILHO et al., 2007; CHAPMAN, 2006; PETROVIĆ et al., 2005).

Apesar das modernas tecnologias de tratamento adotadas nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETE), os fármacos não são eliminados completamente durante o tratamento (GHISELLE, 2006). Esta situação configura um risco potencial de exposição à saúde humana (WEBB et al., 2003) em razão da inevitável contaminação dos corpos hídricos, em especial,

os mananciais de abastecimento de água potável (FENT et al., 2006). Nas águas naturais, dependendo da capacidade de autodepuração do corpo receptor, e da estabilidade das moléculas, os fármacos podem chegar às águas das populações assentadas à jusante dos lançamentos, e até serem transferidas para Estações de Tratamento de Água (ETA), onde não são removidos pelos sistemas de tratamento convencionais (JONES et al., 2005), estendendo-se à água de abastecimento humano (WEBB et al., 2003).

A presença de fármacos em águas aduzidas para ETA representa atualmente um desafio para remoção destas substâncias durante o seu tratamento, o que é de extrema importância na manutenção do padrão de qualidade da água de consumo. O desenvolvimento de métodos alternativos no tratamento das águas, como o uso de filtros com carvão ativado biologicamente (CAB), em complemento aos métodos convencionais de tratamento de água pode representar uma proposta promissora para remoção de resíduos de fármacos, entre outras substâncias presentes na água durante seu tratamento em uma ETA (BUNDY et al., 2007). A utilização deste sistema de biofiltração pode ainda representar uma otimização operacional e redução dos custos do tratamento da água em ETA, pela possibilidade de prolongar o tempo de vida útil destes filtros. Outro aspecto a ser considerado, está na possibilidade de reduzir as chances de transpasse de contaminantes do filtro para a água efluente, mantendo assim a produção de água potável com uma mesma eficiência (SIMPSON, 2008).

A principal característica deste sistema de tratamento de água está na capacidade destes biofiltros em remover compostos biodegradáveis através da ação dos microrganismos (SERVAIS et al., 1992). Porém, há a necessidade de um maior conhecimento e compreensão sobre a diversidade de microrganismos potencialmente exploráveis nos processos biotecnológicos para a biodegradação de substâncias nocivas, bem como, dos benefícios econômicos e estratégicos, relacionados à utilização desse processo de tratamento. Em todo o mundo, avaliações criteriosas vêm sendo realizadas sobre os efeitos desses no meio aquático e os limites seguros de concentrações de fármacos na água potável, a fim de estabelecer diretrizes e regulamentações objetivando proteger a saúde humana e os ecossistemas naturais dos indesejáveis efeitos destas substâncias. Igualmente, vem sendo realizadas investigações por processos de tratamento que promovam a remoção adequada desses compostos da água potável.

2 OBJETIVO

Avaliar a capacidade de remoção de fármacos em filtros de carvão granular com atividade biológica (CAB) em condições de laboratório. Estimar as contribuições dos processos de biodegradação durante a remoção dos fármacos, e identificar filogeneticamente os microorganismos aderidos nesses biofiltros que responderiam pelo processo de degradação destes compostos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 *Contaminação Ambiental por Fármacos*

No início desse século, observa-se uma grande preocupação mundial com a queda na qualidade da água disponível ao seres humanos, causada pelo mau gerenciamento das questões ambientais originado principalmente devido ao crescimento populacional contínuo, a industrialização, práticas de produção de alimentos, e mudança nos padrões de vida (UNEP, 2010). A água completa seu ciclo natural oferecendo à sociedade atual uma variedade de serviços que sustentam a vida das comunidades e influencia na economia de acordo com as características ambientais locais. Pela dinâmica das águas, toda a água residual das atividades humanas, retorna aos ecossistemas aquáticos, por meio de efluentes domésticos constituídos por águas negras (fezes, urina e fezes de lodo) e águas cinza (águas servidas de banho e cozinha); pela água de estabelecimentos comerciais e instituições, incluindo os hospitais; pelos efluentes industriais e resíduos da aquicultura; e através das águas de drenagem pluvial das áreas urbanas e agrícolas (UNEP, 2010). Todavia, 80 a 90% de toda água utilizada pelos humanos é devolvida aos ecossistemas em condições inferiores as originais, impactando diretamente na qualidade da água (UN WATER, 2008).

As águas residuais podem conter uma grande quantidade de diferentes componentes: patógenos, compostos orgânicos, químicos sintéticos, nutrientes, matéria orgânica e metais pesados. Os fármacos, substâncias químicas que vem sendo frequentemente encontrados no esgoto doméstico, são produtos altamente consumidos por grande parte da população mundial, que após administrado, são excretados pela urina ou fezes, onde entre 50 a 90% de uma dosagem se encontraram inalteradas (MULROY, 2001). De acordo com Richardson et al. (1985), no tratamento do esgoto doméstico há três destinos possíveis para qualquer fármaco individual: (i) pode ser biodegradável, ou seja, mineralizado a gás carbônico e água, como por exemplo, o ácido acetilsalicílico; (ii) pode passar por algum processo metabólico ou ser degradado parcialmente, como as penicilinas; (iii) pode ser persistente, como o clofibrato.

Os compostos farmacêuticos adentram o meio ambiente principalmente a partir do lançamento via efluentes municipais e de indústrias que os utilizam em suas atividades, e também através de descargas difusas de origem urbana e agrícola, como muitos antibióticos, intensivamente usados como promotores de crescimento na produção de gados, aves e suínos,

e chegam às águas pelas fezes que são aplicadas como fertilizantes na agricultura, o que também pode contaminar as águas subterrâneas. Outra fonte de contaminação são os dejetos da aquicultura, que utilizam os antibióticos como aditivos nos alimentos (BILA; DEZOTTI, 2003).

O esquema apresentado na Figura 1 sugere as possíveis rotas dos fármacos descartados no meio ambiente. Em várias partes do mundo, estudos relatam a ocorrência de fármacos residuais nos efluentes domésticos e águas naturais, todavia, todas as produções científicas concluem que há remoção incompleta de grande parte dos compostos farmacêuticos pelas ETE, sendo os corpos hídricos seu destino final. No Brasil, fármacos e alguns dos seus metabólitos foram detectados em esgoto bruto, em efluente de ETE e em águas de rio, demonstrando que a taxa de remoção destes durante a passagem pelas ETE variam de 12 a 90%, dependendo do composto (GHISELLE, 2008; STUMPF et al., 1999; TERNES et al., 1998).

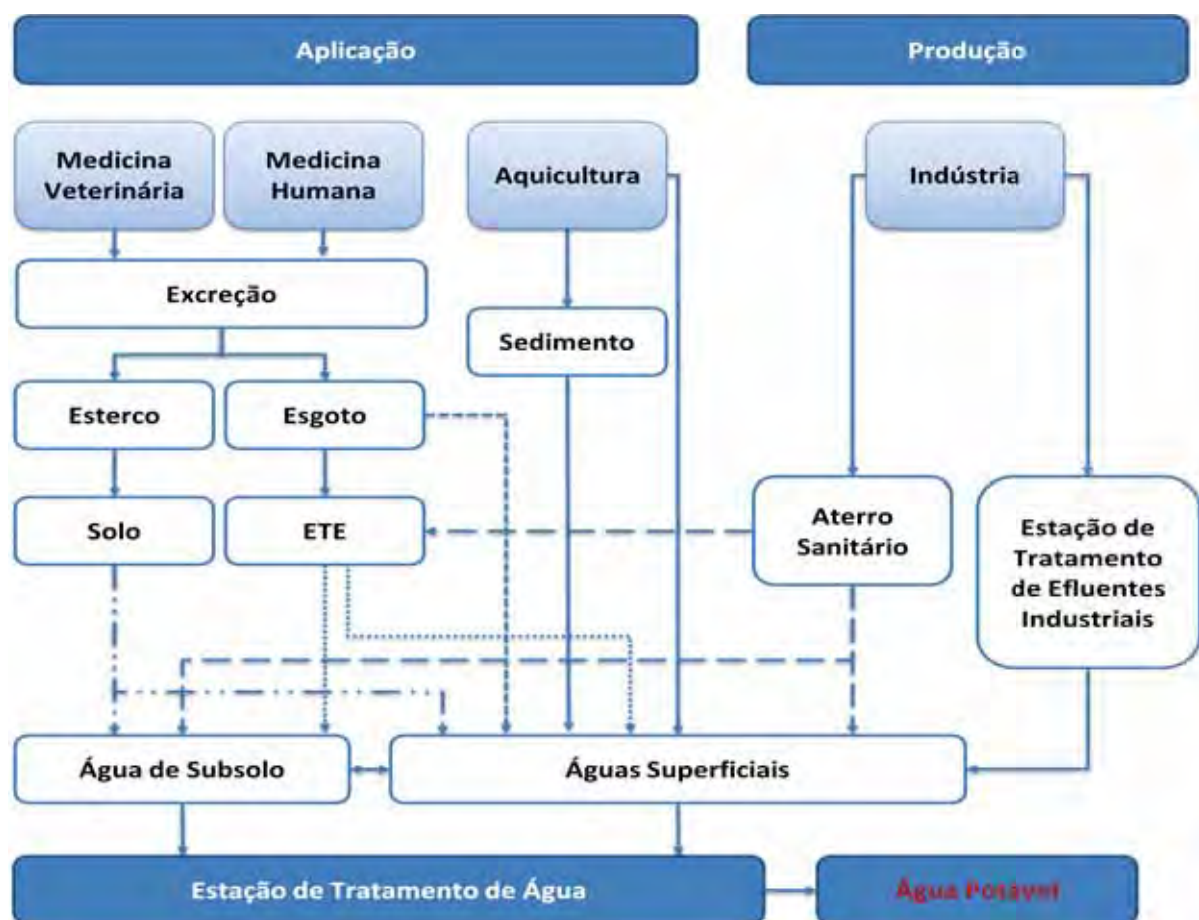


Figura 1 - Fluxograma das possíveis vias de transferências dos compostos farmacológicos ao meio ambiente. Fonte: Billa e Dezotti (2003)

Em resumo, na tabela abaixo (Tabela 1), dentre as concentrações médias de fármacos freqüentemente detectados, observa-se a presença de substâncias altamente persistentes às intempéries ambientais, tais como os antibióticos, bem como moléculas biodegradáveis, que nos corpos hídricos não são depuradas totalmente, devido à elevada quantidade e constância em que são lançados ao ambiente, como os antiinflamatórios. Essas moléculas, geralmente, estão presentes na formulação dos medicamentos mais populares, de uso contínuo e muitas vezes vendido sem prescrição médica (DOUGHTON et al., 2001; ZWIENER; FRIMMEL, 2000). Eles estarão em solução ou como materiais particulados e são carregados ao longo dos rios por diferentes fontes. No ambiente natural, esses compostos podem bioacumular-se, persistir e/ou reagir sinergeticamente entre si, afetando a saúde e o funcionamento do ecossistema.

Tabela 1- Concentrações médias de fármacos detectados no meio ambiente

Substâncias	Uso Terapêutico	Concentrações médias	Condições
Ácido Acetilsalicílico	Analgésico	0,22 µg/L	Efluente ETE/Alemanha
Diclofenaco	Antiinflamatório	0,02- 0,06 µg/L	Água superficial/Brasil
		0,81 µg/L	Efluente ETE/Alemanha
		0,15 µg/L	Água superficial/Alemanha
		200-370 µg/L	Efluente ETE/Suécia
Ibuprofeno	Antiinflamatório	< 1-12 ng/L	Água superficial/Suécia
		0,087 µg/L	Água superficial/ Canadá
		0,07 µg/L	Água superficial/Alemanha
		0,37 µg/L	Efluente ETE/Alemanha
		0,01 µg/L	Água superficial/Brasil
Naproxeno	Antiinflamatório	1- 3,3 µg/L	Esgoto doméstico/Suécia
		20 ng/L	Afluente de ETE/Espanha
		270 ng/L	Efluente de ETE/Alemanha
		40 ng/L	Água superficial/Alemanha
		250 ng/L	Água superficial/EUA
Tetraciclina	Antibiótico	6,6 µg/L	Afluente de ETE/Espanha
		0,11 µg/L	Manancial/EUA
Amoxicilina	Antibiótico	1,2-4,2 µg/L	Água superficial/Alemanha
		2,5 µg/L	Efluente ETE/Alemanha
Penicilina	Antibiótico	0,20 µg/L	Manancial/EUA
Betaxolol	β-bloqueador	1,8-5,9 ng/L	Água superficial/Alemanha
Bisoprolol	β-bloqueador	0,057 µg/L	Efluente ETE/Alemanha
		0,057 µg/L	Efluente ETE/Alemanha
		0,0015 µg/L	Esgoto Doméstico/ Alemanha
		0,006 µg/L	Efluente ETE/ Canadá
		0,021 µg/L	Esgoto doméstico/Brasil
17β-Estradiol	Hormônio	0,009- 0,16 µg/L	Água superficial/EUA
		2-12 µg/mulher/dia	Naturalmente excretado por uma mulher por dia

Fonte: Billa e Dezotti (2003), Coelho (2008).

A ocorrência de fármacos residuais pode apresentar efeitos adversos em organismos aquáticos e terrestres. O efeito pode ser em qualquer nível da hierarquia biológica: célula - órgãos - organismo - população - ecossistema. De acordo com Billa e Dezotti (2003) alguns desses efeitos podem ser observados em concentrações na ordem de ng/L. Algumas pesquisas vêm investigando compostos químicos presentes no meio ambiente evidenciando, desde promoção de resistência bacteriana aos antibióticos, a desenvolvimento de anormalidades e morte dos organismos expostos (BARONTI, et al., 2000; BUSER, et al., 1998a, 1998b, 1999; DESBROW, et al., 1998; HARTIG, et al., 1999; HIRSCH, et al. 1998; JONHSON, et al., 2000; KOLPIN, et al.; 2002; SACHER, et al., 2001; STUMPF, et al., 1999; TERNES, et al., 1999a, 1999, 2000; XIAO, et al., 2001; WINKLER, et al., 2001). Porém, incertezas quanto o destino final e o comportamento dessas substâncias no ambiente aquático, não permitem estabelecer um entendimento do comprometimento destas substancias sobre os diferentes níveis tróficos.

Em todo o mundo mais de 70% da água dos corpos receptores de águas servidas são utilizados como mananciais de água potável pela da população que habita à jusante das zonas de contaminação (APPELGREN, 2004; PIMENTEL; PIMENTEL, 2008). Estudos em países como Alemanha, Brasil, Canadá, Espanha e EUA relatam a presença de pequenas concentrações de substâncias farmacêuticas e seus metabólitos em água bruta e tratada em ETA (DOUGHTON et al., 2001; GHISELLI, 2006; ZWIENER; FRIMEL, 2000), demonstrando que as moléculas dos fármacos carregados ao longo dos mananciais podem ser aduzidas às Estações de Tratamento de Água (ETA), onde resistem aos tratamentos normalmente empregados, entendendo-se à água potável. Em baixas concentrações, a probabilidade de riscos à saúde humana a curto prazo é extremamente pequena, porém, a bioacumulação e os efeitos sinérgicos da mistura dos compostos são fatores que possivelmente acarretaram danos a saúde humana a longo prazo. Apesar de algumas lacunas no conhecimento sobre os efeitos dessa exposição aos fármacos, alguns autores indicam que, dependendo da dose e do tempo de exposição, é possível que essas substâncias estejam relacionadas com doenças em seres humanos, como câncer de mama, testicular e de próstata, ovários policísticos e redução da fertilidade masculina (CASTRO, 2002; FOLMAR, et al., 2000; HARRISON, et al., 1997)

3.2 Tratamento de Água de Abastecimento

A potabilização das águas naturais para fins de abastecimento público tem como função precípua adequar a água bruta ao padrão de potabilidade recomendada e normatizada por órgãos internacionais e nacionais de controle sanitário (WHO, 2004; BRASIL, 2004). O tratamento de água consiste na remoção de partículas suspensas e coloidais, matéria orgânica, microrganismos e outras substâncias possivelmente deletérias à saúde humana, porventura presentes nas águas naturais, aos menores custos de implantação, operação e manutenção, gerando o menor impacto ambiental às áreas circunvizinhas. Diferentemente do tratamento de águas residuárias de características predominantemente biológica, as tecnologias de tratamento das águas de abastecimento, na sua quase totalidade, abarcam conjunto de processos e operações físicos e químicos.

A definição da tecnologia a ser empregada no tratamento de água para consumo humano deve-se pautar principalmente nas seguintes premissas (MONTGOMERY, 1985 apud LIBÂNIO, 2005): características da água bruta, fator mais decisivo na escolha; custos de implantação, manutenção e operação; manuseio e confiabilidade dos equipamentos; flexibilidade operacional; localização geográfica e características da comunidade; disposição final do lodo. As tecnologias de tratamento de água apresentam, basicamente, três fases: *clarificação*, *filtração* e *desinfecção*, que são realizadas através de várias operações e procedimentos físico-químicos. O modelo mais tradicional nas Estações de Tratamento de Água (ETA) do Brasil e do exterior (figura 2) compreende todo sistema que abarcar a aplicação de coagulante na unidade de mistura rápida, seguida por floculação, sedimentação, filtração e desinfecção (LIBÂNIO, 2005).

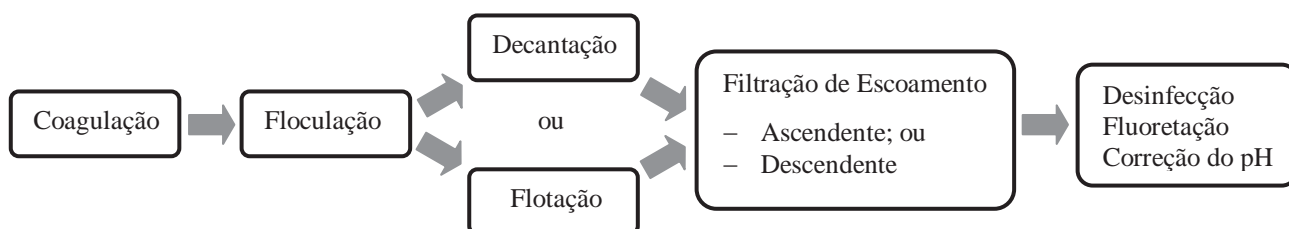


Figura 2. Fluxograma típico da tecnologia de tratamento convencional.
Fonte: Adaptado de Libânio (2005)

O tratamento convencional inicia-se pela coagulação, que consiste essencialmente na desestabilização das partículas coloidais e suspensas, realizada pela conjunção de ações

físicas e reações químicas, com duração de poucos segundos, entre o coagulante – usualmente um sal de alumínio ou de ferro –, a água e as impurezas presentes. Em solução aquosa, ocorre a hidrólise dos íons metálicos de ferro e alumínio, que positivamente carregados, formam fortes ligações com os átomos de oxigênio, liberando os átomos de hidrogênio e reduzindo o pH da suspensão. Posteriormente, promove-se a agitação da água que transporta os produtos da hidrólise para o contato com as impurezas presentes, causando sua desestabilização ou envolvimento nos precipitados.

Em seguida ocorre a floculação, onde com a aproximação e colisão das partículas desestabilizadas, há formação dos flocos, os quais são removidos pelas etapas seguintes. Assim, o objetivo principal da coagulação e floculação é aglomerar as partículas da água, elevando a velocidade de sedimentação das mesmas, desta forma espera-se remover turbidez, matéria orgânica coloidal, substâncias tóxicas de origem orgânica e inorgânica, e outras passíveis de conferir odor e sabor à água, microrganismos em geral e os precursores da formação de trihalometanos. A próxima etapa finaliza a fase de clarificação, consiste na remoção dos flocos formados anteriormente, fornecendo condições que os permitam, depositar pela ação da gravidade; ou flotar pela injeção de ar dissolvido. Essa operação objetiva diminuir o afluxo de partículas às unidades filtrantes, consistindo na última etapa da clarificação.

A água, após a decantação/flotação, afluí à fase de filtração, processo que tem como função primordial a remoção das partículas responsáveis pela cor e turbidez, cuja presença reduziria a eficácia da desinfecção na inativação dos microrganismos patogênicos. Nas estações de tratamento convencionais, cabe à filtração provavelmente a função mais relevante, por se constituir na etapa em que as falhas – porventura ocorridas na coagulação, floculação e decantação/flotação – podem ser corrigidas, assegurando a qualidade da água tratada. A referida relevância da filtração está consolidada no meio técnico, quer pela Portaria 518 (BRASIL, 2004) quer pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA – *Environmental Protection Agency*), pois ambas estabelecem, embora com distintos requisitos de qualidade, a necessidade dessa etapa na distribuição de água captada em mananciais superficiais.

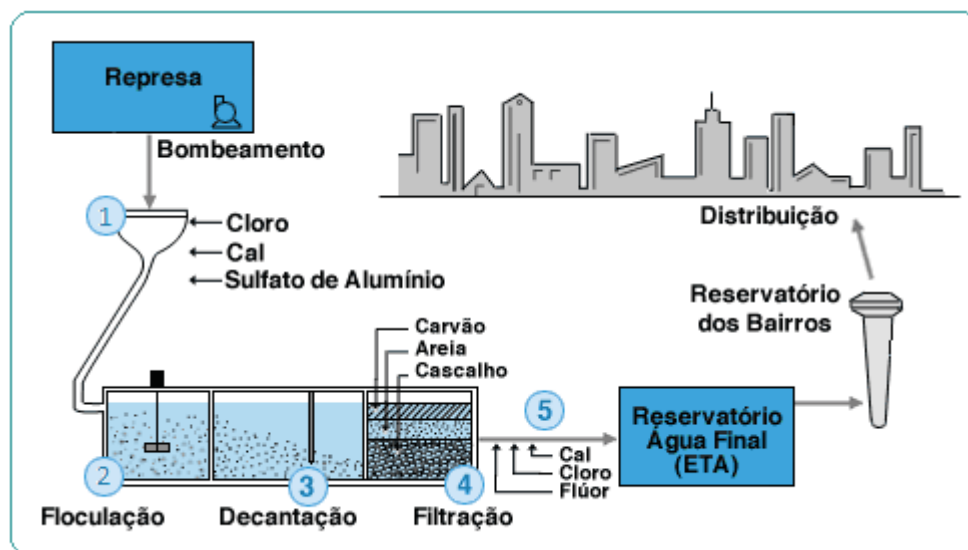


Figura 3. Sistema de Tratamento Convencional de Água. Fonte: SABESP (1997)

A filtração consiste na conjunção dos mecanismos de transporte e de aderência. Os primeiros constituem-se fenômenos físicos e hidráulicos afetados pelos parâmetros que governam a transferência de massa. Em outro contexto, os mecanismos de aderência são influenciados por fenômenos predominantemente químicos, tais como formação de pontes químicas, forças eletrostáticas e de *Van der Waals*, balizados por parâmetros físicos e químicos também intervenientes nas etapas de coagulação e floculação (O'MELIA; STUMM, 1967 apud LIBÂNIO, 2005). Ao mecanismo de transporte pode juntar-se a filtração biológica realizada pelos microrganismos quando se desenvolvem no interior do meio filtrante. Nessa etapa espera-se remover uma ampla gama de partículas que, se presentes na água filtrada, reduzem a eficiência do processo subsequente de desinfecção.

A última fase do tratamento, a desinfecção, constitui-se na inativação de microrganismos patogênicos por intermédio de agentes físicos e/ou químicos. Ainda que nas demais etapas da potabilização haja redução do número dos microrganismos agregados às partículas suspensas e coloidais removidas, cabe à desinfecção inativar os microrganismos patogênicos – e também os organismos indicadores – porventura presentes nas águas e prevenir o crescimento microbiológico nas redes de distribuição. No tratamento de água, os dois tipos preponderantes de mecanismos de desinfecção são a oxidação, com posterior ruptura da parede celular, e a difusão do desinfetante no interior das células, com conseqüente interferência na atividade celular. A desinfecção pode ser realizada basicamente por dois grupos principais de desinfetantes: agentes químicos e físicos. Os primeiros são elementos ou compostos com potencial de oxidação, incluindo o cloro e seus compostos, dióxido de cloro e ozônio, como os mais extensivamente empregados em tratamento de água. Os agentes físicos,

por sua vez, apresentam ação referenciada à energia de radiação, destacando-se a radiação UV, a radiação gama, radiação solar e, em nível domiciliar a fervura.

Independente da tecnologia empregada no tratamento de água, a ação preconizada por estes processos é a garantia que a água distribuída a população se enquadre nos padrões de potabilidade exigidos na legislação vigente. Contudo ainda é incipiente uma normatização e documentos que regulamentem sobre a contaminação da água por fármacos, pois ainda fazem-se necessárias avaliações criteriosas sobre os limites seguros de concentrações destas substâncias na água potável, bem como, os efeitos desses no meio aquático; para por fim, estabelecer processos de tratamento que promovam a remoção adequada desses compostos da água potável. Isso porque, vários autores (BUNDY et al., 2007; GHISELLE, 2006; JONES et al., 2005; HEBERER et al., 1997; HEBERER et al., 1998; ZWIENER; FRIMMEL, 2000, entre outros) destacam que as seqüências de tratamento de água que envolvem coagulação química, entre elas o tratamento convencional não são efetivas na remoção de resíduos farmacológicos.

3.2.1 Tratamento de Água de Abastecimento com Fármacos

Segundo as atuais pesquisas, os pontos estratégicos do tratamento de água convencional na remoção de compostos farmacêuticos são a filtração e a desinfecção. Especificamente, a aplicação de agentes químicos e físicos na desinfecção pode promover oxidação e/ou fotodegradação dos fármacos, já a filtração pode removê-los por meio dos mecanismos de transporte e principalmente de aderência, assim como faz com a matéria orgânica (SIMPSON, 2008).

Segundo Stackelberg et al. (2007), durante o tratamento convencional, o processo de clarificação promove em geral 15% de remoção de fármacos, sendo a maior efetividade desse processo observada para compostos hidrofóbicos, os quais indicam remoção por sedimentação. Durante a etapa de desinfecção, a principal remoção se deve a oxidação promovida pelo cloro livre, onde se observou em média 32% de remoção; porém o autor ressalta a possibilidade de que as reações químicas gerem subprodutos deletérios a saúde humana. No entanto, é crescente o uso de tecnologias de consagrado sucesso e que apresentem uma maior eficiência na remoção de compostos com características recalcitrantes (pesticidas, hidrocarbonetos, produtos farmacológicos e de higiene pessoal). Dentre estes, o emprego de carvão ativado granular (CAG), como meio de filtragem em colunas complementares aos processos de tratamento tradicionais, possibilita um maior resguardo à qualidade da água produzida e distribuída, com até 53% em se tratando na remoção dos fármacos.

A Tabela 2 apresenta os valores de remoção encontradas por Stackelberg *et al.* (2007) nas etapas do tratamento convencional para diferentes compostos farmacológicos.

Tabela 2 - Eficiência de remoção de compostos farmacológicos durante o tratamento convencional.

Composto	Solubilidade (mg/L)	Concentração Média (água: µg/L; sólidos: µg/Kg)					
		Fonte Água	Clarificação Água/Sólidos	Desinfecção Água	Filtração Água/Sólidos	Ef... final Água	Rem. %
Acetaminofeno	14.000	0,015	0,006/ND	ND	0,001/ND	0,0003	98
Cafeína	21.600	0,126	0,126/ND	0,116	0,004/ND	0,015	88
Carbamazepina	17,7	0,191	0,186/54	0,149	0,004/359	0,029	85
Cotina	998.600	0,008	0,0071/ND	0,01	0,0007/ND	0,003	57
Dehydronifedipine	-	0,001	0,0007/ND	0,0006	ND/ND	0,0006	40
Diphenhydramine	3.060	ND	ND/26,2	ND	ND/ND	ND	NC
Fluoxetina	60,3	ND	ND/49,5	ND	ND/58,6	ND	NC
Sulfamethoxazole	610	0,03	0,02/ND	ND	ND/ND	ND	100

NC: não calculado; ND: não detectado; -: sem informação. Fonte: adaptado de Stackelberg et al. (2007).

3.3 Carvão Ativado

Desde a antiguidade já se conhece o uso do carvão ativado pela sua propriedade adsorptiva. No antigo Egito, 1600 A.C., o carvão ativado era utilizado na purificação de óleos e para aplicações medicinais. O primeiro registro do uso de carvão ativado para fins de tratamento de água é datado de 1910, com a instalação de um filtro de carvão ativado (a base de lignita) para remoção de subprodutos do cloro na água do município de Reading na Inglaterra. Nas últimas décadas, a presença de compostos orgânicos na água que conferem risco a saúde humana, tais como pesticidas, toxinas, trihalometanos e outros subprodutos da desinfecção; despertou o interesse em técnicas de adsorção, e o carvão ativado tornou-se o adsorvente mais utilizado na busca em atender aos padrões estabelecidos para concentração mínima desses contaminantes na água de consumo humano (MASSCHELEIN, 1992).

A fabricação do carvão ativado envolve dois processos principais: a carbonização da matéria-prima, que consiste no tratamento térmico do material em atmosfera inerte a elevada temperatura, e a ativação desse produto em atmosfera redutora (SWIATKOWSKI, 1998); criando uma estrutura constituída internamente, por uma malha interligada de poros de vários tamanhos (Figura 4). Conforme as normas da *International Union of Pure and Applied*

Chemistry (IUPAC), o carvão ativado é classificado de acordo com seu diâmetro médio (Tabela 3), o que confere à sua partícula uma elevada área superficial, que pode variar de 500 a 1200 m²/g. O carvão ativado pode exibir-se sob a forma granular (CAG) ou pulverizado (CAP), sendo o CAG normalmente mais utilizado no tratamento de água como meio filtrante (GRADY, 2000), por apresentar, em geral, maior eficiência em relação ao CAP, além das facilidades de manuseio, e possibilidade de regeneração. (PÁDUA, 2006).

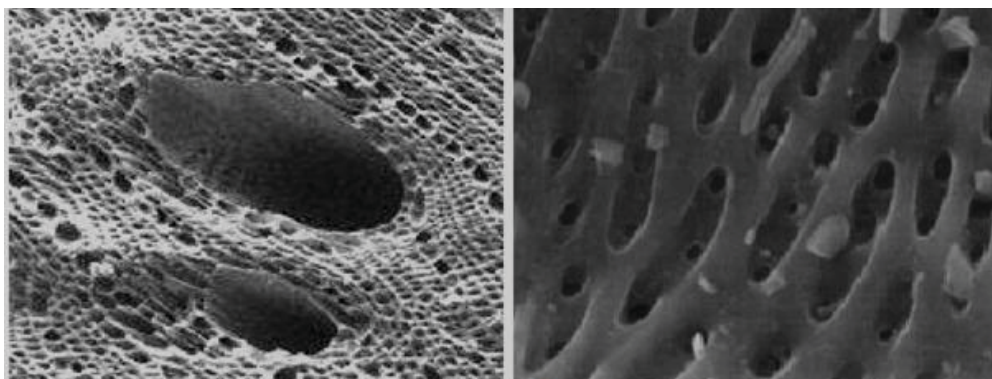


Figura 4. Microfotografia tirada da superfície de grânulos de carvão
Fonte: Bangash e Alam, (2009)

Tabela 3. Classificação dos poros conforme o diâmetro

Classificação	Diâmetro do poro
Microporos primários	< 1,2 nm
Microporos secundários	1,2 a < 2 nm
Mesoporos	2 a 50 nm
Macroporos	> 50 nm

Fonte: Programa de Pesquisa em Saneamento Básico - PROSAB. (PÁDUA, 2006)

3.3.1 Capacidade adsortiva do carvão ativado

Na filtração utilizando o carvão ativado granular como leito filtrante, durante o transporte da água por entre os grânulos e, por conseguinte, pelos poros do carvão, ocorre a conjunção de mecanismos de transporte e de aderência. Os primeiros constituem-se fenômenos físicos e hidráulicos afetados pelos parâmetros que governam a transferência de massa. Entretanto, a relevância da eficiência do carvão ativado está nos mecanismos de aderência, onde ocorrem os fenômenos químicos de adsorção. A adsorção consiste no processo de transferência de um ou mais constituintes (adsorbatos) de uma fase aquosa ou gasosa para a superfície de uma fase sólida (adsorvente). Conforme esse processo, as moléculas (adsorbato) presentes na água são atraídas para a zona interfacial sólido-líquido devido à existência de mecanismos intermoleculares de atração entre o adsorbato e o adsorvente. Esses mecanismos reúnem pontes químicas, interações eletrostáticas e forças de *Van der Waals*.

Os mecanismos de transporte da água pela elevada e irregular porosidade do carvão durante a filtração, propicia a aproximação do adsorbato à superfície do adsorvente, por conseguinte, aumenta a magnitude das forças intermoleculares de *Van der Waals*, que podem acontecer entre moléculas de mesma carga, neutras ou de cargas opostas, porém seu campo de ação é limitado a distâncias muito curtas. A alteração do pH da água é irrelevante às interações de *Van der Waals*, mas alteram significativamente as forças eletrostáticas. Basicamente, durante a filtração para as partículas com carga neutra, a adsorção efetua-se devido às forças atrativas de *Van der Waals*; para as que apresentarem cargas positivas, a adsorção ocorrerá devido à conjunção das forças eletrostáticas e de *Van der Waals*, com as partículas de carga negativa fomentam a prevalência das forças de repulsão, todavia, a magnitude das forças hidrodinâmicas proporciona uma aproximação que permita a ação das forças de *Van der Waals* (LIBÂNIO, 2005).

A capacidade máxima de adsorção é proporcional à área superficial dos poros acessíveis ao adsorbato. Um volume relativamente grande de microporos geralmente corresponde a uma grande área superficial e uma grande capacidade de adsorção de moléculas pequenas, enquanto que um grande volume de macroporos está diretamente relacionado com a capacidade de adsorção de grandes moléculas. Um volume de poros em uma faixa intermediária (mesoporos) é considerado importante para o transporte rápido de adsorbatos para os poros pequenos. A química da superfície do carvão ativado e as propriedades do

adsorvato também podem afetar a adsorção. A capacidade de adsorção de uma molécula é função da sua afinidade com a água comparada à afinidade pelo adsorvente. Segundo Snoeyink (1990), a adsorção em CAG, geralmente aumenta com o decréscimo da solubilidade do adsorvato (PÁDUA, 2006).

Conforme Masschelein (1992) apud PÁDUA (2006), o pH pode ter efeito significativo nas características da adsorção. Para muitos compostos poluentes na água, a capacidade adsortiva aumenta com o decréscimo do valor do pH (WEBER Jr., 1972; RANDTKE; SNOEYINK, 1983). No caso de bases e ácidos orgânicos fracos, a afinidade pelo carvão ativado é função principalmente do pH. Quando o pH está em uma faixa na qual as moléculas estão sob a forma neutra, a capacidade de adsorção é relativamente alta. Entretanto, quando o pH está em uma faixa na qual as espécies estão ionizadas, a afinidade pela água é muito maior e a capacidade de adsorção do carvão ativado é muito baixa (SNOEYINK, 1990). A temperatura é outro fator que afeta a taxa de adsorção. Normalmente, as reações de adsorção são exotérmicas, portanto a adsorção aumenta com o decréscimo da temperatura (WEBER JR., 1972), entretanto, para curtos períodos de tempo, uma temperatura maior favorece a adsorção dos compostos (MASSCHELEIN, 1992).

A adsorção é uma reação reversível, como observado na equação 1, as moléculas do adsorvato acumulando-se na superfície do carvão até que a taxa de reação direta (\rightarrow adsorção), seja igual à taxa de reação reversa (\leftarrow dessorção). No momento em que se estabelecem essas condições, o equilíbrio é alcançado e não ocorrerá acumulação futura, nesse ponto, o carvão deve ser reativado ou substituído por um novo (BRADY, 1997). A literatura tem demonstrado que a vida útil do CAG em ETA, dependendo das características da água bruta e do adsorvato, está em torno de 6 a 12 meses (DUSSERT ;VAN STONE, 1994 apud SIMPSON, 2008), principalmente quando estes se destinam a adsorção e redução da concentração de compostos orgânicos sintéticos, substâncias húmicas e os trihalometanos - THM. (HO, 2004; WANG et al., 2007).



No tratamento de água, usualmente os filtros CAG são empregados como colunas de leito fixo complementares ao tratamento convencional, promovendo uma etapa de pós-adsorção que objetiva apenas remover os compostos orgânicos dissolvidos na água (figura 5), porém a maioria dos compostos deletérios à qualidade da água está em solução com outros compostos que também tem afinidade pelo adsorvente; como a matéria orgânica naturalmente - MON

(COOK et al., 2001; HERZING et al., 1977), gerando competição pelos sítios de adsorção. Além disso, a MON pode formar compostos complexos com as outras substâncias potencializando a contaminação (PIRBAZARI et al., 1992a, 1992b; CARTER et al., 1992, SUMMERS et al., 1989).

A competição pelos sítios de ligação pode mudar o equilíbrio das reações de adsorção (MASSCHELEIN, 1992). A alteração do equilíbrio ocorre, ainda, pela mudança na concentração dos compostos concorrentes ou por diminuição na concentração do adsorvato no afluente, levando a dessorção ou transpasse do adsorvato para o efluente. A quantidade de adsorvato que pode dessorver/tranpassar em resposta a diminuição na concentração no afluente se eleva com o aumento da quantidade de compostos adsorvidos, e com a diminuição das forças de adsorção, tais eventos decorrem ao longo do tempo de operação dos filtros, e são minimizados pela promoção de lavagens periódicas do meio filtrante, até que se faz necessário a regeneração do carvão ativado.

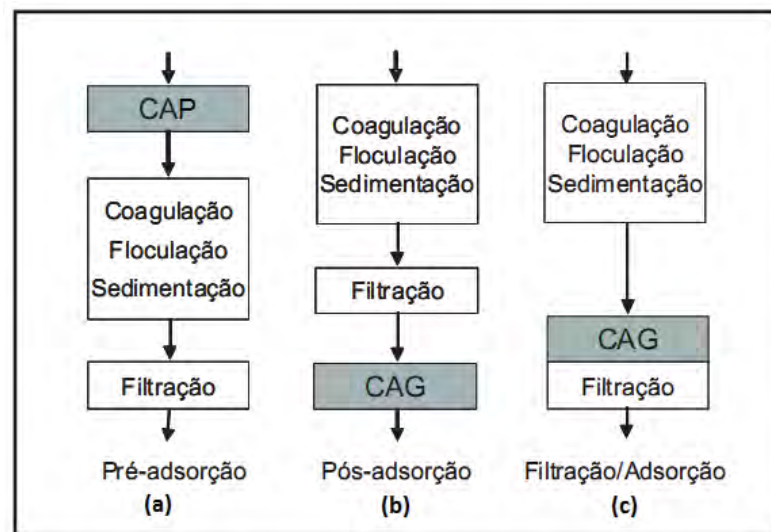


Figura 5. Opções de locação do CA no tratamento de água. Fonte: Pádua, (2006).

Portanto, a filtração com carvão ativado demonstra-se eficiente para a remoção de micropoluentes, porém os riscos de transpasse e a frequência da saturação do meio filtrante demandam o monitoramento periódico do efluente, e constante renovação do leito dos filtros e recuperação do carvão saturado, que oneram e causam oscilações no sucesso do tratamento (DEMPSEY et al., 2005; MERILUOTO et al., 2005). Conseqüentemente há um grande interesse no desenvolvimento dessa tecnologia para remoção mais eficaz de micropoluentes que interfiram na qualidade da água. Nessa perspectiva, estudos com filtros CAG, operando em baixas taxas de filtração, relatam que a filtração biológica efetuada pelos microrganismos

que se desenvolvem no interior do meio filtrante eleva a eficiência dessas unidades filtrantes. Desta forma, a filtração biológica, adjunto a capacidade adsortiva do carvão ativado representa um método promissor na remoção dos compostos indesejáveis da água, em concordância as atuais pesquisas em biotecnologia as quais relatam que a ação biológica, assim como acontece na natureza, é o principal método de degradação desses poluentes.

3.4 *Uso de filtros biológicos no tratamento de água*

Apesar, do mencionado sucesso as experiências com o CAG em sistemas variados de tratamento de água, a habilidade para purificação de água atendendo os padrões regulatórios aceitáveis ao consumo humano pode ser comprometida por algumas limitações. Estas limitações dizem respeito à capacidade de adsorção do CAG a longo do tempo, saturação do CAG com matéria orgânica, o que pode dificultar seu desempenho confiável na aplicação durante o tratamento de água (SIMPSON, 2008).

A principal limitação relacionada a redução da capacidade de adsorção do CAG de compostos de reduzida biodegradabilidade (como PCBs, tolueno, benzeno) mediante a presença da MON (GHOSH et al., 1999). Um exemplo neste sentido é o decréscimo de 50% para menos de 10% de remoção de compostos orgânicos não biodegradáveis da água por filtração em CAG diante presença de MON (SERVAIS et al., 1994). Acredita-se que esta redução de adsorção do CAG decorra de dois fenômenos distintos: (1) uma associada competitividade de adsorção entre estes compostos mencionados e a MON pelos sítios de adsorção do CAG; (2) formação de complexos entre os compostos contaminantes e a MON que alteram propriedades físicas, químicas e de transporte dos contaminantes (PIRBAZARI et al., 1992a, 1992b, CARTER et al., 1992).

A segunda principal limitação no meio filtrante do CAG refere-se a sua saturação pela matéria orgânica. Esta saturação decorre do efeito promovido sobre os sítios de adsorção do CAG que são preenchidos igualmente pela matéria orgânica ou microrganismos. Em razão de o CAG tornar-se totalmente saturado com matéria orgânica, este é considerado exausto (SCHOLZ; MARTIN, 1997). Neste ponto, a matéria orgânica pode passar através do filtro CAG, ocasionando problemas à qualidade da água nas etapas posteriores do tratamento. Quando a MON e outros nutrientes (amônia e fósforos) não são suficientes removidos durante

o tratamento de água, bactérias podem proliferar nos sistemas de distribuição. O crescimento de bactérias no interior dos sistemas de distribuição de água pode ocasionar a deterioração da qualidade desta água (gosto e odor), acelerando a corrosão e promovendo risco de disseminação de doenças e patógenos para os consumidores finais (OKABE et al., 2002). Como exemplo, o CAG tem um limite de vida útil de aproximadamente 6 a 12 meses (dependendo das taxas de nutrientes carreados) (DUSSERT; VAN STONE, 1994). Desde que a lavagem contracorrente (“backwashing”) não remova a matéria orgânica adsorvida das partículas granulares do carvão, o meio exausto de carvão deve ser substituído ou seguidamente regenerados termicamente para restaurar sua eficiente capacidade filtrante (GHOSH et al., 1999).

3.5 Filtros biológicos de carvão

Dentre os métodos biotecnológicos avançados utilizados no tratamento de água, o processo de filtração (biofiltração) utilizando o carvão ativado biologicamente representa uma proposta emergente que supera as diversas limitações associadas com os processos de tratamento convencional de água. O processo de biofiltração estabelece o uso do CAG como meio filtrante da água para remoção de microrganismos e material orgânico e inorgânico indesejável. Durante o funcionamento dos filtros de carvão ativado biologicamente (CAB), observa-se que a superfície porosa do leito de carvão granular favorece um meio acessível para fixação e colonização microbológica, propiciando o crescimento em seu interior de uma significativa biomassa ou biofilme (SCHOLZ; MARTIN, 1997). A principal vantagem da filtração em CAB no tratamento de água é a habilidade para remover compostos que integram a maior fração da matéria orgânica indesejável (SERVAIS et al., 1992). Um benefício adicional da biofiltração em CAB é a significativa redução da potencial formação de trihalometanos (THMs) e demanda de cloro no tratamento de água (GRAHAM, 1999). A atividade biológica sobre o filtro CAG pode ser utilizada com outros processos (e.g., pré-ozonização e membrana pós-filtração) para formar uma elevada e efetiva multi-barreira para tratamento de água. Após o processo de biofiltração, uma desinfecção final eficiente é

extremamente necessária para assegurar uma proteção microbiológica no sistema de distribuição (PERNITSKY et al., 1995).

3.6 Funcionamento de um filtro CAB

Um filtro de carvão ativado biologicamente (CAB) funciona como um biorreator, onde dois processos distintos ocorrem simultaneamente, a adsorção e a biodegradação. Durante o processo de biodegradação, os diferentes compostos orgânicos são constantemente metabolizados por microrganismos formadores do biofilme (SERVAIS et al., 1994; SEREDYNSKA-SOBECKA et al. 2006). O processo de biodegradação liberta os sítios adsorptivos do carvão, aumentando a capacidade de adsorção do carvão ativado e como consequência, a remoção de compostos não biodegradáveis da água é realçada. Este processo de metabolização das substâncias químicas adsorvidas promove a biorregeneração do carvão ativado. Com a biorregeneração, o tempo de uso do filtro CAB pode ser estendido, reduzindo a freqüente necessidade de regeneração do carvão ativado no leito filtrante (SPEITEL; DIGIANO, 1987; SEREDYNSKA-SOBECKA et al., 2006; AKTAS; ÇEÇEN, 2007).

A combinação dos processos de adsorção e biodegradação em conjuntos nos filtros CAB minimiza as flutuações da qualidade da água tratada (SIMPSON, 2008). Em condições de elevadas concentrações de poluentes, os processos de adsorção apresentam domínio em relação à biodegradação, mas quando esta concentração de poluentes reduz, a biodegradação assume este papel (SPEITEL; DIGIANO, 1987). Alguns autores sugerem que a absorção da matéria orgânica pelos microrganismos aderidos ao carvão ativado é um mecanismo adicional de remoção da MON. Durante este processo a remoção de compostos orgânicos dissolvidos e coloidais, metais e compostos inorgânicos em uma solução aquosa ocorrem por absorção das moléculas para o interior ou superfície do biofilme (CARLSON; SILVERSTEIN, 1997).

3.7 Composição do biofilme no CAB

O biofilme presente no filtro de CAB consiste em células microbianas imobilizadas na superfície do CAG (substrato) ou incrustados na matriz de polímeros orgânica extracelular microbiana (GHOSH et al., 1999), conforme observa-se na figura 6. A composição típica dos biofilmes esta constituída por água, microrganismos, substâncias poliméricas extracelulares (EPS), partículas retidas e substâncias dissolvidas e adsorvidas. A água é a fração mais

significativa da massa do biofilme, podendo variar entre 70 a 95% de sua massa total (FLEMMING, 1993). Alguns autores referem que a razão massa de água/massa de biofilme pode estar próxima de 99% ou mesmo atingir valores superiores (CHRISTENSEN; CHARACKLIS, 1990; AZEREDO; OLIVEIRA, 2000).

Os biofilmes possuem uma enorme diversidade de espécies microbianas, estando frequentemente representados por microrganismos, como microalgas, fungos, protozoários, bactérias e vírus (CHARACKLIS et al., 1990). Destes grupos encontrados, as bactérias se destacam como os microrganismos predominantes, em razão de sua ampla versatilidade e resistência. Uma série de características intrínsecas das bactérias, como tamanhos reduzidos, elevadas taxas de reprodução, grande capacidade de adaptação e de produção de substâncias e estruturas extracelulares que as protegem do meio circundante, as elegem dentre todos os microrganismos, como excelentes produtoras de biofilme (CHARACKLIS et al., 1990).

A composição química das substâncias poliméricas extracelulares que constituem a matriz é muito complexa e heterogênea, sendo em sua maioria composta por polissacáridos (até 65%), proteínas, ácidos nucléicos e lipídios (HORAN; ECCLES, 1986; WIMPENNY et al., 1993). Contudo, a matriz polimérica pode também ser constituída por proteínas, ácidos nucléicos, lipídios, substâncias húmicas e heteropolímeros, como glicoproteínas (NIELSEN et al., 1996). A matriz polimérica é responsável pela morfologia, estrutura, coesão, integridade funcional dos biofilmes. A composição desta matriz e um fator determinante para a maioria das propriedades físico-químicas e biológicas dos biofilmes (FLEMMING; WINGENDER, 1999).

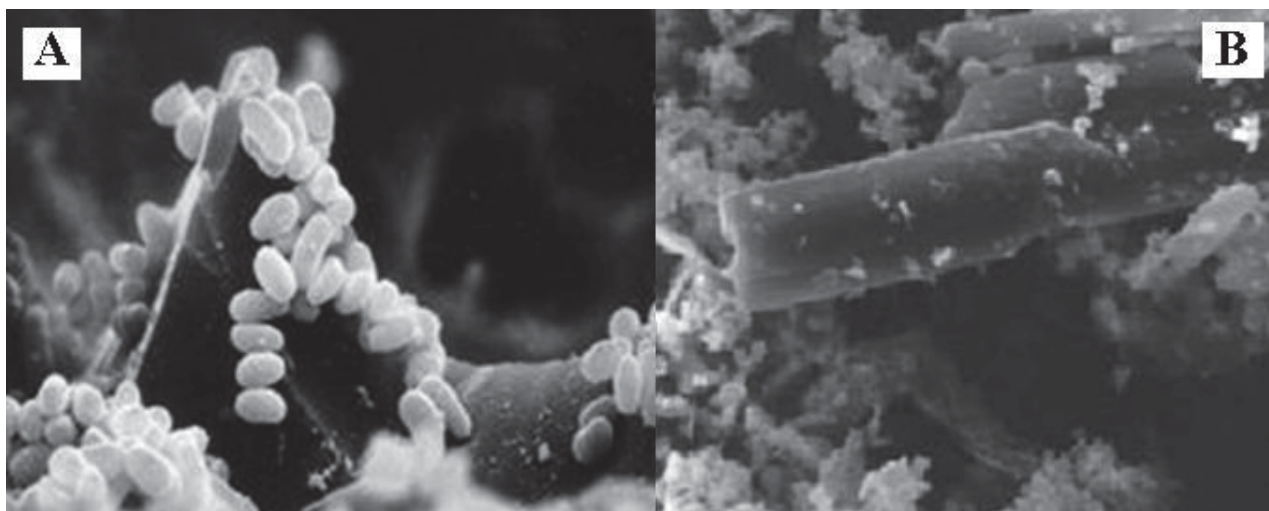


Figura 6. Microfotografia de biofilme formado em partículas de carvão ativado em laboratório, com matriz de exopolissacarídeo densa e estruturada evidenciando uma complexa comunidade de bacilos e cocobacilos (a) e cocos e bacilos (b). Fonte: Adaptada de Silva et al. (2006).

3.8 *Formação de biofilmes*

Para a formação do biofilme são necessárias algumas condições específicas do meio líquido e da superfície de contacto do substrato o qual irá se aderir, de modo a promover seu crescimento. Estas condições podem ser representadas em 7 etapas distintas, os quais destacam-se:

1. Adsorção de substâncias orgânicas dissolvidas a uma superfície sólida em contato com um meio aquoso, formando-se um “filme condicionador”;
2. Transporte de microrganismos e outras partículas do meio aquoso para a superfície sólida condicionada;
3. Adesão firme dos microrganismos à superfície;
4. Transporte de nutrientes da fase líquida para a interface líquido-biofilme, bem como no interior do filme microbiano;
5. Produção de biofilme devido ao consumo dos nutrientes, conseqüente crescimento e reprodução dos microrganismos aderidos e síntese de polímeros extracelulares;
6. Transporte de subprodutos do biofilme para o exterior;
7. Desprendimento de porções de biofilme devido a fenômenos de erosão superficial ou descolamento súbito (“sloughing off”).

Para cada um dos processos envolvido na formação do biofilme existem condições que possibilitam seu aumento (processos de deposição ou ganho) ou para a diminuição (processos de remoção, desprendimento ou perda) da quantidade de biomassa acumulada numa determinada superfície sólida. O desenvolvimento de biofilme esta intimamente dependente, em cada instante do balanço entre os ganhos e as perdas de biomassa (GJALTEMA, 1996). Esta seqüência descrita de etapas está ilustrada na figura 7a.

Entre os processos que mais contribuem para o aumento da quantidade de biofilme temos a adesão de células microbianas à superfície sólida, o seu crescimento e reprodução e a adesão de células suspensas ao biofilme (BRYERS, 1983). O desprendimento de biofilme, a respiração endógena, a morte celular, a lise celular e o ataque por predadores são os principais fenômenos responsáveis pela diminuição da quantidade de biofilme. De acordo com Bott (1993), a acumulação de biofilme é um processo natural, que ocorre segundo um padrão sigmoidal (Figura 7b), como resultado de um balanço entre vários processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem em simultâneo.

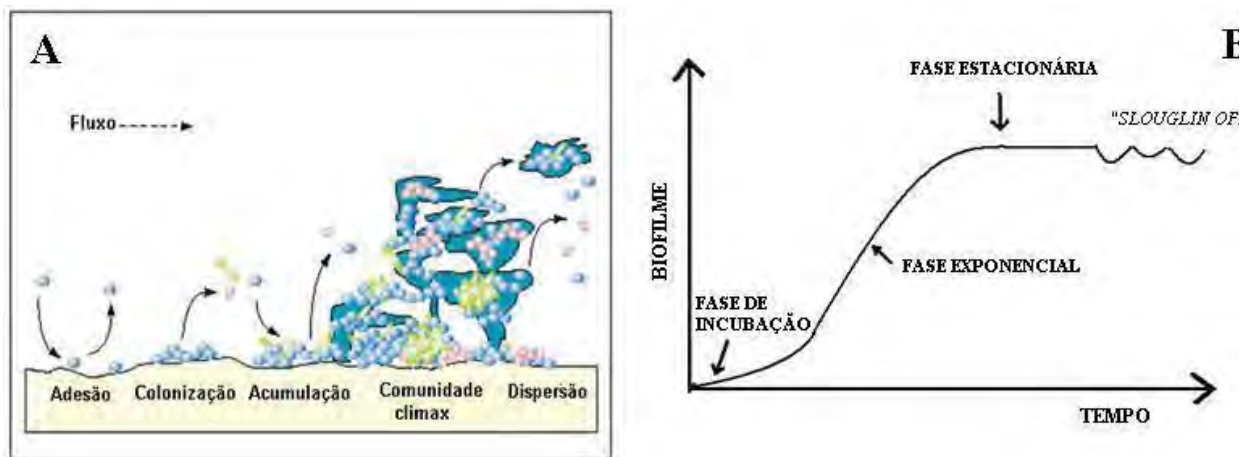


Figura 7. Principais processos envolvidos na formação de um biofilme (A) e acumulação de biofilme ao longo do tempo (B). Fonte: Adaptada de Pereira (2001).

3.9 Atividade do biofilme no CAB

Com a atividade microbiana do biofilme sobre o CAG é notadamente observado um aumento expressivo da capacidade adsortiva no meio. Diversos parâmetros têm sido aceitos para contribuir no aumento da atividade do biofilme. Uma hipótese é que sobre o biofilme aderido na superfície do CAG, células de bactérias sofram modificações fisiológicas promovidos por determinados genes (DAGOSTINO et al., 1991). Uma segunda teoria estabelece que as mudanças no biofilme são promovidas por células de bactérias adjacentes que aumentam a concentração de nutrientes, oxigênio e enzimas (GHOSH et al., 1999) ou limitem a invasão de substâncias tóxicas ou de substâncias inibidoras (BLENKINSOPP; COSTERTON, 1991).

Para avaliar a atividade do biofilme do CAB existem alguns métodos comuns de estimativa, os quais consistem no uso de testes bioquímicos para medição de uma quantidade específica de enzimas ou produtos do metabolismo bacteriano (LAZOROVA; MANEM, 1995). A quantidade de adenosina trifosfato (ATP) é uma forma de medição da atividade do biofilme que também fornece um indicativo, especialmente, sobre a atividade bacteriana (e.g., taxa de crescimento da biomassa, taxa de remoção de substrato e estado fisiológico das bactérias) (NOUVION et al., 1987). Especificadamente, o ATP apresenta uma expressiva correlação com o número de células viáveis do biofilme e taxa de consumo do oxigênio (ATLAS, 1982; JORGENSEN et al., 1992). Deste modo, alterações no oxigênio dissolvido

(OD) do material filtrante podem refletir mudanças sobre a atividade do biofilme (ANDREOTTOLA et al., 2002; SCHOLZ; MARTIN, 1997).

Relativas mudanças sobre a quantidade de bactérias e protozoários no leito do CAB são expressivos indicadores da atividade microbiana do biofilme (SCHOLZ MARTIN, 1997; SIBELLE et al., 1998). A presença de um número elevado de protozoários ciliados e rotíferos livres na porção aquosa destes filtros esta diretamente correlacionada a elevadas concentrações de bactérias no biofilme que, subsequentemente, é uma referência para uma melhor remoção do carbono orgânico dissolvido por estas bactérias aderidas na superfície do CAG ou incrustados na matriz extracelular (SCHOLZ MARTIN, 1997; MADONI et al., 2001). Razões entre as bactérias e protozoários podem produzir crescimento otimizado do biofilme sobre o CAB, o que promove alterações do pH, OD e níveis de nutrientes no leito do filtro CAB (SCHOLZ MARTIN, 1997; SEREDYNSKA-SOBECKA et al., 2006).

3.10 Remoção de substâncias na água pelo biofilme do CAB

As características do carvão ativado utilizados na filtração em CAB estabelecem o suprimento de nutrientes neste ambiente que podem sustentar uma ampla variedade de microrganismos naturalmente ocorrentes. O CAG é amplamente utilizado com leito fixo, visto sua elevada porosidade (Figura 8a). Tendo em vista, que pequenas cargas eletro-positivas do CAG oferecem uma elevada área de superfície o qual permitem adsorver (atrair) contaminantes na água com cargas eletro-negativas, como a MON solúvel (Figura 8b) (SCHOLZ; MARTIN, 1997). Deve-se ressaltar que neste ambiente os microrganismos são hábeis na colonização sobre a superfície do CAG, promovendo a biosorção, além de proliferar em seu interior um biofilme que se sustenta do rico suprimento adsorvente, capaz de aderir à matéria orgânica, nutrientes e outros microrganismos presente na água (SIMPSON, 2008).

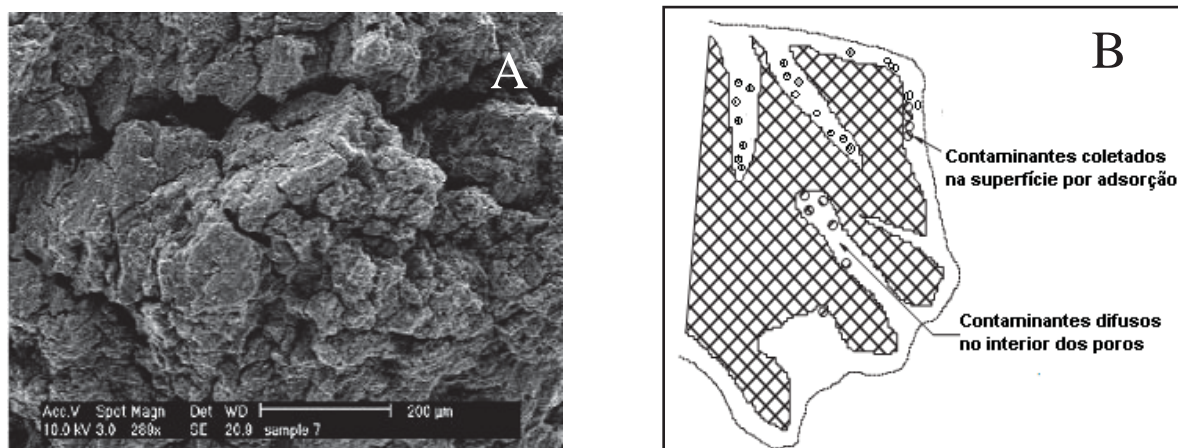


Figura 8. Superfície do carvão ativado granular (A) com destaque aos contaminantes adsorvidos e difusos no interior dos poros (B). Fonte: Adaptado de Wang et al. (2007). e Simpson et al. (2008), respectivamente

O modo em que os filtros CAB e o biofilme associado removem ou elimina o carbono orgânico dissolvido (COD) na água ocorre através de processos em três estágios (Períodos A, B e C). Uma teórica representação do estágio de remoção do COD é demonstrada na figura 9 (DUSSERT; VAN STONE, 1994). Os períodos A, B e C são caracterizados por processos de adsorção física, simultaneamente adsorção/degradação biológica e degradação biológica, respectivamente.

Inicialmente, a maior remoção do COD ocorre através de adsorção física deste para o meio CAG onde as bactérias associadas ao biofilme estão em fase de aclimação (Período A), que levam aproximadamente de 2 a 3 meses (SERVAIS et al., 1994). A remoção eficiente do COD ocorre nesta fase, com valores variando entre 40 e 90% (RHIM, 2006). Uma vez que as bactérias estão aclimatadas, a remoção do COD por adsorção decresce gradualmente visto que os sítios de adsorção do CAG tornam-se saturado com o COD, como se observa no Período B. O grau de degradação biológica do COD aumenta significativamente durante período. Deste modo, o Período B exhibe simultaneamente processo de adsorção e degradação biológica do COD. No Período C, a razão de remoção do COD na água estabelece um relativo estado estacionário. Nesta fase, a degradação biológica é o processo predominante responsável para remoção do COD uma vez que a maior parte da capacidade adsortiva do CAG esta exaurida (DUSSERT; VAN STONE, 1994; WOO et al., 1997). Durante este estágio, a processo de filtração da água, a eficiência de remoção do COD atinge um êxito entre 15 a 45% (SERVAIS et al., 1994; SCHOLZ; MARTIN, 1997), enquanto a remoção de THMs e HAA tem sido reportada com eficiência variando entre 20 e 70 % (DUSSERT; VAN STONE, 1994; XIE; ZHOU, 2002). Os microrganismos que colonizam a superfície externa e

interior das partículas de macroporos do CAG podem ser removidos (desprendimento) com a água efluente ao invés de construir uma biomassa fixa no carvão ativado. Este desprendimento decorre por maioria dos microrganismos presentes no CAG durante este período podem não estarem adaptados a permanecer aderidos (SERVAIS et al., 1994).

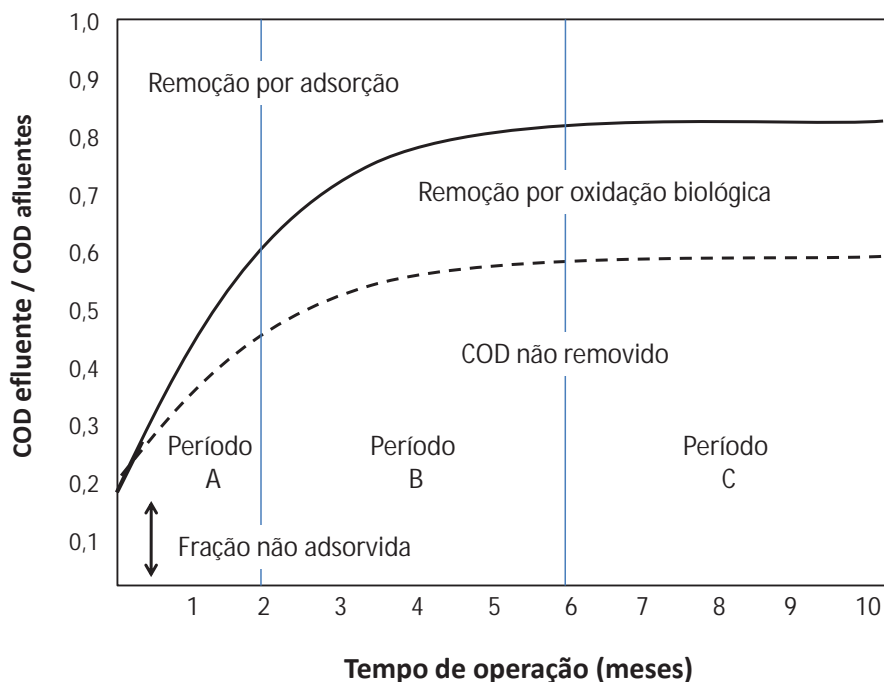


Figura 9. Representação teórica do carbono orgânico dissolvido (COD) removido por adsorção e degradação biológica ao longo do tempo. (Nota: Linha tracejada e sólida no gráfico representa a quantidade de COD removido afluente por processo de adsorção e degradação biológica, respectivamente). Fonte: Adaptado de Simpson (2008).

Em adição a degradação biológica e adsorção, há ainda um mecanismo no CAB que contribui para remoção de contaminantes presentes na água. O biofilme microbiano no CAB apresenta a capacidade de desorver (desprender) substâncias tóxicas que estão adsorvidas no carvão ou presas na matriz formada com o material particulado (GHOSH et al., 1999). Deste modo, o biofilme no CAB pode regenerar parcialmente as partículas adsorvidas no CAG e lentamente metabolizar estas, biodegradando-as (JAHANGIR, 1994).

A biodegradação de todo material adsorvido serve para manter a regeneração biológica e prolongamento de uso do leito filtrante do CAG (aproximadamente 2-5 anos) e limitar a necessidade de regeneração térmica (SCHOLZ; MARTIN, 1997; GHOSH et al., 1999). Especificadamente, o biofilme pode biodegradar substâncias carregada na água como a matéria orgânica dissolvida (o qual removeram uma significativa fração do carbono orgânico dissolvido (COD), carbono orgânico assimilável (COA), compostos químicos orgânicos (e.g.,

atrazina, simazina, PCB), inorgânicos (e.g., amônia), subprodutos pré-cursos da desinfecção (e.g., THM, HAA) (SCHOLZ; MARTIN, 1997; GHOSH et al., 1999; OKABE et al., 2002).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi realizado no Laboratório de Saneamento do Departamento de Engenharia Civil da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS) da UNESP de Ilha Solteira, SP, em parceria com o Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio-Economia (DEFTASE) da FEIS – UNESP e o Laboratório de Bioquímica de Plantas e Microorganismos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da UNESP de Jaboticabal.

O estudo foi dividido em três etapas distintas: 1) um primeiro momento foi avaliado a ação de biodegradação de fármacos por microorganismos em condições controladas de laboratório; 2) uma segunda fase foi realizada um experimento de remoção dos compostos farmacológicos em filtros de carvão ativados biologicamente em condições de bancada; 3) e finalmente uma etapa de identificação filogenética dos microorganismos associadas aos filtros biológicos de carvão.

4.1 *Características da água utilizada no experimento*

Para o experimento, foi utilizada água natural coletada no reservatório localizado no Bairro Ipê (ponto A – figura 10), no município de Ilha Solteira – SP. A área de captação da microbacia da Lagoa do Ipê apresenta aproximadamente 286 ha, de uso urbano-rural, com grande presença de pastagem e cultivos agrícolas anuais e perenes. Segundo Basso & Carvalho (2007), o Índice de Qualidade de Água – IQA, da Lagoa do Ipê apresenta média igual a 58, que conforme Escala de IQA (CETESB, 2004), indica qualidade boa da água. Estudos de caracterização para abastecimento público, realizados por Tavares (2008) mostraram que a água da Lagoa do Ipê se enquadra aos limites estabelecidos por Di Bernardo; Brandão e Heller (1999) para filtração lenta desde que seja submetida a um pré-tratamento.

Na tabela 4 são apresentados os limites de qualidade da água bruta propostos por Di Bernardo, Brandão e Heller (1999) para aplicabilidade de alguns arranjos de tratamento baseados na filtração lenta e os resultados encontrados por Tavares (2008) na caracterização da água da Lagoa do Ipê.



Figura 10. Localização da Lagoa do Ipê (A), Município de Ilha Solteira, SP. Fonte: Google Earth (escala - 1:50.000)

Tabela 4. Qualidade da água para tratamento por meio da filtração lenta e as características da água da Lagoa do Ipê.

Parâmetros	Tratamento por meio de filtração lenta Di Bernardo; Brandão e Heller (1999)			Lagoa do Ipê Tavares (2008)
	A	B	C	
Turbidez (uT)	100% <25 95% <10	100% <50 95% <25	100% <200 95% <100	< 10
Cor Verdadeira (uH)	100% <10 95% <5	100% <25 95% <10	100% <25 95% <10	<15
Sólidos Suspensos Totais (mg/L)	100% <25 95% <10	100% <50 95% <25	100% <200 95% <100	<15
Coliformes Totais (NPM/100 mL)	100% <1000 95% <500	100% <10000 95% <5000	100% <20000 95% <10000	< 30
Coliformes Fecais (NPM/100 mL)	100% <500 95% <250	100% <5000 95% <1000	100% <10000 95% <5000	<10
Concentração de Algas (UPA/mL)	100% <500 95% <250	100% <1500 95% <1000	100% <5000 95% <500	< 1000

A: Filtração Lenta; B: Pré-filtração dinâmica + filtração lenta; C: Pré-filtração dinâmica + pré-filtração em pedregulho + filtração lenta

4.2 Ensaio de Biodegradação dos fármacos

4.2.1 Preparação da água do estudo com fármacos

Para o experimento, a água coletada no reservatório Ipê foi filtrada em filtro de celulose (1,0 µm), esterilizada (120 °C – 15 min), recebendo posteriormente a adição do grupo de antiinflamatórios compostos por ibuprofeno (20 µg/L), naproxeno (20 µg/L) e diclofenaco de sódio (20 µg/L) cujas características estão apresentadas na Tabela 5. Os fármacos utilizados nos ensaios foram obtidos junto a Sigma–Aldrich, os quais demonstraram ter 97-98% de grau de pureza. As concentrações utilizadas reproduzem valores que podem ser encontrados em águas superficiais segundo alguns autores (GHISELLE, 2006; DOUGHTON *et al.*, 2001; ZWIENER; FRIMMEL, 2000).

4.2.2 Delineamento do ensaio de biodegradação de fármacos

Neste ensaio, a água de estudo foi acondicionada em galão de vidro (4L), âmbar, esterilizado (Figura 11). Ao galão foram inoculados 10% (v/v) de uma solução aquosa, filtrada (1.0 µm) contendo o biofilme presente em um filtro biológico de carvão da Instalação Piloto de Filtração em Múltiplas Etapas do Departamento de Engenharia Civil (DEC) da FEIS-UNESP. Para o controle foi usado um galão sob as mesmas condições descritas anteriormente, sem o acréscimo do inoculo com microorganismos, e ainda recebendo ázida de sódio (4 mg/L) à água de estudo, a fim de inibir qualquer atividade metabólica de microorganismos. O ensaio foi realizado durante 180 dias, no escuro, mantido em agitação orbital (100 rpm) e temperatura aproximada de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Foram recolhidas amostras (100 mL) semanalmente, para leituras do pH (Digimed DM 20) e a quantificação das concentrações dos fármacos (HPLC - Prominence, Shimadzu).



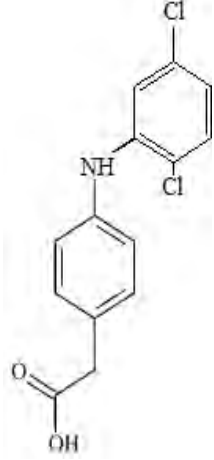
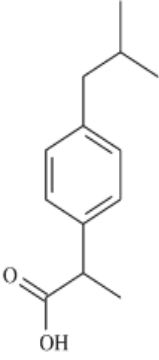
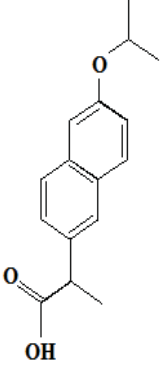
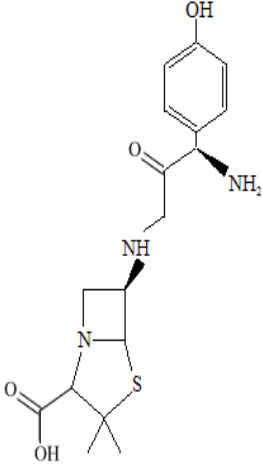
Figura 11. Tratamentos contendo os fármacos, com destaque para (a) galão inoculado com microorganismos e (b) sem inoculo.

4.3 Ensaio de Filtração Biológica dos Fármacos

4.3.1 Preparação da água do estudo com fármacos

Para esse ensaio, água de estudo foi filtrada em filtro de celulose (1,0 μm), esterilizada (120 $^{\circ}\text{C}$ – 15 min), recebendo posteriormente a adição dos compostos farmacológicos: um grupo de antiinflamatórios, constituído pelo diclofenaco (1,0 $\mu\text{g/L}$), ibuprofeno (1,0 $\mu\text{g/L}$), naproxeno (1,0 $\mu\text{g/L}$), e um antibiótico, este representado pela amoxicilina (1,0 $\mu\text{g/L}$), cujas características estão apresentadas na Tabela 5. As concentrações utilizadas reproduzem valores que podem ser encontrados em águas superficiais segundo alguns autores (GHISELLE, 2006; DOUGHTON et al., 2001; ZWIENER; FRIMMEL, 2000). Para prevenir a colonização dos filtros CAG por microorganismos, foi adicionada à água de estudo uma solução de azida de sódio (4 mg/L) durante todo o experimento.

Tabela 5. Características dos compostos farmacológicos em estudo.

Composto	Diclofenaco	Ibuprofeno	Naproxeno	Amoxicilina
Formula	$C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$	$C_{13}H_{18}O_2$	$C_{14}H_{14}O_3$	$C_{16}H_{19}N_3O_5S$
Peso Mol.	296.14 g.mol ⁻¹	206,3 g.mol ⁻¹	230.24 g.mol ⁻¹	365.38 g.mol ⁻¹
Estrutura Química				
Uso terapêutico	Antiinflamatório	Antiinflamatório	Antiinflamatório	Antibiótico

4.3.2 Seleção do Carvão Ativado Granular

O carvão ativado granular utilizado nos filtros foi escolhido com base em ensaios prévios realizados em projetos de pesquisa do Laboratório de Saneamento da FEIS - UNESP. O carvão selecionado foi de casca de coco, com grânulos de 0,35 a 0,50 mm. Este carvão, após ensaios sobre o potencial de adsorção realizados em estudos anteriores no Laboratório de Saneamento, apresentou isoterma do tipo II, segundo a classificação BET (Brunauer-Emmer-Teller) descrita por Brunauer et al. (1938) apresentada na Figura 12. A isoterma do tipo II, segundo proposto por Gilles et al. (1960) se assemelha a isoterma H4, onde o adsorvente possui uma alta afinidade pelo soluto adsorvido e onde a adsorção aumenta com o aumento da concentração do soluto na fase líquida até atingir um platô, em que o soluto não mais responde ao aumento da concentração e a adsorção é interrompida.

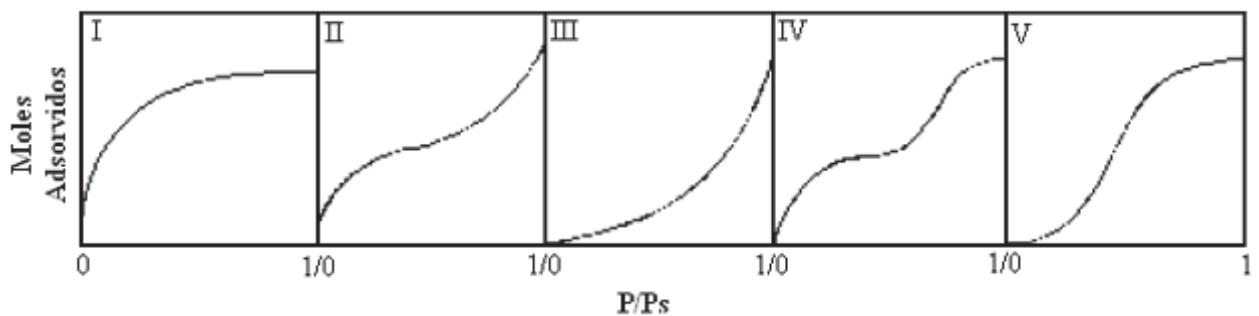


Figura 12. Classificação BET de isothermas de adsorção. Fonte: Brunauer et al. (1938)

4.3.3 Preparação dos filtros de carvão ativado biológico

Para os ensaios de bancada foram utilizados quatro filtros de carvão ativados (CAB) confeccionados em colunas de vidro (borosilicato) de 10 cm, com diâmetro interno de 1,2 cm, preenchidos por 3 cm de uma camada do carvão ativado biologicamente, aproximadamente 3,5 gramas (peso úmido), conforme observa-se na Figura 13. O carvão utilizado proveio do leito filtrante de uma coluna de polimento contendo carvão biologicamente ativado de uma Instalação Piloto de Filtração em Múltiplas Etapas do Departamento de Engenharia Civil (DEC) da UNESP, Campus de Ilha Solteira. Em laboratório este carvão foi mantido em alimentação contínua com água natural provida do reservatório Ipê, por um período de 2 meses. Para o controle foram utilizados quatro filtros semelhantes (CAG) sem a inoculação de biofilme, e de modo a inibir qualquer atividade metabólica de microorganismos foi previamente adicionado ázida de sódio (4 mg/L) à água de exposição. A atividade biológica dos filtros CAB foi determinada pela taxa de consumo do oxigênio, em comparação com o controle.



Figura 13. Filtros de carvão confeccionados para os ensaios de remoção de fármacos (a), com detalhamento de sua estrutura (b).

4.3.4 Delineamento do ensaio de remoção de fármacos em filtros CAB em laboratório

Para o ensaio, as duas configurações de filtros (CAB e CAG) foram expostos a água de estudo em fluxo contínuo por uma bomba peristáltica multicanais (Ismatec RS 232 IN), conforme representado na figura 14. Os filtros foram operados sob fluxo ascendente com taxa de filtração constante e igual a $4 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{d}$, vazão ascensional de $0,3 \text{ mL}/\text{min}$ e tempo de contato de 11 min. O experimento foi realizado durante 180 dias, sendo recolhidas amostras (200 mL) afluente e efluente dos filtros semanalmente, para leituras do pH (DIGIMED DM 20); determinação das concentrações dos fármacos (HPLC - Prominence, Shimadzu); e níveis de carbono orgânico dissolvido (TOC 5000-A, Shimadzu).

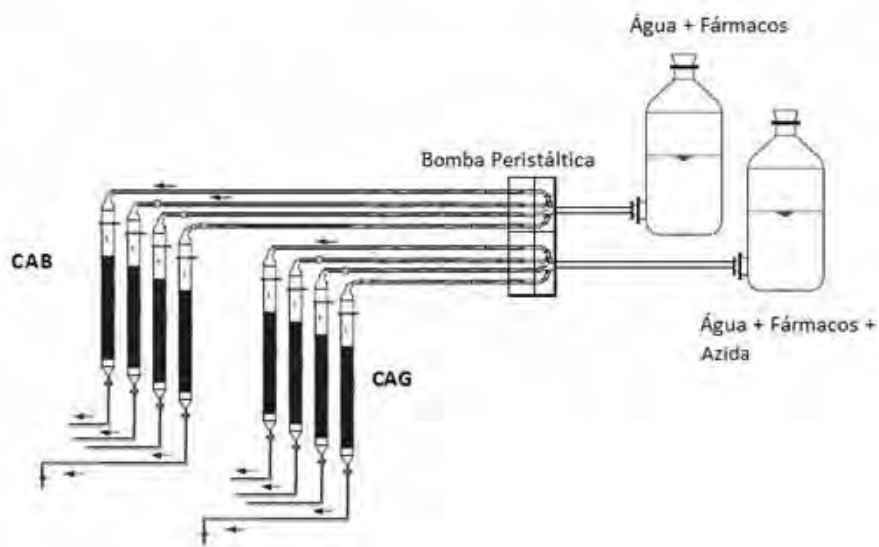


Figura 14. Configuração do sistema experimental com filtros de carvão colonizados e não colonizados por microrganismos.

4.4 *Extração dos fármacos das amostras*

Para a extração dos fármacos foi empregada a técnica de extração em fase sólida (SPE) com cartuchos do tipo C18. A metodologia utilizada foi adaptada de Nebot et al. (2007). Para tanto, realizou-se uma pré-ativação das colunas de fase reversa C-18 a base de sílica (AccuBond II ODS-C18 de 500 mg) com 5,0 mL de metanol 100% (J.T.Baker grau HPLC), seguida posteriormente de 5,0 mL de água Milli-Q (pH próximo de 3,0) e finalmente com a passagem da amostra com velocidade de fluxo de 3,0 mL/min com auxílio de bomba à vácuo. Posteriormente, as colunas C-18 foram lavadas com 5,0 mL de água Milli-Q (pH próximo de 3,0) e na seqüência permaneceram em repouso para secagem a temperatura ambiente por 1 h. Com a secagem foi adicionado e recolhido o eluato, representado por 2,5 mL de acetona seguido por 5,0 mL de metanol 100%. O eluato recolhido foi evaporado a 55 °C e ressuspendido em 500 µL de metanol 100% para realização das análises cromatográfica.

4.5 Análises dos fármacos em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A determinação dos fármacos (afluente e efluente dos filtros) foi efetuada em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu) munido de duas bombas LC-20AT e LC-20AD; *Communication Bus Module-CBM-20A (Prominence Communications Bus Module)*; Injetor Rheodyne (*Rohnert Park, CA, USA*) equipado com válvula do tipo loop de 20 μL . Detector SPD-M20A (*Prominence Diode Array Detector*) e empregando *software LCsolution*. As separações dos picos cromatográficos foram realizadas em uma coluna cromatográfica LC Column Shim-pack C18 (250 mm x 4.6 mm ID, partículas de 5,0 μm).

As fases móveis constituíram-se de metanol (100%) (fase A) e água Mili-Q (fase B), ambas acrescidas de 0,1 % de ácido trifluoracético (TFA). O uso de um gradiente linear de 95-50 % de A por 15 minutos (a temperatura de 25 $^{\circ}\text{C}$) com fluxo de 1,0 mL/min utilizado na separação dos picos cromatográficos. O volume de injeção das amostras foi de 25,0 μL , sendo as amostras analisadas em triplicata. A identificação de cada fármaco foi efetuada de acordo com os seus respectivos tempos de retenção e também através de cada perfil espectrofotométrico, nos comprimentos de onda específicos de detecção para cada composto.

As curvas analíticas foram efetuadas através do método do padrão interno, concomitantemente os limites de detecção (LD) e os limites de quantificação (LQ) ($\mu\text{g/mL}$) também foram obtidos por meio de planilha de validação proposta por Ribeiro e Ferreira (2008). A seguir está apresentado o perfil cromatográfico (Figura 15) dos padrões utilizados como base de reconhecimento para os fármacos estudados nas amostras recolhidas afluente e efluentes dos filtros de carvão colonizados (CAB) e não colonizados por microrganismos (CAG).

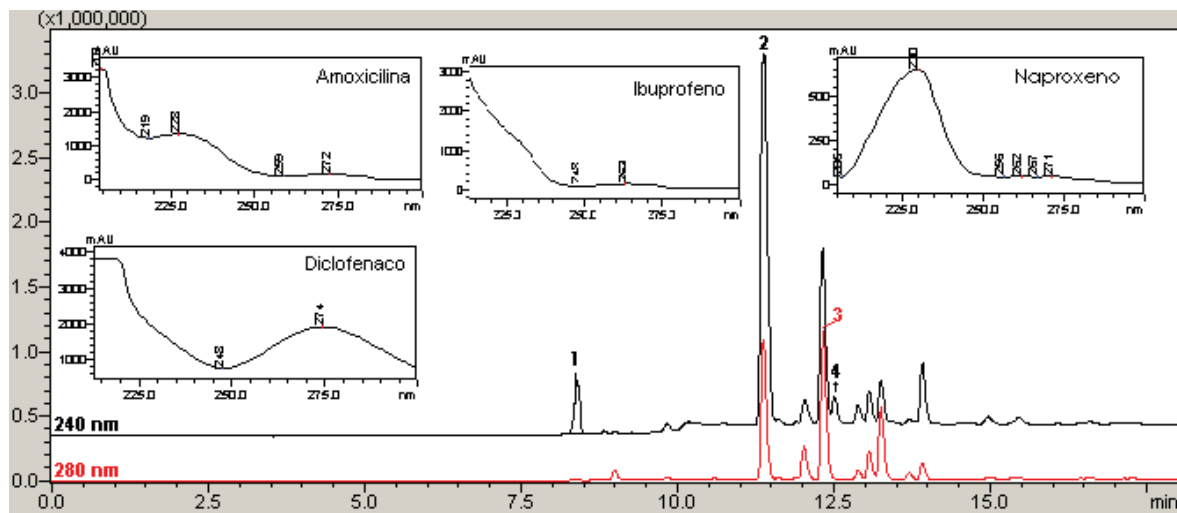


Figura 15 - Perfil cromatográfico de padrões de fármacos: 1- Amoxicilina (T.R: 8.36); 2- Naproxeno (T.R: 11.38), 3- Diclofenaco (T.R: 12.33) e 4- Ibuprofeno (T.R: 12.50). Coluna: LC Column Shim-pack C₁₈ (250 mm x 4.6 mm ID, partículas de 5,0 µm), comprimentos de onda (240 e 280 nm).

4.6 Remoção dos fármacos

Para a avaliação de remoção dos fármacos testados foi estabelecida por meio da equação (1).

$$R = \frac{G-F}{G} \cdot 100 \quad (01)$$

Onde:

R= remoção dada em porcentagem (%);

G= valores quantificados na amostra afluyente do filtro;

F= valores quantificados na amostra efluyente do filtro.

4.7 Isolamento e caracterização fenotípica dos microrganismos nos filtros CAB

Os microrganismos presentes nos filtros CAB foram submetidos ao processo de isolamento e caracterização filogenética, por meio da retirada de um volume (1 mL) de amostra na superfície e interior dos filtros CAB. O material recolhido foi homogeneizado, sendo realizadas diluições decimais de uma alíquota (1 mL) em solução de Ringer para o posterior plaqueamento em meios sólidos contendo meio de cultura PCA, composto por 5g/L

peptona, 2,5 g/L extrato de levedura, 1 g/L glicose e 20 g/L agar. As placas (Figura 16) foram incubadas a 25 °C, no escuro, por uma semana.

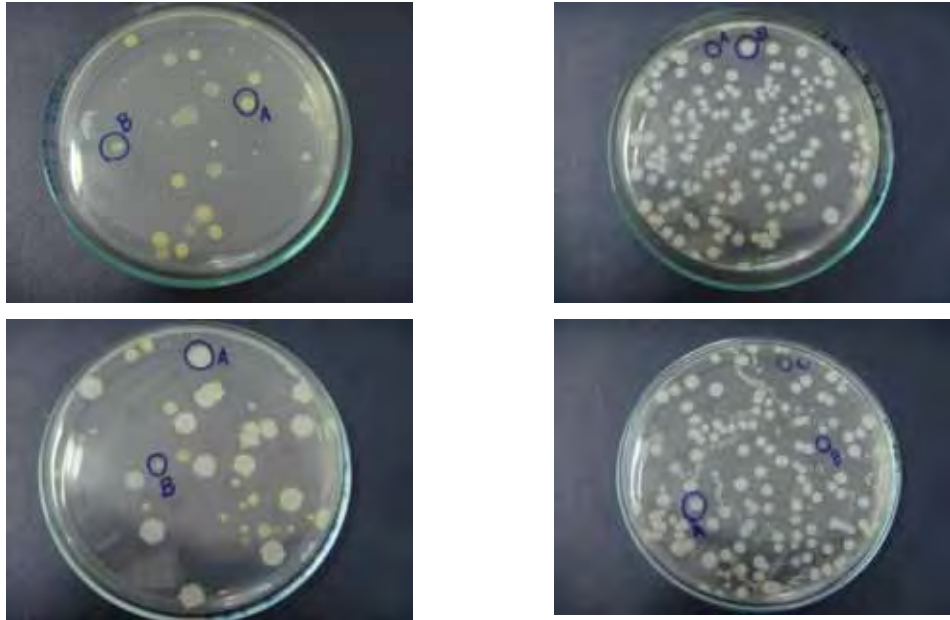


Figura 16 Crescimento das colônias de bactérias após o plaqueamento.

Após incubação, foram observadas as principais características das colônias obtidas. O isolamento de cada colônia foi obtido por meio de sucessivos plaqueamentos por esgotamento em estrias (figura 17a), e então transferidas para tubos de ensaio contendo o meio de cultivo inclinado (figura 17b), e mantidas em refrigeração a 25°C. Para cada colônia isolada foram observadas características morfológicas (coloração, tamanho e tipo de borda das colônias), coloração diferencial de Gram, e verificação da formação de esporos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2003), de modo a obter informações dos possíveis grupos microbianos presentes nos filtros, sendo posteriormente realizadas produções massivas de cada isolado para extração do DNA e identificação filogenética.

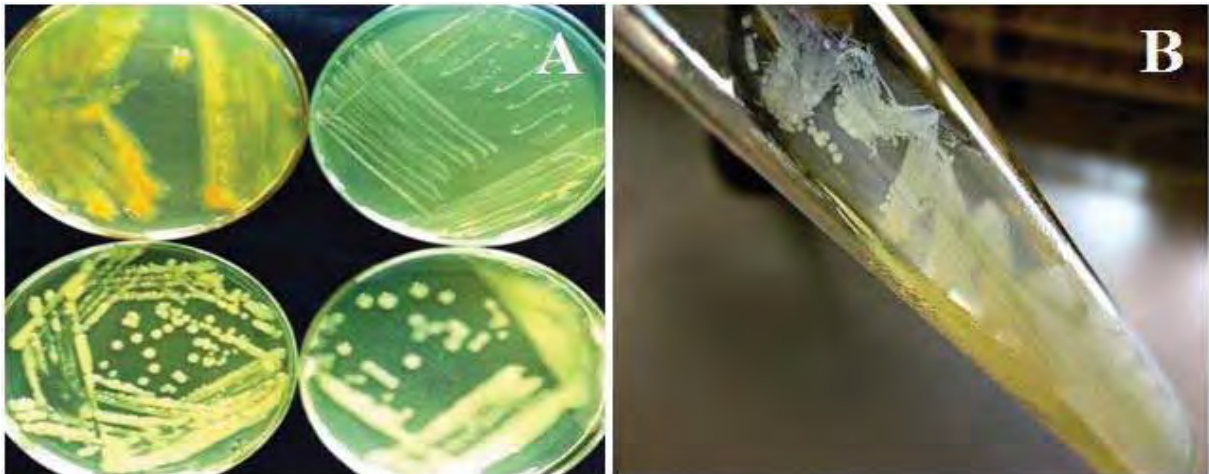


Figura 17. (A) Plaqueamento por esgotamento em estrias e (B) tubos de ensaio contendo o meio de cultivo inclinado.

4.8 Caracterização genotípica dos microrganismos nos filtros CAB

Os microrganismos isolados foram cultivados em tubos Falcon com o meio de cultura composto por peptona (5 g/L), extrato de levedura (2,5 g/L), glicose (1 g/L), durante 24 horas. Os cultivados foram centrifugados a 5000 rpm durante 9 minutos, sendo os precipitados (5 mL) encaminhados para a extração do DNA ao Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas da UNESP de Jaboticabal.

4.8.1 Extração de DNA dos isolados e amplificação do gene 16S rRNA

A extração do DNA dos isolados foi realizada utilizando o *Kit FastDNA® SPIN Kit for Soil* (BIO 101-Quantum Biotechnologies), seguindo as instruções do fabricante. O gene 16S rRNA do material genético extraído de cada amostra foi amplificado pela técnica de PCR. Na reação foram utilizados os oligonucleotídeos iniciadores fd1 (posição 8 – 27) e rD1 (posição 1524 - 1540) do gene 16S rRNA em *Escherichia coli* estirpe K12, de acordo com Weisburg et al. (1991) e as condições acrescidas de modificações: Tampão PCR 1X [20 mM Tris-HCl (pH 8,4), 50mM KCl], 200 µM de cada dntp, 2 mM de MgCl₂, 1,25 U de Taq Polimerase, 5 pmols de cada iniciador, 35 ng de DNA e água ultra pura completando o

volume final de 50 µL na reação. Nesta análise foi utilizado um termociclador (MJ Research Inc., modelo PTC – 200) ajustado com programação de: 94°C por 2 min, 35 ciclos a 94°C por 30 s, 55°C por 50 s, 72°C por 2 min e 72°C por 5 min. Os *amplicons* gerados foram confirmados por eletroforese em gel de agarose 1% contendo 0,5 mg/mL de brometo de etídeo, tampão TBE (Tris 89 mM; Ácido Bórico 89 mM e EDTA 2.5 mM, pH 8,3) e visualizado em um fotodocumentador (Gel Doc 1000) com luz UV (Bio Rad, USA).

Os produtos de PCR do gene 16S rRNA foram seqüenciados usando 0,5 µL de DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit (GE Healthcare); 5 pmols do oligonucleotídeo iniciador fd1; 150 ng de DNA em um volume final de 10 µL. As condições no termociclador foram: 2 min a 95°C, 40 ciclos de 95°C por 30 s, 55°C por 15 s, 60°C por 2 min. Os *amplicons* foram seqüenciados em um seqüenciador de capilar modelo ABI 3700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

4.8.2 *Análises das seqüências*

As seqüências foram analisadas com o auxílio do programa *Sequencing Analysis* 3.4 e pelo programa Phred/Phrap (EWING et al., 1998; EWING; GREEN, 1998) e comparadas com os bancos de dados de genes ribossomais: *Ribosomal Database Project II* (RDP II), através do programa *Classifier* e *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), por meio do programa *Blast*. Todas as seqüências do gene 16S rRNA obtidas neste estudo foram cadastradas no Banco Internacional de Genes (*GenBank*).

4.9 *Tratamento estatístico dos dados obtidos*

Os resultados obtidos durante o estudo foram armazenados em planilhas eletrônicas Excel (Anexos) e submetidos a análises estatísticas com o teste de Tukey ($p < 0,05$) através do Software Estatístico *SPSS 11.5 for Windows*, de modo a avaliar o desempenho dos filtros, bem como o comportamento destes frente a outros parâmetros físicos e químicos da água de estudo.

5 RESULTADOS

5.1 *Biodegradação dos fármacos*

Os resultados obtidos demonstram que houve a biodegradação dos fármacos testados durante o experimento de biodegradação. Pode-se verificar que o composto ibuprofeno foi o que apresentou os maiores níveis de biodegradação (Figura 18), seguidos pelo diclofenaco de sódio (Figura 19), enquanto que o naproxeno (Figura 20) apresentou valores ligeiramente reduzidos. O ibuprofeno apresentou uma rápida biodegradação entre a segunda e terceira semana de ensaio, enquanto que o diclofenaco e o naproxeno obtiveram uma degradação significativa, somente após a sexta semana de experimento, comprovando a estabilidade dessas moléculas e sua difícil degradabilidade no meio natural. De modo geral, cada composto farmacológico apresentou um padrão distinto de biodegradação e degradação natural.

Foi verificada expressiva degradação natural apenas do composto ibuprofeno, o que representa um parâmetro a ser considerado na comparação do balanço final da remoção dos fármacos. Já com o naproxeno e o diclofenaco observou-se uma reduzida degradação natural, comprovando a estabilidade dessas moléculas no meio aquático. Deve ser ressaltada uma elevação abrupta do diclofenaco de sódio durante a 17^o semana de ensaio, o que pode ser decorrente acúmulo do composto por contaminação das amostras nos cartuchos de sílica (C18) utilizados durante a extração e concentração dos fármacos antes de sua quantificação no cromatógrafo. O pH entre os tratamentos testados (dados não apresentados) revelaram um comportamento de semelhança entre estes, com valores próximos da neutralidade.

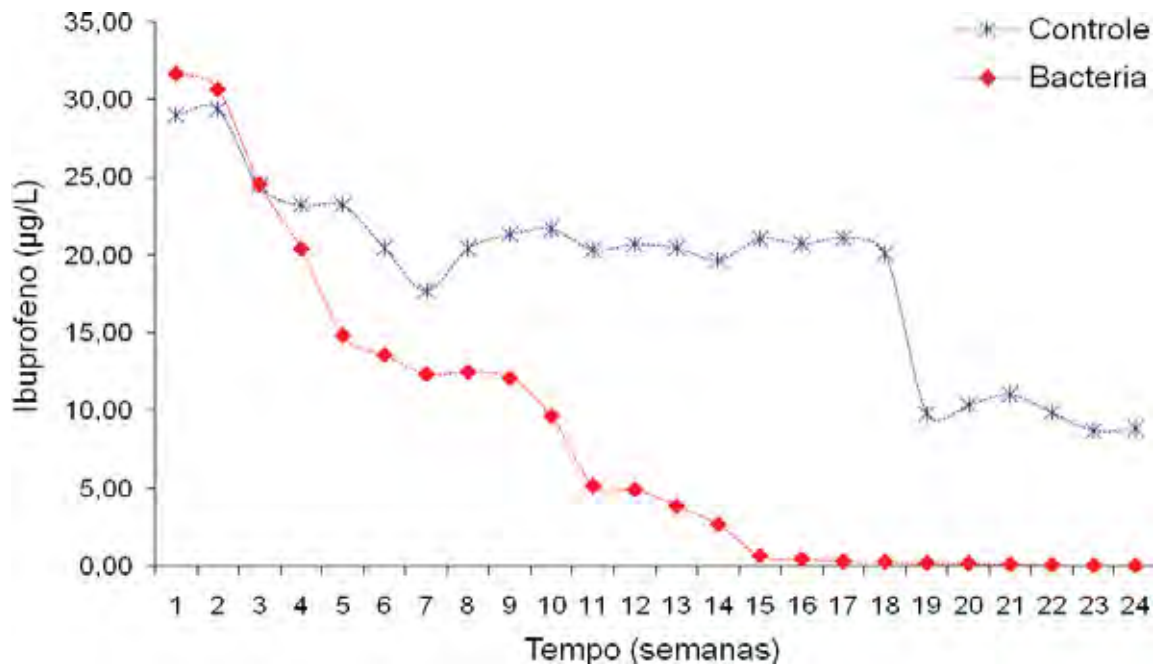


Figura 18. Concentrações de ibuprofeno quantificados entre os tratamentos testados durante o ensaio.

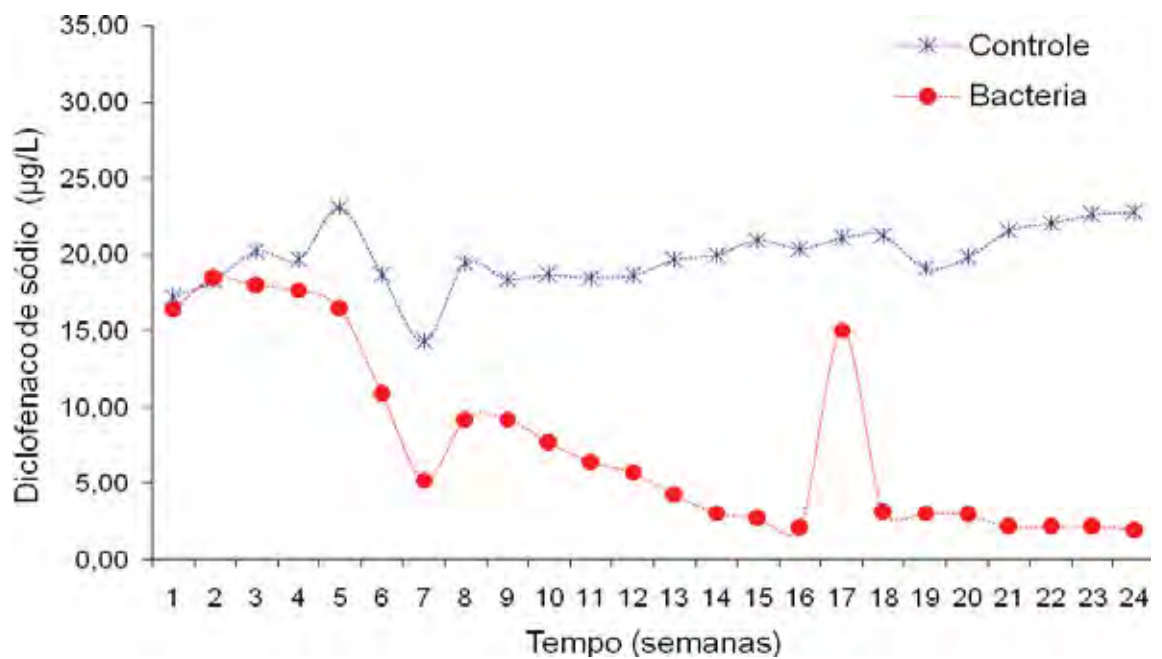


Figura 19. Concentrações de diclofenaco de sódio quantificados entre os tratamentos testados durante o ensaio

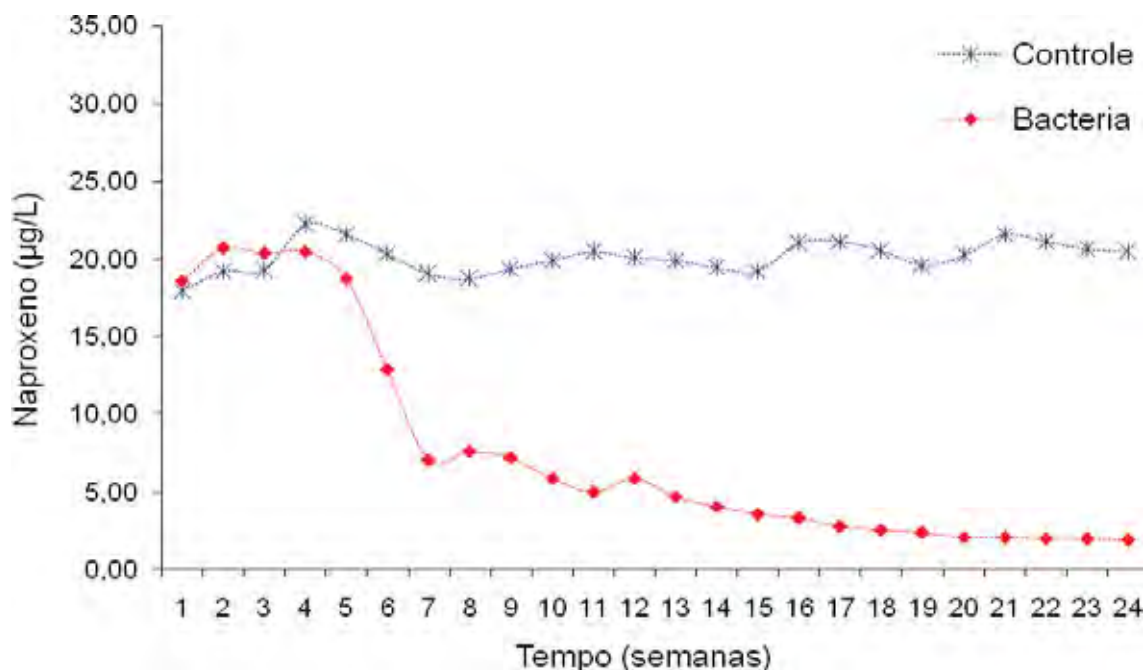


Figura 20. Concentrações de naproxeno quantificados entre os tratamentos testados durante o ensaio.

As substâncias avaliadas nesse estudo representam importantes grupos de drogas com diferentes estruturas químicas e modos de ação. Nenhum dos compostos avaliados foi sintetizado rapidamente, visto que no ensaio de biodegradação foram necessárias 5 semanas para se observar níveis de degradação biológica. Contudo, os resultados indicaram capacidade de metabolização dos fármacos pelos microrganismos presentes no meio inoculante.

De modo geral, a persistência inicial dos compostos farmacológicos durante as primeiras 5 semanas, possivelmente esteve associado à presença de elementos orgânicos na água, sendo esses fontes primárias de carbono e energia cuja síntese é mais simples. Entretanto, com o declínio dos elementos nutricionais, os microrganismos passaram a utilizar os fármacos como fonte de carbono e energia, o que proporcionou a degradação. Uma situação semelhante foi observada por Park et al. (2001) no trabalho de degradação de microcistina, que verificaram tempo de degradação do contaminante quatro vezes superior em água com ausência de nutrientes orgânicos.

De modo geral verificou-se que a degradação dos fármacos testados durante todo o experimento atingiu valores próximos a 90% para diclofenaco e naproxeno e 99% para o ibuprofeno, evidenciando a capacidade de metabolização desses compostos por microrganismos (bactérias) presentes nos filtros biológicos de carvão. Esta capacidade dos microrganismos em metabolizar (biodegradar) os fármacos durante o presente estudo

apresentou concordância ao descrito em outros trabalhos envolvendo o uso de bactérias como uma via de degradação de fármacos em ensaios de laboratório (CHUA et al., 1996).

5.2 Filtração biológica dos fármacos

5.2.1 Influência dos valores de pH durante o ensaio de remoção de fármacos

Durante o período de preparação dos filtros (maturação) os valores de pH mantiveram-se próximos da neutralidade, entre 6 e 7. No decorrer do ensaio, observou-se que o pH na água de estudo afluente e efluente dos filtros testados mantiveram-se levemente abaixo da neutralidade, com valores próximos, em média, durante todo ensaio (Tabela 6).

De modo geral não foram constatadas diferenças significativas ($p < 0,05$) nos valores de pH registrados entre os filtros de carvão colonizados (CAB) e não colonizados (CAG) com microrganismos. Contudo, o fato dos valores de pH no ensaio ter-se mantido neutro pode ter potencializado a adsorção dos fármacos e a colonização dos microrganismos. Alterações no pH pode causar aumento ou diminuição da repulsão eletrostática entre os contaminantes e o meio filtrante, bem como afetar as propriedades superficiais dos microrganismos e das superfícies sólidas, interferindo no processo de adsorção das moléculas, e de adesão dos microrganismos às superfícies dos substratos (LIBÂNIO, 2005). Ademais, a estabilidade do pH contribui para a manutenção, logo, crescimento da camada biológica, além de ser um parâmetro seletor da composição do biofilme.

Outro aspecto a ser considerado, são os valores do pH das amostras efluentes dos filtros CAB (entre 6,33 e 7,14), que apresentaram pequena redução em relação aos valores registrados no afluente deste filtro (entre 6,24 e 7,46). Esta tendência na redução do pH apresentou concordância com o estudo realizado por Seredyńska-Sobecka *et al.* (2006) em ensaios de laboratório com biofiltros de carvão. Uma possível explicação para o decréscimo nos valores de pH nos efluente dos filtros biológicos estaria associado à intensa atividade biológica promovida por microrganismos aderidos nas paredes dos filtros, que durante a metabolização dos compostos orgânicos estariam produzindo e liberando substâncias acidificadas para o meio (CALDWELL et al., 1992).

Tabela 6. Valores médios de pH da água de estudo afluente e efluente dos filtros testados durante o ensaio.

Tempo (dias)	CAB		CAG	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
30	6,81	6,63	7,08	6,85
60	6,24	6,33	6,23	6,56
90	7,04	6,85	6,97	6,84
120	7,46	6,97	7,19	6,99
180	7,32	7,14	7,28	7,14

5.2.2 Efeito da temperatura nos ensaios de remoção de fármacos

No período de maturação dos filtros a temperatura manteve-se estável em 26,5°C, no decorrer do ensaio, não foram observadas variações da temperatura, cuja média foi à mesma do período de preparação (26,5°±1,98°C). A temperatura, assim como o pH, interferem nas forças intermoleculares da adsorção das moléculas, e na adesão dos microorganismos ao carvão. Durante o estudo, a temperatura dos tratamentos pode ter contribuído no desenvolvimento do biofilme, proporcionando condições favoráveis no crescimento de organismos capazes de metabolizar tanto os constituintes orgânicos quanto os fármacos testados durante o estudo. O processo de biodegradação está diretamente condicionado a temperatura de exposição, a temperatura do ensaio permaneceu entre o intervalo (22 a 30°C), fato este que alguns autores consideram ideal para favorecimento da degradação microbiana (PARK et al., 2001; WANG et al., 2007).

5.2.3 Quantificação do Carbono Orgânico Dissolvido (COD) nos filtros de carvão

Os resultados demonstraram pequena remoção de carbono orgânico dissolvido (COD) em ambos os filtros testados. Os filtros CAG apresentaram valores menores no efluente final em relação aos filtros CAB. Embora, os filtros CAG tenham apresentado os percentuais ligeiramente maiores de remoção do carbono, não foi observada diferença significativa

($p < 0,05$) nos valores de remoção do COD em relação aos filtros CAB. Em relação aos resultados de remoção de COD nos filtros CAB constatou-se que os níveis mantiveram-se semelhantes entre o efluente e a água de estudo ou ligeiramente maiores no efluente em alguns momentos. Uma explicação ao fato seria o desprendimento do biofilme ou por seus metabólitos produzidos, excretados e carregados pelo efluente. Na Tabela 7 estão apresentados os valores máximo, médio e mínimo de COD no afluente e efluente das unidades filtrantes e os valores máximo, médio e mínimo de remoção em relação à água bruta de cada filtro.

Tabela 7. Valores máximo, médio e mínimo de COD do afluente e efluente dos filtros testados durante o ensaio e remoção em relação à água bruta de cada filtro.

Filtro	Amostra	COD			Percentual de remoção (%)		
		Mínimo	Máximo	Média	Mínimo	Máximo	Média
CAG	Afluente	227	418	282			
	Efluente	204	254	254	-9	39	9
CAB	Afluente	90	402	248			
	Efluente	176	472	273	-139	15	-15

Os maiores percentuais de remoção demonstrado nos filtros CAG (39%) corroboram com os relatos de eficiência na remoção de COD da maioria dos sistemas convencionais de tratamento da água que se encontram em torno de 30 % (RANDTKE, 1988; SIMPSON, 2008). O desempenho observado nos filtros CAB no presente estudo está em concordância aos descritos por Wang et al. (2007), em que o biofilme formado em filtros CAG foram incapazes de remover eficientemente o COD presente na água utilizada.

5.2.4 Quantificação do Oxigênio Dissolvido nos filtros de carvão

Os valores médios de oxigênio dissolvido registrados nos efluentes dos filtros demonstraram reduções em relação ao afluente (água de estudo) durante todo o ensaio (Figura 21). Os resultados obtidos nos filtros CAB demonstram que houve maior redução de oxigênio, quando comparadas aos valores encontrados nos filtros CAG não colonizados, em média de 19%, contra 8% em CAG. A maior redução do oxigênio nos filtros CAB pode refletir sobre a atividade biológica no meio filtrante (ANDREOTTOLA et al., 2002; SCHOLZ; MARTIN, 1997). O oxigênio pode está sendo consumido pelos microrganismos associados ao carvão

durante a metabolização e biodegradação dos componentes orgânicos presentes na água, o que corrobora para o efeito do consumo dos fármacos na água pelos microrganismos no biofilme.

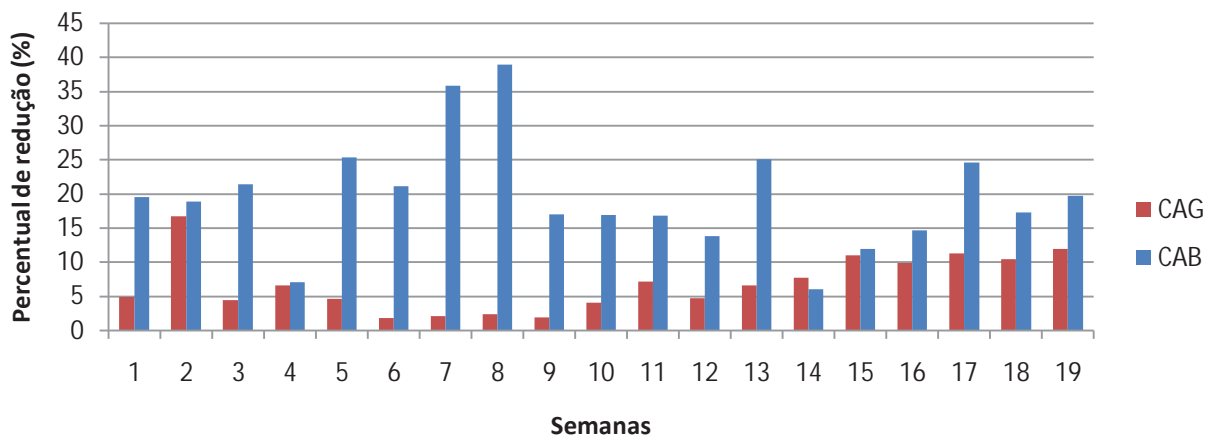


Figura 21. Percentual de redução do oxigênio dissolvido nos filtros CAB e CAG.

5.2.5 Remoção dos fármacos nos filtros biológicos de carvão

Os resultados exibiram a remoção dos quatro fármacos no filtro CAB durante todo o período avaliado, sendo os valores ligeiramente maiores registrados próximos aos encontrados no efluente dos filtros CAG. Embora os filtros colonizados com microrganismos tenham apresentado um maior percentual de remoção (>80%) para todos os fármacos em relação aos filtros não colonizados (<80%), não foi verificada uma diferença estatística significativa ($p < 0,05$) na remoção dos fármacos entre os filtros testados. Os filtros CAG apresentaram eficiência média acima de 80% apenas para naproxeno e ibuprofeno, sendo que neste tratamento, essas substâncias apresentaram maiores níveis de remoção. No Anexo 1 estão apresentados os valores máximo, médio e mínimo de remoção em relação à água bruta de cada unidade. Os resultados estão apresentados nas figuras 22 a 25 a seguir.

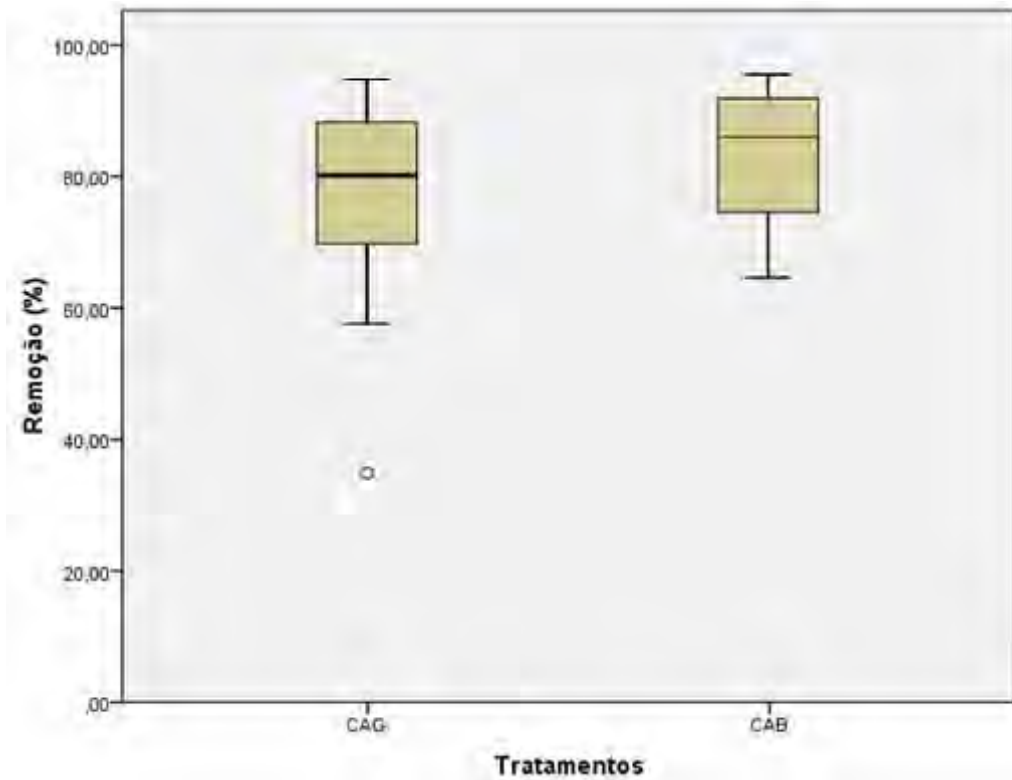


Figura 22. Distribuição dos valores de remoção de amoxicilina nos filtros CAG e CAB.
 ° – resultados extrapolados

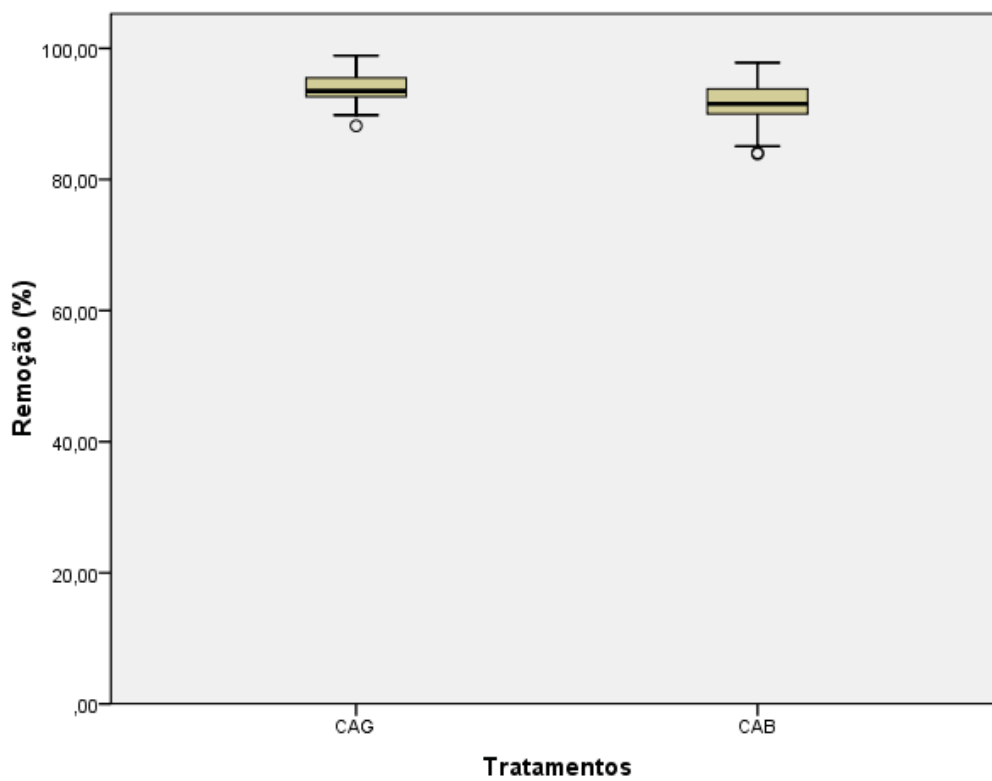


Figura 23. Distribuição dos valores de remoção de naproxeno nos filtros CAG e CAB.
 ° – resultados extrapolados

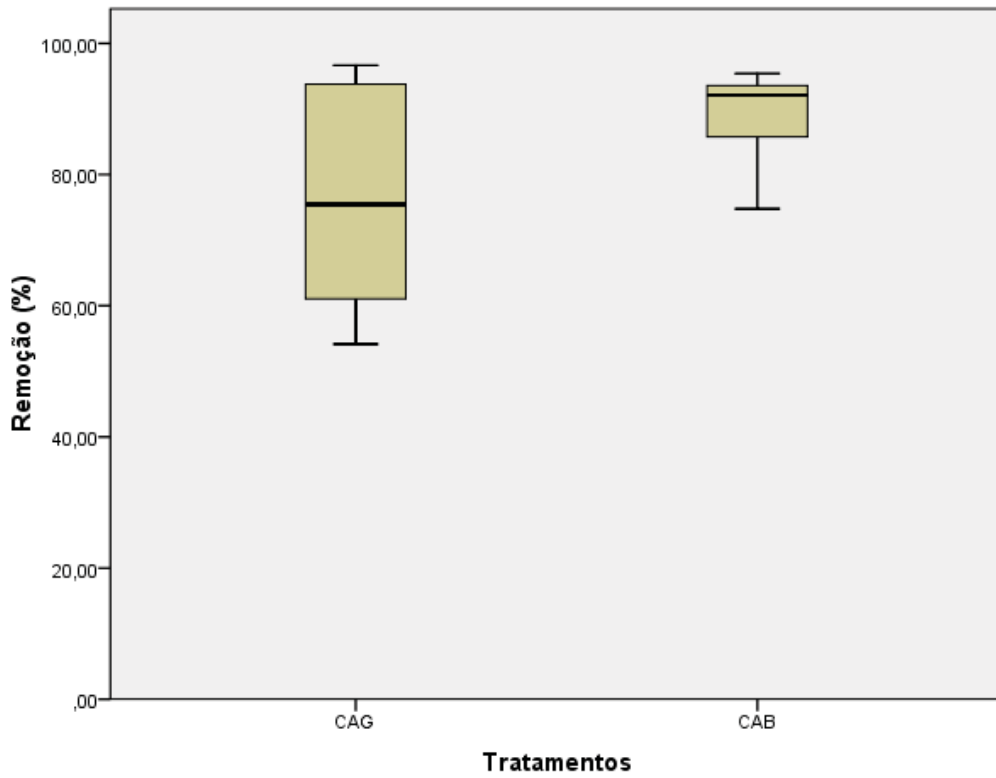


Figura 24. Distribuição dos valores de remoção de diclofenaco nos filtros CAG e CAB.

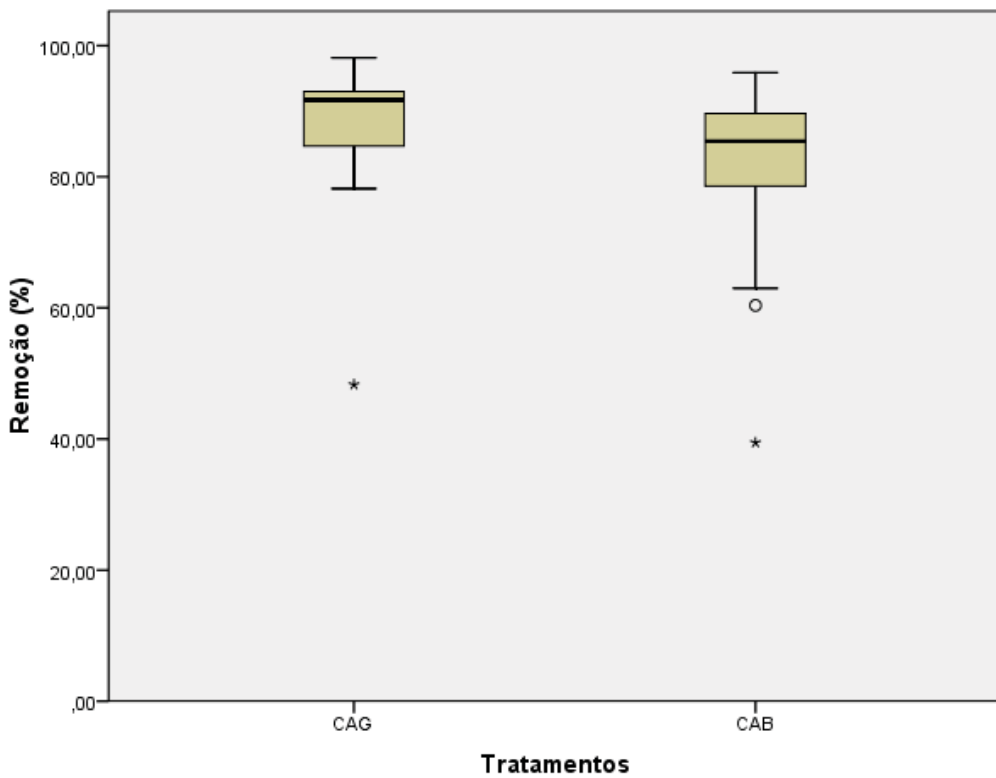


Figura 25. Distribuição dos valores de remoção de ibuprofeno nos filtros CAG e CAB.
* e ° – resultados extrapolados

Pode-se constatar que os filtros apresentaram um padrão semelhante de elevada remoção dos compostos farmacológicos, demonstrando que o carvão ativado granular utilizado, assim como as condições experimentais foram favoráveis para a elevada capacidade de adsorção das substâncias farmacêuticas durante o experimento. A baixa dispersão relativa nos percentuais de sua remoção dos quatro compostos testados durante o ensaio nos filtros CAB ($CV \leq 15$), com residuais no efluente dos filtros em média menores que $0,5\mu\text{g/L}$ (Anexo 2) comprovam que combinação dos processos de adsorção e biodegradação minimizam a flutuação da concentração dos contaminantes na água afluyente (AKTAS; ÇEÇEN, 2007). No Anexo 2 estão apresentados os valores máximo, médio e mínimo da concentração dos fármacos no efluente das unidades. As figuras 26 a 29 mostram os valores quantificados de cada fármaco nas amostras afluentes e efluentes dos filtros durante todo experimento.

Nos filtros CAG, a maior dispersão temporal na eficiência de remoção dos fármacos deve-se principalmente pela oscilação da concentração afluyente dos contaminantes. A diminuição na concentração do adsorvato no afluyente altera o equilíbrio da reação de adsorção em CAG. Na reação reversível de adsorção as moléculas do adsorvato acumulando-se do meio de maior concentração (água) para a superfície de menor concentração (carvão), a queda na concentração do adsorvato no afluyente diminui a taxa da reação de adsorção, gerando menor remoção dos fármacos nesses momentos (BRADY, 1997). Caso a concentração dos fármacos no afluyente seja menor que a concentração do carvão poderá ocorrer a reação reversa (dessorção), porém este efeito não foi observado no presente estudo.

A literatura tem demonstrado que a vida útil do CAG em ETA, dependendo das características da água bruta e do adsorvato, está em torno de 6 a 12 meses (DUSSERT; VAN STONE, 1994 apud SIMPSON, 2008). A redução da vida útil do carvão no leito filtrante pode ser observada pela perda significativa na eficiência de adsorção e pelo transpasse de concentrações consideráveis das moléculas adsorvidas para a água (HO, 2004; WANG et al., 2007). No presente estudo não foi observado saturação dos sítios de ligação do carvão durante o 6 meses de ensaios realizados.

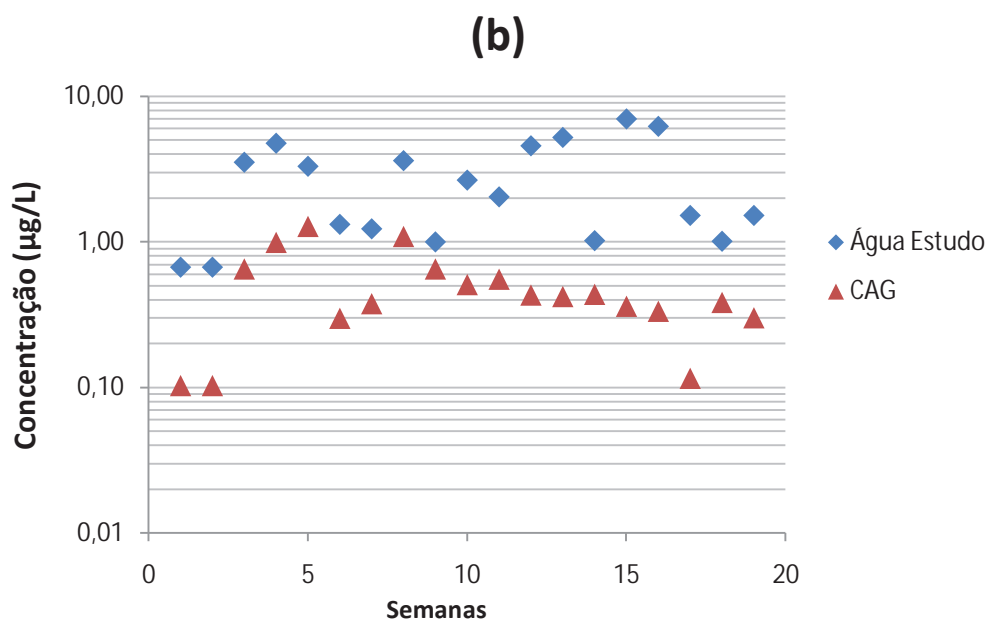
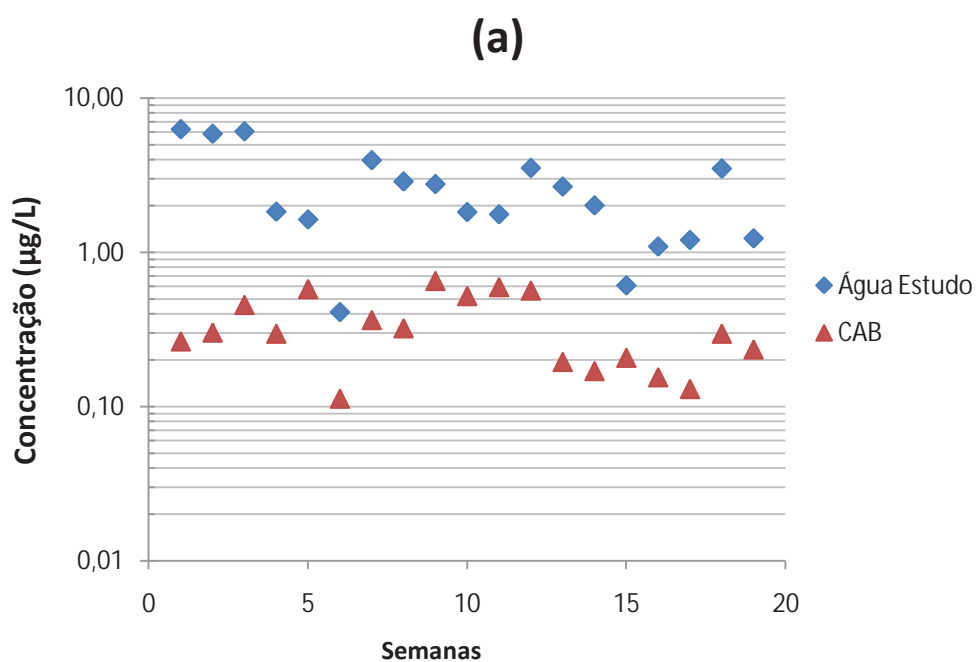


Figura 26 - Valores quantificados de amoxicilina nas amostras afluentes (Água Estudo) e efluentes dos filtros CAB (a) e CAG (b).

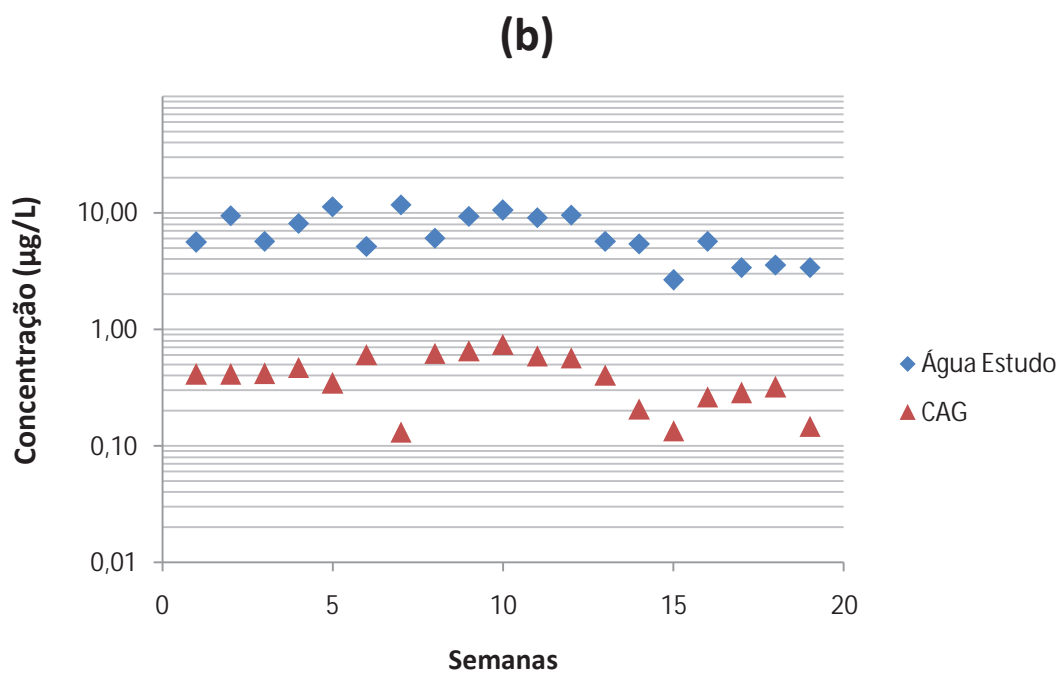
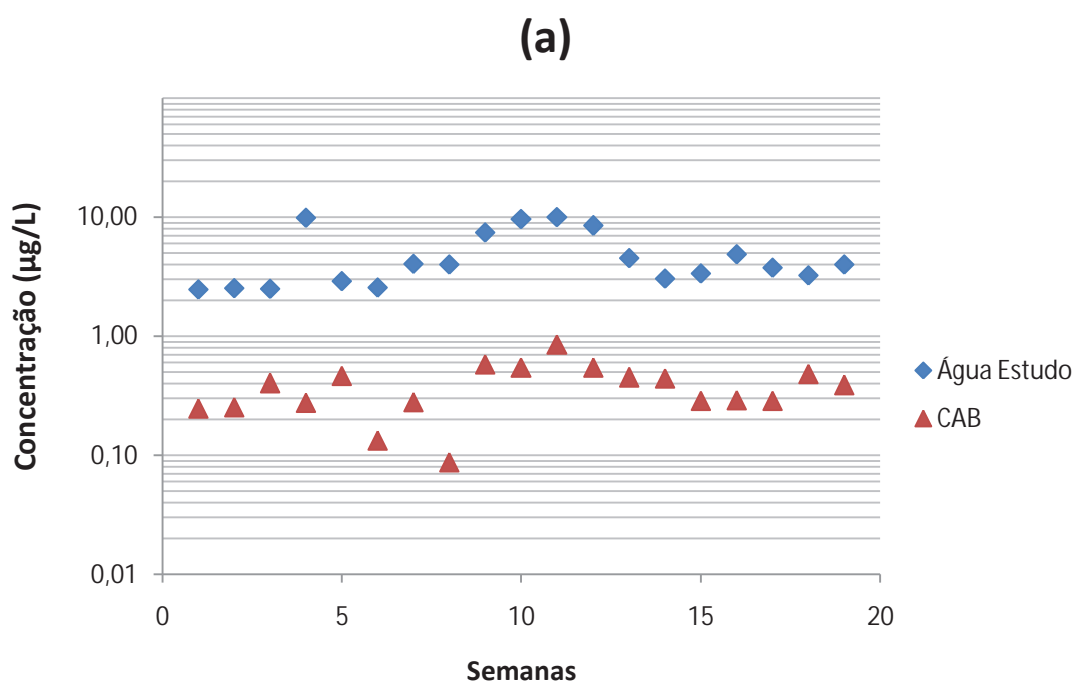


Figura 27. Valores quantificados de naproxeno nas amostras afluentes (Água de Estudo) e efluentes dos filtros CAB (a) e CAG (b).

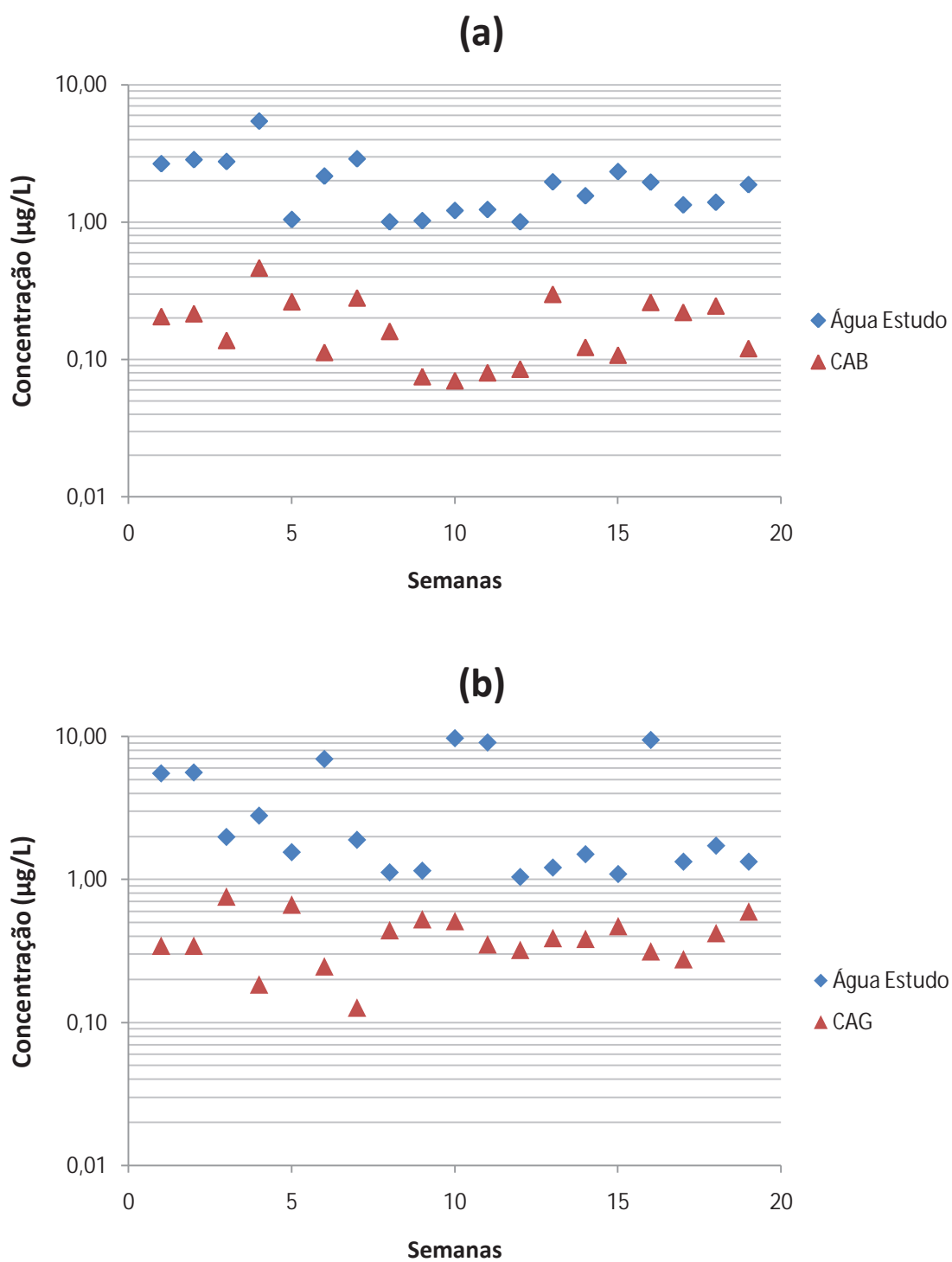


Figura 28. Valores quantificados de diclofenaco nas amostras afluentes (Água de Estudo) e efluentes dos filtros CAB (a) e CAG (b).

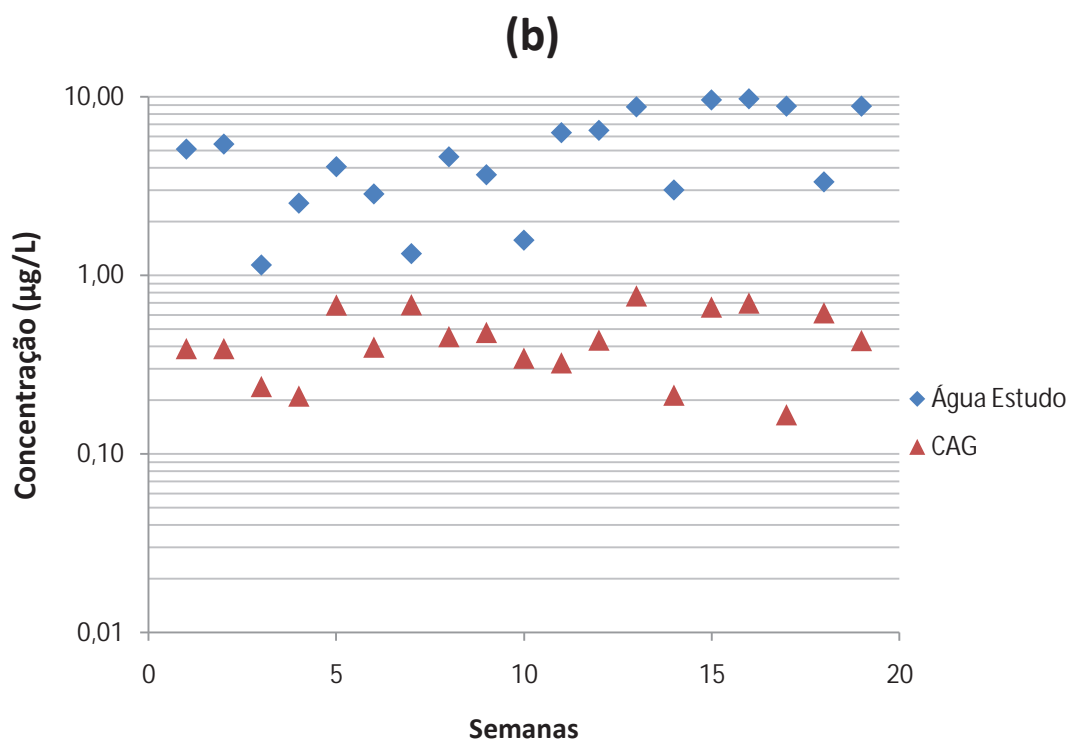
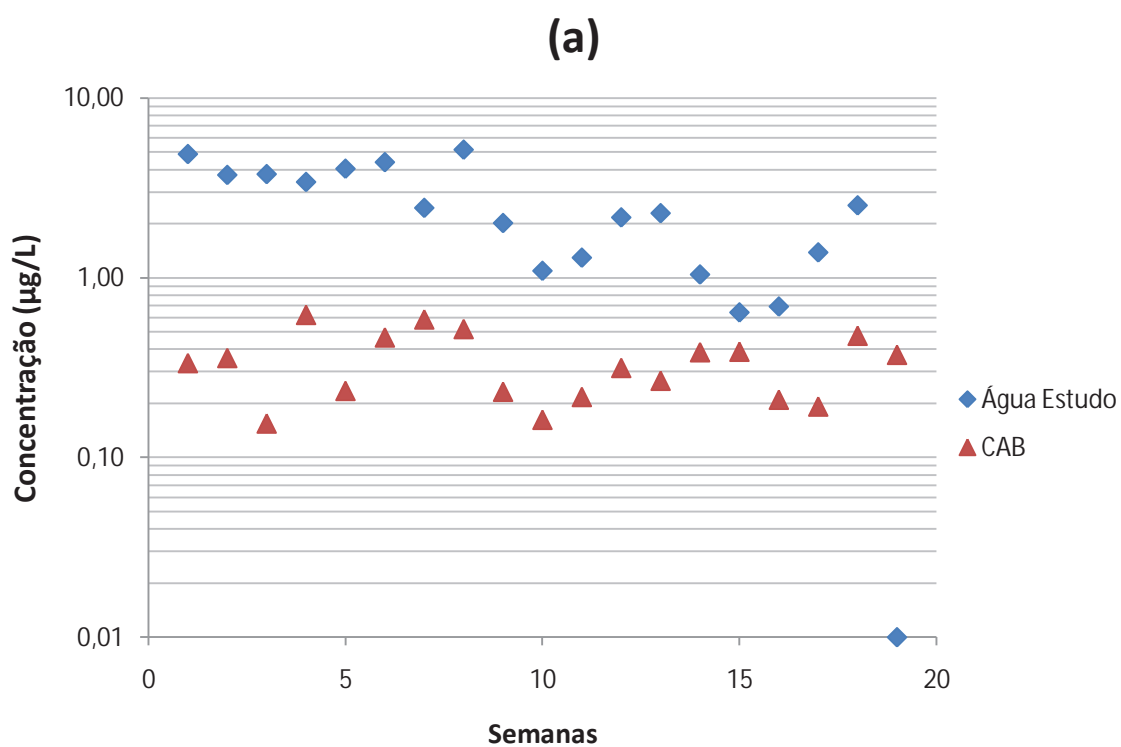


Figura 29. Valores quantificados de ibuprofeno nas amostras afluentes (Água de Estudo) e efluentes dos filtros CAB (a) e CAG (b).

Durante o experimento os filtros CAB apresentaram a característica de perda de carga mais rapidamente que os filtros CAG. Esta situação pode ser explicada pelo elevado crescimento microbiano sobre a área superficial do carvão, o qual promoveu a formação de uma densa camada de biofilme entre os grânulos de carvão, reduzindo desta forma a passagem da água no espaço intersticial no leito filtrante. Segundo Simpson (2008), com a atividade, o biofilme nos grânulos de carvão (CAB) cresce em espessura até determinado ponto crítico, aumentando a pressão de queda no filtro, resultando em picos de contaminantes, e elevação da turbidez da água. Para restaurar a taxa de filtração foram feitas retrolavagens, ação que promove o desprendimento das bactérias e exige um período de readaptação destas nos filtros. Porém, a eficiência dos filtros não apresentou flutuação considerável nestes momentos devido ao aumento da adsorção que é favorecido após a lavagem pela liberação dos sítios de ligação do carvão. De modo geral verificou-se que a remoção dos fármacos testados durante todo o experimento atingiu valores maiores que 80%. Os resultados observados no presente estudo apresentaram concordância ao descrito em outros trabalhos envolvendo o uso consórcios de bactérias como uma via de degradação de fármacos em ensaios de laboratório (CHUA et al., 1996).

5.2.6 Caracterização do biofilme dos filtros de carvão biologicamente ativado

A partir do material isolado e cultivado dos filtros CAB segundo os métodos microbiológicos tradicionais, foram obtidas 31 amostras de microrganismos, sendo estas representadas em sua totalidade por colônias bacterianas integrantes dos filos Firmicutes (19), Proteobacteria (12). Conforme descrito na tabela 8, através das seqüências do gene 16S rRNA amplificadas a partir do DNA das amostras isoladas foram identificados um total de 6 gêneros distintos (*Bacillus*, *Burkholderia*, *Cupriavidus*, *Pseudomonas*, *Shinella*, e *Sphingomonas*), com destaque ao gênero *Bacillus*, o qual apresentou predomínio nas amostras. Em uma destas amostras foi possível a classificação somente a nível de família (Pseudomonadaceae).

A análise realizada sobre a diversidade biológica de microrganismos associados ao biofilme dos filtros CAB constatou a dominância de bactérias do gênero *Bacillus*. Este gênero é composto por microrganismos considerados ubíquos podendo ser isolados do solo, da água doce e salgada e em gêneros alimentícios. Algumas espécies do gênero *Bacillus* aderem fortemente a diversas superfícies sólidas, as estruturas responsáveis na adesão não são

totalmente conhecidas, porém no caso do *Bacillus cereus* sabe-se que a presença de filamentos semelhantes ao pili (apêndice filiforme encontrado na superfície de algumas bactérias) facilita sua fixação. A elevada capacidade de fixação promove a adesão das bactérias à camada filtrante beneficiando a formação do biofilme (HUSMARK; RÖNNER, 1990).

Tabela 8. Caracterização dos isolados obtidos dos filtros biológicos de carvão e disponibilizados no GeneBank.

Isolados	Acesso ao GenBank	Organismo	% similaridade
R1	GU826150.1	<i>Bacillus anthracis</i>	97%
R2	FJ390475.1	<i>Bacillus methylotrophicus</i>	93%
R3	FJ957720.1	<i>Bacillus pumilus</i>	91%
R4	HM441232.1	<i>Bacillus sp.</i>	94%
R5	GU122951.1	<i>Bacillus sp.</i>	89%
R6	GU374115.1	<i>Bacillus sp.</i>	94%
R7	EF428970.1	<i>Bacillus sp.</i>	97%
R8	HM152752.1	<i>Bacillus sp.</i>	93%
R9	EU333143.1	<i>Bacillus sp.</i>	93%
R10	HM836048.1	<i>Bacillus sp.</i>	92%
R11	HM836926.1	<i>Bacillus sp.</i>	88%
R12	HM775374.1	<i>Bacillus sp.</i>	93%
R13	EU333117.1	<i>Bacillus sp.</i>	92%
R14	FJ950671.1	<i>Bacillus sp.</i>	93%
R15	FJ686822.1	<i>Bacillus sp.</i>	93%
R16	GU566355.1	<i>Bacillus sp.</i>	98%
R17	HM776394.1	<i>Bacillus sp.</i>	88%
R18	FJ959367.1	<i>Bacillus subtilis</i>	93%
R19	CP001903.1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	99%
R20	AB091183.1	<i>Burkholderia fungorum</i>	90%
R21	AJ884809.1	<i>Burkholderia sp.</i>	90%
R22	AB545639.1	<i>Burkholderia sp.</i>	86%
R23	GU969241.1	<i>Cupriavidus sp.</i>	86%
R24	EF511678.1	<i>Pseudomonadaceae</i>	89%
R25	GU969239.1	<i>Pseudomonas panipatensis</i>	89%
R26	AM083997.1	<i>Pseudomonas sp.</i>	92%
R27	GQ332344.2	<i>Pseudomonas sp.</i>	89%
R28	FR682932.1	<i>Pseudomonas sp.</i>	92%
R29	AB285481.1	<i>Shinella yambaruensis</i>	83%
R30	FJ382941.1	<i>Sphingomonas sp.</i>	84%
R31	DQ337548.1	<i>Sphingomonas sp.</i>	86%

Fonte: National Center for Biotechnology Information (NCBI) e Ribosomal Database Project (RDP)

A prevalência do gênero *Bacillus* provavelmente foi favorecida pela introdução de amoxicilina na água de estudo, o que promoveu a colonização dos filtros por bactérias resistentes a presença desse antibiótico. A amoxicilina é um antibiótico beta-lactâmico, que

atua destruindo a parede das células bacterianas, pois se une a uma grande variedade de proteínas responsáveis pela produção de enzimas que sintetizam os alimentos, deixando-as sem ação.

O gênero *Bacillus*, o qual se demonstrou dominante nos cultivos desse experimento, possui várias espécies produtoras da enzima β -lactamase, responsáveis pela resistência a antibióticos β -lactâmicos. Esta enzima quebra o anel de quatro átomos conhecido como β -lactama (Figura 30), desativando as propriedades antibacterianas da molécula. Presume-se que a dominância desse gênero de bactérias corresponde à resistência a amoxicilina e sua elevada capacidade de sintetizá-lo e utilizado como fonte de carbono e nitrogênio (BLAU et al., 2006). Deve-se considerar que além da ação de enzimas específicas no efeito de quebra da molécula do fármaco, há combinação com outros fatores que podem atuar conjuntamente, influenciando o processo de degradação dos antibióticos β -lactâmicos, dentre esses se destacam a temperatura, o pH, os teores de β -lactâmicos e a tensão de oxigênio dissolvido (SANYAL et al., 1992).

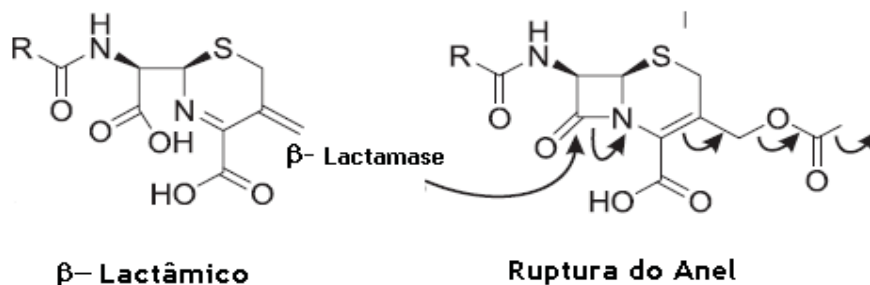


Figura 30 - Atuação da enzima β -Lactamase no anel β -lactâmico.

Com base nos resultados, pode-se verificar a presença do gênero *Pseudomonas*. Segundo Smith et al. (1990) este gênero sob condições aeróbicas, também apresenta a habilidade em utilizar uma diversidade de compostos recalcitrantes como fontes de energia e carbono. A versatilidade do gênero *Pseudomonas* em crescer e metabolizar diferentes compostos orgânicos o torna amplamente descrito na literatura, especialmente quanto ao seu uso no tratamento de esgoto (KHAN et al., 2006). Este mesmo gênero de bactéria é descrito em razão de sua ampla capacidade em utilizar uma variedade de substratos orgânicos, como fonte de carbono, além da excepcional habilidade de colonizar nichos ecológicos diversos, nas quais a oferta de nutrientes é limitada. A capacidade das *Pseudomonas* em sobreviver por longos períodos em ambientes úmidos variados contribuem para as suas características ubiqüitárias (KHAN et al, 2006). Um estudo recente realizado por Minillo et al. (2009) apontou a

capacidade de microrganismos formadores do biofilme em filtros biológicos de carvão em biodegradarem compostos farmacológicos. Segundo estes autores bactérias gram-negativas, estas representadas, principalmente pelo gênero *Pseudomonas* bactérias promoveram a depleção de três compostos farmacológicos (cefalexina, diclofenaco de sódio e paracetamol).

A ocorrência de representantes dos gêneros *Burkholderia*, *Shinella* e *Sphingomonas* nas amostras analisadas representa que esses grupos potencialmente são capazes de participar diretamente no consumo de fármacos. Estudos realizados por Murdoch e Hay (2005) revelaram diversas estratégias metabólicas realizadas pelas *Sphingomonas* na degradação de ibuprofeno, propondo que a seqüência de reações ocorre conforme figura 31. O gênero *Sphingomonas* também vem sendo descrito em trabalhos de filtração biológica em carvão e areia, onde isolados específicos de *Sphingomonas* foram inoculados no sistema filtrante com objetivo de remover microcistinas da água potável (BOURNE et al., 2006; WANG et al., 2007).

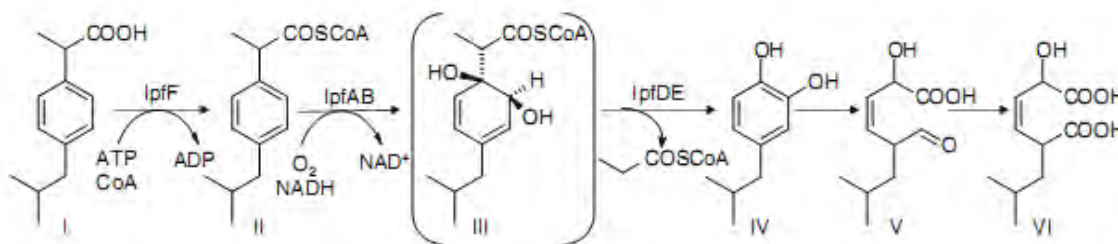


Figura 31 – Possível rota de degradação de ibuprofeno por *Sphingomonas* sp.

Fonte: Murdoch e Hay (2005, 2006).

A presença de bactérias do gênero *Burkholderia* nos isolados cultivados dos filtros CAB evidencia o potencial desses microrganismos em biodegradarem compostos farmacêuticos, visto que, trabalhos realizados sobre a degradação de antibióticos destacam o gênero *Burkholderia* como um dos microrganismos do ambiente natural capazes de consumir esses compostos (DANTAS et al., 2008). Estudos realizados por Lemes et al. (2008) com outros compostos recalcitrantes ao tratamento de água, reportam sobre a ampla capacidade do gênero *Burkholderia* em degradar eficientemente cianotoxinas, demonstrando seu potencial de utilização em processos de filtração biológica. O gênero *Cupriavidus* classificado na família Burkholderiaceae, apesar de nenhum relato sobre degradação de fármacos, possivelmente contém as mesmas características genéticas das espécies *Burkholderia* sp., que os proporciona a habilidade em consumir os compostos analisados.

O presente estudo demonstra claramente que alguns gêneros de bactérias participaram ativamente e de forma conjunta na degradação dos compostos farmacêuticos. Na ordem de elucidar a degradação microbiológica dos fármacos nos tratamentos avaliados, devemos focar a importância da atividade sinérgica dos microrganismos formadores da microflora no biofilme dos filtros de carvão como agentes da metabolização deste composto. Através dos relatos sobre a capacidade dos gêneros *Cupriavidus* e *Shinella* em degradar outros micropoluentes (IWAKI; HASEGAWA, 2007; BAI et al., 2009) podemos inferir que esses microrganismos de forma direta ou indireta participam nas reações de degradação dos compostos em estudo. Todavia, no entanto fica claramente demonstrado o potencial da grande variedade de gêneros de bactérias que podem degradar estes compostos, como já tem sido demonstrada em outros estudos (KAGLE et al., 2009).

Deve ser destacada a possível presença de linhagens de bactérias que eventualmente não se desenvolveram nas placas de cultivo, mas que poderiam atuar no consumo dos fármacos de forma direta ou, em consórcios microbianos formados no microecossistema do biofilme no filtro biológico de carvão. O isolamento e o cultivo de microrganismo é o método tradicional para caracterização microbiana, mas somente uma pequena parcela variando de 0,1% a 1,0% bactérias são cultiváveis utilizando os métodos padrão de cultivo (TORSVIK, et al. 2002 apud PAIXÃO, 2009). Desta forma, torna-se imprescindível a realização de uma varredura da diversidade microbiana presente no biofilme dos filtros biológicos de carvão, o que auxiliaria na verificação da presença de grupos bacterianos que estariam atuando conjuntamente na metabolização dos fármacos utilizadas no estudo.

Através desse estudo, foi possível comprovar a importância de microrganismos como agentes degradadores de compostos farmacêuticos, demonstrando que o uso das técnicas de biorremediação pode ser um método explorado no controle e remoção de fármacos em ambientes contaminados. O processo conhecido como biorremediação, é realizado em ambientes abertos, não esterilizados, de modo a permitir a interação de uma grande variedade de microrganismos presentes no meio. As bactérias estão entre os organismos que melhor interagem na dinâmica de biorremediação, muitas vezes, assumindo o papel central na biorremediação, em razão da sua capacidade de degradar uma série de poluentes, enquanto que outros organismos (e.g., fungos e protozoários) podem favorecer ou mesmo afetar esta dinâmica (WATANABE, 2001).

Segundo López et al. (2005) a remoção de um determinado composto xenobiótico (e.g., fármacos) deve oferecer uma boa alternativa na relação custo-eficácia entre os métodos não biológicos utilizados para o tratamento de águas e solos contaminados. Os resultados

encontrados nesse estudo evidenciaram uma eficácia da atividade microbiana promovida por bactérias como agentes de degradação de fármacos na água. Este padrão corrobora a tendência reportada na literatura sobre a importância das vias metabólicas dos microrganismos como uma forma de quebra das moléculas de alguns compostos xenobióticos (SCHRAP et al., 2000; JOHNSEN et al., 2001).

A possibilidade de isolar microrganismos específicos ou consórcios microbianos adaptados em remover poluentes a partir de águas residuais ou água potável, pode representar uma medida considerável para o controle e remoção destas substâncias, possibilitando aumento na qualidade do tratamento da água. Desta forma, são necessários novos estudos envolvendo processos não convencionais para o tratamento de água contendo pesticidas (filtros biológicos de carvão) combinados aos processos convencionas em operação nas Estações de Tratamento de Água (ETA) para aumentar a eficiência na remoção dos mesmos.

6 CONCLUSÕES

- Sobre as condições empregadas no presente estudo, taxa de filtração $4 \text{ m}^3/\text{m}^2.\text{dia}$, foi constatada a dos compostos farmacológicos em ambos os filtros testados superiores a 80%; sendo que os filtros de carvão colonizados por microrganismos apresentaram capacidade de retenção dos fármacos próxima aos filtros de carvão não colonizados por microrganismos;
- A remoção média de remoção nos filtros CAG foi de 77% para amoxicilina, 94% para naproxeno, 77% para diclofenaco, 88% para ibuprofeno. Nos filtros CAB a média de remoção foi de 83% para amoxicilina, 91% para naproxeno, 90% para diclofenaco e 81% para ibuprofeno;
- Os filtros de carvão ativado, nas condições empregadas nesse estudo, demonstraram-se favoráveis como suportes para o desenvolvimento de microrganismos (biofilme) capazes de metabolizar os compostos farmacológicos testados;
- Foram constatada o predomínio de bactérias como microrganismos associados aos filtros de carvão, sendo estas capazes de degradar os compostos, utilizando-os como fonte de carbono no seu metabolismo;
- Foram registrados seis gêneros distintos de bactérias formadoras do biofilme (*Bacillus*, *Burkholderia*, *Cupriavidus*, *Pseudomonas*, *Shinella*, e *Sphingomonas*) com destaque ao gênero *Bacillus* que apresentou domínio;
- O sucesso da capacidade destes microrganismos (bactérias) em degradarem os compostos farmacológicos testados neste estudo sugere sua potencial utilização em processos de biofiltração em ETAs;
- O uso de linhagens específicas de microrganismos capazes de metabolizarem eficientemente estes fármacos pode vir a representar uma proposta para a ativação biológica no leito de filtros de carvão, o que poderia contribuir no aumento da eficiência na remoção destes compostos durante o tratamento de água;
- O uso de filtros biológicos de carvão pode representar uma medida alternativa no tratamento de água para remoção de fármacos e outros compostos orgânicos que contaminem os mananciais de abastecimento público.

7 RECOMENDAÇÕES

De acordo com os dados obtidos nesse estudo, somados aos da literatura, é importante considerar os esforços em preservar os mananciais, reduzindo os fatores que favorecem o aporte de compostos farmacológicos aos corpos hídricos. Esses fatores estão relacionados, principalmente, ao tratamento dos efluentes líquidos das cidades.

Como sugestão, os futuros trabalhos devem elucidar outros parâmetros de projetos, no intuito de experimentar essa tecnologia em escala mais próxima das utilizadas nas Estações de Tratamento de Água. O estudo químico dos contaminantes deve ser aprofundado. Bem como um melhor esclarecimento dos genes envolvidos na síntese de enzimas produzidas pelas bactérias presentes nos filtros biológicos avaliados, possibilitando estabelecer a trajetória encarregada de degradação destes compostos. A análise no sequenciamento dos genes dos isolados bacterianos obtidos no presente estudo, pode confirmar de forma precisa, a presença dos genes que manifestam potencial em degradação efetiva dos fármacos. Conjuntamente, a possibilidade de isolamento e uso das linhagens das bactérias com potencial em degradarem os compostos farmacêuticos, representa uma base tecnológica a ser consolidada em trabalhos direcionados no uso destes microrganismos no tratamento biológico de águas contaminadas por estas substâncias. As investigações incluem a aplicabilidade das espécies de larga escala de uso no tratamento de água, principalmente quando as condições adequadas para a biodegradação puderem ser identificadas, e impostas sobre os filtros biológicos.

REFERÊNCIAS

- AKTAS, O.; ÇEÇEN, F. Bioregeneration of activated carbon: A review. **International Biodeterioration and Biodegradation**, Barking, v. 59, p. 257-272, 2007.
- ANDREOTTOLA, G. et al. Biomass active fraction evaluated by direct method and respirometric techniques. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 46 n. 1-2, p. 371-379, 2002.
- APPELGREN, B. **Water in agriculture**. New Delhi: UNESCO, 2004.
- ATLAS, R. Enumeration and estimation of microbial biomass. In: BURNS, R., SLATER, J. (Eds.). **Experimental microbial ecology**. Oxford: Blackwell Scientific, 1982.
- AZEREDO, J.; OLIVEIRA, R. The role of exopolymers produced by *sphingomonas paucimobilis* in biofilm formation and composition. **Biofouling**, Chur, v. 16, n. 1, p. 17-27, 2000.
- BAI, Y. H. et al. Aerobic degradation of pyridine by a new bacterial strain, *Shinella zoogloeoides* BC026. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Hampshire, v. 36, p. 1391-1400, 2009.
- BANGASH, F. K.; ALAM, S. Adsorption of acid blue 1 on activated carbon produced from the wood of *Ailanthus altissima*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, v. 26, n. 2, p.275-285, 2009.
- BARONTI, C. et al. Monitoring natural and synthetic estrogens at activated treatment plants and in receiving river water. **Advances in Environmental Science e Technology**, New York, v. 34, p. 5059-5056, 2000.
- BASSO, E. R.; CARVALHO, S. L. Avaliação da qualidade da água em duas represas e uma lagoa no município de Ilha Solteira (SP). **Holos Environment**, Rio Claro, v. 7, n. 1, p. 16, 2007.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no Meio Ambiente. **Química Nova**, São Carlos, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.

BLAU, L.; MENEGON, R. F.; CHIN-CHUNG, M. Pró-fármaco ativado por enzima, uma estratégia promissora na quimioterapia. **Química Nova**, São Carlos, v. 29, n. 6, p. 1307-1317, 2006.

BLENKINSOPP, S.; COSTERTON, J. Understanding bacterial biofilms. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 9, n. 1, p. 138-143, 1991.

BOTT, T. R. Aspects of biofilm formation and destruction. **Corrosion Reviews**, Tel Aviv, v. 11, p. 1-24, 1993.

BOURNE, D. G. et al. Biodegradation of the cyanobacterial toxin microcystin LR in natural water and biologically active slow sand filters. **Water Research**, New York, v. 40, p. 1294-1302, 2006.

BRADY, R. D. Activated carbon processes. In: AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION – AWWA; AMERICAN SOCIETY OF CIVIL ENGINEERS – ASCE. **Water treatment plant design**. New York: McGraw-Hill, 1997. p. 377-416.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria n. 518, de 25 de março de 2004. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 1, n. 59, p. 266-270, 26 mar. 2004.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P.; TELLER, J. Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 60, p. 309-319, 1938.

BRYERS, J. D. Biological active surfaces: processes governing the formation and persistence of biofilms. **Biotechnology Progress**, New York, v. 3, n. 2, p. 57-68, 1983.

BUNDY, M. M. et al. Removal of pharmaceuticals and related compounds by a bench-scale drinking water treatment system. **Journal of Water Supply: Research and Technology - AQUA**, London, v. 56, n. 2, p. 105-115, 2007.

BUSER, H. R.; MÜLLER, M. D. Occurrence of the pharmaceutical drug Clofibric Acid and the Herbicide Mecoprop in various swiss lakes and in the North Sea. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 32, p. 188-192, 1998.

BUSER, H. R.; POIGER, T.; MÜLLER, M. D. Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: rapid photodegradation in a lake. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 32, n. 22, p. 3449-3456, 1998.

BUSER, H. R.; POIGER, T.; MÜLLER, M. D. Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug Ibuprofen in surface waters and wastewater. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 33, p. 2529-2535, 1999.

CALAMARI, D. et al. Strategic survey of therapeutic drugs in the Rivers Po and Lambro in northern Italy. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 37, n. 7, p. 1241-1248, 2003.

CALDWELL, D. E.; KORBER, D. R.; LAWRENCE, J. R. Imaging of Bacterial Cells by Fluorescence Exclusion Using Confocal Laser Microscopy. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 15, n. 4, p. 249-261, 1992.

CARLSON, G., SILVERSTEIN, J. Effect of ozonation on sorption of natural organic matter by biofilm. **Water Research**, New York, v. 31 n. 10, p. 2467-2478, 1997.

CARTER, C., WEBER, J., OLMSTEAD, K. Effects of background dissolved organic matter on TCE adsorption by GAC. **Journal of the American Water Works Association - AWWA**, New York, v. 84, p. 81-82, 1992.

CASTRO, C. M. B. Perturbadores endócrinos ambientais: uma questão a ser discutida. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 1, p. 4-5, 2002.

CHAPMAN, P. M. Emergin substances: emerging problems? **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 25, n. 6, p. 1445-1447, 2006.

CHARACKLIS, W. G. Laboratory biofilm reactors. In: CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. (Eds.). **Biofilms**. New York: John Wiley and Sons, 1990. p. 55-89.

CHRISTENSEN, B. E.; CHARACKLIS, W. G. Physical and chemical properties of biofilms. In: CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. (Eds.). **Biofilms**. New York: John Wiley and Sons, 1990. p. 93-130.

CHUA, H. I.; YAW, M. G. S.; NG, W. J. Bacterial populations and their roles in a pharmaceutical-waste anaerobic filter. **Water Research**, New York, v. 30, n. 12, p. 3007-3016, 1996.

COELHO, A. D. **Degradação dos antiinflamatórios diclofenaco, ibuprofeno e naproxeno por ozonização**. 2008. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2008.

COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO – SABESP.
Água: um bem limitado. São Paulo, 1997. Disponível em:
<http://www.agua.bio.br/botao_d_L.htm>. Acesso em: 20 ago. 2010.

COMPANHIA ESTADUAL DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO BÁSICO – CETESB.
Relatório da qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo. São Paulo, 2004.

COOK, D.; NEWCOMBE, G.; SZTAJNBOK, P. The application of powdered activated carbon for MIB and Geosmin removal: predicting PAC doses in four raw waters. **Water Research**, New York, v. 35, n. 5, p. 1325-1333, 2001.

DAGOSTINO, L.; GOODMAN, A.; MARSHALL, K. Physiological responses induced in bacteria adhering to surfaces. **Biofouling**, Chur, v. 4, p. 113–119, 1991.

DANTAS, G. et al. Bacteria subsisting on antibiotics. **Science**, Washington, DC, v. 320, p. 100-103, 2008.

DEMPSEY, M. J.; LANNIGANA, K. C.; MINALLB, R. J. Particulate-biofilm, expanded-bed technology for high-rate, low-cost wastewater treatment: nitrification. **Water Research**, New York, v. 39, p. 965–974, 2005.

DESBROW, C. et al. Identification of estrogenic chemicals in STW efflueny: 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 32, n. 11, p. 1549-1558, 1998.

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

DOUGHTON, C. G; JONES-LEPP, T. L. (Eds.). **Pharmaceuticals in the enviroment: overarching issues and overview, in pharmaceuticals and personal care products in the environment:** scientific and regulatory issues. Washington, DC: American Chemical Society, 2001. P. 2-38. (Symposium Series, 791).

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

EWING, B.; GREEN, P. Base-calling of automated sequencer traces using Phred. II. Error probabilities. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, v. 8, p. 186 -194, 1998.

EWING, B. et al. Base-calling of automated sequencer traces using Phred I. Accuracy assessment. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, v. 8, p. 175-185, 1998.

FENT, K.; WESTON, A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v. 76, n. 2, p. 122-159, 2006.

FLEMMING, H. C. Biofilms and environmental protection. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 27, n. 7-8, p. 1-10, 1993.

FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J. Extracellular Polimeric Substances (EPS): the biofilm construction material. In: WEBER, J.; SAND, W. (Eds.). **Biofouling and materials**. Bern: EDMZ, 1999. p. 2-18. (COST 520 Workshop).

FOLMAR, L. C. et al. Comparative estrogenicity of estradiol, ethinyl estradiol and diethylstilbestrol in an in vivo, male sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*), vitellogenin bioassay. **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v. 49, p. 77-88, 2000.

GHISELLI, G. **Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP)**. 2006. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

GHOSH, U. et al. Granular activated carbon and biological active carbon treatment of dissolved and sorbed polychlorinated biphenyls. **Water Environment Research**, Alexandria, v. 71, n. 2, p. 232-240, 1999.

GILLES, C. H. et al. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and measurement of specific surface areas of solids. **Journal of the Chemical Society**, Cambridge, v. 2, p. 3973-3993, 1960.

GJALTEMA, A. **Biofilm development: growth versus detachment**. 1996. Thesis (Ph.D.) - Biochemical Engineering Department, Technical University of Delft, Delft, Netherlands, 1996.

GRADY JR, L. Notes prepared to accompany unit operations and processes. In: SALVATO, J. A.; NEMEROW, N. L.; AGARDY, F. J. (Eds.). **Environmental engineering**. 2. ed. New York: John Wiley and Sons, 2000.

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

HARRISON, P.T. C.; HOLMES, P.; HUMFREY, C. D. N. Reproductive health in humans and wildlife: are adverse trends associated with environmental chemical exposure? **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 205, p. 97-106, 1997.

HARTIG, C.; STORM, T.; JEKEL, M. Detection and identification of sulphonamide drugs in municipal waste water by liquid chromatography coupled with electrospray ionisation tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 854, p. 163-173, 1999.

HEBERER, T. et al. Detection of drugs and drug metabolites in groundwater samples of a drinking water treatment plant. **Fresenius Environmental Bulletin**, Freising, v. 6, p. 438-443, 1997.

HEBERER T.; STAN H. J. Pharmaceutical residues in the aquatic system (Arzneimittelrückstände im aquatischen System). **Wasser und Boden**, Hamburg, v. 50, p. 20-25, 1998.

HERZING, D. R.; SNOEYINK, V. L.; WOOD, N. F. Activated carbon adsorption of the odorous compounds 2-Methylisoborneol and Geosimin. **Journal of the American Water Works Association**, New York, v. 69, n. 4, p. 223-228, 1977.

HIRSCH, R. et al. Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 815, n. 2, p. 213-223, 1998.

HO, L. **The removal of cyanobacterial metabolites from drinking water using ozone and granular activated carbon**. 2004. Thesis (Ph.D.) - University of South Australia, Adelaide, Australia, 2004.

HORAN, N.; ECCLES, C. Purification and characterization of extracellular polysaccharide from activated sludges. **Water Research**, New York, v. 20, p. 1427-1432, 1986.

HUSMARK, U.; RÖNNER, U. Forces involved in adhesion of *Bacillus cereus* spores to solid surfaces under different environmental conditions. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 69, p. 557-562, 1990.

IWAKI, H.; HASEGAWA, Y. Degradation of 2-nitrobenzoate by *Burkholderia terrae* strain KU-15. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tokyo, v. 71, n. 1, p. 145-151, 2007.

JAHANGIR, M. **Bioregeneration of granular activated carbon**. Thesis (Ph.D.) - The University of Birmingham, United Kingdom, 1994.

JOHNSEN, K. et al. Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils: a review. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 33, p. 443–453, 2001.

JONES, O. A. H.; VOULVOLIS, N.; LESTER, J. N. Aquatic environmental assessment of the top 25 english prescription pharmaceuticals. **Water Research**, New York, v. 36, p. 5013-5022, 2002.

JONES, O. A.; LESTER J. N.; VOULVOULIS N. Pharmaceuticals: a threat to drinking water? **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 23, n. 4, p. 163-168, 2005.

JORGENSEN, P.; ERIKSEN, T.; JENSEN, B. Estimation of viable biomass in wastewater and activated sludge by determination of APT, oxygen utilization rate and FDA hydrolysis. **Water Research**, New York, v. 26, p. 1495–1501, 1992.

KAGLE, J. et al. Biodegradation of Pharmaceutical and Personal Care Products. **Advances in Applied Microbiology**, San Diego, v. 67, p. 65-108, 2009.

KHAN, S.A.; HAMAYUN, M.; AHMED, S. Degradation of 4-aminophenol by newly isolated *Pseudomonas sp.* strain ST-4. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 38, p. 10-13, 2006.

KOLPIN, D. W. et al. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 36, n. 6, p. 1202-1211, 2002.

LAZAROVA, V.; MANEM, J. Biofilm characterization and activity analysis in water and wastewater treatment. **Water Research**, New York, v. 29 n. 10, p.2227–2245, 1995.

LEMES, G. A. F. et al. Biodegradation of Microcystin by Aquatic *Burkholderia sp.* from a South Brazilian Coastal Lagoon. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 69, p. 358-365, 2008.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento da água**. Campinas : Átomo, 2005. 444 p.

LÓPEZ, L. et al. Identification of Bacteria Isolated from an Oligotrophic Lake. **Ecotoxicology**, [S.l.], v. 14, p. 299-312, 2005.

MADONI, P. et al. Spatial distribution of microorganisms and measurements of oxygen uptake rate and ammonia uptake rate activity in a drinking water biofilter. **Environmental Technology**, London, v. 22, n. 4, p. 455-462, 2001.

MASSCHELEIN, W. J. Adsorption. In: _____. **Unit processes in drinking water treatment**. New York: Marcel Dekker, 1992. p. 321-363.

MERILUOTO, J.; CODD, G. A. Best practice guidance for management of cyanotoxins in water supplies. In: _____. **Toxic: cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis**. Åbo: Åbo Akademi University Press, 2005.

MINILLO, A. et al. Biodegradação de fármacos na água por microrganismos associados em filtros biológicos de carvão. **Revista DAE**, São Paulo, v. 179, p. 42-49, 2009.

MONTGOMERY, J. M. **Water treatment principles and design**. New York: John Wiley and Sons, 1985. 686 p.

MULROY, A. When the cure is the problem: antibiotic contamination of surface water and groundwater may be promoting the development of drug resistant pathogens. **Water Environment and Technology**, Alexandria, v. 13, p. 31-36, 2001.

MURDOCH, R. W.; HAY, A. G. Formation of catechols via removal of acid side chains from ibuprofen and related aromatic acids. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, p. 6121-6125, 2005.

MURDOCH, R. W.; HAY, A. G. Genetic and mechanistic characterization of the metabolism of ibuprofen and phenylacetic acid to catechols by removal of the acid side chain by *Sphingomonas* Ibu-2. In: GENERAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, 106., 2006, Washington, DC. **Abstracts...** Washington, DC: The American Society for Microbiology, 2006.

NEBOT, C; GIBB, S. W.; BOYD, K. G. Quantification of human pharmaceuticals in water samples by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 598, p. 87-94, 2007.

NIELSEN, P. H.; JAHN, A.; PALMGREN, R. Conceptual model composition of copolymers in biofilms. In: SPECIAL CONFERENCE ON BIOFILM SYSTEMS, 3., 1996, Copenhagen. **Proceedings...** Copenhagen: IWA, 1996.

NOUVION, N.; BLOCK, J.; FAUP, G. Effect of biomass quantity and activity on TOC removal in a fixed-bed reactor. **Water Research**, New York, v. 21, n. 1, p. 35–40, 1987.

O'MELIA, C. R.; STUMM, W. Theory of water filtration. **Journal of the American Water Works Association - AWWA**, New York, v. 59, n. 11, p. 1393, 1967.

OKABE, S.; KOKAZI, T.; WATANABE, Y. Biofilm formation potentials in drinking waters treated by different advanced treatment processes. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 2, n. 4, p. 97-104, 2002.

PÁDUA, V. L. (Coord.). **Contribuição ao estudo da remoção de cianobactérias e microcontaminantes orgânicos por meio de técnicas de tratamento de água para consumo humano**. Rio de Janeiro: ABES-Projeto PROSAB, 2006. 504 p.

PAIXÃO, D. A. A. **Prospecção gênica e diversidade bacteriana de um consórcio degradador de óleo diesel**. 2009. 59 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

PARK, H. D. et al. Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by a new bacterium isolated from a hypertrophic lake. **Environmental Toxicology**, New York, v. 16, p. 337-343, 2001.

PEREIRA, M. O. **Comparação da eficiência de dois biocidas (carbamato e glutaraldeído) em sistemas de biofilme**. 2001. Tese (Doutorado) - Departamento de Engenharia Biológica, Escola de Engenharia da Universidade do Minho, Braga, Portugal, 2001.

PERNITSKY, D. J.; FINCH, G. R.; HUCK, P. M. Disinfection kinetics of heterotrophic plate count bacteria in biologically treated potable water. **Water Research**, New York, v. 29, n. 5, p. 1235–1241, 1995.

PIMENTEL, D.; PIMENTEL, M. (Eds.). **Food, energy, and society**. Boca Raton: CRC Press, 2008. 380 p.

PIRBAZARI, M. et al. Evaluating GAC adsorbers for the removal of PCBs and toxaphene. **Journal of the American Water Works Association - AWWA**, New York, v. 84, p. 83, 1992.

PIRBAZARI, M.; BADRIYHA, B. N.; RAVINDRAN, V. MF-PAC for treating waters contaminated with natural and synthetic organics. **Journal of the American Water Works Association - AWWA**, New York, v. 84, n. 12, p. 95-103, 1992.

RANDTKE, S. J.; SNOEYINK, V. L. Evaluating GAC adsorptive capacity. **Journal of the American Water Works Association - AWWA**, New York, v. 75, n. 8, p. 406-413, 1983.

RANDTKE, S. Organic contaminant removal by coagulation and related process combinations. **Journal of the American Water Works Association - AWWA**, New York, v. 80, n. 5, p. 40-56, 1988.

REIS FILHO, R. W. et al. Fármacos, ETE's e corpos hídricos. **Revista Ambi-Água**, Taubaté, v. 2, n. 3, p. 54-61, 2007.

RHIM, J. Characteristics of adsorption and biodegradation of dissolved organic carbon in biological activated carbon pilot plant. **Korean Journal of Chemical Engineering**, Seoul, v. 23, n. 1, p. 38-42, 2006.

RICHARDSON, M. L.; BOWRON, J. M. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, London, v. 37, p. 1-12, 1985.

SANYAL, A. K.; CHOWDHUR; Y; BANERJEEU, A. B. Generation of high antimycotic activity during degradation of p-lactam antibiotic. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 14, p. 221-223, 1992.

SACHER, F. et al. Pharmaceuticals in groundwaters. Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 938, p. 199-210, 2001.

SCHOLZ, M.; MARTIN, R. Ecological equilibrium on biological active carbon. **Water Research**, New York, v. 31, n. 12, p. 2959-2968, 1997.

SCHRAP, S. M.; HEUVEL, H.; MEULEN, J.; RUITER, H.; PARSONS, J.R. A chemostat system for investigating pesticide biodegradation in continuous mixed bacteria cultures originating from surface water. **Chemosphere**, Oxford, v. 40, p. 1389- 1397, 2000.

SEREDYNSKA-SOBECKA, B. et al. Biological activation of carbon filters. **Water Research**, New York, v. 40, n. 2, p. 355-363, 2006.

SERVAIS, P. et al. A pilot study of biological GAC filtration in drinking water treatment. **Journal of Water Supply: Research and Technology -AQUA**, London, v. 41, n. 3, p.163-168, 1992.

SERVAIS, P.; BILLEN, G.; BOUILLOT, P. Biological colonisation of granular activated carbon filters in drinking-water treatment. **Journal of Environmental Engineering**, New York, v. 120, n. 4, p. 888–899, 1994.

SIBELLE, I. et al. Protozoan bacterivory and *Escherichia coli* survival in drinking water distribution systems. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 64, n. 1, p. 197–202, 1998.

SILVA, C. H. P. M. et al. Caracterização dos biofilmes formados em filtros de carvão ativado de sistemas de purificação de água em laboratórios clínicos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 4, p. 243-253, 2006.

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

SMITH, G.B.; DEZENYG, C.; DOUGLASA, W. Stability and kinetics of degradation of imipenem in aqueous solution. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Washington, DC, v. 79, p. 732-740, 1990.

SNOEYINK, V. Adsorption of organic compounds. In: AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION – AWWA. **Water quality and treatment: a handbook of community water supplies**. New York: McGraw-Hill, 1990. p. 781-867.

SPEITEL JR, G. E.; DIGIANO, F. A. The bioregeneration of GAC used to treat micropollutants. **Journal of the American Water Works Association - AWWA**, New York, v. 79, p. 64-73, 1987.

STACKELBERG, P.E.; GIBS, J.; FURLONG, E.T.; MEYER, M.T.; ZAUGG, S.D.; LIPPINCOTT, R. L. Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 377, p. 255-272, 2007.

STUMPF, M. et al. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 225, n. 1-2, p. 135-141, 1999.

SUMMERS, R. S. et al. The influence of background organic matter on GAC adsorption. **Journal of the American Water Works Association - AWWA**, New York, v. 81, n. 5, p. 66-72, 1989.

SWIATKOWSKI, A. Industrial carbon adsorbents. In: DABROWSKI, A. (Ed.). **Adsorption and its applications in industry and environmental protection**: studies in surface science and catalysis. Amsterdam: Elsevier, 1998. p. 69-93.

TAVARES, B. M. **Utilização de colunas verticais de filtração em manta e areia como pré-tratamento de filtro lento**. 2008. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2008.

TERNES, T. A. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. **Water Research**, New York, v. 32, n. 11, p. 3245-3260, 1998.

TERNES, T. A.; KRECKEL, P.; MUELLER, J. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants. II Aerobic batch experiments with activated sludge. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 225, p. 91-99, 1999.

TERNES, T.A. et al. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants: I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 225, p. 81-80, 1999.

TERNES, T. A.; HIRSCH, R. Occurrence and behavior of X-ray contrast media in sewage facilities and the aquatic environment. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 34, p. 2741-2748, 2000.

TORSVIK, V. et al. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, Oxford, v. 5, p. 240-245, 2002.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. São Paulo: Artmed, 2003.

TUNDISI, J. G. Limnologia no século XXI: perspectivas e desafios. In: CONFERENCIA DE ABERTURA DO CONGRESSO BRASILEIRO DE LIMNOLOGIA, 7., 1999, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Instituto Internacional de Ecologia, 1999. p. 937-955.

UN WATER. **Tackling a global crisis**: International Year of Sanitation. New York, 2008.

NELLEMANN, E., C. et al. (Eds.). **Sick Water?** The central role of waste-water management in sustainable development: a rapid response assessment. New York: United Nations Environment Programme - UN-HABITAT, 2010.

WANG, H. et al. Discriminating and assessing adsorption and biodegradation removal mechanisms during granular activated carbon filtration of microcystin toxins. **Water Research**, New York, v. 41, p. 4262–4270, 2007.

WATANABE, K. Microorganisms relevant to bioremediation. **Environmental Biotechnology**, Oxford, v. 12, p. 237–241, 2001.

WEBB, S. et al. Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 142, p. 157-167, 2003.

WEBER, W. J. J. **Physicochemical processes for water quality control**. New York: John Wiley and Sons, 1972. 640 p.

WEISBURG, W. G. et al. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. **Journal of Bacteriology**, Washington, DC, v. 173, n. 2, p. 697-703, 1991.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Guidelines for drinking-water quality**. 3. ed. Geneva, 2004. v.1, 540 p.

WIMPENNEY, J. W. T.; PETERS, A., SCOURFIELD, M. A. The physiology and biochemistry of biofilm. In: CHARACKLIS, W. G.; WILDERER, P. A. (Eds.). **Structure and function of biofilms**. New York: John Wiley and Sons, 1993. p. 111-127.

WINKLER, M.; LAWRENCE, J. R.; NEU, T. R. Selective degradation of ibuprofen and clofibric acid in two model river biofilm systems. **Water Research**, New York, v. 35, n. 13, p. 3197-3205, 2001.

WOO, H. et al. Micropollutant removal with saturated biological activated carbon (BAC) in ozonation-BAC process. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 36, n. 12, p. 283-298, 1997.

XIAO, X. Y.; MCCALLEY, D. V.; MC EVOY, J. Analysis of estrogens in river water and effluents using solid-phase extraction and gas chromatography-negative chemical ionisation mass spectrometry of the pentafluorobenzoyl derivatives. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 923, n. 1-2, p. 195-204, 2001.

XIE, Y. F. F.; ZHOU, H. J. Use of BAC for HAA removal. Part 2, column study. **Journal of the American Water Works Association - AWWA**, New York, v. 94, n. 5, p. 126-134, 2002.

ZWIENER, C.; FRIMMEL F. H. Oxidative treatment of pharmaceuticals in water. **Water Research**, New York, v. 34, n. 6, p. 1881-1885, 2000.

ANEXO – ANÁLISES ESTATÍSTICAS DESCRITIVAS DOS RESULTADOS

Anexo 1. Análises estatísticas descritiva dos resultados de eficiência de remoção dos filtros CAG e CAB.

Filtros	Fármacos	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão	Coefficiente Variação
CAG	Amoxicilina	19	35	94,9	76,9	15,2	20
	Naproxeno	19	88,2	98,9	93,7	2,6	3
	Diclofenaco	19	54,1	96,7	77,3	16,7	22
	Ibuprofeno	19	48,3	98,1	87,5	11	13
CAB	Amoxicilina	19	64,4	95,8	83,1	10,5	13
	Naproxeno	19	83,9	97,8	91,1	4,1	5
	Diclofenaco	19	74,8	95,4	89,8	5,5	6
	Ibuprofeno	19	39,5	95,9	81,1	14,1	15

Anexo 2. Análises estatísticas descritiva dos valores quantificados de fármacos nas amostras efluentes dos filtros CAG e CAB

Filtro	Fármaco	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão	Coefficiente Variação
CAG	Amoxicilina	19	0,1	1,28	0,49	0,32	65
	Naproxeno	19	0,11	0,66	0,34	0,17	50
	Diclofenaco	19	0,13	0,75	0,41	0,18	44
	Ibuprofeno	19	0,09	0,85	0,38	0,17	45
CAB	Amoxicilina	19	0,13	0,76	0,41	0,15	37
	Naproxeno	19	0,07	0,46	0,19	0,1	53
	Diclofenaco	19	0,17	0,77	0,45	0,18	40
	Ibuprofeno	19	0,16	0,62	0,34	0,14	41