

## **I-293 - INFLUÊNCIA DO TEMPO DE AMADURECIMENTO DOS FILTROS LENTOS EM AREIA NA REMOÇÃO DE MICROCISTINAS: AVALIAÇÃO EM ESCALA PILOTO**

**Orlandina Martins dos Santos Messias<sup>(1)</sup>**

Engenheira Sanitarista pela Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Mestre em Saúde e Ambiente pela Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Doutoranda no Programa de Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos PTARH na Universidade de Brasília (UNB)

**Cristina Celia Silveira Brandão<sup>(2)</sup>**

Engenheira Química, Doutora em Engenharia Ambiental pelo Imperial College of Science, Technology and Medicine. Professora do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília. (ENC/UnB). E-mail: cbrandao@unb.br

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Programa de PG em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos. Universidade de Brasília, Faculdade de Tecnologia, *Campus* Universitário Darcy Ribeiro, Prédio SG-12, Asa Norte, CEP 70910-900, Brasília –DF, Brasil – Tel: (65) 99984486 – e-mail: [orlandina@unb.br](mailto:orlandina@unb.br).

### **RESUMO**

A introdução de nutrientes, principalmente fósforo e nitrogênio, em fontes d'água superficiais podem desencadear o desenvolvimento de algumas espécies em detrimento de outras. De forma natural espécies de cianobactérias ocorrem no ambiente aquático em baixas densidades de células, entretanto, sob determinadas condições (elevados níveis de nitrogênio e fósforo), elas podem desenvolver florescimentos com a produção de toxinas (cianotoxinas). As microcistinas (MC) constituem um dos principais grupos das cianotoxinas, com ocorrência mundial, com elevada toxicidade para animais e humanos quando ingeridas. Essas toxinas não são facilmente removidas nas tecnologias de tratamento que envolvem a etapa de coagulação química, mas, de acordo com a literatura internacional e nacional, podem ser removidas por meio da filtração lenta. Entretanto os mecanismos de remoção e os fatores que favorecem uma maior eficiência do filtro lento ainda não estão completamente esclarecidos. Nesse contexto, o presente trabalho avaliou a evolução do amadurecimento (tempo de operação) de filtros lentos em escala piloto e sua influência na remoção de microcistinas. Seis pequenas unidades piloto de filtração lenta em areia foram utilizadas. Os resultados mostraram que o amadurecimento dos filtros lentos influencia fortemente a remoção de microcistinas, indicando que partir do 10º dia de operação é possível obter água filtrada com valores de microcistinas atendendo ao padrão de potabilidade, valores menores que 1 µg/L.

**PALAVRAS-CHAVE:** Microcistinas, Filtração lenta em areia, Tempo de amadurecimento, Biodegradação.

### **INTRODUÇÃO**

O processo de eutrofização em corpos d'água pode decorrer tanto de causas naturais, quanto por ações humanas, resultando no comprometimento da qualidade d'água e com conseqüentes alterações na composição da comunidade aquática. O desenvolvimento massivo (floreescimento) de algumas espécies de cianobactérias é uma das conseqüências desse desequilíbrio.

As cianobactérias podem produzir (toxinas), que comprometem a qualidade da água. Dentre as toxinas produzidas por cianobactérias, as microcistinas, classificadas como hepatotoxinas, são as mais detectadas em corpos aquáticos no mundo todo. Existem relatos de severas morbidades e mortalidades em animais domésticos e humanos por ingestão de água contaminada por essas microcistinas (Jochimsen *et al.*, 1988; Falconer *et al.*, 2005; entre outros).

No Brasil, em fevereiro de 1993, evidências epidemiológicas apontaram relação entre a morte de 88 pessoas, dentre 2000 que apresentaram intoxicação, após o consumo d'água do reservatório de Itaparica (BA) durante seu enchimento (Teixeira *et al.*, 1993). Mas, o incidente com comprovação científica e com repercussão internacional, aconteceu em Caruaru, estado de Pernambuco, no mês de fevereiro de 1996, onde 110 pacientes

apresentaram sintomas de intoxicação relacionados à hepatoxinas após tratamento de hemodiálise de rotina. Em curto prazo 100 pacientes desenvolveram insuficiência hepática aguda e 70 deles vieram a óbito. Em outubro de 1997, 53 destas mortes foram atribuídas a “Síndrome de Caruaru”. As vítimas foram intoxicadas, portanto, pela água contaminada com microcistinas oriunda de um açude (Jochimsen *et al.*, 1998; Pouria *et al.*, 1998; Carmichael *et al.*, 2001, Yuan *et al.*, 2006).

No Brasil, desde o ano 2000 a presença de microcistinas na água para consumo humano é limitado por lei. A Portaria MS nº 2.914/2011 (BRASIL, 2011) que atualmente “*estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade*” contempla as microcistinas como parâmetro obrigatório de monitoramento em águas para consumo humano, estabelecendo um valor máximo permitido (VMP) de 1µg/L, valor também recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

Apesar de vetado na Portaria nº 2.914/2011 do Ministério da Saúde (Brasil, 2011), algicidas continuam sendo usados para o decréscimo do número de células de cianobactérias nos ambientes aquáticos. Essa prática promove a lise das células de cianobactérias e, como consequência, a liberação das toxinas na forma dissolvida. Na forma dissolvida (extracelular), as microcistinas não são eficientemente removidas pelo processo de tratamento convencional (Himberg *et al.*, 1989; Lahti e Hiisvirta 1989). Em alguns casos, processos convencionais de tratamento de água podem promover a lise das células de cianobactérias, resultando em liberações de toxinas adicionais que ainda estavam no interior das células (Pietsch *et al.*, 2002; Ermel, 2009). Uma das alternativas para a remoção dessas toxinas por processos não convencionais é a Filtração Lenta em Areia (FLA).

A FLA é uma tecnologia de operação e manutenção simples, que não utiliza produtos químicos ou equipamentos sofisticados para seu funcionamento. O tratamento d’água realizado em filtros lentos em areia (FLAs) ocorre predominantemente por meio de processos biológicos (biofiltração) em um biofilme (*schumtzdecke*) formado ao longo do período de amadurecimento do filtro. Esse tratamento é capaz de remover micro-organismos patogênicos, incluindo vírus, bactérias, cistos de parasitas intestinais (Bourne *et al.*, 2006; Ho *et al.*, 2006; Tsuji *et al.*, 2006), e contribui na redução dos níveis de matéria orgânica biodegradável (MOB) (Visscher, 2006).

As microcistinas são suscetíveis à degradação biológica. Diversos trabalhos apontam uma variedade de micro-organismos responsáveis por sua remoção em águas. Até o momento, grande parte da literatura a respeito da degradação biológica de microcistinas demonstra essa degradação em ambientes naturais (Jones e Orr, 1994; Rapala *et al.*, 1994; Cousins *et al.*, 1996; Christoffersen *et al.*, 2002; Holst *et al.*, 2003). Dos estudos realizados sobre a filtração biológica de microcistinas, somente uns poucos abordaram a degradação durante o processo de filtração lenta em areia (Lahti e Hiisvirta 1989; Grützmacher *et al.* 2002; Ho *et al.* 2006, Ho *et al.* 2007). Nos estudos em questão, a aplicação de técnicas de biologia molecular tem auxiliado na definição dos micro-organismos envolvidos na degradação de microcistinas.

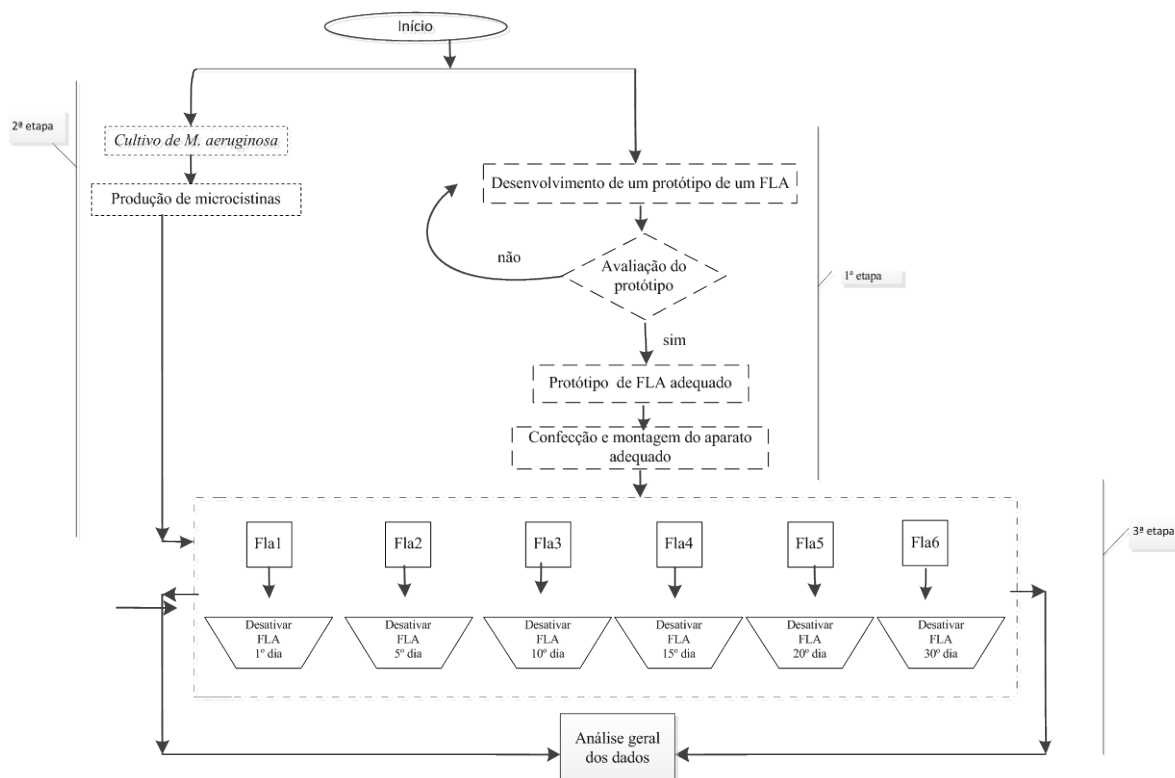
Nesse sentido, os estudos realizados, embora ainda poucos, revelam que a biodegradação de microcistinas pode ocorrer por ação de bactérias (principalmente pelo gênero *Sphingomonas*) e de algumas espécies de algas das crisófitas (principalmente gênero *Poterioochromonas*), autóctonas em ambientes que comumente apresentam florações de cianobactérias produtoras de cianotoxinas. Dessa maneira, pode-se vislumbrar a promissora eficiência dos processos biológicos de tratamento de água para remoção de cianotoxinas e cianobactérias, principalmente na presença de organismos aclimatados a essas toxinas.

Nesse contexto, e com objetivo de contribuir para o melhor entendimento dos processos envolvidos na remoção de microcistinas em FLAs, buscou-se, neste trabalho, avaliar a evolução do amadurecimento de FLAs e sua influência na remoção das microcistinas.

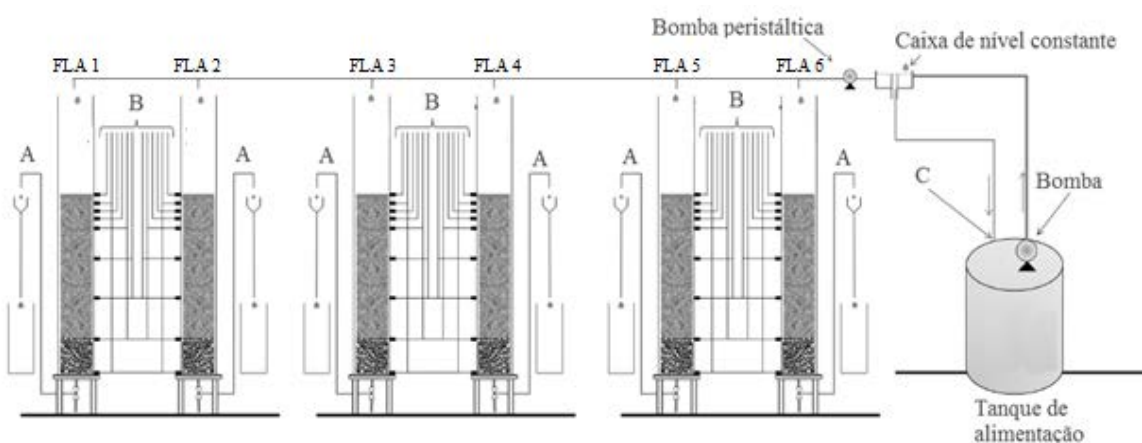
## MATERIAIS E MÉTODOS

Para o desenvolvimento do trabalho, foi montado um sistema de filtração lenta em areia (FLA) em escala piloto no Laboratório de Análise de Água (LAA) do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da UnB. O sistema era composto por seis pequenas unidades piloto de filtração lenta em areia.

O trabalho foi desenvolvido em três etapas: 1) desenvolvimento de um sistema de filtração lenta em areia; 2) cultivo da espécie de *Microcystis aeruginosa* cepa NPLJ 4 e produção de microcistinas; 3) operação dos filtros lentos piloto com água contendo microcistinas em concentrações e tempos de operação pré-determinados. A Figura 1 apresenta um diagrama com as etapas do trabalho, enquanto a Figura 2 mostra um esquema da instalação piloto de filtração lenta.



**Figura 1 – Diagrama de estudo com seis filtros lentos: FLA1, FLA2, FLA3, FLA4, FLA5 e FLA6.**



**Figura 2 - Esquema geral da instalação piloto (sem escala).**

**Legenda:** A - saída de água filtrada; B - tomadas de pressão; C - vazão excedente de água de estudo que retorna ao tanque de alimentação; FLAi – filtros FLA1, FLA2, FLA3, FLA4, FLA5 e FLA6.

O sistema foi composto por seis colunas de filtração (aqui denominados Filtros Lentos em Areia – FLAs) instaladas em um aparato de sustentação conforme mostrado na Figura 2. Na instalação a água bruta era recalcada para uma caixa de nível constante (CNC) a partir de uma bomba. A partir da CNC a água era alimentada aos filtros com auxílio de uma bomba peristáltica de 6 cabeçotes. Dessa forma, durante a operação da instalação piloto, os seis filtros lentos de areia (FLA1, FLA2, FLA3; FLA4, FLA5 e FLA6) eram alimentados em paralelo com mesma vazão de água.

Os FLAs foram confeccionados em colunas de acrílico de 30 mm de diâmetro interno. A opção por trabalhar com colunas de pequeno diâmetro foi função da capacidade de produção de microcistinas a partir do cultivo de *Microcystis aeruginosa*. O processo de filtração tem sido simulado com sucesso mesmo utilizando colunas de filtração de pequena dimensão quando a velocidade de filtração é baixa como no caso dos filtros lentos.

O meio filtrante utilizado consistiu de areia com diâmetro efetivo de 0,27mm, coeficiente de uniformidade de 1,85 e espessura do meio filtrante de 0,50m. A Tabela 1 resume as características das colunas e do meio filtrante dos filtros lentos em areia. A areia, antes da montagem dos filtros, foi seca em estufa a 105°C por um período superior a dois dias. Esse procedimento de secagem buscou assegurar a maior remoção dos resíduos orgânicos e microbiológicos. Com isso, parte-se do pressuposto que o meio filtrante encontrava-se estéril no início dos experimentos conforme o objetivo do estudo.

**Tabela 1 – Características dos FLAs**

Parâmetros	Valores adotados
Diâmetro interno dos FLAs (m)	0,03
Altura das colunas (m)	1,25
Espessura do meio filtrante (m)	0,50
Tamanho dos grãos (mm)	0,15 – 0,84
Diâmetro efetivo (mm)	0,27
Coeficiente de uniformidade ( $d_{60}/d_{10}$ )	1,85
Porosidade ( $\epsilon$ )	0,40
Taxa de filtração ( $m^3/m^2.d$ )	3

Nos FLAs foram posicionados seis pontos de tomadas de pressão, sendo cinco ao longo do meio filtrante e um na interface pedregulho e areia. A finalidade desses pontos de tomada de pressão foi verificar a evolução da perda de carga e, em consequência, a retenção das impurezas nas diversas profundidades do leito filtrante dos FLAs.

Para proceder os experimentos utilizou-se uma água de estudo composta por a água do lago Paranoá (Brasília – DF) contaminada, intencionalmente, com microcistinas obtidas a partir do cultivo de células da espécie *Microcystis aeruginosa*, linhagem NPLJ-4, cultivadas no Laboratório de Análise de Águas LAA/UnB.

As células de *Microcystis aeruginosa* provenientes dos cultivos foram submetidas à lise celular por meio de gelo e degelo três vezes consecutivas seguido de processo de sonificação. O gelo/degelo promoveu o rompimento da membrana celular e, consequentemente, a liberação de microcistinas e de outros compostos intracelulares, para o meio líquido. O material lisado foi filtrado, em membranas nas medidas 8µm (membrana de papel), 1µm (microfibra de vidro) e 0,45µm (éster de celulose). O material produzido após esse processo denominado de extrato aquoso (EA) foi homogeneizado e novamente congelado até o momento da preparação da água de estudo (AE).

Com a finalidade de avaliar a capacidade dos seis FLAs na remoção de microcistinas, optou-se por escolher uma água bruta compatível com os processos da filtração lenta em areia. A água do lago Paranoá apresenta características compatíveis com o tratamento por filtração lenta, como baixa turbidez, cor e presença de algas. A água “in natura” utilizada nesse trabalho foi, portanto, proveniente do lago Paranoá (Brasília-DF), coletada do seu braço norte.

O lago Paranoá formado artificialmente em 1959, localiza-se no perímetro urbano da cidade de Brasília – DF. Na década de 1970 esse ambiente experimentou processos de eutrofização, com mortalidade de peixes e florescimentos de *Microcystis aeruginosa*. Alguns estudos avaliaram a degradação de cianotoxinas em corpos d’água que experimentaram florescimentos tóxicos (Jones e Orr, 1994; Ho *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2008; Hoefel *et al.*, 2009) os resultados sugeriram que a pré-exposição da microcistina influência na sua biodegradação.

No presente estudo foram feitas duas repetições do experimento com duração de 30 dias e sob condições similares. Os FLAs foram operados em paralelo, com uma taxa de filtração de 3m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>.d, em tempos de

operação distintos, como apresentado na Tabela 2. Como já mencionado, a água de estudo (AE) utilizada para alimentação dos FLAs foi preparada adicionando-se à água do lago Paranoá uma alíquota de extrato aquoso (EA) de microcistinas.

**Tabela 2 – Dias de operação de cada FLAs em um experimento**

FLAs	Número de dias em operação
FLA 4	1
FLA 2	5
FLA 3	10
FLA 5	15
FLA 1	20
FLA 6	30

Para a avaliação do desenvolvimento da camada biológica (*schmutzdecke*) nos diferentes períodos de amadurecimento dos 6 filtros, fixou-se um período máximo de 30 dias de funcionamento para o último filtro a ser retirado de operação. Durante o período de operação de cada filtro, foram feitas análises físico-químicas (turbidez, pH, alcalinidade, clorofila, condutividade), bacteriológicas (coliformes totais e *Escherichia coli*), microcistinas, microbiológicas (inventário taxonômico) e de biologia molecular (Reação em cadeia de polimerase – PCR) da água bruta, AE, filtrada e do leito filtrante para cada um dos FLAs em funcionamento. No presente trabalho são discutidos os resultados relativos à remoção de microcistinas, quantificada utilizando-se a técnica de ELISA por meio de kits comerciais, com faixa de detecção entre 0,15 a 5µg/L.

## RESULTADOS

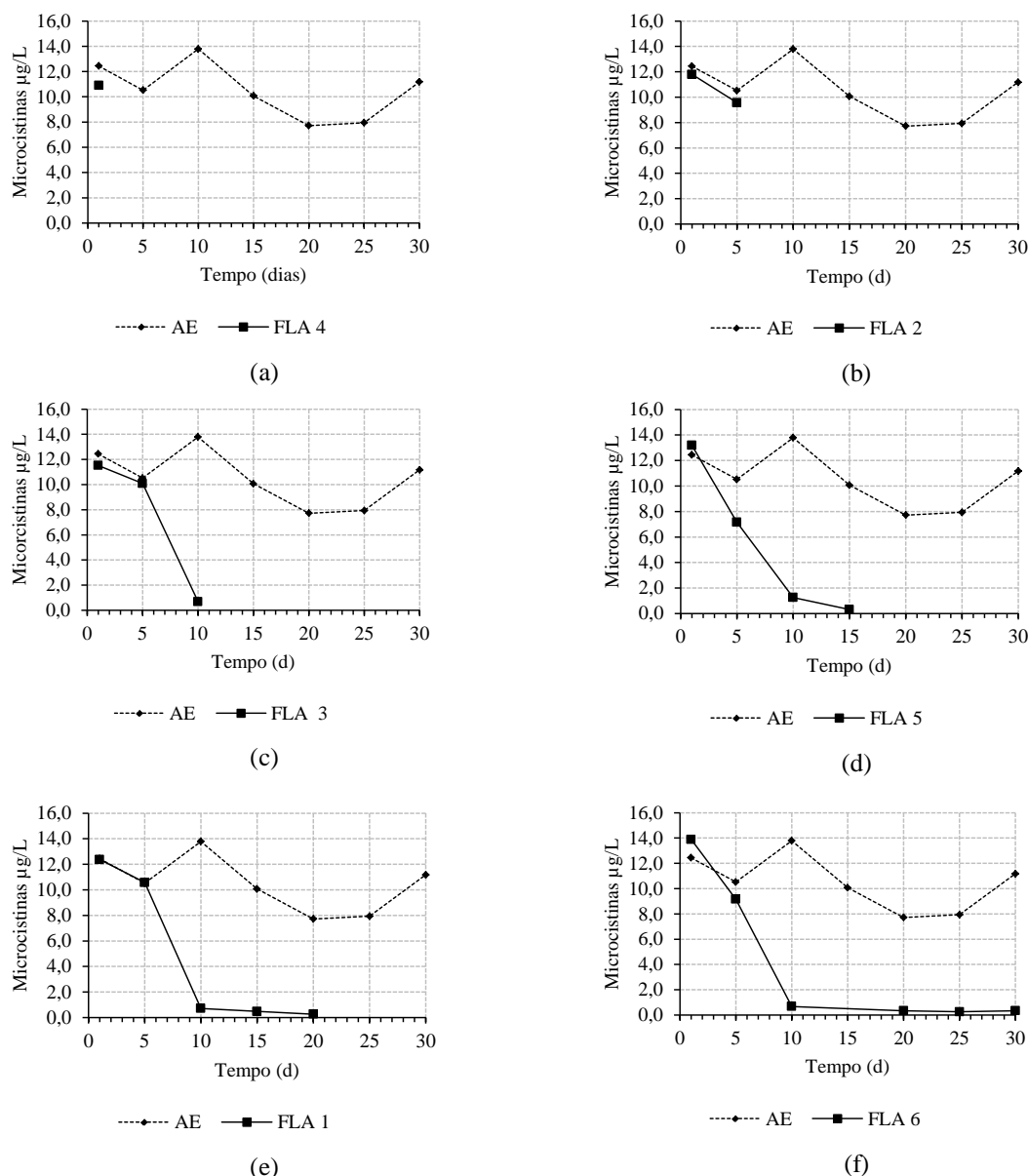
Com o objetivo de manter similaridade e/ou réplica, os seis Filtros Lentos em Areia (FLAs) em escala piloto foram construídos, montados e operados sob mesmas condições. O início da operação ocorreu no mesmo tempo para os seis FLAs, mas cada um deles foi operado por período de tempo distinto (Tabela 2) com o objetivo de avaliar a influência o tempo de operação na remoção de microcistinas (MC).

A Figura 3 apresenta o comportamento da água de estudo (AE) e da água filtrada com relação a concentração de MC nas 6 unidades de filtração operadas por períodos distintos. A concentração de microcistinas na água bruta variou de cerca de 8 a 14 µg/L.

Observa-se que nas unidades que operaram por 10 dias, ou mais, o efluente apresentava concentrações de microcistinas inferiores ao valor máximo permitido de 1µg/L segundo a Portaria MS 2.914 de 2011, com exceção do FLA5 (Figura 3d) que, no 10º dia de operação, produziu água com residual de MC marginalmente superior a 1µg/L. Como pode ser visto nas Figuras 3c, 3d, 3e e 3f, no 10º dia de operação, o FLA3, o FLA5, o FLA1 e o FLA6 apresentaram concentrações de MC de, respectivamente, 0,69 µg/L, 1,26 µg/L, 0,72 µg/L e 0,68µg/L. A partir do 10º dia de operação o teor de MC no efluente apresentou um ligeiro declínio até o final do período de operação de 30 dias.

Após o 10º dia de operação os FLAs 3, 1 e 6, apresentaram eficiência de remoção de microcistinas, em torno de 95% e com concentrações inferiores a 0,5 µg/L. Grützmacher *et al.* (2002) relatam eficiência de remoção de microcistinas dissolvidas superiores a 96% em experimento com filtro lento alimentado com taxa de filtração de 0,8 m/d, por 30 horas, com água contendo, em média, 8 µgMC/L. Considerando a diferença significativa da taxa de filtração utilizada no presente trabalho e no trabalho de Grützmacher e colaboradores, pode se dizer que os resultados obtidos são muito promissores.

Como pode ser observado na Figura 3, a concentração de microcistinas no efluente dos filtros foi altamente influenciada pelo período de operação dos FLAs, e pouco influenciada pela concentração na água bruta. Os resultados sugerem que a colonização dos organismos degradadores aconteceu entre o quinto e décimo dia e, a partir daí, a comunidade biológica entra em equilíbrio. Para Ellis (1985), a principal característica da filtração lenta em areia é a atividade biológica que se desenvolve com o passar do tempo sobre o topo da camada filtrante denominada *schmutzdecke*, fundamental no processo de purificação d'água. A presença da *schmutzdecke* sugere que o filtro está amadurecido.



**Figura 3 – Remoção de microcistinas por meio dos FLAs 4(a), 2(b), 3(c), 5(d), 1(e) e 6(f) durante 1, 5, 10, 15, 20 e 30 dias de operação respectivamente.**

Sá (2002), que avaliou a remoção de células viáveis de *Microcystis aeruginosa* e de microcistinas dissolvidas na água por meio de filtração lenta, observou que quando as MCs já se encontravam dissolvidas na água afluente aos filtros, a eficiência de remoção dessas toxinas era mais elevada do que quando a toxina era liberada no filtro em função da lise celular. O autor relata diferenças de eficiência de remoção de microcistinas, e também de células, quando o filtro já havia passado por período de amadurecimento e quando a comunidade biológica já havia tido prévio contato com as toxinas. Em outro estudo, Sá (2006) confirma que o grau de maturação dos filtros e a aclimação da microcistinas são fatores importantes para efetividade do tratamento de água com microcistinas por meio de filtração lenta.

Pesquisa desenvolvida por Ho *et al.* (2006) na Austrália, que teve como objetivo avaliar degradação biológica de MC-LR e MC-LA por meio de filtração lenta em areia, utilizou filtros previamente expostos à microcistinas e filtro não exposto à toxina (estéril). Da comparação do comportamento dos filtros com o tempo, os autores observaram que o tempo necessário para estabelecimento do biofilme e aclimação dos micro-organismos para degradação da microcistinas no meio estéril foi bem curto, inferior a 4 dias. Entretanto os filtros em que o meio



filtrante foi previamente exposto à microcistinas se mostraram eficientes na remoção da toxina antes do filtro com meio estéril, reforçando que a remoção de microcistinas ocorre por meio de processos biológicos, e não por meio a outros processos físicos, como a adsorção. A pré-existência de uma comunidade microbiológica permite atuar como substrato e consequentemente aumentar a fixação de novas comunidades por meio da presença de substâncias poliméricas extracelulares (Sutherland, 2001; Alpkvist *et al.* 2006).

No presente estudo o tempo de amadurecimento dos filtros estéreis foi maior do que o observado nos trabalhos de Ho e colaboradores (2006 e 2007), mas foram da mesma ordem de grandeza. A diferença observada pode estar relacionada à composição e a abundância da comunidade microbiológica degradadora no corpo d'água, no caso deste estudo o lago Paranoá que hoje se apresenta como lago oligotrófico. Estudos indicam uma relação direta entre a abundância dos organismos degradadores e taxa de degradação de MC (Hoefel *et al.*, 2009).

## CONCLUSÕES

Neste trabalho foi possível verificar que os FLAs operados com taxa de filtração de 3 m/d, após um período de 10 dias de amadurecimento, foram capazes de remover eficientemente, e de forma contínua, microcistinas dissolvas na água bruta em concentrações entre 8 e 14 µg/L, produzindo, consistentemente, água com concentração de microcistinas inferior ao estabelecido no padrão de potabilidade.

A variação da concentração de microcistinas, na faixa estudada, não parece afetar o comportamento do filtro lento com relação à remoção das toxinas. Entretanto o tempo de operação, que influencia o amadurecimento do filtro, foi o fator de importância para garantir uma elevada remoção de microcistinas e reforça a teoria que a remoção ocorre principalmente por meio da degradação biológica.

Na continuidade deste trabalho, técnicas moleculares estão sendo utilizadas para identificação de micro-organismos presentes no manancial (água bruta) no biofilme dos FLAs após a retirada de operação, na tentativa identificar os micro-organismos responsáveis pela degradação das microcistina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

1. Alpkvist, E., Picioreanu, C., van Loosdrecht, M. C. M., and Heyden, A. □2006. "Three-dimensional biofilm model with individual cells and continuum EPS matrix." *Biotechnol. Bioeng.*, 94□5, 961–979.
2. Bourne D.G., Blakeleyb R.L., Riddlesc P., Jonesa G.J. (2006) "Biodegradation of the cyanobacterial toxin microcystin LR in natural water and biologically active slow sand filters." *Water Research*, 40, 1294-1302.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914 (2011). "Procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão potabilidade." *Diário Oficial da União*, Brasil.
4. Carmichael WW, Azevedo SMFO, Na JS, Molica RJR, Jochimsen EM, Lau S, Rinehart KL, Shaw GR, Eaglesham GK (2001). Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental Health Perspectives*, 109(7): 663-668.
5. Christoffersen K., Lyck S., Winding A. (2002). "Microbial activity and bacterial community structure during degradation of microcystins." *Aquatic Microbial Ecology*, 27, 125–136.
6. Cousins I. T., Bealing D. J., James H. A., Sutton and A. (1996). "Biodegradation of microcystin-lr by indigenous mixed bacterial populations." *Water Research*, 30(2), 481-485.
7. Ermel, A.V. B. (2009). Análise da lise de células de *Microcystis aeruginosa* e de *Cylindrospermopsis raciborskii* e da liberação e degradação de cianotoxinas em função do tempo de armazenamento do lodo em decantadores. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação MTARH.DM-128/09, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 118p.
8. Falconer, I.R., 2005. Cyanobacterial Toxins in Drinking Water Supplies: Cylindrospermopsins and Microcystins. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
9. Grützmacher, G., Böttcher, G., Chorus, I. e Bartel, H. (2002). "Removal of Microcystins by Slow Sand Filtration." *Environmental Toxicology*, 17(4), 386-394.
10. Himberg, K., Keijola, A. M., Hiisvirta, L., Pyysalo, H., and Sivonen, K. □1989. "The effect of water treatment processes on the removal of hepatotoxins from *Microcystis* and *Oscillatoria* cyanobacteria. A laboratory study." *Water Res.*, 23□8, 979–984.

11. Ho, L., Hoefel, D., Saint, C.P., Newcombe, G. (2007). "Isolation and identification of a novel microcystin-degrading bacterium from a biological sand filter." In: *Water Research*, 41, 4685-4695.
12. Ho, L., Meyn, T., Keegan, A., Hoefel, D., Brookes, J., Saint, C.P., Newcombe, G. (2006). "Bacterial degradation of microcystin toxins within a biologically active sand filter." In: *Water Research*, 40, 768-774.
13. Hoefel, D., Adriansen, C., Bouyssou, M., Saint, C.P., Newcombe, G., Ho, L., 2009a. Development of an *mlrA* gene-directed TaqMan PCR assay for quantitative assessment of microcystin-degrading bacteria within water treatment plant sand filter biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 5167-5169.
14. Holst, T., Jørgensen, N.O.G., Jørgensen, C., Johansen, A., 2003. Degradation of microcystin in sediments at oxic and anoxic, denitrifying conditions. *Water Res.* 37, 4748-4760.
15. Jochimsen, E.M., Carmichael, W.W., An, J., Cardo, D.M., Cookson, S.T., Holmes, C.E.M., Antunes, M.B.C., Filho, D.A.M., Lyra, T.M., Barreto, V.S. T., Azevedo, S.M.F.O., Jarvis, W.R., 1998. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *Massachusetts Medical Society* 338 (13), 873-878.
16. Jones, G. e Orr, P.T. (1994). "Release and degradation of microcystin following algicide treatment of a *Microcystis aeruginosa* bloom in a recreational lake, as determined by HPLC and protein phosphatase inhibition assay." *Water Research*, 28, 871-880.
17. Lahti, K., and Hiišvirta, L. □1989. "Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: Review of studies conducted in Finland." *Water Supply*, 7□4, 149-154.
18. Pietsch, J., Bornmann, K., and Schmidt, W. □2002□. "Relevance of intra- and extracellular cyanotoxins for drinking water treatment." *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 30□1, 7-15.
19. Pouria S, de Andrade A, Barbosa J, Cavalcanti RL, Barreto VTS, Ward CJ, Preiser W, Poon GK, Neild GH, Codd GA (1998). Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *The Lancet*, 352: 21-26
20. Rapala, J., Lahti, K., Sivonen, K., Niemälä, S.I., 1994. Biodegradability and adsorption on lake sediments of cyanobacterial hepatotoxins and anatoxin-a. *Lett. Appl. Microbiol.* 19, 423-428.
21. Sá, J.C. (2002). Remoção de *Microcystis aeruginosa* e microcistina pelo processo de filtração lenta. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação MTARH.DM-48/02, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 115p.
22. Sá, J.C. (2006). Influência das características da camada filtrante e da taxa de filtração na eficiência de remoção de *Microcystis aeruginosa* e microcistina na filtração lenta em areia. Tese de Doutorado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARH.TD-02/06, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 186p
23. Smith, M.J., Shaw, G.R., Eaglesham, G.K., Ho, L., Brookes, J.D., 2008. Elucidating the factors influencing the biodegradation of cylindrospermopsin in drinking water sources. *Environ. Toxicol.* 23, 413-421.
24. Sutherland, I. W. □2001. "Exopolysaccharides in biofilms, flocs and related structures." *Water Sci. Technol.*, 43□6, 77-86.
25. Teixeira, M.G.L.C.; Costa, M.C.N.; Carvalho, V.L.P.; Pereira, M.S. e Hage, E. (1993). Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica, Bahia, Brazil. *Bulletin of PAHO*, 27(3): 244-253
26. Tsuji, K., Asakawa, M., Anzai, Y., Sumino, T., Harada, K.-I., 2006. Degradation of microcystins using immobilized microorganism isolated in an eutrophic lake. *Chemosphere* 65, 117e124.
27. Visscher, Jan Teun (2006). Facilitating Community Water Supply Treatment: From transferring filtration technology to multi-stakeholder learning. Delft, the Netherlands, IRC International Water and Sanitation Centre. 256 p.
28. Yuan, M., Carmichael, W.W., Hilborn, E.D., 2006. Microcystin analysis in human sera and liver from human fatalities in Caruaru, Brazil 1996. *Toxicon* 48, 627e640.