

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL

**AVALIAÇÃO EM ESCALA DE BANCADA DA EFICIÊNCIA
DA QUITOSANA E DO SULFATO DE ALUMÍNIO NA
REMOÇÃO DE *Microcystis aeruginosa* E *Cylindrospermopsis
raciborskii* POR SEDIMENTAÇÃO E DA LIBERAÇÃO E
DEGRADAÇÃO DE CIANOTOXINAS EM FUNÇÃO DO
TEMPO DE ARMAZENAMENTO DO LODO**

NIELDE SOUZA DO PRADO

ORIENTADOR: YOVANKA PÉREZ GINORIS

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM TECNOLOGIA AMBIENTAL E
RECURSOS HÍDRICOS**

PUBLICAÇÃO: PTARH.DM-193/2016

BRASÍLIA/DF: OUTUBRO – 2016

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL

**AVALIAÇÃO EM ESCALA DE BANCADA DA EFICIÊNCIA DA
QUITOSANA E DO SULFATO DE ALUMÍNIO NA REMOÇÃO DE
Microcystis aeruginosa E *Cylindrospermopsis raciborskii* POR
SEDIMENTAÇÃO E DA LIBERAÇÃO E DEGRADAÇÃO DE
CIANOTOXINAS EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO
DO LODO**

NIELDE SOUZA DO PRADO

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL DA FACULDADE DE TECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM TECNOLOGIA AMBIENTAL E RECURSOS HÍDRICOS.

APROVADA POR:

Prof^a. Yovanka Pérez Ginoris, Doutora (ENC/UnB)
(Orientadora)

Prof^a. Cristina Celia Silveira Brandão, PhD (ENC/UnB)
(Examinadora Interna)

Prof^a. Beatriz Susana Ovruski de Ceballos, Doutora (CCBS/UEPB)
(Examinadora Externa)

BRASÍLIA/DF, 10 DE OUTUBRO DE 2016.

FICHA CATALOGRÁFICA

PRADO, NIELDE SOUZA

Avaliação em escala de bancada da eficiência da quitosana e do sulfato de alumínio na remoção de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* e da liberação e degradação de cianotoxinas em função do tempo de armazenamento do lodo.

xvi, 112p., 210 x 297 mm (ENC/FT/UnB, Mestre, Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, 2016).

Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília.

Faculdade de Tecnologia.

Departamento de Engenharia Civil e Ambiental.

1. Quitosana

2. *Microcystis aeruginosa*

3. *Cylindrospermopsis raciborskii*

4. Sedimentação

5. Lise celular

6. Degradação de toxinas

I. ENC/FT/UnB

II. Título (série)

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

PRADO, N. S. (2016). Avaliação em escala de bancada da eficiência da quitosana e do sulfato de alumínio na remoção de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* e da liberação e degradação de cianotoxinas em função do tempo de armazenamento do lodo. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARH.DM-193/2016, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 112p.

CESSÃO DE DIREITOS

AUTOR: Nielde Souza do Prado.

TÍTULO: Avaliação em escala de bancada da eficiência da quitosana e do sulfato de alumínio na remoção de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* e da liberação e degradação de cianotoxinas em função do tempo de armazenamento do lodo.

GRAU: Mestre

ANO: 2016

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva outros direitos de publicação e nenhuma parte dessa dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem autorização por escrito do autor.

Nielde Souza do Prado
nieldeprado@yahoo.com.br

À minha família pelo apoio incondicional, especialmente ao meu pai e minha mãe, que tanto lutaram para que esse momento pudesse acontecer. É imensurável o amor e gratidão que tenho por eles.

Ao meu companheiro de todas as horas, Bruno Mateus, pelo apoio emocional e prático nas horas difíceis.

Aos amigos e colegas de curso, por abrandarem os momentos difíceis com boas palavras e boas risadas

AGRADECIMENTOS

Creio ser esta o fim de mais um jornada em minha vida, cumprida sob muita dedicação e abdicção; sob muitas risadas e muitas lágrimas. As dificuldades foram muitas, porém, superadas com o auxílio de amigos, alguns colegas de classe, professores, família e, principalmente, com toda a força e proteção que só Deus pode oferecer.

Com isso, não posso deixar de agradecer, primeiramente, a Deus, responsável pela minha existência e por dar-me força e saúde para superar as dificuldades e para viver os momentos felizes da vida, dentre eles, o que estou vivenciando agora.

Agradeço à minha família e, especialmente, aos meus pais, não somente por me proporcionarem a oportunidade de cursar uma pós graduação, um universo muito distante de suas vidas, mas também, por me ensinarem valores enquanto ser social e me oferecerem todo o amor que me faz sentir viva a cada dia.

Agradeço também a todos os professores que contribuíram para minha formação nesse universo científico, especialmente, à professora e orientadora desse trabalho, Yovanka Pérez Ginoriz, pela simplicidade com a qual compartilha e recebe conhecimento e, pelas imprescindíveis orientações e apoio durante a elaboração desse trabalho. Professora Yovanka, foi uma responsabilidade e um satisfação imensa ter sido sua orientanda.

Às colaboradoras do Laboratório de Saneamento Ambiental, Marcilene, Carla, Sara e Manuela, que muito contribuíram com seus conhecimentos para efetivação das etapas experimentais desse trabalho, agradeço a paciência e colaboração.

Ao meu companheiro, Bruno Mateus, minha gratidão eterna pelas ajudas concedidas no laboratório, pelas palavras de incentivo nas horas difíceis, pelas risadas, enfim, pelo companheirismo em todos os momentos da minha vida, desde que o conheci.

Por fim, agradeço aos meus colegas de curso, muito dos quais, se tornaram amigos (Anne Relvas, Thallyta Manuela, Daniel Valencia, Andreia Almeida, Gilliard Nunes e Patrícia Bonolo), pela força nas madrugadas, pelo companheirismo e pelos conhecimentos e risadas compartilhados.

Termino dizendo que foi bom demais ter vivido essa experiência!!

RESUMO

AVALIAÇÃO EM ESCALA DE BANCADA DA EFICIÊNCIA DA QUITOSANA E DO SULFATO DE ALUMÍNIO NA REMOÇÃO DE *Microcystis aeruginosa* E *Cylindrospermopsis raciborskii* E DA LIBERAÇÃO E DEGRADAÇÃO DE CIANOTOXINAS EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO DO LODO

Autor: Nielde Souza do Prado

Orientadora: Yovanka Pérez Ginoris

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos

Brasília, Outubro de 2016

O aumento da ocorrência de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* em mananciais de abastecimento público brasileiros é preocupante, principalmente devido aos efeitos genotóxicos das toxinas produzidas por esses organismos aos humanos e à biota em geral. A sedimentação apresenta-se pouco eficiente na remoção de cianotoxinas, porém, é efetiva na remoção de células de cianobactérias, se observadas boas condições operacionais. A efetiva remoção de cianobactérias pela sedimentação reflete em maior quantidade de lodo nos decantadores, o qual pode comprometer a qualidade da água clarificada, dada a possibilidade de lise celular e liberação de toxinas. Os poucos estudos existentes sobre a *C. raciborskii* têm mostrado resultados bastante divergentes quando do uso da sedimentação e coagulantes metálicos para remoção de suas células. A quitosana é um coagulante natural estudado como alternativa aos coagulantes metálicos, porém, são escassos os trabalhos que avaliaram seu emprego na remoção de cianobactérias, especialmente, para remoção de *C. raciborskii*. Nesse trabalho buscou-se avaliar comparativamente o desempenho da quitosana e do sulfato de alumínio na remoção de células de *M. aeruginosa* e *C. raciborskii* pelo processo de sedimentação, bem como a influência desses coagulantes e do tempo de armazenamento do lodo na lise celular, liberação e degradação de microcistinas e cilindrospermopsinas. Para *C. raciborskii*, ambos coagulantes apresentaram desempenho semelhante, com percentuais de remoção de turbidez e cor aparente acima de 80%, para uma ampla faixa de pH e dosagens de coagulante. Quanto à *M. aeruginosa*, numa condição de pH e dosagem bastante restrita (pH 7,0 e dosagens entre 1 e 9 mg/L), a remoção de células foi menor com o uso da quitosana (71%), enquanto que o sulfato de alumínio removeu 90% de células em pH entre 5,0 e 6,0 e dosagens acima de 8 mg/L. Os ensaios de armazenamento do lodo evidenciaram concentração apreciável de cilindrospermopsina extracelular no 10º dia, tanto com o uso da quitosana quanto do sulfato de alumínio, não sendo observada degradação dessa toxina, mesmo após decorrido 40 dias de armazenamento. Para *M. aeruginosa*, observou-se concentração máxima de microcistina extracelular no 3º dia e 100% de degradação no 10º dia, com quitosana. Com sulfato de alumínio, a concentração máxima de microcistina extracelular para a amostra com coagulante se deu no 10º dia, com degradação completa no 20º dia; enquanto que para a amostra sem coagulante, no 5º dia e 10º dia, respectivamente.

Palavras-chave: Quitosana, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis aeruginosa*, sedimentação, armazenamento do lodo, cilindrospermopsinas, microcistinas.

ABSTRACT

BENCH SCALE AVALIATION OF THE CHITOSAN AND ALUMINUM SULPHATE EFFICIENCY IN *Microcystis aeruginosa* AND *Cylindrospermopsis raciborskii* REMOVAL AND THE RELEASE AND DEGRADATION OF CYANOTOXINS DUE TO SLUDGE STORAGE TIME

Author: Niede Souza do Prado

Supervisor: Yovanka Pérez Ginoris

Environmental Technology and Water Resources Post-Graduation Program

Brasilia, October 2016

The increase in the occurrence of *Microcystis aeruginosa* and *Cylindrospermopsis raciborskii* in Brazilian public drinking water sources is concern, mainly due to the genotoxic effects of toxins produced by these organisms on humans and general biota. Sedimentation is not very efficient in the removal of cyanotoxins, however, it is effective in removing cyanobacteria cells, if good operating conditions requirements are met. Effective removal of cyanobacteria by sedimentation reflects a greater amount of sludge in the decanters, which can compromise clarified water quality, given the possibility of cell lysis and release of toxins. The few existing studies on *C. raciborskii* have shown quite divergent results regarding the use of the sedimentation and metal coagulants for removal of their cells. Chitosan is a natural coagulant studied as an alternative to metallic coagulants, however, there are few studies evaluating its use in the removal of cyanobacteria, especially for the removal of *C. raciborskii*. This study was to evaluate the performance of chitosan and aluminum sulfate in the removal of *M. aeruginosa* and *C. raciborskii* cells by the sedimentation process and to assess the influence of these coagulants and sludge storage time in cell lysis, release and degradation of microcystins and cylindrospermopsins. For *C. raciborskii*, both coagulants presented similar performance, with turbidity and apparent color removal percentages above 80%, for a wide range of pH and coagulant dosages. Regarding *M. aeruginosa*, in pH and dosage condition very narrow (pH of 7.0 and dosages between 1 and 9 mg/L), cell removal was lower with chitosan (71%), while aluminum sulfate removed 90% of cells at pH between 5.0 and 6.0 and dosages above 8 mg/L. Sludge storage tests evidenced appreciable concentration of extracellular cylindrospermopsin on the 10 th day, both with the use of chitosan and aluminum sulphate, and it was not observed any degradation of this toxin even after 40 days of storage. With *M. aeruginosa*, it was observed a maximum concentration of extracellular microcystin on day 3 and 100% of degradation on the 10th day, with chitosan. With aluminum sulfate, the maximum concentration of extracellular microcystin for the sample with coagulant occurred on the 10th day, with complete degradation on the 20th day; whereas for the sample without coagulant, on the 5th day and 10th day, respectively.

Keywords: Chitosan, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis aeruginosa*, sedimentation, sludge storage, cylindrospermopsins, microcystins.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	v
RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - OBJETIVOS.....	5
2.1 - OBJETIVO GERAL	5
2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
3 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
3.1 - CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS	6
3.1.1 - Cilindropermopsinas e Microcistinas	10
3.1.2 - Degradação de microcistinas e cilindropermopsina	12
3.1.3 - Legislação: padrões nacionais para cianotoxinas.....	16
3.2 - FUNDAMENTOS TEÓRICOS: COAGULAÇÃO, FLOCULAÇÃO E SEDIMENTAÇÃO.	18
3.2.1 - Coagulação	18
3.2.2 - Coagulantes	22
3.2.3 - Flocculação e sedimentação.....	24
3.3 - QUITOSANA.....	26
3.4 - PROCESSOS DE TRATAMENTO DE ÁGUA PARA REMOÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS.....	34
3.4.1 - Aplicação da Coagulação e sedimentação para remoção de cianobactérias e cianotoxinas.	37
3.4.2 - Lise de células de cianobactérias nos decantadores em função do período de armazenamento do lodo.	43
4 - METODOLOGIA	49
4.1 - ÁGUAS DE ESTUDO	50
4.2 - COAGULANTES	50
4.3 - ENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DAS CÉLULAS DE CIANOBACTÉRIAS (ETAPA 1) E ENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA LIBERAÇÃO E DEGRADAÇÃO DE TOXINAS (ETAPA 2).....	51

4.3.1 - Etapa 1: Ensaios para avaliação da eficiência de remoção de células das cianobactérias após os processos de coagulação/floculação/sedimentação.....	54
4.3.2 - Etapa 2: Ensaios para avaliação da liberação e degradação de toxinas em função dos diferentes períodos de armazenamento do lodo.	55
4.4 - MÉTODOS DE ANÁLISE	58
5 - APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	60
5.1 - AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DA QUITOSNA E DO SULFATO DE ALUMÍNIO NA REMOÇÃO DE CÉLULAS DE <i>C. raciborskii</i> E <i>M.aeruginosa</i> ..	60
5.1.1 - Avaliação da eficiência da quitosana e do sulfato de alumínio na remoção de células de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , após os processos de coagulação/floculação/ sedimentação.....	60
5.1.2 - Avaliação da eficiência da quitosana e do sulfato de alumínio na remoção de células de <i>Microcystis Aeruginosa</i> , após o processo de coagulação/floculação/ sedimentação.	69
5.2 - LIBERAÇÃO E DEGRADAÇÃO DE TOXINAS EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO DO LODO	79
5.2.1 - Avaliação da ocorrência de lise celular, liberação e degradação de cilindrospermopsina em função dos diferentes períodos de armazenamento do lodo, para os coagulantes quitosana e sulfato de alumínio	79
5.2.2 - Avaliação da ocorrência de lise celular, liberação e degradação de microcistinas em função dos diferentes períodos de armazenamento do lodo, para os coagulantes quitosana e sulfato de alumínio.....	87
6 - CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
APÊNDICES	107
APÊNDICE A: DIAGRAMAS DE COAGULAÇÃO – DUPLICATAS	108
APÊNDICE B: GRÁFICOS DE CLOROFILA A E DENSIDADE DE CÉLULAS REFERENTES AO ARMAZENAMENTO DO LODO – DUPLICATAS	110
APÊNDICE C: FOTOS	112

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1: Estrutura da cilindrospermopsina. Fonte: (Moreira et al., 2012).	10
Figura 3.2- Estrutura geral das microcistinas, sendo X e Z, dois aminoácidos variáveis. Fonte: Yuan e Carmichael, 2004 apud Ermel, 2009.	12
Figura 3.3- Diagrama de coagulação do alumínio e sua relação com o potencial zeta. Fonte: Amirtharajah e Mills (1982) adaptado de Di Bernardo (2004).	22
Figura 3.4- Estrutura química da quitina e quitosana. Fonte: Gonçalves <i>et.al.</i> , (2011).	27
Figura 3.5 - Concentração de clorofila-a e densidade de células de <i>M. aeruginosa</i> ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b). Fonte: Ermel (2009).	45
Figura 3.6- Concentração de microcistina extracelular no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo, para o valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b). Fonte: Ermel (2009).	45
Figura 3.7- Concentração de clorofila-a e densidade de células de <i>C. raciborskii</i> ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b). Fonte: Ermel (2009).	47
Figura 4.1- Desenho esquemático de execução do experimento.....	52
Figura 4.2- Desenho experimental da Etapa 1 para AE1 (contendo células de <i>C. raciborskii</i>) e AE2 (contendo células de <i>M. aeruginosa</i>), com quitosana e com sulfato de alumínio.	54
Figura 4.3- Desenho experimental da Etapa 2 – análise da lise celular, liberação e degradação de cianotoxinas nas águas AE1 e AE2 em um PH e três dosagens ótimas de coagulação, para cada tipo de coagulante.	57
Figura 5.1- Diagramas de coagulação do remanescente de turbidez (a), cor aparente (c), clorofila-a (e), UV-254 (g) e percentual de remoção de turbidez (b), cor aparente (d), clorofila-a (f), UV-254 (h) na água do Lago Paranoá inoculada com <i>C. raciborskii</i> , usando sulfato de alumínio.	62
Figura 5.2- Diagramas de coagulação do remanescente de turbidez (a), cor aparente (c), clorofila-a (e), UV-254 (g) e percentual de remoção de turbidez (b), cor aparente (d), clorofila-a (f), UV-254 (h) na água do Lago Paranoá inoculada com <i>C. raciborskii</i> , usando quitosana.	66

Figura 5.3- Diagramas de coagulação do remanescente de turbidez (a), cor aparente (c), clorofila- <i>a</i> (e), UV-254 (g) e percentual de remoção de turbidez (b), cor aparente (d), clorofila- <i>a</i> (f), UV-254 (h) na água do Lago Paranoá inoculada com <i>M. aeruginosa</i> , usando sulfato de alumínio.	71
Figura 5.4 - Diagramas de coagulação do remanescente de turbidez (a), cor aparente (c), clorofila- <i>a</i> (e), UV-254 (g) e percentual de remoção de turbidez (b), cor aparente (d), clorofila- <i>a</i> (f), UV-254 (h) na água do Lago Paranoá inoculada com <i>M. aeruginosa</i> , usando quitosana.	75
Figura 5.5 - Concentração de clorofila- <i>a</i> (a), densidade de células (b), concentração de cilindropemopsinas dissolvidas (c) e concentração de cilindropermopsinas total (d) para <i>C. raciborskii</i> ao longo do período de armazenamento do lodo, usando quitosana como coagulante.	81
Figura 5.6 - Concentração de clorofila- <i>a</i> (a), densidade de células (b), concentração de cilindropemopsinas dissolvidas (c) e concentração de cilindropermopsinas total (d) para <i>C. raciborskii</i> ao longo do período de armazenamento do lodo, usando sulfato de alumínio.	85
Figura 5.7 - Concentração de clorofila- <i>a</i> (a), densidade de células (b), concentração de cilindropemopsinas dissolvidas (c) e concentração de cilindropermopsinas total (d) para <i>M. aeruginosa</i> ao longo do período de armazenamento do lodo, usando quitosana como coagulante.	90
Figura 5.8 - Concentração de clorofila- <i>a</i> (a), densidade de células (b), concentração de cilindropemopsinas dissolvidas (c) e concentração de cilindropermopsinas total (d) para <i>M. aeruginosa</i> ao longo do período de armazenamento do lodo, usando sulfato de alumínio.	93
Figura A.1- Diagramas de coagulação do percentual de remoção de turbidez (a), cor aparente (b), clorofila- <i>a</i> (c), UV-254nm (d) na água inoculada com <i>C. raciborskii</i> , usando sulfato de alumínio (exp.1).	108
Figura A.2- Diagramas de coagulação do percentual de remoção de turbidez (a), cor aparente (b), clorofila- <i>a</i> (c), UV-254nm (d) na água inoculada com <i>C. raciborskii</i> , usando quitosana (exp.1).	108
Figura A.3- Diagramas de coagulação do percentual de remoção de turbidez (a), cor aparente (b), clorofila- <i>a</i> (c), UV-254 (d) na água inoculada com <i>M. aeruginosa</i> , usando sulfato de alumínio (exp.2).	109

Figura A.4- Diagramas de coagulação do percentual de remoção de turbidez (a), cor aparente (b), clorofila- <i>a</i> (c), UV-254nm (d) na água inoculada com <i>M. aeruginosa</i> , usando quitosana (exp.1).....	109
Figura B.1- Concentração de clorofila- <i>a</i> (a) e (c) e densidade de células (b) e (d) para <i>C. raciborskii</i> ao longo do período de armazenamento do lodo, usando quitosana (exp.2) e sulfato de alumínio (exp.1), respectivamente.	110
Figura B.2 - Concentração de clorofila- <i>a</i> (a) e (c) e densidade de células (b) e (d) para <i>M. aeruginosa</i> ao longo do período de armazenamento do lodo, usando quitosana (exp.1) e sulfato de alumínio (exp.1), respectivamente.	111
Figura C.1- Comportamento dos flocos produzidos com quitosana, considerando-se diferentes pH e dosagens: (a) pH 5,5 e 1 mg/l, (b) pH 5,5 e 2 mg/L, (c) pH 5,5 e 3 mg/L, (d) pH 6,5 e 1 mg/l, (e) pH 6,5e 2 mg/L, (f) pH 6,5 e 3 mg/L.	112
Figura C.2- Comportamento dos flocos produzidos com <i>M. aeruginosa</i> e quitosana em pH 7,0 e dosagens de 1, 2, e 3 mg/L.....	112

LISTA DE TABELAS

Tabela 3-1- Principais cianotoxinas, órgão afetados e gêneros de cianobactérias produtores. Fonte: Sivonen e Jones (1999).....	9
Tabela 3-2- Eficiências de remoção obtidos por Capelete (2011) nas águas de estudo (AE1 e AE2), utilizando quitosana e sulfato de alumínio	30
Tabela 3-3-Resultados obtidos por Garcia (2011) em termos de remoção de matéria orgânica.	31
Tabela 3-4 - Processos de tratamento de água utilizados para remoção de cianobactérias e cianotoxinas. US EPA (2012).....	35
Tabela 4-1- Parâmetros operacionais dos ensaios de coagulação/floculação/sedimentação. Fonte: Oliveira (2005); Ermel (2009).....	53
Tabela 4-2- Faixas de pH e dosagem utilizadas nos ensaios coagulação. Fonte: Capelete (2011); Ermel (2009).	53
Tabela 4-3- Métodos e equipamentos utilizados na análise do experimento	58
Tabela 4-4 - Limites de detecção e precisão dos métodos para avaliação dos parâmetros estudados.....	59
Tabela 5-1- Caracterização da água de estudo antes e após a adição do inóculo de <i>C. raciborskii</i> para o experimento 2 com sulfato de alumínio	61
Tabela 5-2- Caracterização da água de estudo antes e após à adição do inóculo de <i>C. raciborskii</i> para o experimento 2 com quitosana.....	65
Tabela 5-3- Comparação entre os percentuais e remanescente obtidos com quitosana e sulfato de alumínio para <i>C. raciborskii</i>	69
Tabela 5-4- Caracterização da água de estudo anteriormente e posteriormente à adição de células de <i>M.aeruginosa</i> para o experimento 1 com sulfato de alumínio.....	70
Tabela 5-5- caracterização da água de estudo anteriormente e posteriormente à adição do inóculo de <i>M. aeruginosa</i> para o experimento 2 com quitosana	74
Tabela 5-6 Comparação entre os percentuais e remanescente obtidos com quitosana e sulfato de alumínio para <i>M. aeruginosa</i>	78
Tabela 5-7 - Caracterização da água de estudo antes e após a adição de células de <i>C.raciborskii</i> , usando quitosana (experimento 1).....	80
Tabela 5-8 - caracterização da água de estudo anteriormente e posteriormente à adição de células de <i>C.raciborskii</i> , usando sulfato de alumínio (experimento 2).	84

Tabela 5-9 - caracterização da água de estudo anteriormente e posteriormente à adição de células de <i>M.aeruginosa</i> , usando quitosana (experimento 2).....	88
Tabela 5-10 - caracterização da água de estudo anteriormente e posteriormente à adição de células de <i>M.aeruginosa</i> , usando sulfato de alumínio (experimento 2).	91

LISTA DE SIGLAS

°C	Graus Celsius
µg	Micrograma
µm	Micrômetro
$Al_2(SO_4)_3$	Sulfato de Alumínio
AUVE	Absorbância ao Ultravioleta Específico
CAP	Carvão ativado em pó
$CaCO_3$	Carbonato de Cálcio
cel	Célula
CC	Camada Compacta
CF	Camada Difusa
CODNP	Carbono Orgânico Dissolvido Não Purgável
CYN	Cilindrospermopsina
dcGTX	Decarbamoilgoniautoxina
dcneoSTX	Decarbamoilneosaxitoxina
dcSTX	Decarbamoilsaxitoxina
DCE	Dupla Camada Elétrica
DF	Distrito Federal
DLVO	Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek
EBI	Irradiação por feixe de elétrons
ETAs	Estações de Tratamento de Água
FAD	Flotação por ar dissolvido
L	Litro
LSA	Laboratório de Saneamento Ambiental
m	Metro
MC	Microcistina

MC-LR	Microcistina-LR
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MS	Ministério da Saúde
neoSTX	Neosaxitoxina
nm	Nanômetro
NOM	Matéria Orgânica Natural
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH	Potencial Hidrogeniônico
PAC	Policloreto de alumínio
STX	Saxitoxina
UFV	Universidade Federal de Viçosa
UnB	Universidade de Brasília
uH	Unidade Hazen
USEPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unido
uT	Unidade de Turbidez
Vs	Velocidade de Sedimentação

1 - INTRODUÇÃO

O processo de eutrofização nos ecossistemas aquáticos é decorrente, principalmente, de uma série de atividades humanas que resultam no aumento do aporte de nutrientes em mananciais de abastecimento público, especialmente, compostos nitrogenados e fosfatados. Uma das consequências da eutrofização artificial é o aumento da incidência de florações de cianobactérias, nas quais pode ocorrer o domínio de poucas ou até mesmo, uma só espécie de cianobactéria.

As florações de cianobactérias em mananciais de abastecimento público são objeto de preocupação crescente no que tange a saúde dos seres vivos, sobretudo o ser humano, uma vez que além de produzirem metabólitos que alteram a qualidade organoléptica da água, algumas cianobactérias também podem produzir e liberar toxinas (cianotoxinas) para o meio líquido, as quais apresentam toxicidade diversa, variando em seus efeitos em humanos e animais, que podem ser hepatotóxicos, neurotóxicos e dermatotóxicos.

Geralmente, as cianotoxinas são endotoxinas, sendo liberadas apenas durante a lise celular, que ocorre na fase de envelhecimento da célula, por estresse celular, ou pelo uso de algicidas ou de agentes oxidantes. Algumas cianobactérias, porém, como a *C. raciborskii*, além de liberarem suas toxinas intracelularmente – como ocorre com a *M. aeruginosa*, também o fazem de forma extracelular, o que indica que a remoção de suas células, mesmo que intactas, não garante a ausência dessas cianotoxinas na água.

Duas espécies de cianobactérias que merecem destaque no cenário brasileiro são a *Microcystis aeruginosa*, a qual possui uma distribuição bastante significativa no país, e a *Cylindrospermopsis raciborskii*, que vem exibindo ocorrência crescente em diferentes regiões do Brasil. A *M. aeruginosa* caracteriza-se morfológicamente por seu formato esférico, e produz as chamadas microcistinas, as quais apresentam diversos efeitos relacionados a complicações hepatóxicas. Sobre essa cianobactéria, destaca-se um episódio marcante da contaminação da água de uma clínica de hemodiálise em Caruaru (Pernambuco) por micocistinas, no ano de 1996, que afetou cerca de 120 pacientes devido ao uso nas sessões de água contaminada por esta toxina, causando a morte de 52 deles.

Diferentemente da *M. aeruginosa*, a *C. raciborskii* possui morfologia filamentosa, o que indica, antecipadamente, que deve haver formas peculiares de respostas dessas células ao tratamento. Dentre diversas toxinas produzidas por esta espécie, ressaltam-se aquelas pertencentes ao grupo das cilindrospermopsinas. Estudos apontam que estas podem gerar complicações nos seres humanos, que variam de danos a órgãos como fígado, rins, intestino, glândulas adrenais; bem como a apresentação de propriedades carcinogênicas.

Sabendo dos riscos apresentados por algumas cianotoxinas à saúde humana, a legislação Brasileira, por meio da Portaria 1469/2000 do Ministério da Saúde (MS), introduziu as microcistinas na lista de substâncias químicas que representam risco à saúde humana, colocando como padrão de potabilidade o valor máximo 1 µg/L dessa toxina, bem como, fez recomendações do valor limite nas análises de cilindrospermopsinas de 15 µg /L. Esses limites foram mantidos pela Portaria MS 518/2004. A Portaria MS 2914/2011, resultante da revisão da Portaria MS 518/2004, manteve o valor máximo permissível para microcistinas na água para consumo humano de 1 µg/L e tornou ainda mais restritivos os níveis de cilindrospermopsinas, os quais passaram de 15 µg/L na Portaria 518 para 1 µg/L.

Diante dos riscos oferecidos por algumas cianotoxinas à saúde humana e do aumento de florações tóxicas de cianobactérias em mananciais de abastecimento público em todo mundo, várias pesquisas têm sido dedicadas a avaliar a eficiência de diferentes processos de tratamento de água para a remoção das células e toxinas desses microrganismos. Em vários desses estudos têm se verificado que o tratamento convencional, muito difundido no Brasil, apresenta-se pouco eficiente na remoção de cianotoxinas, porém, é efetivo na remoção de células de cianobactérias, se observadas às exigências de boas condições operacionais em cada um dos processos de tratamento, inclusive de remoção adequada do lodo, dada a possibilidade de lise das células de cianobactérias em um curto período de tempo em função do ambiente naturalmente hostil para as cianobactérias (ausência de luz e nutrientes), liberando toxinas para a água clarificada.

A remoção de células de cianobactérias por meio do tratamento convencional é dependente da etapa de coagulação química, sendo esta responsável por garantir a eficiência das demais etapas do processo. Nessa etapa, a definição adequada do tipo e dosagem de coagulante, e do pH de coagulação em função dos tipos de impurezas presentes na água é de fundamental

importância.

O coagulante mais amplamente utilizado em estações de tratamento de água nacionais é o sulfato de alumínio, devido a seu bom desempenho, baixo custo e fácil manuseio. No entanto, esse coagulante apresenta a desvantagem de geração de residual químico no lodo, causando dificuldades para sua reutilização e manejo. Nesse sentido, vários estudos vêm sendo realizados no sentido de avaliar a substituição de coagulantes químicos por coagulantes alternativos biodegradáveis, como a quitosana, um polieletrólito catiônico de origem natural, que apresenta como principais vantagens em relação aos coagulantes metálicos, eficiências de remoção similares quando usada em menores doses, formação de flocos maiores, e não produz residuais químicos no lodo. Entretanto, os estudos que avaliam o uso desse coagulante natural no tratamento de água para a remoção de cianobactérias e cianotoxinas ainda são escassos.

Diante disso, a proposta de uso da quitosana para remoção de cianobactérias, além das vantagens oferecidas por ela com relação aos coagulantes metálicos, parte da observação de vários trabalhos que têm mostrado que a coagulação/floculação/sedimentação, utilizando condições de coagulação semelhantes e coagulantes metálicos, especialmente, o sulfato de alumínio, é possível remover células de *M. aeruginosa* efetivamente, porém, no caso de *C. raciborski* os resultados são divergentes, o que expõe a necessidade do desenvolvimento de outros trabalhos com a utilização de outros coagulantes, como os polímeros naturais, os quais têm demonstrado eficiência semelhantes, e por vezes, até melhores que os coagulantes metálicos na remoção de células de *M. aeruginosa*.

Além disso, em trabalhos que avaliaram a influência do tempo de armazenamento do lodo, os resultados demonstram a influência do tipo de coagulante na lise das células das cianobactérias, bem como na degradação das toxinas. Face a esses resultados torna-se importante avaliar o uso dos coagulantes alternativos como a quitosana, para verificar a influência desta na lise e liberação de toxinas para água. Nota-se ainda, que os estudos até agora desenvolvidos com foco na degradação de toxinas, avaliaram a degradação de microcistinas, sendo escassos os trabalhos cujo enfoque fosse as cilindrospermopsinas.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho consistiu em avaliar o desempenho dos

coagulantes quitosana e sulfato de alumínio na remoção de células das espécies de cianobactérias, *M. aeruginosa* e *C. raciborskii* pelo processo de sedimentação, bem como avaliar a influência desses coagulantes e do tempo de armazenamento do lodo na lise celular, liberação e degradação de microcistinas e cilindrospermopsinas.

2 - OBJETIVOS

2.1 - OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo geral, avaliar em escala de bancada, a remoção de células de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, mediante o processo de sedimentação, utilizando os coagulantes quitosana e sulfato de alumínio, bem como, avaliar a influência desses coagulantes e do tempo de armazenamento do lodo produzido após a sedimentação, na lise das células, liberação e degradação de microcistinas e cilindrospermopsinas.

2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar, em escala de bancada, a eficiência de remoção de células de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* pelo processo de sedimentação, sob distintas condições de pH de coagulação e dosagem de coagulante, utilizando os coagulantes quitosana e o sulfato de alumínio.

Avaliar, a partir das condições ótimas de coagulação (pH x dosagem) obtidas para a remoção de células de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, a influência do coagulante e do tempo de armazenamento do lodo produzido após a sedimentação, na lise das células, liberação e degradação de microcistinas e cilindrospermopsinas.

3 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 - CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS

As cianobactérias, inicialmente denominadas algas azuis ou cianofíceas, constituem um grupo de organismos fotoautotróficos, logo, são organismos aeróbios, que requerem dióxido de carbono, substâncias inorgânicas e luz para seus processos vitais. A fotossíntese, característica comum às algas, é seu principal meio de obtenção de energia para os processos metabólicos de biossíntese, crescimento e multiplicação, com produção e liberação de oxigênio molecular.

Por possuírem estrutura celular procariótica, as cianobactérias são também bactérias, o que deu origem a seu nome atual, cianobactéria. Porém, as células das cianobactérias não apresentam estruturas móveis como os flagelos, presentes em grande parte das bactérias. Diferentemente das algas eucarióticas, as cianobactérias não possuem organelas, tais como cloroplastos, tendo a fotossíntese realizada pelos tilacóides, nos quais estão contidos os pigmentos fotossintéticos. Os pigmentos fotossintéticos característicos das cianobactérias são a clorofila *a* (verde), ficobilinas [ficoeritrina (vermelho), ficocianina (azul) e aloficocianina], xantofilas e carotenos, que as protegem da fotoxidação (Mur *et al.*, 1999). Algumas espécies contêm vacúolos de gás, utilizados para a regulação de sua posição na coluna d'água, em busca de luz e nutrientes. Por apresentarem características tanto de algas quanto de bactérias, as cianobactérias têm grande capacidade adaptativa (Bartram *et al.*, 1999).

Morfologicamente, as cianobactérias podem ser encontradas nas formas unicelulares, em colônias e filamentosas (multicelulares). As cianobactérias unicelulares têm formas esféricas, ovoides ou cilíndricas e se reproduzem por fissão binária. Podem aparecer em forma de células isoladas ou agregadas em colônias irregulares. A morfologia filamentosa é típica de certo número de cianobactérias e suas repetidas divisões celulares dão lugar a uma cadeia de células chamada tricoma, a qual pode ser reta, espiralada, etc. (Whitton e Potts, 2002; Mur *et al.*, 1999).

O tamanho e forma das células apresentam grande variabilidade entre as cianobactérias

filamentosas, sendo que algumas delas são compostas de células heterogêneas, diferenciadas em heterocitos, estruturas fixadoras de nitrogênio, e em acinetos, que são estruturas que acumulam substâncias de reserva, características que permitem sua sobrevivência sob condições desfavoráveis e sua predominância sobre algas e outras cianobactérias que não as possuem (Mur *et al.*, 1999). Entre os gêneros de cianobactérias fixadoras de nitrogênio está a *Cylindrospermopsis*.

Segundo Mur *et al.* (1999), as cianobactérias fixadoras de nitrogênio (requerem elevada quantidade de energia luminosa), frequentemente dominam os ecossistemas sob condições limitantes desse nutriente, porém, em condições de disponibilidade do mesmo, a dominância dessas cianobactérias fica limitada pela baixa disponibilidade de luz, que geralmente é insuficiente em ambientes com elevada turbidez.

As cianobactérias se distribuem numa grande diversidade de habitats, abrangendo espécies de águas continentais, de ambientes marinhos e até em ambientes polares, assim como solos úmidos. Contudo, nas águas doces dos ambientes continentais o seu desenvolvimento chega a ser abundante, devido à maioria das espécies apresentarem melhor crescimento em águas neutras a alcalinas (pH 6 a 9), temperatura entre 15 a 30°C e alta concentração de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo (Mur *et al.*; 1999). Embora hoje sejam mais conhecidas pela sua capacidade de produzir toxinas, existem espécies benéficas, utilizadas em aplicações biotecnológicas.

Na maioria dos corpos de água, a densidade de cianobactérias é baixa, porém, condições ambientais favoráveis podem contribuir para florações, que se caracterizam por altas densidades desses microrganismos, geralmente acima de 10^5 cel/mL. Frequentemente, o surgimento das florações está vinculado às condições climáticas (temperatura, vento, intensidade solar e chuva) junto com baixa turbidez e alta concentração de nutrientes (Bartram *et al.*, 1999).

As florações de cianobactérias têm sido objeto de preocupação de sanitaristas e pessoas responsáveis pela saúde pública, uma vez que diversas espécies de cianobactérias podem produzir toxinas, as quais caracterizam-se como metabólitos secundários que não estão envolvidos diretamente no crescimento, desenvolvimento ou reprodução desses organismos

(Carmichael, 1994, *apud* Ermel, 2009). Essas toxinas, geralmente encontram-se armazenados intracelularmente e são liberados no meio após a lise celular, no entanto, algumas espécies podem excretá-las em condições fisiológicas normais, dependendo da fase de crescimento das células. Nesse sentido, Hawkins *et al.* (2001) ao estudarem sobre diferentes fases de uma floração de *C. raciborskii*, relataram que a fração de CYN extracelular, em culturas foi responsável por 20% do total de 2,5 mg CYN/L na fase exponencial, atingindo 50% do total na fase estacionária.

As comunidades de cianobactérias podem ser dominadas por uma única espécie ou serem compostas por uma variedade de espécies, algumas das quais podem não ser tóxicas. Mesmo dentro de uma floração de uma única espécie, pode haver uma mistura de linhagens tóxicas e não tóxicas (Sivonen e Jones, 1999). Nesse aspecto, Walker (2014) destaca que a maioria das florações documentadas no mundo são tóxicas, apontando as espécies *Dolichospermum*, *Microcystis*, *Nodularia*, e *Cylindrospermopsis* como de maior importância devido a sua toxicidade.

De acordo com Carmichael (2001), florações de cianobactérias tóxicas podem ser encontradas em lagos, lagoas e rios eutróficos a hipereutróficos ao redor do mundo e são responsáveis por episódios esporádicos, mas recorrentes de doença e morte de animais selvagens e domésticos, além de intoxicações humanas. O caso mais grave decorrente de floração de cianobactérias tóxicas, aconteceu no Brasil no ano de 1996 em Caruaru, Pernambuco, numa clínica de hemodiálise, na qual 100 pacientes desenvolveram insuficiência hepática aguda, e 52 deles morreram após a exposição intravenosa de microcistinas, especificamente microcistina YR, LR e AR, presentes na água utilizada durante as sessões (Azevedo *et al.*, 2002).

Com base nos seus efeitos biológicos e os mecanismos de ação nos organismos-alvo, as cianotoxinas são classificadas como: neurotoxinas, hepatotoxinas e dermatotoxinas. Segundo sua estrutura química, essas toxinas são divididas em: alcaloides ou organofosforados neurotóxicos de rápida ação, que causam morte por parada respiratória em poucos minutos após sua ingestão; peptídeos cíclicos ou alcaloides hepatóxicos, com ação mais lenta e que afetam principalmente o fígado; e, lipopolissacarídeos (LPS), que causam irritação por contato (dermatóxicas), também conhecidos como endotoxinas (Bartram *et al.*,

1999). Na Tabela 3.1 é apresentada uma síntese das cianotoxinas já caracterizadas, os órgãos atingidos em seres humanos e os gêneros de cianobactérias potencialmente produtores dessas toxinas.

Tabela 3-1- Principais cianotoxinas, órgão afetados e gêneros de cianobactérias produtores. Fonte: Sivonen e Jones (1999).

Grupo tóxico ¹	Principal órgão afetado	Gênero de cianobactérias ²
Peptídeos cíclicos		
Microcistina	Fígado	Mycrocystis, Anabaena, Planktothrix (Oscillatoria), Nostoc, Hapalosiphon, Anabaenopsis.
Nodularina		Nodularia
Alcalóides		
Anatoxina-a	Sistema nervoso	Anabaena, Planktothrix (Oscillatoria), Aphanizomenon.
Anatoxixa-(S)		Anabaena
Aplysiatoxina	Pele	Lyngbya, Schizothrix, Planktothrix (Oscillatoria).
Cylindrospermopsina	Fígado, rim e sistema linfático	Cylindrospermopsis, Aphanizomenon, Umezakia.
Lynbyatoxina-a	Pele, trato gastrintestinal	Lyngbya
Saxitoxina	Sistema nervoso	Lyngbya, Anabaena, Cylindrospermopsis, Aphanizomenon.
Lipopolissacarídeos (LPS)		
Lipopolysccharides	Potencialmente irritante em alguns tecidos expostos	Todos

¹Variações estruturais podem acontecer para cada grupo tóxico; e

²Não produzido por todas as espécies do gênero.

No Brasil, dentre os gêneros mais frequentemente observados nas florações de cianobactérias, destacam-se *Microcystis* (produtora de microcistinas) e *Cylindrospermopsis* (cepas produtoras de saxitoxinas), sendo a primeira, encontrada nas regiões Nordeste, Centro Oeste, Sudeste e Sul, e a segunda, nas regiões Nordeste, Sudeste e Sul (Jardim e Azevedo, 2006). De acordo com Sant'Anna *et al.* (2008), os gêneros *M. aeruginosa* e *C. raciborskii* são as cianobactérias potencialmente tóxicas mais generalizadas no Brasil, ocorrendo em

diferentes partes de áreas tropicais e subtropicais (Sant'Anna *et al.*, 2008).

3.1.1 - Cilindropermopsinas e Microcistinas

A cilindropermopsina (CYN), descoberta na década de 90, foi classificada, inicialmente, como alcaloide hepatóxico, cuja fórmula é $C_{15}H_{21}N_5O_7S$ e massa molecular de 415,43. Com o tempo, no entanto, mais estudos confirmaram que a CYN provoca alterações patogênicas em muitos órgãos. Em experimentos com ratos, Hawkins *et al.* (1997) confirmaram a ação citotóxica da CYN, com alterações nas células do fígado, baço, rins, pulmões e coração. Em testes realizados em hepatócitos primários de ratos, Humpage *et al.*, (2005) demonstraram ações citotóxicas em concentrações acima de 0,1 μM de CYN, além de ações genotóxicas, com modificações nas moléculas de DNA.

Vários trabalhos apontam que a CYN é produzida por várias espécies de cianobactérias, entre elas a *C. raciborskii* Li *et al.* (2001a), *Aphanizomenon ovalisporum* Banker *et al.* (1997), *Aphanizomenon flosaquae* Preubel *et al.* (2006), *Lyngbya wollei* Seifert *et al.* (2007), *natans Umezakia* Harada *et al.* (1994) e *Raphidiopsis curvata* (Li *et al.* (2001).

De acordo com Walker (2014) estudos apontam que a toxicidade das cilindropermopsinas é devida, principalmente ao grupo uracila, tendo em vista que a clivagem desse grupo funcional por cloro diminui sua toxicidade.

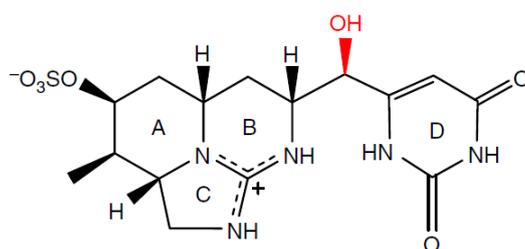


Figura 3.1: Estrutura da cilindropermopsina. Fonte: (Moreira *et al.*, 2012).

A microcistina é um outro tipo de toxina hepatotóxica, solúvel em água, metanol e etanol, e insolúvel em acetona, éter, clorofórmio e benzeno. Com exceção de algumas microcistinas um pouco mais hidrofóbicas, as microcistinas solúveis em água são incapazes de penetrar diretamente as membranas lipídicas de animais, vegetais e células bacterianas, produzindo seu efeito tóxico na célula por meio do mecanismo de transporte do ácido biliar, o que limita a faixa de órgãos-alvo em mamíferos, em grande parte para o fígado (Falconer, 1996, *apud*

Apeldoorn *et al.*, 2007)..

As microcistinas são as toxinas mais frequentemente reportadas nas florações de águas doces e salobras. Essas toxinas já foram identificadas em espécies dos gêneros planctônicos *Dolichospermum*, *Microcystis*, *Oscillatoria* (*Planktothrix*), *Nostoc*, e *Anabaenopsis* (Sivonen e Jones, 1999). Conforme Sivonen e Jones (1999), a *Microcystis aeruginosa*, espécie produtora da microcistina, tem sido comumente associada a florações hepatotóxicas no mundo, sendo um gênero não fixador de nitrogênio e formador de colônias, dominando sob condições de riqueza de nutrientes, embora sejam encontradas também em florações em águas menos poluídas.

As microcistinas contêm sete aminoácidos unidos por ligações peptídicas, com os dois aminoácidos terminais do peptídeo linear ligados para formar um composto cíclico. Quimicamente, a estrutura geral das microcistinas é (Figura 3.2): D-Alanina-X-D-MeAsp-Z-Adda-D-Glutamato-Mdha, sendo X e Z os dois aminoácidos L variáveis, D-MeAsp é o D-éritro- β -ácido metilaspártico e Mdha é N-metildeidroalanina. A toxicidade das microcistinas está associada ao aminoácido Adda e a clivagem desse aminoácido reduz a sua toxicidade. Harada *et al.*, (1996) ao utilizarem o ozônio para promover essa clivagem obtiveram mais facilmente o isômero inativo.

Em geral, quaisquer modificações estruturais para a região de Adda-glutamato da molécula da toxina, tal como uma mudança em isomerização da Adda-dieno (6E para 6 Z) ou a acilação do glutamato, torna microcistinas e nodularinas não-tóxicas (Harada *et al.*, 1990 a, b; Rinehart *et al.*, 1994, *apud* Sivonen e Jones, 1999).

As diferentes variantes de microcistinas são identificadas pelas letras que corresponde à abreviatura dos resíduos de aminoácidos variáveis (X e Z). Microcistina-LR, por exemplo, possui os aminoácidos variáveis de leucina (L) e arginina (R), a microcistina-RR, as variáveis de arginina (R) e arginina (R), a microcistina-LA, variantes de leucina (L) e alanina (A), a microcistina-YR, as variantes de tirosina (Y) e arginina (R) (Chorus e Bartram, 1999).

Em ambientes aquáticos, estas toxinas geralmente permanecem contidas no interior das células de cianobactérias e só são liberadas em quantidades substanciais na lise celular

(Apeldoorn *et al.*, 2007; Sivonen e Jones, 1999). Junto com sua alta estabilidade química e sua solubilidade em água, esta contença tem implicações importantes para a sua persistência ambiental e exposição dos seres humanos em corpos de água superficiais (Apeldoorn *et al.*, 2007).

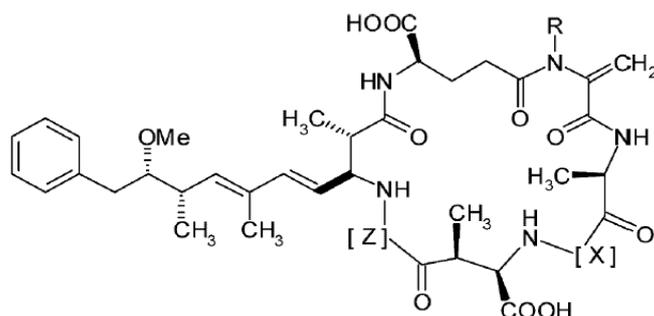


Figura 3.2- Estrutura geral das microcistinas, sendo X e Z, dois aminoácidos variáveis. Fonte: Yuan e Carmichael, 2004 apud Ermel, 2009.

3.1.2 - Degradação de microcistinas e cilindrospermopsina

Devido à sua estrutura peptídica cíclica, as microcistinas são muito estáveis e resistentes à hidrólise e à oxidação em pH próximo ao neutro, bem como à fervura e condições de obscuridade. Porém, segundo Harada *et al.* (1996) algumas bactérias encontradas naturalmente em rios e reservatórios como também em efluentes de esgotos podem degradá-las, em até 90% do total no intervalo de dois a dez dias, dependendo da concentração inicial das toxinas e da temperatura da água.

A estabilidade das microcistinas também foi relacionada às características da água, temperatura e pH. Segundo Harada *et al.* (1996), essas toxinas mostraram-se estáveis em reservatórios de água por até uma semana, e por períodos muito mais prolongados em água filtrada ou deionizada. Em temperaturas elevadas (40°C) e em baixo ou elevado pH, as microcistinas apresentaram lenta degradabilidade, com percentual de degradação de 90% com relação à concentração inicial, em 10 semanas em pH 1 e 12 semanas em pH 9.

As microcistinas são rapidamente decompostas pela luz UV, dependendo da intensidade. No trabalho de Tsuji *et al.* (1995), as microcistinas LR e RR apresentaram decomposição rápida sob a ação da luz ultravioleta, dependendo da intensidade da luz, sendo que a microcistina-

LR foi completamente degradada por 2550 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ UV, após 10 min. Quando o toxinas foram irradiadas com luz UV fraca, a isomerização também foi observada, incluindo três isômeros geométricos do conjugado dieno de Adda.

Ao submeter amostras contendo microcistinas ao espectro de radiação solar total, Wormer *et al.* (2010), observaram que as microcistinas são muito estáveis sob à radiação solar natural, de modo que amostras apresentaram aproximadamente 78,7% de degradação da concentração de MC inicial após 22 dias.

A degradação efetiva da microcistina LR foi observada no trabalho desenvolvido por Song *et al.* (2014), que estudou a degradação dessa toxina na água natural de um lago com a presença de sedimento oriundo de uma floração de *M. aeruginosa* e também na água do lago sem a presença desses sedimentos. Os resultados mostraram que, na presença de sedimento, a concentração MC-LR diminuiu para menos do limite de detecção do método, em 36 h, sendo essa degradação atribuída às bactérias degradadoras de microcistinas que possivelmente estavam presentes no sedimento.

Estudos apontam que a degradação CYN no ambiente aquático depende de diversos fatores como temperatura, pH, presença de algicidas, presença de organismos naturais no ambiente aquático, presença de matéria orgânica dissolvida no meio e da concentração de toxinas, dentre outros.

Chiswell *et al.* (1999) analisaram a estabilidade da CYN em diversas condições de intensidade luminosa (luz solar e UV), pH e temperatura. Nesse experimento, para avaliação da influência do PH e temperatura na degração de CYN, os autores submeteram as amostras contendo 1 e 4 mg/L de CYN a condições de obscuridade, durante 8 semanas. Após esse período, por meio de análises de HPLC-MS, demonstraram que a degradação dessa toxina não foi afetada pelas variações de pH, de modo que nos valores de pH avaliados 4, 7 e 10, a degradação da amostra de 1 mg/L de CYN foi de 81%, 79%, e 78%, respectivamente, enquanto que para a amostra de 4 mg/L, a degradação foi de 75% com relação à concentração inicial para todos os valores de pH. Quanto ao efeito da temperatura, os autores verificaram que a CYN mostrou-se estável numa faixa de temperatura entre 4 e 50° C, uma vez que após 8 semanas a 50° C, a degradação da amostra de 4 mg/L foi de apenas de 57%.

Para avaliar a influência da luz solar e de outros materiais, tais como pigmentos provenientes da própria *C. raciborskii*, na fotodegradação de CYN, Chiswell *et al.* (1999) submeteram num primeiro experimento (21 a 27 de Fevereiro de 1997) as amostras de 1 e 4 mg/L de CYN à irradiação solar ao ar livre, e num segundo experimento (31 julho a 7 agosto de 1997), as amostras de 12 mg/L de extrato puro de CYN e de 12 mg/L de extratos liofilizados de *C. raciborskii* na presença de pigmentos dessa cianobactéria. No primeiro experimento observaram que a CYN foi degradada rapidamente sob luz solar direta nas soluções com pigmentos dessa cianobactéria, de forma que as concentrações de 1 e 4 mg/L de CYN foram reduzidas a 6 e 1%, respectivamente, com relação à concentração inicial em 72 h.

No segundo experimento, a concentração de CYN em extratos liofilizados de *C. raciborskii* foi reduzida para 24% em 120 horas de irradiação. Por outro lado, o extrato puro de CYN não degradou após 120 horas de exposição. Essa toxina também mostrou pouca degradabilidade sob a ação luz ultravioleta nas intensidades de 42, 29 e 9 $\mu\text{E}/\text{m.s}$, apresentando degradação máxima de 84% em 5 semanas na intensidade de 42 $\mu\text{E}/\text{m.s}$.

Tal como nos resultados obtidos por Chiswell *et al.* (1999), Wormer *et al.* (2010) verificaram que a CYN quando exposta à luz solar plena na superfície da água não apresentou degradação satisfatória, sendo apenas 27,3 % em 22 dias.

Klitzke e Fastner (2012) estudaram a degradação da CYN, focando nos efeitos de: i) condições anóxicas, ii) da temperatura e iii) a influência do carbono orgânico dissolvido (DOC). Para determinar o efeito da temperatura e do DOC na degradação de CYN, os autores realizaram experimentos com e sem a presença de DOC adicional proveniente da dissolução da matéria orgânica natural (MON), sob condições aeróbias a 10 ° C, em coluna de quartzo de ciclo fechado, a qual continha areia obtida a partir de filtros lentos (sedimentos arenosos sem nenhuma exposição a CYN e pré-condicionados, com exposição prévia a CYN), sendo a coluna alimentada pela água de um reservatório superficial sem histórico de cianobactérias produtoras de CYN. Na água do reservatório foi inoculada solução com 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ de CYN. Os resultados obtidos nesse experimento foram comparados com os resultados de trabalho anterior realizado por Klitzke *et al.* (2010) com o mesmo sedimento e temperatura de 20° C.

A degradação de CYN em condições anóxicas foi estudada por Klitzke e Fastner (2012)

tanto no sedimento proveniente de um aquífero de águas subterrâneas como na areia do filtro, ambos com e sem prévia exposição à CYN a 20 °C. Os resultados foram comparados com os resultados da degradação de CYN sob condições óxicas (20 °C) obtidos por Klitzke *et al.* (2010). Esses experimentos foram realizados em coluna de quartzo de ciclo fechado, as quais foram alocadas numa caixa com teor de oxigênio $\leq 0,4\%$. Para alimentação da coluna, sob condições anóxicas, utilizaram águas subterrâneas anóxicas proveniente de um aquífero quaternário. Após a saída da coluna, uma sonda online foi instalada para registrar o potencial redox da solução.

Quanto ao efeito da temperatura na degradação de CYN, Klitzke e Fastner (2012) observaram uma ordem de grandeza a menos para degradação da CYN a 10° C nos sedimentos obtidos a partir do filtro de areia pré-condicionados em comparação com degradação a 20°C (meia-vida a 10° C = 18,3 dias e meia-vida a 20° C = 2,4 dias). Tanto na presença quanto na ausência de DOC, não houve degradação significativa em sedimentos pré-condicionados a 10°C, entretanto, a 20 ° C a presença de DOC aumentou as taxas de degradação de 0,18/dia para 0,46/dia. A adição de DOC aos sedimentos do filtro de areia sem pré-exposição à CYN a 20 ° C resultou em uma degradação 50% mais rápida (20 dias) em comparação com a ausência de DOC (40 dias).

Segundo os autores, as implicações destes resultados para o tratamento de água são que a presença de DOC aumenta a remoção de CYN nos sedimentos à temperaturas próximas de 20 °C. Além disso, comparando a degradação em amostras de água na ausência de sedimentos, na presença ou ausência de DOC, com os resultados da degradação na presença de sedimentos, os autores concluíram que a biodegradação da CYN ocorreu exclusivamente em contato com os sedimentos e não com a água, independentemente da presença ou ausência de DOC.

Em condições anóxicas, no sedimento de águas subterrâneas com pré-exposição à CYN (carga orgânica de 0,04%, e potencial redox variando no experimento entre 300 - 440 mV) não houve degradação de CYN durante um período de 3 meses. Após um período de latência de 20 dias, a degradação no sedimento de areia do filtro (carga orgânica de 0,7%, potencial redox variando no experimento entre -170 a - 330 mV) rendeu uma concentração residual de CYN (normalizada) de 0,45 ($\pm 9\%$) após 113 dias. Segundo os autores, o fato do potencial redox ter caído de 170 a 330 mV pode ter proporcionado condições ideais para as bactérias

anaeróbias obrigatórias presentes nas águas subterrâneas anóxicas, dando início à degradação. De modo geral, resultados para os sedimentos preconditionados de areia do filtro demonstraram que as condições anóxicas inibiram ou retardaram a degradação completa de CYN em comparação com condições óxicas (meia-vida em condições óxicas = 2,4 dias e meia-vida em condições anóxicas = 23,6 dias).

A biodegradabilidade da CYN por comunidades de microorganismos presentes em corpos d'água naturais foi analisada por Wormer *et al.* (2008). Nesse estudo, os autores submeteram amostras de dois corpos d'água naturais com e sem exposição prévia à CYN a cenários onde a toxina era acompanhada por diferentes substratos que poderiam aumentar ou limitar processos de degradação (CYN obtido por extração com metanol puro após sonicação, fração dissolvida do meio obtida após centrifugação, e extração aquosa de CYN com ultrasonografia). Os experimentos foram incubados em ambiente escuro a uma temperatura constante de 28 °C - faixa de temperatura dos reservatórios de águas naturais onde foram coletadas as amostras.

Durante os 40 dias de experimento, nenhuma degradação significativa foi observada em nenhum dos casos, de forma que as concentrações de toxinas sempre permaneceram acima de 90% da concentração inicial. Wormer *et al.* (2008) sugeriram que a não degradação da toxina foi devida à ausência, nas águas estudadas, de microorganismos capazes de degradar tal toxina.

3.1.3 - Legislação: padrões nacionais para cianotoxinas

Frente ao aumento expressivo dos relatos de florações de cianobactérias no Brasil, com a presença de cianotoxinas, conhecidas por seus riscos potenciais à saúde pública e à vida aquática, além de outros compostos, incluindo substâncias que conferem gosto e odor à água, tem se intensificado nos últimos anos a preocupação com a presença de cianobactérias e suas toxinas nos mananciais e nos sistemas de abastecimento, embora ainda seja necessária a realização de estudos que esclareçam melhor seus efeitos na biota em geral e no ambiente. A preocupação por parte da legislação brasileira em tornar obrigatório o monitoramento de cianobactérias e cianotoxinas na água para consumo humano data de alguns anos após o drama vivido em 1996 no município de Caruaru, Pernambuco, em que houve a contaminação

e morte de pacientes de uma clínica de hemodiálise após sessões com água contaminada com microcistinas (Azevedo *et al.*, 2002). Após esse caso foi criada a Portaria MS 1469/2000 para regulamentar os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, dentre eles, os padrões e procedimentos referentes às cianobactérias e cianotoxinas.

Na referida Portaria foi estabelecido apenas o valor máximo permitido (VMP) de microcistinas na água para consumo humano de 1,0 µg/L, com recomendações para cilindropermopsina e saxitoxinas, observando, respectivamente, os valores limites de 15,0 µg/L e 3,0 µg/L de equivalentes STX/L (BRASIL, 2000). No ano de 2004 a Portaria MS 1469/2000 foi revogada, entrando em vigor a Portaria MS 518/2004, que manteve os limites e recomendações daquela para cianobactérias e cianotoxinas.

A Portaria MS 2914/2011, resultante da revisão da Portaria MS 518/2004, manteve o VMP para microcistinas na água para consumo humano de 1 µg/L, porém estabeleceu um VPM para saxitoxinas de 3,0 µg/L e tornou ainda mais restritiva a recomendação para cilindropermopsinas, que passou de 15 µg/L para 1,0 µg/L (BRASIL, 2011). Os VMP e recomendações da Portaria MS 2914/2011 para cianotoxinas seguem os valores sugeridos pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

Tal como a revogada Portaria MS 1469/2000, a Portaria MS 2914/2011 manteve a obrigação dos responsáveis pelo controle da qualidade da água de sistemas de abastecimento supridos por mananciais superficiais em monitorar as cianobactérias no ponto de captação de água mensalmente, quando a concentração de células de cianobactérias for inferior a 10.000 células/mL e semanalmente, quando o número de células de cianobactérias exceda esse valor. Além disso, a Portaria vigente estabelece que seja exigida análise semanal de cianotoxinas na água na saída do tratamento e nas entradas (hidrômetros) das clínicas de hemodiálise e indústrias de injetáveis, sempre que a densidade de cianobactérias exceda 20.000 células/ml no ponto de captação.

3.2 - FUNDAMENTOS TEÓRICOS: COAGULAÇÃO, FLOCULAÇÃO E SEDIMENTAÇÃO.

3.2.1 - Coagulação

Grande variedade de impurezas pode ser encontrada naturalmente na água bruta de mananciais, destacando-se partículas coloidais, substâncias húmicas, algas e organismos em geral, entretanto, atividades antropogênicas, principalmente, domésticas, industriais e agrícolas, podem elevar a concentração de algumas impurezas a valores impróprios ao consumo humano. Assim, para evitar riscos à saúde humana, essas impurezas devem ser removidas por meio de uma sequência de processos de tratamento antes que a água seja distribuída para consumo humano.

Para que as impurezas possam ser removidas pelo tratamento convencional com sedimentação, a aglutinação das mesmas é fundamental, tendo em vista que, a grande maioria das partículas apresentam tamanho e peso insuficientes para serem removidas apenas pelo processo físico. A ação de aglutinação é possível por meio da coagulação, haja vista que nesse processo são utilizados coagulantes responsáveis pela desestabilização das partículas e, conseqüentemente, pela anulação ou redução das forças repulsivas que mantêm as partículas coloidais separadas.

A coagulação depende fundamentalmente das características da água e das impurezas presentes, conhecidas por meio de parâmetros como pH, alcalinidade, cor verdadeira, turbidez, temperatura, potencial zeta, condutividade elétrica, tamanho e distribuição de tamanhos das partículas em estado coloidal e em suspensão, entre outros fatores (Di Bernardo e Dantas, 2005). Segundo Arboleda (1992), a forma das partículas também influencia na coagulação, de modo que partículas cilíndricas ou filamentosas têm maiores possibilidades de contato do que partículas esféricas e poliédricas. As partículas ou impurezas, em uma dispersão aquosa, apresentam carga eléctrica positiva ou negativa, embora a maioria dos colóides desenvolvam carga primária negativa na água. O sinal e magnitude da carga primária são freqüentemente afetados pelo pH e pela força iônica água (O'Melia, 1972).

De modo geral, a estabilidade dos colóides pode ser determinada pela soma das interações de forças repulsivas e atrativas. Para baixas concentrações iônicas, as forças repulsivas prevalecem como uma barreira de energia, que deve ser superada para que a agregação ocorra, sendo essa interação repulsiva menor em sistemas coloidais contendo altas concentrações iônicas na solução. As forças atrativas e repulsivas são componentes importantes da teoria DLVO (Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek), que trata a estabilidade coloidal em termos do potencial de campo médio entre duas partículas a certa distância, estimando as energias repulsivas e atrativas.

A desestabilização das partículas coloidais para posterior agregação das mesmas ocorre mediante a minimização ou eliminação das forças repulsivas. O processo de desestabilização pode ocorrer pelos mecanismos de compressão da dupla camada elétrica; adsorção e neutralização de carga; varredura; e, adsorção e formação de pontes. É importante ressaltar que a desestabilização pode ocorrer por meio de um mecanismo ou pela combinação dos mesmos. A predominância de um mecanismo em detrimento de outro, depende do pH de coagulação, do coagulante utilizado e sua respectiva dosagem, das características qualitativas da água, da carga bem como da concentração das partículas (O' Mélia, 1972).

A desestabilização por compressão da dupla camada decorre da interação eletrostática de íons contrários: íons de mesma carga são repelidos e íons de carga contrária são atraídos pelos colóides, de forma que; quanto maior a carga do íon positivo, menor a quantidade requerida para a coagulação. Os coagulantes que têm esse tipo de interação (íons de carga oposta à do colóide) sem qualquer característica de hidrólise ou de adsorção são considerados eletrólitos indiferentes – caso dos sais simples, como cloreto de sódio. Nesse mecanismo, qualquer que seja a quantidade adicionada de coagulante, não há reestabilização do colóide, isto é, reversão da sua carga, tendo em vista que o mesmo não incorpora mais contra-íons do que o permitido pela sua carga superficial, que passa a ser positiva (Arboleda, 1992).

O mecanismo de desestabilização por adsorção e neutralização de carga ocorre por meio da adição de íons positivos que na água sofrem reações de hidrólise, produzindo espécies hidrolisadas e hidróxidos, que precipitam quando o limite de solubilidade é superado. O formação dessas espécies depende, primordialmente, do pH de coagulação e da dosagem de

coagulante. Nesse mecanismo a adsorção é provocada pela interação entre coagulante e colóide, de tal forma que, os íons positivos adsorvidos na superfície da partícula reduzem sua carga e, conseqüentemente, as forças de repulsão. Nesse caso, pode haver a neutralização da carga da partícula ou a sua reestabilização (reversão de carga – os colóides tornam-se carregados positivamente), se houver disponibilidade de coagulante e superfície livre na partícula coloidal.

De acordo com Arboleda (1992), a coagulação por varredura ocorre quando a concentração de coagulante metálico adicionada é tão alta, que excede o limite de solubilidade do hidróxido formado. Dessa forma, ocorre a precipitação dos hidróxidos metálicos, nos quais são envolvidas as partículas coloidais. O mecanismo de varredura é utilizado nas estações de tratamento nas quais ocorrem a floculação e a sedimentação (ou flotação) antecedendo a filtração, já que os flocos obtidos são maiores e sedimentam ou flutam mais facilmente que os flocos obtidos com a coagulação realizada no mecanismo de adsorção e neutralização de cargas (Di Bernardo e Dantas, 2005).

O mecanismo de adsorção e formação de pontes pode ser entendido como a capacidade de compostos constituídos por cadeias poliméricas de alto peso molecular (ou seja, as compostas por longas cadeias de íons) serem adsorvidos quimicamente, seja por ligações de hidrogênio, covalente, iônica, etc., em regiões específicas da superfície das partículas coloidais, deixando o resto da cadeia livre para aderir-se, por sua vez, a outro colóide, formando uma ponte molecular que une uma partícula com outra.

De acordo com O'Mélia (1972), a predominância de um mecanismo de coagulação sobre outro, como já mencionado, é fortemente influenciado pelo pH de coagulação, coagulante utilizado e sua respectiva dosagem, características qualitativas da água bem como carga e concentração das partículas. Nesse sentido, um instrumento que correlaciona algumas dessas características e, portanto, auxilia na compreensão dos mecanismos atuantes no processo de desestabilização coloidal e agregação de partículas é o diagrama de coagulação.

Esse diagrama é construído com base em ensaios, em escala de bancada, conhecidos como testes de jarros (do inglês *jar test*), os quais são realizados, variando-se a dosagem do coagulante e o pH de coagulação para remoção de turbidez ou outros parâmetros de interesse,

fornecendo resultados referentes às condições de “dosagem de coagulante x pH de coagulação” em que predominam os diferentes mecanismos da coagulação. A construção do diagrama de coagulação é específica para cada tipo de coagulante e para cada tipo de água bruta.

Na Figura 3.3, a fim de conhecer como é construído e como interpretar um diagrama de coagulação, é apresentado o diagrama de coagulação obtido a partir do diagrama de solubilidade do alumínio e das condições de coagulação, dosagem de sulfato de alumínio ($Al_2(SO_4)_3 \times 14,3 H_2O$) e pH da mistura, no tratamento de diferentes tipos de águas naturais e sintéticas com turbidez relativamente alta em relação à cor verdadeira (Amirtharajah e Mills, 1982 *apud* Di Bernardo, 2004). O diagrama fornece ainda, informações do potencial zeta resultante da interação entre os colóides com as espécies hidrolisadas do alumínio.

Como pode ser observado na Figura 3.3, a interação entre o hidróxido de alumínio e a dispersão coloidal produz um potencial zeta igual a zero em dois pontos correspondentes aos valores de pH 4,8 e 6,8, pontos nos quais se espera uma coagulação eficiente das partículas. Abaixo do pH 4,8 as partículas coloidais recobertas apresentam potencial zeta negativo, portanto a dispersão coloidal permanece estabilizada. Entre os valores de pH 4,8 e 6,8 o potencial zeta torna-se positivo, assim como os colóides, caracterizando o fenômeno de reestabilização. Para dosagens de sulfato de alumínio superiores a cerca de 30 mg/L, e valores de pH entre 6 e 8, tende a ocorrer a formação excessiva de precipitados (hidróxido de alumínio), de forma que as partículas coloidais são aprisionadas nos mesmos, caracterizando o mecanismo de varredura (Di Bernardo, 2004).

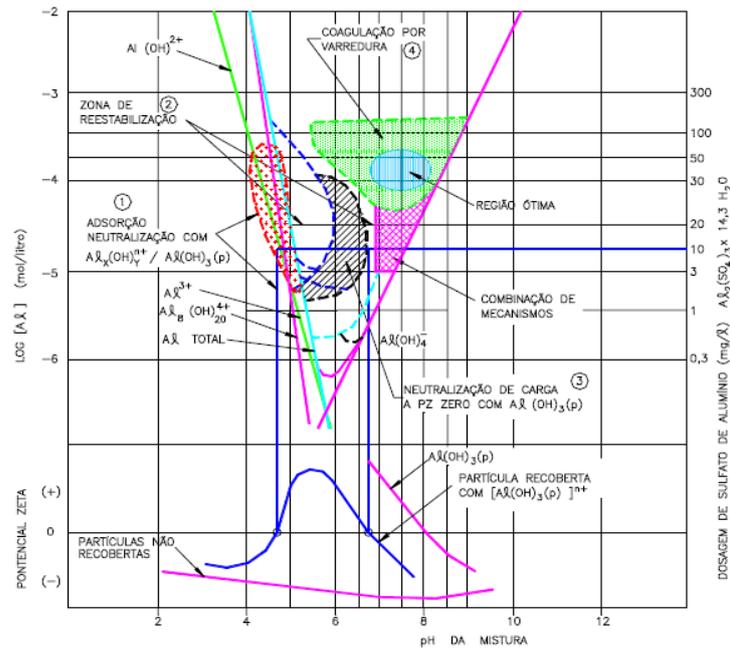


Figura 3.3- Diagrama de coagulação do alumínio e sua relação com o potencial zeta. Fonte: Amirtharajah e Mills (1982) adaptado de Di Bernardo (2004).

3.2.2 - Coagulantes

Os coagulantes podem ser classificados em polieletrólitos e coagulantes metálicos, sendo que esses grupos atuam, basicamente, como polímeros. Porém, nos polieletrólitos as cadeias poliméricas já estão formadas quando adicionadas na água, enquanto que para os coagulantes metálicos, a “polimerização” se inicia quando se coloca o coagulante em contato com a água e é resultante do processo de hidrólise do cátion alumínio (Arboleda, 1992).

Existe uma variedade de coagulantes metálicos, os quais são classificados em sais de alumínio, sais de ferro e vários compostos. Dentre esses, o sulfato de alumínio é o mais amplamente utilizado nas estações de tratamento de água devido a seu baixo custo e manejo relativamente fácil. Além disso, o precipitado de hidróxido de alumínio tende a formar flocos ligeiramente pesados, desejados no processo de sedimentação (Arboleda, 1992).

Suas desvantagens estão relacionadas com a geração de um volume considerável de lodo contendo residual de alumínio e de difícil desaguamento. Além disso, a utilização do alumínio é um motivo de preocupação e debate sobre a sua eventual toxicidade, com implicações para a saúde humana (Renault *et al.*, 2009). Por essas razões, estudos de coagulantes alternativos têm sido cada vez mais necessários. O uso de auxiliares de

coagulação, ou seja, o uso combinado de sais metálicos e polímeros, tanto sintéticos como naturais, tem se ampliado no tratamento de água, tendo em vista, a redução da dosagem do coagulante primário (Di Bernardo e Dantas, 2005).

Os polieletrólitos de importância para o tratamento de água, por sua vez, podem ser classificados segundo sua origem e carga, em polímeros naturais (iônicos - catiônicos ou aniônicos) e; polímeros sintéticos (não-iônicos) (Arboleda, 1992).

De acordo com Renault *et al.* (2009), a utilização de polímeros sintéticos no processo de coagulação/floculação tem crescido nas últimas quatro décadas. Em comparação com o alumínio, algumas das vantagens destes polímeros são a aplicação de doses menores do coagulante, produção de aglomerados de maiores dimensões, eficiência a baixas temperaturas, gerações de menores volumes de lodos, menor acréscimo na carga iônica da água tratada, menos dependência do pH, entre outras.

Ainda conforme o referido autor, produtos à base de polímeros também melhoram a sedimentação e aumentam a resistência dos flocos, entretanto, seus potenciais principais problemas estão associados ao alto custo, toxicidade e ao não serem biodegradáveis. Bolto e Gregory (2007) relataram que os polímeros aniônicos e não iônicos normalmente utilizados, são geralmente de baixa toxicidade, mas os polieletrólitos catiônicos são mais tóxicos, especialmente para os organismos aquáticos.

Em virtude dos problemas decorrentes da natureza química dos polímeros sintéticos, em sua grande maioria, derivados de matérias-primas à base de petróleo, é crescente o interesse no desenvolvimento de alternativas naturais de baixo custo para polieletrólitos sintéticos. Alguns dos produtos que vêm sendo estudados como coagulantes e floculantes, incluem os biopolímeros como a quitosana, amido e alginatos, além de compostos produzidos por micro-organismos como bactérias, fungos e leveduras, dentre outros. Em comparação com os coagulantes químicos convencionais, os polímeros naturais biodegradáveis, geram menor quantidade de lodo, e não produzem poluição secundária, o que resulta em menores problemas de disposição dos resíduos produzidos (Renault *et al.*, 2009).

Uma vez que a maioria das partículas coloidais e em suspensão são carregadas negativamente, os polieletrólitos catiônicos são de particular interesse para a aplicação como

coagulantes. Logo, as propriedades catiônicas que apresentam muitos desses polímeros naturais, ou ainda, a capacidade de serem modificados de forma a oferecer propriedades de um polieletrólito catiônico, contribuem, sensivelmente, para a utilização destes no tratamento de água. Um dos polímeros naturais que apresenta essas características e que vem sendo estudado como coagulante no tratamento de água é a quitosana (Bolto e Gregory, 2007; Renault *et al.*, 2009; Bratskaya, Schwarz e Chervonetsky, 2004), a qual oferece vantagens associadas à sua abundância biodegradabilidade, e não toxicidade.

3.2.3 - Flocculação e sedimentação

Após a desestabilização das partículas, o processo físico que ocorre em seguida é denominado flocculação. Nesse processo, sob agitação relativamente lenta, as partículas colidem e se aglomeram em partículas maiores, denominadas flocos, que podem ser removidos por sedimentação, flotação ou filtração rápida.

A taxa de agregação depende do tamanho das partículas, da concentração das mesmas e do seu grau de desestabilização, que permite que as colisões sejam efetivas para produzir aderência, assim como da intensidade da mistura (gradiente de velocidade) (Arboleda, 1992). A agregação entre as partículas desestabilizadas pode ocorrer pelos processos físicos de flocculação pericínética, ortocínética ou sedimentação/flotação diferencial.

A flocculação pericínética decorre da energia térmica do fluido, que induz o movimento aleatório das partículas de tamanhos inferiores a 1 μ m pelas moléculas do líquido (movimento Browniano). A flocculação ortocínética é resultado do movimento provocado pelas unidades de mistura lenta, que promovem turbulência na massa líquida, gerando um gradiente de velocidade, responsável pelas colisões entre as partículas, as quais seguem o movimento do fluido para serem agregadas. Na sedimentação/flotação diferencial, as possíveis colisões entre as partículas são geradas pelo transporte vertical das mesmas, movimento induzido pela força gravitacional.

A sedimentação é um processo físico, no qual a ação da gravidade proporciona um movimento descendente das partículas em meio líquido de menor massa específica. Fisicamente, tem-se que a partícula será acelerada até que as forças de resistência viscosa e

de deformação do líquido sejam iguais à resultante do peso efetivo da partícula. A partir desse momento, sua velocidade terminal ou de sedimentação será constante. A correlação entre as forças atuantes na partícula foi proposta por Stokes e Newton por meio de um conjunto de equações que apesar de facilitarem teoricamente o entendimento do processo de sedimentação, as mesmas não podem ser usadas em projetos de tratamento de água, uma vez que tais equações se baseiam no movimento de partículas discretas, em detrimento das partículas floculentas, predominantes no tratamento de água.

Reconhecidamente, a sedimentação pode acontecer de quatro formas distintas:

- Sedimentação discreta: as partículas sedimentam sem haver aglutinação, ou seja, são conservadas suas propriedades físicas (forma, tamanho e densidade). Considera-se que durante todo o processo de sedimentação o movimento de uma partícula não interfere no movimento de outra;
- Sedimentação floculenta: as partículas aglomeram-se à medida que sedimentam e, portanto, têm suas características (forma, tamanho e densidade) alteradas. Sedimentação zonal: devido à elevada concentração de sólidos, forma-se um manto que sedimenta como uma massa única de partículas;
- Sedimentação zonal: ocorre devido à elevada concentração de sólidos, que forma um manto que se sedimenta como uma massa única de partículas;
- Sedimentação por compressão: ocorre quando as concentrações de sólidos são ainda mais elevadas, podendo acontecer a compressão da estrutura da partícula, removendo a água da matriz do floco. A taxa de compressão depende do tempo e peso das partículas que se sobrepõem.

Dadas às limitações dos estudos de Stokes e Newton quanto à aplicação no tratamento de água convencional, modelos matemáticos foram desenvolvidos a fim de descrever o comportamento dos decantadores e a avaliar as condições de sedimentação dos flocos. Um desses modelos foi o modelo proposto por Hazen em 1904 que considerou as seguintes premissas: o decantador é um tanque ideal; o escoamento é contínuo e não turbulento; as partículas são discretas; e não há ressuspensão de partículas sedimentadas. Essa teoria, apesar de ter considerações que restringiram a aplicabilidade do modelo, foi muito

importante, pois mostrou que a eficiência de remoção de partículas discretas é função da área superficial do tanque e independe da sua profundidade e o tempo de detenção no tanque (Di Bernardo e Dantas, 2005).

Sabendo que nos decantadores reais, as partículas caracterizam-se com floculentas e não como discretas, a metodologia proposta por Camp (1946) surgiu para converter os resultados até então obtidos nos decantadores ideais em parâmetros aplicáveis ao estudo da sedimentação. De acordo com essa teoria, as partículas floculentas podem se aglomerar durante a sedimentação, resultando numa velocidade de sedimentação maior que aquela da partícula inicialmente considerada. Logo, quanto mais chances de contato as partículas tiverem, maior a formação de flocos e maior a velocidade de sedimentação.

Dessa forma, Camp (1946) mostra que não se pode afirmar que a eficiência de remoção das partículas é independente da profundidade e do tempo médio de detenção no tanque, mas sim que, para suspensões de partículas floculentas em decantadores com escoamento contínuo, a área superficial do decantador e a taxa de escoamento superficial são os parâmetros mais importantes. Dadas as dificuldades de se prever a sedimentação das partículas floculentas, recorrem-se aos ensaios de floculação e sedimentação em aparelhos de laboratório (testes de jarro) ou, preferencialmente, em colunas de sedimentação (Di Bernardo e Dantas, 2005).

O produto das partículas sedimentadas configura-se como o lodo acumulado no fundo dos tanques de sedimentação, um resíduo do processo de tratamento de água que deve ter uma remoção, manejo e disposição final adequados, tendo em vista a possibilidade de estarem retidos nele metais pesados e/ou toxinas e outras substâncias provenientes dos coagulantes aplicados ou da água bruta. No caso de águas com presença de cianobactérias, deve-se proceder à remoção rápida desse lodo, visto que, as células podem lisar em um curto espaço de tempo, liberando toxinas para a água clarificada (Drikas *et al.*, 2001).

3.3 - QUITOSANA

A quitosana é um biopolímero linear que ocorre naturalmente no exoesqueleto de artrópodes ou nas paredes celulares de fungos e leveduras, obtida pela desacetilação da quitina,

considerada o segundo polímero natural mais abundante, depois da celulose. Geralmente, o produto desacetilado da quitina só passa a ser considerado quitosana quando o grau de desacetilação, dependendo da origem do polímero, se torna igual ou superior a 50%, ou seja, quando há conversão de mais de 50% de grupos acetil a grupamentos amino (Rinaudo, 2006).

Na obtenção da quitosana, por meio da N-desacetilação da quitina, os grupos acetamido ($-NHCOCH_3$) na posição do carbono-2 de cada unidade glicosídica são substituídos em grupos amino (NH_2) com taxas variadas de substituição. A Figura 3.5 apresenta a estrutura química da quitina e quitosana.

A quitosana é insolúvel em água, em solventes orgânicos e em bases, sendo solúvel na maioria das soluções de ácidos como os ácidos acético, clorídrico e fórmico (Huang, Chen e Pan, 2000; Rianudo, 2006; Ahmad, 2006). Após dissolução em meio ácido, os grupos amino livres da quitosana tornam-se protonados ($-NH_3^+$), o que facilita a interação entre o polímero e as partículas carregadas negativamente. Essa é a razão pela qual esse biopolímero passou a ser classificado como um polieletrólito catiônico (Reanult *et al.*, 2009).

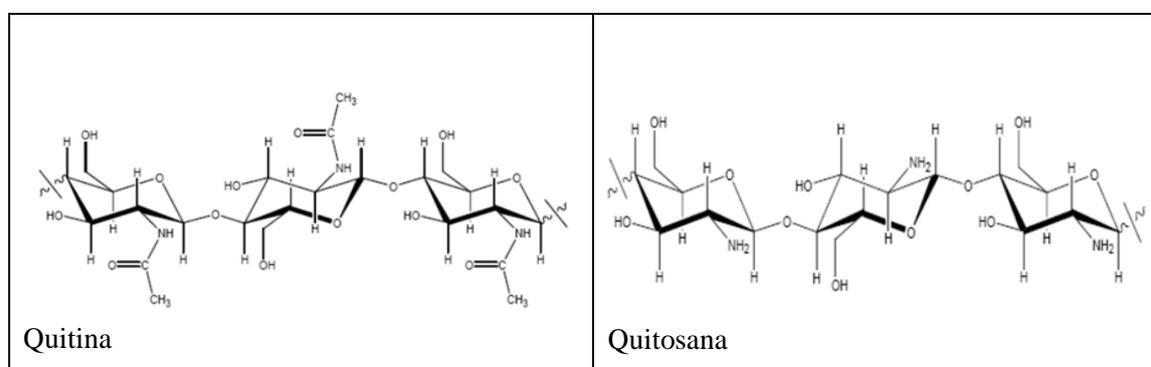


Figura 3.4- Estrutura química da quitina e quitosana. Fonte: Gonçalves *et.al.*, (2011).

Maior solubilidade e um maior poder catiônico da quitosana para torná-la um efetivo coagulante e/ou floculante são determinados pelo seu grau de desacetilação (DD), a distribuição dos grupos amino livres ao longo da cadeia, pelo seu peso molecular (MW) e, pelo tipo e concentração do ácido utilizado na dissolução. A DD influencia na solubilidade da quitosana e na conformação das cadeias moleculares. Com a diminuição da DD, a molécula se torna mais rígida como consequência da ligação intramolecular de hidrogênio entre o acetamido ($-NHCOCH_3$) e hidroximetilo ($HOCH_2$ - porções) (Rianudo, 2006; Renault

et al., 2009).

Uma vez que o quitosana é um polissacarídeo linear, o aumento da massa molecular (MW) está diretamente relacionado com o comprimento da cadeia molecular, o qual deve ser suficiente para se prolongar a partir da superfície de uma partícula para outra, promovendo a agregação pelo mecanismo de ponte entre partículas.

Vários trabalhos mostram que os parâmetros moleculares da quitosana (DD e MW), além de fatores como o pH, dosagem de coagulante e força iônica da suspensão influenciam na ocorrência de vários mecanismos de coagulação com quitosana, incluindo a neutralização da carga (pode incluir “mancha eletrostática), ligação eletrostática, varredura, e ponte entre partículas (Roussy *et al.* 2005; Bolto e Gregory, 2007; Li *et al.*, 2013; Strand *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2003).

A acidez influencia no comportamento da quitosana em solução, tal como a protonação dos grupos amino de quitosana, e as alterações na conformação da cadeia de molécula (cadeia de repulsão). Considerando que o pKa da quitosana é, aproximadamente, 6,5 (Sorlier *et al.*, 2001), a maioria dos grupos de amina são, principalmente, protonados abaixo do pKa intrínseco. Para uma dada concentração de ácido, o grau de protonação depende do pKa do ácido utilizado para solubilizar a quitosana (Rinaudo *et al.*, 1999). A quitosana que foi inicialmente dissolvida em meio ácido pode precipitar quando diluída em soluções alcalinas.

Ao estabelecer uma comparação entre a quitosana e os sais metálicos no tratamento de águas residuárias, Hirohara *et al.* (1999) *apud* Renault (2009), destaca que a quitosana é mais eficiente em menores concentrações, produz flocos de maiores tamanhos (facilitando a sedimentação), não favorece contaminações secundárias na água decorrentes de residuais, e gera um volume de lodo menor e biodegradável, o que confere maior densidade ao lodo, facilitando seu desaguamento. Porém, sua eficiência de coagulação é limitada a uma faixa de valores de pH abaixo do pKa da quitosana. Adicionalmente, sua dosagem, quando em excesso, pode provocar a reestabilização coloidal (Guibal e Roussy, 2007).

É crescente o número de pesquisas sobre a aplicação de coagulantes naturais, em especial a quitosana, no tratamento de águas de abastecimento, porém, são escassas as pesquisas

voltadas para a avaliação da remoção de cianobactérias e cianotoxinas usando esse coagulante. A seguir, tem-se de maneira resumida, os principais parâmetros relacionados ao processo (dosagem de coagulante, valor de pH e condições operacionais), além das eficiências obtidas em alguns trabalhos em escala de bancada que utilizaram, dentre outros coagulantes naturais e/ou químicos, a quitosana para a remoção de impurezas no tratamento de água.

Na maioria dos trabalhos tem-se evidenciado que o comportamento da quitosana como coagulante é influenciado pela dosagem e o pH de coagulação, possibilitando a mesma de atuar pelo mecanismo de adsorção e neutralização de cargas ou pelo mecanismo de varredura (captura de partículas presentes na água), sendo que a coagulação mediante esse último mecanismo tem demonstrado maior eficiência de remoção de impurezas quando do tratamento convencional por sedimentação.

Um dos trabalhos que avaliou, em escala de bancada, a eficiência tanto da quitosana quanto do sulfato de alumínio na remoção da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* (10^5 cel/mL) por sedimentação foi o estudo de Capelete (2011). Nesse estudo foram avaliadas dosagens dos coagulantes quitosana (0 a 9 mg/L) e sulfato de alumínio (0 a 18 mg/L), no intervalo de pH entre 5 e 8. Nos ensaios de coagulação, floculação e sedimentação, duas águas de estudo foram testadas: A1-Água do lago Paranoá sem células e A2- Água do lago Paranoá com inoculação de *Microcystis aeruginosa* (10^5 cel/mL). As condições de operação dos ensaios foram: mistura rápida ($G = 1000 \text{ s}^{-1}$; $T = 30\text{s}$); floculação ($G = 40 \text{ s}^{-1}$ e $T = 20 \text{ min}$); e Sedimentação ($T = 20 \text{ min}$).

Para as duas águas de estudo, a faixa de pH em que os dois coagulantes apresentaram maiores eficiências de remoção de turbidez, clorofila *a* e cor aparente foi similar (Tabela 3.3): entre 6,5 e 7,0, faixa de pH em que, geralmente, predomina o mecanismo de varredura. Porém, as maiores eficiências de remoção de matéria orgânica dissolvida ocorreram em regiões distintas: pH menor que 5,5, para o sulfato de alumínio e próximo de 7, para quitosana. Para esse parâmetro, a eficiência de remoção quando da presença de *M. aeruginosa*, foi de modo geral baixa, sendo o valor máximo obtido com o uso da quitosana (37%), com doses elevadas do coagulante (maior que 8,0 mg/L), enquanto que o sulfato de alumínio só proporcionou essa eficiência de remoção em doses maiores que 10 mg/L.

Um dos problemas encontrados por Capelete (2011), diz respeito ao incremento da cor aparente com o uso da quitosana em algumas regiões do diagrama quando em condições de pH baixo e dosagens elevadas, além de obter menores eficiências de remoção que o sulfato de alumínio. De modo geral, as eficiências de remoção dos dois coagulantes estudados foram similares, porém, as dosagens de sulfato de alumínio na remoção dos parâmetros estudados foi, consideravelmente mais elevada do que da quitosana, exceto para o parâmetro clorofila a, embora sua eficiência de remoção tenha sido menor.

Tabela 3-2- Eficiências de remoção obtidos por Capelete (2011) nas águas de estudo (AE1 e AE2), utilizando quitosana e sulfato de alumínio

Parâmetro	Coagulante	AE1			AE2		
		pH	Dose (mg/L)	Remoção (%)	pH	Dose (mg/L)	Eficiência (%)
Turbidez (uT)	Quitosana	6, 5-7,0	1,5-2,0	70 %	7,1	2,0	95%
	Sulf. Alum.	7,0 -7,5	>4	70 %	7,0	4,0 – 6,0	85 %
Clorofila a (µg/L)	Quitosana	-	-	-	6,8	>7	100%
	Sulf. Alum.	-	-	-	7,0	4,0	80%
UV – 254 nm (m^{-1})	Quitosana	6,5	>4	50%	6,7	>8	37%
	Sulf. Alum.	5,0-5,5	>10	40%	6,5-7,2	>10	40%
Cor aparente (uH)	Quitosana	6,7-6,9	1,0-2,0	40%	6,5-7,2	1,0	80%
	Sulf. Alum.	7,0-7,5	>4,0	85%	7,0-7,5	4,0-6,0	85%

García (2011) também avaliou comparativamente, em escala de bancada, os desempenhos da quitosana e do sulfato de alumínio na remoção de matéria orgânica por sedimentação, com água bruta proveniente de três rios (Boaco, Santo Tomás e Camoapa) e uma de lago (Juigalpa). Nas águas brutas, encontrou-se os maiores valores de NOM (medida por meio dos parâmetros cor, DOC, UV254 e SUVA) no rio Santo Tomás e os menores no lago Juigalpa. Os valores de cor e turbidez foram elevados em todas as quatro fontes avaliadas, porém, menores para o lago, variando, respectivamente, para os rios Boaco, Camoapa e Santo Tomás em [(22.6-43.5 NTU), (35.1-240.0 mg/L Pt-Co); (16.7-52.2 NTU), (101.2-132.3 mg/L Pt-Co) e (27.4-66.0 NTU), (114.0-269.3 mg/L Pt-Co)] e para o lago em (15.5-29.1 NTU) e (44.8-60.8 mg/L Pt-Co)]. As condições de operação dos ensaios foram: mistura rápida, a 100 rpm durante um minuto, floculação, a 30 rpm por 30 minutos, e sedimentação por 1 hora. Há que se observar o tempo de sedimentação relativamente longo utilizado nesse trabalho. Os resultados obtidos por García (2011) seguem na Tabela 3.4.

Tabela 3-3-Resultados obtidos por Garcia (2011) em termos de remoção de matéria orgânica.

Parâmetros/(% remoção)	Boaco		Camoapa		Santo Tomas		Juigalpa	
	S.A.	Quitosana	S.A.	Quitosana	S.A.	Quitosana	S.A.	Quitosana
Turbidez	88,5	90,7	79,0	84,4	89,8	93,1	72,9	76,1
Cor	88,1	92,0	86,3	88,5	91,4	92,8	69,2	63,4
UV- 254 nm	82,9	86,8	77,8	79,7	85,1	87,0	71,1	68,4
DOC	77,6	82,4	60,4	66,0	78,3	86,6	63,0	55,6
SUVA	23,3	23,3	43,3	40,0	32,3	25,8	21,4	28,6

S.A.: Sulfato de Alumínio

A maior redução UV254 foi observada em Santo Tomas, onde 85,1% e 87,0% de remoção foram encontrados com sulfato de alumínio (50 mg/L) e quitosana (12 mg/L), respectivamente. De modo geral, a maior remoção de matéria orgânica com quitosana foi observada nas águas dos rios, do que na água do lago, em que a remoção com sulfato de alumínio foi melhor. García (2011) atribuiu essas diferenças à concentração de matéria orgânica presente nesses corpos d'água, destacando que a quitosana é menos eficiente que o sulfato de alumínio em águas com baixa concentração de matéria orgânica, devido às suas propriedades coagulantes e floculantes, em detrimento do sulfato de alumínio, que é apenas coagulante.

Um estudo em que se constatou a ineficiência da quitosana para água de um manancial superficial natural com baixa turbidez foi o desenvolvido por Zemmouri *et al.* (2012), que avaliou, em escala de bancada, a eficiência da quitosana como auxiliar de coagulação do sulfato de alumínio (até 0,3 mg/L) e como coagulante primário (até 60 mg/L) para água com baixa turbidez (5 NTU), e pH em torno de 7. Como resultados os autores, obtiveram os percentuais de remoção para cada ensaio após 45 min de sedimentação: Quitosana como coagulante primário - turbidez (17%) com até 60 mg/L; Sulfato de alumínio como coagulante primário - turbidez (42%) com 40 mg/L; e Sulfato de alumínio e quitosana (97%). O melhor desempenho da quitosana como auxiliar de coagulação foi atribuído à facilidade dos agregados desse polímero de precipitar na presença de sulfato de alumínio (Van Duin e Hermans, 1959 *apud* Zemmouri *et al.*, 2012).

Melhores resultados para água de manancial superficial com baixa turbidez (3,3 NTU) e baixas concentrações de carbono orgânico total ($\leq 0,4$ mg/L) foram obtidos por Rizzo (2008) com o uso da quitosana, embora a mesma não tenha apresentado melhor desempenho que o

sulfato de alumínio e o cloreto férrico. Estudando a eficiência dos referidos coagulantes para remoção de turbidez e matéria orgânica de amostras de água de manancial superficial, assumindo os pH 5, 6 e 7, Rizzo *et al.* (2008) obteve melhores percentuais de remoção de turbidez utilizando o cloreto férrico seguido do sulfato de alumínio (90 e 85 %) em pH 6, embora a dosagem utilizada tenha sido substancialmente maior (80 mg/L e 40 mg/L, respectivamente), em contraste com a dose de 1 mg/L de quitosana com a que se obteve remoção de cerca de 80 % em pH 5 e 6.

A remoção de UV254 não foi satisfatória, sendo que a maior remoção foi obtida com o cloreto férrico em pH 5 (55%) com uma dosagem de 80 mg/L, contrastando com uma remoção de cerca de 10 % obtida ao empregar 1mg/L de quitosana. Quando a turbidez inicial da água de estudo foi maior (16,6 NTU), os autores observaram melhores resultados de remoção (cerca de 95%) em pH 7 para a mesma dose de quitosana (1mg/L). Nessas condições, a remoção de UV254, foi inferior a 40% nos pH 5 e 6.

A eficiência da quitosana como coagulante tem sido estudada, levando-se em consideração além da matriz da água estudada, pH e dosagem de coagulante, também com relação ao seu grau de desacetilação (DD) e massa molecular (MW) que influenciam na sua solubilidade. O grau de desacetilação determina a quantidade de grupos amino presentes no biopolímero.

O grau de desacetilação (DD), bem como a massa molecular (MW) com relação ao pH e dosagem foram estudados por Roussy *et al.*(2005) como forma de avaliar a eficiência da quitosana para a coagulação e floculação de suspensões de bentonita (5 mg/L) adicionada em água de torneira e água deionizada. Os experimentos foram realizados em escala de bancada com 3 minutos de mistura rápida a 200 rpm, floculação por 20 minutos a 40 rpm, seguida de 30 min de sedimentação, em valores de pH igual a 5 e 7.

Segundo Roussy *et al.*(2005), a quitosana foi muito eficaz para a coagulação de suspensões concentradas de bentonita na água da torneira ou água deionizada, e em ambos os pH, sendo a turbidez de 5mg/L foi reduzida para menos de 10 FTU quando utilizadas concentrações de quitosana tão baixa quanto 0,02 mg/L. Embora a quitosana tenha sido eficiente na remoção de turbidez em ambas águas de estudo, a água da torneira apresentou melhores resultados em ambos os valores de pH, devido à composição iônica da solução, porquanto, em pH 7, as dosagens foram relativamente maiores (1,0 mg/L). Ainda, A coagulação foi mais eficaz

utilizando quitosanas de maior peso molecular tanto na água da torneira quanto na água deionizada, para pH 5 ou 7, devido essas formas de quitosana apresentarem estruturas assimétricas mais rígidas cuja conformação não varia significativamente, embora sua eficiência tendeu a estabilizar quando MW excedeu 100,000 g/mol. O autor não relatou claramente, o efeito da DD na eficiência de remoção.

Tal como Roussy *et al.*(2005), Chen *et al.* (2003) observaram melhor floculação de bentonita com quitosana de MW mais elevada (maior molécula). De acordo com os autores, a dosagem necessária de floculação, diminuiu com o aumento da DD, embora não tenha sido observada diferenças significativas na remoção de turbidez entre as quitosanas com diferentes graus de desacetilação, o que levou a uma conclusão preliminar que o DD tem um efeito limitado sobre a floculação. Eles concluíram que o mecanismo de ponte é dominante na floculação da bentonita com o uso da quitosana.

Strand *et al.*, (2001), também constataram que a coagulação de bactérias *Escherichia coli* é melhorada com o aumento da MW da quitosana, embora, com uma menor DD. Segundo os autores numa menor DD, a presença de grupos acetil melhoram a coagulação da bactéria *E. coli* através de um aumento da hidrofobicidade do polímero. Nesse experimento, o pH teve um efeito muito limitado na faixa de 4 a 7,4, porém, maior concentração de quitosana foi necessária quando o pH aumentou acima de 7,4, o que confere com os resultados obtidos por Roussy *et al.*,(2005). Com alta DD, a concentração de quitosana necessária para a coagulação aumentou à medida que o pH excedeu 7,8, o que os autores reportaram como uma evidência da combinação do mecanismo de neutralização de carga e varredura, devido à precipitação de quitosana e aprisionamento das bactérias.

Os resultados de Li *et al.* (2013) revelaram que é possível controlar a dosagem de quitosana, criteriosamente, com o peso molecular, grau de desacetilação e pH de coagulação, a fim de alcançar um aumento da eficácia de coagulação/floculação. Para a água deionizada (DW) com caulinita (turbidez inicial de 200 uT), na dose mais baixa de quitosana (0,01 mg L), em pH 3, a eficiência da coagulação/floculação foi independente da DD. No entanto, em pH 5, 7 e 9, a turbidez residual diminuiu notavelmente, com o aumento da DD. Aumentando-se a dosagem de quitosana para 0,10 e 0,20 mg/L, a turbidez residual foi inferior a 10 uT, independentemente do pH das suspensões de caulinita e DD da quitosana. Na água da

torneira com caulinita (turbidez inicial de 200 uT), com 0,01 e 0,10 mg/L de quitosana, a eficiência da coagulação/floculação foi satisfatória, sendo ligeiramente afetada pelo pH e DD da quitosana. Com uma dosagem de 0,30 mg/L, a coagulação/floculação com quitosana com diferentes DD em pH 7, teve semelhante eficiência.

Quitosanas de baixo MW (MW abaixo de 21,1 kDa) não conseguiram atingir o valor alvo de turbidez residual na água da torneira sob todas as condições investigadas, porém, na água deionizada, bons resultados foram obtidos usando 0,10-0,20 mg/L de quitosana. Segundo os autores, o desempenho da coagulação-floculação na água da torneira foi muito diferente em relação à água deionizada devido aos efeitos da força iônica da água da torneira sobre as propriedades da caulinita e solução de quitosana (conformação mais estendida).

3.4 - PROCESSOS DE TRATAMENTO DE ÁGUA PARA REMOÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS

Face ao aumento das florações de cianobactérias em mananciais utilizados para abastecimento de água para consumo humano, torna-se necessário a remoção desses organismos e suas respectivas toxinas nos sistemas de tratamento de água com vistas a proteger a saúde humana, bem como a vida aquática. Dessa forma, os processos e sequências de tratamento de água para abastecimento público devem ser escolhidos em função da sua capacidade de remover as células sem promover ou favorecer a lise celular, assim como pela capacidade de remover a fração dissolvida das cianotoxinas (toxinas extracelulares). A Tabela 3.4 sintetiza a eficiência de diferentes tipos de tratamento de água para remover células intactas de cianobactérias e processos eficientes na eliminação de cianotoxinas extracelulares dissolvidas.

Tabela 3-4 - Processos de tratamento de água utilizados para remoção de cianobactérias e cianotoxinas. US EPA (2012)

Processo de tratamento	Eficácia Relativa
	Remoção de cianotoxinas intracelulares (células intactas)
Pré-tratamento com oxidação	Deve ser evitada, pois pode haver a lise de células de cianobactérias, liberando o cianotoxinas para a água. Do contrário, para uma oxidação eficiente, deve-se garantir o controle do carbono total-CT. O permanganato de potássio ($KMnO_4$) tem demonstrado ser eficaz na remoção das células <i>Microcystis</i> com nenhuma liberação de toxina. O carvão ativado em pó (PAC) é recomendado em adição para remover as toxinas que podem ter sido liberadas. O sulfato de cobre e ozônio na entrada remove a floração, mas não são recomendados por causa do risco de lisar as células.
Coagulação/sedimentação/Filtração	Eficaz para a eliminação de toxinas intracelulares quando as células acumuladas no lodo são isoladas da planta e o lodo não é retornado ao fornecimento após a separação do mesmo. Quando as células são carregadas para os filtros, a retrolavagem deve ser mais frequente para reduzir o risco de libertação de toxinas na água.
Membranas	Embora os estudos ainda não sejam conclusivos, presume-se que as membranas seriam eficazes para a remoção de cianotoxinas intracelulares, sendo a microfiltração e ultrafiltração eficazes quando as células não ficam sobre as membranas por longos períodos de tempo.
Flotação	Processos de flotação, como flotação por ar dissolvido são eficazes para a remoção de cianotoxinas intracelulares uma vez que muitas das toxinas de formação das cianobactérias são flutuantes, e por isso, é mais eficaz que a sedimentação.
Processos de Oxidação	Deve ser evitada, pois pode ocorrer a lise de células de, liberando o cianotoxinas para a água, além da possibilidade de formação de subprodutos.
Remoção cianotoxinas extracelulares	
Membrana	Depende do material da membrana, da distribuição de tamanho do poro, e da qualidade da água. A nanofiltração e ultrafiltração são provavelmente eficazes na remoção de microcistina extracelular. Osmose reversa, provavelmente só será aplicável para a remoção de alguns cianotoxinas extracelulares como cilindrospermopsina. A lise celular é altamente provável. Mais pesquisas são necessárias para caracterizar o desempenho.
Permanganato de potássio	Eficaz para oxidar microcistinas e anatoxins. Pesquisas são necessárias para cilindrospermopsina, mas estudos indicam que não é muito reativo com a mesma.
Ozônio	Muito eficaz para oxidar microcistina extracelular, anatoxina-a e cilindrospermopsina, mas a sua eficácia é também dependente do pH e pode ser afectada pela presença de matéria orgânica. Para a oxidação da microcistina, independe do pH. Subprodutos da desinfecção é um outro problema potencial.
Cloraminas	Não eficaz para microcistina, anatoxina-a e cilindrospermopsina.
Dióxido de cloro	Não é eficaz com doses utilizadas no tratamento de água potável.
Cloração	Eficaz para oxidar cianotoxinas extracelulares (especialmente, microcistina e cilindrospermopsinas), enquanto o pH é inferior a 8, e ineficaz para a anatoxina-a. Além disso, tem potencial para produzir subprodutos de desinfecção durante o tratamento.
Radiação UV	Efetivo para degradar microcistina e cilindrospermopsina, mas doses mais elevadas que o limite são necessárias, tornando-se o tratamento inviável. Tem sido utilizada juntamente com um catalisador (dióxido de titânio) para decompor oxidativamente as toxinas. No entanto, a eficácia deste processo é, em grande parte, dependente do cloro para a inativação de microcistina, por sua vez, dependente do pH.
Carvão Ativado	Ambos, carvão ativado em pó (CAP) e carvão ativado granular (CAG) têm sido eficazes na absorção de microcistinas e cilindrospermopsina, embora variantes de microcistinas possam ter vários graus de eficiência de adsorção. Seu desempenho depende da concentração da toxina e a dose e origem do carvão ativado. Ensaios de teste de jarros são recomendados, com a aplicação do carvão com a maior capacidade para a remoção dos contaminantes alvo. Carvões à base de madeira tem se mostrado mais eficazes.

Como apresentado na Tabela 3.4, os processos físicos de tratamento de água são eficientes na remoção de cianotoxinas intracelulares, porém, ineficientes na remoção de toxinas extracelulares. Melhores resultados são obtidos para remoção de toxinas extracelulares quando da adaptação dos processos físicos associada a outras alternativas tecnológicas como pós oxidação química, adsorção em carvão ativado, processos de separação em membranas, dentre outros.

Nesse sentido, Teixeira *et al.* (2010) verificaram que devido as cianobactérias serem partículas de baixa densidade, a utilização da flotação por ar dissolvido – FAD precedida de coagulação e floculação em águas com elevadas concentrações de cianobactérias é mais efetiva do que a clarificação por sedimentação, apresentando remoções de até 98% comparadas com 77% de remoção no processo de sedimentação de células. Em contrapartida, esses processos não mostraram-se eficientes para a remoção de toxinas extracelulares, sendo necessária a utilização de carvão ativado para a obtenção de melhores resultados (Teixeira e Rosa, 2006). Nesse aspecto, Zamyadi *et al.*, (2013) observou a adição de carvão ativado em pó (CAP) antes da coagulação seguida do processo de sedimentação, e a sua presença no lodo pode favorecer a remoção de microcistinas dissolvidas e intracelulares, minimizando a liberação de toxinas para a água clarificada.

Em escala real, Ratnayake *et al.* (2012), avaliou a eficiência de quatro diferentes combinações de processos na remoção de *M. aeruginosa* e microcistinas da água, usando o policloreto de alumínio como coagulante. As combinações de processos avaliadas envolveram a pré-cloração seguida de adsorção em carvão ativado (CAP) antes da flotação por ar dissolvido (FAD), filtração e desinfecção; adsorção em carvão ativado antes da FAD, filtração e desinfecção; e pré-cloração seguida de (FAD), filtração e desinfecção. Os autores verificaram que com a utilização do CAP, unicamente, microcistinas não foram detectadas na água tratada. A utilização somente da pré-cloração proporcionou o pior desempenho na remoção de toxinas intracelulares, devido ter provocado lise celular.

Avaliando remoção de microcistinas e saxitoxinas, provenientes de duas florações de cianobactérias naturais mediante três combinações diferentes de processos com coagulação: i) somente ultrafiltração ii) coagulação seguida de ultrafiltração, e iii) adição de coagulante e 20mg/L de CAP seguido de ultrafiltração, Dixon *et al.* (2011) observaram que a adição

de CAP quando houve coagulação e ultrafiltração removeu cerca de 46% de saxitoxinas intracelulares, e aumentou para 74% quando o coagulante e o CAP foram adicionados simultaneamente. Porém, no caso das microcistinas, a adsorção com CAP foi afetada pela adição de coagulante como no estudo de Brasil (2004), que observou que adição simultânea de CAP e do coagulante policloreto de alumínio (PAC) na água do lago Paranoá reduziu a eficiência de remoção de microcistinas.

Morais (2012) também destacou em seu trabalho que o tratamento convencional de água com sedimentação não foi eficiente para a remoção de toxinas extracelulares, observando uma remoção limitada tanto de saxitoxinas quanto de microcistina após a filtração, sendo necessária a oxidação pós-filtração para remoção até o limite legal permitido no Brasil de tais cianotoxinas. Na remoção de toxinas intracelulares, o autor não observou a presença *C. raciborskii* após a filtração, em detrimento da presença de *M. aeruginosa* que foram encontradas na ordem de 10^1 a 10^3 cél/mL. Tais diferenças foram justificadas em função das diferentes morfologias das cianobactérias estudadas.

A morfologia das células foi associada à eficiência de remoção no trabalho de Zamyadi *et al.* (2013), que verificaram que as toxinas intracelulares de *Microcystis*, *Anabaena* (hoje, *Dolichospermum*), e *Pseudanabaena* foram removidas de forma eficiente nos processos de sedimentação e de filtração, enquanto as células de *Aphanizomenon* não foram eficientemente removidas. Observa-se, porém, no trabalho Zamyadi *et al.*, (2013) que, ao contrário dos resultados obtidos por Moraes (2012), os autores obtiveram boa remoção de células de *M. aeruginosa*. Nesse aspecto, Drikas *et al.*, 2001, também obteve boa remoção de células de *M. aeruginosa* no processo convencional de tratamento de água após a filtração, embora não tenham obtido bons resultados para a remoção de microcistinas extracelulares.

3.4.1 - Aplicação da Coagulação e sedimentação para remoção de cianobactérias e cianotoxinas.

O tratamento convencional compreende as etapas de coagulação, floculação, sedimentação, filtração e desinfecção, podendo existir variações em algumas estações de tratamento com a substituição da sedimentação pela etapa de flotação, a utilização de filtração direta, dentre outros. A presença cianobactérias na água bruta aduzidas às estações de tratamento

convencionais pode causar problemas operacionais em várias etapas do tratamento, tais como: dificuldade de coagulação e floculação, baixa eficiência do processo de sedimentação, colmatação dos filtros e aumento da necessidade de produtos para desinfecção (Di Bernardo e Dantas, 2005). Tais problemas são ocasionados pelas mudanças nas características químicas da água bruta decorrentes dos processos metabólicos das cianobactérias (AWWA, 2010).

A redução na eficiência dos processos de tratamento e o comprometimento da qualidade da água tratada associados à presença de cianobactérias e seus subprodutos extracelulares são as principais consequências desses problemas operacionais (Bernardo e Dantas, 2005). Contudo, no tratamento convencional, esses problemas podem ser minimizados caso sejam garantidas boas condições de coagulação, especialmente com aumento da dosagem de coagulantes para redução da matéria orgânica fitoplanctônica (Sano *et al.*, 2011). Entretanto, essa prática pode elevar o aumento nos custos com produtos químicos e à geração de lodo em excesso (Di Bernardo e Dantas, 2005).

A matéria orgânica algogênica (MOA) gerada pelas atividades metabólicas de células de algas e cianobactérias, é formada por diversos compostos orgânicos, como polissacarídeos, oligossacarídeos, proteínas, peptídeos, aminoácidos, ácidos nucleicos e lipossacarídeos (Sivonen e Jones, 1999). O tratamento convencional da água pode ser ineficiente pela presença dessas substâncias que formam a MOA intracelular como também pelos aspectos morfológicos celulares (Sano *et al.*, 2011; Takaara *et al.*, 2010).

A minimização ou eliminação da matéria orgânica utilizando processos de clarificação é, fundamentalmente, influenciada por fatores como pH, dosagem e tipo de coagulante, características da matéria orgânica presente na água, a concentração e a natureza dos compostos inorgânicos e pelo processo de tratamento de água. A alcalinidade presente na água natural ou sintética também é um fator importante, à medida que atua como tampão minimizando a diminuição do pH de coagulação (Libânio, 2010).

O potencial inibitório da matéria orgânica superficial produzida por *M. aeruginosa* na etapa de coagulação foi avaliado por Takaara *et al.* (2010), os quais verificaram que compostos hidrofílicos de cianobactérias carregados negativamente, com peso molecular superior a 10

KDa interfere negativamente na coagulação com o uso do cloreto de polialumínio.

De acordo com as características das partículas a serem removidas, os mecanismos de desestabilização podem variar. No caso de células de formato esférico e superfície lisa, tem sido constatada a predominância do mecanismo de neutralização, porém se as células são compridas e filamentosas, verifica-se o predomínio da varredura (Bernhardt *et al.*, 1991 *apud* Oliveira, 2005).

A influência da espécie de cianobactérias na eficiência do processo de tratamento convencional da água potável em termos de remoção de suas células foi estudada por Zamyadi *et al.* (2013). Os autores realizaram amostragens de água bruta em uma situação de floração do manancial de abastecimento, imediatamente antes do tratamento - (coagulação, sedimentação, filtração e processos de oxidação por cloro), para especificação/enumeração e análise de microcistinas, de julho a agosto de 2011. Prévio à coagulação com sulfato de alumínio foi adicionado carvão ativado em pó – PAC.

A partir desse estudo, os autores observaram que houve intensa acumulação de cianobactérias nos poços de lodo dos decantadores e nas unidades de filtração, o que provocou interrupções no tratamento. As células de *Aphanizomenon* não foram coaguladas de forma efetiva, não sendo retidas de forma efetiva no lodo, nem no filtro. No entanto, as células de *Microcystis*, *Anabaena*, e *Pseudanabaena* foram removidas de forma eficiente nos processos de sedimentação e filtração. Ainda no referido trabalho, os autores constataram que a adição de carvão ativado em pó (CAP) antes da coagulação e a sua presença no lodo pode favorecer a remoção de microcistinas dissolvidas e intracelulares, minimizando a liberação de toxinas para a água clarificada.

Partículas com densidade maior que da água conseguem ser removidas por unidades de sedimentação. Devido à baixa densidade das cianobactérias juntamente com algas, estas não são satisfatoriamente removidas por sedimentação, efeito que pode ser minimizado se houver na água concentrações de matéria particulada que permita a formação de flocos para promover a sedimentação (Janssens e Buenkens, 1993 *apud* Olivera, 2005).

O emprego da sedimentação para remover células de cianobactérias foi estudado por Drikas

et al. (2001), em escala de bancada, mediante testes de jarros. Jarros quadrados de acrílico com capacidade para 2L de amostra foram utilizados. Nesse estudo, a água do reservatório South Para (sul da Austrália) foi misturada com cultura de *Microcystis aeruginosa*, gerando uma água de estudo com uma concentração de 10^6 células/mL. Nos ensaios de coagulação as condições operacionais utilizadas foram: mistura rápida - ($G = 480/s$) por 1 min; floculação: ($18/s$) por 14 min e Sedimentação -15 min. O uso de uma dosagem de 65 mg/L de sulfato de alumínio e o pH de coagulação de 7,2 resultou numa remoção de 70% das células.

Utilizando o sulfato de alumínio como coagulante, nas dosagens (0 a 40 mg/L), faixa de pH entre 5 e 8, sob as condições operacionais de $GMR = 800 s^{-1}$, $tMR = 30 s$; $GF = 20 s^{-1}$, $tF = 25 min$, tempo de sedimentação de 14 min e taxa de aplicação superficial de $7,2 m^3/m^2.dia$, Ermel (2009) obteve melhores eficiências de remoção de células de *Microcystis aeruginosa* (>80%) em valores de pH baixos (5,0 e 5,5), para uma ampla faixa de dosagem de sulfato de alumínio, tanto em termos de turbidez quanto de clorofila-*a* e células.

Em estudo, em escala de bancada, realizado na Universidade Federal de Viçosa (UFV), Morais (2012) com a mesma espécie de cianobactéria (densidade de 10^5 cél/mL) e com o mesmo coagulante (doses variando entre 3 e 38 mg/L) e pH no intervalo de 5 a 8, também verificou eficiências de remoção de turbidez elevadas (até 90%). No entanto, a faixa de pH em que foram obtidas as maiores remoções foi de 6,5 a 8,0 e doses entre 8 e 32 mg/L. As condições operacionais adotadas por Morais (2012) foram: $GMR = 1000 s^{-1}$, $tMR = 30 s$; $GF =$ variando de 12 a $43 s^{-1}$ nas seis câmaras de floculação, $tF = 20 min$, tempo de sedimentação de 5 minutos.

Nas mesmas condições, de pH, coagulante e dosagem, bem como nas mesmas condições operacionais expostas anteriormente, Ermel (2009) e Morais (2012) também avaliaram a eficiência do processo de sedimentação na remoção de *C. raciborskii* (densidade de 10^6 cél/mL para ambos os estudos). Ermel (2009), não obteve eficiência de remoção satisfatória de *C. raciborskii* em nenhum valor de pH de coagulação e dosagem de coagulante, sendo que as melhores eficiências encontradas mantiveram-se, em média, abaixo de 40%. Remoção similar foi obtida também utilizando o coagulante cloreto férrico. Morais (2012), no entanto, obteve remoção acima de 90% de células de *C. raciborskii*, na faixa de pH entre

6,5 a 7,5 com dosagens de sulfato de alumínio entre 20 e 25 mg/L. Cabe salientar, porém, que a água de estudo com *C. raciborskii* de Morais (2012), diferentemente da água de estudo utilizada por Ermel (2009), tinha alta turbidez mineral, já que os experimentos foram realizados no período chuvoso.

Em escala de bancada, trabalhando com *C. raciborskii* e com o sulfato de alumínio como coagulante (doses variando entre 0 e 30 mg/L) e pH entre 5,5 e 7, Oliveira (2005) também verificou eficiências de remoção elevadas (até 86%), clorofila-*a* e turbidez no processo de sedimentação, embora o procedimento não tenha mostrado reprodutibilidade de resultados, apresentando eficiências de remoções bastante díspares para experimentos realizados nas mesmas condições operacionais. Os valores de pH em que foram observadas remoções satisfatórias foi de 5,5 e 7,0 (predomínio do mecanismo de varredura em pH 7 e adsorção-neutralização de cargas em pH 5,5) e doses entre 10 e 30 mg/L. As condições operacionais adotadas por Oliveira (2005) foram: $GMR = 800 \text{ s}^{-1}$, $tMR = 30 \text{ s}$; $GF = 20 \text{ s}^{-1}$, $tF = 25 \text{ min}$; e velocidade de sedimentação de 0,5 cm/min.

A remoção, em escala de bancada, de *Microcystis aeruginosa* pelos processos de coagulação e sedimentação, utilizando o cloreto de alumínio ($AlCl_3$), na dosagem de 15 mg/L foi avaliada por Sun *et al.* (2012). A água de estudo avaliada consistiu na água do reservatório Queshan (uma fonte de água potável) inoculada com células de *Microcystis aeruginosa* (densidade de células de $2,0 \times 10^6 \text{ cel/mL}$). As condições de operação utilizadas nos testes de jarros para cada 1L de amostra foram as seguintes: velocidade de rotação na etapa de mistura rápida de 250 rpm e tempo de mistura (T_{mr}) de 1 min, floculação de 40 rpm por 20 min e sedimentação de 30 min. Nas condições avaliadas foi alcançada remoção total das células, não sendo verificada a liberação de toxina intracelular MC-LR, indicando que as células removidas mantiveram sua integridade durante o processo.

Em escala de bancada, Teixeira e Rosa (2006) verificaram a eficiência de remoção de células de *Microcystis aeruginosa*, comparando os processos de flotação por ar dissolvido (FAD) e sedimentação. Duas águas de estudo preparadas usando água da torneira como água base inoculada com células de *M. aeruginosa*, foram estudadas: a água de estudo 1 apresentava concentração de clorofila entre 10 e 35 $\mu\text{g/L}$ e a água 2, concentração de clorofila entre 50 e 75 $\mu\text{g/L}$. No estudo foram utilizados os coagulantes sulfato de alumínio e o polímero

inorgânico - polihidroxiclrossulfato de alumínio (PAC- alumínio pré-polimerizado), com doses variando entre 2 e 20 mg/L de Al_2O_3 . As condições de operação para os ensaios de coagulação/floculação/sedimentação foram: $G_{MR} = 743 s^{-1}$ e $T_{MR} = 2$ min; $G_F = 24 s^{-1}$ e $T_F = 15$ min; e tempo de sedimentação de 20 min.

O polímero inorgânico apresentou melhor desempenho nos dois processos, no que diz respeito a maiores eficiências de remoção de *M. aeruginosa*, menor decréscimo de pH, menor dosagem e menor geração de resíduos no lodo. Os resultados obtidos com relação aos dois coagulantes utilizados foram listados em função da concentração de Al_2O_3 . A coagulação com PAC com concentrações de sulfato de alumínio de 5 mg/L e 3,5 mg/L resultou na remoção de células em 90 % pelo processo de FAD. Para a sedimentação, a aplicação de 15 e 12 mg/L de sulfato de alumínio resultou na remoção de 95%. A remoção de microcistinas dissolvidas foi baixa (5 a 24%) em ambos os processos de tratamento, porém, não foi observada liberação de toxina para água.

Dando continuidade ao trabalho citado anteriormente, Teixeira e Rosa (2007), avaliaram, em escala de bancada, a interferência da matéria orgânica natural (NOM) na remoção de células de *Microcystis aeruginosa* pelos processos de sedimentação e FAD (água com 25 a 40 μ g/L de clorofila-a), usando os mesmos coagulantes, em doses similares às utilizadas na pesquisa anterior (Teixeira e Rosa, 2006). Os ensaios foram realizados com água bruta (RW) e a água ozonizada (OW), inoculadas com células de cultura de *M. aeruginosa*, representando dois tipos de matéria orgânica natural (NOM). A pré ozonização afeta, principalmente, o peso molecular da NOM e hidrofiliabilidade.

Os resultados obtidos, em comparação com aqueles anteriormente encontrados com água da torneira, mostraram que a NOM influenciou de forma negativa na remoção de células de cianobactérias, tanto em termos de eficiência de remoção como em demanda de coagulante, a qual foi maior (dose ideal de 5 mg /L de Al_2O_3 para a água da torneira e 12 mg/ L Al_2O_3 para água bruta e água ozonizada). A água ozonizada mostrou absorvâncias mais elevadas do que a água bruta, especialmente no processo de coagulação, floculação e sedimentação, uma vez que pré-ozonização provoca a oxidação da NOM e interfere na desestabilização das partículas, sendo responsável pelo aumento de produtos orgânicos e remoção de partículas.

O processo de flotação apresentou as melhores eficiências de remoção de cianobactérias, superior a 92% (expresso em termos de clorofila-*a*), bem como menor geração de resíduos na menor dose ótima de coagulante (8 mg/L versus 12 mg/L, Al_2O_3) independente do tipo de NOM. A sedimentação apresentou eficiência de remoção em termos de clorofila-*a*, de aproximadamente 90% para as duas águas. As microcistinas extracelulares praticamente não foram removidas da água por ambos os processos, entretanto não houve liberação de toxinas na água.

O avanço e acúmulo de células de cianobactérias tóxicas ao longo das operações unitárias dentro de uma ETA foi estudado por Zamyadi *et al.* (2012b). O trabalho foi desenvolvido em escala real em uma ETA com monitoramento online da água por meio de sonda, para avaliar a presença das células de cianobactérias e suas respectivas toxinas associadas (dentre elas, microcistinas e cilindrospermopsinas) nas diferentes etapas do processo de tratamento convencional com sedimentação, após a adição de coagulante e carvão ativado na etapa de coagulação.

A ETA localizada no Missisquoi Bay do Lago Champlain, no sul do Quebec (Canadá), foi monitorada durante três eventos de floração, ocorridos em 2008, 2009 e 2010, nos meses de junho a outubro. Os resultados indicaram que um elevado número de células de cianobactérias (4.7×10^6 células/ml) e concentrações totais de microcistinas (até 10 mg/L) se acumularam nos clarificadores. A presença de células e de toxinas também foi detectada na água filtrada. Além disso, uma concentração total de microcistinas de 2,47 mg/L, foi detectada na água clorada.

3.4.2 - Lise de células de cianobactérias nos decantadores em função do período de armazenamento do lodo.

Estudos que avaliaram a liberação de cianotoxinas no tratamento de água, indicam que o lodo acumulado em decantadores pode promover o aumento concentração de toxinas na água clarificada, devido à lise das células em função do coagulante utilizado, do pH de coagulação, e do tempo que o lodo permanece armazenado nos decantadores.

Um dos primeiros trabalhos que avaliou a lise de células de cianobactérias em função do

tempo que permanecem armazenadas foi o de Drikas *et al.* (2001). Como mencionado anteriormente, os autores estudaram, em escala de bancada a eficiência de remoção de células da cianobactéria *M. aeruginosa* no tratamento convencional de água, utilizando o sulfato de alumínio como coagulante. Os autores observaram que a concentração das toxinas aumentou até o segundo dia de armazenamento, quando então se equiparou à concentração de microcistinas total. Tal resultado demonstrou que a lise das células e a liberação das toxinas ocorreu apenas nos dois primeiros dias de armazenamento. A partir do quinto dia a concentração total de microcistina começou a diminuir, indicando sua degradação, que chegou a aproximadamente zero ao final dos 14 dias de experimento.

Os resultados obtidos por Drikas *et al.* (2001), apresentam uma certa compatibilidade com os resultados obtidos por Ermel (2009) no que concerne à lise de células e liberação de toxinas durante o armazenamento do lodo. No seu estudo, Ermel (2009) avaliou o armazenamento do lodo ao longo de 50 dias nas condições de pH 5,5 e 7 e dosagens de sulfato de alumínio (5, 13 e 21 mg/L) para verificação da ocorrência de lise celular e degradação de toxinas. Nessas condições, foi constatado que decaimento da concentração de clorofila-*a* foi similar ao de células, sendo que no 10º dia a densidade de células já havia decaído mais de 90% do seu valor inicial, chegando a 100% no 15º dia, para os dois valores de pH analisados (Figura 3.5).

Segundo Ermel (2009), apesar do sulfato de alumínio apresentar uma certa influência no decaimento inicial de células e clorofila-*a*, como mostra a Figura 3.5, o mesmo não pareceu ser tóxico às células de *Microcystis aeruginosa*, já que as amostras sem coagulante apresentaram, basicamente, o mesmo perfil das amostras com coagulante, podendo o decaimento ter ocorrido, principalmente, em função da simples ausência de luz.

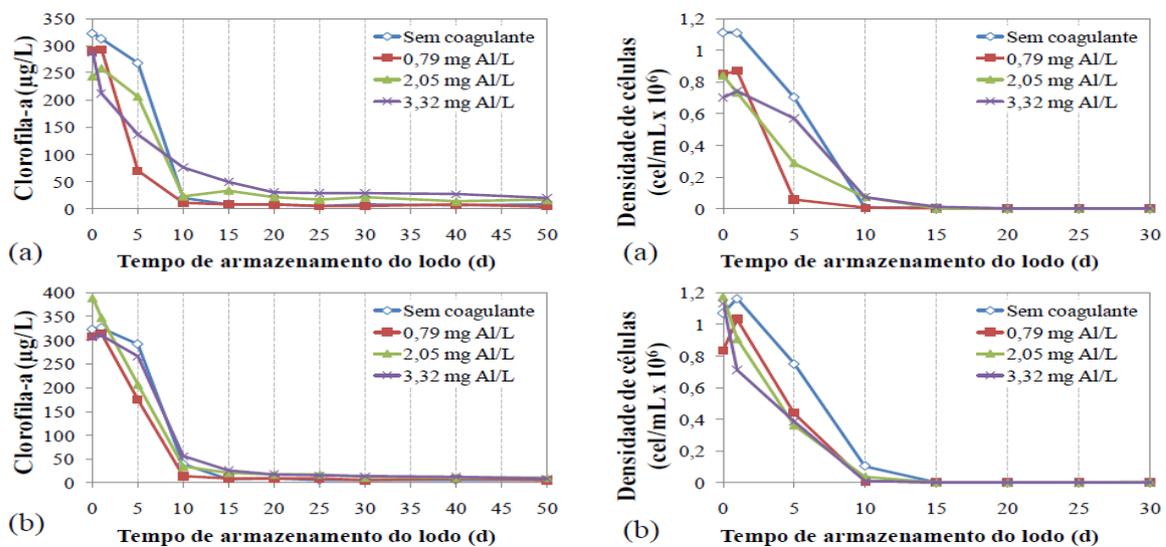


Figura 3.5 - Concentração de clorofila-a e densidade de células de *M. aeruginosa* ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b). Fonte: Ermel (2009).

Com relação à liberação de microcistinas extracelulares com o tempo de armazenamento do lodo, Ermel (2009) verificou que a toxina atinge concentração máxima após 5 dias de armazenamento. Para o valor de pH de coagulação igual a 5,5, nas amostras sem adição de coagulante e com a dosagem de coagulante mais baixa (0,79 mg Al/L), ainda havia considerável concentração de microcistina extracelular no 10º dia, diferentemente das dosagens mais altas, que já haviam sido quase 100% degradadas (Figura 3.6), resultado que difere um pouco do resultado de Drikas *et al.* (2001), que obteve 100% de degradação apenas no 15º. A liberação mais lenta de toxina no ensaio sem adição de coagulante foi compatível com a cinética mais lenta de decaimento das células.

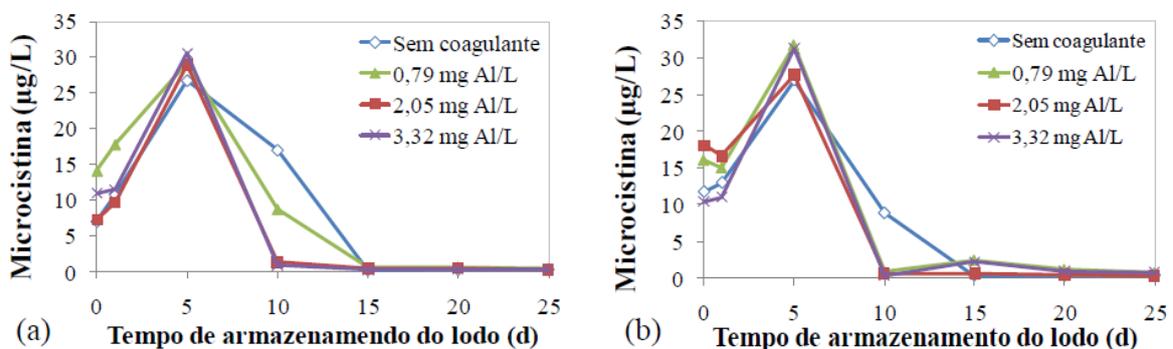


Figura 3.6- Concentração de microcistina extracelular no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b). Fonte: Ermel (2009).

Outro estudo em que foi avaliada a lise celular cianobactérias e a liberação de toxinas na água durante o armazenamento do lodo gerado após a sedimentação, foi o desenvolvido por Oliveira (2005). No estudo foi avaliado, dentre outros objetivos, o comportamento das células de *Cylindrospermopsis raciborskii* e suas toxinas (Saxitoxinas – neoSTX e STX) durante o período de 30 dias de armazenamento do lodo, gerado na sedimentação a partir da coagulação com sulfato de alumínio nas dosagens de (14, 16 e 23 mg/L) e nos valores de pH 6 e 7 .

Nessa fase do experimento, Oliveira (2005) obteve os seguintes resultados:

- Quanto ao decaimento celular (clorofila-*a*) e liberação de toxinas para a água clarificada, no pH de coagulação 6,0, e para as três dosagens de coagulantes testadas, Oliveira (2005) verificou que a redução da biomassa de células de *Cylindrospermopsis raciborskii* ocorreu nos 10 primeiros dias, juntamente com o aumento da concentração de toxinas dissolvidas (neoSTX e STX). Esse resultado não observado na amostra sem adição de coagulante que já no 5º dia apresentou decaimento celular, o que indica morte celular e a liberação das toxinas para massa de água é retardada pela adição do coagulante.
- Ao contrário, em pH 7,0 as amostras apresentaram uma queda brusca nas concentrações de clorofila-*a* já no 5º dia de armazenamento do lodo sedimentado, sendo a concentração máxima de saxitoxinas total (neoSTX + STX) atingida no também no 5º dia, exceto para a maior dosagem de coagulante, que apresentou decaimento no 10º dia. Tais resultados corroboram para a confirmação de que tanto o pH, como dosagem e coagulante influenciam na lise celular e liberação de toxinas, em função do tempo que ficam armazenadas nos decantadores.
- Quanto á degradação das toxinas liberadas nos decantadores, Oliveira (2005), em pH 6, observou que as amostras em que foi adicionado coagulante, entre o 10º e o 30º dia de armazenamento houve um decaimento da neoSTX, enquanto a STX apresenta um constante aumento em sua concentração, indicando que parte da neoSTX pode ter sido transformada em STX, ao contrário da amostra sem coagulante que já 20º dia foi completamente degradada, o que evidenciou uma possível estabilidade gerada

pelo coagulante a essas toxinas. Ao contrário no pH 7,0, nenhuma das duas toxinas (neo STX e STX) detectada após o 25º dia, o que evidenciou a influência do valor do pH de coagulação e a dosagem de coagulante na proporção em que essas duas saxitoxinas ocorrem na água.

Ermel (2009) também avaliou em escala de bancada a ocorrência de lise celular e degradação das toxinas (saxitoxinas - neoSTX, STX, dcSTX, dcneoSTX, C1 e C2) em função do tempo de armazenamento do lodo ao longo de 50 dias, nos valores de pH 5,5 e 7 e dosagens de sulfato de alumínio de 5, 12 e 29 mg/L.

Quanto à ocorrência de lise celular, Ermel (2009) observou por meio do parâmetro clorofila-*a*, que em 10 dias, houve um decréscimo de 80 a 90% de mesma para ambos pH (Figura 3.7). Já pela análise de contagem de células, observou que após 5 dias não foram mais observadas células de *C. raciborskii* na maior parte das amostras, com exceção das amostras sem coagulante (o decaimento se deu a partir do 10º dia), nos dois valores de pH de coagulação utilizados e na menor dosagem utilizada (0,79 mg Al/L) no pH 5,5. Esse resultado, segundo Ermel (2009), indica que a ausência de coagulante mantém as células intactas por mais tempo.

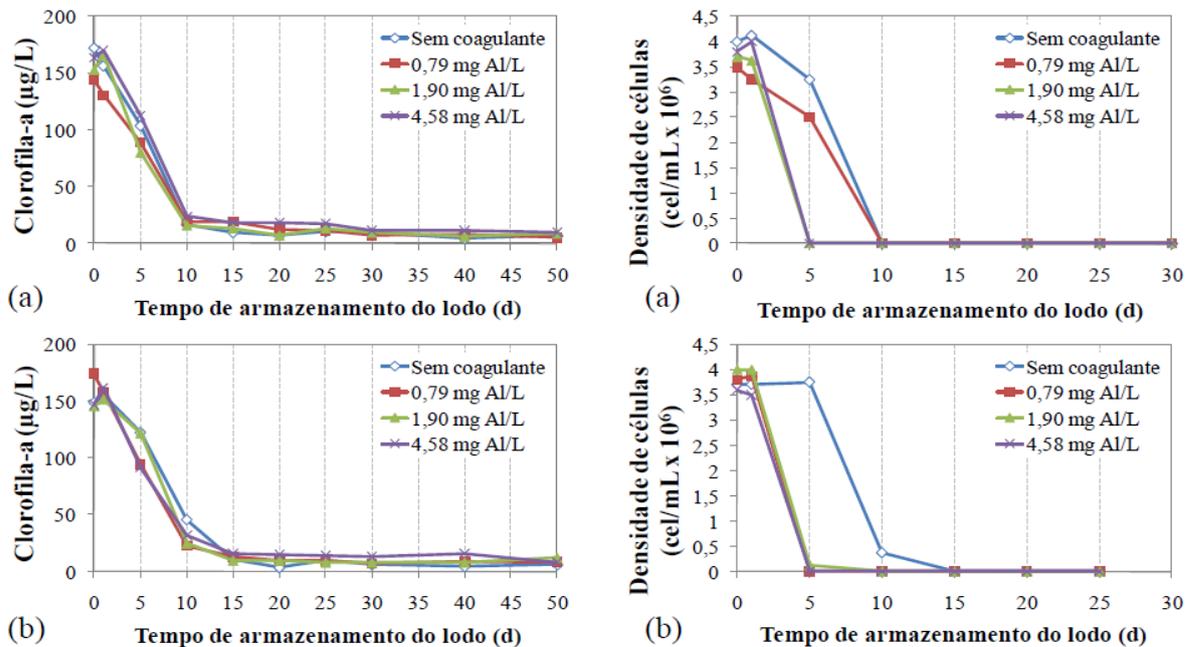


Figura 3.7- Concentração de clorofila-a e densidade de células de *C. raciborskii* ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b).
Fonte: Ermel (2009).

Quanto à degradação de saxitoxinas (neoSTX, dcSTX e STX), Ermel (2009) verificou que a condição de coagulação que promoveu sua maior persistência foi a maior dosagem de sulfato de alumínio e pH mais baixo (5,5), sendo que nessa condição, a variante dcSTX ainda foi detectada no 50º dia de armazenamento. A degradação completa das saxitoxinas analisadas foi observada com 20, 25 e 40 dias para, respectivamente, as amostras sem coagulante, e com dosagens ótimas e sub-ótimas. Logo, observou-se que a presença de sulfato de alumínio contribui para a estabilidade de saxitoxinas no valor pH igual a 5,5. Já para o pH 7,0, esse comportamento não foi observado, sendo que a degradação completa ocorreu de 20 a 25 dias de armazenamento. Utilizando o cloreto férrico como coagulante, Ermel (2009) observou que a degradação de saxitoxinas foi completa entre 30 e 40 dias. A maior persistência, ocorreu no menor valor de pH (pH 5,00), com maior dosagem de cloreto férrico (25 mg/L), similar ao verificado com sulfato de alumínio.

Os resultados obtidos nos referidos trabalhos (Drikas et al., 2001; Oliveira, 2005; Ermel, 2009) enfatizam a importância que deve ser dada ao manejo do lodo do decantador, tendo em vista que, as práticas atuais de descarte do lodo podem, quando da presença de cianobactérias na água, elevar o risco de liberação de cianotoxinas para a água clarificada.

Dados os trabalhos apresentados nos itens 3.3 e 3.4, nota-se e que existe uma considerável gama de trabalhos que abordam a remoção das cianobactérias *M.aeruginosa* e *C. raciborskii* com o uso de coagulantes metálicos, no entanto, os estudos para a avaliação da eficiência do coagulante natural quitosana para a remoção desses microrganismos por meio do processo de sedimentação ainda são bastante limitados. Ainda, observando-se os resultados ainda não conclusivos da eficiência de coagulantes metálicos na remoção de células de *C. raciborskii*, entende-se a necessidade de se avaliar a utilização de outros tipos de coagulantes com características diferentes dos sais metálicos e com aparentes vantagens sobre a substituição dos mesmos, para a obtenção de resultados mais satisfatórios para essa cianobactéria.

Além disso, observa-se, que são escassos os trabalhos que avaliaram a influência do tipo de coagulante na lise, liberação e degradação de cilindrospermopsinas, considerando-se o tempo que lodo oriundo do processo de sedimentação fica armazenado e em contato com a água clarificada.

4 - METODOLOGIA

Esse trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília, no qual foi avaliado, em escala de bancada (*jar teste*), o desempenho dos coagulantes quitosana e sulfato de alumínio na remoção de células de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, e das toxinas por elas produzidas, pelo processo de sedimentação. Ainda, avaliou-se a influência dos referidos coagulantes e do tempo de armazenamento do lodo na lise celular e consequente liberação e degradação das toxinas na água clarificada.

Para realização dos ensaios, utilizou-se a água proveniente do lago Paranoá, Brasília/DF, na qual foi adicionada células cultivadas em laboratório de *M. aeruginosa* e *C. raciborskii*, separadamente em ensaios distintos, até que fosse atingida a concentração de células da ordem de 10^6 cel/mL. Foram utilizados os coagulantes quitosana e o sulfato de alumínio [$Al_2(SO_4)_3$].

Os ensaios foram realizados em duas etapas: a primeira consistiu nos ensaios de *jar teste* para *C. raciborskii* com quitosana e com sulfato de alumínio, e posteriormente, ensaios de *jar teste* para *M. aeruginosa* com quitosana e com sulfato de alumínio, os quais forneceram os dados necessários para a construção dos diagramas de coagulação; e a segunda, em ensaios para avaliação da liberação e degradação de toxinas durante o armazenamento do lodo, utilizando as melhores condições de coagulação (dosagem de coagulante e pH), obtidos na etapa anterior.

As células de *C. raciborskii* (cepa T011 - tóxica), produtora de cilindrospermopsinas, e *M. aeruginosa* (cepa NPLJ4 - tóxica), produtora de microcistinas, foram cultivadas no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da UnB. A cepa NPLJ4, isolada da Lagoa de Jacarepaguá – RJ, produz 4 tipos diferentes de microcistinas, sendo que 80% destas trata-se da microcistina-LR (Gorham *et al.*, 1964 *apud* Oliveira, 2003).

As condições da sala de cultivo de cianobactérias foram: temperatura controlada em torno de 24°C e fotoperíodo de 12 horas. O cultivo unialgal foi efetivado em meio de cultura ASM-

1. A aeração para maiores volumes de cultivo foi necessária, com vistas a garantir a conservação das células em suspensão. O cultivo de cianobactérias tem crescimento exponencial, podendo atingir a ordem de 10^7 cel/mL, após 15 dias de cultivo. Nesse trabalho, por meio da contagem de células, verificou-se para as águas de estudo uma densidade de aproximadamente 10^6 cel/mL, após os 15 dias de cultivo.

Foi utilizado para contagem de células de *M. aeruginosa*, o microscópio óptico (Leica modelo DM LB2), com câmara de Neubauer. Para a contagem de células de *C. raciborskii*, utilizou-se o microscópio óptico (Leica modelo DM LB2) com a câmara de Sedgewick-Rafter, conforme o procedimento 2510B do Standard Methods (APHA, 1999).

4.1 - ÁGUAS DE ESTUDO

A água base para composição da água de estudo foi coletada no lago Paranoá. Nessa água foram determinados os parâmetros alcalinidade, condutividade, absorvância a 254 nm, clorofila-*a*, turbidez e pH, visando garantir que todos os ensaios fossem realizados com água de qualidade inicial similar.

À água base, foram adicionadas células das cianobactérias cultivadas no laboratório, até que fosse atingida uma densidade elevada de células simulando floração (aproximadamente 10^6 cel/mL). Nessa água de estudo foram determinadas as características de alcalinidade, condutividade, absorvância a 254 nm, clorofila *a*, turbidez, pH e contagem de células de cianobactérias.

Para realização do trabalho, duas águas de estudo foram preparadas, a saber: Água de estudo 1 (AE1) – água do lago Paranoá inoculada com células de *C. raciborskii*, com densidade aproximada de 10^6 cel/mL, e a água de estudo 2 (AE2) – água do lago Paranoá inoculada com células de *M. aeruginosa*, com densidade aproximada de 10^6 cel/mL.

4.2 - COAGULANTES

No trabalho utilizou-se dois coagulantes: a quitosana (orgânico) e o sulfato de alumínio (inorgânico). A quitosana em pó utilizada nos ensaios é produzida pela Sigma-Aldrich. O

produto possui grau de desacetilação de 0,75-0,85 e baixo peso molecular, na faixa de 50-190 kDa. Como a quitosana é pouco solúvel em água em valores de pH neutro-alcalino, para preparar a solução desse coagulante, o pó da quitosana foi solubilizado em água acidificada. Tal como em outros trabalhos (Capelete, 2011; García, 2011), utilizou-se o ácido clorídrico para a solubilização da quitosana.

Para o preparo da solução desse coagulante, adotou-se o procedimento utilizado por García (2011): dissolução de 1,0 grama do pó em 1L de solução de HCl 0,1mol/L. Esta solução foi mantida em agitação durante 12 horas para assegurar a dissolução total do pó de quitosana. A água deionizada foi adicionada para atingir um volume de 1L. Logo, 1 mL desta solução é equivalente a 1mg de quitosana.

O sulfato de alumínio empregado (sulfato de alumínio hidratado - $Al_2(SO_4)_3(14 - 18)H_2O$; Vetec Química Fina) é fornecido na forma de partículas sólidas. Foi dissolvido em água deionizada para o preparo da solução (3,68 g/L).

4.3 - ENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DAS CÉLULAS DE CIANOBACTÉRIAS (ETAPA 1) E ENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA LIBERAÇÃO E DEGRADAÇÃO DE TOXINAS (ETAPA 2).

Os ensaios para as águas de estudo AE1 e AE2 foram realizados em escala de bancada, utilizando teste de jarros, em duas etapas:

- Etapa 1: Ensaios de coagulação, floculação/ sedimentação para *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Microcystis aeruginosa*, em ensaios separados, respectivamente, utilizando diferentes dosagens dos coagulantes, quitosana e sulfato de alumínio, e distintos valores de pH. Essa etapa possibilitou a construção dos diagramas de coagulação, os quais forneceram a condição ótima (pH x dosagem) de remoção de células de cada uma das espécies de cianobactérias estudadas.
- Etapa 2: Ensaios de coagulação, floculação e sedimentação, com armazenamento do lodo sedimentado ao longo de 50 dias, para avaliação da liberação e degradação de toxinas em função do tipo de coagulante aplicado e dos períodos variados de

armazenamento do lodo. Nesse ensaio, foram adotadas as condições ótimas de coagulação (pH x dosagem) obtidas na etapa 1 para cada tipo de cianobactéria e coagulante.

O fluxograma das atividades realizadas, englobando as etapas 1 e 2 é apresentado na Figura 4.1.

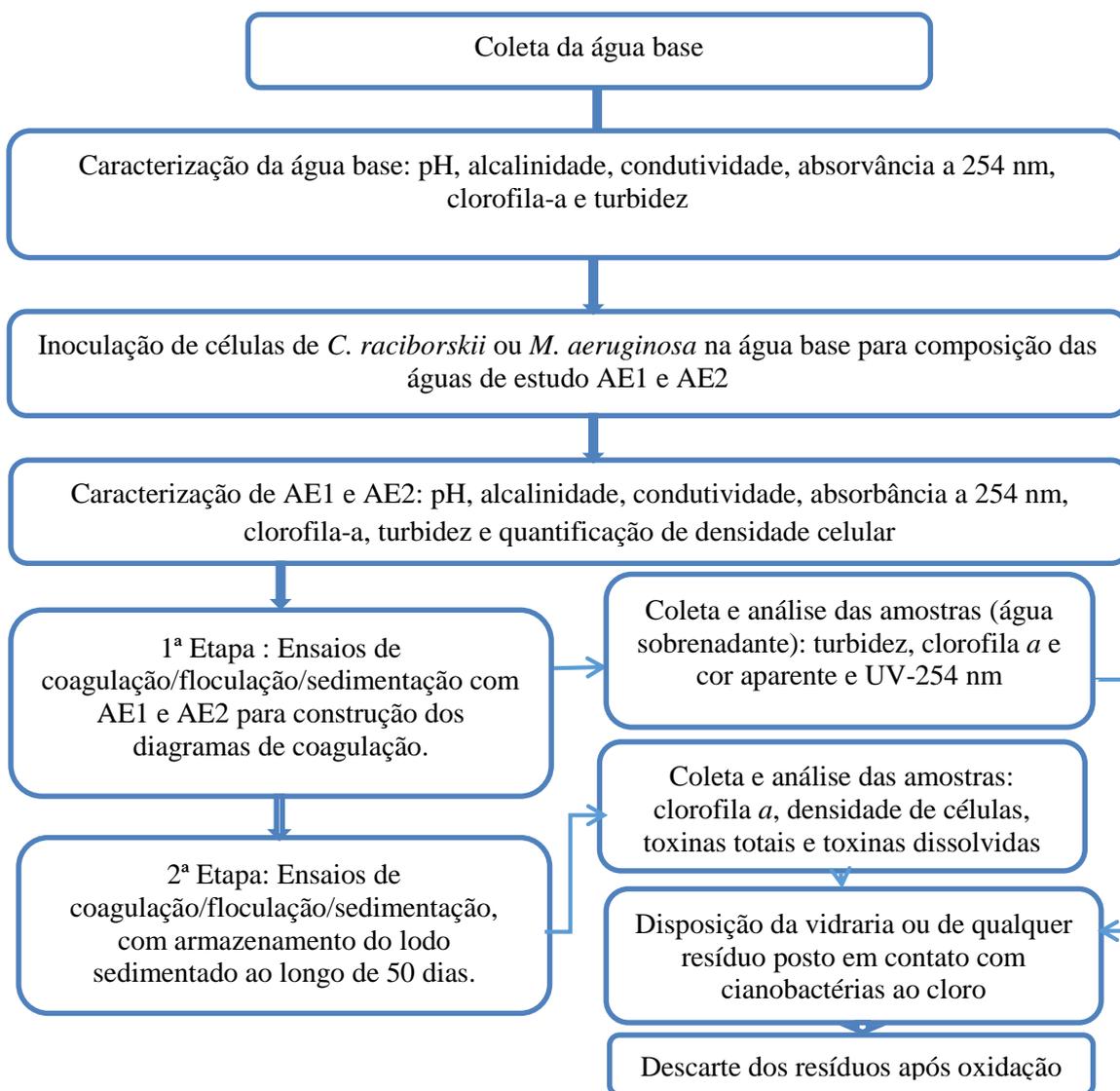


Figura 4.1- Desenho esquemático de execução do experimento

A execução dos ensaios de teste de jarros foi realizada no reator estático da marca Nova Ética, modelo 218/LDB, com acomodação de seis jarros de base quadrada com dimensões de 115 x 115 mm² e capacidade de 2 litros. Esse equipamento é dotado de agitadores de eixo vertical de aço inox, de dimensões 25 x 75 mm², um gradiente de velocidade entre 10 e 2000

s^{-1} . O ponto de coleta da amostra de água clarificada em cada jarro situa-se a uma distância de 7 cm abaixo da superfície do líquido. Nos ensaios de coagulação, floculação e sedimentação, os parâmetros operacionais aplicados foram definidos com base em outros trabalhos que utilizaram testes de jarros para remoção de cianobactérias e cianotoxinas (Oliveira, 2005; Ermel, 2009), a saber:

Tabela 4-1- Parâmetros operacionais dos ensaios de coagulação/floculação/sedimentação. Fonte: Oliveira (2005); Ermel (2009).

Processos/Parâmetros operacionais	Gradiente de velocidade (s^{-1})	Tempo de detenção	Taxa de aplicação superficial
Mistura rápida	1000 s^{-1}	30 s	-
Floculação	20 s^{-1}	25 min	-
Sedimentação	-	14 min	7,2 $m^3/m^2.dia$

A determinação das dosagens de coagulante e pH de coagulação foi baseada em trabalhos que utilizaram a quitosana e/ou o sulfato de alumínio como coagulantes para o tratamento de água com cianobactérias em escala de bancada. A faixa de dosagem e pH, utilizando a quitosana como coagulante, foi proposta com base no estudo de Capelete (2011). Já a faixa de dosagem e pH para o sulfato de alumínio teve como referência o trabalho desenvolvido por Ermel (2009). As faixas de pH e dosagem adotados, e suas respectivas variações seguem o apresentado na Tabela 4.2.

Tabela 4-2- Faixas de pH e dosagem utilizadas nos ensaios coagulação. Fonte: Capelete (2011); Ermel (2009).

Coagulante/parâmetros de controle	Dosagem/ variação (mg/L)	pH/variação
Quitosana	0 a 9/1 em 1	5 a 7,5 / 0,5 em 0,5
Sulfato de alumínio	0 a 40/4 em 4	5 a 7,5 / 0,5 em 0,5

Considerando que o equipamento utilizado (*jar teste*) possui 6 jarros, foram necessárias duas baterias de ensaio para cada valor de pH, tendo em vista que as dosagens propostas para os coagulantes utilizados ultrapassam o número de jarros. Cada ensaio foi realizado em duplicata.

4.3.1 - Etapa 1: Ensaios para avaliação da eficiência de remoção de células das cianobactérias após os processos de coagulação/floculação/sedimentação.

As águas de estudo AE1 e AE2 foram testadas com os dois coagulantes, quitosana e sulfato de alumínio, separadamente. Como apresentado na Figura 4.2, para cada valor de pH, usando quitosana como coagulante, foram testadas 9 dosagens de coagulante, já que a faixa de dosagem estipulada para esse coagulante foi de 0 a 9 mg/L, variando de 1 em 1 mg/L, além da amostra controle (d_0), sem adição de coagulante. Para o sulfato de alumínio foram testadas 11 dosagens para cada valor de pH, tendo em vista que a faixa de dosagem estipulada para esse coagulante foi de 0 a 40 mg/L, variando de 4 em 4 mg/L, além da amostra controle (d_0), sem adição de coagulante. Na Figura 4.2 é apresentado o fluxograma de desenvolvimento experimental da Etapa 1.

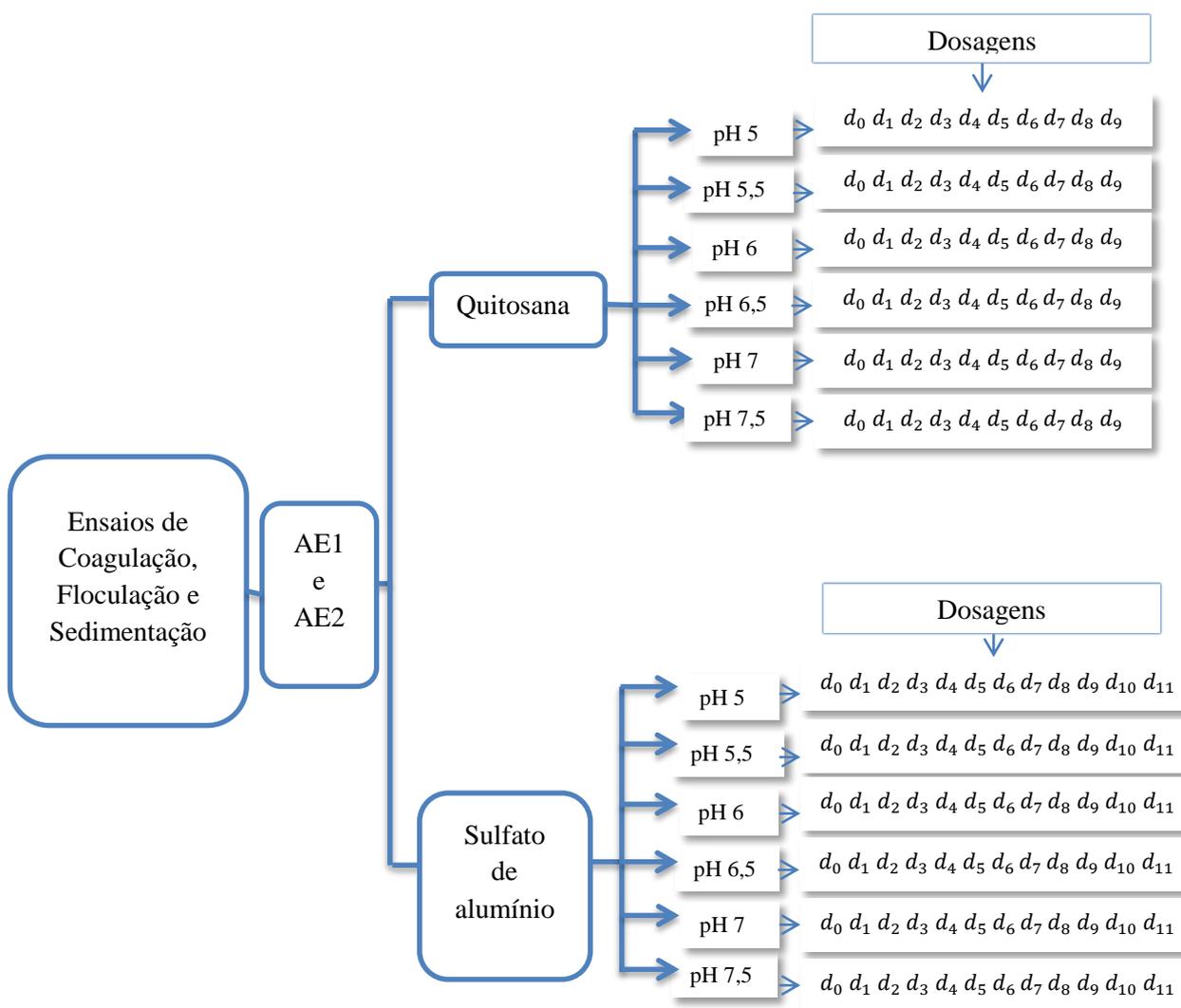


Figura 4.2- Desenho experimental da Etapa 1 para AE1 (contendo células de *C. raciborskii*) e AE2 (contendo células de *M. aeruginosa*), com quitosana e com sulfato de alumínio.

Após cada ensaio no *jar teste*, a água clarificada correspondente a cada dosagem e respectivo pH foi coletada para realização de medidas de turbidez, clorofila-*a*, cor aparente e UV-254nm, visando avaliar a eficiência de remoção de células das cianobactérias estudadas. Os resultados dos parâmetros analisados foram apresentados em diagramas de coagulação, nos quais foi possível correlacionar os parâmetros, em termos de remoção de células. Para a construção dos diagramas de coagulação foi utilizado o programa OriginPro, versão 8.0, da OriginLab.

4.3.2 - Etapa 2: Ensaio para avaliação da liberação e degradação de toxinas em função dos diferentes períodos de armazenamento do lodo.

Nessa etapa, analisou-se o tempo de lise das células das cianobactérias no lodo sedimentado e sua consequente liberação de toxinas, bem como, a degradação dessas toxinas em função do tempo de armazenamento do lodo e dos tipos de coagulantes. Essa análise consistiu na obtenção dos valores da concentração de clorofila-*a*, densidade de células, concentração de toxina extracelular e concentração de toxina total. Para análise do comportamento da clorofila-*a* e densidade de células, além do tempo de armazenamento, considerou-se para avaliação dos resultados a influência do tipo de coagulante e de três diferentes dosagens desse coagulante. Para avaliação da concentração de toxina extracelular e total, além do tempo de armazenamento do lodo, avaliou-se apenas a influência do tipo de coagulante, ou seja, apenas uma dosagem do coagulante, tendo em vista, a limitação de kits ELISA para análise de todas as amostras.

A etapa 2 foi desenvolvida com base nos resultados de condição ótima (pH x dosagem) obtidos a partir dos diagramas de coagulação construídos na etapa 1. A partir desses diagramas, foi selecionado um valor de pH de coagulação ótimo (pH em que ocorreu máxima remoção de células) para cada água de estudo (AE1 e AE2) e para cada coagulante (quitosana e o sulfato de alumínio). Para cada valor de pH ótimo foram selecionadas três dosagens de coagulante que promoveram melhor remoção de células. De modo a analisar se há influência do tipo de coagulante na lise celular e degradação de toxinas com o tempo de armazenamento do lodo, avaliou-se também amostras sem adição de coagulante ($d = 0$ mg/L) para ambas águas de estudo (AE1 e AE2), em cada pH de coagulação selecionado.

Nessa etapa, as águas de estudo 1 e 2 foram submetidas, novamente, nas melhores condições de remoção de células (pH x dosagem) obtidas na Etapa 1, ao processo de coagulação/floculação/sedimentação, após o qual, cada amostra foi identificada quanto ao tempo de armazenamento, pH de coagulação e dosagem de coagulante. Foram adotados os seguintes tempos de armazenamento do lodo: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25,30, 40 e 50 dias. Essa faixa de tempo (0 a 50 dias) foi escolhida tendo como referência os resultados obtidos por Ermel (2009) e também, observando-se o tempo de armazenamento do lodo em decantadores em escala real, que conforme a NBR-12216/1992, nos decantadores convencionais com remoção manual do lodo, é de 60 dias. Quanto aos decantadores com remoção mecanizada, as descargas do lodo são realizadas por batelada após um período geralmente superior 30 dias de operação (Libânio, 2005).

Assim, para cada valor de pH e cada tipo e dosagem de coagulante foram necessários doze recipientes para simulação dos tempos de armazenamento do lodo ao longo dos 50 dias, conforme pode ser observado na Figura 4.3. Os parâmetros operacionais de coagulação, floculação e sedimentação aplicados nessa etapa corresponderam aos mesmos utilizados na etapa 1. É importante ressaltar que os ensaios de coagulação e floculação dessa etapa, foram realizados com a utilização de recipientes de plástico com a mesma capacidade dos jarros (2 L), evitando-se assim, a transferência das amostras para outro recipiente, o que poderia contribuir para a lise de células das cianobactérias estudadas.

Para simular as condições de luminosidade de um decantador, geralmente muito baixa, dependendo da profundidade dos poços de lodo, os recipientes de plástico com as amostras sedimentadas foram cobertos com papel alumínio, evitando qualquer luminosidade. Posteriormente, tais recipientes foram mantidos na sala de cultivo de cianobactérias, tampados para evitar contaminação das amostras, porém, com as tampas perfuradas, de modo a permitir trocas gasosas com o meio (Oliveira, 2005).

Adicionalmente, para as condições ótimas de pH e dosagem obtidas na Etapa 1, após o processo de coagulação na Etapa 2 mediu-se o potencial zeta para as amostras com coagulante e sem coagulante, a fim de determinar os possíveis mecanismos atuantes na desestabilização das células das cianobactérias estudadas.

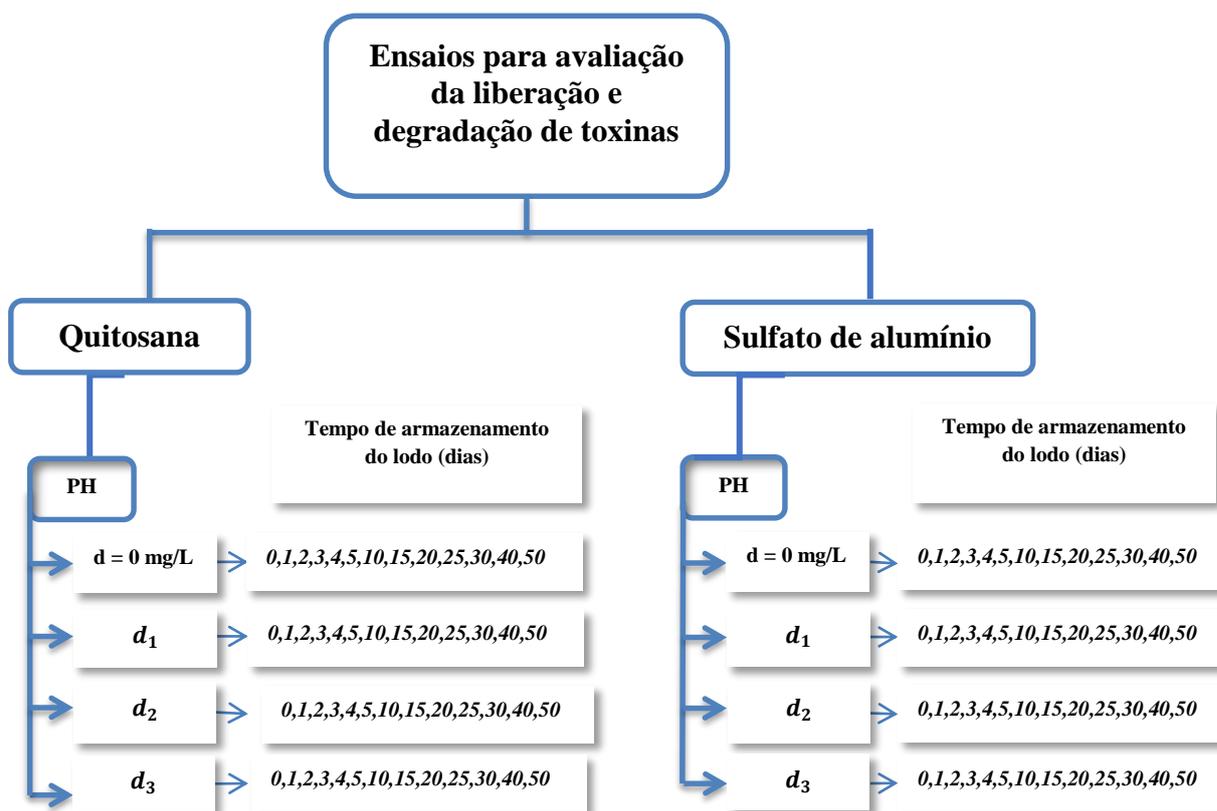


Figura 4.3- Desenho experimental da Etapa 2 – análise da lise celular, liberação e degradação de cianotoxinas nas águas AE1 e AE2 em um PH e três dosagens ótimas de coagulação, para cada tipo de coagulante.

Após cada período de armazenamento do lodo, as amostras foram homogeneizadas para obtenção de uma amostra representativa em termos de número de células e toxinas dissolvidas. Depois da homogeneização, uma alíquota de 500 mL da amostra foi coletada e submetida ao procedimento de gelo/degelo por três vezes, objetivando o rompimento completo das células residuais, para determinação das toxinas totais. Outra alíquota da amostra (250 mL) foi coletada e submetida a um processo de filtração por uma membrana de microfibras de vidro de 1 µm, seguida de membranas de acetato de celulose de 0,45 e 0,22 µm. No material retido na membrana, foi determinada a clorofila-*a* residual e no clarificado, as toxinas dissolvidas. A quantificação de microcistinas e cilindrospermopsinas foram realizadas pelo método ELISA. Por fim, uma alíquota de 100 mL foi coletada da amostra homogeneizada e fixada com lugol para posterior determinação da densidade de células (Ermel, 2009).

4.4 - MÉTODOS DE ANÁLISE

Durante a realização dos experimentos (Etapas 1 e 2) foram avaliados os seguintes parâmetros: pH, turbidez, cor aparente, alcalinidade, absorvância, condutividade, clorofila *a*, densidade de células, e concentração de toxinas. A absorvância UV-254nm é uma medida indicadora da natureza da matéria orgânica natural e do conteúdo húmico presente na água. Os princípios dos métodos e equipamentos utilizados para a avaliação desses parâmetros estão apresentados na Tabela 4.3. Na Tabela 4.4 são apresentados os limites de detecção e precisão de cada método analítico utilizado.

Tabela 4-3- Métodos e equipamentos utilizados na análise do experimento

Parâmetro de avaliação	Princípios do Método/ Equipamento utilizado
Alcalinidade (mgCaCO₃/L)	Método titulométrico - procedimento 2320 do Standard Methods (APHA, 1999)
Absorvância UV-254nm	Medição da absorção de raios ultravioleta (UV) para λ de 254 nm. Foi determinada com o espectrofotômetro Hach DR 4000 - procedimento 5910 do Standard Methods (APHA, 1999).
Clorofila <i>a</i> (µg/L)	Determinada após extração da clorofila- <i>a</i> com etanol (Nusch, 1980) e medição da absorvância em comprimentos de onda de 750 nm e 665 nm com correção de turbidez, no espectrofotômetro Hach DR 4000.
pH	Método potenciométrico em medidor de pH Modelo Orion – 310.
Condutividade (µmS/cm)	Condutímetro Sprite 6000, que mede a condutância entre dois eletrodos inertes - procedimento 2510B do Standard Methods (APHA, 1999).
Turbidez (uT)	Método nefelométrico, utilizando o turbidímetro (HACH 2100AN) - procedimento 2130 do Standard Methods (APHA, 1999).
Cor Aparente (PtCo APHA)	Método espectrofotométrico - procedimento 2120C do Standard Methods (APHA, 1999)
Potencial Zeta (mV)	Obtida utilizando o equipamento Malvern Zeta Sizer 2000 (Malvern, UK), que mede a mobilidade eletroforética, convertendo- a em potencial zeta.
Quantificação de células de cianobactérias (cel/mL)	Foi utilizado para contagem de células de <i>M. aeruginosa</i> o microscópio óptico (Leica modelo DM LB2) com câmara de Neubauer. Para a contagem de células de <i>C. raciborskii</i> , o microscópio óptico (Leica modelo DM LB2) com câmara de Sedgewick-Rafter - procedimento 10200F do Standard Methods (APHA, 1999)
Quantificação de toxinas (µg/L)	Microcistinas e cilindrospermopsinas foram quantificadas pelo teste ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), conforme procedimento indicado pelo fabricante (ABRAXIS, 2014).

Tabela 4-4 - Limites de detecção e precisão dos métodos para avaliação dos parâmetros estudados.

Parâmetro de avaliação	Limite mínimo	Limite máximo	Precisão
Alcalinidade (mgCaCO₃/L)	10	500	±1
Absorbância UV-254nm	Sem definição de limites mínimo e máximo		±0,001
Clorofila a (µg/L)	0,00	Sem limite especificado	±0,01
pH	0,01	13,99	±0,01
Condutividade (µmS/cm)	0,0	19900000,0	±0,1
Cor Aparente (PtCo APHA)	0	500	±1
Turbidez (uT)	0,00	99,90	±0,01
Potencial Zeta (mV)	Sem definição de limites mínimo e máximo		
Densidade de células de cianobactérias (cel/mL)	Sem definição de limites mínimo e máximo*		
Quantificação de cilindrospermopsinas (µg/L)	Limite de detecção de 0,040 µg/L		
Quantificação de microcistinas (µg/L)	Limite de detecção de 0,10 µg/L		

*No processo de quantificação das cianobactérias deve-se trabalhar com um erro menor ou igual a 20%. Para calcular tal erro faz-se uso da seguinte fórmula: $2/\sqrt{N}$, onde “N” é o número total de organismos filamentosos ou coloniais quantificados.

5 - APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados correspondentes à Etapa 1 (ensaios para avaliação da eficiência de remoção de células das cianobactérias após os processos de coagulação/floculação/sedimentação – resultados apresentados em diagramas de coagulação) e Etapa 2 (ensaios para avaliação da liberação e degradação de toxinas em função dos diferentes períodos de armazenamento do lodo).

5.1 - AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DA QUITOSANA E DO SULFATO DE ALUMÍNIO NA REMOÇÃO DE CÉLULAS DE *C. raciborskii* E *M.aeruginosa*

Visando analisar a reprodutibilidade dos resultados para avaliação da eficiência dos coagulantes quitosana e sulfato de alumínio na remoção das células de cianobacterianas estudadas, por meio da verificação de turbidez, cor aparente, matéria orgânica dissolvida (UV-254nm) e clorofila-*a*, após o processo de coagulação/floculação/sedimentação, foram realizados dois experimentos de teste de jarros (Experimento 1 e Experimento 2 – duplicata) para cada espécie de cianobactéria e coagulante utilizado. No texto foi incluído apenas um diagrama de coagulação de cada duplicata para análise e a discussão dos resultados. No Apêndice A, encontram-se todos os diagramas referentes a cada experimento.

5.1.1 - Avaliação da eficiência da quitosana e do sulfato de alumínio na remoção de células de *Cylindrospermopsis raciborskii*, após os processos de coagulação/floculação/sedimentação.

As características da água do lago Paranoá antes e após a adição do inóculo com células de *Cylindrospermopsis raciborskii* são apresentados na Tabela 5.1. Essas características referem-se ao Experimento 2 em que se avaliou a remoção de *C. raciborskii* (densidade de células de 10^6 cél/mL) com sulfato de alumínio. Mesmo não sendo medida a clorofila-*a* da água base desse experimento, vale destacar a grande concentração de clorofila-*a* reportada à água de estudo quando comparamos com média das concentrações obtidas em outros experimentos, como de armazenamento do lodo (média = 8,13 $\mu\text{g/L}$) para a água base. Com relação a essa média, observamos que a clorofila-*a* teve um aumento de aproximadamente 95% devido à adição de células de *C. raciborskii* à água base. Em contrapartida, a proporção

de aumento da turbidez com relação à água base foi de aproximadamente 38%, apenas. Nota-se ainda na Tabela 5.1, que a absorvância a 254nm praticamente não aumentou com a adição do cultivo à água, dado que esta é uma medida de matéria orgânica rica em constituintes aromáticos, como ácidos húmicos e fúlvicos (Skoog *et al.*, 2002 *apud* Reque, 2015).

Tabela 5-1- Caracterização da água de estudo antes e após a adição do inóculo de *C. raciborskii* para o experimento 2 com sulfato de alumínio

Parâmetros	Água do lago	Água de Estudo 1 (AE1)
pH	5,99	6,20
Turbidez (uT)	5,26	8,43
Cor Aparente (uH)	40	145
Clorofila- <i>a</i> (µg/L)	NM	167,79
Densidade de células (cel/mL)	NM	1,08 x 10 ⁶
Absorvância a 254nm (cm ⁻¹)	0,022	0,029
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	25	26
Condutividade (µS/cm)	90,3	110,8

*NM - não medido

Nas Figuras 5.1 (a), (c), (e) e (g) são apresentados, respectivamente, os diagramas de coagulação referentes ao remanescente de turbidez, cor aparente, clorofila-*a* e absorvância a 254nm (UV-254nm), obtidos a partir dos ensaios realizados com a água de estudo 1 (AE1) e uso do sulfato de alumínio como coagulante. O percentual de remoção de turbidez, cor aparente, clorofila-*a* e absorvância a 254nm (UV-254nm) são apresentados nas Figuras 5.1 (b), (d), (f) e (h), respectivamente.

Com base nas Figuras 5.1 (a) e (b), observa-se uma região abrangente na faixa de pH entre 5,50 e 7,00 e dosagens de coagulante acima de 8 mg/L, na qual os percentuais de remoção de turbidez ficaram acima de 80% e remanescente de turbidez abaixo de 2,00 uT. De acordo com Kawamura (2000), uma turbidez remanescente abaixo de 2,00 uT é recomendável nos sistemas de clarificação que precedem as unidades de filtração. Esse residual é ainda vantajoso para o atendimento ao padrão de potabilidade preconizado pela Portaria MS nº 2914/11 após etapa de filtração (0,5 uT), uma vez que a turbidez é passível de ser removida após a passagem da água clarificada pelos filtros rápidos. Ressalta-se ainda que para percentuais de remoção de turbidez de 45%, a turbidez remanescente foi de 5,00 uT, residual recomendado por Di Bernardo e Paz (2008) após a clarificação da água.

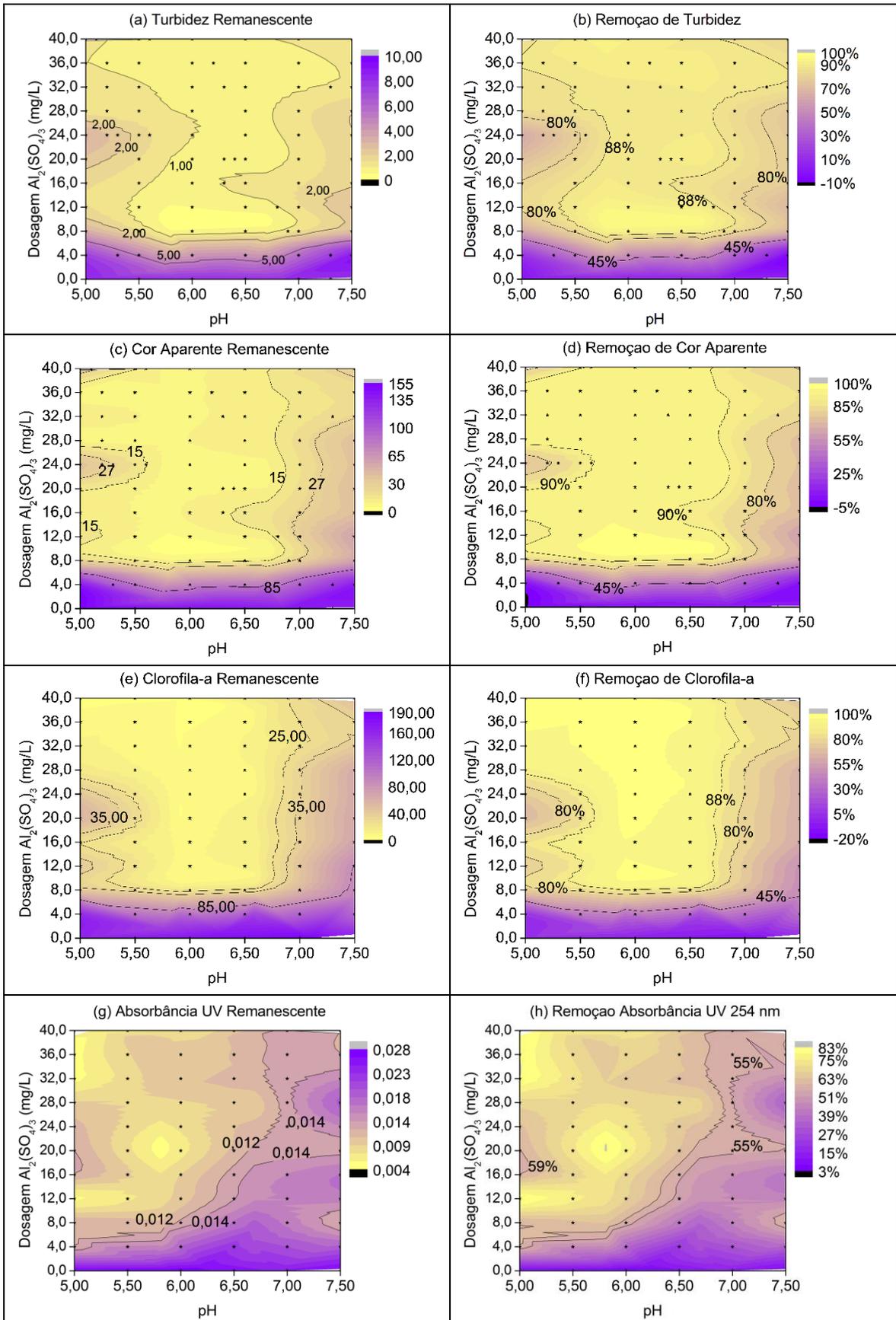


Figura 5.1- Diagramas de coagulação do remanescente de turbidez (a), cor aparente (c), clorofila-a (e), UV-254 (g) e percentual de remoção de turbidez (b), cor aparente (d), clorofila-a (f), UV-254 (h) na água do Lago Paranoá inoculada com *C. raciborskii*, usando sulfato de alumínio.

Para o mesmo intervalo de pH e dosagem em que foram encontrados percentuais de remoção de turbidez acima de 80%, verificou-se também no diagrama de cor aparente percentuais acima desse valor (Figura 5.1 (d)). Na Figura 5.1 (c), observa-se que os valores de cor aparente remanescente correspondentes aos referidos percentuais de remoção ficaram abaixo de 25 uH. Dentro da região apontada anteriormente, entre pH 5,5 e 6,5 e dosagens acima de 8 mg/L, na Figura 5.1 (c), encontra-se valores de remanescente de cor aparente abaixo de 15 uH, correspondente ao padrão de potabilidade preconizado pela Portaria MS nº 2914/11.

Quanto à remoção de clorofila-*a*, na Figura 5.1 (f), verifica-se em um intervalo de pH menor do que o obtido nos diagramas de turbidez e cor aparente, entre 5,50 e 6,50 e dosagens de coagulante acima de 8 mg/L, remoções acima de 80%, percentual que corresponde, aproximadamente, a um remanescente de clorofila-*a* de 35 µg/L (Figura 5.1 (e)). Em pH 6 e dosagens acima de 12 mg/L, alcançou-se remoções de clorofila-*a* maiores que 94%, entretanto, essa região do diagrama foi pouco consistente. Essa remoção correspondeu a um residual de clorofila-*a* de 10 µg/L. Para todos os parâmetros de remoções de células avaliados, percentuais de remoção menores foram observados para todos os valores de pH e dosagens abaixo de 8 mg/L.

Resultados satisfatórios em termos de eficiência de remoção de turbidez e clorofila-*a*, tais como os encontrados no presente trabalho, foram obtidos por Morais (2012), que com a mesma espécie de cianobactéria e utilizando o mesmo coagulante, em escala de bancada, obteve eficiências de remoção de turbidez acima de 80% após sedimentação de 5 minutos, porém, tais eficiências foram obtidas numa faixa de pH entre 6,50 e 8,00, com dosagens entre 13 e 38 mg/L. Em um intervalo de pH entre 7,00 e 8,00, com dosagens entre 13 e 38 mg/l, o autor obteve turbidez residual de até 5 uT, correspondendo à eficiência de remoção acima de 90%.

Oliveira (2005) também obteve em um de seus experimentos, eficiências de remoção de clorofila-*a* e turbidez acima de 80%, para dosagens entre 12 e 16 mg/L em pH 5,50 e dosagens pontuais entre 12 e 30 mg/L em pH 7,00. Porém, segundo a autora, devido às significativas discrepâncias existentes entre os dois experimentos realizados, seus resultados não foram reprodutíveis. A velocidade de sedimentação adotada por Oliveira (2005) foi de 0,5 cm/min.

Valores discrepantes ao desse trabalho, em termos de turbidez e clorofila-*a* foram obtidos por Ermel (2009), que obteve eficiência máxima de remoção de turbidez de 40%, para todos os valores de pH de coagulação (5,00 a 7,50) e dosagens de coagulante acima de 8 mg/L. Em termos de clorofila-*a*, obteve remoções de no máximo 20%, na faixa de pH entre 5,50 e 7,00. Tal como neste trabalho, Ermel (2009) adotou taxa de aplicação superficial de 7,2 m³/m².dia e tempo de sedimentação de 14 min.

Com relação à remoção de matéria orgânica dissolvida (UV-254 nm), apresentada na Figura 5.1 (h), observa-se numa faixa de pH menor, entre 5,00 e 6,00 e dosagens acima de 8 mg/L, remoções entre 59 e 75 %. Ressalta-se, porém, que apesar do intervalo de pH em que foram encontradas as maiores remoções desse parâmetro ter sido menor, o mesmo está compreendido nas regiões de máximas remoções de turbidez, cor aparente e clorofila-*a*.

Comparando os resultados dos estudos citados e do presente trabalho, pode-se inferir que as diferenças entre os mesmos podem ser devidas às características da água base utilizada em cada trabalho para preparação da água de estudo (matéria orgânica dissolvida, turbidez mineral, etc.), e à densidade de células existente em cada água de estudo, que pode influenciar no sentido de favorecer uma maior chance de contato entre as partículas, à medida que a concentração de partículas em suspensão seja maior (Clasen *et al.*, 2000; Divakaran e Pillai, 2002; Rizzo *et al.*, 2008). Há que se ressaltar porém, que Ermel (2009) e Oliveira (2005) trabalharam com densidade de células na ordem de grandeza desse trabalho, 10⁶.

As características da água do lago antes e após a adição do inóculo de *Cylindrospermopsis raciborskii*, referente ao experimento 2, no qual se avaliou a remoção de células de *C. raciborskii* com quitosana, estão apresentadas na Tabela 5.2. Dos dados apresentados na Tabela 5.2, destaca-se que a concentração de clorofila-*a* após a adição do cultivo de *C. raciborskii* foi baixa, comparando-se com outros trabalhos e com outras concentrações obtidas em outros experimentos neste mesmo trabalho. Esse fato deveu-se a um possível erro de diluição na preparação do solvente utilizado para extração da clorofila-*a* (álcool 90%), porém, acredita-se que esse fato não teve tanta influência nos resultados obtidos, considerando-se que o mesmo erro foi aplicado a todas as amostras do experimento. Esse problema persistiu ainda na duplicata do experimento, já que o solvente utilizado foi o mesmo.

Tabela 5-2– Caracterização da água de estudo antes e após à adição do inóculo de *C. raciborskii* para o experimento 2 com quitosana.

Parâmetros	Água do lago	Água de Estudo 1 (AE1)
pH	6,85	7,14
Turbidez (uT)	7,77	10,7
Cor Aparente (uH)	67	138
Clorofila- <i>a</i> (µg/L)	NM	12,74
Densidade de células (cel/mL)	NM	1,11 x 10 ⁶
Absorbância a 254nm (cm ⁻¹)	0,033	0,039
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	26	27
Condutividade (µS/cm)	87,8	109

*NM - não medido

Nas Figuras 5.2 (a), (c), (e) e (g) são apresentados, respectivamente, os diagramas de coagulação referentes ao remanescente de turbidez, cor aparente, clorofila-*a* e absorvância a 254nm (UV-254nm), obtidos a partir dos ensaios realizados com a água de estudo 1 (AE1) e uso da quitosana como coagulante. O percentual de remoção de turbidez, cor aparente, clorofila-*a* e absorvância a 254nm (UV-254nm) são apresentados nas Figuras 5.2 (b), (d), (f) e (h), respectivamente. Na Figura 5.2 (b) destaca-se uma área consistente de remoção de turbidez, compreendida entre pH 6,00 e 7,00 e dosagens acima de 2 mg/L, com remoções acima de 90%. Essa área abrange remanescente de turbidez abaixo de 2,00 uT (Figura 5.2 (b)), residual que está dentro do limite de turbidez (2,00 uT) recomendado por Kawamura (2000) após os sistemas de clarificação.

Divakaran e Pillai (2002), ao estudarem, em escala de bancada, a eficiência da quitosana na remoção de células de algumas espécies filamentosas de algas e cianobactérias (*Spirulina* e *Oscillatoria*), dentre outras, como a *Chlorella* e *Synechocystis*, após os processos de coagulação, floculação e sedimentação, obtiveram eficiências de remoção de turbidez e clorofila-*a* acima de 90%. Entretanto, diferentemente do obtido nesse trabalho, tais eficiências de remoção foram verificadas apenas em pH próximo de 7,0. Ainda segundo os autores, maiores eficiências eram obtidas quanto maior fosse a concentração de células da suspensão analisada, o que nesse caso, requeria maiores dosagens de coagulante, até 15mg/L. Em concentrações mais baixas, o flocos tendiam a flotar. No trabalho, foram avaliados níveis de turbidez entre 10 e 55 uT, os quais foram devidos quase que exclusivamente, à densidade de células nas águas de estudo.

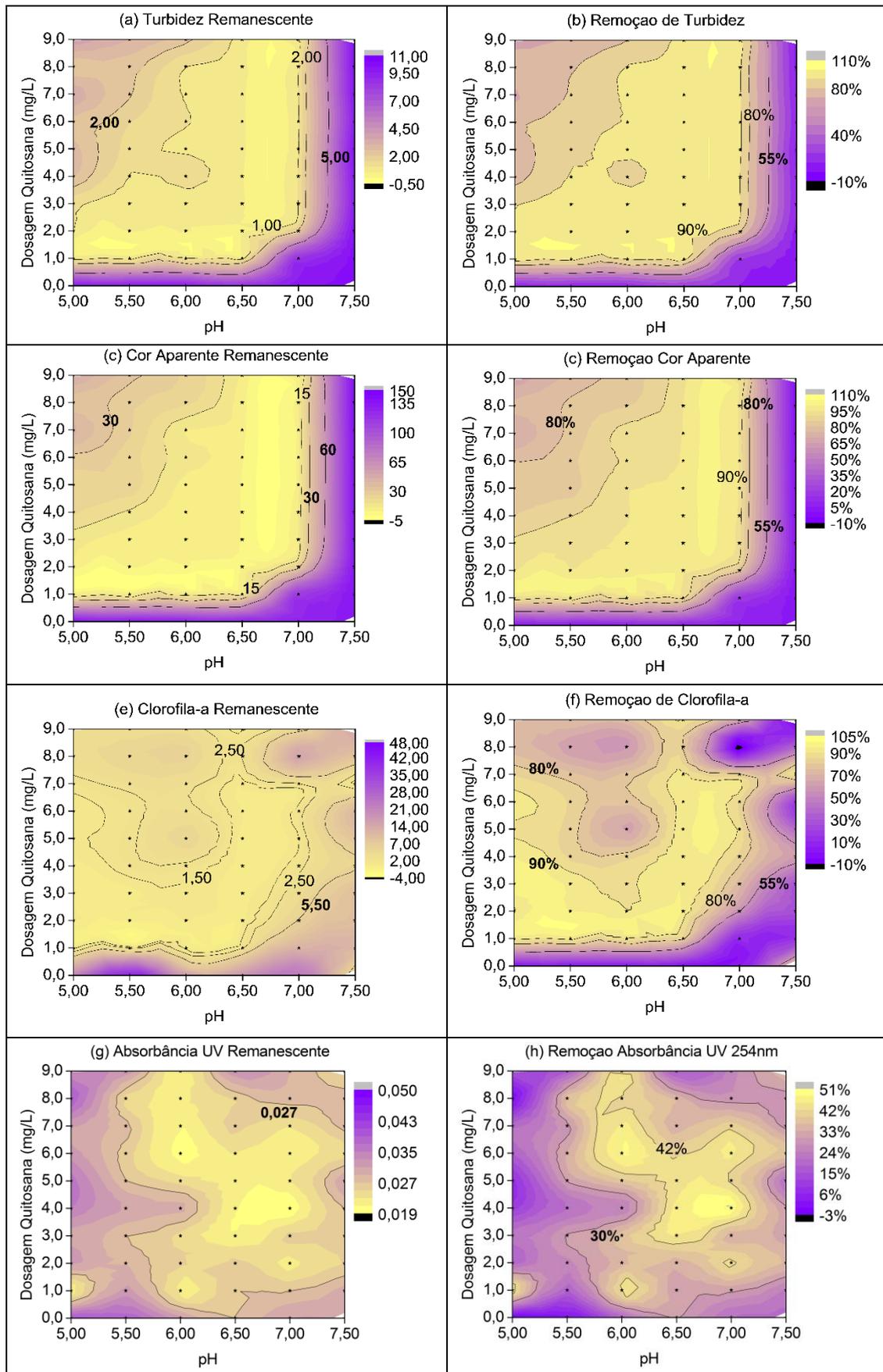


Figura 5.2- Diagramas de coagulação do remanescente de turbidez (a), cor aparente (c), clorofila-a (e), UV-254 (g) e percentual de remoção de turbidez (b), cor aparente (d), clorofila-a (f), UV-254 (h) na água do Lago Paranoá inoculada com *C. raciborskii*, usando quitosana.

No diagrama de remoção de cor aparente, Figura 5.2 (d), observa-se uma similaridade comportamental com o diagrama de remoção de turbidez, o qual apresentou remoções acima de 90% na mesma faixa de pH e dosagem da região mais consistente de remoção de turbidez. Destaca-se que essa região compreende um remanescente de cor aparente abaixo de 15 uH (Figura 5.2 (c), valor do padrão de potabilidade preconizado pela Portaria MS nº 2914/11 para a cor aparente.

Esta maior eficiência de remoção de turbidez e cor aparente num intervalo de pH tão abrangente (entre 5,50 e 7,00) pode estar associada tanto à capacidade de protonação que os grupos funcionais da quitosana responsáveis pela coagulação possuem em valores de pH mais baixos quanto pelo aprisionamento das partículas na estrutura do precipitado de quitosana em pH mais elevado. Conforme coloca Sorlier *et al.* (2001), considerando que o pKa da quitosana é, aproximadamente 6,5, grande parte dos grupos amino ao longo da cadeia polimérica da quitosana são, principalmente, protonados em soluções com pH abaixo do pKa da quitosana. Em pH 7,0, superior ao pKa da quitosana, ocorre a precipitação do polímero.

De fato, medidas de potencial zeta realizadas imediatamente após a etapa de coagulação no pH 6,5, em experimento posterior com essa cianobactéria para armazenamento do lodo, indicaram a remoção de células pelo mecanismo de adsorção e neutralização de cargas, de modo que para uma das condições que apresentou remoção de células de *C. raciborskii* com quitosana acima de 80% (pH 6,5 e dosagem de quitosana de 2 mg/L), o potencial zeta aproximou da neutralidade, com valor de 0,0586 mV. No referido experimento, o potencial zeta para a suspensão de células sem a adição de coagulante foi de -12,7 mV, enquanto que para 1mg/L de quitosana foi de -1,55 mV e para 3 mg/L, +1,75 mV. Entende-se que para 3 mg/L ainda não se inicia o processo de reestabilização, visto que, não há decréscimo na remoção de turbidez e cor aparente.

Nesse sentido, esses resultados reforçam a afirmação de Salim *et al.* (2011) e Roussy *et al.* (2005), que asseguram que os principais mecanismos de coagulação para a quitosana são adsorção e formação de ponte entre partículas, e “patching”, de modo que a atuação de um ou outro mecanismo vai depender da dosagem de coagulante aplicada, bem como, das características da quitosana, como massa molecular e grau de desacetilação.

Com relação ao parâmetro clorofila-*a* verifica-se nos diagramas das Figuras 5.2 (e) e (f) um

comportamento discrepante dos diagramas de turbidez e cor aparente, provavelmente, devido ao problema ocorrido na extração da clorofila-*a*. Ainda assim, uma região com remoções acima de 80% é observada em pH 6,00 para todas as dosagens, e no intervalo de pH entre 5,00 e 6,50, para dosagens entre 1 e 4 mg/L. Como pode ser observado na Figura 5.2 (e), essa região corresponde a remanescentes de clorofila-*a* abaixo 2,50 µg/L.

Por fim, os resultados de matéria orgânica dissolvida, analisada pela absorvância de UV a 254 nm, estão apresentados nas Figuras 5.2 (g) e (h). Nessas Figuras observa-se-se que as regiões de remoção desse parâmetro são pouco definidas e não uniformes, em contraponto aos diagramas anteriormente apresentados para este ensaio. Ainda assim, verifica-se maior concentração de remoções numa faixa de pH que se estende do pH 6,00 até o pH 7,00, com remoções entre 30 e 51% para diversas dosagens (entre 1 e 7 mg/L). Dessa forma, nota-se que a remoção desse parâmetro utilizando quitosana foi menor que a remoção obtida quando se utilizou o sulfato de alumínio como coagulante (59 a 75 %).

Para as melhores condições de remoção de células de *C.raciborskii* com quitosana apresentadas nos diagramas anteriores, vale ressaltar que os flocos formados durante a coagulação e floculação com as menores dosagens desse coagulante (2 e 3 mg/L) tenderam a flotar (ver apêndice C, Figura C.1). Isto pode ser associado ao fato das células de *C. raciborskii* possuírem vesículas de gás em seu interior, que lhes confere densidade, consideravelmente, menor do que a água. Dessa forma, os flocos formados com quitosana, embora de grandes dimensões, possuem baixa densidade e tendem a flotar. Além disso, como pode ser visto em outros trabalhos, fatores como nível de turbidez da suspensão, dosagem de quitosana utilizada (Divakaran e Pillai, 2002; Rizzo *et al.*, 2008), e a massa molecular da quitosana, também podem contribuir para que tal comportamento (Roussy *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2013).

Comparando o uso da quitosana com o sulfato de alumínio para a remoção de *C. raciborskii*, observa-se que ambos coagulantes apresentaram em termos percentuais e residuais, resultados semelhantes quanto aos parâmetros turbidez e cor aparente, numa ampla faixa de pH e dosagem de coagulante. Essas semelhanças podem ser relacionadas ao fato desses coagulantes apresentarem boa atuação tanto pelo mecanismo de varredura quanto pelo mecanismo de adsorção e neutralização de cargas, dependendo da dosagem de coagulante aplicada, das características do coagulante e das próprias características da suspensão

coloidal (Roussy *et al.*, 2005; Rizzo *et al.* 2008, Henderson *et al.*, 2008 e Henderson *et al.*, 2010).

Tabela 5-3- Comparação entre os percentuais e remanescente obtidos com quitosana e sulfato de alumínio para *C. raciborskii*.

Coagulante	Parâmetro	Faixa de pH ótimo	Faixa de dosagem ótima (mg/L)	Percentual de remoção (%)	Residual
Quitosana	Clorofila- <i>a</i>	Não representativo em relação à turbidez e cor aparente			
	Turbidez	6,00 a 7,00	2 a 9	Acima de 80	Abaixo de 2,0 uT
	Cor aparente	6,00 a 7,00	2 a 9	Acima de 80	Abaixo de 30 uH
	UV- 254 nm	6,00 a 7,00	1 a 7	30 a 51	Abaixo 0,027/cm
Sulfato de alumínio	Clorofila- <i>a</i>	5,50 a 6,50	8 a 40	Acima de 80	Abaixo de 35 µg/L
	Turbidez	5,50 a 7,00	8 a 40	Acima de 80	Abaixo de 2,0 uT
	Cor aparente	5,50 a 7,00	8 a 40	Acima de 80	Abaixo de 27 uH
	UV- 254 nm	5,00 a 6,00	8 a 40	59 a 75	Abaixo 0,012/cm

5.1.2 - Avaliação da eficiência da quitosana e do sulfato de alumínio na remoção de células de *Microcystis Aeruginosa*, após o processo de coagulação/floculação/sedimentação.

As características da água base e da água base com a adição de células de *M. aeruginosa* (AE2) são apresentadas na Tabela 5.4. Essas características referem-se ao Experimento 1 em que se avaliou a remoção de *M. aeruginosa* (densidade de células de 10^6cél/mL) com sulfato de alumínio. Os diagramas do experimento 2 seguem apresentados no Apêndice A. Conforme pode ser observado na referida tabela, a clorofila-*a* apresentou aumento aproximado de 19 vezes, enquanto a turbidez e cor aparente, um aumento aproximado de três vezes.

Os diagramas de coagulação referentes ao remanescente de turbidez, cor aparente, clorofila-*a* e absorvância a 254nm (UV-254nm), obtidos a partir dos ensaios realizados com a água de estudo 2 (AE2) e uso do sulfato de alumínio como coagulante são apresentados nas Figuras 5.3 (a), (c), (e) e (g), respectivamente. Nas Figuras 5.1 (b), (d), (f) e (h), respectivamente, são apresentados o percentual de remoção de turbidez, cor aparente, clorofila-*a* e UV-254 nm.

Tabela 5-4- Caracterização da água de estudo anteriormente e posteriormente à adição de células de *M.aeruginosa* para o experimento 1 com sulfato de alumínio.

Parâmetros	Água do lago	Água de Estudo 2 (AE2)
pH	6,97	6,91
Turbidez (uT)	10,5	31,2
Cor Aparente (uH)	67	218
Clorofila-a (µg/L)	12,74	244,96
Densidade de células (cel/mL)	NM	1,23 x 10 ⁶
Absorbância a 254nm (cm ⁻¹)	0,031	0,033
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	23	25
Condutividade (µS/cm)	89,9	107,6

*NM - não medido

Comparando as figuras 5.3 (b), (d) e (f), percebe-se que eficiências de remoção de turbidez, cor aparente e clorofila-*a* maiores que 90% aconteceram em valores de pH mais baixos, entre 5,00 e 6,00, e uma ampla faixa de dosagem de sulfato de alumínio, entre 8 e 40 mg/L. Esses percentuais de remoção maiores que 90%, como pode ser observado nas Figuras 5.3 (a), (c) e (e) corresponderam, aproximadamente, a remanescentes de turbidez, cor aparente e clorofila-*a* menores que 3,00 uT, 25 uH e 23µg/L, respectivamente. Claramente, observa-se nesses diagramas, um padrão de remoção que decresce com o aumento do pH.

Tal como constatado nesse trabalho, Ermel (2009), ao estudar em escala de bancada, a mesma espécie de cianobactéria e utilizando o sulfato de alumínio como coagulante, após sedimentação de 14 min, obteve maior percentual de remoção de células (turbidez e clorofila-*a*) nos valores de pH entre 5 e 6, numa ampla faixa de dosagem de sulfato de alumínio (entre 12 e 40 mg/L), porém com uma eficiência máxima de remoção mais baixa do que a obtida nesse trabalho, 80%.

Em contrapartida, esses resultados contrastam em termos de região (pH x dosagem) de maior eficiência com os resultados obtidos por Capelette (2011) e Morais (2009). Capelette (2011) obteve maiores eficiências de remoção de turbidez e clorofila-*a* (entre 80% e 85%), em valor de pH próximo de 7,0 e doses entre 4 e 6 mg/L de sulfato de alumínio, após sedimentação de 20 minutos. Morais (2009), todavia, após um tempo de sedimentação de 5 minutos, obteve maiores eficiências de remoção de turbidez na faixa de pH entre 6,5 e 8 e dosagem de coagulante entre 8 e 32 mg/L, porém o percentual de remoção foi de até 90%.

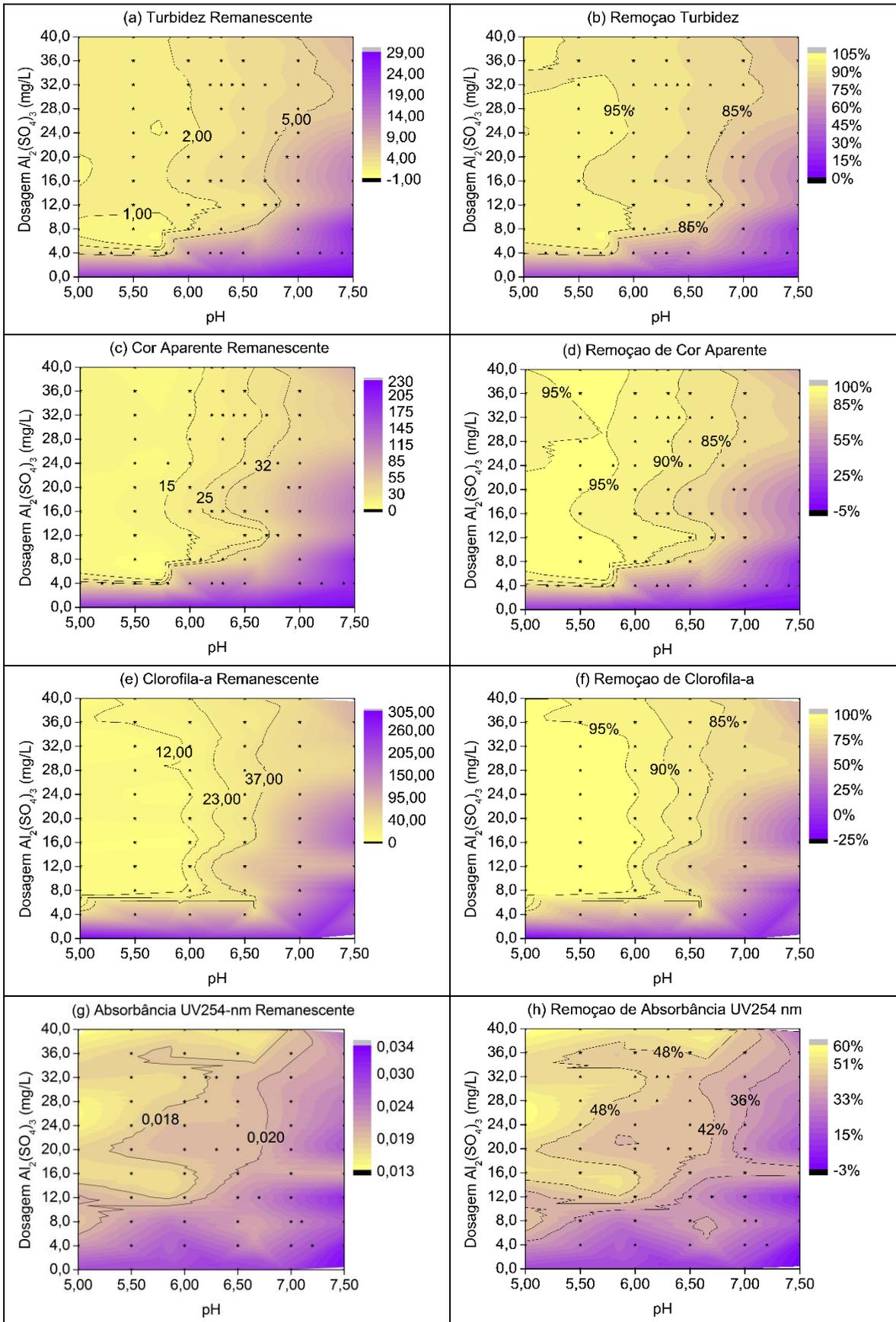


Figura 5.3- Diagramas de coagulação do remanescente de turbidez (a), cor aparente (c), clorofila-a (e), UV-254 (g) e percentual de remoção de turbidez (b), cor aparente (d), clorofila-a (f), UV-254 (h) na água do Lago Paranoá inoculada com *M. aeruginosa*, usando sulfato de alumínio.

De modo geral, as diferenças nos resultados entre este e os citados trabalhos podem estar ligadas à matriz da água utilizada para preparação da água de estudo, bem como, aos parâmetros operacionais utilizados durante os ensaios de coagulação, floculação e sedimentação. De fato, a matriz da água utilizada nos trabalhos de Capelette (2011) e Ermel (2009) é a mesma utilizada nesse trabalho, entretanto, como foram realizados em períodos distintos, as diferenças de qualidade entre as águas são notáveis.

Considerando os diagramas de turbidez, cor aparente e clorofila-*a* (Figuras 5.3 (b), (d) e (f)) verifica-se que nas regiões dos referidos diagramas com eficiências de remoção de células maiores que 90% ocorre, segundo o diagrama de coagulação de Amirtharajah e Mills (1982), o mecanismo de adsorção-neutralização de cargas (Figura 3.3).

Tal mecanismo também foi sugerido por Henderson *et al.* (2010) como atuante na remoção de *M. aeruginosa* com sulfato de alumínio em pH 5,0, não havendo nesse pH nenhuma zona de reestabilização, mesmo para maiores valores de potencial zeta positivos (+18,9). No referido trabalho, estudou-se a coagulação e flotação de diferentes espécies em termos de variação morfológica e composição de matéria orgânica algogênica-MOA (*C. vulgaris*, *M. aeruginosa*, *A. formosa* e *Melosira sp.*), a fim de correlacionar as características físicas e químicas desses organismos à eficiência de remoção dos mesmos. As suspensões de células foram diluídas em água deionizada.

Apesar do referido trabalho adotar como processo de remoção de células, a flotação, os autores elucidaram importantes considerações a respeito da etapa de coagulação dos citados microrganismos, levando em consideração suas características físicas e químicas, as quais demonstraram ser bastantes relevantes para qualquer processo de tratamento que tenha como base a desestabilização de algas e cianobactérias, ou seja, para o controle da coagulação quando da presença desses organismos.

Tal como pode ser observado nos diagramas de coagulação de turbidez, cor aparente e clorofila-*a* apresentados nas Figuras 5.3 (a), (b), (c), (d), (e) e (f), e mais consistentemente, como mostram os valores de potencial zeta obtidos em experimento posterior com a *M. aeruginosa* para armazenamento do lodo, esse comportamento de não reestabilização verificado no trabalho de Henderson *et al.* (2010) pode ser considerado, de modo que em pH 5,5, o potencial zeta apresentou valores crescentes positivos, porém não foi observada

diminuição no percentual de remoção de células. A saber, os valores de potencial zeta obtidos no referido experimento, correspondentes às dosagens de 4, 8, 10, 12, 14 e 16 mg/L de sulfato de alumínio foram, respectivamente, -8,65; + 5,06; + 8,17; +9,35; + 10,4 e + 10,5 mV.

Segundo Henderson *et al.* (2010), o comportamento de não reestabilização pode ser atribuído às proteínas e carboidratos de grandes massa molecular (MW) que foram encontrados na matéria orgânica algogênica (MOA) da *M. aeruginosa*, os quais poderiam estar atuando como polímeros auxiliares e superando as forças repulsivas eletrostáticas, tendo em vista que cerca de 45% da MOA dessa cianobactéria apresentou moléculas com massa molecular maiores que 500 kDa.

A Figura 5.3 (h) mostra o diagrama de remoção de matéria orgânica dissolvida (UV-254nm) com sulfato de alumínio, que revelou tendência semelhante aos diagramas de remoção de clorofila-*a*, turbidez e cor aparente, de forma que as maiores remoções aconteceram em valores de pH mais baixos (entre 5,00 e 6,00), porém, em doses mais altas do coagulante (acima de 12 mg/L). Nessa região de pH e dosagem foram observadas remoções de UV-254 nm entre 42 e 60%. Assim como nesse trabalho, Capelette (2011) também obteve maiores remoções em valores de pH mais baixos, entre 5,00 e 5,50 e doses mais altas do coagulante. Contudo, a máxima eficiência de remoção obtida foi 40%.

Na Tabela 5.5 são apresentadas as características da água base sem a adição de células de cianobactérias e da água base inoculada com células de *M. aeruginosa* (AE2). Para discussão nesse trabalho, foram selecionados os diagramas referentes ao segundo experimento em que se avaliou a remoção de *M. aeruginosa* (densidade de células de 10^6cél/mL) com quitosana, a fim de estabelecer comparações com outros trabalhos encontrados na literatura, tomando como base as similaridades nas características da água base e água de estudo. Os diagramas do experimento 1 são apresentados no Apêndice A. Conforme pode ser observado na referida tabela, os parâmetros tanto da água base quanto da água de estudo mantêm relativa similaridade com as características das águas base e de estudo utilizadas no experimento com *M. aeruginosa* e sulfato de alumínio (Tabela 5.4).

Tabela 5-5- caracterização da água de estudo anteriormente e posteriormente à adição do inóculo de *M. aeruginosa* para o experimento 2 com quitosana

Parâmetros	Água do lago	Água de Estudo 2 (AE2)
pH	6,93	7,31
Turbidez (uT)	8,40	36,0
Cor Aparente (uH)	80	264
Clorofila-a ($\mu\text{g/L}$)	12,74	288,86
Densidade de células (cel/mL)	NM	$1,16 \times 10^6$
Absorbância a 254nm (cm^{-1})	0,021	0,022
Alcalinidade ($\text{mg CaCO}_3/\text{L}$)	25	27
Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	79,8	100,5

*NM - não medido

Os diagramas de coagulação referentes ao remanescente de turbidez, cor aparente, clorofila-*a* e absorbância a 254nm (UV-254nm), obtidos a partir dos ensaios realizados com a água de estudo 2 (AE2) e uso da quitosana como coagulante são apresentados nas Figuras 5.4 (a), (c), (e) e (g), respectivamente. Nas Figuras 5.4 (b), (d), (f) e (h), respectivamente, são apresentados o percentual de remoção de turbidez, cor aparente, clorofila-*a* e UV-254nm.

A partir das Figuras 5.4 (b) e (d), pode-se verificar que a região mais consistente de remoção de turbidez coincide com a região de elevada remoção de cor aparente: remoção maior que 71% em torno do pH 7,0 e dosagens de quitosana entre de 1 e 9 mg/L. Essa região com percentuais de remoção acima de 71% corresponde, aproximadamente, a níveis turbidez residual abaixo de 10 uT e remanescente de cor aparente abaixo de 68 uH (Figuras 5.4 (a) e (c), respectivamente). Logo, para essa região mais abrangente de remoção de turbidez, o limite máximo de turbidez remanescentes está acima dos limites recomendados na literatura. Com relação à cor aparente, entende-se que o limite máximo observado ainda é alto, dado o padrão de potabilidade estabelecido pela Portaria MS nº 2914/11 de 15 uH, após a etapa de filtração.

O diagrama de remoção de clorofila-*a* (Figura 5.3 (f)) apresentou remoções acima de 71% na mesma região de pH verificada nos diagramas de remoção de turbidez e cor aparente, porém, para dosagens de quitosana acima de 3 mg/L. Destaca-se que essa região de remoção de clorofila-*a* resultou em concentrações residuais de clorofila-*a* abaixo 87 $\mu\text{g/L}$.

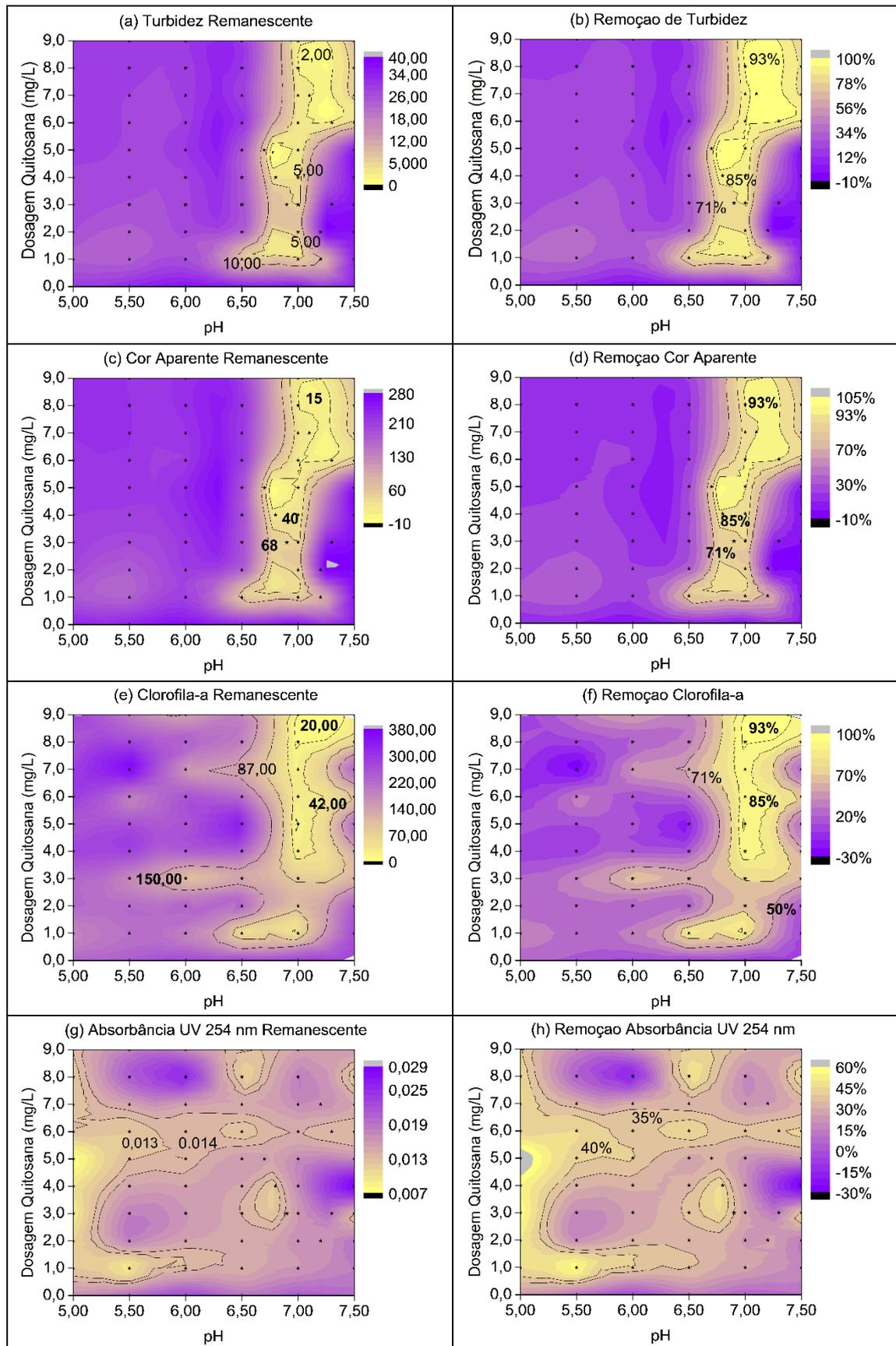


Figura 5.4 - Diagramas de coagulação do remanescente de turbidez (a), cor aparente (c), clorofila-a (e), UV-254 (g) e percentual de remoção de turbidez (b), cor aparente (d), clorofila-a (f), UV-254 (h) na água do Lago Paranoá inoculada com *M. aeruginosa*, usando quitosana.

Em pH 7,0, superior ao pKa da quitosana, ocorre a precipitação do polímero; em consequência, na região de máxima remoção tanto de turbidez quanto clorofila-*a* e cor aparente, pode-se inferir que o mecanismo de atuação deste coagulante tenha se baseado na retenção de partículas na estrutura do precipitado, tal como apontado por Roussy *et al.* (2005).

Evidências da possível atuação do mecanismo de coagulação precipitativa foram verificadas mediante medidas de potencial zeta na água coagulada no pH 7,0 e dosagens de quitosana entre 2 e 8 mg/L. Nessas condições de coagulação, o potencial zeta se manteve negativo, com valores que oscilaram entre -12,0 e -5,51 mV, indicando que a quitosana não atuou pelo mecanismo de adsorção e neutralização de cargas, contudo, nessa faixa de dosagens foi possível obter remoções de turbidez e cor aparente na água clarificada entre 71 e 93%.

Tal como observado nesse trabalho, Capelette (2011) também obteve as maiores remoções de turbidez, cor aparente e clorofila-*a* em intervalos de pH mais estreitos. A região mais abrangente de remoção de turbidez (maior que 85%) se deu em um intervalo de pH entre 6,50 e 7,30 e dosagens acima de 1 mg/L. Quanto à região mais abrangente de remoção de clorofila-*a*, o autor obteve remoções superiores a 90%, em valores de pH entre 6,4 e 7,4 e doses de quitosana maiores que 1,0 mg/L. Com relação à remoção de cor aparente, Capelette (2011) obteve remoção de aproximadamente 80%, em valores de pH entre 6,5 e 7,2 e dosagem de quitosana acima de 1mg/l.

Assim como no diagrama correspondente ao experimento com *C. raciborskii* e quitosana, os resultados obtidos para remoção de matéria orgânica dissolvida, apresentado na Figura 5.4 (h), mostraram-se pouco definidos e não uniformes, em contraponto aos diagramas anteriormente apresentados para este experimento. Em pH 5,00 e dosagens acima de 1mg/L, nota-se a região mais consistente do diagrama, com percentuais de remoção entre 35 e 60%. Dessa forma, não se verifica qualquer relação entre a região de maiores eficiências de remoção do diagrama de UV- 254 nm com as regiões de pH e dosagem identificadas nos diagramas de cor aparente, clorofila-*a* e turbidez (Figuras 5.4 (b), (d) e (f)), que se deram em pH mais elevado, por volta de 7,0.

Os flocos produzidos com *M. aeruginosa* e quitosana assim como os flocos produzidos com *C. raciborskii* e quitosana, apresentaram boa sedimentabilidade em pH 7,0, exceto para a

dosagem de 1 mg/L, na qual os flocos tenderam a flotar (Figura C.2 – Apêndice C).

De modo geral, observa-se que o uso da quitosana para remoção de duas espécies de cianobactérias morfológicamente diferentes, a *C. raciborskii* e *M.aeruginosa*, promoveu distintas regiões ótimas de coagulação (pH e dosagem). Para *C. raciborskii*, o uso da quitosana promoveu melhores percentuais de remoção de turbidez e cor aparente, acima de 80%, na faixa de pH entre 6,00 e 7,00, e dosagens entre 2 e 9 mg/L. Para *M.aeruginosa*, verificou-se numa faixa de pH mais estreita, em torno de 7,00, e dosagens acima de 1 mg/L, percentuais por volta de 70% de remoção de turbidez e cor aparente.

Essas diferenças podem estar atreladas, principalmente, às características do sistema de células, que pode variar, sobretudo, em decorrência da composição da matéria orgânica algôgenica extracelular (MOAE) associada a esses microorganismos, de modo que as características da MOAE interferem na densidade de carga de cada espécie.

Ao compararem a espécies morfológicamente diferentes (*C. vulgaris*, *M. aeruginosa*, *A. formosa* e *Melosira sp.*), Henderson *et al.* (2008) constataram contribuição da MOAE de 84%, 5% e 30% para a carga do sistema de células de *C. vulgaris*, *M. aeruginosa*, *A. formosa*, sendo negligenciável para a *Melosira sp.* Em trabalho posterior, Henderson *et al.* (2010), com as mesmas espécies de cianobactéria, constataram que a coagulação com sulfato de alumínio foi, predominantemente, dependente da densidade de carga mássica da suspensão de células, de modo que quanto maior a densidade de carga da suspensão, maior foi a dosagem de coagulante requerida para neutralização das cargas e quanto maior o pH, maior a densidade de cargas da suspensão.

Ao contrário do que foi observado no comportamento de remoção de *C. raciborskii* com os diferentes coagulantes avaliados nesse trabalho, nota-se significativas diferenças na área de remoção ótima de *M. aeruginosa* quando do uso do sulfato alumínio ou da quitosana como coagulante, de forma que as regiões mais consistentes de remoção dessa cianobactéria com sulfato se deu numa faixa de pH e dosagem mais abrangente (pH entre 5,00 a 6,00, e dosagens acima de 8 mg/L), enquanto que a quitosana promoveu as maiores remoções em uma faixa de pH mais estreita, em torno de 7,0 e dosagens entre 1 e 9 mg/L. Além disso, como pode ser verificado na Tabela 5.6, o sulfato de alumínio promoveu maior eficiência de remoção de células *M. aeruginosa* que a quitosana.

Tabela 5-6 Comparação entre os percentuais e remanescente obtidos com quitosana e sulfato de alumínio para *M. aeruginosa*.

Coagulante	Parâmetro	Faixa de pH ótimo	Faixa de dosagem ótima (mg/L)	Percentual de remoção (%)	Residual
Quitosana	Clorofila-a	7,00	3 a 9	Acima de 71	Abaixo de 87 µg/L
	Turbidez	7,00	1 a 9	Acima de 71	Abaixo de 10,0 uT
	Cor aparente	7,00	1 a 9	Acima de 71	Abaixo de 68 uH
	UV- 254 nm	5,00	1 a 9	35 a 60	Abaixo 0,013/cm
Sulfato de alumínio	Clorofila-a	5,00 a 6,00	8 a 40	Acima de 90	Abaixo de 23 µg/L
	Turbidez	5,00 a 6,00	8 a 40	Acima de 90	Abaixo de 3,0 uT
	Cor aparente	5,00 a 6,00	8 a 40	Acima de 90	Abaixo de 25 uH
	UV- 254 nm	5,00 a 6,00	12 a 40	42 e 60	Abaixo 0,012/cm

Essa maior abrangência de melhor remoção do sulfato de alumínio numa vasta gama de pH e dosagem, e maior sensibilidade da quitosana às variações de pH foi verificada também por Fast *et al.* (2014). Dentre as avaliações realizadas, os autores compararam o uso da quitosana e do sulfato de alumínio para a remoção de vários níveis de turbidez proveniente de células da microalga *Chlorella vulgaris* (10, 20, 30 e 40 NTU), após os processos de coagulação, floculação e sedimentação. Os resultados desse trabalho evidenciaram, que apesar do uso do sulfato de alumínio requerer maiores dosagens para a remoção de turbidez, o mesmo apresentou ótimas remoções em todas as faixas de pH (5,6,7,8 e 9) e para todos os níveis de turbidez testados.

Em contrapartida, a quitosana mostrou-se altamente sensível às variações de pH, dependendo do nível de turbidez trabalhado e da dosagem de quitosana aplicada, de modo que para a turbidez de 10 NTU, dosagens mais elevadas reduziu a eficiência de remoção, enquanto que níveis de turbidez mais elevados exigiram maiores dosagens do coagulante. Da mesma forma, com 10 NTU, verificou-se boas remoções apenas em pH 7,0 e 8,0, ao passo que para os níveis de turbidez maiores, a abrangência da faixa de pH que promoveu melhores remoções foi maior (pH 6, 7, 8 e 9).

5.2 - LIBERAÇÃO E DEGRADAÇÃO DE TOXINAS EM FUNÇÃO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO DO LODO

Considerando que em condições de elevadas remoções de células de cianobactérias durante o processo de tratamento convencional da água, grande quantidade de células ficam retidas no lodo dos decantadores, e que em diversas estações de tratamento esse lodo permanece sem retirada por períodos de tempo que possibilitam a lise celular e liberação de toxinas para a coluna d'água, nessa segunda etapa experimental, também realizada em escala de bancada, avaliou-se a influência do tipo de coagulante, e principalmente, do tempo, na lise celular e degradação de toxinas, tanto da cianobactéria *C. raciborskii* quanto da *M. aeruginosa*.

Para essa avaliação, escolheu-se com base nos diagramas de coagulação apresentados anteriormente, os valores de pH de coagulação e a dosagem de coagulante que produziram melhor eficiência de remoção em termos de turbidez, clorofila *a* e cor aparente. A partir de tais condições, procedeu-se novos ensaios de coagulação e floculação, com posterior armazenamento do lodo das amostras com e sem coagulante, durante 50 dias. As amostras com e sem coagulantes foram analisadas, paulatinamente durante os 50 dias com relação aos parâmetros clorofila *a*, densidade de células, toxina dissolvida e toxina total.

5.2.1 - Avaliação da ocorrência de lise celular, liberação e degradação de cilindrospermopsina em função dos diferentes períodos de armazenamento do lodo, para os coagulantes quitosana e sulfato de alumínio

Como apresentado anteriormente, as condições de pH e dosagens de coagulante que melhor produziram eficiência de remoção de turbidez e cor aparente no experimento com quitosana e *C. raciborskii* ficaram entre 6,00 e 7,00 e entre 2 e 9 mg/L de quitosana, respectivamente. Logo, para realização dessa etapa experimental, selecionou-se o pH 6,5. Com objetivo de verificar a influência do tipo e dosagem de coagulante na lise celular, liberação e degradação de toxina foram selecionadas para o respectivo pH, três dosagens de quitosana, 1, 2 e 3 mg/L. Na Tabela 5.7 são apresentadas as características da água bruta antes da inoculação com células de *C. raciborskii* e da água de estudo inoculada com células de *C. raciborskii*. Vale ressaltar que nesse experimento a densidade de células foi da ordem 10^5 cél/ mL.

Tabela 5-7 - Caracterização da água de estudo antes e após a adição de células de *C.raciborskii*, usando quitosana (experimento 1).

Parâmetros	Água do lago	Água de Estudo 1 (AE1)
pH	6,93	6,95
Turbidez (uT)	6,25	9,30
Cor Aparente (uH)	54	162
Clorofila- <i>a</i> (µg/L)	6,37	212,40
Densidade de células (cel/mL)	NM	7,12 x 10 ⁵
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	25	27
Condutividade (µS/cm)	93,2	116,1

Os resultados obtidos para concentração de clorofila-*a*, densidade de células e concentração de cilindrospermopsinas dissolvida e cilindrospermopsinas total estão apresentados nas Figuras 5.5 (a), (b), (c) e (d), respectivamente. Para discussão nesse texto, foram apresentados os resultados obtidos para o experimento 1, sendo os resultados da duplicata, apresentados no Apêndice B.

A partir da Figura 5.5 (a), nota-se que existiu aumento de clorofila-*a* para as amostras com coagulante até o 3º dia de análise, o que pode ser associado ao fato de que inicialmente a quitosana, ao envolver os filamentos de *C. raciborskii*, possivelmente teria dificultado ou até mesmo impedido a extração da clorofila-*a* do interior das células, e conseqüentemente, de ser detectada pelo método analítico. Após este período houve queda gradativa das concentração de clorofila-*a* até 10º dia de armazenamento, com percentuais de decaimento entre 95 e 99% para todas as amostras com coagulante avaliadas.

Por outro lado, na água de estudo que não recebeu coagulante, a clorofila-*a* diminuiu desde o início do armazenamento. Verifica-se ainda que o teor de clorofila-*a* no 2º dia de armazenamento apresenta-se muito discrepante em relação à tendência geral desta amostra, o que pode ter sido decorrente de erros na análise deste parâmetro. Tal com verificado para as amostras com coagulante, já no 10º dia, a amostra sem coagulante apresentou decaimento praticamente completo com relação ao valor inicial de clorofila-*a*.

Na Figura 5.5 (b), observa-se, assim como verificado no comportamento da clorofila-*a*, que para todas as amostras avaliadas houve um decaimento significativo na densidade de células no 10º dia de armazenamento, com 99% de decréscimo.

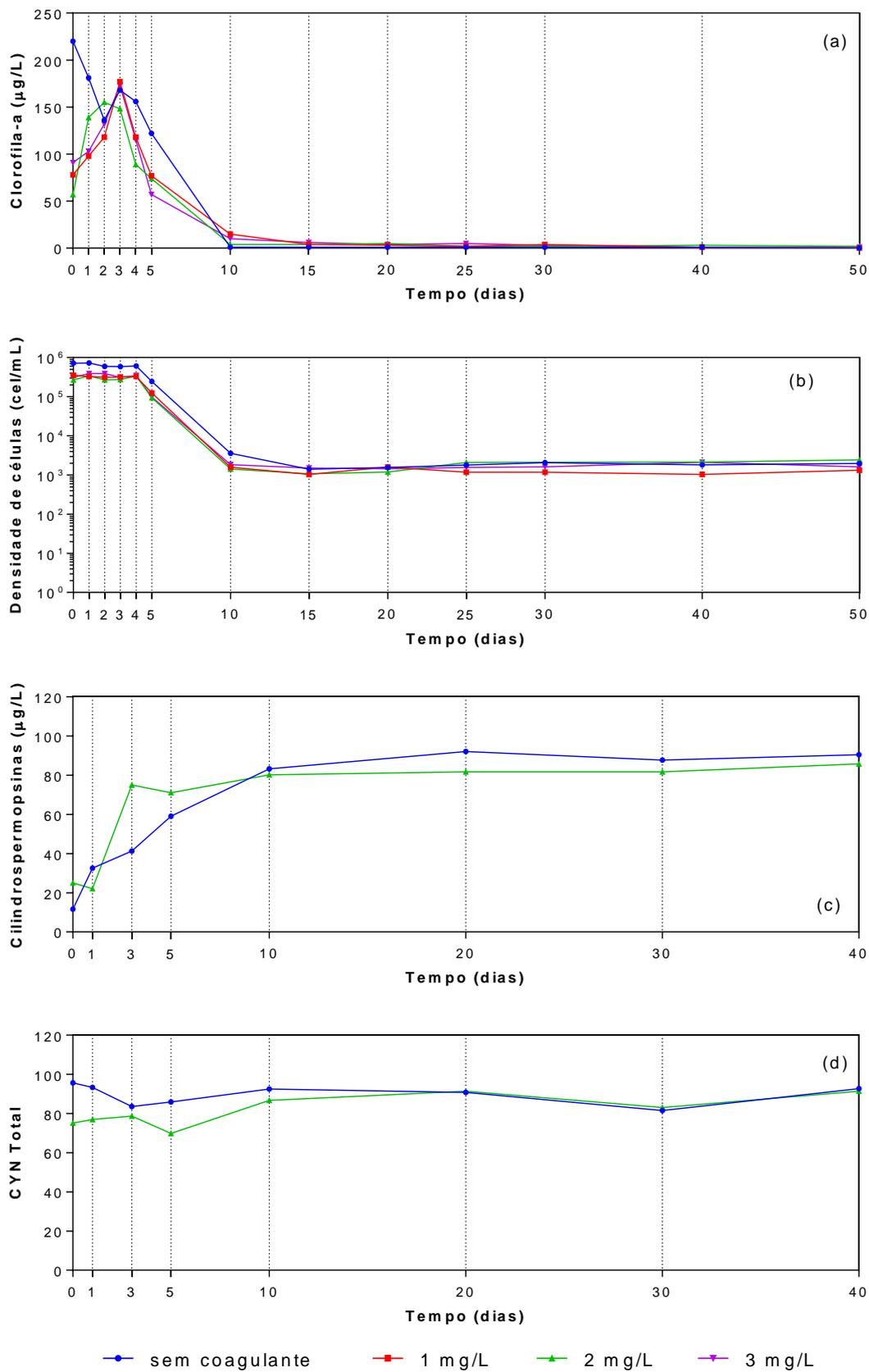


Figura 5.5 - Concentração de clorofila-a (a), densidade de células (b), concentração de cilindrospermopsinas dissolvidas (c) e concentração de cilindrospermopsinas total (d) para *C. raciborskii* ao longo do período de armazenamento do lodo, usando quitosana como coagulante.

As Figuras 5.5 (a) e (b) evidenciam ainda que, anteriormente ao décimo dia de armazenamento, as amostras com coagulante apresentaram concentrações de clorofila-*a* e de densidade de células abaixo dos valores obtidos com as amostras sem coagulante. Tal verificação, quando observamos o comportamento da toxina extracelular (Figura 5.5 (c)), pode ser associada a um possível favorecimento do coagulante quitosana na lise celular, já que as amostras com coagulante apresentaram maiores valores de cilindrospermopsina extracelular que a amostra sem coagulante até o 10º dia de armazenamento, exceto para o 2º dia. Quanto à influência das diferentes dosagens no comportamento da densidade de células, não nota-se significativas diferenças entre elas.

Evidentemente, o decaimento de clorofila-*a* e da densidade de células, indica a ocorrência de lise celular, e conseqüentemente, a liberação de toxinas dissolvidas para a água clarificada, uma vez que as células de *C. raciborskii* produzem também cianotoxinas intracelulares. Isto pode ser verificado comparando-se as figuras 5.5 (a) e (b) e (c), nas quais observa-se que à medida que a clorofila-*a* e densidade de células diminuem, a concentração de cilindrospermopsinas dissolvidas aumenta, sendo que um valor significativo de toxinas dissolvidas para as amostras com e sem coagulante foi obtido no 10º dia. A partir do 10º até o 40º dia, a concentração de cilindrospermopsina extracelular para ambas as amostras permaneceu praticamente constante. Esse comportamento da toxina extracelular, corroborado pelos resultados das concentrações de cilindrospermopsina total, aproximadamente constante desde o 1º até 40º dia de armazenamento, permite afirmar que não existe degradação apreciável dessa toxina ao longo do tempo, nas condições de pH e dosagem avaliadas.

Comparando as Figuras 5.5 (c) e (d), observa-se ainda, uma congruência entre os resultados de cilindrospermopsina extracelular e total, uma vez que, considerando que no 10º de armazenamento toda toxina intracelular estaria liberada em função da quase completa lise celular, verifica-se uma relação significativa entre os valores de concentração de toxina extracelular e total nesse dia, a exemplo da amostra com coagulante que apresentou concentração de 80,27 µg/L de cilindrospermopsina, enquanto que a toxina total apresentou concentração de 86,73 µg/L.

Na Figura 5.5 (c), observa-se significativa concentração de cilindrospermopsina extracelular já no dia zero, após o processo de coagulação/floculação/sedimentação, de modo que

concentrações de 11,61 e 25,02 µg/L dessa toxina foram verificadas, respectivamente, para as amostras sem e com a adição de quitosana. É importante ressaltar que estas concentrações, não necessariamente são decorrentes da lise celular, tendo em vista que a *C. raciborskii* pode liberar cilindrospermopsinas em condições fisiológicas normais. Dada a relevante concentração de cilindrospermopsinas extracelular observada já no dia zero e a verificação de liberação gradual de cilindrospermopsinas do dia zero até o 10º dia, destaca-se a necessidade de remoção frequente do lodo proveniente de células de *C. raciborskii*, após o processo de sedimentação, como forma de se atingir o limite máximo de 1 µg/L recomendado pela Portaria MS 2914/2011 nas águas de abastecimento público.

Sabe-se que essa recomendação de retirada frequente do lodo como forma de se reduzir ao máximo a concentração de toxina liberada para água clarificada é inviável do ponto de vista de estações de tratamento de água (ETA) que fazem a retirada manual desse lodo, no entanto necessária. Dessa forma, entende-se que tais estações de tratamento devem se preparar no sentido de adaptar essa retirada do lodo para uma forma mecanizada quando de possíveis eventos de floração dessa cianobactéria no manancial de abastecimento. Há que ressaltar, porém, que retirada frequente do lodo dos decantadores perpassa ainda pelo grande volume de lodo que seria gerado a partir dessa ação, sendo que a maior parte desse volume é constituído basicamente por água.

Dessa forma, entende-se que para as regiões propensas a possíveis incidências de florações dessa cianobactéria, a melhor solução seria adotar o processo de flotação em detrimento do processo de sedimentação, o qual é reconhecido por remover eficientemente células de cianobactérias, com a vantagem de não deixar o resíduo produzido após a clarificação por longos períodos em contato com a água clarificada.

Utilizando o sulfato de alumínio como coagulante, a região com melhor remoção de *C. raciborskii*, como apresentado nos diagramas de remoção de clorofila-*a*, turbidez e cor aparente (Figuras 5.1 (b), (d) e (f)) foi verificada entre os valores de pH 5,50 e 7,00 e dosagens acima de 8 mg/L. Com base nos diagramas apresentados, definiu-se o pH 6,00 como pH ótimo para realização dessa etapa experimental. Para a confirmação das dosagens correspondentes ao pH 6,0 que melhor promoveram remoção de células de *C. raciborskii* realizou-se testes preliminares ao experimento de armazenamento do lodo. A partir desse teste, definiu-se o pH 6,0 e a dosagem de 28 mg/L como condição ótima de remoção de

células, e portanto, foi adotada no experimento de armazenamento do lodo com sulfato de alumínio. As outras dosagens, maior e menor que a dosagem da condição ótima foram 26 e 30 mg/L, respectivamente. As características da água base e da água de estudo estão apresentadas na Tabela 5.8.

Tabela 5-8 - caracterização da água de estudo anteriormente e posteriormente à adição de células de *C.raciborskii*, usando sulfato de alumínio (experimento 2).

Parâmetros	Água do lago	Água de Estudo 1 (AE1)
pH	6,55	7,12
Turbidez (uT)	32,5	36,8
Cor Aparente (uH)	210	272
Clorofila- <i>a</i> (µg/L)	11,33	120,36
Densidade de células (cel/mL)	NM	8,9 x 10 ⁵
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	27	29
Condutividade (µS/cm)	93	114

*NM - não medido

Nas Figuras 5.6 (a), (b), (c) e (d) estão expostos os resultados obtidos para concentração de clorofila-*a*, densidade de células e concentração de cilindrospermopsina dissolvida e cilindrospermopsina total, referentes ao experimento 2. Os resultados da duplicata estão apresentados no Apêndice B.

Na figura 5.6 (a), após o 2º dia, observa-se para todas as amostras analisadas, que houve decréscimo gradativo da clorofila-*a*, porém, diferentemente do que foi constatado na Figura 5.5 (a), a concentração de clorofila-*a* para as amostras com o coagulante sulfato de alumínio mantiveram-se sempre acima das concentrações das amostras sem coagulante, que a partir do 10º dia teve 95% de decaimento, enquanto que as amostras com coagulante só apresentaram decaimento entre 88 e 95% no 25º dia.

Dessa forma, considerando-se tais resultados, acredita-se que há uma influência do coagulante sulfato de alumínio no retardamento da lise das células de *C. raciborskii*, todavia, não foi possível diferenciar o efeito das diferentes dosagens em tal comportamento, tendo em vista que as dosagens avaliadas foram muito próximas.

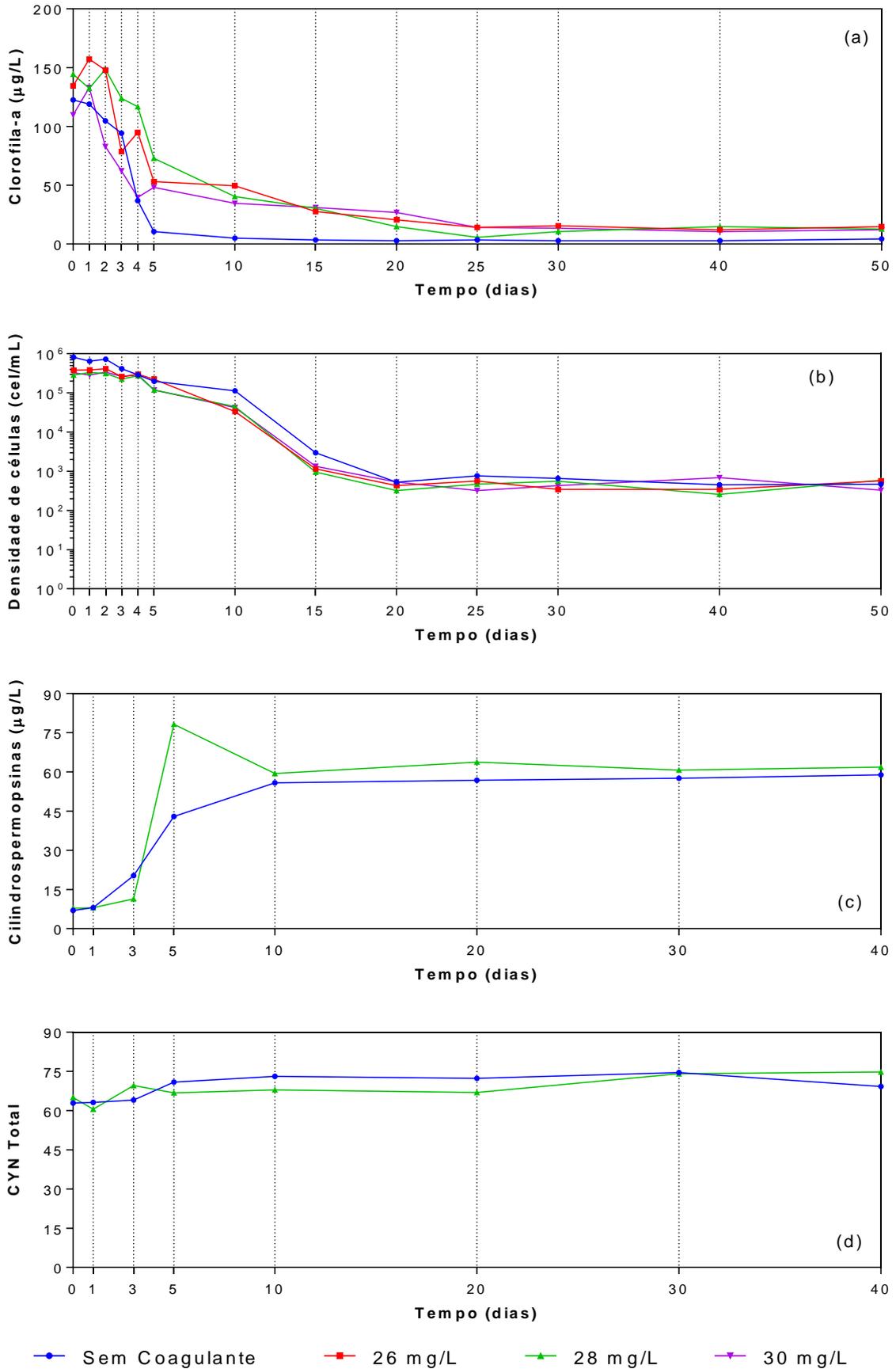


Figura 5.6 - Concentração de clorofila-a (a), densidade de células (b), concentração de cilindrospermopsinas dissolvidas (c) e concentração de cilindrospermopsinas total (d) para *C. raciborskii* ao longo do período de armazenamento do lodo, usando sulfato de alumínio.

Os resultados obtidos para densidade de células, Figura 5.6 (b), mostraram-se relativamente diferentes, quando comparados com o comportamento da clorofila-*a*, já que todas as amostras, com e sem coagulante, apresentaram decaimento significativo de células, 99%, a partir do 15º dia de armazenamento para todas as dosagens avaliadas. Além disso, as amostras com coagulante, até o 10º dia de armazenamento apresentaram valores de densidade de células sempre abaixo das amostras sem coagulante, o que pode estar associado à influência do coagulante na contagem efetiva das células, haja vista, que o comportamento da clorofila-*a* não apresentou essa mesma tendência, tão pouco os valores das concentrações de cilindrospermopsinas extracelulares foram sempre maiores com relação à amostra sem coagulante.

Com relação ao parâmetro clorofila-*a*, Ermel (2009), ao estudar a liberação e degradação de toxinas de *C. raciborskii* produtora de saxitoxinas, após o processo de coagulação com sulfato de alumínio e armazenamento do lodo, obteve resultados relativamente divergentes aos resultados obtidos nesse trabalho, com decréscimo de 80 a 90 % da clorofila-*a* para todas as amostras avaliadas em 10 dias, tanto em pH 5,5 quanto em pH 7,0, porém o decaimento quase completo só foi verificado a partir de 30 dias de armazenamento tanto para as amostras com coagulante quanto sem coagulante. Quanto à densidade de células, assim como neste trabalho, Ermel (2009) obteve comportamento distinto do observado na análise de clorofila-*a*, de forma que a partir do 5º dia, não observou mais células de *C. raciborskii*, exceto para as amostras sem coagulante nos dois pH avaliados, nos quais esse feito só foi observado a partir do 15º dia.

Considerando-se que a lise celular reflete o decaimento da concentração de clorofila-*a* e densidade de células, observa-se uma certa congruência entre os resultados obtidos nas Figuras 5.6 (a) e (b) e a Figura 5.6 (c), uma vez que, a concentração de toxinas dissolvidas aumenta nos dias de armazenamento em que se verifica decaimento significativo no valor desses parâmetros de análise, embora, um valor significativo de toxinas dissolvidas para as amostras com e sem coagulante tenha sido observado já a partir do 10º dia de armazenamento, após o qual os valores de cilindrospermopsina extracelular permaneceram praticamente constantes.

Ressalta-se o valor destoante de toxina obtido para a amostra com coagulante (28 mg/L) no 5º dia de armazenamento, incompatível com os resultados obtidos tanto para clorofila-*a*

quanto para densidade de células apresentados nas Figuras 5.6 (a) e (b), nas quais ainda se observa número considerável de células de *C. raciborskii*, o que pode estar associado ao erro admitido pelo próprio método de análise da toxina ($\pm 20\%$) e a possíveis erros experimentais durante a execução do procedimento de análise.

Avaliando o processo de degradação de toxinas ao longo do tempo, observa-se por meio das Figuras 5.6 (c) e (d), que a cilindrospermopsina não apresentou degradação apreciável para nenhuma das amostras analisadas, tendo em vista que a constância verificada nas concentrações de toxina extracelular a partir do 10º dia de armazenamento é também verificada no comportamento da toxina total em todo o intervalo de armazenamento do lodo, 40 dias.

A não degradabilidade da cilindrospermopsina foi também verificada por Ho *et al.* (2013), que estudou a liberação e degradação de toxinas, após o processo de coagulação com 80 mg/L de sulfato de alumínio e armazenamento do lodo, utilizando a *C. raciborskii* cultivada em laboratório e diluída na ordem de 3×10^5 cél/mL na água do reservatório Myponga, localizado no sul da Austrália, com histórico de florações de *A. circinalis*. Segundo os autores, a liberação de cilindrospermopsina para água clarificada foi progressiva até o 7º dia de armazenamento, quando então, a concentração dessa toxina tornou-se praticamente constante até 16º dia, não demonstrando nenhum tipo de degradação.

Utilizando a autofluorescência das células como metodologia para analisar a viabilidade celular, os autores ainda concluíram que a liberação de toxinas em 12 dias foi devida à perda de viabilidade celular ou lise celular. Um estudo anterior mostrou que a perda de viabilidade celular da *C. raciborskii* começa a partir do terceiro dia de armazenamento, sendo que até então, toda toxina dissolvida é devida às condições naturais de liberação desses metabólitos por essa cianobactéria (Ho *et al.*, 2012a).

5.2.2 - Avaliação da ocorrência de lise celular, liberação e degradação de microcistinas em função dos diferentes períodos de armazenamento do lodo, para os coagulantes quitosana e sulfato de alumínio

Como analisado anteriormente nos diagramas de coagulação que apresentam a remoção de

células de *M. aeruginosa*, utilizando a quitosana como coagulante, o valor de pH que produziu melhor eficiência de remoção em termos de turbidez, clorofila-*a* e cor aparente foi o pH 7,0. Logo, nessa segunda etapa experimental, o pH 7,0 foi selecionado como pH ótimo para avaliação da influência desse pH sobre a lise das células e degradação das toxinas com o tempo de armazenamento do lodo. As dosagens de quitosana selecionadas, também com base nos diagramas e em testes posteriores para confirmação dos resultados obtidos nos diagramas foram: 6 mg/L, 7 mg/L e 8 mg/L.

As características da água base e da água de estudo (AE2), utilizadas nos ensaios para armazenamento do lodo com *M. aeruginosa* e quitosana estão expostas na Tabela 5.9. Assim como foi observado nas características da água de estudo utilizada para a construção dos diagramas de coagulação, a água de estudo desse experimento apresentou características similares, principalmente no que diz respeito ao incremento de turbidez, clorofila-*a* e cor aparente, devido à adição de células de *M. aeruginosa*.

Tabela 5-9 - caracterização da água de estudo anteriormente e posteriormente à adição de células de *M.aeruginosa*, usando quitosana (experimento 2).

Parâmetros	Água do lago	Água de Estudo 2 (AE2)
pH	6,41	7,01
Turbidez (uT)	10,5	26,7
Cor Aparente (uH)	68	197
Clorofila- <i>a</i> (µg/L)	9,20	197,53
Densidade de células (cel/mL)	NM	1,3 x 10 ⁶
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	23	25
Condutividade (µS/cm)	90,6	112,1

*NM - não medido

A concentração de clorofila-*a* e a densidade de células ao longo do período de armazenamento do lodo são apresentadas nas Figuras 5.7 (a) e (b). Na Figura 5.7 (a) pode-se verificar que não existe um decaimento acentuado da clorofila-*a* até o 4º dia de armazenamento para todas as amostras analisadas, provavelmente, devido a erros experimentais, à própria heterogeneidade das amostras e principalmente, devido à fotodegradação da clorofila-*a* na condução das análises. A partir do 4º dia observa-se para todas as amostras avaliadas um perfil de decaimento que se prolonga até o 10º dia de armazenamento, quando o decaimento de clorofila-*a* fica entre 96 e 99%. A densidade de

células (Figura 5.7 (b)) apresentou decaimento entre 94 e 100% para todas as amostras com coagulante apenas no 15º dia, enquanto na amostra sem coagulante, decaimento quase completo é verificado no 20º dia.

É importante ressaltar que a relação entre os parâmetros clorofila-*a* e densidade de células não é direta, dado cada parâmetro tem um forma de análise específica, na qual tem-se erros analíticos e experimentais. Logo, a diferença entre o decaimento de densidade de células com relação ao parâmetro clorofila-*a*, além de outros fatores, pode ser decorrente de erros na contagem de células, de forma que células não viáveis podem ter sido contabilizadas durante a observação no microscópio e/ou a clorofila-*a* pode ter sido degradada, tendo em vista que esse pigmento uma vez fora da célula é facilmente decomposto.

Na Figura 5.7 (c) pode-se verificar que a liberação de microcistinas intracelular, em parte, seguiu um comportamento discrepante do decaimento de células observado nas Figuras 5.7 (a) e (b), à medida que a máxima concentração de toxina, para ambas as amostras analisadas foi verificada no 3º dia, enquanto que o máximo decaimento celular aconteceu entre o 10º e 15º dia de armazenamento. A partir do 3º dia, observa-se uma redução da concentração das microcistinas dissolvidas, atingindo na água clarificada com quitosana e na água sem coagulante, residuais inferiores a 1 µg/L, no 15º dia e no 10º dia, respectivamente.

A análise do comportamento da toxina total mostrada na Figura 5.7 (d) indica que no primeiro dia de armazenamento, para ambas as amostras estudadas, a concentração de toxina total manteve-se praticamente constante, o que sugere que nesse período não houve degradação apreciável da toxina. Entretanto, já no terceiro dia verifica-se uma diminuição da concentração em consequência da degradação, sendo que essa redução se deu de forma mais significativa na amostra com quitosana, aproximadamente 50% em comparação com a redução observada na concentração da toxina da amostra sem coagulante (apenas 11%). Para a amostra com coagulante, essa degradação se estende até o 5º dia com a mesma taxa, quando o residual de toxina foi de 1,14 µg/L. Todavia, para a amostra sem coagulante, a degradação foi praticamente completa (residual de 0,32 µg/L) no 10º dia. Esses resultados sugerem que o uso de quitosana pode ter acelerado a degradação da toxina.

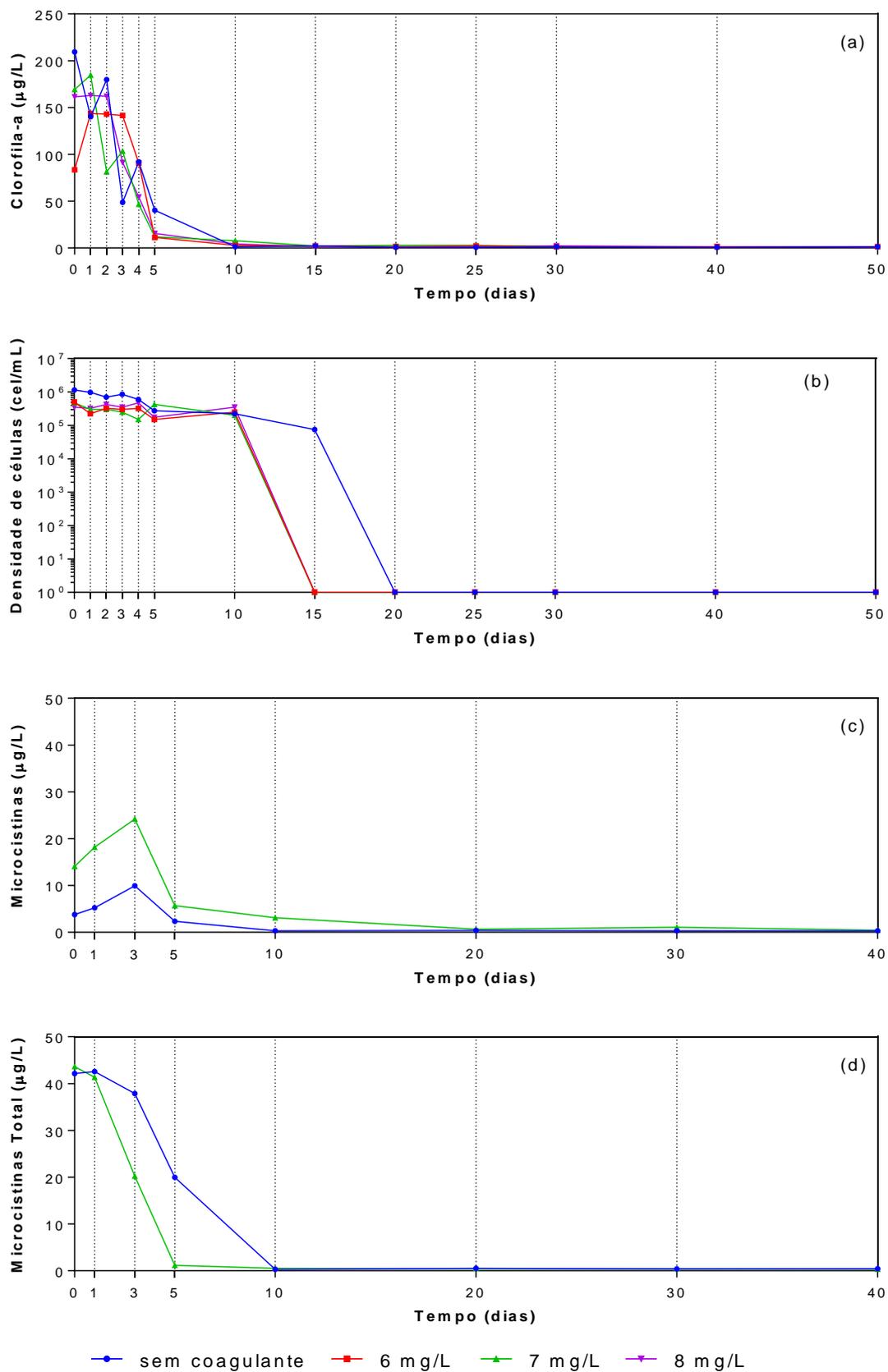


Figura 5.7 - Concentração de clorofila-a (a), densidade de células (b), concentração de cilindrospemopsinas dissolvidas (c) e concentração de cilindrospemopsinas total (d) para *M. aeruginosa* ao longo do período de armazenamento do lodo, usando quitosana como coagulante.

Avaliando o valor da concentração de toxina total no 3º dia para a amostra com coagulante, entende-se que esse resultado não é confiável, mesmo considerando-se o erro de $\pm 25\%$ inerente ao método analítico, uma vez que, comparando os resultados da microcistina extracelular, não tão elevado, e os valores ainda consideráveis de clorofila-*a* e densidade de células (toxina intracelular) no referido dia, entende-se que o valor da toxina total deveria ser maior, visto que o mesmo é resultado da soma da toxina extracelular e da toxina intracelular. Todavia, os resultados da concentração de toxina total para a amostra sem coagulante, tanto para o 3º dia quanto para os demais dias, estão coerentes quando se analisa comparativamente os resultados da microcistina extracelular e os resultados da concentração de clorofila-*a* e densidade de células.

Para avaliação da lise, liberação e degradação de toxinas da *M.aeruginosa*, utilizando o sulfato de alumínio como coagulante, nessa segunda etapa experimental, escolheu-se com base nos diagramas de coagulação do item 5.1.2, o pH 5,5, verificado como pH ótimo de remoção de células de *M. aeruginosa*. As dosagens de sulfato de alumínio escolhidas, também com base nos diagramas e em testes posteriores para confirmação dos resultados obtidos nos diagramas foram: 6 mg/L; 12 mg/L e 18 mg/L. Na Tabela 5.10 estão expostas as características da água base e da água de estudo (AE2), utilizadas nos ensaios para armazenamento do lodo com *M. aeruginosa* e utilizando o sulfato de alumínio como coagulante.

Tabela 5-10 - caracterização da água de estudo anteriormente e posteriormente à adição de células de *M.aeruginosa*, usando sulfato de alumínio (experimento 2).

Parâmetros	Água do lago	Água de Estudo 1 (AE1)
pH	6,96	7,36
Turbidez (uT)	7,55	18,36
Cor Aparente (uH)	44	141
Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g/L}$)	5,66	145,84
Densidade de células (cel/mL)	NM	$1,27 \times 10^6$
Alcalinidade ($\text{mg CaCO}_3/\text{L}$)	28	29
Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	97,9	111,4

*NM - não medido

Nas Figuras 5.8 (a), (b), (c) e (d) estão apresentados os resultados obtidos para concentração de clorofila-*a*, densidade de células, micocistinas extracelular e micocistinas total,

respectivamente.

A partir da Figura 5.8 (a), observa-se para todas as amostras, que a concentração de clorofila-*a* começa a decrescer a partir do 3º dia de armazenamento do lodo, sendo que no 10º dia, constata-se decaimento de 94% em relação à concentração inicial para a amostra sem coagulante. Para as amostras em que foram utilizadas as dosagens de 12 e 6 mg/L de sulfato de alumínio, o decaimento foi de 92 e 95%, respectivamente, no 15º dia. Já a amostra em que se utilizou a superdosagem de sulfato de alumínio (18 mg/L) só apresentou decaimento praticamente completo no 25º dia, o que demonstra uma certa influência do coagulante na preservação da célula ou retardamento da lise celular, à medida que a dosagem aumenta.

Avaliando a Figura 5.8 (b) observa-se um perfil de decaimento celular que prolonga-se até o 25º dia, quando não mais foram detectadas células pelo método de análise. Para amostra sem coagulante, o decaimento da densidade celular é quase completo no 30º dia.

Com relação à lise celular e consequente liberação de toxina intracelular para o meio, observa-se para as amostras com coagulante e sem coagulante, que até o 3º dia, a liberação de microcistinas é muito baixa, o que coincide, relativamente com os resultados obtidos para clorofila-*a* e densidade de células que não apresentaram significativo decaimento celular nesse período. Adicionalmente, constata-se por meio das concentrações de microcistinas total, que toda toxina, praticamente se encontra na forma intracelular, uma vez que os valores observados mantêm-se praticamente constantes no referido período.

Contudo, uma vez que começa a ocorrer a lise celular, a partir do 3º dia, observada também pelo decaimento celular nas Figuras 5.8 (a) e (b), percebe-se para as amostras sem coagulante, baixos níveis da concentração de microcistina extracelular e uma redução marcada da toxina total. A partir desse comportamento, infere-se a ocorrência simultânea de liberação e a degradação da toxina, com um favorecimento da cinética de degradação entre o 3º e 10º dia.

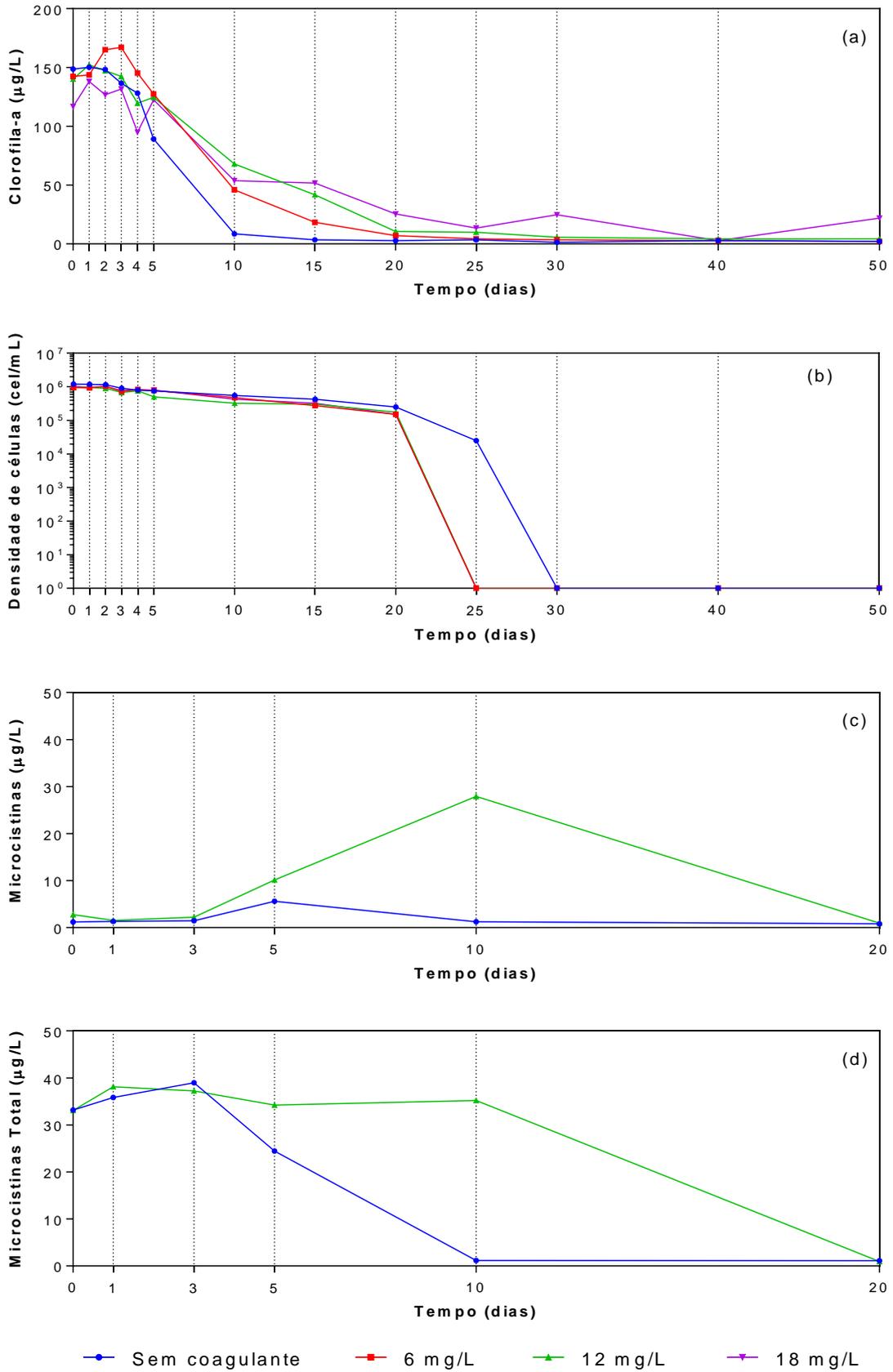


Figura 5.8 - Concentração de clorofila-a (a), densidade de células (b), concentração de cilindrospemopsinas dissolvidas (c) e concentração de cilindrospemopsinas total (d) para *M. aeruginosa* ao longo do período de armazenamento do lodo, usando sulfato de alumínio.

Ao contrário do que foi constatado para as amostras sem coagulante, as amostras com coagulante, apresentaram a partir do 3º dia, liberação gradual da toxina intracelular, o que condiz com os resultados obtidos para clorofila-*a*, com liberação máxima de toxina no 10º dia, quando se verifica considerável decaimento de clorofila-*a* da amostra na qual foi empregada 12 mg/L de sulfato de alumínio. Nesse caso, não parece ter havido retardamento apreciável na lise celular das amostras com coagulante em comparação com as amostras sem coagulante, entretanto, o sulfato de alumínio parece ter influenciado na estabilidade da toxina, impedindo a sua degradação, dadas as diferenças na concentração de microcistinas dissolvidas entre as amostras com e sem coagulante entre o 3º e o 10º dia de armazenamento. As concentrações aproximadamente constantes de microcistinas totais para a amostra com coagulante até o 10º dia de armazenamento comprovam a não degradação da toxina até o referido dia, quando a partir de então começa a acontecer.

Essa evidência de persistência da toxina no lodo obtido após o processo de coagulação quando da presença do sulfato de alumínio foi também verificada no trabalho de Ho *et al.* (2013). Ao estudarem, em escala de bancada, a liberação e degradação de toxinas da *M. aeruginosa* produtora das variantes LR, LA e RR cultivada em laboratório e diluída na ordem de 3×10^5 células/mL na água do reservatório Myponga com histórico de florações de *A. circinalis*, os autores observaram liberação gradual das variantes de microcistinas nos 14 dias de armazenamento, sem nenhuma evidência de degradação dessas toxinas no período.

Estabelecendo uma relação dos resultados obtidos no presente trabalho com os resultados encontrados por Ermel (2009), que também avaliou a lise celular de *M. aeruginosa* (mesma cepa do presente trabalho), liberação e degradação de microcistinas com armazenamento do lodo, utilizando o sulfato de alumínio como coagulante, observa-se apreciáveis diferenças no comportamento de liberação e degradação das microcistinas para as amostras com e sem coagulante. A autora verificou em pH 5,5, mesmo pH de coagulação desse ensaio, e dosagens de sulfato de alumínio de 5, 12 e 21 mg/L, ao analisar conjuntamente os dados de microcistinas extracelulares e totais, que do dia 0 ao dia 5, praticamente todas as células foram lisadas, e a partir de então, predominou-se o processo de degradação das microcistinas, sendo que em 15 dias, as amostras com coagulante e sem coagulante foram quase 100% degradadas.

Os resultados obtidos por Drikas *et al.* (2001), em escala piloto, após a avaliação a lise celular da *M. aeruginosa* no decantador, utilizando o sulfato de alumínio como coagulante (70 mg/L de alumínio) também mostraram-se bastantes discrepantes dos resultados obtidos no presente trabalho quanto ao comportamento de liberação e degradação das microcistinas. Quanto à concentração de microcistinas extracelulares, Drikas *et al.* (2001) obteve crescimento brusco da mesma até o 2º dia, quando a concentração extracelular equiparou-se à concentração total de microcistinas, indicando a lise celular nos dois primeiros dias do armazenamento. A partir do 5º dia, começa a ocorrer o processo de degradação das microcistinas, tendo em vista que, a partir desse dia, tanto a concentração de microcistinas extracelular quanto de microcistinas total começaram a decrescer, chegando a aproximadamente zero no 13º dia. O decaimento celular, tal como no presente trabalho, iniciou-se a partir do 2º dia de armazenamento, chegando a aproximadamente 0 no 13º dia. A cepa utilizada por Drikas *et al.* (2001) foi a MIC 338, produtora de microcistina-LR, diferentemente da cepa utilizada nesse trabalho, NPLJ4.

6 - CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Os resultados obtidos nesse trabalho para remoção de células de *M. aeruginosa* e *C. raciborskii*, adquiridos por meio dos parâmetros clorofila-*a*, turbidez, cor aparente e UV-254 nm e apresentados mediante diagramas de coagulação, apontaram que o uso de diferentes tipos de coagulantes produziu efeitos distintos, em termos de eficiência de remoção de células e regiões ótimas de coagulação para ambas as espécies de cianobactérias estudadas.

Os diagramas de coagulação indicaram que a quitosana de baixa massa molecular, nas condições de pH e dosagem avaliadas, foi tão efetiva quanto o sulfato de alumínio para remoção de células da *C. raciborskii*. Ambos coagulantes apresentaram em termos percentuais e residuais, resultados semelhantes quanto aos parâmetros turbidez e cor aparente, numa ampla faixa de pH e dosagem de coagulante. Percentuais de remoção de células acima de 80% obtidos com ambos os coagulantes resultaram em remanescentes de turbidez abaixo dos limites recomendados pela literatura após o processo de sedimentação, (5,00 uT por Di Bernardo e Paz (2008) e 2,00 uT por Kawamura (2000)), e remanescentes de cor aparente correspondentes ao padrão de potabilidade estabelecido pela Portaria MS nº 2914/11.

No que concerne à remoção de matéria orgânica dissolvida, nas águas de estudo inoculadas com *C. raciborskii*, o uso do sulfato de alumínio promoveu em um intervalo de pH mais baixo (entre 5,00 e 6,00) e dosagens de coagulante acima de 8 mg/L, maiores eficiência de remoção de UV-254 nm (entre 59 e 75%) do que a quitosana, que apresentou remoções entre 30 e 51% no intervalo de pH entre 6,00 e 7,00 e dosagens entre 1 e 7 mg/L.

Quanto à eficiência de remoção de *M. aeruginosa*, os diagramas de coagulação indicaram que a quitosana apresentou em termos percentuais e residuais, eficiências de remoções de turbidez, cor aparente e clorofila-*a* insatisfatórias quando comparada com o sulfato de alumínio. A região mais consistente de remoção de células (71%) obtida com o uso da quitosana foi bastante restrita ao pH 7,0 e dosagens acima de 1 mg/L, enquanto que o sulfato de alumínio teve desempenho satisfatório em um intervalo de pH mais abrangente (entre 5,00 e 6,00) e dosagens acima de 8 mg/L, com remoções acima de 90%, percentual que correspondeu a residuais de clorofila-*a*, turbidez e cor aparente bem menores dos que os

residuais obtidos com o uso da quitosana.

Com relação às eficiências de remoção de matéria orgânica dissolvida na água inoculada com *M. aeruginosa*, notou-se a eficiências de remoção desse parâmetro bastante próximas para dos dois coagulantes, entre 35 e 60% para a quitosana e entre 40 e 60% para o sulfato de alumínio. Entretanto a região de pH e dosagem em que foram obtidos tais percentuais de remoção com sulfato de alumínio foi mais abrangente (pH entre 5,00 e 6,00 e dosagens acima de 12 mg/L) do que a da quitosana (pH 5,00 e dosagens entre 1 e 9 mg/L).

Com base nos resultados obtidos a partir do armazenamento ao longo de um período de 50 dias, após o processo de coagulação/floculação/sedimentação verificou-se que o tipo de coagulante parece influenciar no tempo de lise celular, liberação e degradação de toxinas, porém, nesse trabalho, essa influência esteve associada à espécie de cianobactéria e às toxinas avaliadas.

Os resultados de clorofila-*a* e densidade de células, após o armazenamento do lodo mostraram 99% de decaimento das células de *C. raciborskii* no 10º dia para as amostras coaguladas com e sem quitosana, dia em que foi verificada também, à máxima concentração de toxina extracelular. A lise celular foi acompanhada da liberação gradual de cilindrospermopsinas extracelular até o 10º dia, após o qual manteve-se constante até 40º dia de armazenamento, indicando que, uma vez liberadas na água clarificada, as cilindrospermopsinas não foram degradadas. A persistência da toxina foi confirmada a partir do comportamento da toxina total que se manteve constante ao longo dos 40 dias de armazenamento. Comportamento similar com relação à liberação e degradação de cilindrospermopsinas foi verificado no ensaio de armazenamento do lodo com a mesma cianobactéria, e utilizando o sulfato de alumínio como coagulante.

A liberação gradual de cilindrospermopsinas entre o dia 0 e o 10º dia de armazenamento do lodo observada tanto com o uso da quitosana quanto do sulfato de alumínio expõe a necessidade de remoção frequente do lodo proveniente de células de *C. raciborskii* após o processo de sedimentação, como forma de minimizar a liberação de cilindrospermopsinas contidas nas células para a água clarificada, porém, essa alternativa acarretaria problemas secundários, como geração de grande volume de lodo a ser tratado e mecanização das

estações de tratamento de água para retirada mais frequente desse lodo. Dessa forma, entende-se que o processo de sedimentação, mesmo sendo eficiente na remoção de células de *C. raciborskii*, torna-se inviável para o tratamento de água com a presença dessa cianobactéria, já que o manejo necessário do lodo para esse caso específico é praticamente inexecutável.

Com o uso do sulfato de alumínio verificou-se diferenças no decaimento de células de *C. raciborskii* com relação às amostras sem coagulante, de modo que a concentração de clorofila-*a* no 10º dia, para a amostra sem coagulante decaiu 95% com relação ao seu valor inicial, enquanto que as amostras com coagulante apresentaram decaimento entre 88 e 95%, apenas no 25º dia. Dessa forma, considerando-se os resultados obtidos para a clorofila-*a*, acreditou-se haver uma influência do coagulante sulfato de alumínio no retardamento da lise das células de *C. raciborskii*, todavia, não foi possível diferenciar o efeito das diferentes dosagens em tal comportamento.

Nos resultados obtidos para o ensaio de armazenamento do lodo em que se analisou a lise celular da *M. aeruginosa*, e conseqüente liberação e degradação de microcistinas, verificou-se consideráveis diferenças nos resultados obtidos com a quitosana e o sulfato de alumínio. Os resultados obtidos para microcistina extracelular e total evidenciaram que a quitosana pode ter acelerado o processo de degradação de microcistinas. Com o sulfato de alumínio, no entanto, pode-se destacar que o uso do mesmo parece ter influenciado na estabilidade das microcistinas na água clarificada por mais tempo, retardando a sua degradação.

A partir das conclusões obtidas no presente trabalho é possível delinear as seguintes recomendações para estudos futuros na mesma linha de pesquisa desse trabalho. A saber:

- Para as mesmas condições de pH e dosagem avaliadas nesse trabalho, verificar a eficiência de quitosanas com diferentes características de massa molecular e grau de desacetilação, além de maiores dosagens que as utilizadas no presente trabalho para remoção das células de *C. raciborskii* e *M. aeruginosa* por sedimentação.
- Avaliar a remoção de células de *C. raciborskii* e *M. aeruginosa*, após o processo de coagulação/floculação/sedimentação, com ênfase nas características das células,

especialmente, nas características da matéria orgânica associada a essas células.

- Avaliar a remoção de células de *C. raciborskii* e *M. aeruginosa*, após o processo de coagulação/floculação/sedimentação, variando os níveis de turbidez da suspensão de células das referidas cianobactérias, utilizando a quitosana como coagulante.
- Avaliar a influência de diferentes parâmetros de qualidade da água utilizadas como base para a diluição da cultura de cianobactérias, na eficiência de remoção de remoção desses organismos.
- Investigar a oxidação das cilindrospermopsinas pelo cloro nas doses aplicadas nos tanques de contato das estações de tratamento e os produtos da oxidação.
- Avaliar a adaptação dos processos de coagulação, floculação e sedimentação com carvão ativado pra remoção de células de *C. raciborskii* e *M. aeruginosa*, utilizando quitosana e sulfato de alumínio, e investigar como o carvão ativado pode interagir com o lodo na liberação de toxinas para a água clarificada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamski, M.; Chrapusta, E.; Bober, B.; Kaminski, A.; Bialczyk, J. (2014). “*Cylindrospermopsin: cyanobacterial secondary metabolite*”. Biological aspects and potential risk for human health and life. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, v. 43, n. 4, p. 442-449, 2014.
- Ahmad, A. L.; Sumathi, S.; Hameed, B. H.(2006). “*Coagulation of residue oil and suspended solid in palm oil mill effluent by chitosan, alum and PAC*”. *Chemical Engineering Journal* 118, 99-105.
- Apeldoorn, M. E.; Egmond, H. P.; Speijers, G. J.; Bakker, G. J. I.(2007). “*Toxins of cyanobacteria: Review*.” *Molecular Nutritional Food and Research*, vol. 51, 7-60.
- Arantes, C. (2004). “*Uso da filtração lenta para a remoção de Cylindrospermopsis raciborskii e saxitoxinas*.” Dissertação de Mestrado em Biologia Animal, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade de Brasília, DF, 109p.
- Arboleda, J. V. (1992). *Teoria y practica de la purificacion del agua*. Asociación Colombiana de Ingenieria Sanitaria y Ambiental – ACODAL, 684p.
- Assis, R. S. S. (2006). “*Remoção de Microcystis aeruginosa e Microcistinas por flotação por ar dissolvido – Estudo em escala de bancada utilizando sulfato de alumínio e cloreto férrico como coagulantes*.” Brasília: Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos; PTARH; Departamento de Engenharia Civil e Ambiental; Universidade de Brasília, UnB, 2006.
- Azevedo, S. M. F. O.; Carmichael, W. W.; Jochimsen, E. M.; Rinehart, K. L.; Lau, S.; Shaw, G. R.; Eaglesham, G. K.(2002). “*Human intoxication by microcystin during renal dialysis treatment in Caruaru-Brasil*”. *Toxicology*, v. 181, 441-446.
- Azevedo S. M. F. O.; Brandão C. C. S. (Eds). (2003). “*Cianobactérias tóxicas na água para consumo na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano*.” Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde - FUNASA, Brasília, 56 p.
- AWWA Staff (2003). *Problem Organisms in Water : Identification and Treatment* (M5) (3rd Ed.). Denver, CO, USA: American Water Works Association.
- AWWA Staff (2010). *Fontes de Água*. (4^a edição). Denver, CO, EUA: American Water Works Association.
- Bartram, J., Carmichael W. W., Chorus I., Jones G., Skulberg O. M. (1999). Introduction. In: Chorus, I. and Bartram, J., (eds.), *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, Monitorin and Management*. E&FN Spoon, Londres, 1-13.
- Banker R., Carmeli S., Hadas O., Teltsch B., Porat R. & Sukenik A. (1997). “*Identificação of cylindrospermopsin in Aphanizomenon ovalisporum isolated from Lake Kinneret, Israel*”. *J. Phycol.* 33(4), 613-616.
- Benjamin, M. M.; Lawler, D.F. (2013). *Water Quality Engineering : Physical/Chemical Treatment Processes*. Somerset, NJ, USA: John Wiley & Sons, 879p.
- Bolto, B.; Gregory, J. (2007). *Organic polyelectrolytes in water treatment*. *Water Res.*, 41, 2301–24.
- Brasil (2000). Portaria n.º 1469 de 29 de dezembro de 2000. Ministério da Saúde. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Brasília: Ministério da Saúde. *Diário Oficial da União*. 22 fev. 2001.
- Brasil (2004). Portaria n.º 518 de 25 de março de 2004. Ministério da Saúde. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências.

- Brasília: Ministério da Saúde. *Diário Oficial da União*. 25 mar. 2004.
- Brasil (2011). Ministério da Saúde. Portaria nº 2914: “Procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade” *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasil, DF, 12 de Dezembro de 2011.
- Brasil, C. P. (2004). “*Avaliação da Remoção de Microcistina em Água de Abastecimento Público por Diferentes Carvões Ativadas em Pó Produzidos no Brasil.*” Brasília: Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos; PTARH; Departamento de Engenharia Civil e Ambiental; Universidade de Brasília, UnB, 114p.
- Bratskaya, S.; Schwarz, S.; Chervonetsky, D. (2004). “*Comparative study of humic acids flocculation with chitosan hydrochloride and chitosan glutamate*”. *Water Research* 38, 2955-2961.
- Capelete, B. C. (2011). *Emprego da quitosana como coagulante no tratamento de água contendo Microcystis aeruginosa – avaliação de eficiência e formação de trihalometanos*. Dissertação de mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, publicação PTARH.DM 135/2011, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 127p.
- Carmichael, W. W. (2001). “*Health Effects of Toxin-Producing Cyanobacteria: —The CyanoHABs*”. *Human and Ecological Risk Assessment*, 7 (5), 1393-1407.
- Chen, L., Chen, D., Wu, C. (2003). *A new approach for the flocculation mechanism of chitosan*. *J. Polym. Environ.* 11 (3), 87–92.
- Chen, X., Yang, X., Yang, L., Xiao, B., Wu, X., Wang, J., Wan, H. (2010). “*An effective pathway for the removal of microcystin LR via anoxic biodegradation in lake sediments*”. *Water Res.* 44, 1884–1892.
- Chiswell, R.K.; Shaw, G.R.; Eaglesham, G.K.; Smith, M.J.; Norris, R.L.; Seawright, A.A.; Moore, M.R. (1999). “*Stability of cylindrospermopsin, the toxin from the cyanobacterium Cylindrospermopsis raciborskii, effect of pH, temperature, and sunlight on decomposition.*” *Environ. Toxicol.* 14(1), 155-165.
- Di Bernardo, A. S. (2004). *Desempenho dos sistemas de dupla filtração no tratamento de água com turbidez elevada*. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos-Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, p.301.
- Di Bernardo, L.; Dantas, A. D. B (2005). “*Métodos e técnicas de tratamento de água*”. São Carlos, Ed. RIMA.
- Di Bernardo, L.; e Paz, L. S. (2008). “*Seleção de Tecnologias de Tratamento de Água*” (Vol. I). São Carlos: LIDIBE LTDA.
- Dixon, M. B., Richard, Y.; Ho, L.; Chow, C.W.; O'Neill, B.K.; Newcombe, G. (2011). “*A coagulation–powdered activated carbon–ultrafiltration – Multiple barrier approach for removing toxins from two Australian cyanobacterial blooms.*” *Journal of Hazardous Materials*, v. 186, n. 2-3, 1553-1559.
- Drikas, M.; Chow, C.W. K.; House, J.; Burch, M. D. (2001). *Using coagulation, flocculation, and settling to remove toxic cyanobacteria*. *Journal American Water Works Association (AWWA)* 93 (2), 100-111.
- EPA - Environmental Protection Agency (2012). *Cyanobacteria and Cyanotoxins: Information for Drinking Water Systems*. Disponível em: < water.epa.gov/scitech/.../cyanobacteria_factsheet.pdf >. Acesso em: 26 de abril 2015.
- Ermel, A.V.B. (2010). *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 PTARH.DM

- 128/2009, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 118p.
- Falconer, I. R (2001). “*Toxic cyanobacterial bloom problems in Australian waters: risks and impacts on human health*”. *Phycologia*, 40(3), 228-233.
- Falconer, I. R; Hampage, A. R (2005). *Health Risk Assessment of Cyanobacterial (Blue-green Algal) Toxins in Drinking Water*. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, v. 2 (1), p. 43 – 50.
- Fan, J.; Hobson, P.; Ho, L.; Daly, R.; Brookes, J.(2014). “*The effects of various control and water treatment processes on the membrane integrity and toxin fate of cyanobacteria*”. *Journal of Hazardous materials* 264, 313-322.
- García, I. (2011). “*Removal of Natural Organic Matter to reduce the presence of Trihalomethanes in drinking water.*” Estocolmo: Tese de Doutorado; School of Chemical Science and Engineering; Royal Institute of Technology, 80 p.
- Gonsalves, A. A. et al (2011). *Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana*. *Quim. Nova*, vol. 34, Nº 7, 1215-1223.
- Guibal E, Roussy J. (2007) “*Coagulation and flocculation of dye-containing solutions using a biopolymer (chitosan)*”. *React Funct Polym*, vol.67:33–42.
- Henderson, R.K.; Parsons, S.A.; Jefferson, B. (2010). “*The impact of differing cell and algogenic organic matter (AOM) characteristics on the coagulation and flotation of algae*”. *Water Research*, v.44, 3617-3624.
- Harada, K. I.; Ohtani, I.; Iwamoto, K.; Suzuki, M.; Watanabe, M.F.; Watanabe, M.; Terao, K.(1994). “*Isolation of cylindrospermopsin from a cyanobacterium Umezakianatans and its screening method.*” *Toxicon*, v. 32, 143–150.
- Harada, K-I., Tsuji, K, Watanabe, M.F. (1996). “*Stability of microcystins from cyanobacteria - III. Effect of pH and temperature.*” *Phycologia*, 35(6), 83-88.
- Hawkins, P.R., Chandrasena, N.R., Jones, G.J., Humpage, A.R. and Falconer, I.R. (1997). “*Isolation and toxicity of Cylindrospermopsis raciborskii from an ornamental lake.*” *Toxicon*, 35(3), 341-346.
- Huang, C.; Chen, S.; Pan, J. R. “*Optimal condition for modification of chitosan: a biopolymer for coagulation of colloidal particles*”. *Wat. Res.* Vol. 34, nº 3, pp. 1057-1062, 2000.
- Ho, L.; Dreyfus, J.; Boyer, J.; Lowe, T.; Bustamante, H.; Duker, P.; Meli, T.; Newcombe, G. (2012a). “*Fate of cyanobacteria and their metabolites during water treatment sludge management processes*”. *Sci. Total Environ.* 424, 232–238.
- Ho, L.; Tang, T.; Monis, P. T.; Hoefel, D. (2012b). “*Biodegradation of multiple cyanobacterial metabolites in drinking water supplies*”. *Chemosphere* 87, 1149-1154.
- Ho, L.; Barbero, A.; Dreyfus, J.; Dixon, D. R.; Qian, F.; Scales, P. J.; Newcombe, G. (2013). “*Behavior of Cyanobacterial Bloom Material Following Coagulation and/or Sedimentation*”. *J. of Water Supply: Res. and Technol.-AQUA*, 62, 350–358.
- Jardim, F. A.; Azevedo, S.M.F.O. (2006). “*Cianobactérias em Águas para abastecimento público e o cumprimento da legislação brasileira.*” *Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia*, 35(3), 86-91.
- Jochimsen, E. M.; Carmichael, W. W.; An, J. S.; Cardo, D. M.; Cookson, S. T.; Holmes, C. E.; Antunes, M. B.; Melo Filho, D. A.; Lyra, T. M.; Barreto, V. S.; Azevedo, S. M.; Jarvis, W. R. (1998). “*Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil*”. *N. Engl. J. Med.* 338 (13), 873-878.
- Jones, G.J., 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 Res.* 28, 871–876.

- Kawamura, S. (2000). Design of Basic Treatment Process Units. In: Wiley, J. and Sons. (Eds.). “*Integrated Design and Operation of Water Treatment Facilities*”. 2ª Edição.
- Klitzke, S., Apelt, S.; Weiler, C.; Fastner, J.; Chorus, I. (2010). “*Retention and degradation of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in sediments e the role of sediment preconditioning and DOM composition*”. *Toxicon*, 55, 999-1007.
- Klitzke, S.; Fastner, J. (2012). “*Cylindrospermopsin degradation in sediments - The role of temperature, redox conditions, and dissolved organic carbon*.” *Water Research* 46, 1549 -1555.
- Kumar, M. N. V. R. et al. *Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives*. Chemical Reviews, 104, 6017–6084, 2004.
- Libânio, Marcelo (2005). *Fundamentos de qualidade e tratamento da água*. Campinas, SP, Átomo, 444 p.
- Li, R., Carmichael, W., Brittain, S., Eaglesham, G., Shaw, G.R., Mahakhant, A., Noparatnaraporn, N., Yongmanitchai, W., Kaya, K., Watanabe, M. (2001a). “*Isolation and identification of the cyanotoxin cylindrospermopsin and deoxy-cylindrospermopsin from a Thailand strain of Cylindrospermopsis raciborskii (Cyanobacteria)*”. *Toxicon* 39 (7), 973–980.
- Li R., Carmichael W.W., Brittain S., Eaglesham G.K., Shaw G.R., Liu Y. & Watanabe M.M. (2001b). “*First report of the cyanotoxins cylindrospermopsin and deoxycylindrospermopsin from Raphidiopsis curvata*”. *J. Phycol.* 37(6), 1121- 1126.
- Li, J., Jiao, S., Zhong, L., Pan, J., Ma, Q., (2013). *Optimizing coagulation and flocculation process for kaolinite suspension with chitosan*. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 428, 100-110.
- Matthiensen, A.; Yunes, J. S.; Codd G. A. (1999). “*Ocorrência, distribuição e toxicidade de cianobactérias no Estuário na Lagoa dos Patos, RS*”. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 59, n. 3, p. 361-376, 1999.
- Melo, A.E.S. (2006). “*Avaliação da Filtração Lenta na Remoção de Células de Cylindrospermopsis raciborskii e saxitoxinas*”. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARH.DM-98/06, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 197p.
- Mohamed, Z. A. e Alamri, S. A. (2012). “*Biodegradation of cylindrospermopsin toxin by microcystin-degrading bacteria isolated from cyanobacterial blooms*”. *Toxicon* 60, 1390-1395.
- Morais, A. A. (2012). “*Avaliação de técnicas convencionais de tratamento de água para consumo humano na remoção de cianobactérias e cianotoxinas e processos oxidativos para remoção de microcistinas*”. Tese (doutorado) em Engenharia Civil- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 159p.
- Moreira, C.; Azevedo, J.; Antunes, A.; Vasconcelos, V. (2012). “*Cylindrospermopsin: occurrence, methods of detection and toxicology*.” *Journal of Applied Microbiology*, v. 114, 605-620.
- Moreno, I.M.; Jos, Á., e Pichardo, S. (2012). “*Toxinas de cianofíceas*”. Espanha: Ediciones Díaz de Santos, 190 p.
- Mur, L.R., Skulberg M., Utkilen H. (1999). Cyanobacteria in the environment. In: Chorus, I. and Bartram, J., (eds.), *Toxic cyanobacteria in water. A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management*. E&FN Spon, Londres, 15-36.
- Oliveira, A. C. P. (2003). *Efeitos de fatores físicos, químicos e biológicos no processo de degradação e remoção de microcistinas*. Tese de Doutorado do Programa de Biotecnologia Vegetal da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 147p.

- Oliveira, J.M.B.(2005). *Remoção de *Cylindrospermopsis raciborskii* por Meio de Sedimentação e de Flotação: Avaliação em Escala de Bancada*. Dissertação de mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, publicação PTARH.DM 085/2005, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 122p.
- O'Melia, C. R. (1972). Coagulation and flocculation. In: Weber, W. J. (ed), *Physicochemical processes for water quality and control*. Wiley Interscience, New York, E.U.A., 61-109.
- Preußel K., Stüken A., Wiedner C., Chorus I. & Fastner J. (2006). "First report on *cylindrospermopsin* producing *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacteria) isolated from two German lakes". *Toxicon*. 47(2), 156-162.
- Renault, F. et al (2009). "Chitosan for coagulation/flocculation processes – An eco-friendly approach". *European Polymer Journal* 45, p. 1337-1348.
- Reque, P. T.(2015). "Avaliação da biodegradabilidade de lixiviado de aterro sanitário consorciado com esgoto doméstico em um sistema biológico de tratamento de efluentes". Dissertação de mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 152 p.
- Ratnayake, N.; Manatunge, J.; Hapuarachchi, D. P. (2012). "Dealing with Algal Toxins and Dissolved Organics in Drinking Water." *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste*, v. 16, 118-124.
- Rinaudo, M. (2006). *Chitin and chitosan: properties and applications*. *Progress in Polymer Science* 31, 603-632.
- Rizzo L., Di Gennaro A., Gallo M. e Belgiorno V. (2008). *Coagulation/chlorination of surface water: A comparison between chitosan and metal salts*. *Sep. Purif. Technol.*, 62, 79-85.
- Roussy, J.; Van Vooren, M.; Dempsey, B.A. e Guibal, E. (2005). "Influence of chitosan characteristics on coagulation and flocculation of bentonite suspensions". *Water Research*, 39, 3247-3258.
- 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 PTARH.DM-48/02, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, DF, 115p.
- Sano, D.; Ishifuji, S.; Sato, Y.; Imae, Y.; Takaara, T.; Masago, Y.; Omura, T.(2011). "Identification and characterization of coagulation inhibitor proteins derived from cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*". *Chemosphere*, v.82, 1096–1102.
- Sant'Anna, C. L.; Azevedo, M. T. P.; Werner, V. R.; Dogo, C. R.; Rios, F. R.; de Carvalho, L. R. (2008). "Review of toxic species of cyanobacteria in Brazil." *Algological Studies*, 126, 251-265.
- Seifert M., McGregor G., Eaglesham G., Wickramasinghe W. & Shaw G.R. (2007). "First evidence for the production of *cylindrospermopsin* and *deoxy-cylindrospermopsin* by the freshwater benthic cyanobacterium, *Lyngbya wollei*". *Harmful Algae*. 6(1), 73-80.
- Senogles, P.; Shaw, G.; Smith, M.; Norris, R.; Chiswell, R.; Mueller, J.; Sadler, R.; Eaglesham, G. (2000). "Degradation of the cyanobacterial toxin *cylindrospermopsin*, from *Cylindrospermopsis raciborskii*, by chlorination." *Toxicon*, 38, 1203-1213.
- Silvestre, A.N., Carvalho, P.V.V.B.C., Moura, E.B.A. e Oliveira, M.S. (1999). "Florações tóxicas em cianobactérias do gênero *Cylindrospermopsis* em mananciais de abastecimento público no estado de Pernambuco." 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, ABES, Rio de Janeiro, Brasil, 3794-3802.

- Sivonen, K.; Jones, G. (1999). "Cyanobacterial toxins". In: Chorus, I.; Bartran, J. *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management*. E & FN SPON, London, 55-124.
- 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". *Environmental toxicology* 23(3), 413-421.
- Song, H.; Reichwaldt, E. S.; Ghadouani, A. (2014). "Contribution of sediments in the removal of microcystin-LR from water." *Toxicon*, 83, 84–90.
- Strand, S.P., Vandvik, M.S., Vårårum, K.M., Østgaard, K., (2001). *Screening of chitosan and conditions for bacterial flocculation*. *Biomacromolecules* 2 (1), 126–133.
- Sun, F.; Hai-Yan, P.; Wen-Rong, H.; Chun-Xia, M (2012). *The lysis of Microcystis aeruginosa in AlCl₃ coagulation and sedimentation processes*. *Chemical Engineering Journal*, 196–202.
- Takaara, T.; Sano, D.; Masago, Y.; Omura, T.(2010). "Surface-retained organic matter of *Microcystis aeruginosa* inhibiting coagulation with polyaluminum chloride in drinking water treatment". *Water Research*, v. 44, 3781 - 3786.
- Teixeira, M. G. L. C.; Costa, M. C. N.; Carvalho, V. L. P.; Pereira, M. S.; Hage, E. (1993). "Epidemia de gastroenterite na área da barragem de Itaparica, Bahia". *Bol. of Sanit. Panam*, 114 (6), 502-512.
- Teixeira, M. R.; Rosa, M. J.(2006). "Comparing dissolved air flotation and conventional sedimentation to remove cyanobacterial cells of *Microcystis aeruginosa*: Part I: The key operating conditions". *Separation and Purification Technology*, v.52, ed.1, 84-94.
- Teixeira, M. R.; Rosa, M. J.(2007). "Comparing dissolved air flotation and conventional sedimentation to remove cyanobacterial cells of *Microcystis aeruginosa*: Part II: The effect of water background organics". *Separation and Purification Technology*, v.53, 126-134.
- Teixeira, M. R.; Rosa, M. J.(2010). "Investigating dissolved air flotation performance with cyanobacterial cells and filaments." *Water Research*, v. 44, n. 11, 3337-3344.
- Tsuji, K.; Watanuki, T.; Kondo, F.; Watanabe, M. F.; Suzuki, S.; Nakazawa, H.; Suzuki, M.; Uchida, J.; Harada, K.-I. (1995). "Stability of microcystins from cyanobacteria. II: Effect of UV light on decomposition and isomerization." *Toxicon.*, 33(12), 1619-1631.
- Walker, H. W. (2014). *Harmful Algae Blooms in Drinking Water: Removal of Cyanobacterial Cells and Toxins*. New York: CRC Press.
- Whitton, B. A.; Potts, M. (2002). Introduction to the Cyanobacteria. In: Whitton, B. A.; Potts, M. *The Ecology of Cyanobacteria - Their Diversity in Time and Space*. [S.l.]: Kluwer Academic Publishers, 2002. Cap. 1, p. 1-11.
- Wörmer, L., Cirés, S., Carrasco, D.; Quesada, A. (2008). "Cylindrospermopsin is not degraded by co-occurring natural bacterial communities during a 40-day study." *Harmful Algae*. 7(2), 206-213.
- Wörmer, L., Huerta-Fontela, M., Cirés, S., Carrasco, D.; Quesada, A. (2010). "Natural photodegradation of the cyanobacterial toxins microcystin and cylindrospermopsin." *Environ. Sci. Technol.* 44(8), 3002-3007.
- Zamyadi, A.; Ellis, D.; Bolduc, A.; Dorner, S.; Sauvé, S.; Prévost, M.; Bastien, C. (2013). *Species-dependence of cyanobacteria removal efficiency by different drinking water treatment processes*. *Water Research* 47, 2689 - 2700.
- Zamyadi, A.; MacLeod, S.; Fan, Y.; McQuaid, N.; Dorner, S.; Sauvé, S.; Prévost, M. (2012a). *Toxic cyanobacterial breakthrough and accumulation in a drinking water plant: a monitoring and treatment challenge*. *Water Research* 46 (5), 1511-1523.

- Zamyadi, A.; Ho, L.; Newcombe, G.; Bustamante, H.; Prévost, M. (2012b). *Fate of toxic cyanobacterial cells and disinfection by-products formation after chlorination*. Water Research 46, 1524-1535.
- Zemmouria, H. et al. (2013). "Chitosan application for treatment of beni- amrane's water dam". Energy Procedia 36, 558-564.

APÊNDICES

APÊNDICE A: DIAGRAMAS DE COAGULAÇÃO – DUPLICATAS

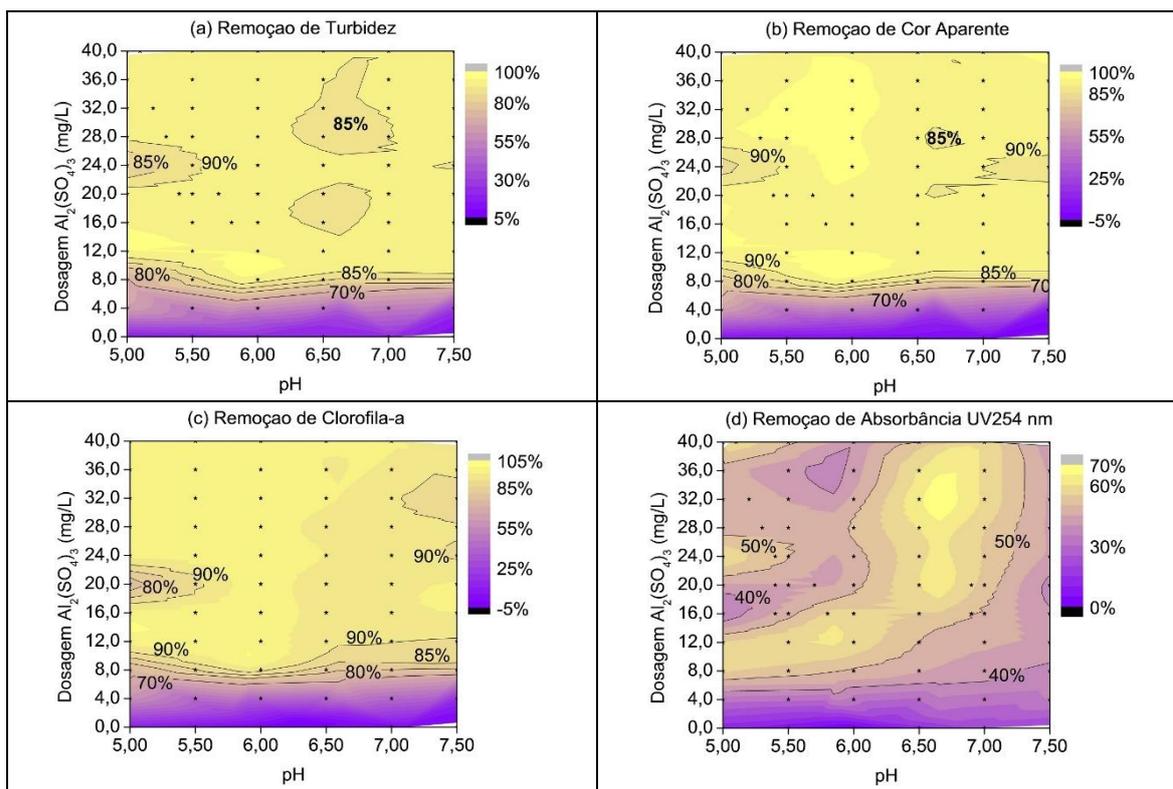


Figura A.1- Diagramas de coagulação do percentual de remoção de turbidez (a), cor aparente (b), clorofila-*a* (c), UV-254nm (d) na água inoculada com *C. raciborskii*, usando sulfato de alumínio (exp.1).

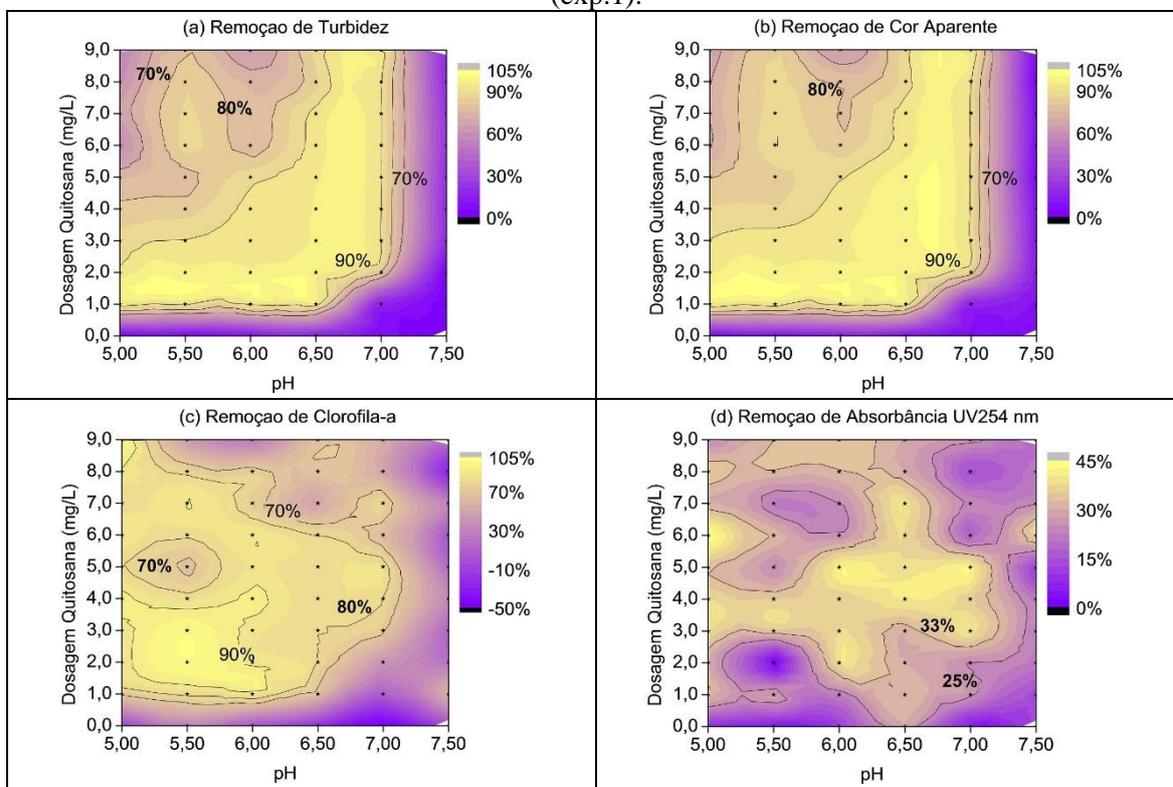


Figura A.2- Diagramas de coagulação do percentual de remoção de turbidez (a), cor aparente (b), clorofila-*a* (c), UV-254nm (d) na água inoculada com *C. raciborskii*, usando quitosana (exp.1).

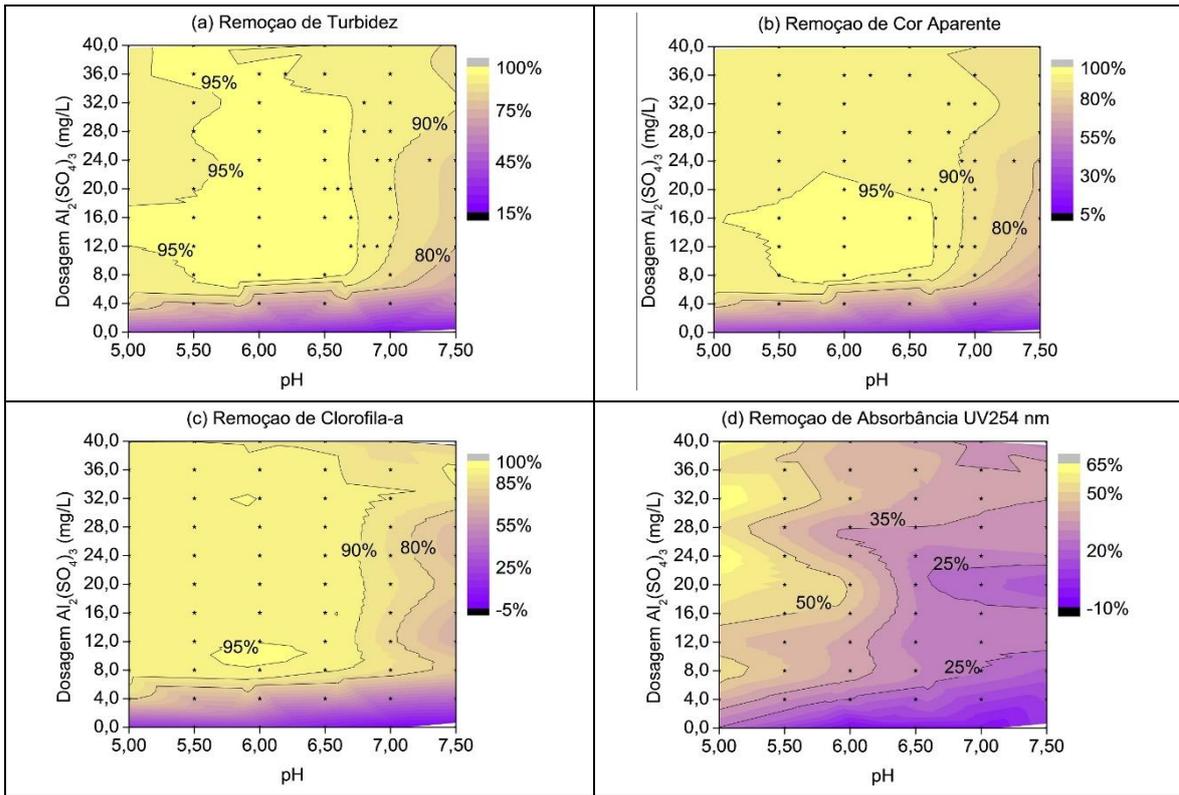


Figura A.3- Diagramas de coagulação do percentual de remoção de turbidez (a), cor aparente (b), clorofila-a (c), UV-254 (d) na água inoculada com *M. aeruginosa*, usando sulfato de alumínio (exp.2).

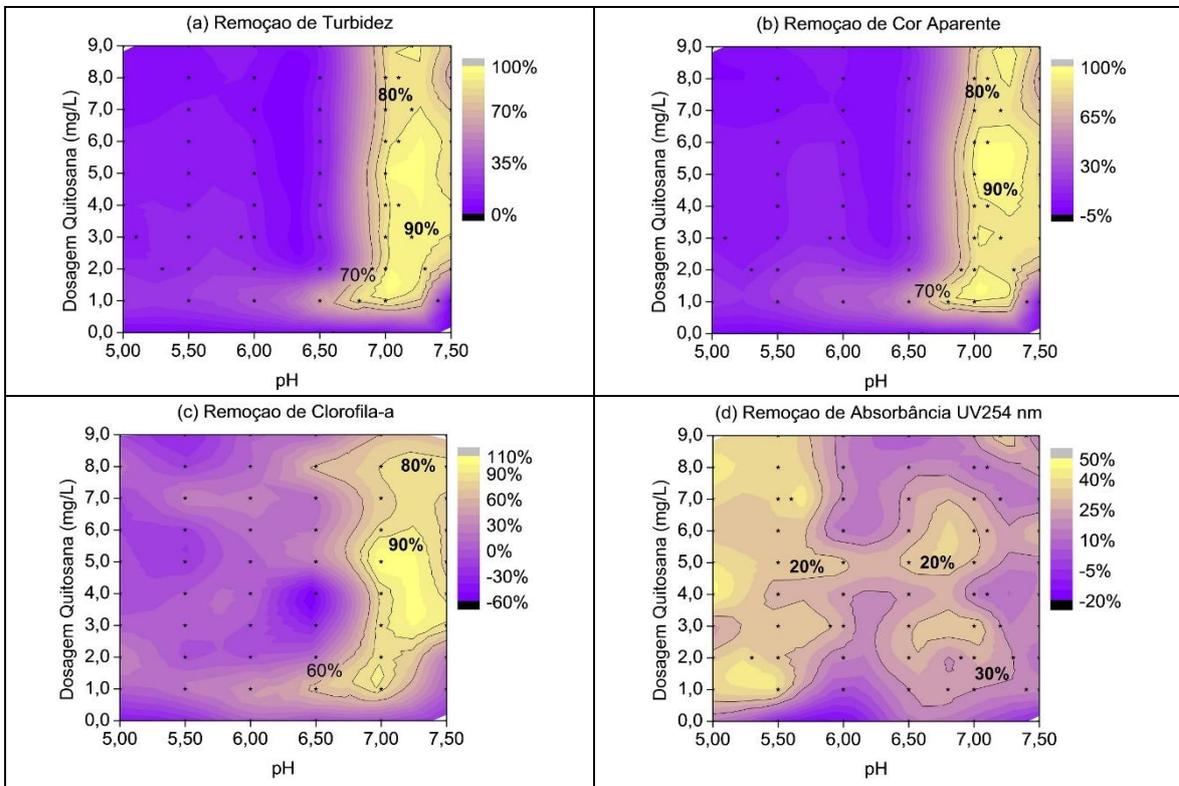


Figura A.4- Diagramas de coagulação do percentual de remoção de turbidez (a), cor aparente (b), clorofila-a (c), UV-254nm (d) na água inoculada com *M. aeruginosa*, usando quitosana (exp.1).

APÊNDICE B: GRÁFICOS DE CLOROFILA A E DENSIDADE DE CÉLULAS REFERENTES AO ARMAZENAMENTO DO LODO – DUPLICATAS

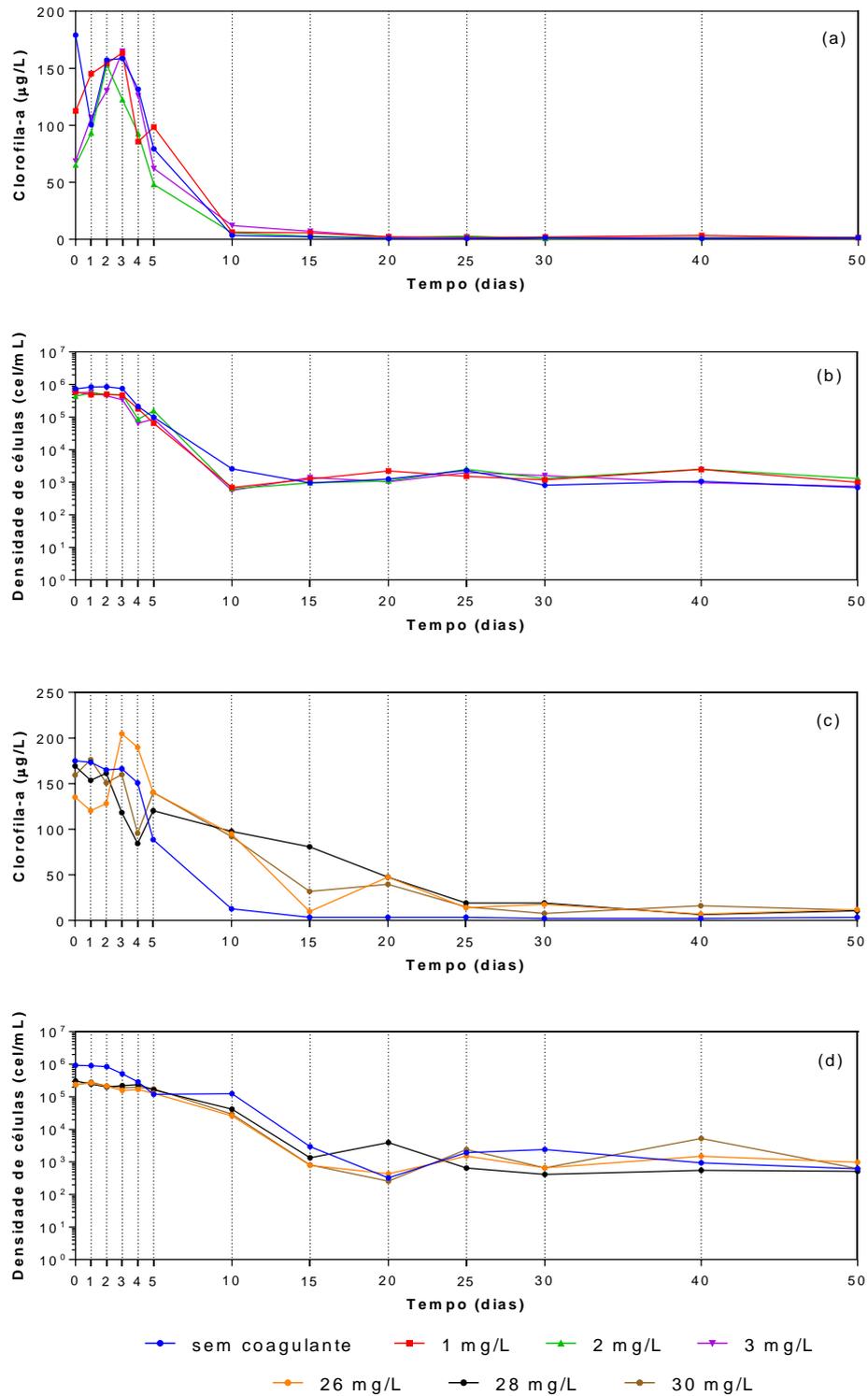


Figura B.1- Concentração de clorofila-a (a) e (c) e densidade de células (b) e (d) para *C. raciborskii* ao longo do período de armazenamento do lodo, usando quitosana (exp.2) e sulfato de alumínio (exp.1), respectivamente.

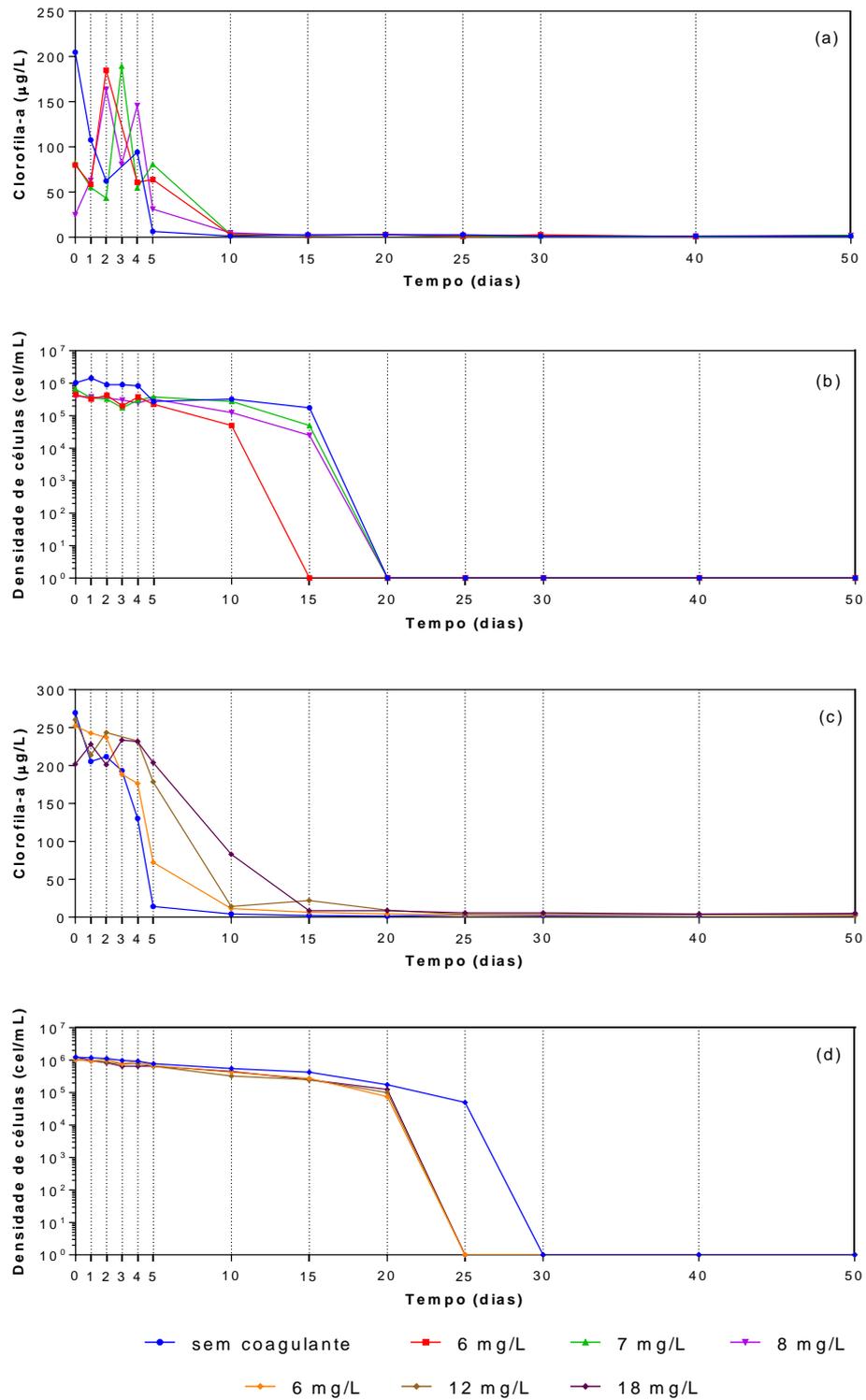


Figura B.2 - Concentração de clorofila-a (a) e (c) e densidade de células (b) e (d) para *M. aeruginosa* ao longo do período de armazenamento do lodo, usando quitosana (exp.1) e sulfato de alumínio (exp.1), respectivamente.

APÊNDICE C: FOTOS

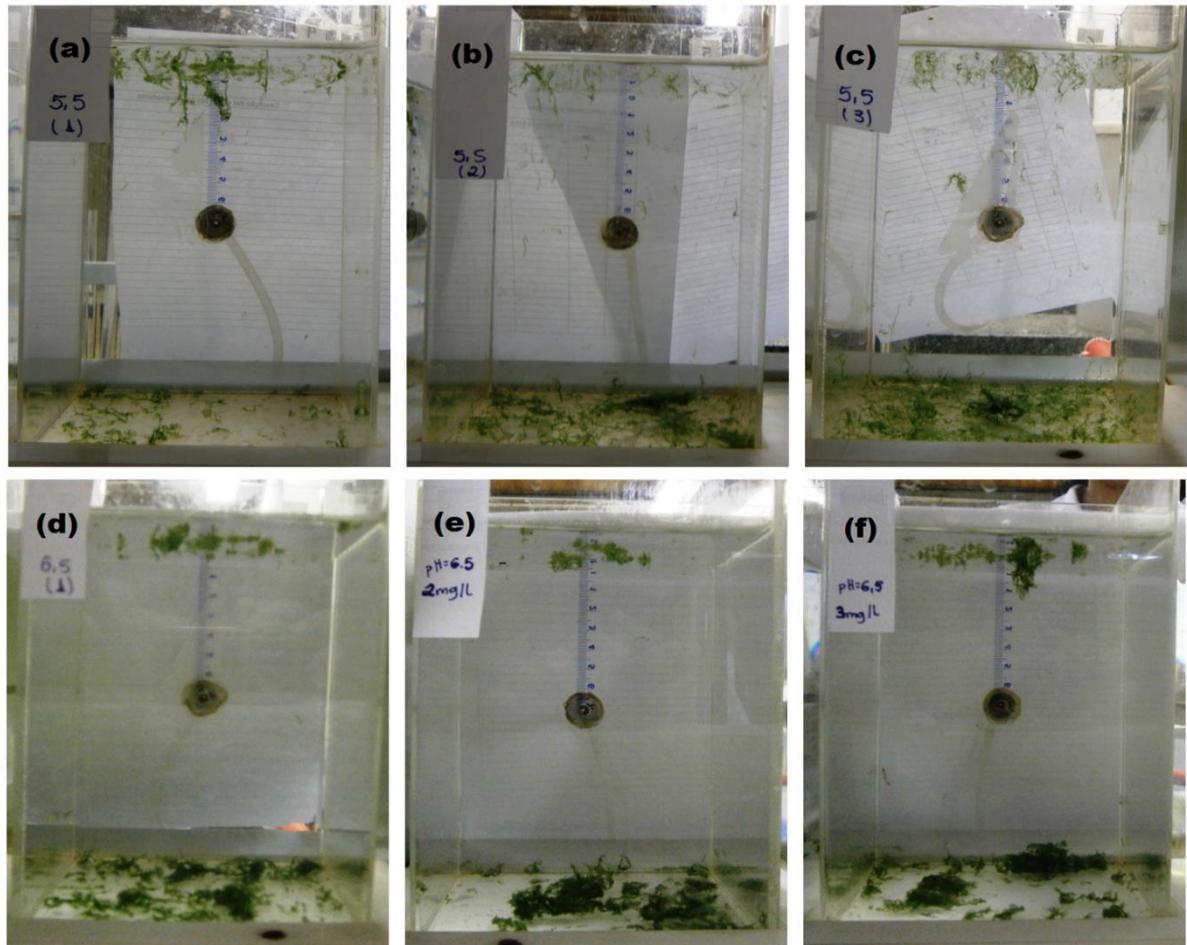


Figura C.1- Comportamento dos flocos produzidos com quitosana, considerando-se diferentes pH e dosagens: (a) pH 5,5 e 1 mg/l, (b) pH 5,5 e 2 mg/L, (c) pH 5,5 e 3 mg/L, (d) pH 6,5 e 1 mg/l, (e) pH 6,5 e 2 mg/L, (f) pH 6,5 e 3 mg/L.

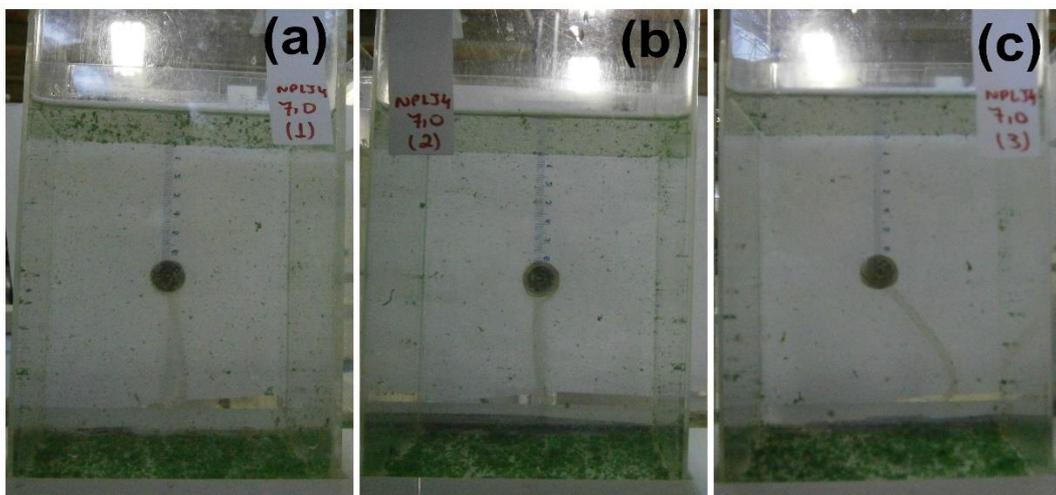


Figura C.2- Comportamento dos flocos produzidos com *M. aeruginosa* e quitosana em pH 7,0 e dosagens de 1, 2, e 3 mg/L.