

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

**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**

**AMANDA VARGAS BATISTA ERMEL**

**ORIENTADORA: CRISTINA CELIA SILVEIRA BRANDÃO**

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

**PUBLICAÇÃO: PTARH.DM 128/2009  
BRASÍLIA/DF: DEZEMBRO - 2009**

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

**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**

**AMANDA VARGAS BATISTA ERMEL**

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

**APROVADA POR:**

---

**Prof<sup>a</sup>. Cristina Celia Silveira Brandão, PhD (ENC/UnB)  
(Orientadora)**

---

**Prof. Marco Antonio Almeida de Souza, PhD (ENC/UnB)  
(Examinador Interno)**

---

**Prof<sup>a</sup>. Sandra Maria Feliciano de Oliveira e Azevedo, PhD (BIOF/UFRJ)  
(Examinadora Externa)**

**BRASÍLIA/DF: 05 DE JANEIRO DE 2010**

## FICHA CATALOGRÁFICA

ERMEL, AMANDA VARGAS BATISTA

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.

xiv, 118p., 210 x 297 mm (ENC/FT/UnB, Mestre, Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, 2010). Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília. Faculdade de Tecnologia.

Departamento de Engenharia Civil e Ambiental.

1. Sedimentação

2. *Microcystis aeruginosa*

3. *Cylindrospermopsis raciborskii*

4. Lise de Cianobactérias

I. ENC/FT/UnB

II. Título (série)

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

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.

## CESSÃO DE DIREITOS

AUTOR: Amanda Vargas Batista Ermel

TÍTULO: 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.

GRAU: Mestre

ANO: 2009

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 desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem autorização por escrito do autor.

---

Amanda Vargas Batista Ermel  
amandaermel@gmail.com

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por sempre me guiar, me abençoar, me inspirar.

Ao meu amor Diego, por estar sempre ao meu lado, por me fazer dar o melhor de mim, por acreditar nos meus sonhos, por me apoiar, por iluminar a minha vida e ser tão companheiro, amigo e incentivador.

Aos meus pais maravilhosos, Alcir e Sônia, que, com muita dedicação, me deram a melhor educação, mas principalmente, agradeço a eles pelo amor incondicional, por sempre me incentivar, por me ensinar a lutar pelos meus objetivos, por ser meu exemplo de caráter, de força, de determinação, enfim, não há palavras para agradecê-los por tudo que fizeram e fazem por mim.

À minha irmã Andressa, que perto ou longe, está sempre ao meu lado, agradeço pelo amor, pela sinceridade, pela amizade.

À minha orientadora professora Cristina, exemplo de dedicação, de amor pela pesquisa e pelo ensino, agradeço por todos os ensinamentos, críticas, correções, que me fizeram crescer e aprender muito.

Às minhas queridas amigas Marcely, Mel, e Day, por todos os momentos que compartilhamos, pela ajuda nas horas necessárias, enfim, por tudo! Ter a amizade de vocês fez toda a diferença.

Ao Rogério, Carol e Jaque, por me ensinarem a usar o HPLC, e me transmitirem seu conhecimento e experiência.

À Orlandina e Alessandra, que de um jeito especial me ajudaram e ensinaram.

À Marcilene, Roseli, Lilica, Boy e Júnior, pessoas incríveis, que ajudaram muito no meu trabalho. Obrigada por tudo.

## RESUMO

### 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 DE LODO NOS DECANTADORES

**Autor:** Amanda Vargas Batista Ermel

**Orientador:** Cristina Celia Silveira Brandão

**Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos**

**Brasília, Dezembro de 2009.**

As florações de cianobactérias tóxicas são objeto de grande preocupação sanitária, pois a presença de toxinas na água coloca em risco a saúde da população. Os estudos indicam que o tratamento convencional é capaz de remover eficientemente as células de cianobactérias, mas são pouco eficientes na remoção das cianotoxinas, necessitando de técnicas complementares para remoção dessa fração dissolvida. Nesse contexto, atenção especial deve ser dada ao lodo acumulado nos decantadores durante o tratamento convencional, em função da ocorrência da lise celular. Dessa forma, o presente trabalho avaliou, em escala de bancada, a lise de células *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* ao longo do tempo de armazenamento do lodo sedimentado. Foram avaliadas também a liberação e degradação de microcistinas e saxitoxinas, quando utilizados diferentes valores de pH de coagulação, e diferentes dosagens de sulfato de alumínio e cloreto férrico. Os diagramas de coagulação com *M. aeruginosa* mostraram que as maiores eficiências de remoção na sedimentação ocorreram em valores de pH de coagulação entre 5,0 e 5,5. Durante o armazenamento do lodo, decaimento acentuado de células ocorreu até o 10º dia, para os dois valores de pH de coagulação estudados, 5,5 e 7,0. A concentração máxima de microcistinas dissolvidas ocorreu após cinco dias de armazenamento do lodo e a degradação se completou em torno de 10 dias, dependendo da dosagem de coagulante utilizada e do pH de coagulação. Experimentos com *C. raciborskii* mostraram eficiências de remoção insatisfatórias após coagulação, floculação e sedimentação, com os dois coagulantes avaliados. A concentração de saxitoxinas extracelulares variou ao longo do tempo conforme o pH de coagulação e o tipo e dosagem de coagulante utilizado, apresentando maior persistência com valor de pH de 5,0 e 5,5 e dosagem elevada de coagulante. Os resultados enfatizam a importância que deve ser dada ao manejo do lodo do decantador, pois considerando as práticas atuais de descarte de lodo, o risco de liberação de cianotoxinas para a água clarificada é elevado. Dessa forma, faz-se necessário estabelecer uma maior frequência de remoção do lodo, diminuindo a concentração de microcistinas e/ou saxitoxinas na água clarificada.

**Palavras-chave:** Cianobactérias, *Microcystis aeruginosa*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, microcistinas, saxitoxinas, lodo de decantador, tratamento de água.

## ABSTRACT

### ANALYSIS OF *Microcystis aeruginosa* AND *Cylindrospermopsis raciborskii* CELL BREAKDOWN, RELEASE AND DEGRADATION OF CIANOTOXINS THROUGHOUT A SLUDGE STORAGE PERIOD IN SEDIMENTATION TANKS.

**Author: Amanda Vargas Batista Ermel**

**Supervisor: Cristina Celia Silveira Brandão**

**Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos**

**Brasília, December of 2009.**

Cyanobacteria toxic blooms are of concern since the presence of toxins in water poses a risk to human health. Studies indicate that conventional water treatment processes are able to remove cyanobacteria cells efficiently, but are inefficient in removing cyanotoxins, so that additional techniques are needed to remove this dissolved fraction. In this context, particular attention must be given to the accumulation of sludge in the sedimentation tanks sludge, during conventional treatment, because of cell lysis. Therefore, the present work evaluated, in bench scale using jar test, *Microcystis aeruginosa* and *Cylindrospermopsis raciborskii* cell breakdown during storage of the settled sludge. Microcystins and saxitoxins release and degradation have been evaluated using different coagulation pH values and different types and doses of coagulants. Coagulation diagrams with *M. aeruginosa* showed that the best removal efficiency occurred with coagulation pH values between 5,0 and 5,5. In the course of the sludge storage, a marked cells decay occurred until the 10<sup>th</sup> day for both pH values – 5,5, and 7,0. The highest concentration of dissolved microcystins occurred after five days of sludge storage, and the degradation was completed around 10 days, depending on the coagulant dose and pH value applied. Experiments with *C. raciborskii* showed poor removal efficiency after coagulation, flocculation and sedimentation, with both coagulants evaluated. Extracellular saxitoxins concentration varied with time according to the pH value and type and dose of coagulant applied. The persistence of these toxins was higher with the lower pH values and higher doses of coagulant. The results obtained in this work emphasize the attention that must be given to the proper manage of the sedimentation tank sludge. Considering the actual practices of sludge discharge, the risk of cyanotoxin release to the clarified water is high. Therefore, it is crucial to establish a higher frequency of sludge discharge, so that microcystins and saxitoxins concentration in the supernatant will be reduced.

**Keywords:** Cyanobacteria, *Microcystis aeruginosa*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, microcystin, saxitoxin, sedimentation tank sludge, water treatment.

## SUMÁRIO

<b>1 – INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 – OBJETIVOS .....</b>	<b>3</b>
<b>3 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
<b>3.1 – COAGULAÇÃO E SEDIMENTAÇÃO – CONCEITOS BÁSICOS .....</b>	<b>4</b>
<b>3.2 – CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS .....</b>	<b>13</b>
<b>3.2.1 – Hepatotoxinas .....</b>	<b>15</b>
<b>3.2.2 Neurotoxinas .....</b>	<b>18</b>
<b>3.3 – DEGRADAÇÃO DE CIANOTOXINAS .....</b>	<b>23</b>
<b>3.4 – TRANSFORMAÇÕES DE SAXITOXINAS .....</b>	<b>28</b>
<b>3.5 – APLICAÇÃO DA COAGULAÇÃO E SEDIMENTAÇÃO NA REMOÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS.....</b>	<b>31</b>
<b>3.5.1 Mecanismos de coagulação atuantes na remoção de algas e cianobactérias .....</b>	<b>32</b>
<b>3.5.2 – Remoção de cianobactérias.....</b>	<b>35</b>
<b>3.5.3 – Remoção de cianotoxinas .....</b>	<b>40</b>
<b>3.6 – LISE CELULAR NO DECANTADOR.....</b>	<b>42</b>
<b>3.7 – CONSIDERAÇÕES GERAIS .....</b>	<b>46</b>
<b>4 – METODOLOGIA.....</b>	<b>49</b>
<b>4.1 – ÁGUA DE ESTUDO .....</b>	<b>49</b>
<b>4.2 – ENSAIOS DE COAGULAÇÃO, FLOCULAÇÃO, SEDIMENTAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE LODO .....</b>	<b>50</b>
<b>4.2.1 – Fase 1: Construção de diagramas de coagulação .....</b>	<b>51</b>
<b>4.2.2 – Fase 2: Ensaio de coagulação, floculação e sedimentação, com armazenamento do lodo sedimentado .....</b>	<b>53</b>
<b>4.3 – MÉTODOS DE ANÁLISE .....</b>	<b>56</b>
<b>4.3.1 – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) .....</b>	<b>59</b>
<b>5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>61</b>
<b>5.1 – DIAGRAMAS DE COAGULAÇÃO .....</b>	<b>61</b>
<b>5.1.1 – Ensaio de coagulação, floculação e sedimentação com células de <i>Microcystis aeruginosa</i>, utilizando sulfato de alumínio como coagulante.....</b>	<b>61</b>

5.1.2 – Ensaio de coagulação, floculação e sedimentação com células de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , utilizando sulfato de alumínio como coagulante.....	65
5.1.3 – Ensaio de coagulação, floculação e sedimentação com células de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , utilizando cloreto férrico como coagulante.....	69
5.2 – LISE CELULAR, LIBERAÇÃO E DEGRADAÇÃO DE CIANOTOXINAS DURANTE ARMAZENAMENTO DO LODO NO DECANTADOR.....	72
5.2.1 – Experimentos com células de <i>Microcystis aeruginosa</i> e utilizando sulfato de alumínio como coagulante.....	72
5.2.2 – Experimentos com células de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> e utilizando sulfato de alumínio como coagulante.....	76
5.2.3 – Experimentos com células de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> e utilizando cloreto férrico como coagulante.....	85
6 – CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	93
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
APÊNDICES.....	110
APÊNDICE A: Diagramas de coagulação (Duplicatas).....	111
APÊNDICE B: Residuais de Ferro e Alumínio.....	115
APÊNDICE C: Equivalentes de STX extracelular.....	117

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Tipos de fenômeno de sedimentação.....	11
Tabela 3.2 – Bactérias isoladas que degradam microcistina (Edwards e Lawton, 2009)....	25
Tabela 4.1 – Métodos e equipamentos utilizados na avaliação dos parâmetros de qualidade de água. ....	57
Tabela 4.2 – Condições de operação adotadas para análise de saxitoxinas STX, neoSTX e dcSTX por CLAE-DFL (Oshima, 1995).....	59
Tabela 5.1 – Caracterização da água bruta e água de estudo utilizadas na realização do diagrama de coagulação com células de <i>Microcystis aeruginosa</i> utilizando sulfato de alumínio como coagulante.....	62
Tabela 5.2 – Correlação entre remoção de clorofila-a, remoção de células, e remoção de turbidez ( $\alpha = 5\%$ ). ....	64
Tabela 5.3 – Caracterização da água bruta e água de estudo utilizadas na realização do diagrama de coagulação com células de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> utilizando sulfato de alumínio como coagulante.....	66
Tabela 5.4 – Caracterização da água bruta e água de estudo utilizadas na realização do diagrama de coagulação com células de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> utilizando cloreto férrico como coagulante.....	69
Tabela 5.5 – Caracterização da água bruta e água de estudo utilizadas na realização do ensaio para armazenamento do lodo, com células de <i>Microcystis aeruginosa</i> utilizando sulfato de alumínio como coagulante.....	73
Tabela 5.6 – Caracterização da água bruta e água de estudo utilizadas na realização do ensaio para armazenamento do lodo, com células de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> utilizando sulfato de alumínio como coagulante.....	77
Tabela 5.7 – Caracterização da água bruta e água de estudo utilizadas na realização do ensaio para armazenamento do lodo, com células de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> utilizando cloreto férrico como coagulante. ....	85

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Diagrama de coagulação do alumínio, proposto por Amirtharajah e Mills (1982), e sua relação com o potencial zeta (Amirtharajah e O'Melia, 1990). .....	9
Figura 3.2 – Estrutura química do heptapeptídeo microcistina. X e Z são dois aminoácidos variáveis. A nodularina é um pentapeptídeo contendo aminoácidos similares aos das microcistinas (Yuan e Carmichael, 2004). .....	16
Figura 3.3 – Estrutura química da cilindrospermopsina (Edwards e Lawton, 2009) .....	17
Figura 3.4 – Estrutura química da anatoxina-a (R=CH <sub>3</sub> ) e homoanatoxina-a (R=CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) (a) e anatoxina-a(s) (b) (Edward e Lawton, 2009; Sivonen e Jones, 1999). .....	19
Figura 3.5 – Estrutura de algumas saxitoxinas. A toxicidade relativa indica a toxicidade em relação ao análogo mais tóxico da saxitoxina (STX) (Nicholson e Burch, 2001). .....	20
Figura 3.6 – Concentração de células de <i>M. aeruginosa</i> no lodo sedimentado (Drikas <i>et al.</i> , 2001). .....	42
Figura 3.7 – Concentração de microcistina-LR extracelular e total no lodo sedimentado (Drikas <i>et al.</i> , 2001). .....	42
Figura 3.8 – Concentração de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo para valor de pH de coagulação igual a 6,0 (Oliveira, 2005). .....	43
Figura 3.9 – Concentração de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo para valor de pH de coagulação igual a 7,0 (Oliveira, 2005). .....	44
Figura 3.10 – Concentração de toxinas ao longo do período de armazenamento do lodo, para valor de pH de coagulação igual a 6,0. (a) sem coagulante; (b) d = 14 mg/L; (c) d = 16 mg/L; (d) d = 23 mg/L (Oliveira, 2005). .....	44
Figura 3.11 – Concentração de toxinas ao longo do período de armazenamento do lodo, para valor de pH de coagulação igual a 7,0. (a) sem coagulante; (b) d = 14 mg/L; (c) d = 16 mg/L; (d) d = 23 mg/L (Oliveira, 2005). .....	45
Figura 3.12 – <i>Microcystis aeruginosa</i> amostrada do Lago de Manso - Mato Grosso - Brasil (Messias, 2009). .....	47
Figura 3.13 – Filamentos de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (cepa T3) da cultura do Laboratório de Análise de Águas (LAA – UnB – Brasília). .....	47
Figura 4.1 – Ensaio de sedimentação com células de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> utilizando o teste de jarros. .....	52

Figura 4.2 – Fluxograma de desenvolvimento dos ensaios da fase experimental 1, com água de estudo contendo, separadamente, as cianobactérias <i>Microcystis aeruginosa</i> e <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , em concentrações de $10^6$ cel/mL. ....	53
Figura 4.3 – Fluxograma de análise da lise celular no lodo sedimentado, liberação e degradação de cianotoxinas em diferentes valores de pH, para cada tipo e dosagem de coagulante. ....	55
Figura 4.4 – Esquema de funcionamento do teste ELISA ( <i>kit</i> da Envirologix®) para detecção e quantificação de microcistina (Adaptado de Melo, 2006). ....	58
Figura 5.1 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de turbidez, com água de estudo contendo $4,10 \times 10^5$ células/mL de <i>Microcystis aeruginosa</i> , utilizando sulfato de alumínio como coagulante. Turbidez inicial: 23 UT.....	62
Figura 5.2 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de clorofila-a com água de estudo contendo $4,10 \times 10^5$ células/mL de <i>Microcystis aeruginosa</i> , utilizando sulfato de alumínio como coagulante. Clorofila inicial: 190 µg/L. ....	63
Figura 5.3– Diagrama de coagulação em termos de remoção de células com água de estudo contendo $4,10 \times 10^5$ células/mL de <i>Microcystis aeruginosa</i> , utilizando sulfato de alumínio como coagulante. ....	63
Figura 5.4 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de turbidez, com água de estudo contendo $3,7 \times 10^6$ células/mL de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , utilizando sulfato de alumínio como coagulante. Turbidez inicial: 15 UT.....	66
Figura 5.5 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de clorofila-a, com água de estudo contendo $3,7 \times 10^6$ células/mL de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , utilizando sulfato de alumínio como coagulante. Clorofila inicial: 269,28 µg/L. ....	67
Figura 5.6 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de células com água de estudo contendo $3,7 \times 10^6$ células/mL de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , utilizando sulfato de alumínio como coagulante.....	68
Figura 5.7 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de turbidez, com água de estudo contendo $1,1 \times 10^6$ células/mL de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , utilizando cloreto férrico como coagulante. Turbidez inicial: 17 UT.....	70
Figura 5.8 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de clorofila-a, com água de estudo contendo $1,1 \times 10^6$ células/mL de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , utilizando cloreto férrico como coagulante. Clorofila inicial: 222,64 µg/L. ....	70

Figura 5.9 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de células, com água de estudo contendo $1,1 \times 10^6$ células/mL de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , utilizando cloreto férrico como coagulante.....	71
Figura 5.10 – Concentração de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b). ....	73
Figura 5.11 – Densidade de células ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b). ....	73
Figura 5.12 – 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). ....	74
Figura 5.13 – Concentração de microcistina total ao longo do período de armazenamento do lodo para os dois valores de pH de coagulação estudados, sem coagulante e com dosagem de 2,05 mg Al/L (dosagem ótima). ....	75
Figura 5.14 – Concentração de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b). ....	78
Figura 5.15 – Densidade de células ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b). ....	78
Figura 5.16 – Curvas de calibração para neosaxitoxina (neoSTX) (a), decarbamoilsaxitoxina (dcSTX) (b) e saxitoxina (STX) (c). ....	79
Figura 5.17 – Concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 5,5. (a) Sem coagulante. (b) 0,79 mg Al/L. (c) 1,90 mg Al/L. (d) 4,58 mg Al/L. ....	79
Figura 5.18 – Somatório da concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 5,5. ....	80
Figura 5.19 – Concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 7,0. (a) Sem coagulante. (b) 0,79 mg Al/L. (c) 1,90 mg Al/L. (d) 4,58 mg Al/L. ....	81
Figura 5.20 – Somatório da concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 7,0. ....	81

Figura 5.21 – Concentração de saxitoxinas totais ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 5,5. (a) Sem coagulante. (b) 0,79 mg Al/L. (c) 1,90 mg Al/L. (d) 4,58 mg Al/L. ....	83
Figura 5.22 – Concentração de saxitoxinas totais ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 7,0. (a) Sem coagulante. (b) 0,79 mg Al/L. (c) 1,90 mg Al/L. (d) 4,58 mg Al/L. ....	84
Figura 5.23 – Concentração de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a: 5,0 (a); 6,5 (b); e 7,5 (c). ....	86
Figura 5.24 – Densidade de células ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a: 5,0 (a); 6,5 (b); e 7,5 (c). ....	86
Figura 5.25 – Concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 5,0. ....	87
Figura 5.26 – Concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 6,5. ....	88
Figura 5.28 – Concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 7,5. ....	90
Figura 5.29 – Concentração de saxitoxinas totais ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 5,0 e 7,5. ....	91
Figura 5.30 – Concentração de saxitoxinas totais ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 6,5. ....	92

## LISTA DE SÍMBOLOS, NOMENCLATURAS E DEFINIÇÕES

°C	.....	graus Celsius
µg	.....	Micrograma
µm	.....	Micrômetro
Al <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	.....	Sulfato de Alumínio
AUVE	.....	Absorbância ao Ultravioleta Específico
CaCO <sub>3</sub>	.....	Carbonato de Cálcio
cel	.....	Célula
CLAE	.....	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLAE-DFL	.....	CLAE com derivatização pós-coluna e detecção de fluorescência
cm	.....	Centímetro
COPASA	.....	Companhia de Saneamento de Minas Gerais
D	.....	Dosagem
dcGTX	.....	Decarbamoilgoniautoxina
dcneoSTX	.....	Decarbamoilneosaxitoxina
dcSTX	.....	Decarbamoilsaxitoxina
DF	.....	Distrito Federal
Eq. STX	.....	Equivalente STX
ETA	.....	Estação de Tratamento de Água
Fe	.....	Ferro
FeCl <sub>3</sub>	.....	Cloreto Férrico
GTX	.....	Goniautoxina
H	.....	Hidrogênio
L	.....	Litro
LAA	.....	Laboratório de Análise de Água
m	.....	Metro
MC	.....	Microcistina
MC-LR	.....	Microcistina-LR
mg	.....	Miligrama
min	.....	Minuto
mL	.....	Mililitro
mm	.....	Milímetro
MS	.....	Ministério da Saúde

neoSTX.....	Neosaxitoxina
nm.....	Nanômetro
OH.....	Hidroxila
OMS.....	Organização Mundial da Saúde
PAC.....	Cloreto de polialumínio (Polyaluminium Chloride)
pH.....	Potencial hidrogeniônico
ppm.....	Partes por milhão
PROSAB.....	Programa de Pesquisa em Saneamento Básico
PSP.....	Toxinas paralisantes de moluscos (Paralytic Shellfish Poison)
STX.....	Saxitoxina
UFRJ.....	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UnB.....	Universidade de Brasília
UT.....	Unidade de Turbidez
V <sub>s</sub> .....	Velocidade de Sedimentação

## 1 – INTRODUÇÃO

As florações de cianobactérias representam uma das conseqüências da eutrofização de águas superficiais, causada pelo crescente aporte de nutrientes aos mananciais. Algumas dessas cianobactérias são objeto de grande preocupação por serem capazes de produzir toxinas - metabólitos secundários desses organismos. A presença de cianotoxinas na água pode afetar organismos aquáticos, animais terrestres e humanos.

As toxinas de cianobactérias são um grupo variado de moléculas orgânicas e apresentam toxicidade diversa, variando de efeitos hepatotóxicos, neurotóxicos e dermatotóxicos à inibição da síntese de proteínas. Em ambiente aquático, as cianotoxinas geralmente permanecem contidas dentro das células das cianobactérias e são apenas liberadas em quantidades substanciais durante a lise celular, que ocorre na fase de envelhecimento, ou quando há estresse celular, ou pelo uso de algicidas como sulfato de cobre ou de agentes oxidantes como o cloro.

As cianotoxinas são relatadas como causa de muitas intoxicações de animais, e também de fatalidades humanas. Em 1996, dezenas de pacientes de uma clínica de hemodiálise na cidade de Caruaru (Pernambuco – Brasil) morreram após terem recebido água contaminada com microcistina durante sessões de hemodiálise. Esse foi o primeiro caso comprovado de mortes humanas causadas por toxinas de cianobactérias. Posteriormente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconheceu a microcistina como problema de saúde e recomendou 1 µg/L de microcistinas como limite máximo em águas de consumo humano. A Portaria 518/2004 do Ministério da Saúde incorporou as microcistinas na lista de substâncias químicas que representam risco à saúde humana, indicando como valor máximo permissível o valor proposto pela OMS. Adicionalmente, a Portaria 518/2004 recomenda a observação de teores máximos de saxitoxinas e cilindrospermopsinas na água tratada.

Diante do aumento de florações tóxicas de cianobactérias em mananciais utilizados para abastecimento público, pesquisadores ao redor do mundo têm se dedicado a avaliar a eficiência de diferentes processos de tratamento de água na remoção de cianobactérias e cianotoxinas. Os estudos mostram que, com controle adequado, os processos de tratamento convencionais (coagulação, floculação, sedimentação e filtração) são capazes de remover

satisfatoriamente as células de cianobactérias, mas são ineficientes na remoção de toxinas dissolvidas.

Embora existam muitos estudos que avaliam a eficiência de remoção de células de cianobactérias e cianotoxinas em diferentes processos de tratamento de água, poucos trabalhos abordam de forma sistemática a questão da ocorrência de lise celular nas diferentes etapas do tratamento e a consequente liberação de cianotoxinas e sua degradação ao longo do tempo de operação das unidades de tratamento. Nesse contexto, particular atenção deve ser dada ao armazenamento do lodo em decantadores. Os poços de lodo constituem ambiente naturalmente hostil para as cianobactérias (ausência de luz e nutrientes) e a ocorrência de lise celular é previsível, a depender do tempo de armazenamento do lodo nessas unidades. Portanto, a lise celular e a consequente liberação das toxinas para a água clarificada constituem-se em grande preocupação sanitária.

Sabe-se que o pH e a temperatura da água têm grande influência na degradação e transformação de saxitoxinas. Já as microcistinas são muito estáveis quimicamente, mas são suscetíveis à quebra por uma variedade de bactérias. A influência do tipo e dosagem de coagulante no processo de degradação dessas toxinas foi pouco estudada, assim como a influência do pH de coagulação.

Diante disso, o presente trabalho buscou avaliar a ocorrência de lise de células de duas espécies de cianobactérias ao longo do tempo de armazenamento do lodo no decantador, avaliando também a liberação e degradação de toxinas, quando utilizados diferentes valores de pH de coagulação e diferentes tipos e dosagens de coagulante.

## 2 – OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é analisar a lise de células de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* e a conseqüente liberação e degradação de suas toxinas ao longo do tempo de armazenamento do lodo no decantador, após as etapas de coagulação, floculação e sedimentação.

Este trabalho abrange, como objetivos específicos, os seguintes pontos:

- Estudar a eficiência de remoção de células de duas cianobactérias (*Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*) pelo processo de decantação, em escala de bancada, sob diferentes condições de pH de coagulação e dosagem de coagulante, utilizando dois coagulantes distintos, sulfato de alumínio e cloreto férrico;
- Avaliar a influência do pH de coagulação, da dosagem e tipo de coagulante no tempo de ocorrência da lise de células de *Microcystis aeruginosa* e de *Cylindrospermopsis raciborskii*, liberação e degradação de cianotoxinas ao longo de 50 dias de armazenamento do lodo decantado.

### **3 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA**

#### **3.1 – COAGULAÇÃO E SEDIMENTAÇÃO – CONCEITOS BÁSICOS**

A água natural contém uma ampla variedade de impurezas, principalmente argilas, detritos orgânicos, algas, microrganismos, e também poluentes antropogênicos, como pesticidas e metais pesados. A matéria orgânica pode ser tóxica por si mesma, ou por carregar contaminantes prejudiciais e, com maior importância, a matéria orgânica natural pode ser precursora de muitos subprodutos de desinfecção (Yan *et al.*, 2007), como os trihalometanos.

Muitas impurezas presentes na água são muito pequenas para que somente a decantação seja um processo de remoção efetivo. Dessa forma, a união destas partículas em agregados maiores, mais prontamente sedimentáveis, é essencial para a separação bem sucedida pela sedimentação. Esse processo de agregação é denominado coagulação (O'Melia, 1972).

A coagulação depende das características da água e das impurezas presentes, conhecidas por meio de parâmetros como pH, alcalinidade, cor verdadeira, turbidez, temperatura, potencial zeta, condutividade elétrica, distribuição de tamanhos das partículas em estado coloidal e em suspensão. Arboleda (1992) resalta também outra característica importante e que influencia na coagulação e floculação: a forma das partículas. Em um líquido turbulento, as formas filamentosas ou cilíndricas têm mais chances de contato do que as formas esféricas e poliédricas, o que influencia a possibilidade de aglutinação das partículas e a taxa de floculação.

As partículas coloidais no meio aquoso se movem num campo elétrico, indicando que elas carregam uma carga elétrica. O sinal (positivo ou negativo) e a magnitude da carga primária dos colóides são afetados pelo pH e pelo conteúdo iônico do meio aquoso. Na água, a maior parte dos colóides desenvolve carga primária negativa. A interação entre partículas de carga primária similar produz uma força de repulsão, que aumenta com a diminuição da distância, enquanto que cargas contrárias são atraídas – essas são as forças eletrostáticas. Existem também forças de atração de van der Waals, de natureza

eletrodinâmica, que são responsáveis pela agregação de muitos sistemas coloidais (O'Melia, 1972).

Do ponto de vista termodinâmico ou energético, os colóides podem ser estáveis indefinidamente (colóides reversíveis), como por exemplo, as moléculas de sabão, detergente (micelas), proteínas, amido, entre outros, ou podem ser instáveis (colóides irreversíveis). Esse último tipo são os colóides que coagulam, como as argilas, óxidos metálicos, microrganismos, partículas sólidas presentes na água natural, entre outros (Amirtharajah e O'Melia, 1990).

No entanto, os termos estável e instável são mais frequentemente empregados do ponto de vista cinético – relativo à velocidade da reação - aplicados a colóides irreversíveis termodinamicamente. Um colóide cineticamente estável é aquele que coagula a uma taxa muito lenta, e um colóide cineticamente instável coagula rapidamente. No tratamento de água, o processo de coagulação é usado para aumentar a taxa ou a cinética na qual as partículas se agregam, isto é, transformar uma suspensão estável cineticamente em uma instável (processo de desestabilização) (Amirtharajah e O'Melia, 1990). Isso é realizado por meio da adição de coagulantes, substâncias que removem ou reduzem as forças repulsivas que mantêm os colóides separados.

Os coagulantes podem ser classificados em dois grupos: os polieletrólitos e os coagulantes metálicos. Ambos os grupos atuam basicamente como polímeros, além da carga elétrica que possuem. Nos polieletrólitos, as cadeias poliméricas já estão formadas quando são colocados na água. Já com os coagulantes metálicos, a “polimerização” (resultante da hidrólise) se inicia quando são colocados na água. Os coagulantes metálicos mais utilizados são os sais de alumínio e de ferro (Arboleda, 1992).

Os polieletrólitos de importância para o tratamento de água podem ser classificados em:

- Polímeros naturais: iônicos (catiônicos ou aniônicos);
- Polímeros sintéticos: não-iônicos.

Os polímeros naturais que apresentam melhor rendimento e pode-se considerar em usá-los no tratamento de água são os compostos algínicos<sup>1</sup>, os derivados de tuna<sup>2</sup> ou cacto e os amidos. Em relação aos polímeros sintéticos, um dos mais antigos utilizados é a sílica ativada (Arboleda, 1992).

O processo de coagulação, como o praticado no tratamento de água, pode ser considerado como três etapas seqüenciais e separadas: formação do coagulante, desestabilização de partículas e colisões entre partículas. A formação do coagulante e a desestabilização das partículas ocorrem nos tanques de mistura rápida; as colisões entre partículas ocorrem predominantemente nos tanques de floculação (Amirtharajah e O'Melia, 1990).

A desestabilização de suspensões coloidais pode ser produzida pela utilização de diferentes coagulantes químicos, por meio de diferentes mecanismos, quais sejam: (1) compressão da dupla camada, (2) adsorção e neutralização de carga, (3) varredura, (4) adsorção e formação de ponte entre partículas (O'Melia, 1972; Arboleda, 1992; Di Bernardo e Dantas, 2005; entre outros). Esses mecanismos se sobrepõem e complementam.

No primeiro caso, a desestabilização é realizada por íons contrários, que comprimem a camada difusa que circunda as partículas coloidais, reduzindo o potencial elétrico destas e, portanto, as forças de repulsão existentes entre elas. Essa interação é puramente eletrostática: íons de carga similar à carga primária do colóide são repelidos, e íons contrários são atraídos. Os coagulantes que agem dessa maneira são chamados de eletrólitos indiferentes (O'Melia, 1972). A eletrostática pode elucidar muito sobre a estabilidade das partículas, mas para entender a coagulação no tratamento de água é necessário que outros mecanismos de desestabilização sejam compreendidos (Amirtharajah e O'Melia, 1990).

Quando sais de cátions metálicos, como os de alumínio e ferro [ $Al_2(SO_4)_3$  e  $FeCl_3$ , por exemplo], são adicionados à água, ocorre uma série de reações de hidrólise desses cátions, levando à produção de espécies hidrolisadas solúveis. As espécies hidrolisadas solúveis

---

<sup>1</sup> Referente à algina (alginato, ou ácido algínico), substância gelatinosa incolor abundante na parede celular das algas pardas (Divisão Phaeophyta).

<sup>2</sup> Fruta do cacto.

positivamente carregadas, por não serem íons indiferentes, são, portanto, adsorvidas à superfície dos colóides, neutralizando sua carga negativa.

No mecanismo de varredura, com a utilização de sais metálicos em concentrações suficientemente altas para causar a precipitação de um hidróxido metálico, partículas coloidais podem ser capturadas (ou emaranhadas) nesses precipitados na medida em que são formados. Arboleda (1992) destaca que esse mecanismo não é coagulação de fato, mas é o mais freqüentemente produzido no tratamento de água, pois, na prática, a dose que se usa está acima da solubilidade dos hidróxidos de alumínio ou ferro na água, nas condições de pH e temperatura normais de trabalho. Ainda, esse tipo de coagulação não exclui a possibilidade de ocorrer simultaneamente, em parte ou em uma etapa inicial, coagulação por formação de pontes ou por adsorção e neutralização de carga.

O coagulante usado com maior freqüência é o sulfato de alumínio  $[Al_2(SO_4)_3]$ , por sua eficiência, baixo custo e manuseio relativamente simples. Por outro lado, os sais de ferro têm suas vantagens sobre os sais de alumínio em alguns casos, pois formam um floco mais pesado e de maior velocidade de sedimentação e podem trabalhar em um intervalo de pH muito mais amplo. No entanto, os lodos provenientes da coagulação com ferro são muito corrosivos (Arboleda, 1992).

Como já foi abordado, os sais de alumínio e de ferro são efetivos como coagulantes de duas maneiras: por adsorção para produzir neutralização de carga e por varredura. A desestabilização por polímeros produzidos por esses sais é influenciada principalmente por três fatores: dosagem de coagulante, pH e concentração de colóide.

A dosagem de coagulante necessária depende de como a desestabilização é alcançada e ela pode ser vista como uma função da concentração de colóides. Altas dosagens são requeridas para produzir um grande volume de hidróxido precipitado, quando a concentração de colóides é baixa. A dosagem requerida tende a diminuir com o aumento da concentração de colóides. A desestabilização por adsorção pode requerer longos tempos de detenção para produzir agregação, quando a concentração de colóides é baixa; isso pode anular a vantagem de se utilizar dosagens mais baixas (O'Melia, 1972).

O mecanismo de adsorção e formação de pontes entre partículas é baseado na habilidade de polímeros de alto peso molecular de desestabilizar dispersões coloidais. Grupos reativos presentes nesses compostos de cadeia longa podem ser adsorvidos na superfície de uma partícula, deixando segmentos livres para serem adsorvidos por outras partículas, fazendo ligação entre elas e formando um agregado partícula-polímero-partícula no qual o polímero atua como uma ponte.

Os polímeros podem ser usados como coagulantes, auxiliares de coagulação ou auxiliares de floculação. Como coagulantes, a não ser que se use uma quantidade muito grande, o número de cadeias poliméricas que podem se aderir às partículas em um tempo economicamente viável e com os gradientes de velocidade usuais não é suficiente e a coagulação não se realiza, ou se realiza pobremente (Arboleda, 1992). Em águas com baixa turbidez podem-se utilizar polímeros sintéticos como auxiliares de coagulação, como a sílica ativada, para que a coagulação seja mais efetiva (O'Melia, 1972). Em geral, os polímeros são mais empregados como auxiliares de floculação, por produzirem melhores resultados utilizados dessa maneira (Arboleda, 1992).

O pH influencia diretamente no mecanismo de coagulação que irá predominar. No intervalo de pH abaixo do ponto isoelétrico<sup>3</sup>, polímeros positivamente carregados irão prevalecer. O ponto isoelétrico do hidróxido de ferro amorfo, por exemplo, é aproximadamente no pH 8. A adsorção desses polímeros positivos pode desestabilizar colóides carregados negativamente por neutralização de carga (O'Melia, 1972).

Acima do ponto isoelétrico, polímeros aniônicos predominam. A adsorção desses materiais não pode desestabilizar colóides negativos por neutralização de carga. Neste caso, eles atuam pelo mecanismo de adsorção e formação de ponte (O'Melia, 1972).

Um instrumento que auxilia a compreensão de como os coagulantes atuam no processo de remoção de impurezas no tratamento de água é o diagrama de coagulação. O diagrama de coagulação é construído a partir de ensaios experimentais, como os testes de jarros (do inglês *jar test*), nos quais a dosagem de um coagulante é variada, assim como o pH, e a turbidez residual medida depois de períodos apropriados de floculação.

---

<sup>3</sup> Valor de pH onde uma molécula apresenta carga elétrica líquida igual a zero

Com a construção do diagrama de coagulação para uma determinada água e um determinado coagulante, é possível prever dosagens específicas de alumínio, o pH ótimo em que a coagulação irá ocorrer e o mecanismo de coagulação predominante. Dessa forma, para se ter conhecimento das condições ótimas de coagulação é imprescindível a realização de testes experimentais.

Amirtharajah e Mills (1982), por meio de revisão e comparação crítica de dados da literatura, produziram um diagrama de coagulação do alumínio (Figura 3.1) para águas com turbidez elevada.

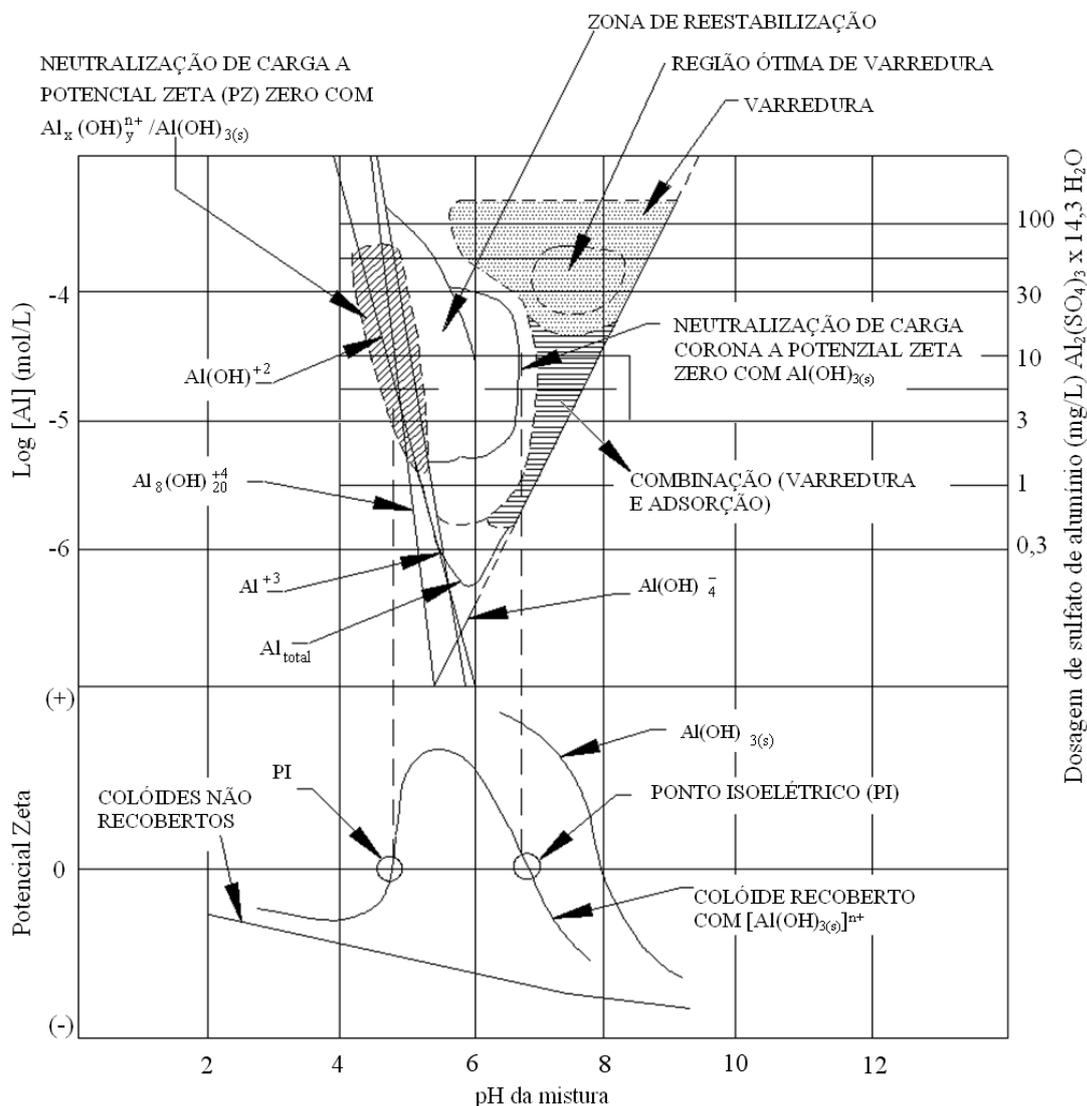


Figura 3.1 – Diagrama de coagulação do alumínio, proposto por Amirtharajah e Mills (1982), e sua relação com o potencial zeta (Amirtharajah e O'Melia, 1990).

Como pode ser visto na Figura 3.1, a interação do hidróxido de alumínio carregado positivamente com os colóides carregados negativamente, produzem dois pontos de

potencial zeta zero, nos valores de pH aproximadamente 4,8 e 6,8. Uma coagulação favorável é esperada nessas condições de pH. Entretanto, entre esses valores o colóide recoberto pode ser reestabilizado por causa da adsorção excessiva de espécies carregadas positivamente.

Amirtharajah e O'Melia (1990) ressaltam algumas restrições à generalização do uso do diagrama de coagulação do alumínio apresentado, proposto por Amirtharajah e Mills (1982). A região de reestabilização mostrada na Figura 3.1 é uma função da área superficial do colóide. Dessa forma, a água com uma área superficial maior de colóides deslocaria o limite inferior da zona de reestabilização para dosagens maiores de alumínio. Além disso, altas concentrações de ânions, como fosfato ( $PO_4^{3-}$ ), silicato [ $SiO(OH)_3^{3-}$ ] ou sulfato ( $SO_4^{2-}$ ) podem causar a supressão da reversão de carga e da reestabilização. Adicionalmente, uma concentração significativa de substâncias orgânicas naturais na forma de substâncias húmicas poderia determinar as dosagens de alumínio requeridas para coagulação e alterar as zonas de coagulação mostradas no diagrama.

A floculação, etapa que se destina a aumentar as oportunidades de contato entre as impurezas da água desestabilizada pela ação do coagulante, deriva de três mecanismos distintos: (1) interação pericínética, que decorre da energia térmica das partículas (movimento Browniano), favorecendo encontros entre partículas de tamanho submícron; (2) interação ortocinética, que resulta do movimento da água induzido pela mistura, gerando um gradiente de velocidade entre as partículas, e assim provocando o encontro entre elas; (3) sedimentação, em que partículas com diferentes velocidades de sedimentação podem se encontrar. Esse último mecanismo ocorre preferencialmente nos decantadores.

A sedimentação é o fenômeno físico no qual, em decorrência da ação da gravidade, as partículas suspensas apresentam movimento descendente em meio líquido de menor massa específica. Ela propicia a clarificação da água - separação das fases líquida e sólida.

Kawamura (2000) descreve os fatores que influenciam o processo de sedimentação. Dentre eles estão as características da água bruta (temperatura, por exemplo, que afeta a densidade da água, turbidez), condições climáticas (precipitação, ventos, variação da temperatura do

ar e da água), velocidade de sedimentação das partículas suspensas que devem ser removidas, variação da vazão (mudanças repentinas podem diminuir a eficiência do decantador), tipo de decantador e método de remoção do lodo.

Com base na concentração e na tendência das partículas a interagir, quatro tipos de sedimentação podem ocorrer: sedimentação discreta, floclulenta, zonal e por compressão. Esses tipos de fenômeno de sedimentação estão descritos na Tabela 3.1 (Gregory e Zabel, 1990; Metcalf & Eddy, 1991).

Tabela 3.1 – Tipos de fenômeno de sedimentação.

<b>Tipos de fenômeno de sedimentação</b>	<b>Descrição</b>
Tipo 1 Discreta	Sedimentação de partículas discretas <sup>4</sup> em baixa concentração, sendo que a floclulação e outros efeitos interpartículas são desprezíveis. Assim, são conservadas as propriedades físicas das partículas, tais como forma, tamanho e densidade.
Tipo 2 Floclulenta	Sedimentação de partículas em baixa concentração, mas com coalescência ou floclulação. Na medida em que ocorre a coalescência, a massa das partículas aumenta, assim elas sedimentam mais rapidamente.
Tipo 3 Zonal	Sedimentação zonal de uma suspensão com concentração intermediária a elevada, com efeitos interpartículas, incluindo floclulação, de forma que a taxa de sedimentação é uma função da concentração de sólidos. Zonas de diferentes concentrações podem se desenvolver a partir da segregação de partículas com diferentes velocidades de sedimentação. Forma-se um manto que sedimenta como uma massa única de partículas, e observa-se uma nítida interface de separação entre a fase sólida e a fase líquida.
Tipo 4 Por Compressão	Sedimentação por compressão sob as camadas da sedimentação zonal. A taxa de compressão é dependente do tempo e da força causada pelo peso dos sólidos acima.

No tratamento de água, verifica-se que as partículas se caracterizam como floclulentas ou não discretas, aglomerando-se durante a sedimentação. À medida que ocorre a floclulação, a massa da partícula aumenta e esta se sedimenta mais rapidamente. O grau de floclulação irá depender da oportunidade de contato, que varia com a taxa de aplicação, profundidade do tanque de sedimentação, concentração de partículas, e variação do tamanho das

<sup>4</sup> Partículas discretas são aquelas que não têm sua forma, peso ou tamanho alterados durante a sedimentação.

partículas. Os efeitos dessas variáveis só podem ser determinados por testes de sedimentação.

Para determinar as características de uma suspensão de partículas flocculentas pode ser utilizada uma coluna de sedimentação. Segundo Metcalf & Eddy (1991), tal coluna pode ser de qualquer tamanho, mas deve ser igual em altura/profundidade do tanque proposto. Resultados satisfatórios podem ser obtidos com um tubo plástico de 150 mm de diâmetro e 3 m de altura. Pontos para coleta devem ser inseridos a intervalos de 0,6 m. A solução contendo o material em suspensão deve ser introduzida na coluna de tal forma que ocorra uma distribuição uniforme das partículas de cima para baixo. Em vários intervalos de tempo, amostras são retiradas dos pontos de coleta e analisadas para sólidos em suspensão. O percentual de remoção é computado para cada amostra e plotado em um gráfico de tempo x profundidade.

A velocidade da sedimentação da partícula ( $V_s$ ) pode ser obtida dividindo-se a distância percorrida na coluna de sedimentação pelo tempo gasto ( $V_s = \text{distância/tempo}$ ). A velocidade de sedimentação a ser adotada para o projeto é também denominada *taxa de aplicação superficial* (TAS), expressa em unidades de velocidade (m/h ou m/d), ou de vazão por unidade de área ( $\text{m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{h}$  ou  $\text{m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{d}$ ).

A velocidade de sedimentação é afetada por várias características da partícula, principalmente tamanho, forma e densidade. A escolha da química de coagulação e a eficiência de aplicação afetam as características da partícula, e conseqüentemente a sedimentação. Dessa forma, deve-se ter um controle adequado de dosagem do coagulante, pH e mistura, para se obter os resultados desejados no tratamento da água.

As partículas sedimentadas e acumuladas no fundo dos tanques de sedimentação formam o lodo, um subproduto do processo de tratamento da água. Deve-se ressaltar a importância de sua remoção adequada, seu manejo e disposição final, pois nele podem ficar acumulados metais pesados e toxinas. Em águas que contenham cianobactérias, por exemplo, a remoção rápida do lodo dos tanques de sedimentação é muito importante, visto que as células desses organismos morrem em pouco tempo, causando sua lise e subsequente liberação de toxinas para a água clarificada (Drikas *et al.*, 2001).

### 3.2 – CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS

As cianobactérias, também historicamente conhecidas como algas azuis, cianófitas ou cianofíceas, estão entre os grupos de seres vivos mais antigos existentes na Terra. São organismos procarióticos gram-negativos, fotossintetizantes, e compreendem as formas unicelulares, coloniais e filamentosas multicelulares. São muito diversificados em relação ao ambiente em que vivem, com elevada tolerância e capacidade de sobreviver em situações adversas para a maioria dos outros organismos vivos. Algumas cianobactérias, por exemplo, podem tolerar temperaturas tão altas como 75° C e algumas ocorrem em fontes termais próximas ao ponto de ebulição da água (Ricklefs, 1993). A maioria das cianobactérias é autotrófica, mas existem também algumas espécies heterotróficas. Além disso, variam de psicrófilas a termofílicas, de acidófilas a alcalófilas, de planctônicas a bentônicas, de água doce a salgada (incluindo hipersalina), de vida livre ou endossimbiontes (Thajuddin e Subramanian, 2005).

Algumas características das cianobactérias são notáveis, como a habilidade de armazenar nutrientes essenciais e metabólitos dentro de seu citoplasma e a fixação de nitrogênio atmosférico por alguns gêneros (Mur *et al.*, 1999).

Em condições adequadas, as cianobactérias podem atingir uma grande biomassa e formar florações. Uma das maiores preocupações com as florações é que certas cianobactérias têm a habilidade de produzir toxinas – substâncias venenosas produzidas por organismos vivos – que são metabólitos secundários, isto é, não estão envolvidas diretamente no crescimento, desenvolvimento ou reprodução dos organismos (Carmichael, 1994). As toxinas de cianobactérias são um grupo variado de moléculas orgânicas, e apresentam um conjunto de efeitos farmacologicamente distintos (Falconer, 1996).

As populações de cianobactérias podem ser dominadas por uma única espécie ou serem compostas de 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 cepas tóxicas e não tóxicas (Sivonen e Jones, 1999).

De acordo com Hoek e Jahns (2002, *apud* Ernst, 2008), aproximadamente 2000 espécies de cianobactérias já foram identificadas e elas estão distribuídas em 150 gêneros. Ao

mesmo tempo, 40 gêneros foram relatados na literatura como tendo propriedades tóxicas, mas os principais são *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Nostoc*, e *Oscillatoria (Planktothrix)* (Carmichael, 2001; Haider *et al.*, 2003).

A ocorrência de cianobactérias tóxicas foi documentada em 27 países, e são encontradas em todos os continentes, incluindo a Antártida (Newcombe e Nicholson, 2004). A presença de cianotoxinas na água afeta organismos aquáticos, animais terrestres (tanto selvagens quanto domésticos) e humanos. Possíveis valores de referência para toxinas de cianobactérias na água para consumo e de recreação são estimados, e eles mostram que crianças são mais suscetíveis às cianotoxinas do que os adultos (Duy *et al.*, 2000).

No ambiente aquático, essas toxinas geralmente permanecem contidas dentro das células das cianobactérias e são apenas liberadas em quantidades substanciais durante a lise celular, que ocorre na fase de senescência (morte natural), estresse celular, uso de algicidas (como sulfato de cobre), ou cloração. Se localizadas ou concentradas longe da margem, as florações de cianobactérias provavelmente não causariam danos a animais. No entanto, se houver sua acumulação próximo das margens, os animais que bebem tal espuma concentrada podem rapidamente consumir uma dose letal (Carmichael, 1994).

Peptídeos cíclicos, alcalóides e lipopolissacarídeos são os três grandes grupos de estruturas químicas que as cianotoxinas abrangem. Sua toxicidade é diversa, variando de efeitos hepatotóxicos, neurotóxicos e dermatotóxicos à inibição da síntese de proteínas (Sivonen e Jones, 1999). As duas principais classes de cianotoxinas são as hepatotoxinas e as neurotoxinas. No entanto, alguns gêneros de cianobactérias podem produzir toxinas irritantes ao contato (Brandão e Azevedo, 2003).

Os lipopolissacarídeos (LPS), encontrados geralmente na membrana externa da parede celular de bactérias gram-negativas, incluindo cianobactérias, causam irritação em qualquer tecido exposto. Geralmente é o componente ácido graxo da molécula de LPS que causa uma resposta alérgica em humanos e mamíferos (Sivonen e Jones, 1999).

Adicionalmente, os gêneros de cianobactérias marinhas bentônicas *Lyngbya*, *Oscillatoria* e *Schizothrix* podem produzir as toxinas aplisiatoxina e lingbiatoxina, que causam

inflamação na pele. Elas pertencem ao grupo dos alcalóides (Sivonen e Jones, 1999). Lingbiatoxina A (LA) e debromoaplisiatoxina (DAT) são dois compostos que foram isolados da espécie *Lyngbya majuscula* como agentes causadores de dermatite, náusea e vômitos resultantes da ingestão incidental. Ambos compostos são ativadores da proteína quinase C (PKC) e são potentes promotores de tumor em ratos (Fujiki *et al.*, 1981, *apud* Arthur *et al.*, 2008).

### 3.2.1 – Hepatotoxinas

As hepatotoxinas de cianobactérias podem ser divididas em dois grupos: as toxinas de peptídeo cíclico da família das microcistinas e nodularina, e a toxina alcalóide cilindrospermopsina.

As toxinas de cianobactérias mais freqüentemente encontradas em florações de águas doces e salobras são as microcistinas e nodularina. As microcistinas foram caracterizadas em espécies dos gêneros planctônicos *Anabaena*, *Microcystis*, *Oscillatoria* (*Planktothrix*), *Nostoc*, e *Anabaenopsis*. A nodularina foi caracterizada apenas na espécie *Nodularia spumigena* (Sivonen e Jones, 1999).

*Microcystis* sp., freqüentemente *Microcystis aeruginosa*, são as mais comumente associadas a florações hepatotóxicas ao redor do mundo. *Microcystis* é um gênero não fixador de nitrogênio, formador de colônia e que é muitas vezes dominante sob condições de riqueza de nutrientes, embora também forme florações em águas menos poluídas (Sivonen e Jones, 1999).

As microcistinas e a nodularina contêm sete e cinco aminoácidos, respectivamente, sendo que os dois aminoácidos terminais do peptídeo linear são ligados para formar um composto cíclico. Elas são solúveis em água - exceto algumas microcistinas hidrofóbicas – portanto são incapazes de penetrar diretamente as membranas lipídicas de células animais, vegetais e bacterianas (Sivonen e Jones, 1999). Para produzir, então, o seu efeito tóxico, as toxinas são transportadas ativamente pelo mecanismo de transporte do ácido biliar e, por conseguinte, atacam preferencialmente o epitélio do intestino fino e os hepatócitos (células do fígado) (Falconer, 1996).

A estrutura geral das microcistinas (Figura 3.2) é: D-Alanina-X-D-MeAsp-Z-Adda-D-Glutamato-Mdha, onde X e Z são os dois aminoácidos L variáveis, D-MeAsp é o D-éritro-ácido metilaspártico e Mdha é N-metildeidroalanina (Apeldoorn, 2007). A variante de microcistina mais freqüente e estudada é a microcistina-LR (MC-LR), com os aminoácidos variáveis leucina (L) e arginina (R). Outras variantes que podem ocorrer mais freqüentemente são MC-RR (arginina-arginina), MC-YR (tirosina-arginina) e MC-LA (leucina-alanina) (Figueiredo *et al.*, 2004).

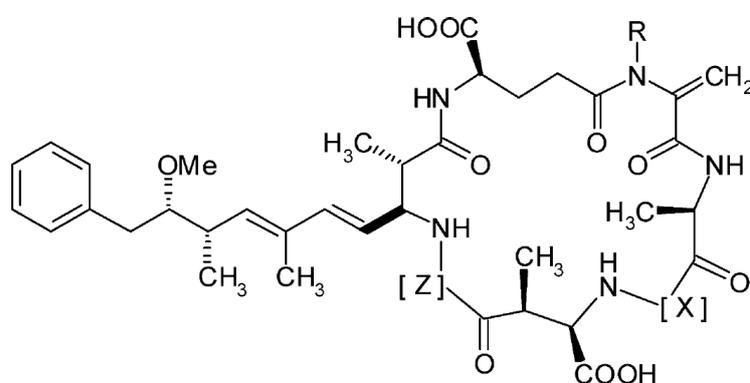


Figura 3.2 – Estrutura química do heptapeptídeo microcistina. X e Z são dois aminoácidos variáveis. A nodularina é um pentapeptídeo contendo aminoácidos similares aos das microcistinas (Yuan e Carmichael, 2004).

As microcistinas já estiveram envolvidas em muitos casos de intoxicações ao redor do mundo, causadas por exposições agudas ou sub-crônicas a essas toxinas. Os dois casos conhecidos de intoxicação por microcistinas causando mortes humanas ocorreram no Brasil. Uma floração de *Anabaena* e *Microcystis* na represa de Itaparica (Bahia) foi a provável responsável por 2000 casos de gastroenterite, resultando em 88 mortes, a maioria crianças (Teixeira *et al.*, 1993). Outro caso trágico ocorreu em fevereiro de 1996, quando 52 pacientes de uma clínica de hemodiálise em Caruaru (Pernambuco – Brasil) morreram com sintomas de hepatotoxicose após receberem água contaminada com microcistina durante tratamento rotineiro de hemodiálise (Jochimsen *et al.*, 1998; Azevedo *et al.*, 2002).

Além de danos ao fígado, existem evidências de efeitos potencialmente genotóxicos e promotores de tumor causados pelas microcistinas (Žegura *et al.*, 2008; Kuiper-Goodman *et al.*, 1999). Em um estudo desenvolvido por Gaudin *et al.* (2008), foi demonstrado que

houve dano ao DNA em vários órgãos (fígado, rins, intestino) após tratamento com microcistina-LR. Os órgãos a serem afetados dependia da rota de administração de MC-LR.

A partir de estudos de toxicidade oral em níveis subcrônicos, foi adotado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) um limite máximo aceitável de 1 µg/L de microcistinas em água para consumo humano (WHO, 1993), valor incorporado à Portaria n.º 518 do Ministério da Saúde (Brasil, 2004). Ressalta-se que a OMS considera que ainda não existem dados suficientes que permitam estabelecer um valor de referência para qualquer outra toxina de cianobactéria a não ser microcistina, conforme descreve o adendo das Normas para Qualidade da Água Tratada (Guidelines for drinking-water quality, WHO, 2008).

A cianotoxina cilindrospermopsina (CYN) é produzida por uma variedade de gêneros de cianobactérias. Primeiramente identificada na espécie *Cylindrospermopsis raciborskii*, CYN é um alcalóide (Figura 3.3) inibidor da síntese de proteínas em células de mamíferos (Terao *et al.*, 1994).

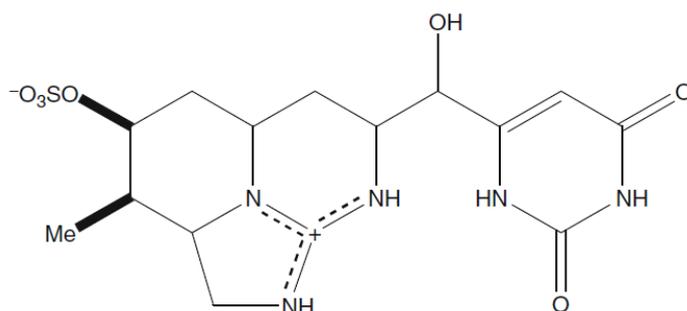


Figura 3.3 – Estrutura química da cilindrospermopsina (Edwards e Lawton, 2009)

Descrita inicialmente como uma espécie tropical e subtropical, a cianobactéria *Cylindrospermopsis raciborskii* tem se tornado cada vez mais freqüente em regiões temperadas, o que demonstra sua alta tolerância fisiológica (Briand *et al.*, 2004). Várias cepas de *Cylindrospermopsis raciborskii* foram relatadas na literatura como sendo produtoras de CYN, dentre elas australiana (Hawkins *et al.*, 1985; McGregor e Fabbro, 2000), americana (Burns *et al.*, 2000), asiática (Li *et al.*, 2001a) e brasileira (Jardim *et al.*, 2000; Fraietta *et al.*, 2005; Moreira e Bizi, 2007). A cepa brasileira de *Cylindrospermopsis raciborskii* potencialmente produtora de CYN, primeiramente identificada por Jardim *et al.* (2000), somente foi relatada no estado de Minas Gerais, em estudos realizados pela Companhia de Saneamento de Minas Gerais (COPASA).

Ao longo das últimas décadas, várias espécies de cianobactérias foram documentadas como produtoras de CYN, incluindo *Umezakia natans* no Japão (Harada *et al.*, 1994), *Raphidiopsis curvata* isolada de um lago de peixes na China (Li *et al.*, 2001b), *Anabaena lapponica*, da Finlândia (Spoof *et al.*, 2006), *Aphanizomenon flos-aquae*, isolada de dois lagos alemães (Preussel *et al.*, 2006), *Lyngbya wollei* do sudeste australiano (Seifert *et al.*, 2007), *Aphanizomenon ovalisporum*, do Lago Kinneret em Israel (Banker *et al.*, 1997) e da Flórida, Estados Unidos (Yılmaz *et al.*, 2008), entre outros.

Estudos mostram que o principal alvo desta toxina é o fígado, mas outros órgãos, como o timo, rins e coração também são afetados (Terao *et al.*, 1994; Falconer *et al.* 1999). Adicionalmente, foi demonstrado que elas produzem efeitos genotóxicos, induzindo à quebra da fita de DNA (Shen *et al.*, 2002) e outros danos nos cromossomos (Humpage *et al.*, 2000).

Considerando o aumento dos riscos à saúde causado por florações de cianobactérias em fontes de água para abastecimento, e baseando-se em estudos toxicológicos desenvolvidos por Shaw *et al.* (2000, *apud* Brandão e Azevedo, 2003), a Portaria n.º 518 do Ministério da Saúde (Brasil, 2004) recomenda que as análises para cianotoxinas incluam a determinação de cilindrospermopsina observado um limite máximo aceitável de 15 µg/L. Vale destacar que, diferentemente das microcistinas, os valores limites para a concentração de cilindrospermopsinas e saxitoxinas na água são apenas recomendações.

### **3.2.2 Neurotoxinas**

Embora menos freqüentes que as cianobactérias hepatotóxicas, muitas ocorrências de cianobactérias neurotóxicas foram e têm sido relatadas na América do Norte, Europa, Austrália, Brasil (Apeldoorn *et al.*, 2007) e África (Odokuma e Isirima., 2007). As neurotoxinas são alcalóides, um amplo grupo de compostos nitrogenados heterocíclicos. Três diferentes tipos são conhecidos: anatoxina-a, anatoxina-a(s) e saxitoxinas (Sivonen e Jones, 1999). Essa última pode também ser produzida por certas espécies de algas marinhas (Carmichael, 1994).

A anatoxina-a é um alcalóide de baixo peso molecular (Figura 3.3), encontrada em algumas espécies do gênero *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Cylindrospermum* e *Aphanizomenon*.

A homoanatoxina-a é um análogo da anatoxina-a, isolada de uma cepa da espécie *Oscillatoria formosa* (Sivonen e Jones, 1999). Adicionalmente, Namikoshi (2003) reportou a produção simultânea de anatoxina-a e homoanatoxina-a pela espécie *Raphidiopsis mediterranea*.

Essa neurotoxina imita o efeito do neurotransmissor acetilcolina, mas é fatal porque não pode ser degradada pela enzima acetilcolinesterase, assim super estimulando os músculos e posteriormente induzindo à agitação, câimbras, seguidos de fadiga e paralisia (Carmichael, 1994). Ela causa morte dentro de minutos a poucas horas, dependendo da espécie, da quantidade de toxina ingerida, e da quantidade de comida no estômago (Apeldoorn *et al.*, 2007).

A estrutura química da anatoxina-a(s) não tem nenhuma relação com a anatoxina-a (Figura 3.4). Ela é uma N-hidroxiguanidina fosfato de metila, produzida por algumas espécies de *Anabaena*: *A. flos aquae* e *A. lemmermannii* (Apeldoorn *et al.*, 2007). Ela produz muitos sintomas parecidos com a anatoxina-a, e a letra “s” surgiu porque a anatoxina-a(s) parecia ser uma variação da anatoxina-a que causava excessiva salivação em vertebrados (Carmichael, 1994).

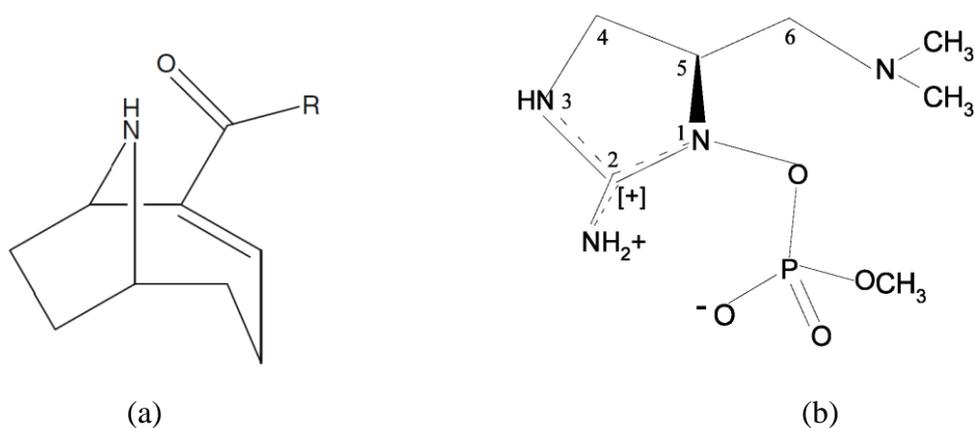


Figura 3.4 – Estrutura química da anatoxina-a (R=CH<sub>3</sub>) e homoanatoxina-a (R=CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) (a) e anatoxina-a(s) (b) (Edward e Lawton, 2009; Sivonen e Jones, 1999).

No Brasil, houve ocorrências de florações da espécie *Anabaena spiroides*, causando inibição da acetilcolinesterase (Molica *et al.*, 2005; Monserrat *et al.*, 2001) - ação conhecida ocasionalmente ocasionada pela toxina anatoxina-a(s), um organofosforado natural.

A anatoxina-a(s) bloqueia a ação da enzima acetilcolisteranase, assim impedindo que esta degrade a acetilcolina. Dessa forma os músculos são super estimulados, o que o leva a ficar muito fatigado para operar (Carmichael, 1994).

As saxitoxinas (Figura 3.5) são alcalóides carbamatos, que podem ser não-sulfatados (saxitoxinas, STX), ou sulfatados (goniautoxinas – GTX e C-toxinas) (Sivonen e Jones, 1999). Também são conhecidas como toxinas paralisantes de moluscos (*paralytic shellfish poisons, PSPs*), pois foram primeiramente isoladas de dinoflagelados marinhos, responsáveis pela ocorrência de marés vermelhas (Carmichael, 1994). Mais de trinta análogos químicos e derivados de saxitoxinas já foram caracterizados (Sivonen e Jones, 1999).

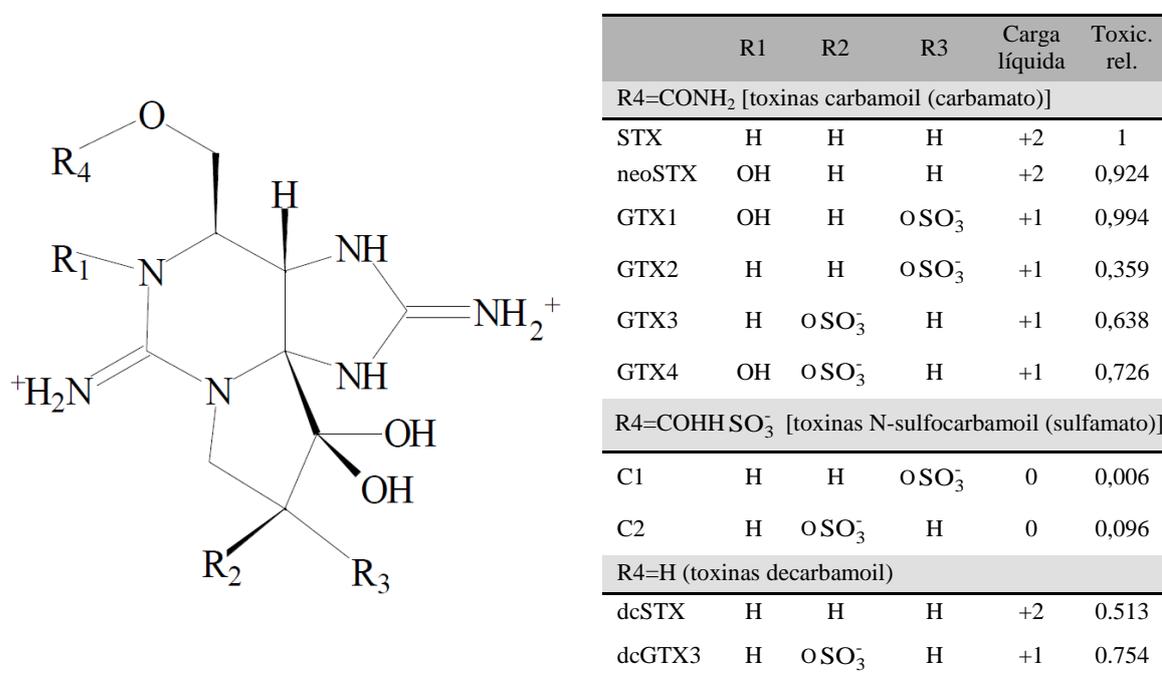


Figura 3.5 – Estrutura de algumas saxitoxinas. A toxicidade relativa indica a toxicidade em relação ao análogo mais tóxico da saxitoxina (STX) (Nicholson e Burch, 2001).

As saxitoxinas interrompem a comunicação entre os neurônios e as células musculares, por meio do bloqueio dos canais de sódio dos neurônios. Com isso, os músculos não recebem nenhum estímulo e se tornam paralisados (Carmichael, 1994).

Muitas são as espécies de cianobactérias produtoras de saxitoxinas, incluindo *Aphanizomenon flos-aquae* (Mahmood e Carmichael, 1986), *Lyngbya wollei*, uma

cianobactéria filamentosa (Carmichael, 1997), *Planktothrix* sp. (Pomati *et al.*, 2000), *Aphanizomenon issatschenkoi* (Li *et al.*, 2003), *Aphanizomenon gracile*, isolada de um lago português (Pereira *et al.*, 2004), *Anabaena lemmermannii*, de lagos dinamarqueses (Kaas e Henriksen, 2000), e um lago finlandês (Rapala *et al.*, 2005), entre outras. A primeira evidência documentada da produção de saxitoxinas por *Cylindrospermopsis raciborskii* no Brasil foi relatada por Lagos *et al.* (1999).

As neurotoxinas de maior interesse no país são do grupo das saxitoxinas, devido ao grande aumento, nos últimos anos, de cepas do gênero *Cylindrospermopsis* produtoras desse grupo de toxinas em mananciais de abastecimento de água (Brandão e Azevedo, 2003).

A ocorrência de *Cylindrospermopsis* tem sido documentada em vários estados brasileiros, como São Paulo (Stoppe *et al.*, 1999), Pernambuco (Silvestre *et al.*, 1999; Bouvy *et al.*, 2000, Molica *et al.*, 2005), Distrito Federal (Branco e Senna, 1991, *apud* Tucci e Sant'Anna, 2003), Minas Gerais (Resende e Machado, 2005; Fraietta *et al.*, 2005), Ceará (Carvalho *et al.*, 2006), Rio Grande do Sul (Yunes *et al.*, 2000), Florianópolis (Santos *et al.*, 2007). Florações de *Cylindrospermopsis raciborskii* têm sido cada vez mais frequentes em reservatórios brasileiros em virtude da sua alta capacidade competitiva em ambientes tropicais eutrofizados.

O Braço do Taquacetuba, do reservatório Billings, em São Paulo, tem apresentado toxicidade crônica e alteração da composição fitoplanctônica com predominância de cianobactérias. Já foram isoladas espécies consideradas tóxicas ou potencialmente tóxicas, como *Anabaena solitaria*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Limnothrix* sp., *Microcystis* sp. e *Pseudoanabaena muciola*. Foi constatado que a espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* isolada desse braço é produtora de neurotoxinas do grupo das saxitoxinas (Stoppe *et al.*, 1999).

Em quatro mananciais de Pernambuco, analisados por Silvestre *et al.* (1999), verificou-se que as cianobactérias dominam o plâncton, sendo representadas, principalmente, por espécies do gênero *Cylindrospermopsis*. Eles constataram também um crescimento intenso dessa cianobactéria jamais registrado ao longo da história dos quatro mananciais estudados. Os bioensaios para detecção de neurotoxinas deram resultado positivo para

todos os quatro mananciais, sendo que ficou confirmado que a neurotoxina encontrada em um deles é também do grupo das saxitoxinas.

Durante a seca de 1998, o gênero *Cylindrospermopsis* representava mais de 80% da densidade fitoplanctônica em 10 reservatórios localizados na região semi-árida do nordeste brasileiro, no estado de Pernambuco, e mais de 50% em 17 reservatórios (Bouvy *et al.*, 2000).

No ano de 2004, em um episódio de floração de *Planktothrix mougeotii*, no Lago Guaíba (Porto Alegre, Rio Grande do Sul), detectaram-se traços de saxitoxinas, em concentrações de até 0,17 µg/L na água bruta. Nas amostras de água tratada registraram-se muitos valores abaixo do limite de detecção e alguns resultados atingiram até 0,14 µg/L. Tais resultados apresentaram-se inferiores ao limite recomendado na Portaria 518/04 para equivalentes de saxitoxinas, que é de 3 µg/L (Bendatti *et al.*, 2005).

A partir de janeiro de 2004, o manancial responsável pelo abastecimento de água da cidade de Guaranésia, Córrego Santa Bárbara (região sul do Estado de Minas Gerais), começou a apresentar florações de cianobactérias potencialmente tóxicas da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii*. Os pesquisadores descobriram que as florações tinham origem em uma lagoa localizada a 1500 m do Córrego Santa Bárbara, e essas florações eram levadas e lançadas no córrego Santa Bárbara através de um pequeno córrego. Os testes de toxicidade (realizados com camundongos Swiss machos) com amostras coletadas na saída da lagoa foram positivos, de forma que os animais testados apresentaram sintomas de neurotoxicose e hepatotoxicose. A mesma amostra foi enviada ao setor de análises para identificação das toxinas presentes, que revelou a presença da hepatotoxina cilindrospermopsina e da neurotoxina neosaxitoxina, utilizando o método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Fraietta *et al.*, 2005).

Baseando-se em estudos de intoxicações causadas pelas saxitoxinas, desenvolvidos por Fitzgerald *et al.* (1999, *apud* Brandão e Azevedo, 2003), a Portaria n.º 518 do Ministério da Saúde (Brasil, 2004) recomenda que as análises para cianotoxinas na água para consumo humano incluam a determinação de saxitoxinas (STX), observando o valor limite de 3,0 µg/L de equivalentes STX.

### 3.3 – DEGRADAÇÃO DE CIANOTOXINAS

As anatoxinas, saxitoxinas, microcistinas e cilindrospermopsinas, que compreendem os quatro principais grupos de cianotoxinas, apresentam estabilidade química e degradação microbiológica bastante diferente nos ambientes aquáticos (Brandão e Azevedo, 2003).

As microcistinas têm o potencial de persistir por longos períodos em águas naturais antes de a degradação começar. No entanto, uma vez começada, a degradação geralmente se completa dentro de poucos dias, variando, segundo os estudos realizados, de 2 dias a 3 semanas, dependendo das características do corpo d'água e condições climáticas (Apeldoorn *et al.*, 2007). A concentração de microcistinas dissolvidas na água é uma função de vários fatores, como diluição, fotodegradação, adsorção a partículas e biodegradação (Hyenstrand *et al.*, 2003).

Essas toxinas são extremamente estáveis e resistentes à hidrólise química ou oxidação em pH aproximadamente neutro. Elas continuam potentes mesmo após fervura, assim como as nodularinas (Sivonen e Jones, 1999). Sob luz solar plena, as microcistinas sofrem uma lenta quebra fotoquímica e isomerização (Apeldoorn *et al.*, 2007).

Tsuji *et al.* (1994) mostraram que, embora as microcistinas sejam decompostas muito limitadamente apenas pela exposição à luz solar, a adição de pigmentos extraídos de cianobactérias acelera sua decomposição. No ambiente natural, quando ocorre a decomposição de células de cianobactérias, as microcistinas são expostas à luz solar e aos pigmentos liberados pelas células. Isso aceleraria sua decomposição, conforme mostra o estudo.

Apesar de sua estabilidade química, as microcistinas são suscetíveis à quebra por algumas bactérias aquáticas encontradas naturalmente em rios e reservatórios (Sivonen e Jones, 1999). Uma espécie de *Sphingomonas*, por exemplo, encontrada em efluentes de esgotos e corpos d'água naturais, são capazes de degradar microcistinas (Jones *et al.*, 1994, *apud* Bourne *et al.*, 2006).

Além disso, um estudo realizado por Edwards *et al.* (2008) mostrou características importantes na degradação de microcistinas e nodularinas em rios e lagos: primeiro,

enquanto as microcistinas foram degradadas por microorganismos em todas as amostras de água, as nodularinas foram degradadas em água de lago mas não em água de rio, indicando que diferentes microorganismos, com capacidades de degradação distintas, existem em diferentes habitats; segundo, a concentração de microcistinas e nodularinas, assim como a mistura de variantes de microcistinas (MC-LR, MC-RR, MC-LA entre outras), tem influência na degradação pela população natural de microorganismos.

Em outro estudo, que avaliou a biodegradação de microcistinas em lagos e a contribuição do sedimento nessa degradação, Chen *et al.* (2007) encontraram que as meias-vidas das microcistinas foram de: 1,09 a 6,71 dias para microcistina RR; 1,22 a 7,66 dias para LR; 1,36 a 7,15 dias para Dha<sup>7</sup>LR. Já no sedimento do lago, mais de 90% das microcistinas foram degradadas dentro de quatro dias. O sedimento age como uma fonte de bactérias degradadoras, e a agitação da água induzida pelo vento, assim como as correntes de água, podem melhorar o processo de biodegradação. Para determinar o destino das microcistinas no lago, os autores conduziram uma série de estudos incluindo fotodegradação, adsorção ao solo e sedimento, distribuição, bioacumulação e biodegradação. Eles concluíram que a biodegradação deve ser o principal mecanismo para redução da concentração de microcistina em lagos eutróficos e reservatórios.

Outro estudo demonstrou que a biodegradação total de microcistinas-LR em água de reservatório ocorreu após 13 dias, e quando sedimentos de fundo foram adicionados à água, a degradação se completou após 6 dias (Cousins *et al.*, 1996).

Rapala *et al.* (1994) reportaram que a degradação mais rápida de microcistina ocorreu quando extratos de cianobactérias contendo microcistinas foram incubados em amostras de água ou sedimento de um lago eutrófico durante ou após uma floração hepatotóxica. Dessa forma, as toxinas foram expostas à população natural de microorganismos do lago. No estudo, a remoção de MC-LC ocorreu dentro de quatro dias. Por outro lado, a degradação demorou duas vezes mais para ocorrer quando a água era retirada de uma área do mesmo lago onde não havia ocorrido floração. Isso indica que florações com liberação de microcistinas estimulam o estabelecimento de populações de microorganismos capazes de degradar microcistinas e outros peptídeos.

Ho *et al.* (2007) encontraram degradação mais rápida de microcistina em água tratada inoculada com *Sphingopyxis* sp. LH21: no terceiro dia já tinha havido redução de 99% da concentração inicial de microcistinas; no entanto, isso correspondia a uma concentração remanescente de 13 e 22 µg/L para MCLR e MCLA, respectivamente. No 8º dia a concentração de microcistinas caiu para menos de 1 µg/L, valor máximo permitido pela Organização Mundial de Saúde (WHO). As microcistinas presentes na água tratada foram biodegradadas pela bactéria *Sphingopyxis* sp. LH21. Nas amostras onde não havia inóculo da bactéria, não houve nenhuma degradação em oito dias. A Tabela 3.2 mostra as bactérias isoladas até o momento que degradam microcistinas.

Tabela 3.2 – Bactérias isoladas que degradam microcistina (Edwards e Lawton, 2009).

<b>Bactéria</b>	<b>Microcistinas degradadas</b>	<b>Referência</b>
<i>Sphingomonas</i> ACM-3962	LR, RR	Bourne <i>et al.</i> (1996)
<i>Sphingomonas</i> MD-1	LR, YR, RR	Saito <i>et al.</i> (2003)
<i>Sphingosinicella</i> <i>microcystinivorans</i>	LR, RR, YR, 6(Z)-Adda	Park <i>et al.</i> (2001)
<i>Sphingomonas</i> B9	LR, RR, 3-DMMLR, -DHLR, LR-Cys,	Harada <i>et al.</i> (2004)
<i>Sphingomonas</i> 7CY	LR, RR, LY, LW, LF	Ishii <i>et al.</i> (2004)
<i>Paucibacter toxinvorans</i>	LR, YR	Rapala <i>et al.</i> (2005)
<i>Sphingopyxis witflariensis</i> LH21	LA, LR	Ho <i>et al.</i> (2007)
<i>Burkholderia</i>	LR, [D-Leu <sup>1</sup> ]LR	Lemes <i>et al.</i> (2008)

A cilindrospermopsina em uma suspensão com alta biomassa de cianobactérias se decompõe rapidamente (meia-vida de 1,5-4h), quando exposta à luz solar. Em águas naturais, em que os níveis de pigmentos das plantas são menores, a meia-vida da cilindrospermopsina é de 11-15 dias, segundo estudo realizado por Chiswell *et al.* (1999, *apud* Apeldoorn *et al.*, 2007). Além disso, nesse mesmo estudo foi demonstrado que, após ser exposta durante 10 dias a 50°C, a cilindrospermopsina é degradada a 57% de sua concentração original. Ela não sofre uma significativa degradação após fervura. Sob luz artificial é degradada lentamente, e não é afetada por mudanças no pH (Apeldoorn *et al.*, 2007).

A degradação de cilindrospermopsina (CYN) por organismos aquáticos endêmicos foi estudada por Smith *et al.* (2007) em águas de abastecimento australianas. No estudo, a

completa degradação de CYN ocorreu entre 7 e 17 dias, após um período inicial de 3 a 7 dias para começar a ocorrer. Os autores concluíram que a biodegradação de CYN só foi evidente em águas que já tiveram histórico de florações tóxicas de *C. raciborskii*. A temperatura desempenha um papel importante na taxa de degradação, sendo que a temperatura ótima foi de 25°C. A concentração de CYN também mostrou influenciar na biodegradação, existindo uma relação direta entre a taxa de degradação e a concentração inicial de CYN. Além disso, os autores constataram que a presença de algicidas à base de cobre afetou adversamente a biodegradação de CYN, inibindo-a, provavelmente devido à inativação dos organismos e/ou das enzimas envolvidas na degradação. Esse fato tem implicações importantes, já que algicidas à base de cobre são comumente utilizados para controlar o crescimento de cianobactérias em corpos d'água.

Em outro estudo recente, realizado por Wormer *et al.* (2008), CYN produzida por *Aphanizomenon ovalisporum* não foi biodegradada pelas comunidades de microrganismos de dois corpos d'água, com e sem exposição prévia à toxina em questão. Isso indica a ausência, nas águas de estudo, de microrganismos adequados ou genes envolvidos na degradação de CYN.

Com relação à anatoxina-a, estudos laboratoriais mostraram sua rápida decomposição na presença de luz solar, e particularmente em pH elevado (Furey *et al.*, 2003), mas é relativamente estável em meio neutro ou ácido (pH 3-5) (Matsunaga *et al.*, 1989). Smith e Sutton (1993) demonstraram que, sob condições de pH normalmente encontradas em reservatórios, a meia-vida da anatoxina-a é de 5 dias. Durante os experimentos realizados por esses autores, a anatoxina-a foi estável por pelo menos 21 dias em pH 4. Por outro lado, em pH 8 e 10, menos de 5% da concentração inicial (10µg/L) foi detectada após 14 dias.

Existem muito poucos relatos referentes à biodegradação de alcalóides neurotóxicos (anatoxina-a, anatoxina-a(s) e saxitoxina). Um trabalho pioneiro realizado por Kiviranta *et al.* (1991 *apud* Edwards e Lawton, 2009) resultou no isolamento de uma espécie de *Pseudomonas* capaz de rápida degradação de anatoxina-a, com uma taxa relatada de 6-10 µg/mL por 3 dias. Posteriormente, Rapala *et al.* (1994) demonstraram a remoção de anatoxina-a por populações de microrganismos presentes na água e sedimento de lagos.

Em todas as amostras, independentemente de histórico de floração ou exposição prévia, anatoxina-a foi completamente removida até o oitavo dia.

No tocante à degradação de saxitoxinas, a questão de sua estabilidade em altas temperaturas é um pouco controversa. Shimizu (2000) coloca que as saxitoxinas são, em geral, consideradas estáveis ao calor, e a simples fervura pode não eliminar a toxicidade. No entanto, a estabilidade pode variar grandemente dependendo da estrutura da saxitoxina e do pH. Segundo o autor, elas são extremamente estáveis a altas temperaturas e em pH baixo. Porém, em pH acima de 8, elas se degradam rapidamente. Dessa forma, no ambiente marinho, STX não persiste por muito tempo, a não ser que seja estabilizada por complexação com outras substâncias. Os compostos N1-hidroxi, como a neoSTX, são mais instáveis em meio ácido e calor do que STX.

Diferentemente, em um estudo sobre degradação térmica de saxitoxinas a diferentes temperaturas e valores de pH, Indrasena e Gill (2000a) verificaram que a concentração de STX aumentou vagarosamente e gradualmente após 40 minutos de aquecimento à 90°C e pH 3-4, enquanto que em pH 6-7 não houve um aumento ou diminuição notáveis. Quando a temperatura foi posteriormente aumentada para 120°C, a concentração de STX começou a declinar após 10 minutos (pH 6-7) e 40 minutos (pH 3-4).

Em um experimento de degradação realizado por Negri *et al.* (1997), à temperatura de 90°C em pH 7,0, a concentração de C-toxinas diminuiu para níveis indetectáveis após 60 minutos de aquecimento, e houve um aumento na concentração de dcGTX2 e dcGTX3, com pico em 20-30 minutos, sendo posteriormente degradadas à mesma concentração inicial. A toxicidade da amostra dobrou nos primeiros 20 minutos, depois decresceu para 30% da sua toxicidade original após 60 minutos.

Castro *et al.* (2004), ao avaliarem o efeito da temperatura na produção e estabilidade de saxitoxinas, em pH 9-10, encontraram que essas eram estáveis por longos períodos: pelo menos 30 dias à 25°C e 50 dias à 19°C. Os resultados indicaram que os epímeros GTX2/GTX3 ou STX podem ser estabilizados no meio por complexação, ou ligação com outras substâncias. Dessa forma, os autores advertem que a simples filtração pode não

garantir a segurança do suprimento de água, e que a remoção de saxitoxinas deve ser considerada mesmo após o decaimento da floração de cianobactérias.

Ao avaliar a estabilidade de saxitoxinas ao armazenamento, Indrasena e Gill (2000b) constataram que, a 25°C, o conteúdo de STX em pH 6 e 7 aumentou em 1,4% e 2,5%, respectivamente, após um mês. Em pH baixo (pH 3-5) não houve mudança significativa. À temperatura de 5°C (pH 3-5), a concentração de STX também permaneceu estável, enquanto que em pH 7 houve aproximadamente 13% de decréscimo após 4 meses. Fica claro, então, que STX é mais estável em níveis baixos de pH. À temperatura de -35°C nenhuma saxitoxina analisada (C-toxinas, GTX1, 2, 3 e 4, neoSTX e STX) apresentou mudança em sua concentração após 4 meses.

Pouco se sabe a respeito da degradação de saxitoxinas no ambiente natural. Estudos realizados por Jones e Negri (1997) demonstraram a persistência de saxitoxinas provenientes da espécie *Anabaena circinalis* por três meses em água de rio, e por períodos ainda mais longos em água destilada, a 25°C. Esses autores chamam a atenção para o aumento de mais de cinco vezes da toxicidade das saxitoxinas, conforme as C-toxinas predominantes foram convertidas a dc-GTXs que são mais tóxicas.

Com relação à biodegradação de saxitoxinas, um recente estudo indicou que elas são suscetíveis à degradação bacteriana durante a passagem em unidade de tratamento biológico. No entanto, enquanto a concentração das C-toxinas predominantes decrescia, havia um aumento de GTX2 e GTX3, como resultado da modificação estrutural ocorrida durante o tratamento biológico, aumentando muito a toxicidade da água filtrada (Kayal *et al.*, 2008).

### **3.4 – TRANSFORMAÇÕES DE SAXITOXINAS**

As moléculas de saxitoxinas podem sofrer transformações químicas que levam à produção de uma variedade de congêneres. Certas condições ambientais podem favorecer a estabilidade ou a interconversão de análogos de saxitoxinas. Embora esses processos ocorram principalmente no ambiente extracelular, reações de transformação podem também ocorrer dentro das células de cianobactérias, como resultado do envelhecimento,

tanto em culturas de laboratório quanto em florações naturais. Algumas transformações levam ao aumento de toxicidade, enquanto outras à diminuição.

Em estudos prévios sobre transformação de saxitoxinas em sistemas marinhos, cinco tipos de reações de transformação foram identificados (Jones e Negri, 1997):

(1) Hidrólise dos grupos carbamoil e N-sulfocarbamoil para formar análogos decarbamoil:

GTX2 → dc-GTX2

GTX3 → dc-GTX

C1 → dc-GTX2

C2 → dc-GTX3

GTX5 → dc-STX

(2) Hidrólise (dessulfonação) do grupo N-sulfocarbamoil para formar análogos carbamato:

C1 → GTX2

C2 → GTX3

GTX5 → STX

(3) Clivagem reductiva do grupo C<sub>11</sub>-sulfato para formar análogo dessulfatado:

C1/2 → GTX5

GTX2/3 → STX

(4) β → α epimerização

C2 → C1

GTX3 → GTX2

dc-GTX3 → dc-GTX2

(5) Redução do grupo N<sub>1</sub>-OH:

GTX1 → GTX2

GTX4 → GTX3

GTX6 → GTX5

neoSTX → STX

Negri *et al.* (1997) analisaram a mudança da composição de saxitoxinas ao longo do envelhecimento da cultura de *Anabaena circinalis*, uma espécie de cianobactéria filamentosa. À medida que a cultura envelhecia, a concentração de C-toxinas diminuía, e era observada a formação de toxinas decarbamoil – dcGTX2 e dcGTX3 (perda do N-sulfocarbamoil pelas C-toxinas). É provável que as toxinas dcGTX sejam, em sua maior parte, derivadas da hidrólise química das C-toxinas, devido à natureza instável das C-

toxinas em pH neutro (Oshima, 1992 e Shimizu, 1993, *apud* Negri *et al.*, 1997). Como as decarbamoilgoniautoxinas são muito mais tóxicas que as C toxinas, essas transformações também levam a um aumento na toxicidade da amostra ou da floração ao longo do tempo.

A temperatura e o pH do meio têm papel fundamental nas transformações de saxitoxinas. Castro *et al.* (2004) observaram que, à temperatura de 19°C e pH 9-10, houve um grande aumento na produção de GTX2/3 e concomitante diminuição de STX. Isso sugere que STX pode ser transformada para produzir GTX2/3 no meio extracelular. Diferentemente, em 25°C, a concentração de STX continuou a crescer no meio extracelular, e os epímeros GTX2/3 cresceram lentamente ao longo do tempo. Os autores destacam também que *C. raciborskii* C10 produziu mais saxitoxinas na menor temperatura analisada (19°C).

Segundo estudo realizado por Indrasena e Gill (2000a) com saxitoxinas purificadas e parcialmente purificadas, a toxicidade total aumentou levemente em pH 3-4, à 90°C, enquanto que em pH 6-7 houve um declínio gradual. Os autores declaram que é difícil determinar o destino das toxinas durante aquecimento em temperaturas moderadamente altas (100 a 110°C) devido à possível simultânea conversão e destruição.

No mesmo estudo supracitado, a concentração de STX (a variante mais tóxica) cresceu vagarosamente e gradualmente após 40 minutos de aquecimento à 90°C e em pH 3-4, enquanto que em pH 6-7 não houve aumento ou diminuição notáveis de sua concentração. STX pode ser produzida pela conversão de GTX2/3, toxina B1 e neoSTX, em aquecimento brando e pH baixo. A conversão de GTX2/3 em STX pelo aquecimento em pH baixo se dá pela eliminação redutiva do grupo sulfonil (Shimizu, 1988 *apud* Indrasena e Gill, 2000a). NeoSTX pode ser convertida em STX pela clivagem redutiva do grupo N-hidroxil. Em temperaturas mais altas (110 a 130°C) a concentração de STX começou a decrescer após um determinado tempo, sendo que as maiores taxas de declínio se deram nos valores de pH maiores (6 a 7).

Vale *et al.* (2008) avaliaram a influência do pH de extração na toxicidade de saxitoxinas. Seus resultados indicaram que a extração em pH baixo de amostras de mexilhão contaminadas por saxitoxinas aumenta a toxicidade das amostras, à medida que saxitoxinas pouco tóxicas são transformadas em análogos mais tóxicos. Isso também é corroborado por Alfonso *et al.* (1993 *apud* Vale *et al.*, 2008), que demonstraram a ocorrência de

transformação de saxitoxinas após fervura em pH 1,1 por 10 minutos: GTX5 → STX; GTX6 → neoTSX; C1 → GTX2; C2 → GTX3; C3 → GTX1; C4 → GTX4. Todas essas transformações levaram a um aumento de toxicidade.

Com base nesses dados, percebe-se que em pH ácido há aumento de toxicidade, enquanto que em pH próximo ao neutro ela decresce gradualmente, e que a maior parte dos análogos de saxitoxinas são termicamente estáveis em temperatura normal de fervura, no pH habitual da água de uso doméstico (em torno de 7).

### **3.5 – APLICAÇÃO DA COAGULAÇÃO E SEDIMENTAÇÃO NA REMOÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS**

Não é recente a preocupação com a remoção de microalgas durante o processo de tratamento de água para consumo humano. Muitas espécies criam problemas de gosto e odor na água, além de serem precursoras de subprodutos de desinfecção (como trihalometanos e ácidos cloroacéticos) e também provocarem a obstrução dos filtros. Além disso, como abordado previamente, algumas cianobactérias produzem toxinas, e ainda, são organismos produtores de compostos que conferem sabor e odor à água, como a geosmina, o que compromete expressivamente sua qualidade e segurança para a saúde da população. Remover esses organismos da água é difícil devido ao seu pequeno tamanho, baixa densidade, e carga superficial negativa.

A primeira ação remediativa adotada pelas companhias de água diante de uma floração de algas é tentar resolver o problema na fonte. Tratamento químico com sulfato de cobre é a técnica mais comumente utilizada para controlar florações de algas em reservatórios. Aplicação de cal é ocasionalmente usada como um tratamento alternativo. A maior desvantagem associada ao uso de algicida é que ele pode levar à lise celular e à subsequente liberação de toxinas dissolvidas, como mostrado em vários estudos durante florações de *Microcystis aeruginosa* tratadas com sais de cobre. A biodegradação das toxinas dissolvidas no reservatório pode demorar vários dias a semanas; durante tais períodos, as unidades de tratamento de água devem ser capazes de lidar eficientemente com essas toxinas (Bruchet *et al.*, 1998).

A prática no Brasil, quando se constata uma floração de cianobactérias tóxicas em um manancial, é a interrupção do uso dessa água para tratamento (Amaral *et al.*, 2001). Isso porque os processos físicos e químicos associados ao tratamento convencional podem desencadear a lise celular com conseqüente liberação de compostos tóxicos intracelulares, que não são removidos pelo tratamento em ciclo completo. A tentativa de adequar a água bruta aos padrões de qualidade da água para consumo humano, por meio de técnicas regulares, pode ampliar o risco à saúde do consumidor. No entanto, tem se buscado metodologias capazes de promover um tratamento efetivo na remoção de cianobactérias e/ou suas toxinas nas estações de tratamento, pois a interdição do uso de água de mananciais contaminados implica uma série de problemas sociais e sanitários.

### **3.5.1 Mecanismos de coagulação atuantes na remoção de algas e cianobactérias**

Em várias partes do mundo foram e têm sido realizados estudos sobre a remoção de algas, cianobactérias e cianotoxinas em várias etapas do processo de tratamento de água. Por meio do tratamento de água adequado, é possível obter-se uma excelente remoção de células de algas, cianobactérias e seus metabólitos.

Antes de tudo, vale destacar que algas e cianobactérias, embora façam parte de grupos taxonômicos distintos, apresentam muitas semelhanças em relação ao seu comportamento durante os processos de tratamento de água, por serem, em sua maioria, organismos de pequenas dimensões e esféricos. Além disso, durante muito tempo as cianobactérias foram consideradas como sendo algas, pelo fato de serem fotossintetizantes. Dessa forma, são também expostas neste trabalho pesquisas referentes à remoção de algas.

A eficiência de remoção de algas varia de caso para caso, geralmente dependendo das características de qualidade da água bruta (como carga orgânica adicional), espécies de algas presentes e suas características morfológicas e fisiológicas e parâmetros relevantes dos processos de tratamento, como pH de coagulação, tipo e dosagem de coagulante, energia de entrada e tempo de floculação (Vlaški *et al.*, 1996).

Na seqüência do tratamento, a fase da aglomeração (coagulação/floculação) é provavelmente a mais crítica na remoção de algas. A baixa densidade das algas tende a

mantê-las continuamente no estado flutuante. Dessa forma, condições de coagulação que produzam um floco com boas características de sedimentação são essenciais para uma sedimentação eficiente.

Analisando a prática de tratamento de água na remoção da cianobactéria *Microcystis aeruginosa*, Vlaški *et al.* (1996) confirmaram o que já havia sido reportado por Edzwald (1993), que para a etapa de sedimentação ser efetiva são requeridos extensos períodos de floculação. Além disso, flocos de algas freqüentemente demandam doses mais altas tanto de coagulantes quanto de auxiliares de floculação.

Segundo Edzwald (1993), a estabilidade da suspensão de algas, o que dificulta a sua remoção por processos de tratamento de água convencionais, deve-se a três fatores: (1) interações eletrostáticas repulsivas por causa da carga superficial, (2) efeito hidrofílico em razão das moléculas de água adsorvidas na superfície das células e (3) efeito estérico devido às macromoléculas adsorvidas ou matéria orgânica extracelular.

A coagulação por adsorção e neutralização de carga forma a base da desestabilização e agregação, e pode ser empregada para desestabilizar tanto suspensões de algas quanto de bactérias. Além disso, um grande número de agregados é formado pelo mecanismo de formação de ponte. No entanto, no caso de algas filamentosas, algas grandes ou espécies ciliadas, uma floculação satisfatória só é alcançada quando grandes quantidades de flocos de hidróxido de alumínio são produzidas na água, os quais capturam as algas - mecanismo de varredura (Bernhart e Clasen, 1991).

Simple coagulação às vezes não é suficiente para desestabilizar suspensões de algas. Enquanto a carga superficial é uma importante propriedade das algas que afeta sua estabilidade, outros fatores são também importantes, como a matéria orgânica extracelular (MOE).

Alguns tipos de algas têm compostos macromoleculares adsorvidos à sua parede celular periférica, que consistem principalmente de polissacarídeos, pectinas, lipoproteínas e ácidos poliamínicos. Essas substâncias que recobrem a alga têm uma consistência gelatinosa, são excretadas durante o seu crescimento e influenciam substancialmente no comportamento de sedimentação e filtração de algas floculadas. Muitas delas, segundo

Bernhart e Clasen (1991), se comportam como polieletrólitos aniônicos, enquanto algumas parecem ser de natureza não-iônica. A MOE pode causar estabilidade devido a efeitos estéricos, ou pode auxiliar a floculação através da formação de pontes entre as partículas, dependendo da força iônica (Edzwald, 1993).

A experiência de tratamento de água de diferentes lagos, conforme descreve Bernhart e Clasen (1991), mostrou que algas, como *Planktosphaeria* e grandes diatomáceas, assim como bactérias que oxidam ferro e manganês, podem ser quase completamente eliminadas por dosagens relativamente altas de sulfato de alumínio (>0,5 mg Al/L), em pH de floculação aproximadamente 7 (predominância do mecanismo de varredura). Em contraste, nem mesmo 0,8 mg Al/L e uma dosagem de auxiliar de floculação não-iônico conseguem uma eliminação de 60% de outros tipos de algas, como *Cryptomonas* (espécie flagelada), mesmo que elas ocorram em quantidades tão pequenas quanto 20 cel/mL. Algas móveis, como o dinoflagelado *Gymnodinium*, não são retidas de modo algum. A porcentagem de remoção varia para pequenos flagelados e ciliados.

Speedy *et al.* (1969) encontraram uma remoção média de 37% das algas após coagulação com sulfato de alumínio, floculação e sedimentação, em águas que continham uma grande quantidade de algas, dentre as quais diatomáceas, cianobactérias (*Aphanizomenon* e *Oscillatoria*), *Euglena* e *Chlamydomonas*. Os autores mencionam que o floco de alumínio é muito pequeno e leve, e como resultado, muitas algas não são carregadas ou, se móveis, são capazes de se soltar do floco. Com a interrupção do uso de alumínio, e com a utilização de cal, tanto para clarificação quanto para abrandamento, a remoção alcançada foi de 97% após a sedimentação. A forte concentração do floco de cal captura as algas presentes e as carregam para o fundo do tanque.

Bernhart e Clasen (1991) reportaram que a remoção de *Oscillatoria rubescens*, uma espécie de cianobactéria filamentosa, foi muito mais eficiente com a adição de auxiliar de floculação aniônico ou não-iônico em tanques consecutivos de floculação. Polímeros naturais, como produtos não-iônicos e aniônicos de amido, são particularmente adequados.

No caso de algas flageladas (como *Cryptomonas* e *Rhodomonas*), Bernhart e Clasen (1991) destacam que elas são capazes de se liberar do floco agregado em virtude de sua mobilidade, fenômeno já comentado por Speedy *et al.* (1969). Altas dosagens de sais

metálicos, em pH 7, com formação de hidróxidos metálicos, podem garantir uma remoção de 50% dessas algas por varredura. Entretanto, uma coagulação satisfatória só ocorrerá se a motilidade das células for inibida antes da adição do coagulante. Isso pode ser conseguido usando agentes oxidantes, como ozônio e permanganato de potássio, ou mesmo cloro e dióxido de cloro.

Considerando, portanto, a grande influência das características das algas e cianobactérias sobre os mecanismos de coagulação, é de se esperar que cianobactérias como *Microcystis* (de forma unicelular colonial) e *Cylindrospermopsis* (de forma filamentosa), apresentem remoções distintas durante o tratamento de água, o que dificulta muito o processo quando esses dois gêneros estão presentes.

### **3.5.2 – Remoção de cianobactérias**

Há alguma controvérsia na literatura a respeito da eficiência do tratamento convencional (coagulação, floculação, sedimentação, filtração e cloração) para remoção de células de cianobactérias. Alguns artigos relatam a ocorrência de lise celular, liberação de toxinas intracelulares e compostos que conferem gosto e odor à água, enquanto outros relatam não ter havido nenhuma liberação de tais compostos na água (Teixeira e Rosa, 2006).

Coagulantes como sulfato de alumínio, sulfato de ferro, cloreto férrico, e coagulantes polimerizados como cloreto de polialumínio (PAC), têm sido utilizados com sucesso para tratamento de águas ricas em algas. Segundo Teixeira e Rosa (2006), coagulantes pré-polimerizados têm algumas vantagens sobre os coagulantes metálicos: melhor eficiência geral de tratamento; faixa de pH de trabalho mais ampla; menor sensibilidade a temperaturas mais baixas; e menor concentração residual de íon metálico.

Experimentos conduzidos pela UKWIR<sup>5</sup> (*apud* Hart *et al.*, 1998) mostraram que as condições de vazão e mistura associadas ao tratamento de água não são capazes de promover a lise celular ou liberação de toxinas. Acrescenta-se que mudanças no pH de 5 para 9 não causaram nenhuma liberação de toxinas intracelulares. Nesse trabalho, a coagulação com sulfato de alumínio mostrou-se efetiva na redução da concentração total

---

<sup>5</sup> UK Water Industry Research Limited.

de microcistina. Porém, isso foi devido à remoção das células de cianobactérias, e não da remoção de toxinas extracelulares, de forma que a concentração destas continuou a mesma.

Experimentos realizados por Chow *et al.* (1999), na avaliação do impacto dos processos de tratamento convencionais nas células da cianobactéria *Microcystis aeruginosa*, em escala de bancada e piloto, demonstraram não ter havido dano celular durante tratamento da água com sulfato de alumínio, durante ação mecânica (na mistura rápida), e durante floculação, o que foi indicado pelos seguintes resultados (obtidos por teste de jarros e avaliação da densidade e viabilidade celular, conteúdo de clorofila-*a* e ficocianina, e concentração de microcistina extracelular): não houve mudança significativa no conteúdo de clorofila-*a* demonstrando não ter ocorrido dano às células, nem liberação de toxinas; a viabilidade celular<sup>6</sup> foi de 100% após coagulação, com dosagem média (2,4 mg/L, pH sendo reduzido de 8,7 para 7,2) e ótima de sulfato de alumínio (4,8 mg/L, pH sendo reduzido de 8,7 para 6,7); não houve variação da viabilidade celular nem liberação adicional de microcistina-LR durante mistura rápida ( $G = 480 \text{ s}^{-1}$  durante 1 minuto); após floculação, as células permaneceram intactas no sobrenadante e no lodo, o que foi demonstrado pelo estudo de viabilidade e densidade de células, indicando que a floculação não causou a liberação de microcistina-LR pela espécie *M. aeruginosa*. O estudo em escala piloto confirmou esses resultados. Entretanto, os autores não comentam sobre o comportamento do lodo acumulado a partir da sedimentação dos flocos.

Em estudo anterior, Chow *et al.* (1998), com a utilização de cloreto férrico como coagulante, observaram uma redução na liberação de microcistinas por célula durante o período de experimento. Isso indicou claramente que a adição de cloreto férrico não causou danos às células de *Microcystis aeruginosa* – o que liberaria toxinas. Os autores também constataram que a adição de cloreto férrico na água estimulou o crescimento das espécies *Anabaena circinalis* e *Microcystis aeruginosa*, o que pôde ser observado pelo aumento do número total de células quando o referido coagulante foi utilizado – quanto maior a dose de coagulante utilizada, maior foi o aumento do número total de células, comparando-se com o controle. Segundo os autores, isso pode indicar que o ferro é um nutriente limitante na água do reservatório utilizado para o experimento.

---

<sup>6</sup> Mede o número de células com uma membrana celular intacta (Chow *et al.*, 1998).

Vlaški *et al.* (1996) obtiveram uma remoção de 87% de células de *Microcystis aeruginosa* após sedimentação, sob condições otimizadas de coagulação com cloreto férrico e floculação. Drikas *et al.* (2001) encontraram resultado semelhante: uma remoção de 70 a 83% de células de *M. aeruginosa* após coagulação (dosagem de 65 mg/L de sulfato de alumínio), floculação e sedimentação, utilizando testes de jarros. Os autores demonstraram também que o alumínio não teve efeito significativo na viabilidade celular, e que a floculação não causou uma liberação adicional de microcistina-LR na água.

No contexto da remoção de células da cianobactéria *Microcystis aeruginosa*, utilizando cloreto férrico como coagulante, foi demonstrada por Vlaški *et al.* (1997) a influência da dose de coagulante, do valor do pH de coagulação e das condições de floculação no tamanho do floco produzido, assim como em sua densidade - características que afetam a sedimentação. Variando a dose de coagulante, eles constataram uma variação da frequência dos tamanhos dos flocos (na região de tamanhos maiores, >50µm, e na região de tamanhos menores, <50µm), durante floculação, e após sedimentação. Vale ressaltar que a dose ótima de coagulante depende da característica da água bruta como, por exemplo, a concentração de algas presente.

Em relação ao valor do pH de coagulação, Vlaški *et al.* (1997) observaram que em pH 6, comparando-se com pH 7 e 8, houve um aumento da frequência de partículas na região de tamanhos maiores de flocos (>50µm). Em valores de pH entre 7 e 8, a aglomeração de algas provavelmente é alcançada unicamente por varredura; isso foi confirmado pelas medidas da carga superficial negativa dos flocos. Em condições de valores de pH menores, adsorção e neutralização de carga contribuem substancialmente à floculação das partículas, além de ocorrer simultaneamente coagulação por varredura (dependente da dose de coagulante). Nesse estudo, essa última condição resultou em uma floculação mais eficiente e quase duplicou a eficiência de remoção, sugerindo que adsorção e neutralização de carga desempenham um importante papel na floculação de algas, como constatado também por Bernhardt e Clasen (1991).

O uso de auxiliares de coagulação orgânicos ou inorgânicos, de natureza catiônica, não-iônica ou aniônica tem se mostrado benéfico em vários casos, especialmente quando estão envolvidas baixas concentrações de partícula. A experiência mostra que os polímeros catiônicos sintéticos são muito mais eficientes que os outros. Nos testes realizados por

Vlaški *et al.* (1997) foi demonstrado que uma melhor aglomeração foi conseguida com a utilização de um polímero catiônico. Seu uso resultou em uma maior porção de partículas na região de tamanhos maiores. Além disso, o aumento da dose de polímero teve como conseqüência a diminuição do volume da fração de partículas de tamanhos maiores. Isso sugere que os flocos ficaram mais densos, o que implica na importância da relação tamanho-densidade do floco na eficiência do processo posterior (sedimentação).

Isso é corroborado por vários estudos, inclusive Amaral *et al.* (2001), que verificaram que o uso de polímero não-iônico ou catiônico é bastante efetivo, tanto para redução da cor e turbidez como para remoção de cianobactérias.

Teixeira e Rosa (2006) encontraram melhor remoção de células de *Microcystis aeruginosa* utilizando WAC<sup>7</sup> do que sulfato de alumínio, sem haver danos nas células, durante os processos de coagulação, floculação e sedimentação, e com uma dosagem de coagulante variando de 2 a 20 mg/L Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Dois estudos realizados no Brasil avaliaram a eficiência de remoção de *Cylindrospermopsis raciborskii* – Oliveira (2005) e Santiago (2008) – e *Microcystis protocystis* – Santiago (2008) – por meio da sedimentação e da flotação por ar dissolvido, em escala de bancada, utilizando o teste de jarros.

No trabalho desenvolvido por Oliveira (2005) – em água contendo cerca de 10<sup>6</sup> cel/mL de *Cylindrospermopsis raciborskii* e coagulada com sulfato de alumínio em valores de pH na faixa de 5,5 a 7 – obteve-se remoção de clorofila-a de até 86%. As melhores eficiências de remoção de turbidez e clorofila-a foram obtidas no valor de pH de coagulação igual a 5,5, no qual o mecanismo de adsorção-neutralização de cargas é favorecido.

Santiago (2008) utilizou dois coagulantes, sulfato de alumínio e cloreto férrico, e uma faixa de pH de 5,5 a 8, em água destilada inoculada com células de *Cylindrospermopsis raciborskii* ou de *Microcystis protocystis*, com densidade final de células de cerca de 10<sup>5</sup> cel/mL. Seus resultados mostram eficiência de remoção insatisfatória de *C. raciborskii*

---

<sup>7</sup> WAC: polihidroxiclorsulfato de alumínio, um coagulante de alumínio pré-polimerizado, com um cátion altamente carregado e parcialmente neutralizado, assim a coagulação é predominantemente por neutralização de carga (Teixeira e Rosa, 2006).

tanto por sedimentação quanto por flotação, influenciada, principalmente, pela morfologia das células dessa cianobactéria. O cloreto férrico apresentou melhor desempenho do que o sulfato de alumínio nos ensaios de sedimentação, principalmente para as células de *M. protocystis* e nas dosagens mais altas (25 a 40 mg/L).

Uma pesquisa realizada pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), como parte do Programa de Pesquisas em Saneamento Básico (PROSAB), também avaliou a remoção de cianobactérias por meio de técnicas convencionais de tratamento de água (Morais *et al.*, 2009). Foram realizados ensaios de bancada, com água de estudo contendo  $10^6$  cel/mL de *Microcystis aeruginosa* ou *Cylindrospermopsis raciborski*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante, e faixa de pH de 5 a 8.

A remoção de células de *M. aeruginosa* após sedimentação foi superior a 90% a partir do pH 6,5, sendo que as melhores eficiências foram obtidas em valores de pH de 7,0 a 8,0, para dosagens de sulfato de alumínio acima de 8 mg/L. Com células de *C. raciborskii*, a faixa de pH que apresentou melhores resultados de remoção (acima de 90%) foi de 6,5 a 7,5, principalmente com as dosagens mais altas de coagulante (20 a 25 mg/L). A coagulação com valor de pH igual a 8,0 apresentou uma pequena região com boa remoção (acima de 90%), com dosagens altas de sulfato de alumínio (a partir de 32 mg/L) (Morais *et al.*, 2009).

Outro estudo, com a mesma espécie de cianobactéria – *C. raciborskii* – foi realizado por Amaral *et al.* (2001) em escala de bancada e escala real (unidade de tratamento compacta pressurizada). A água continha cerca de  $10^5$  cel/mL de *C. raciborskii*, e foi testada a utilização de sulfato de alumínio isoladamente ou em associação com carvão ativado em pó, polímero não-iônico e polímero catiônico. Os testes em escala de bancada, mesmo utilizando dosagens altas de sulfato de alumínio (80 a 90 mg/L) não apresentaram resultado satisfatório de remoção de turbidez e cor da água (máximo de 60% e 70% de remoção, respectivamente) após sedimentação. A combinação do sulfato de alumínio com carvão ativado em pó e polímeros (principalmente o não-iônico) produziu resultados melhores de remoção, sobretudo de cor.

Com base nos estudos abordados, pode-se concluir que os processos de tratamento convencionais, utilizando sulfato de alumínio ou cloreto férrico como coagulantes, são

eficientes para remover células de *Microcystis aeruginosa*. Já com relação à eficiência de remoção de células de *Cylindrospermopsis raciborski*, há divergências. Alguns estudos apontam boa eficiência de remoção, enquanto outros mostram certa dificuldade em se remover essa espécie filamentosa de cianobactéria.

### 3.5.3 – Remoção de cianotoxinas

Em relação às toxinas de cianobactérias, existem muitos mecanismos pelos quais elas podem entrar na água para abastecimento. Um deles é a ocorrência de lise celular no próprio reservatório, ou outra fonte de água, o que resulta na liberação de toxinas dissolvidas, que vão ser levadas à estação de tratamento. Outro possível mecanismo é quando células saudáveis contendo toxinas entram na estação e passam pelos processos de tratamento intactas até a torneira do consumidor. Existe também a possibilidade que células de cianobactérias tóxicas possam ser destruídas pelos ambientes químicos e físicos associados ao tratamento de água, que podem causar lise celular e liberação de toxina, novamente com as toxinas chegando até o consumidor (Hart *et al.*, 1998).

Os diferentes tipos de cianotoxinas exibem comportamentos variados nos processos de tratamento de água. Utilizando sulfato de alumínio como coagulante, Keijola (1988) reporta, por exemplo, que a anatoxina-a foi removida à metade de sua concentração inicial durante o processo de coagulação com adição simultânea de carvão ativado em pó, enquanto as hepatotoxinas não foram removidas eficientemente.

Os processos de tratamento convencionais (coagulação, floculação, sedimentação, filtração) são ineficientes na remoção de metabólitos extracelulares dissolvidos (toxinas e compostos que conferem sabor e odor), como mostrado em estudos realizados por Keijola (1988), Hart *et al.* (1998), Hoeger *et al.* (2004), entre outros.

Hoeger *et al.* (2004) observaram que, mesmo com uma excelente remoção de células de cianobactérias da água bruta (>99%), após um processo de tratamento convencional (floculação, sedimentação, adição opcional de carvão ativado em pó, filtração em areia, cloração), não foi alcançada a eliminação das toxinas liberadas ou já presentes na água.

A média de eliminação de microcistinas e saxitoxinas na estação de tratamento estudada por Hoeger *et al.* (2004) foi de aproximadamente 40% após sedimentação e 60% após filtração. Essa porcentagem de remoção deveu-se à remoção de células, e não à remoção de toxinas livres. Ressalta-se que esse é um dos raros trabalhos que relatam a remoção de saxitoxinas no tratamento convencional. Os autores encontraram também que a proporção de microcistina extracelular (livre) aumentou de 17,5% na água bruta para 97,9% após sedimentação e filtração. Isso pode ser explicado pela degradação do material celular no lodo do decantador e das células que permanecem no filtro de areia. Dessa forma, a remoção completa do lodo e a lavagem dos filtros no tempo adequado são essenciais para minimizar o aumento da concentração de cianotoxinas na água filtrada.

Assis (2006), ao estudar a remoção de microcistinas por meio de flotação por ar dissolvido, utilizando água de estudo contaminada com material de lise celular, incluindo microcistinas dissolvidas, verificou que, quando utilizado sulfato de alumínio como coagulante, com valores de pH de coagulação de 5 e 7, a remoção de microcistinas extracelulares foi baixa (entre 30 e 50%). Quando utilizado cloreto férrico como coagulante, a remoção de microcistinas extracelulares após coagulação/floculação/flotação, também não foi eficiente. Apesar do estudo de Assis (2006) focar a flotação e não sedimentação, o comportamento em relação às microcistinas dissolvidas é representativo, pois é basicamente influenciado pelas etapas de coagulação e floculação. O comportamento observado é compatível com os resultados de outros estudos, que mostram a ineficiência na remoção de toxinas dissolvidas durante tratamento convencional (Keijola, 1988; Hart *et al.*, 1998; entre outros), e flotação por ar dissolvido (Teixeira e Rosa, 2006).

O ideal é remover as células de cianobactérias intactas, pois se espera que retenham os metabólitos dentro da célula – a não ser que sejam rompidas durante o processo de tratamento. Por outro lado, mesmo se forem removidas intactas, elas são acumuladas no lodo do decantador e retidas no filtro, e nesses ambientes podem sofrer lise e liberar toxinas, como processo natural de envelhecimento. Dessa forma, não se deve preocupar apenas com a remoção das células, mas também com a remoção do lodo do decantador com maior periodicidade, e lavagem dos filtros em tempo adequado, diminuindo a possibilidade de ocorrência de lise e liberação de toxinas.

### 3.6 – LISE CELULAR NO DECANTADOR

O lodo acumulado nos decantadores pode aumentar a concentração de toxinas na água clarificada, devido à lise das células de cianobactérias. Assim, a água potável pode ser uma das principais fontes de exposição do homem às cianotoxinas.

Raros trabalhos abordam ou mencionam esse tema. Um deles é relatado por Drikas *et al.* (2001). Nesse trabalho, os autores realizaram experimentos em escala de bancada e piloto para avaliar a eficiência de remoção de células da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* durante os processos de tratamento convencionais, utilizando sulfato de alumínio como coagulante. Eles avaliaram também a ocorrência de lise celular e liberação de microcistinas no lodo sedimentado. As Figuras 3.6 e 3.7 reproduzem os resultados obtidos em relação à densidade de células e microcistinas no lodo sedimentado.

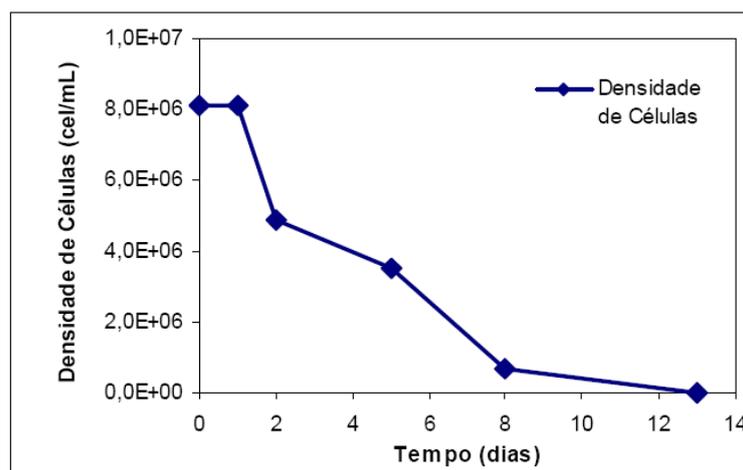


Figura 3.6 – Concentração de células de *M. aeruginosa* no lodo sedimentado (Drikas *et al.*, 2001).

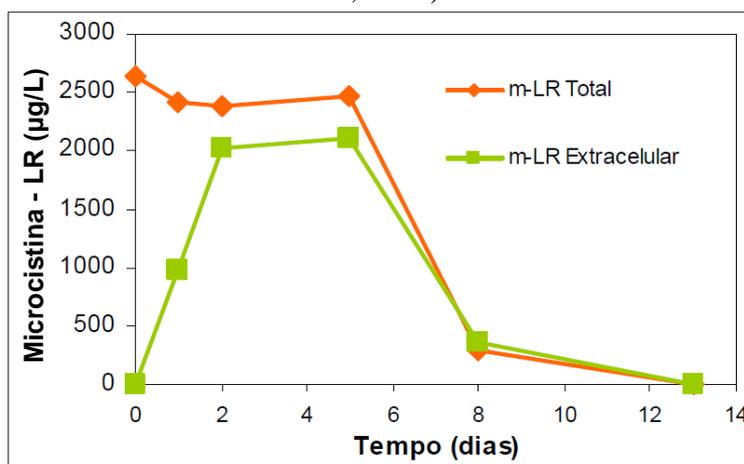


Figura 3.7 – Concentração de microcistina-LR extracelular e total no lodo sedimentado (Drikas *et al.*, 2001).

Da Figura 3.6 verifica-se que a densidade de células caiu para a metade do seu valor inicial aproximadamente no terceiro dia, e foi continuamente diminuindo durante o período do experimento (14 dias). Já na Figura 3.7 é possível observar que a concentração extracelular de microcistinas aumentou até o segundo dia, quando a concentração extracelular essencialmente equiparou-se à concentração total de microcistina. Esse aumento da concentração extracelular de microcistina indicou a quebra das células e liberação de toxinas, que ocorreu em apenas dois dias após o início do experimento. Após o quinto dia tanto a concentração total de microcistina quanto a extracelular começaram a diminuir, indicando sua degradação, e chegando praticamente a zero no 13º dia.

O comportamento das células de *Cylindrospermopsis raciborskii* e saxitoxinas (neoSTX e STX) durante armazenamento do lodo, utilizando dois valores de pH de coagulação, 6 e 7, foi investigado por Oliveira (2005). Para as três dosagens de sulfato de alum testadas, verificou-se que houve um decaimento significativo da concentração de clorofila-a (biomassa das células) até do 10º dia de armazenamento do lodo, que foi posteriormente diminuindo de forma menos acentuada (Figura 3.8 e Figura 3.9).

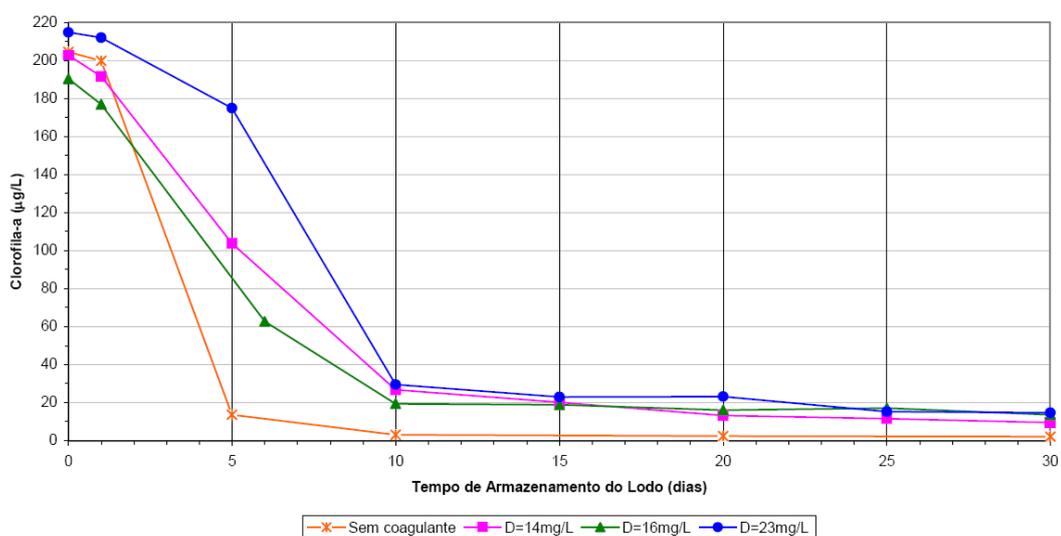


Figura 3.8 – Concentração de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo para valor de pH de coagulação igual a 6,0 (Oliveira, 2005).

Ao mesmo tempo em que decaiu a concentração de clorofila-a, foi observado que, desde o início do experimento até o 10º dia de armazenamento, tanto a concentração de neoSTX quanto de STX aumentaram, menos na amostra em que não foi adicionado coagulante, com pH de coagulação igual a 6 (Figura 3.10).

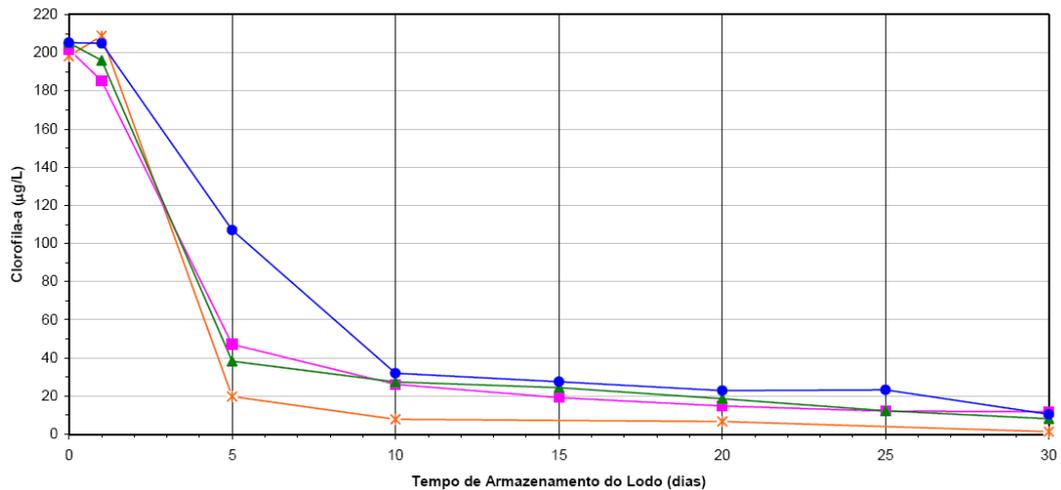


Figura 3.9 – Concentração de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo para valor de pH de coagulação igual a 7,0 (Oliveira, 2005).

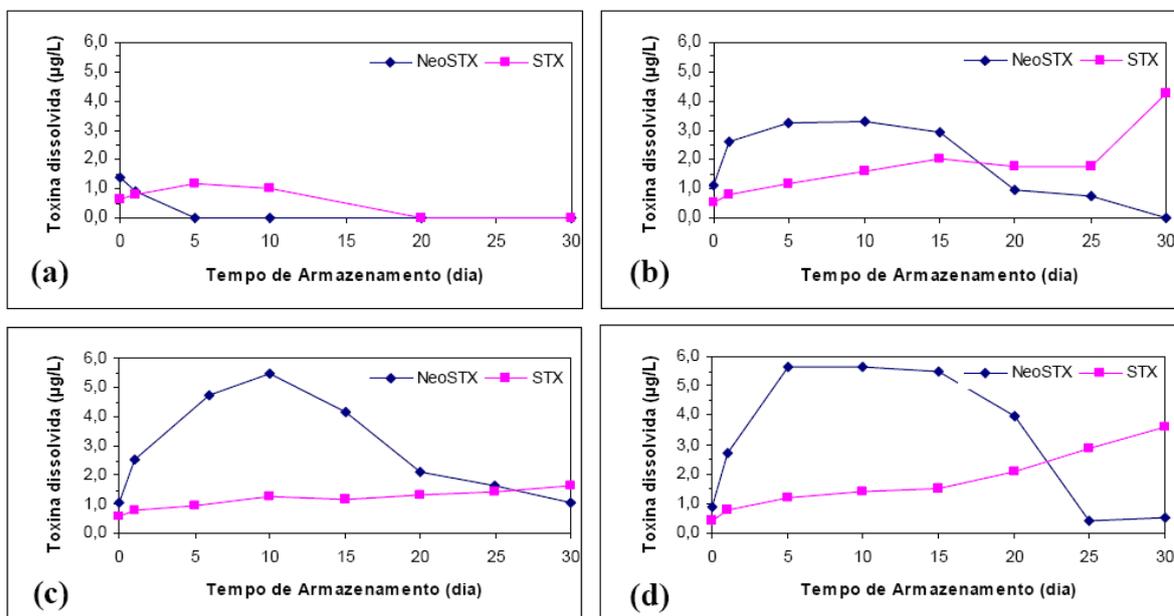


Figura 3.10 – Concentração de toxinas ao longo do período de armazenamento do lodo, para valor de pH de coagulação igual a 6,0. (a) sem coagulante; (b) d = 14 mg/L; (c) d = 16 mg/L; (d) d = 23 mg/L (Oliveira, 2005).

Ao utilizar pH de coagulação igual a 7, os resultados encontrados por Oliveira (2005) mostram uma grande diferença no comportamento das toxinas STX e neoSTX durante os dias de armazenamento de lodo, em relação ao pH 6, como pode ser observado comparando-se as Figuras 3.10 e 3.11.

Quando utilizado pH de coagulação igual a 6, pode-se observar que, mesmo após 30 dias de armazenamento, ainda foi possível detectar a presença de STX na água. Já com pH 7, nenhuma das duas toxinas foi detectada após o 25º dia. O autor comenta que “a não

detecção de neoSTX e STX no pH 7, após um período mais elevado de armazenamento, não é garantia de uma água segura em termos de saxitoxinas, uma vez que ainda não se esgotaram as pesquisas sobre quais outras variantes de saxitoxinas são produzidas pela cepa T3”.

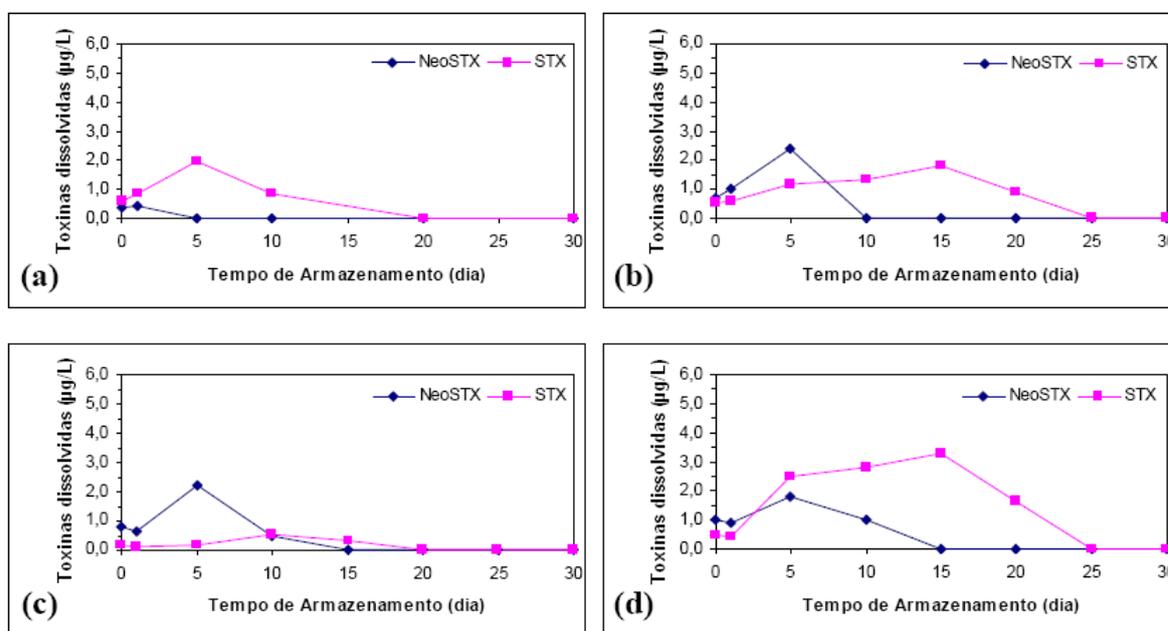


Figura 3.11 – Concentração de toxinas ao longo do período de armazenamento do lodo, para valor de pH de coagulação igual a 7,0. (a) sem coagulante; (b) d = 14 mg/L; (c) d = 16 mg/L; (d) d = 23 mg/L (Oliveira, 2005).

Com base nos resultados de clorofila-a e concentrações de STX e neoSTX durante o período de armazenamento do lodo, Oliveira (2005) conclui que a redução da biomassa de *Cylindrospermopsis raciborskii* nos 10 primeiros dias, nas amostras em que foi adicionado coagulante, juntamente com o aumento da concentração de toxinas dissolvidas, indica a morte celular e a liberação de toxinas para a massa de água, comportamento similar ao observado por Drikas *et al.* (2001) para células de *Microcystis aeruginosa*. Adicionalmente, o autor menciona que a diminuição observada na concentração de neoSTX e o concomitante crescimento da concentração de STX sugerem que parte da neoSTX pode estar sendo transformada em STX.

Os resultados de Drikas *et al.* (2001) e Oliveira (2005) corroboram o trabalho de Hoeger *et al.* (2004), descrito no item 3.5.3. Dessa forma, os autores advertiram quanto à importância da remoção completa do lodo e a lavagem dos filtros em tempo adequado, pois eles constataram um grande aumento das concentrações de toxinas após tratamento.

Deve-se atentar também para o reciclo do sobrenadante do lodo, que é praticado em algumas estações de tratamento de água após o adensamento do lodo e que pode conter grandes concentrações de toxinas, como abordado previamente. Outra questão importante é a disposição final do lodo, que deve ser adequada, de forma a evitar problemas sanitários e ambientais.

### 3.7 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

*Microcystis aeruginosa* (Figura 3.12), pertencente à Ordem Chroococcales, é uma espécie de cianobactéria colonial, de forma esférica. Suas colônias consistem de células unidas numa massa de mucilagem que pode ser de vários milímetros de comprimento. Já *Cylindrospermopsis raciborskii* (Figura 3.13), da Ordem Nostocales, é uma cianobactéria filamentosa, sem ramificação, podendo apresentar heterocitos (células especializadas em fixar nitrogênio retirado atmosférico) e acineto – células diferenciadas e aumentadas, que servem como uma estrutura de sobrevivência quando as condições do ambiente se tornam desfavoráveis (Ceballos *et al.*, 2006). Essas são duas espécies de cianobactérias com morfologias muito distintas. Como foi exposto anteriormente, a forma das células tem grande influência na sua remoção no tratamento de água. Sendo assim, a remoção de células de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* pode envolver diferentes mecanismos.

As toxinas produzidas por algumas cepas dessas duas espécies de cianobactérias – microcistinas, por *Microcystis aeruginosa*, e saxitoxinas por *Cylindrospermopsis raciborskii* – causam grande preocupação pelos efeitos hepatotóxicos (microcistinas) e neurotóxicos (saxitoxinas) que podem provocar quando ingeridas acima de um determinado limite.

De um modo geral, os estudos indicam que o tratamento convencional é capaz de remover eficientemente as células de cianobactérias, mas são pouco eficientes na remoção das cianotoxinas, necessitando de técnicas complementares para remoção dessa fração dissolvida (Teixeira e Rosa, 2006; Assis, 2006; Hoeger *et al.*, 2004; Hart *et al.*, 1998; Keijola, 1988). No entanto, raros trabalhos (Teixeira e Rosa, 2006; Drikas *et al.*, 2001; Chow *et al.*, 1999) abordam a questão da ocorrência de lise celular nas diferentes etapas do tratamento, e a conseqüente liberação de cianotoxinas e sua degradação ao longo do tempo.

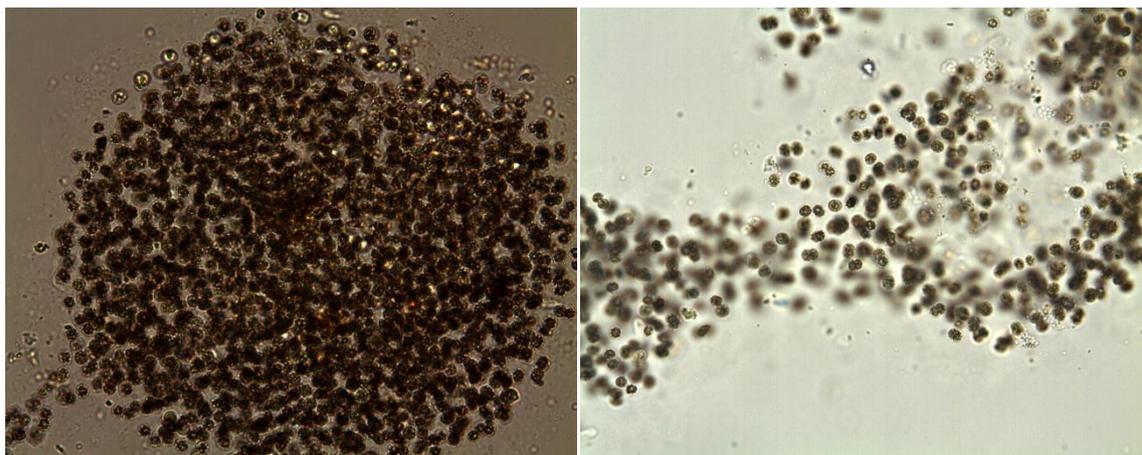


Figura 3.12 – *Microcystis aeruginosa* amostrada do Lago de Manso - Mato Grosso - Brasil (Messias, 2009).



Figura 3.13 – Filamentos de *Cylandrospermopsis raciborskii* (cepa T3) da cultura do Laboratório de Análise de Águas (LAA – UnB – Brasília).

Uma vez presentes na água, as toxinas só são removidas por processos complementares, como ozonização, oxidação, filtração em carvão ativado entre outros. Como essas tecnologias são muitas vezes onerosas, o ideal é remover as células de cianobactérias intactas por todo o processo de tratamento de água, para que não haja liberação de toxinas. No entanto, a depender do tempo que o lodo do decantador fica armazenado, há lise das células e conseqüente liberação de toxinas para a água clarificada, comprometendo a segurança da água para consumo humano. Há ainda a possibilidade de ocorrer lise no processo de filtração, onde as células ficam retidas, e, na senescência, também liberam toxinas. Dessa forma, a questão da periodicidade de descarga do lodo é de extrema importância, assim como a lavagem dos filtros em tempo adequado.

Como foi visto nos itens 3.3 e 3.4, o pH e a temperatura da água têm grande influência na degradação e transformação de saxitoxinas. Já as microcistinas, são muito estáveis quimicamente, mas são suscetíveis à quebra por uma variedade de bactérias.

A influência do tipo e dosagem de coagulante no processo de degradação de microcistinas e saxitoxinas foi parcamente estudada, assim como a influência do pH de coagulação. Esse é o avanço do presente trabalho, que veio analisar o efeito de diferentes valores de pH de coagulação e diferentes dosagens de sulfato de alumínio e cloreto férrico, no tempo de lise celular de duas espécies de cianobactérias – *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* – ao longo do tempo de armazenamento do lodo no decantador, bem como analisar a liberação e degradação de toxinas.

## 4 – METODOLOGIA

Neste estudo, desenvolvido no Laboratório de Análise de Águas (LAA) do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília, foi avaliada a influência do coagulante, de sua dosagem, e do pH de coagulação na lise de células de cianobactérias, na liberação e degradação de toxinas no lodo de decantadores ao longo do tempo.

Duas espécies de cianobactérias, morfologicamente distintas e suas respectivas toxinas foram estudadas: *Microcystis aeruginosa*, produtora de microcistinas; e *Cylindrospermopsis raciborskii*, produtora de saxitoxinas.

Os experimentos foram realizados em escala de bancada, utilizando o teste de jarros, compreendendo as fases de coagulação, floculação, sedimentação, e análise do lodo sedimentado ao longo do tempo. Foram utilizados dois coagulantes: sulfato de alumínio [ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 14-16 \text{H}_2\text{O}$ , PA] e cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ , PA).

### 4.1 – ÁGUA DE ESTUDO

A água base utilizada nos experimentos foi proveniente do lago Paranoá (Brasília – DF), para simular o tratamento de uma água com características reais e sujeita à floração.

A alcalinidade, a clorofila-a, a condutividade, a absorvância a 254 nm, o valor do pH e da turbidez foram determinados na água base nos dias de atividade experimental, para avaliar a uniformidade das características da água.

Foram adicionadas à água base, células cultivadas das cianobactérias em estudo, até atingirem a densidade de, aproximadamente,  $10^6$  cel/mL, para simular uma situação de floração. Nessa água, foram determinadas as variáveis alcalinidade, condutividade, absorvância a 254 nm, clorofila-a, turbidez, pH e contagem de células de cianobactérias.

Assim, para o desenvolvimento do trabalho, duas águas de estudo foram avaliadas:

- Água de Estudo 1 (AE1): Água do lago Paranoá inoculada com células de *Microcystis aeruginosa*, com densidade de cerca de  $10^6$  cel/mL.

- Água de Estudo 2 (AE2): Água do lago Paranoá inoculada com células de *Cylindrospermopsis raciborskii*, com densidade de cerca de  $10^6$  cel/mL.

O cultivo de *Microcystis aeruginosa* (cepa NPLJ4 – tóxica, produtora de microcistina) foi realizado no LAA. Essa cepa foi originalmente fornecida pelo Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias (LETC) do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

A cepa T3 das células de *Cylindrospermopsis raciborskii* também foi cultivada no LAA e é produtora das variantes STX, neoSTX, dcSTX, dcneoSTX (Magalhães, 2005 *apud* Oliveira, 2005), C1 e C2 (Pomati *et al.*, 2004). Foi fornecida pelo mesmo laboratório supracitado.

As condições da sala onde são cultivadas as espécies são as seguintes: temperatura em torno de 24° C e 12 horas de ciclo de luz com uma intensidade luminosa de aproximadamente  $40 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ , durante todo o período de cultivo. O cultivo é unialgal em meio de cultura ASM-1.

Importante mencionar que, na fase exponencial, o cultivo produzido no LAA atinge a ordem de  $10^7$  cel/mL. Para manter, então, a densidade de células da água de estudo em aproximadamente  $10^6$  cel/mL, houve um monitoramento do cultivo por meio da contagem de células e a devida diluição na água base (água do lago Paranoá).

#### **4.2 – ENSAIOS DE COAGULAÇÃO, FLOCULAÇÃO, SEDIMENTAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE LODO**

Os experimentos, para as águas de estudo AE1 e AE2, foram realizados em escala de bancada, utilizando o teste de jarros, em duas fases, a saber:

- Fase 1: Construção de diagramas de coagulação - Ensaios de coagulação/floculação/sedimentação para seleção das dosagens de coagulantes – sulfato de alumínio e cloreto férrico – e valores de pH a serem estudados na Fase 2.

- Fase 2: Ensaios de coagulação, floculação e sedimentação, com armazenamento do lodo sedimentado durante diferentes períodos (0 a 50 dias), para análise da lise celular, produção e degradação de toxinas no lodo, adotando diferentes valores de pH e dosagens de sulfato de alumínio e cloreto férrico.

Para o teste de jarros, o equipamento empregado foi um reator estático da marca Nova Ética, modelo 218/LDB, com capacidade para acomodar seis jarros de base quadrada com dimensões de 115 x 115 mm<sup>2</sup> e com capacidade para 2 litros. Esse equipamento possui agitadores do tipo paleta de eixo vertical (de aço inox) medindo 25 x 75 mm<sup>2</sup>, e é capaz de fornecer um gradiente de velocidade entre 10 e 2000 s<sup>-1</sup>. A uma distância de 7 cm abaixo da superfície do líquido situa-se o ponto para coleta da amostra de água clarificada em cada jarro.

Os parâmetros operacionais utilizados durante os ensaios de coagulação, floculação e sedimentação foram baseados nos valores tradicionalmente adotados em testes de jarros e já usados em estudos relativos à remoção de cianobactérias e cianotoxinas (Oliveira, 2005; Santiago, 2008; entre outros), quais sejam:

- Mistura rápida:           Gradiente de velocidade: 800 s<sup>-1</sup>  
  Tempo de detenção: 30 segundos
- Floculação:                Gradiente de velocidade: 20 s<sup>-1</sup>  
  Tempo de detenção: 25 minutos
- Sedimentação:           Taxa de Aplicação Superficial = 7,2 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>.dia  
  Tempo de sedimentação para amostragem: 14 minutos

#### **4.2.1 – Fase 1: Construção de diagramas de coagulação**

Esses ensaios visaram identificar a eficiência de remoção das células de cianobactérias, utilizando diferentes dosagens e tipos de coagulantes, em uma faixa ampla de pH.

Sete valores de pH foram testados com a água de estudo 1 (AE1 – com *Microcystis aeruginosa*): 5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5; e 8. Com a água de estudo 2 (AE2 – com *Cylindrospermopsis raciborskii*) foram testados os seguintes valores de pH: 5; 5,5; 6; 6,5;

7; e 7,5. Para controlar o pH, foi utilizado acidificante (solução de ácido clorídrico, PA), ou alcalinizante (solução de bicarbonato de sódio, PA).

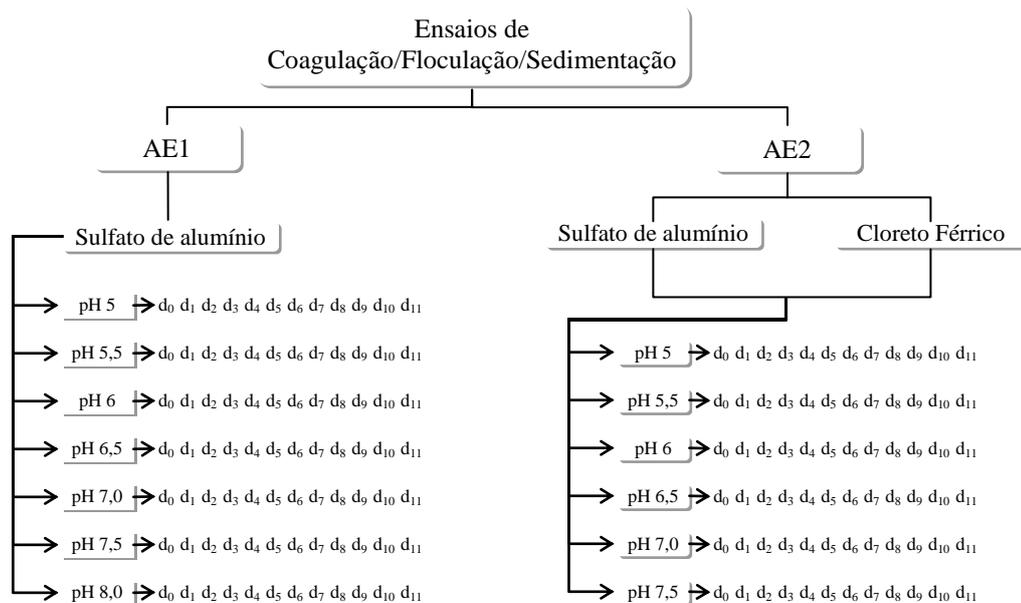
A variação das dosagens de coagulantes testadas foi de 3 em 3 mg/L de cloreto férrico anidro, no intervalo de 0 a 30 mg/L desse coagulante, e de 4 em 4 mg/L de sulfato de alumínio anidro, no intervalo de 0 a 40 mg/L, totalizando 12 dosagens de coagulante testadas por pH (incluindo a dosagem zero). As concentrações equivalentes de alumínio e ferro nas diferentes dosagens utilizadas foram calculadas com base na porcentagem desses dois elementos na massa atômica dos coagulantes.

Considerando que o equipamento para o teste de jarros permite que 6 dosagens sejam testadas simultaneamente, foram necessárias duas baterias de ensaio para cada valor de pH. A Figura 4.1 mostra o ensaio de sedimentação utilizando o teste de jarros.



Figura 4.1 – Ensaio de sedimentação com células de *Cylindrospermopsis raciborskii* utilizando o teste de jarros.

A água de estudo 1 (AE1) foi testada apenas com sulfato de alumínio, pois uma pesquisa com *Microcystis aeruginosa* utilizando cloreto férrico como coagulante já havia sido realizada no laboratório, como parte do Programa de Pesquisa em Saneamento Básico (PROSAB). A água de estudo 2 (AE2), foi testada com os dois coagulantes, sulfato de alumínio e cloreto férrico. Como cada diagrama foi realizado em duplicata, 6 diagramas de coagulação foram construídos. A Figura 4.2 mostra o fluxograma de desenvolvimento da fase experimental 1.



Legenda: AE1 - Água de Estudo 1; AE2 - Água de Estudo 2; d - dosagem de coagulante; d<sub>0</sub> - sem adição de coagulante.

Figura 4.2 – Fluxograma de desenvolvimento dos ensaios da fase experimental 1, com água de estudo contendo, separadamente, as cianobactérias *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, em concentrações de 10<sup>6</sup> cel/mL.

Foram feitas as medidas de turbidez, clorofila-a e contagem de células da água de estudo e água clarificada, para avaliação da eficiência de remoção de células de cianobactérias durante os ensaios.

Os diagramas de coagulação foram construídos por meio da interpolação dos dados pelo método de krigagem, utilizando-se o programa Surfer 8.03, da Golden Software Inc.

#### 4.2.2 – Fase 2: Ensaio de coagulação, floculação e sedimentação, com armazenamento do lodo sedimentado

O objetivo dessa fase foi analisar o tempo de lise das células de cianobactérias no lodo sedimentado e a conseqüente liberação de toxinas, assim como avaliar a degradação das toxinas no lodo, quando diferentes valores de pH de coagulação e dosagens de coagulantes são utilizados, com os dois coagulantes distintos.

Os parâmetros operacionais adotados são os mesmos da fase anterior: gradiente de velocidade de 800 s<sup>-1</sup> e tempo de detenção de 30 segundos (na mistura rápida), e gradiente

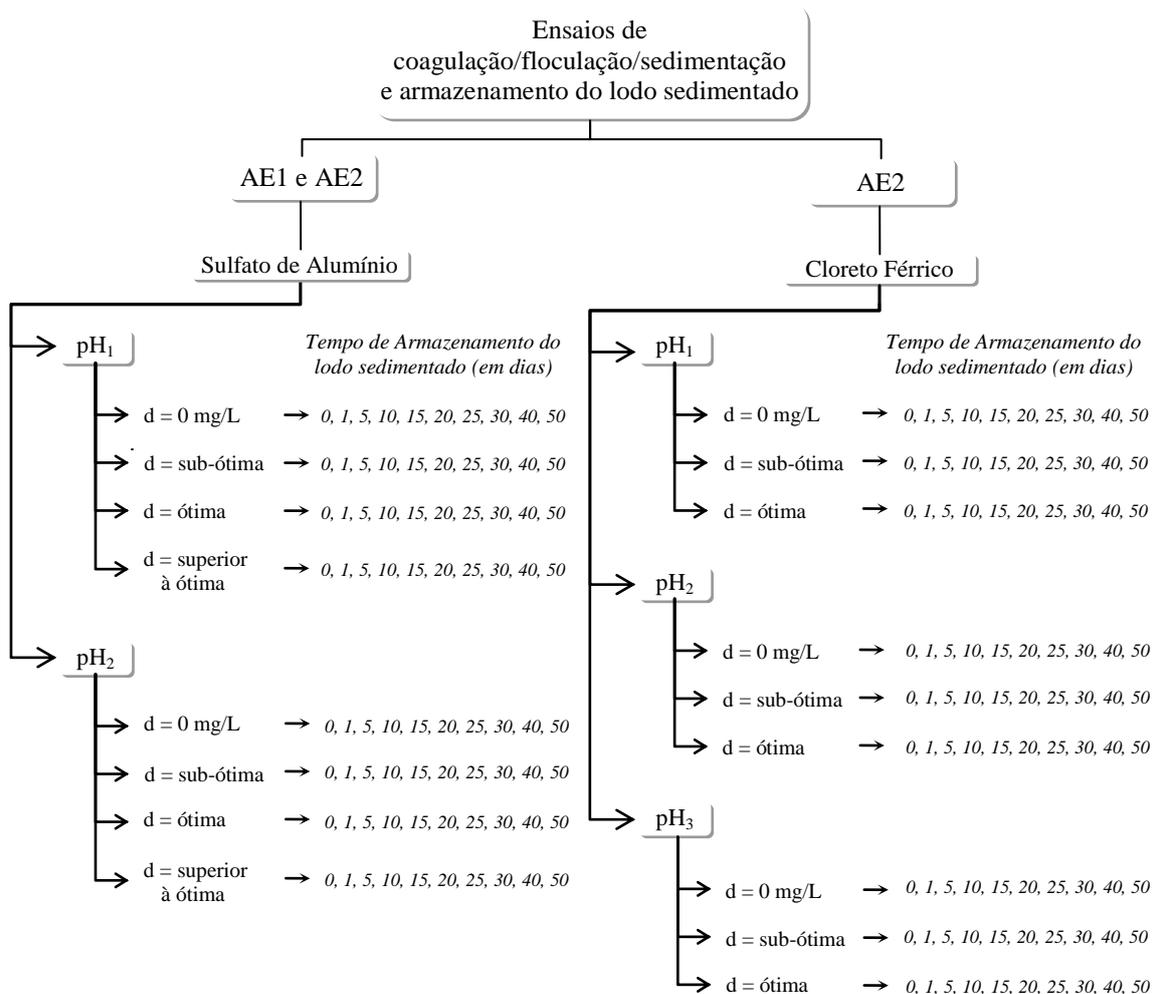
de velocidade de  $20 \text{ s}^{-1}$  e tempo de detenção de 25 minutos durante floculação. Após a floculação as amostras foram armazenadas em repouso.

Com base nos diagramas da fase 1, dois valores de pH de coagulação foram selecionados para AE1 e AE2, tendo sulfato de alumínio como coagulante. Para cada valor de pH foram selecionadas a dosagem ótima, uma dosagem sub-ótima e uma dosagem superior à ótima. Já para a AE2 utilizando cloreto férrico como coagulante, foram selecionados três valores de pH e duas dosagens de coagulante: uma ótima e uma sub-ótima, pois a dosagem ótima já foi elevada, então não se fez necessário testar a dosagem superior à ótima.

Para a seleção da dosagem ótima, verificou-se a menor dosagem que apresentou a melhor remoção. Foi avaliado também o comportamento das células na água de estudo sem adição de coagulante, em cada pH de coagulação. As diferentes dosagens foram analisadas para se conhecer a influência da quantidade de coagulante na lise celular, liberação e degradação de toxinas no lodo.

Os seguintes tempos de armazenamento de lodo foram avaliados: 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 e 50 dias. Essa faixa de tempo (0 a 50 dias) foi escolhida em razão dos resultados de Oliveira (2005) mostrarem uma tendência de crescimento da concentração de STX mesmo após um período de 30 dias de armazenamento do lodo produzido em experimentos com *Cylindrospermopsis raciborskii* e sulfato de alumínio como coagulante. Dessa forma, pôde-se conhecer-se também o comportamento da toxina STX em períodos maiores.

Os recipientes contendo as amostras floculadas foram identificados quanto ao tempo de armazenamento, pH de coagulação e dosagem de coagulante. Para cada valor de pH, e cada tipo e dosagem de coagulante, foram necessários dez recipientes para simular os tempos de armazenamento de lodo, conforme mostra o fluxograma da Figura 4.3. As etapas de mistura rápida e de floculação foram realizadas nos próprios recipientes.



Legenda: AE1 - Água de Estudo 1; AE2 - Água de Estudo 2

Figura 4.3 – Fluxograma de análise da lise celular no lodo sedimentado, liberação e degradação de cianotoxinas em diferentes valores de pH, para cada tipo e dosagem de coagulante.

O lodo em ETAs recebe uma luminosidade muito baixa, dependendo de sua profundidade. Dessa forma, para simular uma situação próxima ao que ocorre no tanque de lodo de decantadores (baixa incidência de luz), os recipientes com amostras floculadas foram cobertos com papel alumínio. As tampas eram opacas e perfuradas para possibilitar as trocas gasosas. Os recipientes foram mantidos pelos tempos de armazenamento dentro da sala de cultivo de células de cianobactérias, cuja temperatura ambiente é mantida a, aproximadamente, 24° C.

Foi procedida a homogeneização da amostra após o período determinado de armazenamento. Posteriormente, parte da amostra foi filtrada, separando assim o “lodo” do

material clarificado. Para filtração, foi utilizado um filtro de microfibras de vidro de cerca de 1 µm de retenção, que permitiu proceder-se à determinação de clorofila-a residual no lodo. A análise de clorofila-a pós-armazenamento do lodo foi feita para avaliar o estado das células, verificando se elas se mantiveram intactas ou não, o que indica se houve lise e morte celular.

Foram avaliadas também as toxinas dissolvidas no clarificado, toxinas totais (na fração não filtrada) e a biomassa de cianobactérias residual no lodo (por meio da contagem de células). Para a determinação das toxinas totais, a fração de amostra não filtrada foi submetida ao procedimento gelo/degelo por três vezes, para que houvesse rompimento completo das células residuais.

A quantificação de microcistinas foi realizada pela técnica de ensaio por imunoadsorvente ligado a enzimas (ELISA), e a de saxitoxinas por meio da cromatografia líquida de alta eficiência com derivatização pós-coluna e detecção de fluorescência (CLAE-DFL). O método ELISA não foi utilizado para saxitoxinas, pois o *kit* ELISA disponível comercialmente no Brasil apresenta baixa reatividade para a variante neoSTX – que é uma das saxitoxinas produzidas em maior quantidade pela cepa de *Cylindrospermopsis raciborskii* utilizada no presente trabalho.

#### **4.3 – MÉTODOS DE ANÁLISE**

As variáveis avaliadas durante os experimentos foram: turbidez; pH; alcalinidade; alumínio e ferro residual após sedimentação; absorvância ao ultravioleta específico (AUVE); condutividade; clorofila-a; contagem de células de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*; e quantificação de cianotoxinas. A absorvância ao ultravioleta específico (AUVE) foi medida pois ela é uma indicadora da natureza da matéria orgânica natural e do conteúdo húmico da água. Na Tabela 4.1 são apresentados os princípios de método e equipamentos utilizados para avaliação desses parâmetros.

Tabela 4.1 – Métodos e equipamentos utilizados na avaliação dos parâmetros de qualidade de água.

PARÂMETRO	PRINCÍPIOS DE MÉTODO/EQUIPAMENTO
<i>Absorbância ao ultravioleta específico (AUVE)</i>	A absorbância ao ultravioleta específico (AUVE) é a absorção de raios ultravioleta (UV) a um comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 254 nm. Foi determinada com o uso do espectrofotômetro Hach DR 4000.
<i>Alcalinidade (mgCaCO<sub>3</sub>/L)</i>	A alcalinidade foi medida por método titulométrico, utilizando ácido sulfúrico a 0,02 M.
<i>Clorofila-a (µg/L)</i>	O procedimento utilizado para quantificação de clorofila-a foi o proposto por Wood (1985), que compreende as etapas de filtração da amostra, secagem do filtro (em dessecador ou caixa contendo sílica gel), extração da clorofila com clorofórmio-metanol e medição da absorbância em comprimentos de onda $\lambda = 750$ nm e $\lambda = 665$ nm, com a utilização de espectrofotômetro (Hach DR 4000).
<i>Condutividade (µmS/cm)</i>	A condutividade foi determinada com uso de condutivímetro (Sprite 6000), que mede a condutância entre dois eletrodos inertes.
<i>pH</i>	O pH foi determinado por meio do método potenciométrico com uso de medidor de pH (Modelo Orion – 310).
<i>Turbidez (UT)</i>	A medida de turbidez foi realizada pelo método nefelométrico, utilizando turbidímetro (HACH 2100AN).
<i>Quantificação de células de cianobactérias (cel/mL).</i>	Foi utilizado microscópio óptico (Leica modelo DM LB2) juntamente com câmara de Neubauer (lâmina de microscopia com marcações em quadrantes de dimensões conhecidas) para quantificação das células de <i>Microcystis aeruginosa</i> e <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> .
<i>Quantificação de toxinas (µg/L)</i>	A análise de saxitoxinas foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com derivatização pós-coluna e detecção de fluorescência, com a utilização de cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu-LC10AD) e detector de fluorescência (Shimadzu RF-551). A quantificação de microcistinas foi feita pelo teste de imuno-adsorção ligado a enzimas - ELISA ( <i>Kit</i> da Envirologix®).
<i>Alumínio</i>	Método Colorimétrico Eriocromo Cianina R.
<i>Ferro</i>	Método FerroVer da HACH.

Na quantificação de células, para expressar a densidade de células de *C. raciborskii* por mL – já que essa é uma espécie filamentosa – foi realizada a contagem de células em cada filamento, num total de 33 filamentos, para se saber o número médio de células por filamento. Para isso, os filamentos foram corados com nanquim e azul de metileno, e contados em microscópio ótico com aumento de 1000x sob objetiva com óleo de imersão. A contagem revelou que o número médio de células por filamento é de 35,9, com desvio padrão de 12,45.

A técnica de ensaio por imunoadsorvente ligado a enzimas (ELISA – *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) possibilita rápida detecção e quantificação de um antígeno (Lehninger *et al.*, 2002). É um método muito utilizado para análise de amostras para microcistina por causa da sua sensibilidade, especificidade e facilidade de operação.

No *kit* ELISA utilizado, as moléculas de microcistina presentes em uma amostra são, inicialmente, adsorvidas a uma superfície contendo anticorpos – placa de poliestireno com 96 poços. Posteriormente, a superfície é tratada com uma solução de conjugado – microcistina padrão unida a uma enzima que catalisa a reação que gera um produto corado. Depois que os conjugados remanescentes são removidos por lavagem, é adicionado o substrato do conjugado, que permite a formação da coloração (Figura 4.4). A formação do produto (monitorada pela intensidade da cor) é inversamente proporcional à concentração do antígeno presente na amostra.

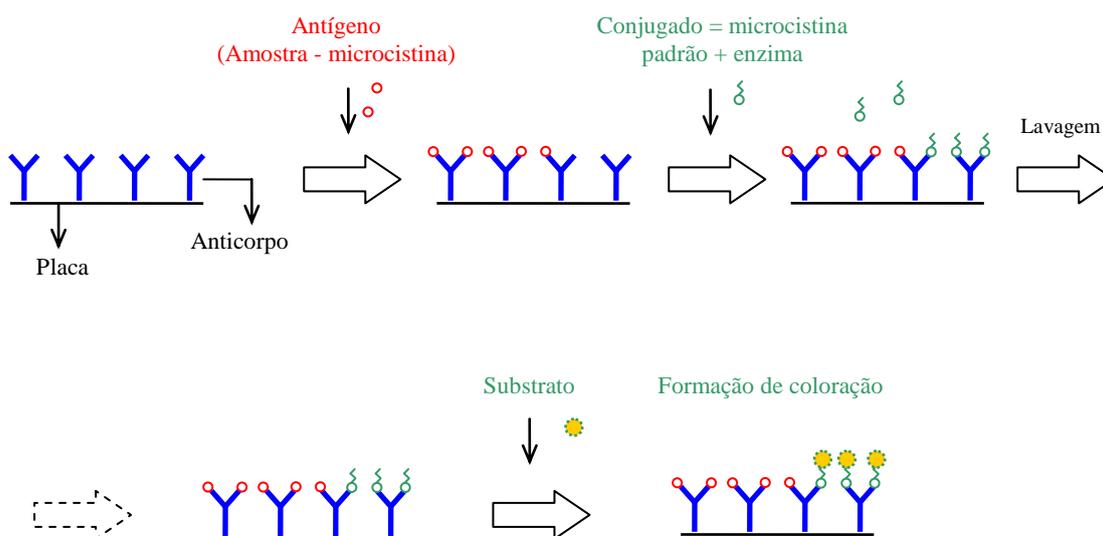


Figura 4.4 – Esquema de funcionamento do teste ELISA (*kit* da Envirologix®) para detecção e quantificação de microcistina (Adaptado de Melo, 2006).

### 4.3.1 – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é um refinamento moderno dos métodos cromatográficos. Ela faz uso de bombas de alta pressão que aceleram o movimento das moléculas pela coluna, bem como de materiais cromatográficos que podem suportar a força do fluxo pressurizado (Lehninger *et al.*, 2002).

O método de cromatografia líquida de alta eficiência com derivatização pós-coluna e detecção de fluorescência (CLAE-DFL) para detecção e quantificação de saxitoxinas foi desenvolvido por Oshima (1995). A Tabela 4.2 mostra as condições adotadas para a análise de saxitoxinas STX, neoSTX e dcSTX, segundo proposto por Oshima (1995) e coluna cromatográfica sugerida por Arantes (2004).

Tabela 4.2 – Condições de operação adotadas para análise de saxitoxinas STX, neoSTX e dcSTX por CLAE-DFL (Oshima, 1995).

<b>Parâmetro</b>	<b>Condição ou descrição</b>
<b>Coluna</b>	Coluna de fase reversa C-18 – phenomenex (Arantes, 2004)
<b>Fase móvel</b>	
<i>Vazão</i>	0,8 mL/min
<i>Composição</i>	Heptanosulfonato de sódio (2 mM) em fosfato de amônio (30 mM), pH 7,1
<b>Agente oxidante</b>	
<i>Vazão</i>	0,4 ml/min
<i>Composição</i>	Ácido periódico (7 mM) em tampão fosfato de sódio (10 mM), pH 9,0
<b>Reator pós-coluna</b>	Tubo de teflon (10 m de comprimento e 0,5 mm de diâmetro interno) aquecido a 80°C
<b>Acidificante</b>	
<i>Vazão</i>	0,4 ml/min
<i>Composição</i>	Ácido acético (500 mM)
<b>Detecção</b>	
<i>Excitação</i>	330 nm
<i>Emissão</i>	390 nm
<b>Volume de amostra injetado (loop)</b>	100 µL

Mais de trinta análogos químicos e derivados de saxitoxinas já foram caracterizados (Sivonen e Jones, 1999). No entanto, no presente trabalho foi realizada a detecção apenas

de saxitoxina (STX), neo-saxitoxina (neoSTX) e decarbamoilsaxitoxina (dcSTX), que são as principais toxinas produzidas pela cepa T3 de *Cylindrospermopsis raciborskii*, que foi utilizada nos experimentos.

Como as saxitoxinas não têm fluorescência nativa, elas são convertidas em derivados fluorescentes utilizando-se ácido periódico como oxidante (7 mM de ácido periódico em 10 mM de fosfato de potássio, em pH 9). Os compostos fluorescentes produzidos pela oxidação das saxitoxinas são detectados no detector de fluorescência. Com a utilização de um microcomputador conectado ao aparelho de CLAE-DFL, obtém-se um perfil ao longo do tempo (cromatograma), cuja área sob os picos específicos fornece a concentração das diferentes saxitoxinas presentes na amostra. A identificação de cada saxitoxina (pico específico) é feita com base no tempo de retenção obtido a partir da injeção de padrões de cada variante, enquanto que a relação entre a área sob os picos e a concentração é obtida por meio de curvas calibração para cada variante.

## 5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

São apresentados e discutidos neste capítulo os resultados da Fase 1 (construção de diagramas de coagulação) e Fase 2 (ensaios de coagulação, floculação e sedimentação, com armazenamento do lodo sedimentado).

### 5.1 – DIAGRAMAS DE COAGULAÇÃO

Para observar a reprodutibilidade do comportamento do processo de coagulação, floculação e sedimentação, foram realizados dois experimentos de teste de jarros (Exp. 1 e Exp. 2 – duplicata), cada um com cerca de 72 combinações pH x dosagem, para cada espécie de cianobactéria e coagulante utilizado. No entanto, para efeito de proceder à análise e discussão dos resultados, foi escolhido, para constar no texto principal, um diagrama de cada duplicata. A totalidade dos diagramas se encontra no Apêndice A.

#### 5.1.1 – Ensaios de coagulação, floculação e sedimentação com células de *Microcystis aeruginosa*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante

Os diagramas de coagulação representativos dos ensaios realizados na Fase 1, com água de estudo contendo cerca de  $10^5$  cel/mL de *Microcystis aeruginosa*, estão apresentados nas Figuras 5.1, 5.2 e 5.3, em termos de eficiência de remoção de turbidez, de clorofila-a e de células. As características da água base (água do Lago Paranoá) e da água de estudo (água base inoculada com células de *Microcystis aeruginosa*) são mostradas na Tabela 5.1.

Apesar de a finalidade ter sido obter água de estudo com densidade de células de  $10^6$  cel/mL, as contagens de células revelaram concentrações iniciais da ordem de  $10^5$  cel/mL ( $4,10 \times 10^5$  a  $7,5 \times 10^5$  cel/mL). Vale destacar a baixa alcalinidade encontrada na água base e água de estudo, e o grande incremento de turbidez e clorofila-a quando as células foram adicionadas à água do lago, de forma que a turbidez e clorofila-a da água de estudo foram praticamente causadas pela adição de células de *Microcystis aeruginosa* (Tabela 5.1).

As maiores eficiências de remoção de turbidez (Figura 5.1) foram obtidas em valores de pH baixos, entre 5 e 5,5, e uma ampla faixa de dosagem de sulfato de alumínio (expresso

nas Figuras como sulfato de alumínio anidro e alumínio). O diagrama mostra um padrão claro de remoção, que decresce com o aumento do pH. Esse mesmo padrão pode ser observado nos diagramas de coagulação expressos em termos de remoção de clorofila-a e de células (Figura 5.2 e 5.3).

Tabela 5.1 – Caracterização da água bruta e água de estudo utilizadas na realização do diagrama de coagulação com células de *Microcystis aeruginosa* utilizando sulfato de alumínio como coagulante.

Parâmetros	Água do Lago	Água do Lago + células de <i>M. aeruginosa</i>
Alcalinidade (mgCaCO <sub>3</sub> /L)	21	22
Condutividade (µS/cm)	78,2	104,2
Absorbância a 254 nm	0,029	0,068
pH	6,3	6,4
Turbidez (UT)	4,3	23
Clorofila-a (µg/L)	2,64	190,08
Contagem (cel/mL)	ND	4,10 x 10 <sup>5</sup>

\*ND – não detectado

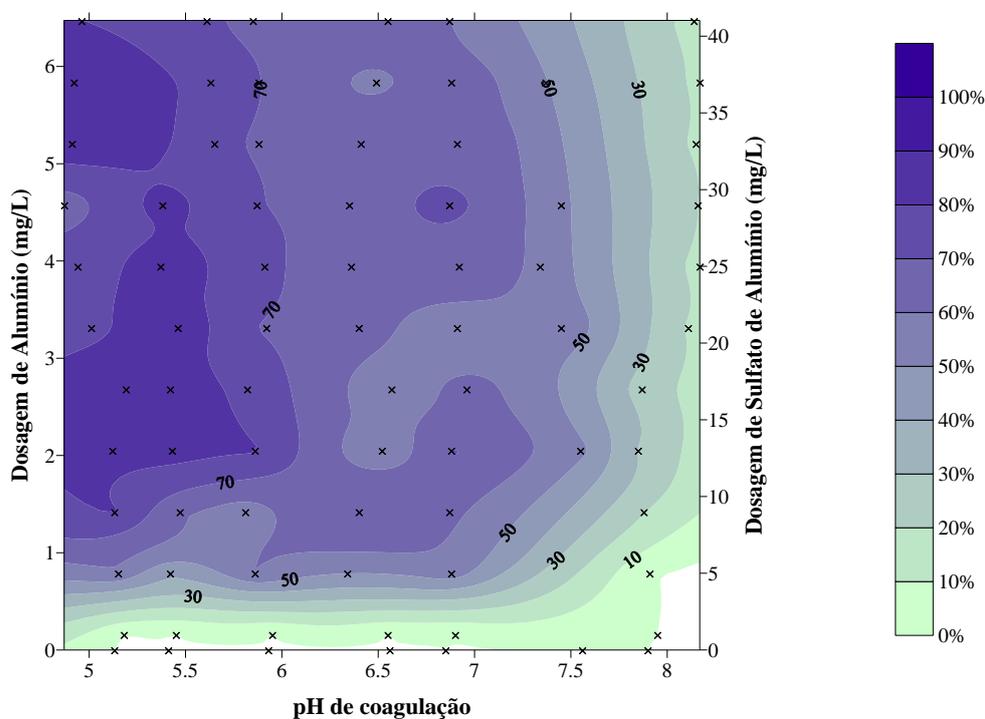


Figura 5.1 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de turbidez, com água de estudo contendo 4,10 x 10<sup>5</sup> células/mL de *Microcystis aeruginosa*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante. Turbidez inicial: 23 UT.

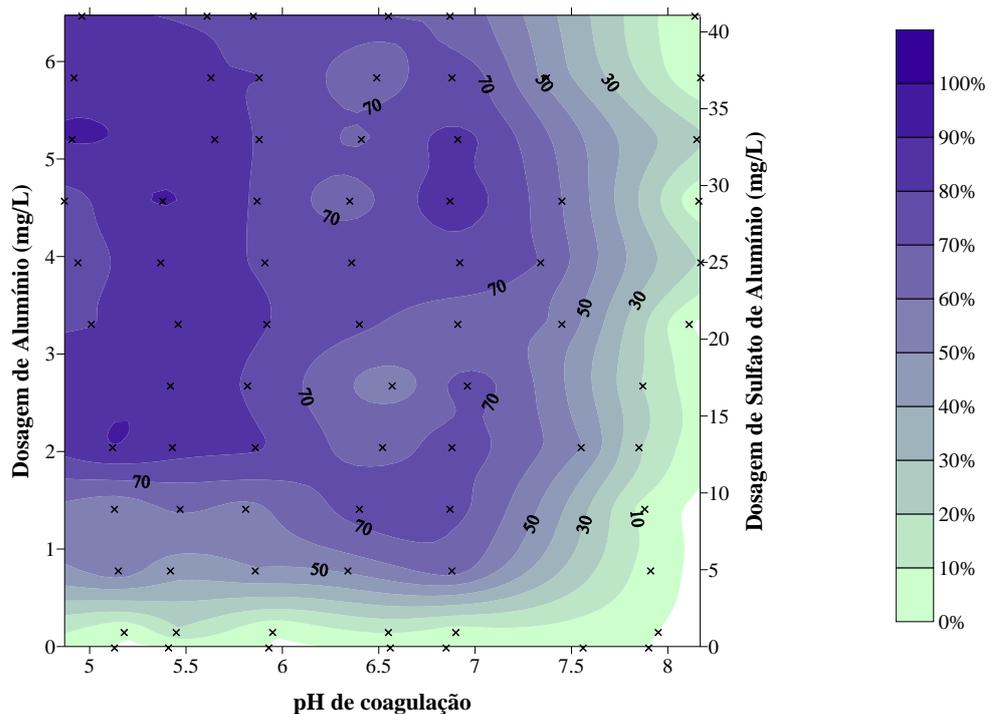


Figura 5.2 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de clorofila-a com água de estudo contendo  $4,10 \times 10^5$  células/mL de *Microcystis aeruginosa*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante. Clorofila inicial: 190 µg/L.

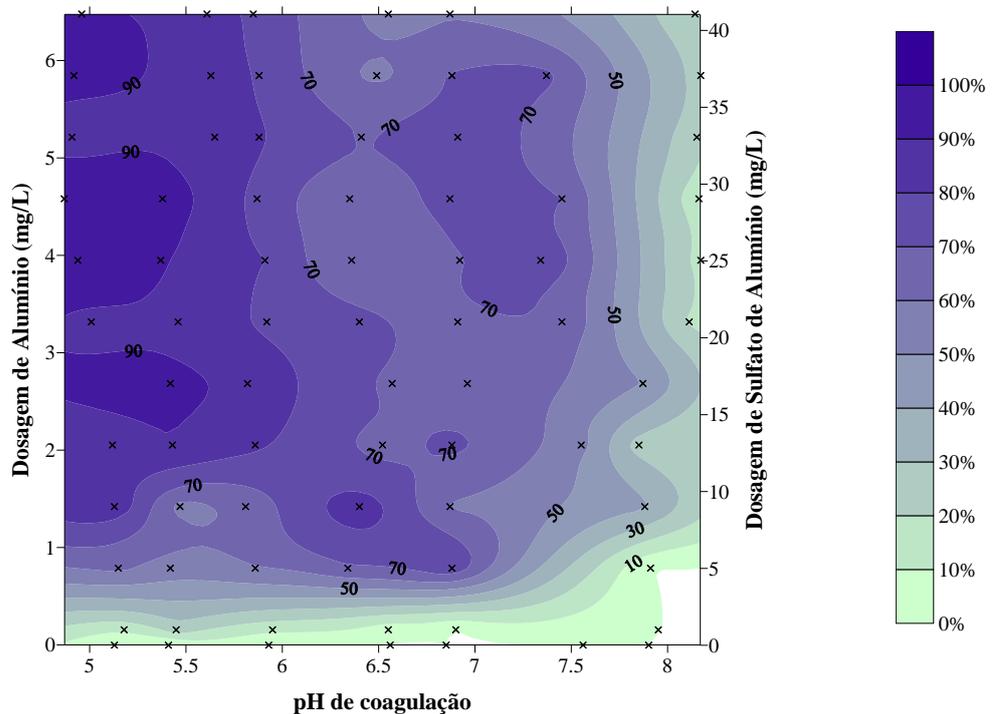


Figura 5.3– Diagrama de coagulação em termos de remoção de células com água de estudo contendo  $4,10 \times 10^5$  células/mL de *Microcystis aeruginosa*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante.

Analisando-se as Figuras 5.2 e 5.3, pode-se verificar que as regiões com maiores remoções de clorofila-a coincidem com os pontos de elevada remoção de células: remoção maior que

80% nos valores de pH entre 5 e 6, para uma faixa ampla de coagulante; remoção entre 70 e 80% nos valores de pH iguais a 6,0 e 7,0, para algumas dosagens de sulfato de alumínio. A análise estatística dos dados de remoção de clorofila-a e de contagem de células revelou forte correlação entre eles (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 – Correlação entre remoção de clorofila-a, remoção de células, e remoção de turbidez ( $\alpha = 5\%$ ).

Parâmetros correlacionados	Coeficiente de correlação de Pearson (r)		r <sup>2</sup>	
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2
Remoção de clorofila-a e Remoção de células	0,94	0,94	0,88	0,89
Remoção de clorofila-a e Remoção de turbidez	0,93	0,97	0,86	0,94
Remoção de turbidez e Remoção de células	0,95	0,97	0,91	0,93

A correlação entre remoção de turbidez e clorofila-a, e turbidez e remoção de células também foi muito alta. As eficiências de remoção muito similares entre os três parâmetros analisados (turbidez, clorofila-a e contagem de células) se devem ao fato de que a turbidez da água de estudo, assim como a concentração de clorofila-a, são predominantemente causados pela adição de células de *Microcystis aeruginosa* à água do Lago Paranoá (Tabela 5.1). Os resultados sugerem que, quando uma determinada espécie de cianobactéria predominar no ambiente aquático, tanto a turbidez quanto a clorofila-a podem ser usados para avaliação das condições ótimas de coagulação e de eficiência de tratamento de um modo geral, tendo em vista a maior rapidez de obtenção desses valores.

Um estudo desenvolvido na Universidade Federal de Viçosa (UFV) com a mesma espécie de cianobactéria e com o mesmo coagulante, em escala de bancada, também encontrou eficiências de remoção elevadas (até 90%), em termos de turbidez (Morais *et al.*, 2009). No entanto, a faixa de pH em que se obtiveram boas remoções foi de 6,5 a 8,0, enquanto no presente trabalho as melhores remoções foram observadas em valores de pH menores (5 a 6).

Como explica Brandão *et al.* (2009), essas diferenças podem estar atreladas às características das águas utilizadas em cada caso para preparação da água de estudo. Portanto, variáveis de qualidade da água como alcalinidade, matéria orgânica dissolvida, turbidez mineral entre outros, são de grande importância na definição da região ótima para remoção de cianobactérias.

A análise de alumínio residual mostrou que aproximadamente 70% e 44% das amostras do experimento 1 e experimento 2, respectivamente, se enquadraram abaixo do valor máximo permitido (VMP) pela legislação brasileira, que é de 0,2 mg/L de alumínio na água para consumo humano (Portaria MS 518/2004). No experimento 1, nos valores de pH de coagulação iguais a 5,0 e 6,0, todas as amostras apresentaram valores de residual de alumínio abaixo do VMP (Apêndice B). No Experimento 2 (duplicata), o valor de pH de coagulação que apresentou o maior número de amostras com baixos valores de residual de alumínio foi o 6,0, com 67% das amostras se enquadrando abaixo do VMP (Apêndice B). Como no tratamento de água há o processo de filtração, a concentração de alumínio pode ainda ser diminuída substancialmente, pois parte significativa do alumínio está incorporada nos flocos que não sedimentaram.

### **5.1.2 – Ensaios de coagulação, floculação e sedimentação com células de *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante**

Nas Figuras 5.4, 5.5 e 5.6 são apresentados os diagramas de coagulação representativos da água de estudo com  $10^6$  células/mL de *Cylindrospermopsis raciborskii* e utilizando sulfato de alumínio como coagulante, e na Tabela 5.3, a caracterização da água bruta e água de estudo utilizadas na realização dos diagramas de coagulação.

Como se pode observar na Figura 5.4, as remoções de turbidez foram baixas para todos os valores de pH de coagulação e dosagens de coagulante. As melhores remoções, embora tenham sido valores baixos (cerca de 40%), ocorreram de forma mais consistente em torno de 8 mg/L de sulfato de alumínio, para ampla faixa de pH (5-7). Outras combinações pontuais de pH e dosagem também apresentaram remoções da ordem de 40%.

Tabela 5.3 – Caracterização da água bruta e água de estudo utilizadas na realização do diagrama de coagulação com células de *Cylindrospermopsis raciborskii* utilizando sulfato de alumínio como coagulante.

Parâmetros	Água do Lago	Água do Lago + $10^6$ cel/mL de <i>C. raciborskii</i>
Alcalinidade (mgCaCO <sub>3</sub> /L)	26	27
Condutividade (µS/cm)	115	138
Absorbância a 254 nm	0,025	0,035
pH	6,3	6,9
Turbidez (UT)	10	15
Clorofila-a (µg/L)	23,76	269,28
Contagem (cel/mL)	ND	$3,7 \times 10^6$

\*ND – não detectado

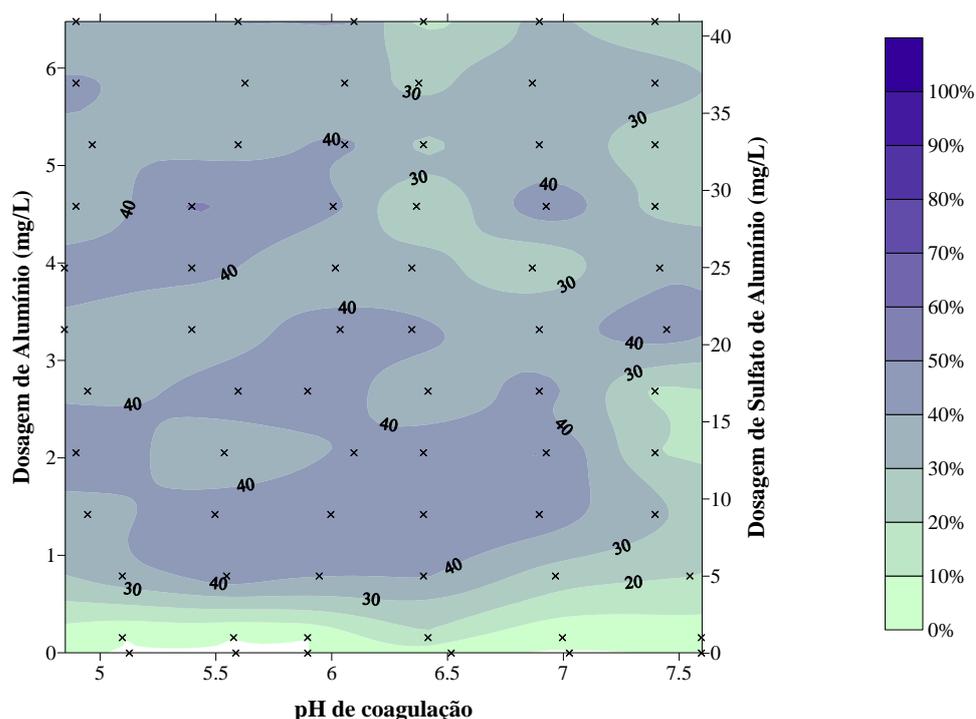


Figura 5.4 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de turbidez, com água de estudo contendo  $3,7 \times 10^6$  células/mL de *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante. Turbidez inicial: 15 UT.

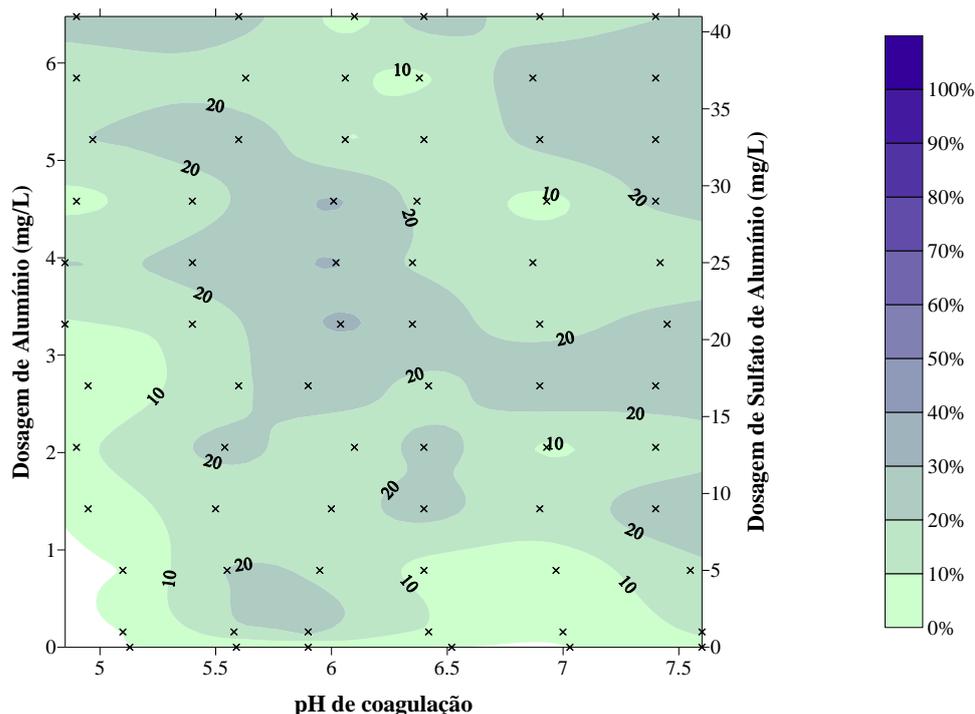


Figura 5.5 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de clorofila-a, com água de estudo contendo  $3,7 \times 10^6$  células/mL de *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante. Clorofila inicial: 269,28  $\mu\text{g/L}$ .

Analisando o diagrama de coagulação em termos de remoção de clorofila-a apresentado na Figura 5.5 pode-se perceber que a remoção de clorofila-a após sedimentação foi também insatisfatória em todas as dosagens de sulfato de alumínio e valores de pH de coagulação. Tendo em vista que a turbidez da água do Lago Paranoá – utilizada como água base para inoculação de células – estava mais alta (10 UT) do que no experimento com *M. aeruginosa*, o menor desempenho com relação à remoção de clorofila-a pode ser atribuído à sedimentação das impurezas já provenientes da água do Lago Paranoá, enquanto a turbidez associada à presença de células de *Cylindrospermopsis raciborskii* foi pobremente diminuída. Esse comportamento é confirmado quando se analisa o diagrama construído a partir da remoção de células de *C. raciborskii* (Figura 5.6). A correlação entre a remoção de clorofila-a e de células foi muito baixa ( $r$  de Pearson = 0,048).

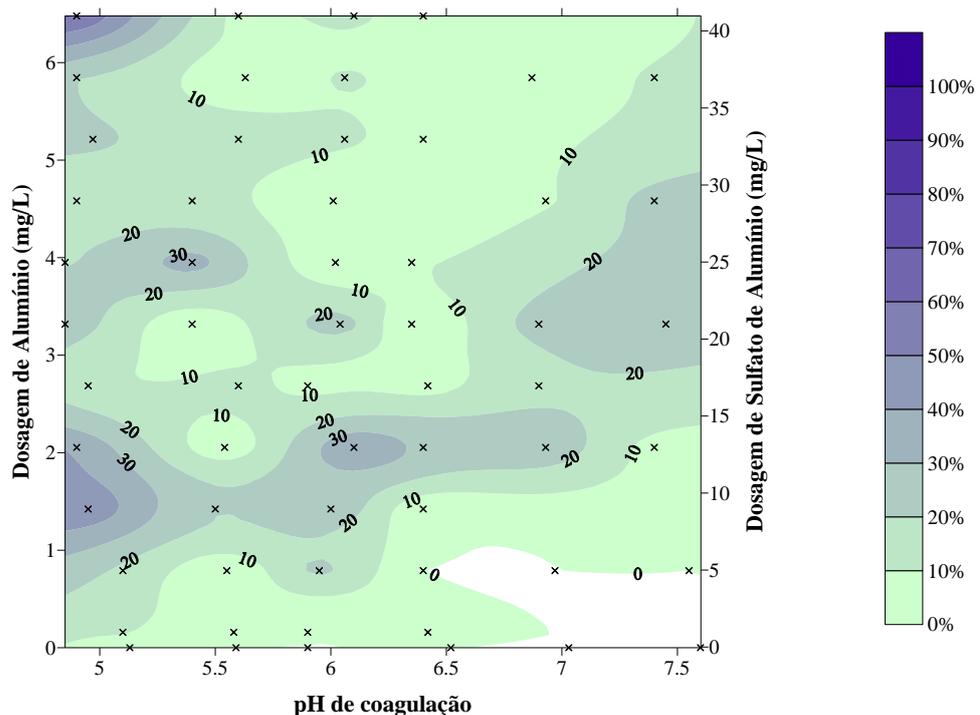


Figura 5.6 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de células com água de estudo contendo  $3,7 \times 10^6$  células/mL de *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante.

Santiago (2008) também encontrou eficiências de remoção insatisfatórias de turbidez em ensaios de sedimentação em escala de bancada com a mesma espécie de cianobactéria. As melhores remoções encontradas pelo autor foram nos valores de pH de coagulação igual a 7,0 e dosagem de sulfato de alumínio de 30 mg/L e 40 mg/L; pH igual a 7,5 e dosagem de 20 e 35 mg/L; e pH igual a 6,0 e dosagem de 20 mg/L.

Valores baixos de eficiência foram igualmente relatados por Amaral *et al.* (2001) em uma ETA cuja água bruta continha *Cylindrospermopsis raciborskii*. Utilizando dosagens de sulfato de alumínio de 50 a 90 mg/L, os autores encontraram remoções de turbidez de, em média, 46%, sendo que a maior remoção (60%) ocorreu com uma dosagem muito alta de sulfato de alumínio: 80 mg/L.

Entretanto, Oliveira (2005) relata resultados mais favoráveis a partir de ensaios de coagulação, floculação e sedimentação em escala de bancada, com a mesma espécie de cianobactéria e mesmo coagulante. O autor encontrou remoções de turbidez e de clorofila-a de até 87% e 86%, respectivamente. Morais *et al.* (2009) obtiveram resultados ainda mais animadores, obtendo remoções acima de 90% para valores de pH entre 6,5 e 7,5, principalmente com as dosagens mais altas de coagulante (20 a 25 mg/L).

As diferenças na eficiência de remoção de células de *Cylindrospermopsis raciborskii* nos diferentes trabalhos discutidos sugerem que, além das condições de coagulação (coagulante, dosagem e pH de coagulação), outros fatores interferem na eficiência de remoção desses organismos, como as variáveis de qualidade da água bruta.

A análise de alumínio residual mostrou que aproximadamente 83% das amostras se enquadraram acima de 0,2 mg Al/L (valor máximo permitido pela legislação brasileira). O valor mais alto de residual encontrado foi de 0,384 mg Al/L, no pH de coagulação igual a 7,0 (Apêndice B). No entanto, deve-se destacar que a concentração de alumínio já presente na água base foi substancial: em média, 0,205 mg Al/L. Dessa forma, conclui-se que a maior parte do alumínio residual mensurado era o que já estava dissolvido na água.

### 5.1.3 – Ensaio de coagulação, floculação e sedimentação com células de *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando cloreto férrico como coagulante

Como ocorreu com os ensaios realizados com sulfato de alumínio, não foi alcançada eficiência de remoção satisfatória, em nenhum valor de pH de coagulação ou dosagem de cloreto férrico. Isso pode ser observado nos diagramas de coagulação em termos de remoção de turbidez, clorofila-a, e células de *Cylindrospermopsis raciborskii*, respectivamente Figuras 5.7, 5.8 e 5.9. As características da água bruta e água de estudo utilizadas na realização do diagrama de coagulação estão expostas na Tabela 5.4.

Tabela 5.4 – Caracterização da água bruta e água de estudo utilizadas na realização do diagrama de coagulação com células de *Cylindrospermopsis raciborskii* utilizando cloreto férrico como coagulante.

Parâmetros	Água do Lago	Água do Lago + 10 <sup>6</sup> cel/mL de <i>C. raciborskii</i>
Alcalinidade (mgCaCO <sub>3</sub> /L)	19	23
Condutividade (µS/cm)	86	107
Absorbância a 254 nm	0,010	0,030
pH	6,2	6,8
Turbidez (UT)	9,1	17
Clorofila-a (µg/L)	9,68	222,64
Contagem (cel/mL)	0	1,1 x 10 <sup>6</sup>

A partir dos dados apresentados nos diagramas, pode-se perceber que as melhores eficiências de remoção foram alcançadas no menor valor de pH utilizado (5,0), em dosagens altas de cloreto férrico. Entretanto, mesmo nessas condições, as eficiências obtidas estão longe de ser satisfatórias.

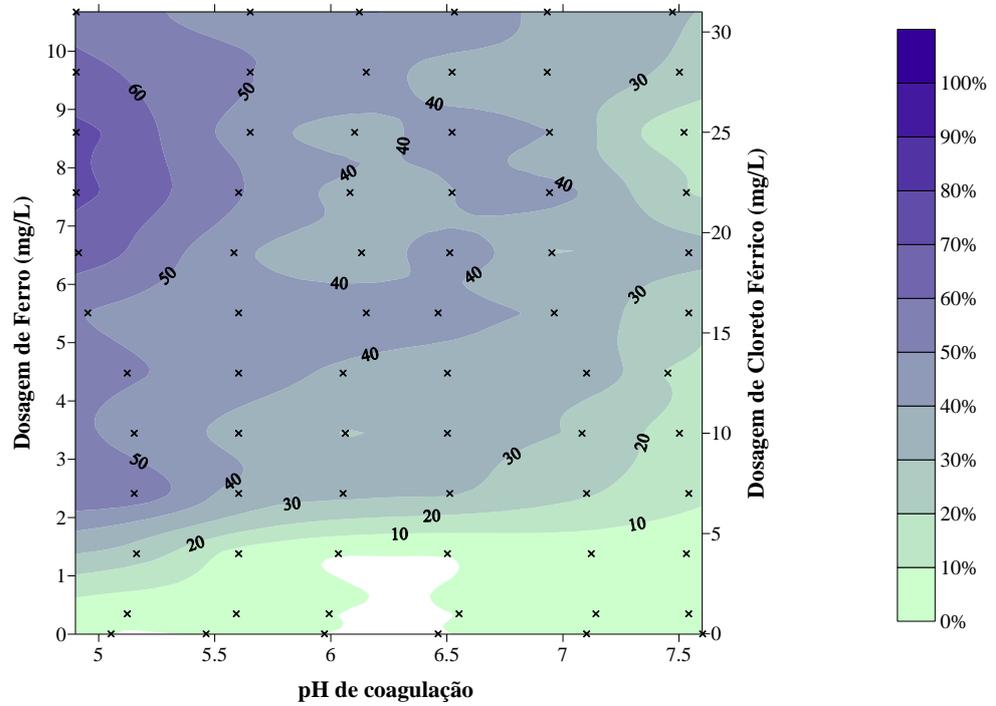


Figura 5.7 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de turbidez, com água de estudo contendo  $1,1 \times 10^6$  células/mL de *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando cloreto férrico como coagulante. Turbidez inicial: 17 UT.

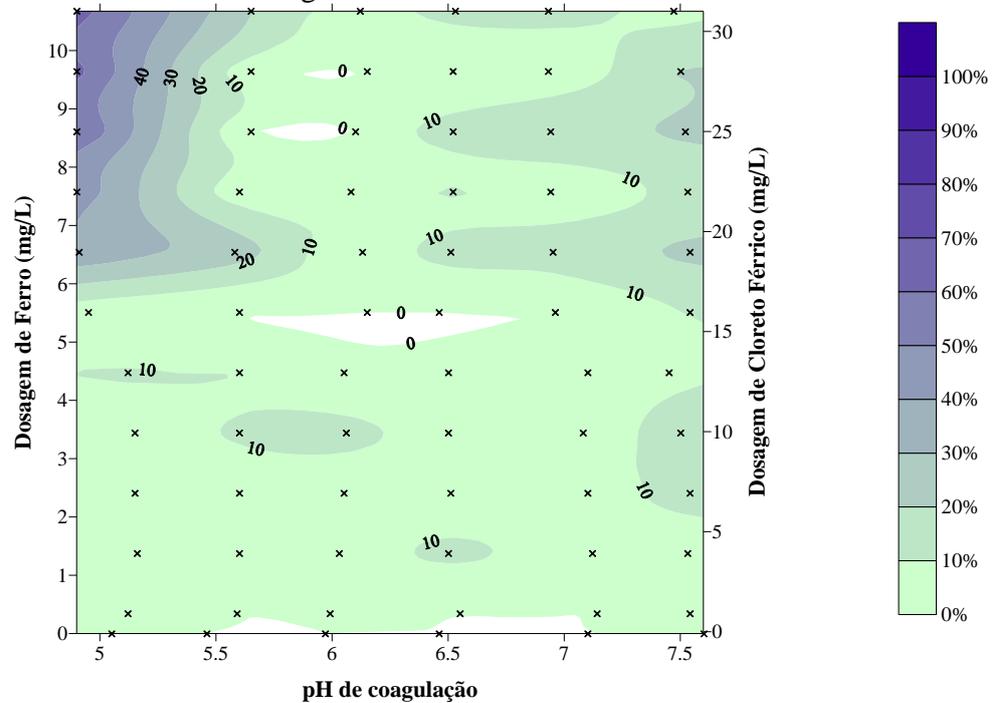


Figura 5.8 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de clorofila-a, com água de estudo contendo  $1,1 \times 10^6$  células/mL de *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando cloreto férrico como coagulante. Clorofila inicial: 222,64 µg/L.

A eficiência de remoção de turbidez (Figura 5.7) foi maior, comparativamente à remoção de clorofila-a e células. Isso porque a turbidez natural da água se mostra significativa em relação à turbidez da água de estudo (Tabela 5.4) e provavelmente a turbidez natural foi removida mais eficientemente. As eficiências de remoção menores de clorofila-a e de células mostram que as células de *Cylindrospermopsis raciborskii* são dificilmente sedimentáveis.

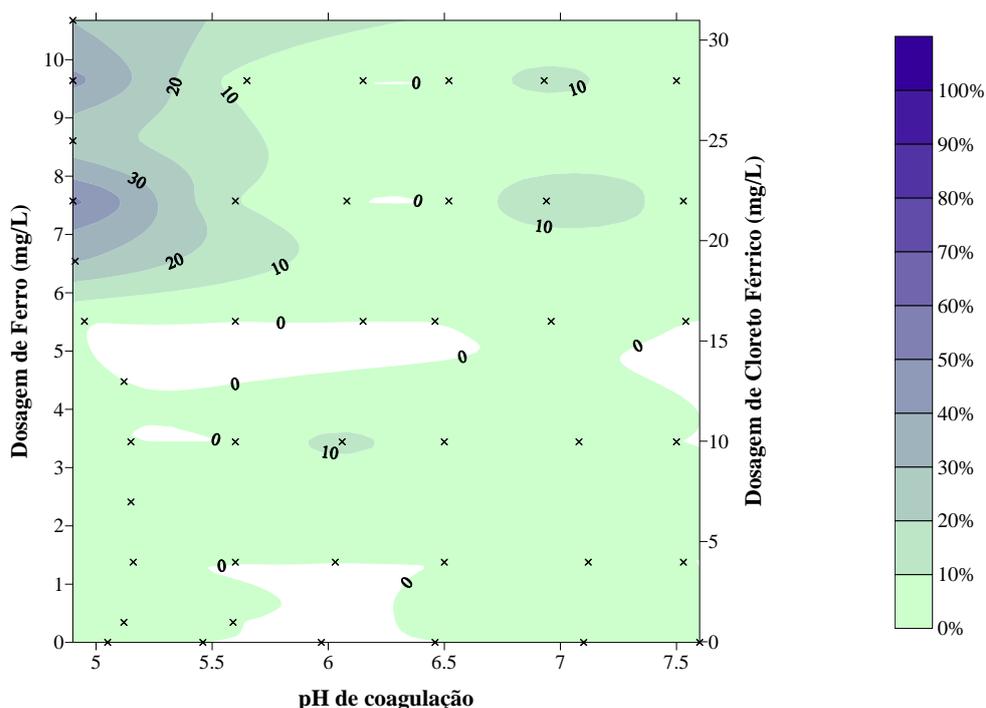


Figura 5.9 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de células, com água de estudo contendo  $1,1 \times 10^6$  células/mL de *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando cloreto férrico como coagulante.

Bernhardt e Clasen (1991) ressaltam a dificuldade em se remover espécies de algas e cianobactérias filamentosas no tratamento de água. Eles reportaram que *Oscillatoria rubescens* – cianobactéria filamentosa – pode chegar a ter vários milímetros de comprimento, e por ser esse tamanho consideravelmente maior do que os complexos de alumínio formados na coagulação, a dosagem de coagulante não segue nenhuma lei estequiométrica. Segundo os autores, em uma estação de tratamento de água foi necessário utilizar sulfato de alumínio em dois tanques de coagulação para se alcançar a ligação dos filamentos dessa cianobactéria com os flocos formados na coagulação/floculação. A adição de auxiliares de coagulação aniônicos e não-iônicos no segundo tanque tornou possível reduzir a dosagem de sulfato de alumínio utilizada, e remover aproximadamente 90% de células de *Oscillatoria rubescens*.

Tendo isso em vista, presume-se que a baixa eficiência de remoção de *C. raciborskii* se deva ao tamanho dos seus filamentos e à presença de vesículas gasosas.

A análise de ferro residual mostrou que aproximadamente 85% de todas as amostras após sedimentação apresentaram concentração de ferro maior do que o valor máximo permitido (VMP) pela legislação brasileira, que é de 0,3 mg/L para consumo humano (Portaria 518/2004 do Ministério da Saúde). Os maiores residuais de ferro (até 1,128 mg Fe/L) foram observados nos valores de pH de 7,0 e 7,5 (Apêndice B). Esse fato está associado à baixa eficiência de remoção de células, ficando a maior parte do ferro no próprio sobrenadante. O valor de pH que apresentou o maior número de amostras abaixo do VMP foi o 5, com 33% das amostras com residual de ferro menor que 0,3 mg/L, justamente o valor de pH no qual, embora ainda baixa, foram observadas as melhores remoções de *C. raciborskii*.

A análise estatística mostrou que houve correlação entre as eficiências de remoção de clorofila-a e células de *C. raciborskii* ( $r = 0,79$ , Exp. 1;  $r = 0,45$ , Exp. 2;  $\alpha = 5\%$ ), porém não tão forte como a observada nos experimentos com *Microcystis aeruginosa*.

## **5.2 – LISE CELULAR, LIBERAÇÃO E DEGRADAÇÃO DE CIANOTOXINAS DURANTE ARMAZENAMENTO DO LODO NO DECANTADOR**

### **5.2.1 – Experimentos com células de *Microcystis aeruginosa* e utilizando sulfato de alumínio como coagulante**

Nesta segunda etapa experimental, os valores de pH de coagulação e dosagens de coagulante utilizados foram baseados nos diagramas de coagulação realizados na primeira etapa. Como foi analisado anteriormente, os valores de pH de coagulação que produziram melhor eficiência de remoção em termos de turbidez, clorofila-a e células foram 5,0 e 5,5. Como nas estações de tratamento de água não é comum se utilizar valor de pH de coagulação tão baixo quanto 5, optou-se por utilizar o pH 5,5 nessa segunda etapa. O segundo valor de pH de coagulação escolhido foi 7 (valor muito usual nas estações de tratamento), para avaliar a influência do valor de pH de coagulação sobre a lise das células e degradação de toxinas. As dosagens de sulfato de alumínio escolhidas, também com base nos diagramas foram: 13 mg/L (2,05 mg Al/L) como dosagem ótima; 5 mg/L (0,79 mg

Al/L) como dosagem sub-ótima; e 21 mg/L (3,32 mg Al/L) como dosagem superior à ótima.

A Figura 5.10 apresenta a concentração de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo e a Figura 5.11, a densidade de células. As características da água bruta e da água de estudo utilizadas na realização dos ensaios para armazenamento do lodo estão expostas na Tabela 5.5.

Tabela 5.5 – Caracterização da água bruta e água de estudo utilizadas na realização do ensaio para armazenamento do lodo, com células de *Microcystis aeruginosa* utilizando sulfato de alumínio como coagulante.

Parâmetros	Água do Lago	Água do Lago + 10 <sup>6</sup> cel/mL de <i>M. aeruginosa</i>
Alcalinidade (mgCaCO <sub>3</sub> /L)	19	22
Condutividade (µS/cm)	84	109
Absorbância a 254 nm	0,053	0,102
pH	6,2	6,6
Turbidez (UT)	1,79	37,7
Clorofila-a (µg/L)	6,16	268,40
Contagem (cel/mL)	ND	1,1 x 10 <sup>6</sup>

\*ND – não detectado

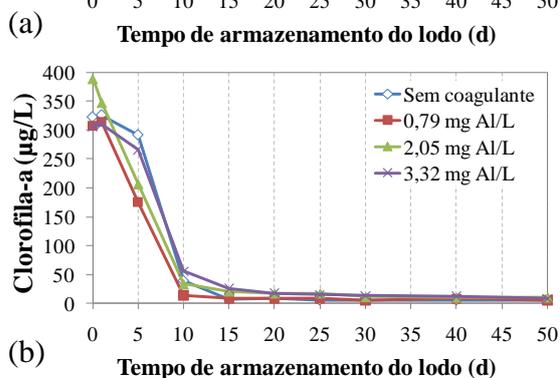
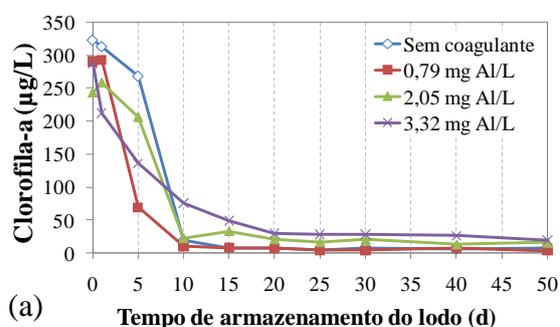


Figura 5.10 – Concentração de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b).

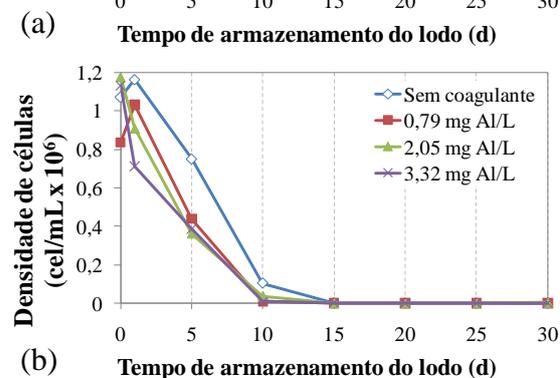
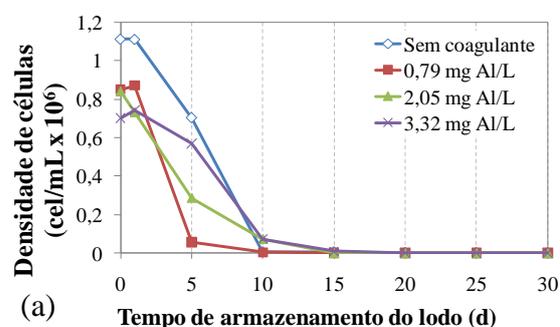


Figura 5.11 – Densidade de células ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b).

Na Figura 5.10 pode-se verificar que um decaimento acentuado de clorofila-a ocorreu até o 10º dia de armazenamento do lodo, para os dois valores de pH analisados.

Comparando-se as Figuras 5.10 e 5.11 percebe-se que o decaimento da concentração de clorofila-a é similar ao de células, já que praticamente toda clorofila-a é proveniente das células de *Microcystis aeruginosa*. No 10º dia a densidade de células já havia decaído mais de 90% do seu valor inicial, chegando a 100% no 15º dia.

O sulfato de alumínio, apesar de influenciar no decaimento inicial de células e clorofila-a, não parece ser tóxico às células de *Microcystis aeruginosa*, como já foi também observado por Chow *et al.* (1999). O determinante, de fato, na morte das células e degradação de clorofila-a, pode ter sido a simples ausência de luz.

Os resultados da concentração de microcistinas extracelulares durante armazenamento do lodo são mostrados na Figura 5.12. Pode-se verificar que, no dia 0, já havia uma considerável concentração de microcistina extracelular. Microcistinas são preferencialmente encontradas dentro das células de *Microcystis aeruginosa*. A maior parte das microcistinas extracelulares é provavelmente liberada somente após lise celular, mas transporte ativo proveniente das células em crescimento também já foi sugerido por Pearson *et al.* (2004, *apud* Babica *et al.*, 2006).

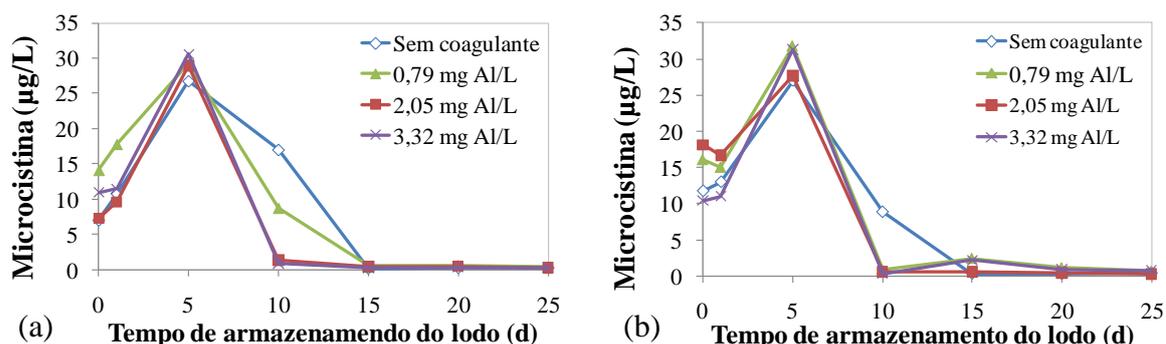


Figura 5.12 – Concentração de microcistina extracelular no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo, para o valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b).

A concentração de microcistinas extracelulares atinge o seu valor máximo após cinco dias de armazenamento do lodo. 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. A liberação mais lenta de toxina no ensaio sem adição de coagulante é compatível com a cinética mais lenta de decaimento das células.

Os resultados das concentrações de microcistinas ao longo do tempo são condizentes com o decaimento da densidade de células (Figura 5.11). Enquanto que para as amostras sem coagulante o decaimento de células após 5 dias de armazenamento de lodo foi de apenas 37% (pH 5,5) e 30% (pH 7,0) em relação à densidade inicial, nas amostras em que foi adicionado coagulante o decaimento após 5 dias foi maior: 74 e 66% para os respectivos valores de pH e dosagem de coagulante de 13 mg/L. Dessa forma, a lise celular mais demorada nas amostras sem coagulante explica também a liberação e degradação mais tardias de microcistinas extracelulares, já que a concentração destas só aumenta quando ocorre a lise das células.

Com relação às microcistinas totais (Figura 5.13), os resultados mostram que sua concentração permanece praticamente constante até o 5º dia de armazenamento do lodo e logo depois começa a decrescer, fato que é corroborado pelos dados de microcistinas extracelulares. Analisando-se conjuntamente os dados de microcistinas extracelulares e totais pode-se concluir que do dia 0 ao dia 5 praticamente todas as células foram lisadas, e a partir de então predomina a degradação das microcistinas (degradação quase completa após 15 dias de armazenamento).

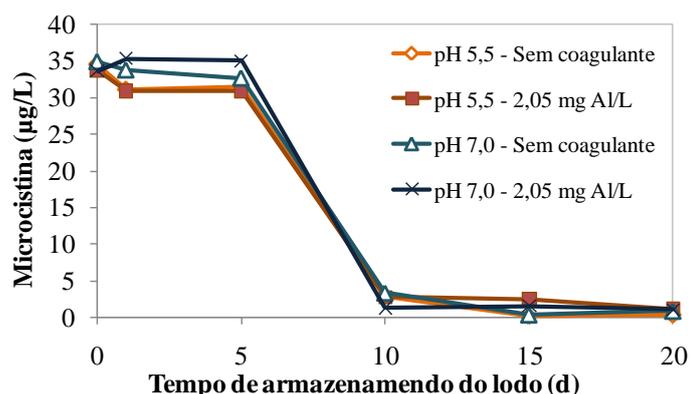


Figura 5.13 – Concentração de microcistina total ao longo do período de armazenamento do lodo para os dois valores de pH de coagulação estudados, sem coagulante e com dosagem de 2,05 mg Al/L (dosagem ótima).

Vale ressaltar que o estudo em escala piloto realizado por Drikas *et al.* (2001) avaliando a lise celular de *Microcystis aeruginosa* em lodo de decantador e utilizando de sulfato de alumínio como coagulante, foram encontrados resultados semelhantes: a densidade de

células caiu para a metade do seu valor inicial após aproximadamente 4 dias de armazenamento do lodo, chegando a zero no 13º dia de armazenamento. A concentração extracelular de microcistinas aumentou abruptamente até o 2º dia, e após o 5º dia começou a decrescer, indicando sua degradação, e chegando a zero no 13º dia.

Adicionalmente, os resultados da concentração de microcistinas extracelulares mostram que a degradação ocorreu entre 5 a 10 dias (dependendo da adição ou não de coagulante e do pH de coagulação), o que é corroborado por estudos realizados em águas naturais apontando que, uma vez iniciada, a degradação geralmente se completa dentro de poucos dias, variando de 2 dias a 3 semanas, dependendo das características do corpo d'água e condições climáticas (Apeldoorn *et al.*, 2007).

### **5.2.2 – Experimentos com células de *Cylindrospermopsis raciborskii* e utilizando sulfato de alumínio como coagulante**

Na primeira etapa experimental – construção dos diagramas de coagulação – não houve nenhum valor de pH de coagulação que se destacou. Sendo assim, optou-se por escolher os valores de pH iguais a 5,5 e 7,0 para o ensaio de coagulação, floculação e sedimentação com armazenamento do lodo por diferentes períodos. Essa escolha foi feita para se avaliar, com clareza, o efeito do pH de coagulação na lise celular, liberação e degradação de saxitoxinas durante o armazenamento do lodo sedimentado.

Apesar de não ter havido dosagem de sulfato de alumínio que produzisse uma eficiência satisfatória de remoção, foram escolhidas as seguintes dosagens de sulfato de alumínio para se avaliar o efeito que o coagulante causa na lise celular e degradação de saxitoxinas: 5 mg/L (0,79 mg Al/L) como dosagem sub-ótima; 12 mg/L (1,90 mg Al/L) como dosagem ótima; e 29 mg/L (4,58 mg Al/L) como dosagem superior à ótima.

A Tabela 5.6 mostra as características da água bruta e água de estudo utilizadas na realização dos ensaios para armazenamento do lodo.

Tabela 5.6 – Caracterização da água bruta e água de estudo utilizadas na realização do ensaio para armazenamento do lodo, com células de *Cylindrospermopsis raciborskii* utilizando sulfato de alumínio como coagulante.

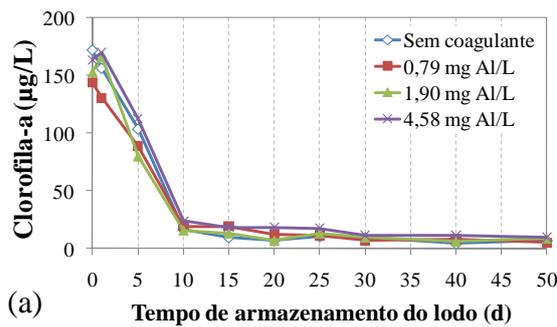
Parâmetros	Água do Lago	Água do Lago + 10 <sup>6</sup> cel/mL de <i>C. raciborskii</i>
Alcalinidade (mgCaCO <sub>3</sub> /L)	5	6
Condutividade (µS/cm)	92	114
Absorbância a 254 nm	0,019	0,025
pH	6,4	6,9
Turbidez (UT)	4,8	16
Clorofila-a (µg/L)	27,28	172,48
Contagem (cel/mL)	ND	1,2 x 10 <sup>6</sup>

\*ND – não detectado

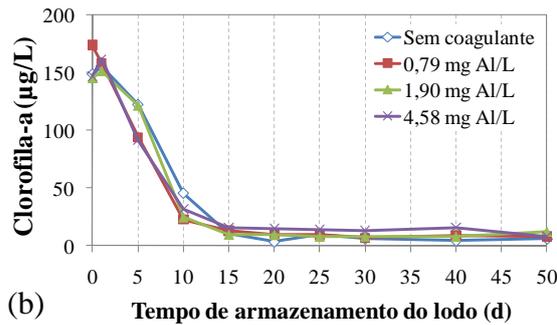
O decaimento de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo, com células de *Cylindrospermopsis raciborskii* e utilizando sulfato de alumínio como coagulante, é apresentado na Figura 5.14. Pode-se observar que, após 5 dias de armazenamento, aproximadamente 20 a 50% da clorofila-a já havia decaído, nas diferentes amostras. Em 10 dias, houve um decréscimo de 80 a 90% de clorofila-a.

Já a análise do decaimento de células (Figura 5.15) foi um pouco distinta. Após 5 dias não foram mais observadas células de *C. raciborskii* na maior parte das amostras, com exceção das amostras sem coagulante, nos dois valores de pH de coagulação utilizados e na menor dosagem utilizada (0,79 mg Al/L) no pH 5,5. Aparentemente, a não-adição de coagulante contribuiu para a manutenção da integridade celular por mais tempo, já que, no 5º dia de armazenamento do lodo, nas amostras em que não foi adicionado coagulante, houve pouco ou nenhum decaimento de células.

Para a análise das três variantes de saxitoxinas (neoSTX, dcSTX e STX) foi primeiramente construída a curva de calibração para cada uma delas, por meio da injeção em triplicata de cinco concentrações conhecidas de padrões certificados. A Figura 5.16 apresenta as curvas de calibração, com ajuste linear, coeficiente de correlação ( $R^2$ ) e as equações que relacionam a área (A) sobre o cromatograma com a concentração (C) de cada saxitoxina.

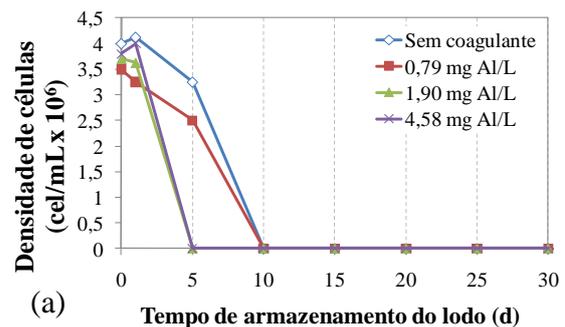


(a) Tempo de armazenamento do lodo (d)

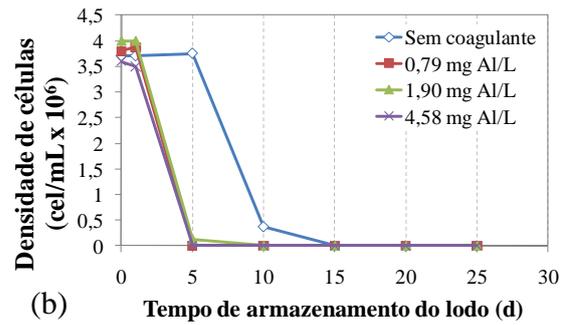


(b) Tempo de armazenamento do lodo (d)

Figura 5.14 – Concentração de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b).



(a) Tempo de armazenamento do lodo (d)



(b) Tempo de armazenamento do lodo (d)

Figura 5.15 – Densidade de células ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b).

O limite de detecção da CLAE observado quando da construção da curva de calibração foi de 3,0 µg/L. No entanto, como para o procedimento de análise foi utilizada alça de amostragem (*loop*) de 100 µL ao invés de 20 µL usado para curva de calibração, foi possível detectar concentrações de até 0,6 µg/L.

A análise de saxitoxinas extracelulares para o valor de pH de coagulação igual a 5,5 (Figura 5.17) mostra uma grande variação do tempo de decaimento entre as diferentes dosagens de coagulante utilizadas. As amostras sem adição de coagulante apresentaram concentração de saxitoxinas menor do que as demais e, talvez por isso, a degradação foi mais rápida – no 20º dia já não foi detectada nenhuma saxitoxina. Quanto maior a dosagem de coagulante utilizada, maior foi o tempo de persistência das saxitoxinas. Comportamento semelhante foi observado por Oliveira (2005).

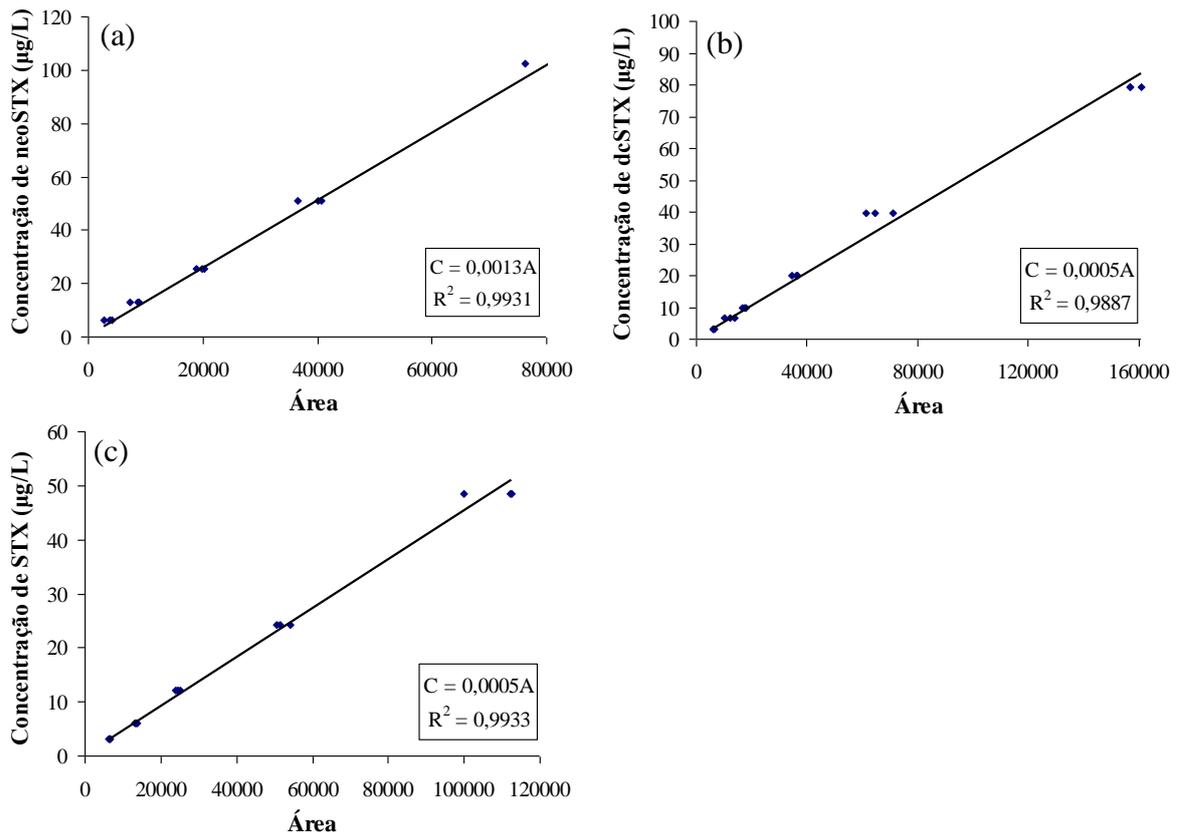


Figura 5.16 – Curvas de calibração para neosaxitoxina (neoSTX) (a), decarbamoilsaxitoxina (dcSTX) (b) e saxitoxina (STX) (c).

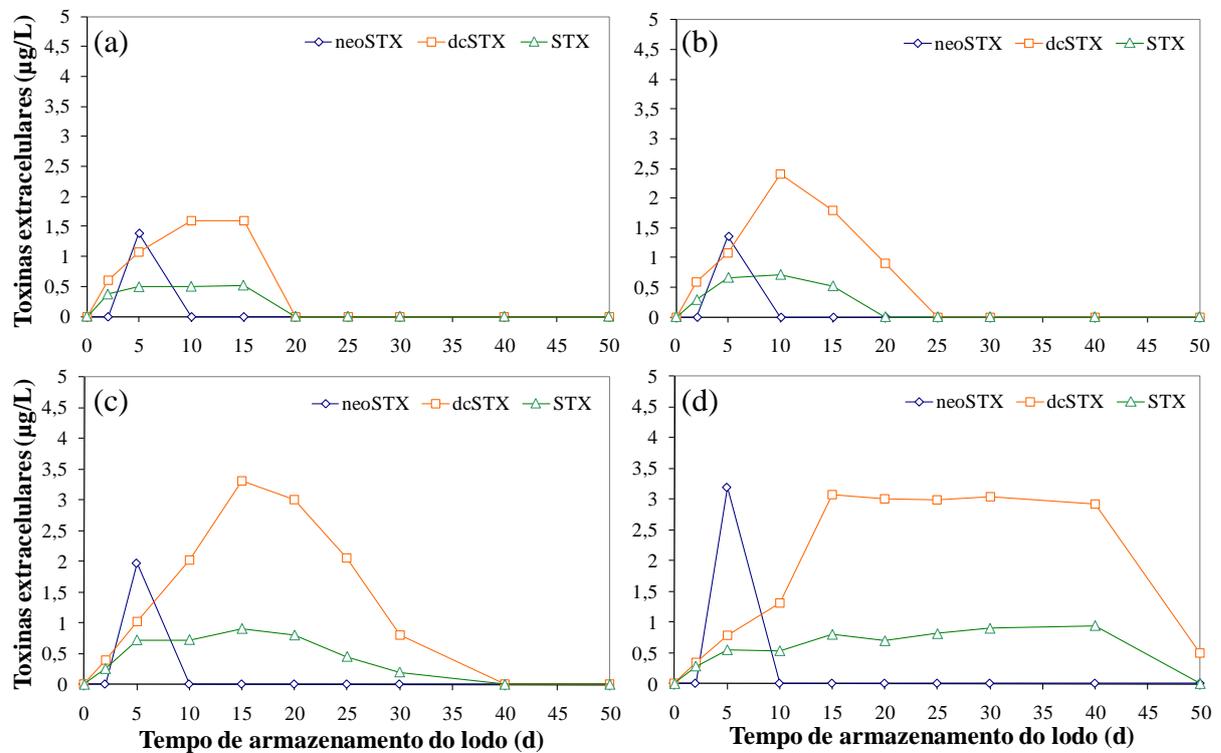


Figura 5.17 – Concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 5,5. (a) Sem coagulante. (b) 0,79 mg Al/L. (c) 1,90 mg Al/L. (d) 4,58 mg Al/L.

A toxina neoSTX foi detectada apenas no 5º dia de armazenamento do lodo, como pode ser visto na Figura 5.17. Isso demonstra a maior instabilidade dessa toxina, que pode ter sido degradada ou transformada em outros metabólitos detectáveis ou não. Pode ter ocorrido a transformação dessa variante em dcSTX, já que, após o 5º dia, houve um aumento de dcSTX em detrimento de neoSTX. Shimizu (2000) argumenta que os compostos N1-hidroxi, como a neoSTX, são mais instáveis em meio ácido e calor do que STX. Shimizu (1988 *apud* Indrasena e Gill, 2000a) também aponta que STX pode ser produzida pela conversão de neoSTX, em aquecimento brando e pH baixo. NeoSTX pode ser convertida em STX pela clivagem reductiva do grupo N-hidroxil. Apesar de o valor de pH utilizado não ter sido tão baixo, e tampouco não haver aquecimento da amostra, é possível que outros processos de degradação ou transformação possam ser responsáveis por transformações similares às relatadas por Shimizu (2000).

A análise do somatório das três variantes de saxitoxinas (STX, dcSTX e neoSTX) extracelulares em cada dia mostra que, do dia 0 ao dia 5, as amostras com coagulante apresentaram concentrações de toxinas maiores do que a amostra em que não foi adicionado coagulante (Figura 5.18). Quanto maior a dosagem de coagulante utilizada, maior foi a concentração total de saxitoxinas, e maior foi o tempo de persistência. Cabe comentar que, conforme mostrado no Apêndice C, apenas no 5º dia foi ultrapassado o valor máximo indicado pela Portaria 518/2004, de 3 µg/L de equivalente STX.

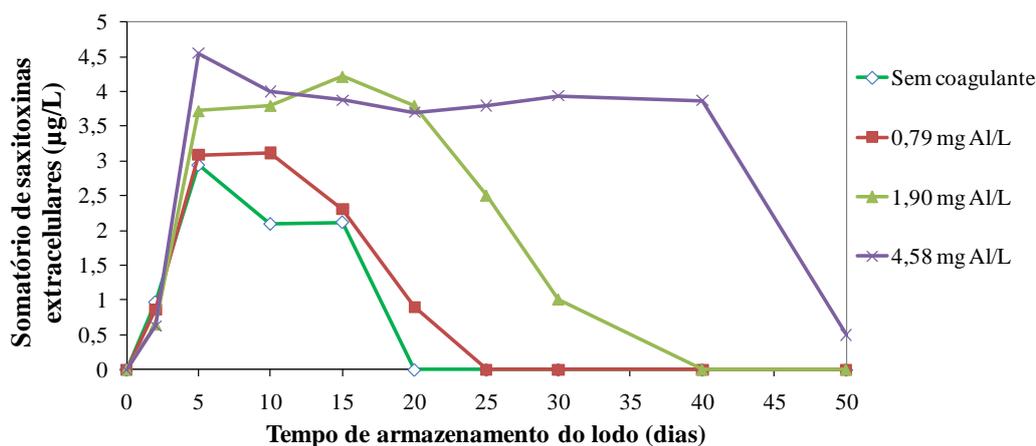


Figura 5.18 – Somatório da concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 5,5.

Para o valor de pH de coagulação igual a 7,0, como pode ser visto na Figura 5.19 e 5.20, as saxitoxinas apresentaram decaimento mais rápido do que em relação ao pH 5,5 (Figura 5.17 e 5.18). Após o 20º dia para a maioria das amostras, e 25º dia para a amostra com a menor dosagem de sulfato de alumínio utilizada, não foram mais detectadas saxitoxinas. Conclui-se que as saxitoxinas foram mais suscetíveis à degradação ou transformação mais rápida no valor de pH mais elevado, de 7. Assim como no pH 5,5, neoSTX foi detectada apenas no 5º dia de armazenamento do lodo.

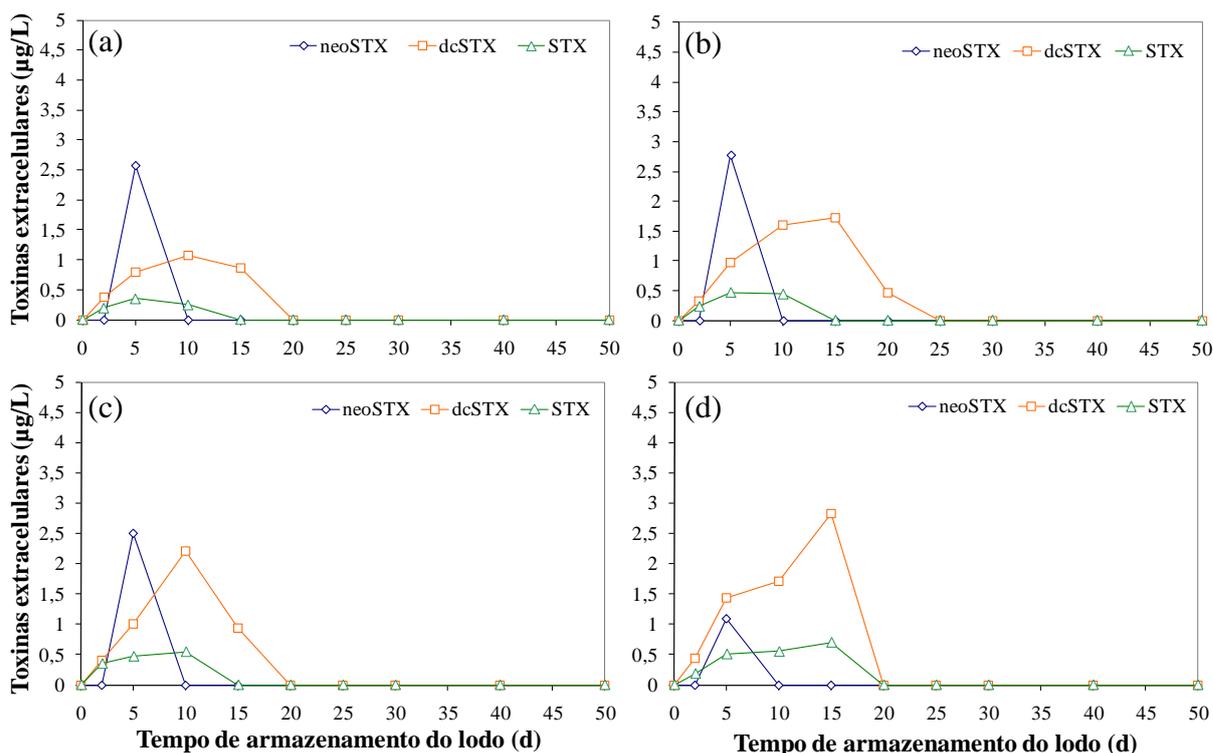


Figura 5.19 – Concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 7,0. (a) Sem coagulante. (b) 0,79 mg Al/L. (c) 1,90 mg Al/L. (d) 4,58 mg Al/L.

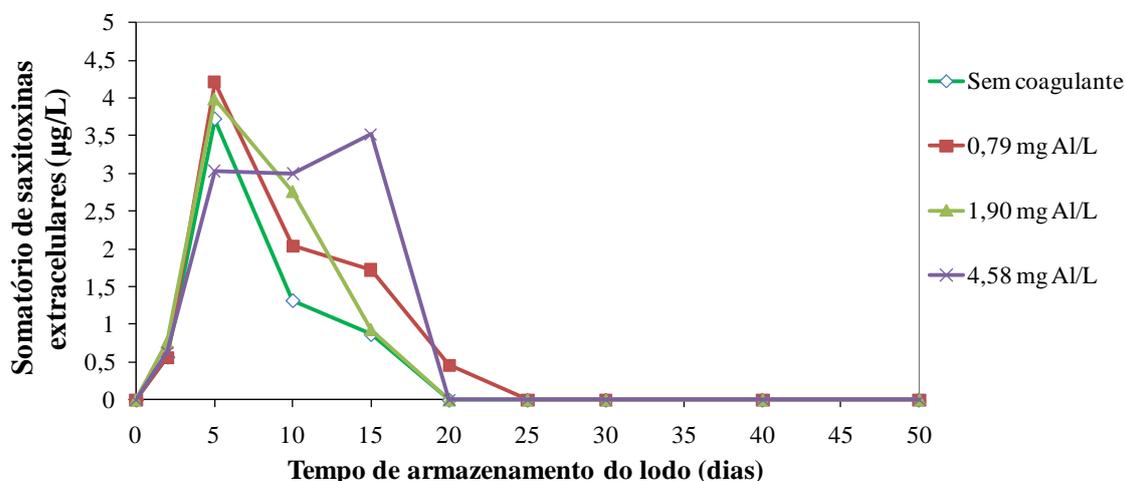


Figura 5.20 – Somatório da concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 7,0.

O valor do pH, como já comentado, tem grande influência nos processos de degradação e transformação de saxitoxinas, assim como a temperatura. Foi demonstrado por Indrasena e Gill (2000b), ao avaliarem a estabilidade de saxitoxinas ao armazenamento, que a 25°C, o conteúdo de STX em pH 6 e 7 aumentou em 1,4% e 2,5%, respectivamente, após um mês. Em pH baixo (pH 3-5) não houve mudança significativa. Castro *et al.* (2004) encontraram que a concentração de STX continuou a crescer no meio extracelular em pH alto (9 – 10) a 25°C. Já à temperatura de 19°C, houve um grande aumento na produção de GTX2/3 e concomitante diminuição de STX. Isso mostra a grande sensibilidade das saxitoxinas a mudanças de temperatura.

Possivelmente existem outras variáveis em questão que influenciam na estabilidade das saxitoxinas. Uma delas, como foi exposta por Shimizu (2000) e Castro *et al.* (2004), é que STX e outras variantes podem ser estabilizadas no meio por complexação ou ligação com outras substâncias.

Fato intrigante é que Oliveira (2005), utilizando a mesma cepa e mesmo coagulante, encontrou concentrações de neoSTX persistentes por muito mais tempo, em pH 6,0. Já em pH 7,0, o autor encontrou decaimento bem mais rápido de neoSTX, similar ao encontrado neste estudo. Isso sugere que mais pesquisas sobre o comportamento das saxitoxinas em valores de pH distintos e sob efeito do sulfato de alumínio ainda precisam ser aprofundadas e outras variantes devem também ser analisadas.

A concentração de equivalentes STX (Apêndice C) mostra que, igualmente ao observado no pH de coagulação de 5,5, apenas no 5º dia foi ultrapassado o valor limite de 3,0 µg/L de equivalente STX indicado pela Portaria 518/2004, com exceção da amostra com a maior dosagem de sulfato de alumínio, que não ultrapassou o limite.

A análise de saxitoxinas totais é compatível com a de saxitoxinas extracelulares. As saxitoxinas totais correspondem à soma das saxitoxinas intracelulares e extracelulares. Como se observa nas Figuras 5.21 e 5.22, a concentração de neoSTX está no seu máximo no dia 0. Como ainda não tinha havido lise celular, essa concentração corresponde totalmente à fração intracelular.

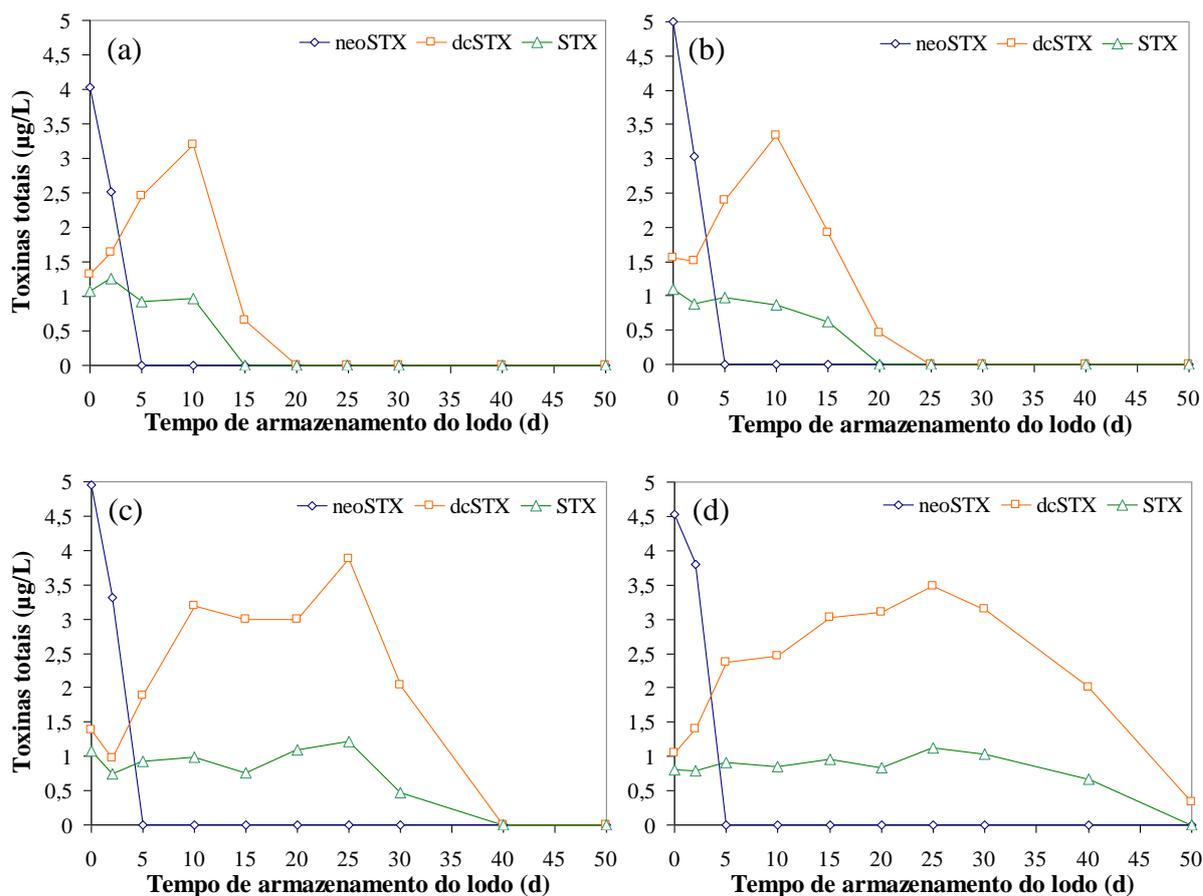


Figura 5.21 – Concentração de saxitoxinas totais ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 5,5. (a) Sem coagulante. (b) 0,79 mg Al/L. (c) 1,90 mg Al/L. (d) 4,58 mg Al/L.

A concentração de STX total permanece aproximadamente constante por um período de tempo, para depois degradar. Esse período de tempo é inversamente proporcional ao valor de pH e diretamente proporcional à dosagem de sulfato. Ou seja, para o menor valor de pH de coagulação e maior dosagem de sulfato, maior o tempo de estabilidade e maior o tempo de degradação.

Diferentemente, a concentração de dcSTX foi crescendo, como se observou também na análise extracelular. Isso pode ser devido à transformação de neoSTX ou outras variantes não detectadas (como C1, C2 ou dcneoSTX) em dcSTX. Embora não haja relatos na literatura sobre a transformação de neoSTX em dcSTX, essa transformação não necessariamente é direta, podendo haver intermediários entre as duas variantes.

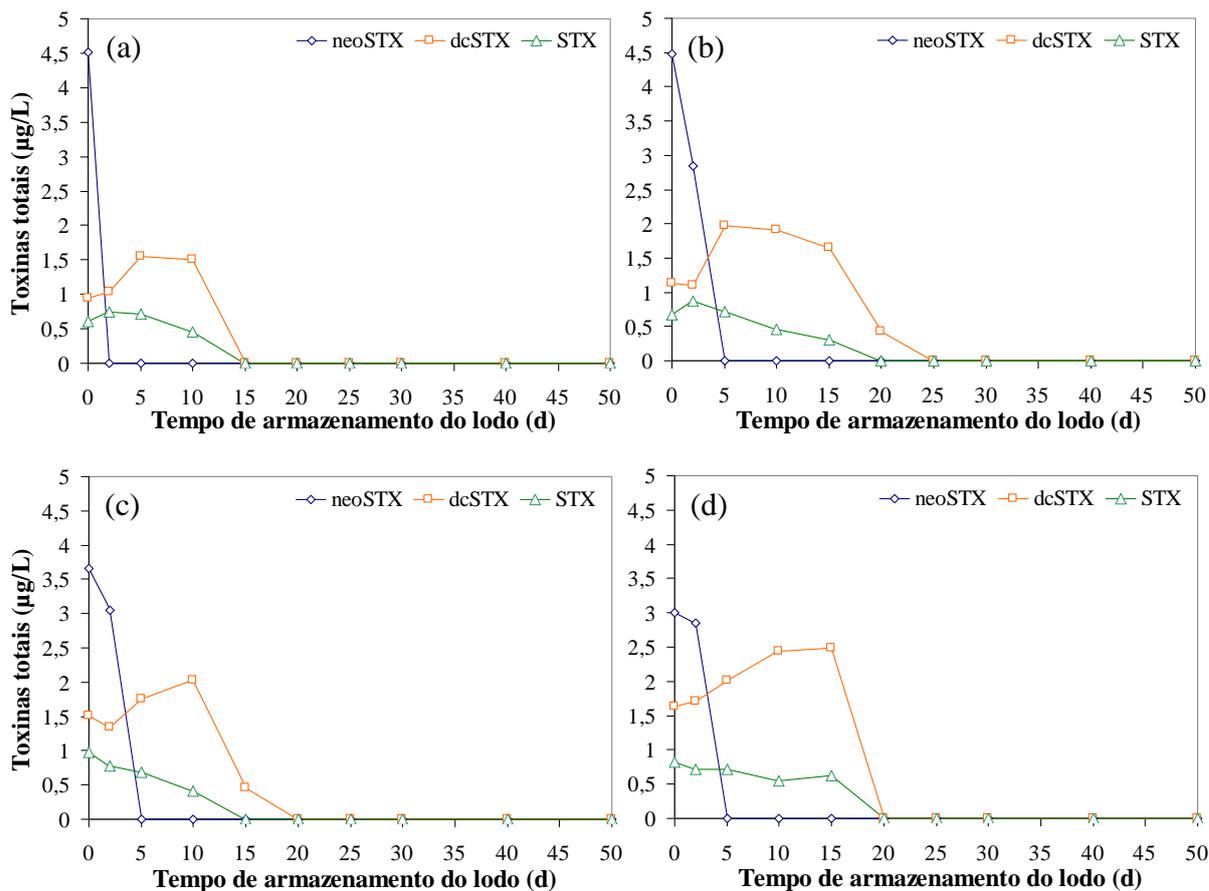


Figura 5.22 – Concentração de saxitoxinas totais ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 7,0. (a) Sem coagulante. (b) 0,79 mg Al/L. (c) 1,90 mg Al/L. (d) 4,58 mg Al/L.

Há uma incongruência entre os resultados de neoSTX extracelular e total. No 5º dia já não foi detectada neoSTX total, enquanto que na análise extracelular, neoSTX aparece no 5º dia. A lise celular, como mostram os gráficos de densidade de células ao longo do tempo de armazenamento do lodo (Figura 5.15), ocorre entre o 2º e o 5º dia. Isso quer dizer que nesse período há a liberação de toxinas para o meio. Antes disso, neoSTX, assim como as outras variantes, estavam contidas dentro da célula e só depois foram liberadas para o meio. Dessa forma, era de se esperar que se encontrasse neoSTX extracelular, assim como as outras variantes, a partir do 5º dia. A não-deteccção de neoSTX total no 5º dia pode ser devida à alta instabilidade dessa toxina, como foi colocado por Shimizu (2000), principalmente ao calor. Na análise de toxinas totais, como há o processo de gelo/degelo (por 3 vezes) e sonicação (para que haja a quebra das células), pode ter ocorrido sua degradação ou transformação.

### 5.2.3 – Experimentos com células de *Cylindrospermopsis raciborskii* e utilizando cloreto férrico como coagulante

De forma semelhante ao observado com sulfato de alumínio, foi constatado, na primeira etapa experimental, que, na faixa estudada, nenhuma combinação de pH de coagulação ou dosagem de cloreto férrico produziu remoção satisfatória de células de *C. raciborskii*. O pH de coagulação que se destacou um pouco foi o 5,0, utilizando dosagens altas de coagulante. Tendo isso em vista, optou-se por utilizar duas dosagens de cloreto férrico: dosagem de 25 mg/L (8,61 mgFe/L) e de 12 mg/L (4,13 mg Fe/L). Considerando que a dosagem de 25 mg/L, que apresentou resultados menos ruins, já foi alta, não foi testada uma dosagem superior. Em vez disso, foram testados três valores de pH de coagulação, ao invés de apenas dois, como nos experimentos anteriores com *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* utilizando sulfato de alumínio, a saber: pH 5; pH 6,5; e pH 7,5.

As características da água bruta e água de estudo utilizadas na realização dos ensaios para armazenamento do lodo se encontram na Tabela 5.7.

Tabela 5.7 – Caracterização da água bruta e água de estudo utilizadas na realização do ensaio para armazenamento do lodo, com células de *Cylindrospermopsis raciborskii* utilizando cloreto férrico como coagulante.

Parâmetros	Água do Lago	Água do Lago + 10 <sup>6</sup> cel/mL de <i>C. raciborskii</i>
Alcalinidade (mgCaCO <sub>3</sub> /L)	16	21
Condutividade (µS/cm)	96,8	112,5
Absorbância a 254 nm	0,041	0,083
pH	6,37	6,58
Turbidez (UT)	4,94	15,2
Clorofila-a (µg/L)	13,2	157,52
Contagem (cel/mL)	ND	1,7 x 10 <sup>6</sup>

\*ND – não detectado

A análise do decaimento de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo (Figura 5.23) mostra que, nos valores de pH 5,0 e 6,5, as amostras sem coagulante apresentaram, no 5º dia, decaimento maior do que as demais. Inversamente, as amostras

com maior adição de cloreto férrico tiveram um decaimento menor. Nas amostras com pH de coagulação igual a 7,5, todas as amostras apresentaram redução de aproximadamente 40% da clorofila-a com relação à sua concentração inicial após 5 dias de armazenamento. As amostras sem coagulante, e com a menor dosagem (4,13 mg Fe/L), apresentaram um decaimento menor no pH 7,5 do que nos outros valores de pH utilizados.

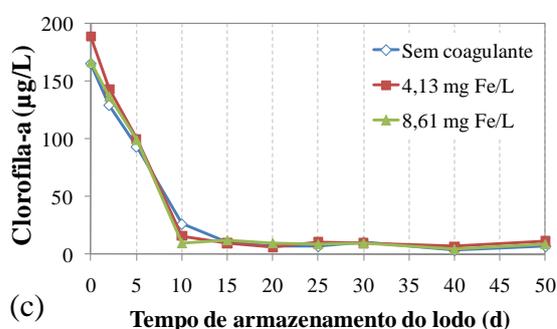
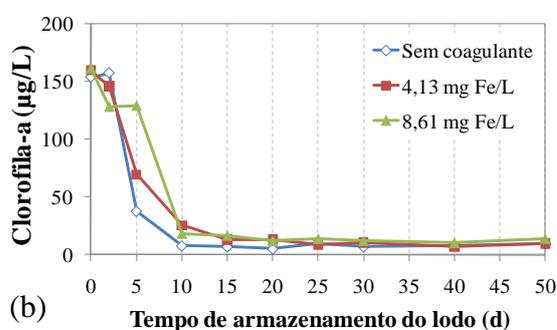
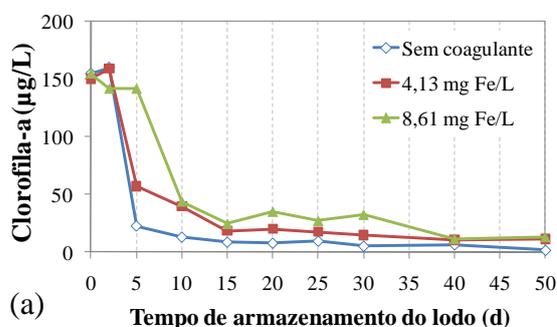


Figura 5.23 – Concentração de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a: 5,0 (a); 6,5 (b); e 7,5 (c).

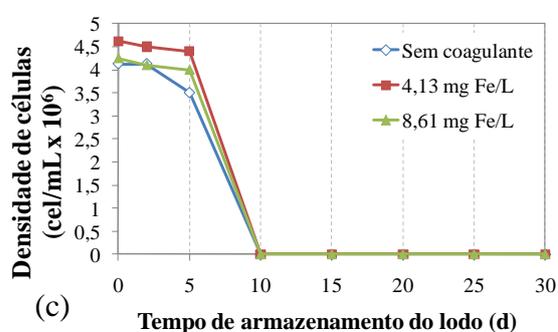
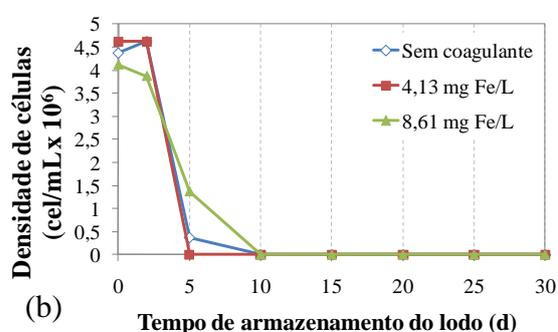
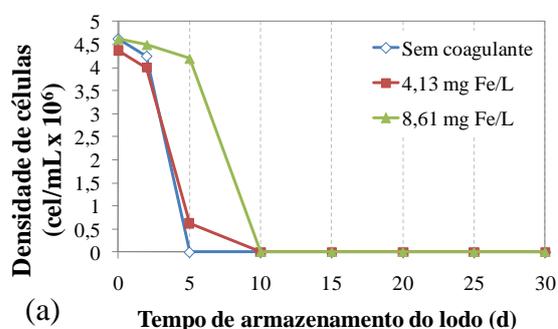


Figura 5.24 – Densidade de células ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a: 5,0 (a); 6,5 (b); e 7,5 (c).

Após 10 dias de armazenamento, de 70 a 90% da concentração de clorofila-a já tinha decaído, variando conforme o pH de coagulação e dosagem de cloreto férrico utilizados. Observa-se também que, no pH 5,0, os residuais de clorofila-a não decaem muito do 10º ao 30º dia, diferentemente dos outros valores de pH utilizados.

Com relação ao decaimento de células (Figura 5.24), percebe-se que, nos valores de pH 5,0 e 6,5, nas amostras com maior dosagem de coagulante, o decaimento foi mais lento, consistente com o decaimento de clorofila. A coagulação com valor de pH igual a 7,5 aparentemente contribuiu para que as células se mantivessem intactas por mais tempo, já que após 5 dias, houve pouco ou nenhum decaimento de células, o que difere dos resultados obtidos com clorofila.

A análise de saxitoxinas extracelulares, para o valor de pH de coagulação igual a 5,0 (Figura 5.25) mostra que, similarmente aos ensaios com sulfato de alumínio, neoSTX só apareceu no 5º dia, para a amostra sem coagulante e com a menor dosagem. As outras toxinas decaíram completamente até o 30º dia. Já na amostra com a maior dosagem de cloreto férrico, houve um retardamento do aparecimento das três variantes de saxitoxinas, como era de se esperar com base na análise do decaimento de células (Figura 5.24), que mostrou um decrescimento tardio.

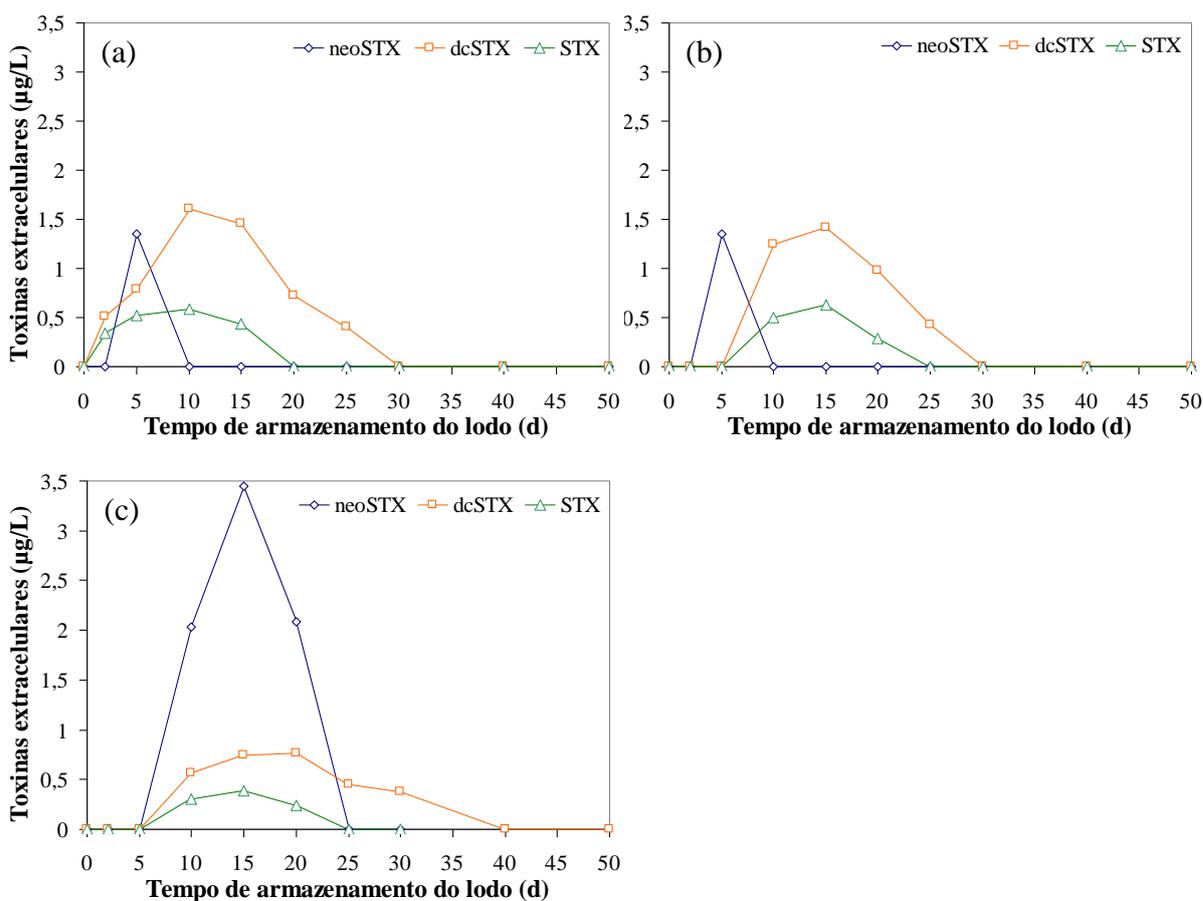


Figura 5.25 – Concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 5,0. (a) Sem coagulante. (b) 4,13 mg Fe/L. (c) 8,61 mg Fe/L.

Na maior dosagem de cloreto férrico, neoSTX atinge uma concentração muito maior do que nas outras dosagens, e dcSTX é encontrada ainda no 30º dia. STX, que é a variante mais tóxica, é a que apresenta a menor concentração, em todas as dosagens.

O valor máximo de saxitoxinas indicado pela Portaria 518/2004, em termos de equivalentes STX (Apêndice C), só foi ultrapassado no 15º dia de armazenamento do lodo.

Para o valor de pH 6,5 (Figura 5.26), os resultados foram bem distintos. Não foi detectada a variante neoSTX em nenhuma amostra, independente da dosagem, o que enfatiza a instabilidade dessa variante. Nas duas dosagens de coagulante utilizadas, dcSTX e STX foram apenas detectadas a partir do 5º dia de armazenamento, enquanto sem adição de coagulante essas toxinas já haviam sido detectadas no 2º dia de armazenamento. Vale destacar que as análises foram repetidas, para confirmar o resultado.

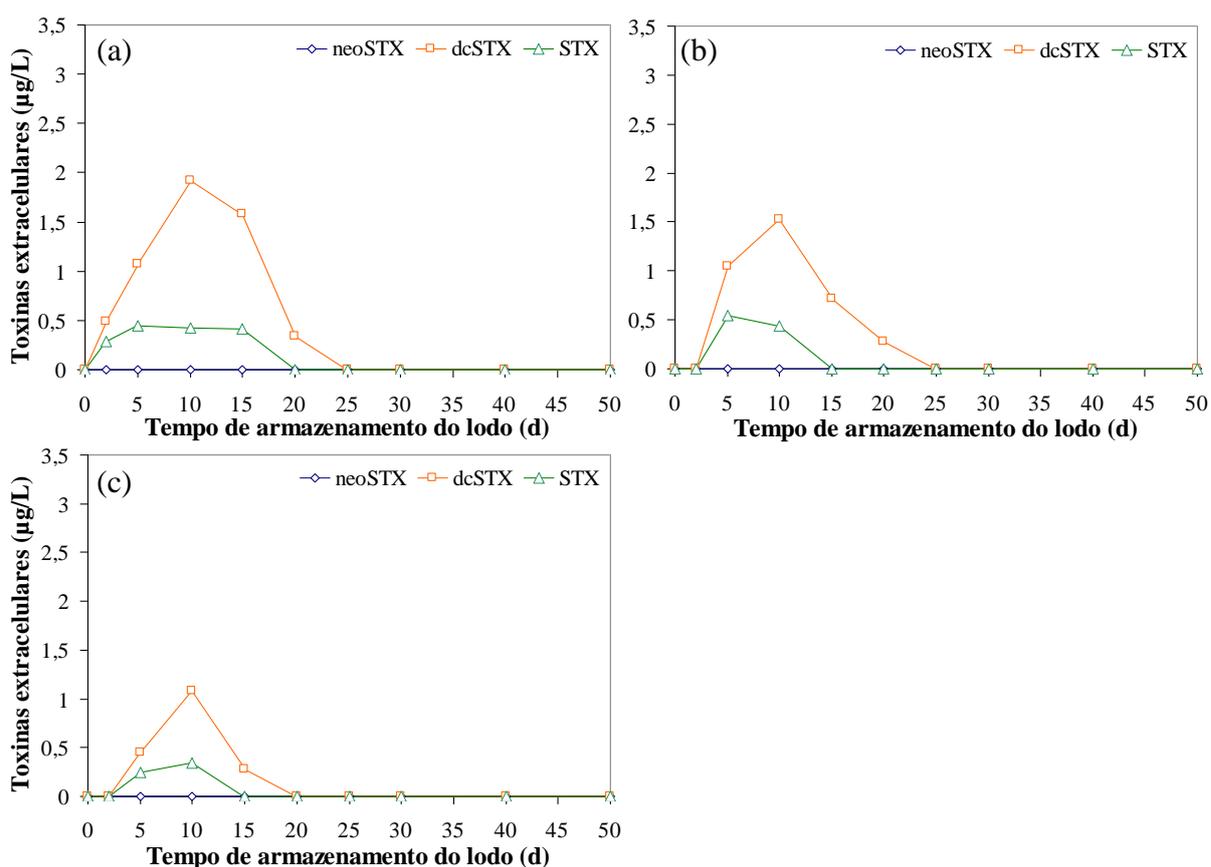


Figura 5.26 – Concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 6,5. (a) Sem coagulante. (b) 4,13 mg Fe/L. (c) 8,61 mg Fe/L.

A análise do somatório de saxitoxinas para o pH 6,5 e 7,0 mostra a degradação de saxitoxinas em um tempo menor do que no pH 5,0 (Figura 5.27). Isso indica, uma rápida degradação ou transformação de saxitoxinas nesses valores de pH, como colocado por Indrasena e Gill (2000b), que verificaram maior estabilidade de STX em valores baixos de pH (3-5), e maior taxa de degradação (ou transformação) em valores maiores de pH (6-7).

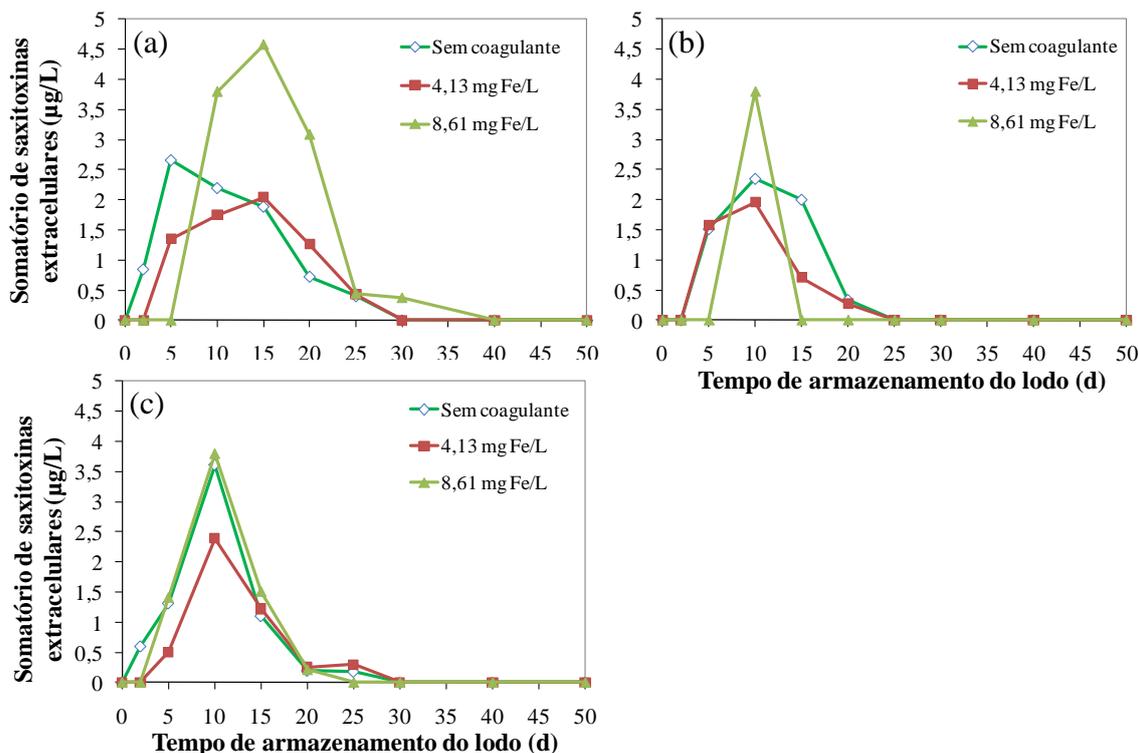


Figura 5.27 – Somatório da concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias). (a) pH 5,0. (b) pH 6,5 (c) pH 7,5.

Similarmente ao pH 6,5, no pH 7,5 (Figura 5.28) a variante neoSTX também não foi detectada nas amostras com coagulante. A toxina dcSTX foi a que persistiu por mais tempo, como foi visto também nos outros valores de pH. Isso mostra a perda de toxicidade das amostras ao longo do tempo, já que dcSTX tem aproximadamente a metade da toxicidade de STX.

A análise de saxitoxinas totais (Figuras 5.29 e 5.30) confirma os resultados da análise de saxitoxinas extracelulares, com exceção da variante neoSTX, que foi detectada na análise de saxitoxinas totais mas não foi detectada em algumas amostras de saxitoxinas extracelulares.

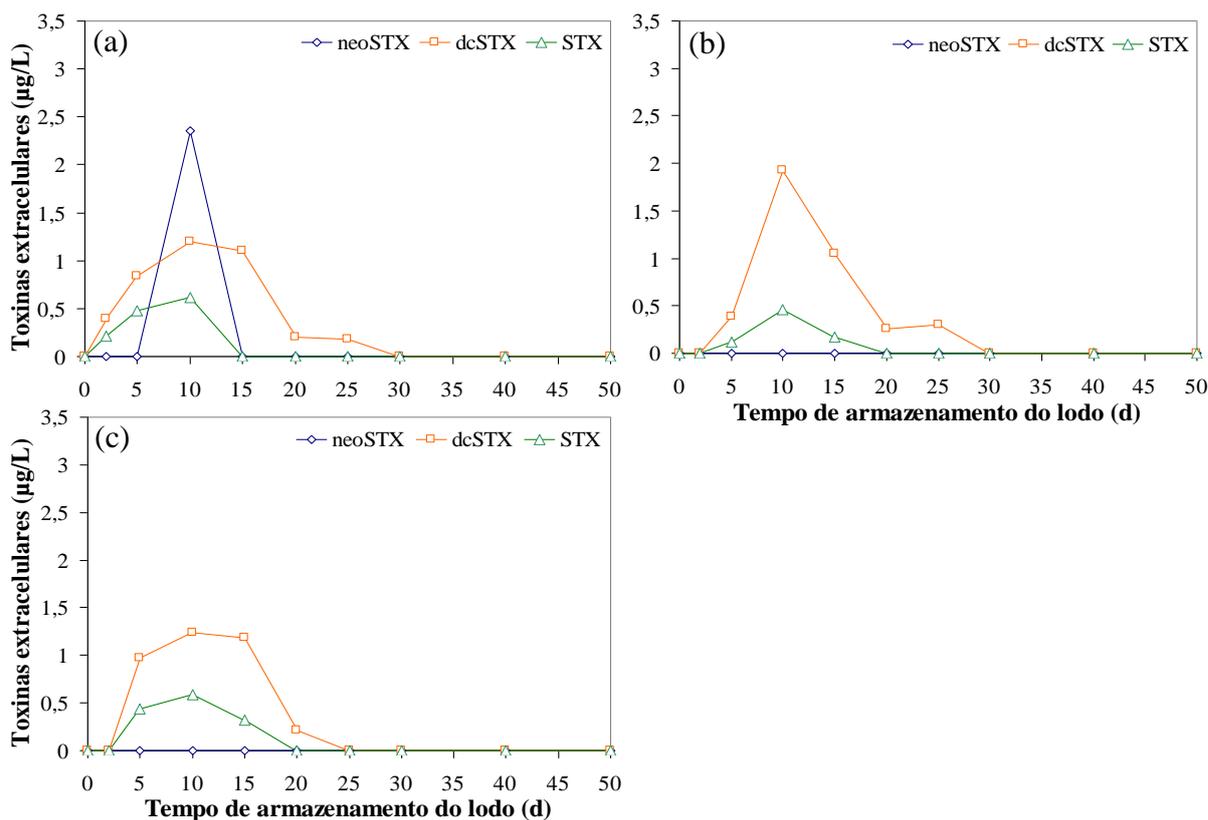


Figura 5.27 – Concentração de saxitoxinas extracelulares no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 7,5. (a) Sem coagulante. (b) 4,13 mg Fe/L. (c) 8,61 mg Fe/L.

Em todas as análises feitas, independente do valor de pH de coagulação ou do coagulante, STX – a variante mais tóxica – foi a que apresentou a menor concentração dentre as três variantes de saxitoxinas analisadas. Oliveira (2005) encontrou concentrações maiores de STX (até 4 µg/L) ao longo do tempo de armazenamento do lodo, utilizando sulfato de alumínio como coagulante.

Alguns fatores ambientais podem influenciar na expressão de genes responsáveis pela produção de toxinas pelas cianobactérias. Já foi demonstrada a influência da luz na transcrição de genes da biossíntese de microcistina. A presença de certas bactérias na água também tem mostrado afetar a produção de toxinas pelas algas (Pegram *et al.*, 2007). Cabe observar também que as cianobactérias podem ter enzimas endógenas que causam modificações na estrutura básica da saxitoxina, levando à produção de uma variedade de congêneres. (Neilan *et al.*, 2007). No entanto, como as condições do presente estudo, com células cultivadas em laboratório, foram idênticas às utilizadas por Oliveira (2005), não é possível se deduzir qual variável possa ter influenciado nas diferentes concentrações de toxinas detectadas.

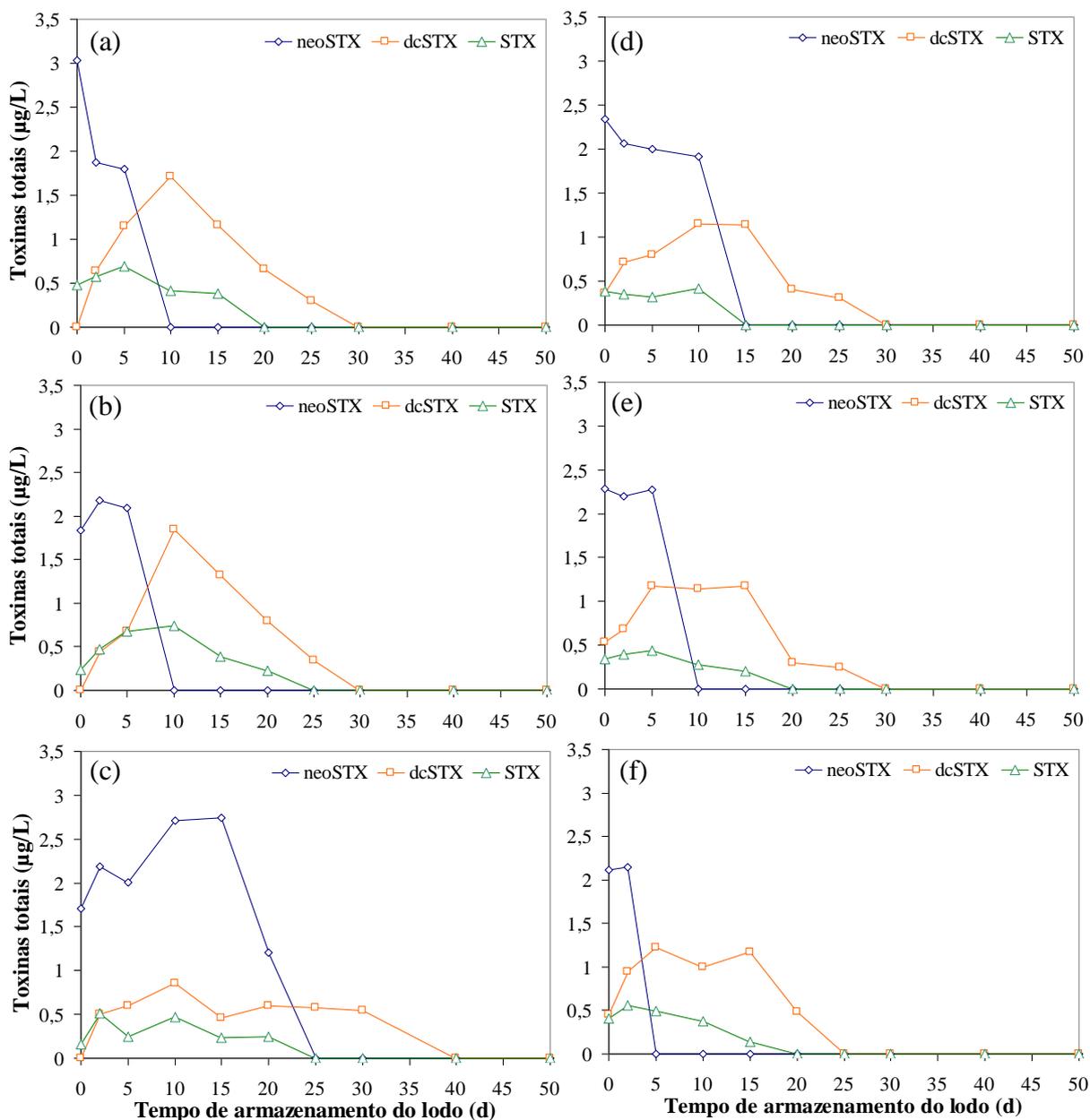


Figura 5.28 – Concentração de saxitoxinas totais ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 5,0 e 7,5.  
 (a) pH 5,0 - Sem coagulante. (b) pH 5,0 - 4,13 mg Fe/L. (c) pH 5,0 - 8,61 mg Fe/L.  
 (d) pH 7,5 - Sem coagulante. (e) pH 7,5 - 4,13 mg Fe/L. (f) pH 7,5 - 8,61 mg Fe/L.

A coagulação com valor de pH igual a 5,0 foi a que apresentou maior persistência de saxitoxinas, principalmente quando utilizada maior dosagem de cloreto férrico. Isso mostra que as saxitoxinas são mais suscetíveis à degradação/transformação em valores maiores de pH. Com o valor de pH de coagulação de 6,5, a degradação foi ainda rápida do que com os valores de pH de 5 e 7,5. Destaca-se também que a partir do 5º dia de armazenamento já não foi detectada a variante neoSTX quando a água foi coagulada com pH 6,5. Por outro

lado, com os valores de pH de 5 e 7,5, a neoSTX foi detectada até 25 dias (a depender da dosagem de cloreto férrico utilizada).

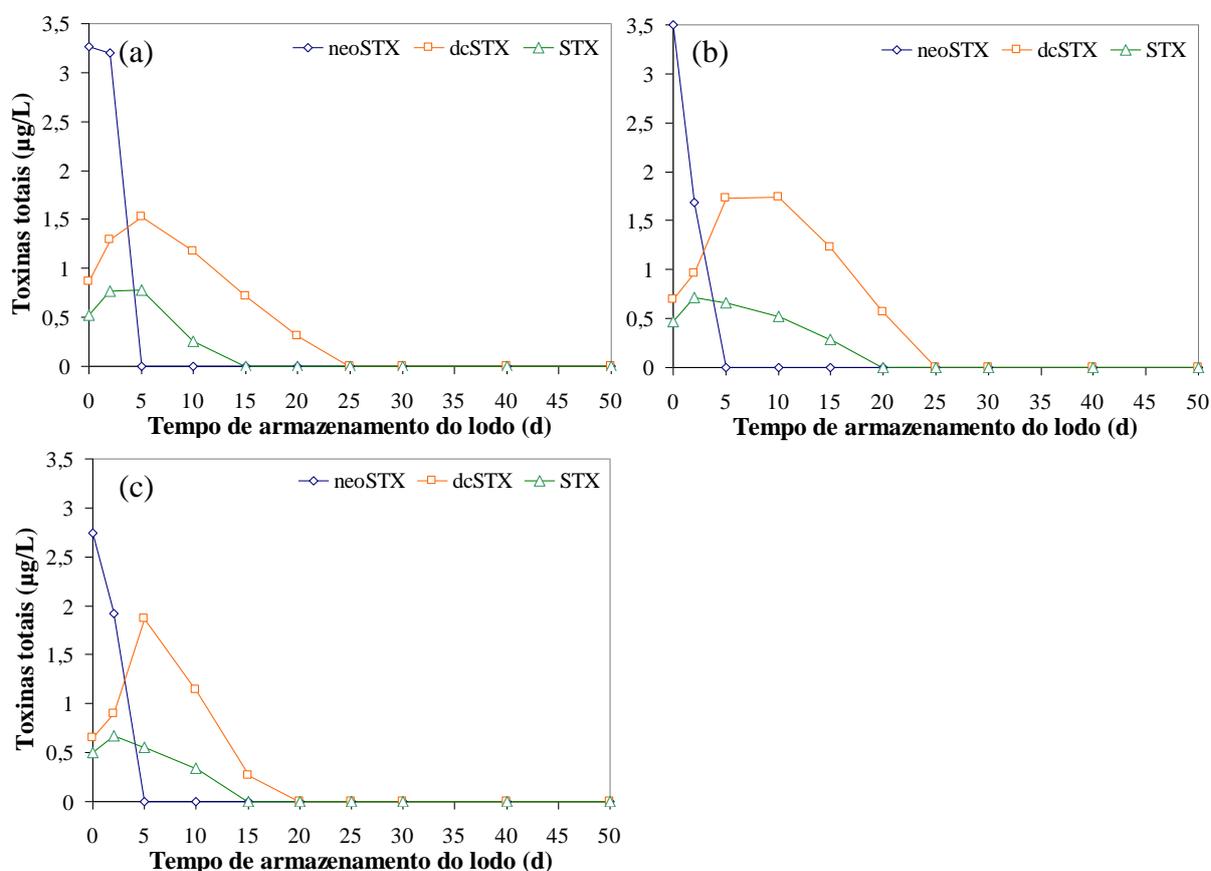


Figura 5.29 – Concentração de saxitoxinas totais ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 6,5.

(a) Sem coagulante. (b) 4,13 mg Fe/L. (c) 8,61 mg Fe/L.

Nota-se, tanto nos ensaios realizados com sulfato de alumínio quanto com cloreto férrico, que a influência do coagulante na degradação das saxitoxinas é mais evidente em valores menores de pH de coagulação. Nesses casos, foi observado decaimento de toxinas mais tardio em relação aos valores de pH mais elevados.

Diferentemente, a influência do sulfato de alumínio no decaimento de células de *Microcystis aeruginosa* e na degradação de microcistinas não foi tão forte e evidente quanto no decaimento de *C. raciborskii* e saxitoxinas. No caso de *M. aeruginosa*, o decaimento de células e toxinas foi bem mais célere comparando-se com *C. raciborskii*.

## 6 – CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Cada gênero de cianobactéria analisado, em associação com um coagulante específico (sulfato de alumínio ou cloreto férrico) exibiu comportamento distinto em relação à eficiência de remoção de turbidez, clorofila-a e células, liberação e degradação de toxinas, decaimento de células e clorofila-a ao longo do tempo de armazenamento.

Os diagramas de coagulação obtidos nas condições avaliadas mostraram que:

- ✓ Boas eficiências de remoção (>80%) foram alcançadas com células de *Microcystis aeruginosa* em valores de pH baixos (5,0 e 5,5), em uma ampla faixa de dosagem de sulfato de alumínio, tanto em termos de turbidez quanto de clorofila-a e células;
- ✓ Existe forte correlação entre a remoção de turbidez, clorofila-a, e células de *M. aeruginosa*, conforme mostrou a análise estatística;
- ✓ Diferentemente de *M. aeruginosa*, não foi obtida eficiência de remoção satisfatória de *Cylindrospermopsis raciborskii* em nenhum valor de pH de coagulação e dosagem de coagulante, tanto com sulfato de alumínio quanto com cloreto férrico. As melhores eficiências encontradas estavam, em média, abaixo de 40%.

Presume-se que a dificuldade de remoção de células de *Cylindrospermopsis raciborskii* por meio de coagulação, floculação e sedimentação, seja devido à sua morfologia, tamanho dos filamentos, e presença de vesículas gasosas, que reduzem a densidade dos flocos.

Os resultados obtidos a partir do armazenamento do lodo sedimentado por diferentes períodos, após coagulação e floculação, mostraram que o valor do pH de coagulação, bem como o tipo de coagulante utilizado e sua dosagem, tem influência no tempo de ocorrência de lise celular e no tempo de degradação de toxinas ao longo do armazenamento do lodo no decantador. Com base nos resultados obtidos conclui-se que:

- ✓ Após 10 dias, a densidade de células de *M. aeruginosa* já havia decaído mais de 90% do seu valor inicial, chegando a praticamente 100% no 15º dia, independente do valor de pH de coagulação ou dosagem de sulfato de alumínio, o que indica que a principal causa do decaimento de células não foi o pH de coagulação ou a adição de coagulante, mas sim a simples ausência de luz;

- ✓ O decaimento de células de *Cylindrospermopsis raciborskii*, quando o sulfato de alumínio foi adotado como coagulante, apresentou comportamento distinto dependendo do pH de coagulação e da dosagem de coagulante. A adição de sulfato de alumínio pareceu ter efeito negativo na integridade celular, já que as amostras com adição de coagulante apresentaram decaimento de células mais rápido do que as amostras sem coagulante;
- ✓ O decaimento de células de *Cylindrospermopsis raciborskii* nos ensaios com cloreto férrico foi mais lento no maior valor de pH de coagulação analisado (7,5). Pôde-se notar a influência clara do valor do pH no tempo de ocorrência de lise celular.

Os resultados de decaimento de clorofila-a corroboraram os de decaimento de células, embora de forma menos acentuada.

A degradação de saxitoxinas (neoSTX, dcSTX e STX) ao longo do tempo de armazenamento do lodo, aqui interpretada como não detecção dos metabólitos, também foi influenciada pelo tipo de coagulante (sulfato de alumínio ou cloreto férrico) e sua dosagem, e pelo valor do pH de coagulação. Para microcistina, utilizando sulfato de alumínio como coagulante, essas formas de influência também puderam ser observadas.

A concentração de microcistinas extracelulares chegou ao máximo após 5 dias de armazenamento, não sendo mais detectada no 15º dia. Algumas amostras apresentaram degradação praticamente completa de microcistina no 10º dia.

Para saxitoxinas, a condição de coagulação que promoveu sua maior persistência foi a maior dosagem de sulfato de alumínio e pH mais baixo (5,5). 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 as dosagens sub-ótima e ótima. No entanto, o valor máximo permitido pela Portaria 518/2004 do Ministério da Saúde só foi ultrapassado no 5º dia de armazenamento (equivalentes de STX extracelular).

Fica visível que a presença de sulfato de alumínio em dosagens altas contribuiu para a estabilidade de saxitoxinas no valor de pH igual a 5,5. Já para o pH 7,0, esse

comportamento não foi observado. A degradação completa ocorreu em 20-25 dias de armazenamento.

Utilizando cloreto férrico como coagulante, a degradação de saxitoxinas foi comparativamente mais rápida nos maiores valores de pH de coagulação utilizados (6,5 e 7,5). No pH de coagulação de 5,0, a degradação completa foi observada entre 30 e 40 dias. A maior persistência, portanto, ocorreu no menor valor de pH, com a maior dosagem de cloreto férrico, similar ao verificado para sulfato de alumínio. Ou seja, a influência de ambos coagulantes na degradação das saxitoxinas é mais evidente em valores menores de pH de coagulação, tendo sido observado decaimento de toxinas mais tardio em valores de pH mais baixos e com maiores dosagens de coagulante.

As maiores concentrações de equivalentes STX extracelular foram encontradas no 10º dia (pH 6,5 e 7,5) e no 15º dia (pH 5,5) de armazenamento do lodo. Para os dois coagulantes utilizados, houve perda de toxicidade das amostras após atingirem a concentração máxima, pois dcSTX foi mais persistente que STX. NeoSTX foi a variante degradada (ou transformada) mais rapidamente e que se apresentou a mais instável.

Com base nos resultados, fica evidente que, após um determinado tempo de armazenamento do lodo, ocorre a lise de células e a liberação de toxinas para a coluna d'água sobre o lodo. Quando o coagulante utilizado foi o sulfato de alumínio, as concentrações de microcistinas e saxitoxinas (somatório de STX, neoSTX e dcSTX) atingiram valores máximos em torno de cinco dias de armazenamento de lodo, nos experimentos com células de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, respectivamente. Já com o coagulante cloreto férrico, a máxima concentração de saxitoxinas (somatório das três variantes) foi observada entre 10 e 15 dias de armazenamento de lodo, nos experimentos com *Cylindrospermopsis raciborskii*. Dessa forma, no caso de floração de cianobactérias tóxicas, a possibilidade de se ter concentrações elevadas de toxinas na água clarificada do decantador quando o lodo fica armazenado por mais de cinco dias é maior, colocando em risco a saúde do consumidor.

Atualmente, com o problema de escassez de água, há uma cobrança para que as estações de tratamento de água controlem suas perdas de água, e uma estratégia que vem sendo

adotada é a recirculação do sobrenadante do adensamento dos lodos de decantadores e água de lavagem dos filtros. No entanto, como foi visto, dependendo do tempo de contato entre o lodo adensado e seu sobrenadante, as células de cianobactérias tóxicas podem sofrer lise e liberar toxinas para a água clarificada.

Por fim, no caso do tratamento de água em situação de floração de cianobactérias tóxicas, recomenda-se o aumento da periodicidade de descarga do lodo e limpeza dos filtros, e a não recirculação da água clarificada dos adensadores de lodo, pois essas práticas minimizarão o risco na água para consumo humano.

Para se ter mais clareza com relação a alguns resultados encontrados no presente trabalho, sugerem-se os seguintes estudos, na mesma linha de pesquisa:

- Análise da influência de uma ampla faixa de pH no tempo de degradação de saxitoxinas, análise esta com toxinas purificadas e água destilada. Com esse estudo será possível também conhecer as transformações que estão ocorrendo nas diferentes variantes de saxitoxinas. Para um estudo mais esclarecedor com relação à transformação de saxitoxinas, sugere-se a análise das toxinas C1 e C2, também produzidas pela cepa T3 de *Cylindrospermopsis raciborskii*.
- Avaliação sistemática da influência de diferentes parâmetros da qualidade da água na eficiência de remoção de células de cianobactérias. Como os resultados de remoção obtidos nesse trabalho foram diferentes de outros relatados na literatura, o que possivelmente está relacionado às diferentes condições de qualidade de água, esse estudo poderá esclarecer quais parâmetros de fato influenciam na eficiência de remoção de cianobactérias.
- Análise da interferência do coagulante na detecção de saxitoxinas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral, W. B. F.; Lins, N. A.; Souza, J. C.G. (2001). “Remoção de cianobactérias e neurotoxinas em unidades de tratamento compactas pressurizadas.” *21º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental*, ABES, João Pessoa - PB, Brasil, p. 1-12.
- Amirtharajah, A.; Mills, P. (1982). “Rapid mix design for mechanism of alum coagulation.” *Journal of American Water Works Association* **74** (4), 210–216.
- Amirtharajah, A.; O’Melia, C. R. (1990). “Coagulation Processes: Destabilization, Mixing, and Flocculation.” In: *Water Quality and Treatment: a Handbook of Community Water Supplies*. 4<sup>th</sup> ed. AWWA. McGraw-Hill, United States, 269-365.
- Apeldoorn, M. E. van; Egmond, H. P. van; Speijers, G. J. A.; Bakker, G. J. I. (2007) “Toxins of cyanobacteria.” *Mol. Nutr. Food Res.* **51** (7), 7-60.
- Arantes, C. (2004). *Uso da filtração lenta para a remoção de *Cylindrospermopsis raciborskii* e saxitoxinas*. Dissertação de Mestrado. Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 109 f.
- Arboleda, J. V. (1992). *Teoria y Pratica de la Purificacion del Agua*. Asociación Colombiana de Ingenieria Sanitaria y Ambiental – ACODAL, 684 p.
- Arthur, K.; Limpus, C.; Balazs, G.; Capper, A.; Udy, J.; Shaw, G.; Keuper-Bennett, U.; Bennet, P. (2008). “The exposure of green turtles (*Chelonia mydas*) to tumour promoting compounds produced by the cyanobacterium *Lyngbya majuscula* and their potential rold in the aetiology of fibropapillomatosis.” *Harmful Algae* **7** (1): 114-125.
- 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*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos. Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 119 p.
- 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 microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil”. *Toxicology* **181–182**, p. 441–446.
- Babica, P.; Kohoutek, J.; Bláha, L.; Adamovský. O.; Marsálek, B. (2006). “Evaluation of extraction approaches linked to ELISA and HPLC for analyses of microcystin-LR, -RR and -YR in freshwater sediments with different organic material contents.” *Analytical and bioanalytical chemistry* **385** (8), 1545-51.

- Banker, R.; Carmeli, S.; Hadas, O.; Teltsch, B.; Porat, R.; Sukenik, A. (1997). "Identification of cylindrospermopsin in *Aphanizomenon ovalisporum* (Cyanophyceae) isolated from Lake Kinneret, Israel." *Journal of Phycology* **33** (4), 613-616.
- Bendatti, M. M.; Maizonave, C. R. M.; Facchin, J. M. J.; Thewes, M. R.; Adaime, H. S. (2005). "Ocorrência de floração de cianobactéria *Planktothrix mougeotii* no Lago Guaíba em 2004: atuação do DMAE no abastecimento público." *23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, ABES, Campo Grande – MS, Brasil, p. 1-6.
- Bernhardt, H.; Clasen, J. (1991). "Flocculation of micro-organisms." *J Water SRT – Aqua* **40** (2), 76-87.
- Bourne, D.G.; Blakeley, R. L.; Riddles, L.; Jones, G. J. (2006). "Biodegradation of the cyanobacterial toxin microcystin LR in natural water and biologically active slow sand filters." *Water Res.* **40** (6), p. 1294–1302.
- Bouvy, M.; Falcao, D.; Marinho, M.; Pagano, M.; Moura, A. (2000). "Occurrence of *Cylindrospermopsis* (Cyanobacteria) in 39 Brazilian tropical reservoirs during the 1998 drought." *Aquatic Microbial Ecology* **23**: 13–27.
- Brandão, C. C. S.; Azevedo, S. M. F. O. (2003). "*Cianobactérias Tóxicas na Água para Consumo na Saúde Pública e Processos de Remoção em Águas para Consumo Humano.*" Fundação Nacional de Saúde - FUNASA/Ministério da Saúde, Brasília, 56 p.
- Brandão, C. C. S.; Mondardo, R. I.; Bastos, R. K. X.; Tangerino, E. P. (2009). "Tratamento de Água e Remoção de Cianobactérias e Cianotoxinas." In: Pádua, V. L. (Coord.). *Remoção de microrganismos emergentes e microcontaminantes orgânicos no tratamento de água para consumo humano.* ABES, Belo Horizonte, 149-196.
- 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.
- Briand, J. F.; Leboulanger, C; Humbert, J. F.; Bernard, C.; Dufour, P. (2004). "*Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance, or global warming?" *J. Phycol.* **40**, 231-238.
- Bruchet, A.; Bernazeau, F.; Baudin, I; Pieronne, P. (1998). "Algal toxins in surface waters: analysis and treatment." *Water Supply* **16** (1/2), 619-623.

- Burns J.; Chapman, A. D.; Williams, C.; Flewelling, L.; Carmichael, W. W.; Pawlowicz M. (2000). "Cyanotoxic blooms in Florida's (USA) lakes, rivers and tidal estuaries: The recent invasion of toxigenic *Cylindrospermopsis raciborskii* and consequences for Florida's drinking water supplies." In: *Proceedings of the Florida Lake Management Society 2000 Annual Conference*, Florida, p. 26-27.
- Carmichael W. W.; Evans, W. R.; Yin, Q. Q.; Bell, P.; Moczydlowski, E. (1997). "Evidence for paralytic shellfish poisons in the freshwater cyanobacterium *Lyngbya wollei* (Farlow ex Gomont) comb. nov." *Applied and Environmental Microbiology* **63** (8), 3104-3110.
- Carmichael, W. W. (2001) "Health Effects of Toxin-Producing Cyanobacteria: "The CyanoHABs". *Human and Ecological Risk Assessment* **7** (5), 1393-1407 (*Acesso somente ao resumo*).
- Carmichael, W.W. (1994). "The toxins of Cyanobacteria." *Scientific American*. **270** (1), 78-86.
- Carneiro, T. G.; Leite, F. (2007). "Cianobactérias e suas toxinas." *Revista Analytica* **32**, 36-41.
- Carvalho, S. M. C.; Pereira, S. P.; Oliveira, E. R. A.; Macambira Bem, M. T.; Moura, S. R. (2006) "Primeiro registro de floração de cianobactérias tóxicas em reservatório utilizado para abastecimento público no Estado do Ceará." *VIII Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, SIBESA, Fortaleza – Ceará, Brasil, p. 1-8.
- Castro, D.; Vera, D.; Lagos, N.; García, C.; Vásquez, M. (2004). "The effect of temperature on growth and production of paralytic shellfish poisoning toxins by the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* C10." *Toxicon* **44**, 483–489.
- Ceballos, B. S. O.; Azevedo, S. M. F. O.; Bendate, M. M. A. (2006). "Fundamentos biológicos e ecológicos relacionados às cianobactérias." In: Pádua, V. L. (Coord.). *Contribuição ao Estudo da Remoção de Cianobactérias e Microcontaminantes Orgânicos por Meio de Técnicas de Tratamento de Água para Consumo Humano*. PROSAB, ABES/RJ, Sermograf, Belo Horizonte – MG, 23-79.
- Chow, C. W. K., Drikas, M., House, J., Burch, M. D., and Velzeboer, R. M. A. (1999). "The impact of conventional water treatment processes on cells of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*." *Water Research* **33** (15), 3253-3262.

- Chow, C. W. K., House, J., Velzeboer, R. M. A., Drikas, M., Burch, M. D., e Steffensen, D. A. (1998). "The effect of ferric chloride flocculation on cyanobacterial cells." *Water Research*, **32**(3), 808-814.
- Cousins I. T.; Bealing D. J.; James H. A.; Sutton, A. (1996). "Biodegradation of microcystin-LR by indigenous mixed bacterial population." *Water Res.* **30** (2), 481–485.
- Di Bernardo, L.; Dantas, A. D. B. (2005). Métodos e técnicas de tratamento de água. RIMA: São Carlos, 792 p.
- Drikas, M. (1994) "Control and removal of algal toxins." In: Steffensen, D. A. e Nicholson, B. C. (eds.) *Toxic Cyanobacteria Current Status of Research and Management. Proceedings of an International Workshop*, Australia, 93-102.
- 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.
- Duy, T.N.; Lam, P.K.; Shaw, G.R.; Connell, D.W. (2000) "Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water." *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* **163**, 113-185.
- Edwards, C.; Lawton, L. A. (2009). "Bioremediation of Cyanotoxins." In: *Advances in Applied Microbiology*, Volume 67. Elsevier Inc., London, 109-129.
- Edwards. C; Graham, D.; Fowler, N.; Lawton, L. A. (2008). "Biodegradation of microcystins and nodularin in freshwaters." *Chemosphere* **73** (8), 1315-21.
- Edzwald, J. K. (1993). "Algae, bubbles, coagulants and dissolved air flotation." *Water Sci. & Tech.*, **27** (10), pp. 67-81.
- Ernst, B. (2008). *Investigations on the impact of toxic cyanobacteria on fish – as exemplified by the coregonids in lake ammersee*. Dissertação de Mestrado. Universität Konstanz, Fachbereich Biologie, Konstanz, Alemanha, 176 p.
- Falconer, I. R.; Hardy, S. J.; Humpage, A. R.; Froschio, S. M.; Tozer, G. J.; Hawkins, P. R. (1999). "Hepatic and renal toxicity of the blue-green alga (cyanobacterium) *Cylindrospermopsis raciborskii* in male Swiss albino mice." *Environmental Toxicology* **14** (1), 143-150.
- Falconer. I. (1996). "Potential impact on human health of toxix cyanobateria". *Phycologia*, **35** (6), 6-11.

- Figueiredo, D. R.; Azeiteiro, U. M.; Esteves, S. M.; Gonçalves, F. J. M.; Pereira, M. J. (2004). “Microcystin-producing blooms—a serious global public health issue.” *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **59**, 151–163.
- Fraietta, F. M.; Jardim, F. A.; Moreira, A. A. (2005). “Ocorrência de floração de *Cylindrospermopsis raciborskii* na captação de água da cidade de Guaranésia.” *23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, ABES, Campo Grande – MS, Brasil, p. 1-7.
- Furey, A.; Crowley, J.; Shuilleabhain, A. N.; Skulberg, O. M.; James, J. K. (2003). “The first identification of the rare cyanobacterial toxin, homoanatoxin-a, in Ireland”. *Toxicon* **41**, 297–303.
- Gaudin, J.; Huet, S.; Jarry, G.; Fessard, V. (2008). “In vivo DNA damage induced by the cyanotoxin microcystin-LR: Comparison of intra-peritoneal and oral administrations by use of the comet assay.” *Mutation Research* **652**, 65–71.
- Gregory, R.; Zabel, T. F. (1990). In: *Water Quality and Treatment: a Handbook of Community Water Supplies*. 4<sup>th</sup> ed. AWWA. McGraw-Hill, United States, 269-365.
- Harada, K. I.; Ohtani, I.; Iwamoto, K.; Suzuki, M.; Watanabe, M. F.; Watanabe, M.; Terao, K. (1994). “Isolation of cylindrospermopsin from a cyanobacterium *Umezakia natans* and its screening method”. *Toxicon* **32** (1), 73-84 (*Acesso somente ao resumo*).
- Hart, J.; Fawel, J. K.; Croll, B. (1998). “The fate of both intra and extracellular toxins during drinking water treatment.” *Water Supply* **16** (1/2), 611-616.
- Hawkins P. R.; Runnegar, M. T. C.; Jackson, A. R. B.; Falconer, I. R. (1985). “Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (blue-green-alga) *Cylindrospermopsis raciborskii* (wołoszynska) seenaya and subba raju isolated from a domestic water-supply reservoir. *Applied and Environmental Microbiology*, **50** (5), 1292-1295.
- Haider, S.; Naithani, V.; Viswanathan, P. N.; Kakkar, P. (2003). “Cyanobacterial toxins: a growing environmental concern.” *Chemosphere* **52** (1), 1-21.
- Ho, L.; Gaudieux, A. L.; Fanok, S.; Newcombe, G.; and Humpage, A. R. (2007). “Bacterial degradation of microcystin toxins in drinking water eliminates their toxicity.” *Toxicon* **50**, 438–441.
- Hoeger, S. J., Shaw. G., Hitzfeld, B. C., Dietrich, D. R. (2004). “Occurrence and elimination of cyanobacterial toxins in two Australian drinking water treatment plants.” *Toxicon* **43**, p. 639–649.

- Humpage, A. R.; Fenech, M.; Thomas, P.; Falconer, I. R. (2000). "Micronucleus induction and chromosome loss in transformed human white cells indicate clastogenic and aneugenic action of the cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin." *Mutation Research* **472**, 155–161.
- Hyenstrand, P.; Rohrlack, T.; Beattie, K.A.; Metcalff, J.S.; Codd, G.A.; Christoffersen, K. (2003). "Laboratory studies of dissolved radiolabelled microcystin-LR in lake water." *Water Res.* **37** (14), 3299–3306.
- Indrasena, W. M.; Gill, T. A. (2000a). "Thermal degradation of partially purified paralytic shellfish poison toxins at different times, temperatures, and pH." *Journal of Food Science* **65** (6), 948-953.
- Indrasena, W. M.; Gill, T. A. (2000b). "Storage stability of paralytic shellfish poisoning toxins." *Food chemistry* **71**, 71-77.
- Jardim, F. A.; Machado, J. N. A.; Schembri, M. C. A. C.; Azevedo, S. M. F. O.; von Sperling, E. (2000). "A experiência da COPASA no monitoramento, detecção e adoção de medidas mitigadoras para as cianobactérias tóxicas em estações de tratamento de água - Minas Gerais - Brasil." *XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental*, Porto Alegre - RS, Brasil, p. 1–11.
- 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.; Negri, A. P. (1997) "Persistence and degradation of cyanobacterial paralytic shellfish poisons (PSPs) in freshwaters". *Water Research* **31** (3), 525-533.
- Kaas, H.; Henriksen, P. (2000). "Saxitoxins (PSP Toxins) in Danish Lakes." *Wat. Res.* **34** (7), 2089-2097.
- Kawamura, S. (2000). *Integrated Design and Operation of Water Treatment Facilities*. 2<sup>nd</sup> ed. Wiley Interscience, New York, 691 p.
- Kayal, N.; Newcombe, G.; Ho, L. (2008). "Investigating the fate of saxitoxins in biologically active water treatment plant filters." *Environ Toxicol.* **23** (6), 751-5.
- Keijola, A. M., Himberg, K., Esala, A.L., Sivonen, K. e Hiisvirta, L. (1988). Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: laboratory and pilot scale experiments. *Toxicity Assessment: An International Journal* **3**, p. 643-656.

- Kuiper-Goodman, T.; Falconer, I.; Fitzgerald, J. (1999). "Human health effects." In: Chorus, I.; Bartran, J. *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management*. E & FN SPON, London, 113-153.
- Lagos, N.; Onodera, H.; Zagatto, P. A.; Andrinolo, D.; Azevedo, S. M. F. O.; Oshima, Y. (1999). "The First evidence of paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, isolated from Brazil." *Toxicon* **37**, 1359-1373.
- Lehninger, A. L.; Nelson, D. L.; Cox, M. M. (2002). *Princípios de Bioquímica*. Terceira edição. Editora Sarvier, São Paulo, SP, 839 p.
- Li, R. H, Carmichael WW, Pereira P. (2003). "Morphological and 16S rRNA gene evidence for reclassification of the paralytic shellfish toxin producing *Aphanizomenon flos-aquae* LMECYA 31 as *Aphanizomenon issatschenkoi* (Cyanophyceae)." *Journal of Phycology*, **39** (4), 814-818.
- Li, R.; Carmichael, W. W.; Brittain, S.; Eaglesham, G. K.; Shaw, G. R.; Liu, Y. D.; Watanabe, M. M. (2001b). "First evidence of the cyanotoxins cylindrospermopsin and deoxy cylindrospermopsin from *Raphidiopsis curvata* (cyanobacteria)." *J. Phycol* **37**, 1121–1126.
- Li, R.; Carmichael, W. W.; Brittain, S.; Eaglesham, G. K.; Shaw, G. R.; Mahakhant, A.; Noparatnaraporn, N.; Yongmanitchai, W.; Kaya, K.; Watanabe, M. M. (2001a). "Isolation and identification of the cyanotoxin cylindrospermopsin and deoxy-cylindrospermopsin from a Thailand strain of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria)." *Toxicon* **39**, 973-980.
- Mahmood, N. A.; Carmichael, W. W. (1986). "Paralytic shellfish poisons produced by the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae* NH-5." *Toxicon* **24** (2), 175-186 (*Acesso somente ao resumo*).
- Matsunaga, S.; Moore, R. E.; Niemczura, W. P.; Carmichael, W. W. (1989). "Anatoxina(s), a Potent Anticholinesterase from *Anabaena flos -aquae*." *Journal of American Chemical Society* **111**: 8021-3.
- McGregor, G. B.; Fabbro, L. (2000). "Dominance of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanoprokaryota) in Queensland tropical and subtropical reservoirs: Implications for monitoring and management." *Lakes Reservoirs: Res Manage* **5**, 195-205.
- Melo, A. E. S. (2006). *Avaliação da Filtração Lenta na Remoção de Células de *Cylindrospermopsis raciborskii* e saxitoxinas*. Dissertação de Mestrado. Programa de

- Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos. Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 197 p.
- Metcalf & Eddy. (1991). *Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse*. 3<sup>rd</sup> ed. McGraw-Hill, New York, 1334 p.
- Messias, O. M. S. (2009). Micrografia óptica da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* amostrada do Lago de Manso (Mato Grosso – Brasil) em julho de 2009.
- Molica, R. J. R.; Oliveira, E. J. A.; Carvalho, P. V. V. C.; Costa, A. P. N. S. F.; Cunha, M. C. C.; Melo, G. L.; Azevedo, S. M. F. O. (2005). “Occurrence of saxitoxins and an anatoxin-a(s)-like anticholinesterase in a Brazilian drinking water supply.” *Harmful Algae* 4, 743–753.
- Monserrat, J. M.; Yunes, J. S.; Bianchini, A. (2001). “Effects of *Anabaena Spiroides* (cyanobacteria) aqueous extracts on the acetylcholinesterase activity of aquatic species.” *Environmental Toxicology and Chemistry* 20 (6), 1228–1235.
- Morais, A. A.; Bastos, R. K. X.; Pimenta, J. F. P.; Mounteer, A. H.; Cavalcanti, A. A. (2009). “Diagramas de coagulação e avaliação do potencial de remoção de células de *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* por processos convencionais de tratamento de água.” 25<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, ABES, Recife – PE, Brasil, p. 1-9.
- Moreira, A. A.; Bizi, R. (2007). “Analysis of cylindrospermopsin in water with liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS).” VII International Conference on Toxic Cyanobacteria. Rio de Janeiro - RJ, Brasil.
- Mur, L. R.; Skulberg, O. M.; Utkilen, H. (1999). "Cyanobacteria in the environment". In: Chorus, I.; Bartran, J. *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management*. E & FN SPON, London, 15-34.
- Namikoshi, M.; Murakami, T.; Watanabe, M. F.; Oda, T.; Yamada, J.; Tsujimura, S.; Nagai, H.; Oishi, S. (2003). “Simultaneous production of homoanatoxin-a, anatoxin-a, and a new non-toxic 4-hydroxyhomoanatoxin-a by the cyanobacterium *Raphidiopsis mediterranea* Skuja. *Toxicon* 42, 533-538.
- Negri, A. P., G. J. Jones, S. I. Blackburn, Y. Oshima, and H. Onodera. (1997). “Effect of culture and bloom development and of sample storage on paralytic shellfish poisons in the cyanobacterium *Anabaena circinalis*.” *J. Phycol.* 33, 26-35.
- Neilan, B. A.; Pearson, L. A.; Moffitt, M. C.; Mihali, K. T.; Kaebernick, M.; Kellmann, R.; Pomati, F. (2007). “Chapter 17: The Genetics and Genomics of Cyanobacterial Toxicity.” In: Hudnell, H. K. (Ed.). *Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of*

*the Science and Research Needs, Advances in Experimental Medicine & Biology* **619**, 417-452

- Newcombe, G. and B. Nicholson. (2004). "Water treatment options for dissolved cyanotoxins." *AQUA* **53** (4), 227-239.
- Nicholson, B. C.; Burch, M. D. (2001). "Evaluation of Analytical Methods for Detection and Quantification of Cyanotoxins in Relation to Australian Drinking Water Guidelines." *National Health and Medical Research Council of Australia, the Water Services Association of Australia, and the Cooperative Research Centre for Water Quality and Treatment*, Australia, 57 p.
- O'Melia, C. R. (1972). "Coagulation and Flocculation". In: Weber, W. J., Jr. *Physicochemical processes for water quality control*. Wiley Interscience, New York, 640 p.
- Odokuma, L. O.; Isirima, J. C. (2007). "Distribution of cyanotoxins in aquatic environments in the Niger Delta." *African Journal Of Biotechnology* **6** (20), 2375-2385.
- Oliveira, J. M. B. (2005). *Remoção de *Cylindrospermopsis raciborskii* por meio de sedimentação e de flotação: avaliação em escala de bancada*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos. Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 122 p.
- Oshima, Y. (1995). "Post-column derivatization liquid chromatographic method for paralytic shellfish toxins. *Journal of AOAC International*. **78** (2), 528-532.
- Pegram, R. A., A. R. Humpage, B. A. Neilan, M. T. Runnegar, T. Nichols, R. W. Thacker, S. Pflugmacher, S. M. Etheridge, and A. H. Love. (2007). "Chapter 15: Cyanotoxins Workgroup Report." In: Hudnell, H. K. (Ed.). *Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs, Advances in Experimental Medicine & Biology* **619**, 317-382.
- Pereira, P.; Li, R. H.; Carmichael, W. W.; Dias, E.; Franca, S. (2004) "Taxonomy and production of paralytic shellfish toxins by the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon gracile* LMECYA40." *European Journal of Phycology* **39** (4), 361-368 (*Acesso somente ao resumo*).
- Pomati, F., Sacchi, S., Rossetti, C., Giovannardi, S., Onodera, H., Oshima, Y. and Neilan, B.A., 2000. "The freshwater cyanobacterium *Planktothrix* sp. FP1: molecular

- identification and detection of paralytic shellfish poisoning toxins.” *J. Phycol.* **36**, 553–562.
- Porat, R.; Teltsch, B.; Mosse, R. A.; Dubinsky, Z.; Walsby, A. E. (1999). “Turbidity changes caused by collapse of cyanobacterial gas vesicles in water pumped from lake Kinneret into the Israeli National Water Carrier.” *Wat. Res.* **33** (7), 1634-1644.
- 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**, 156–162.
- Programa AGUAAN - Agilização do Gerenciamento e Utilização de Águas Com Algas Nocivas. *XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental – AIDIS*, Porto Alegre - RS, Brasil, p. 1-5.
- Rapala, J.; Lahti, K.; Sivonen, K.; Niemelä, S. I. (1994). “Biodegradability and adsorption on lake sediments of cyanobacterial hepatotoxins and anatoxin-a.” *Letters in applied microbiology* **19**, 423-8.
- Rapala, J.; Robertson, A.; Negri, A. P.; Berg, K. A.; Tuomi, P.; Lyra, C.; Erkomaa, K.; Lahti, K.; Hoppu, K.; Lepistö, L. (2005). “First report of saxitoxin in Finnish lakes and possible associated effects on human health.” *Environmental Toxicology* **20** (3), 331-340 (*Acesso somente ao resumo*).
- Resende, S. M.; Machado, M. I. (2005). “Ocorrências de cianobactérias em represas e estações de tratamento de água no abastecimento público da cidade de Uberlândia, Minas Gerais – 2004.” *23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, ABES, Campo Grande – MS, Brasil, p. 1-9.
- Ricklefs, R. E. (1993) *A Economia da Natureza*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, 470 p.
- Santiago, L. M. (2008). *Remoção de células de cianobactérias por processos de sedimentação e flotação por ar dissolvido: avaliação em escala de bancada*. Dissertação de Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Escola de Engenharia da UFMG. Belo Horizonte. 125 p.
- Santos, H. A. P.; Costa, C. H.; Moser, M. C.; Salomon, P. S.; Matias, W. G. (2007) “Estudo da toxicidade de *Cylindrospermopsis racoborskii* na lagoa do Peri, Florianópolis – SC: subsídios para estratégias de manejo.” *24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, ABES, Belo Horizonte - MG, Brasil, p. 1-7.
- Seifert, M.; McGregor, G.; Eaglesham, G.; Wickramasinghe, W.; Shaw, G. (2007). “First evidence for the production of cylindrospermopsin and deoxy-cylindrospermopsin by

- the freshwater benthic cyanobacterium, *Lyngbya wollei* (Farlow ex Gomont) Speziale and Dyck.” *Harmful Algae* **6**, 73-80.
- Shen, X.; Lam, P. K. S.; Shaw, G. R.; Wickramasinghe, W. (2002). “Genotoxicity investigation of a cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin.” *Toxicon* **40** 1499–1501.
- Shimizu, Y. (2000). “Paralytic shellfish poisoning (PSP): chemistry and mechanism of action.” In: Botana, L.M., (Ed.), *Seafood and Freshwater Toxins*. Marcel Dekker, Inc., New York, 151–172.
- Silvestre, A. N.; Carvalho, P. V. B. C.; Moura, E. B. A.; Oliveira, M. S. (1999). “Florações tóxicas de 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, 41-111.
- Smith, C.; Sutton, A. (1993). “The persistence of anatoxin-a in reservoir water.” *Foundation for Water Research*, UK Report No. FR0427.
- 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), 413-21.
- Speedy, R. R.; Fisher, N. B.; Mc Donald, D. B. (1969). “Algal removal in unit processes”. *Journal of the American Water Works Association (AWWA)* **61** (6), 289-292.
- Spoof, L., Berg, K.A., Rapala, J., Lahti, K., Lepistö, L., Metcalf, J.S., Codd, G.A., Meriluoto, J. (2006). “First Observation of Cylindrospermopsin in *Anabaena lapponica* Isolated from the Boreal Environment (Finland).” *Environ. Toxicol.* **21**, 552-560 (*Acesso somente ao resumo*).
- Stoppe, N. C.; Sato, M. I. Z.; Umbuzeiro, G. A. (1999). “Avaliação da mutagenicidade de culturas da alga *Cylindrospermopsis raciborskii* isoladas do Reservatório Billings.” *20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, ABES, Rio de Janeiro, Brasil, p. 2961-2969.
- 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* **52**, 84-94.
- Terao, K.; Ohmori, S.; Igarashi, K.; Ohtani, I.; Watanabe, M. F.; Harada, K. I.; Ito, E.; Watanabe, M. (1994). “Electron microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green alga *Umezakia natans*.” *Toxicon* **32** (7), 833-843 (Acesso somente ao resumo).
- Thajuddin N.; Subramanian, G. (2005). “Cyanobacterial biodiversity and potential applications in biotechnology”. *Current Science*, **89** (1), 47-57.
- Tsuji, K.; Nalto, S.; Kondo, F.; Ishikawa, N.; Watanabe, M. F.; Suzuki, M.; Harada, K. (1994). “Stability of Microcystins from Cyanobacteria: Effect of Light on Decomposition and Isomerization”. *Environ. Sci. Technol.* **28**, 173-177.
- Tsuji, K.; Watanuki, T.; Kondo, F.; Watanabe, M. F.; Suzuki, M.; Nakazawa, H.; Suzuki, M.; Uchida, H.; Harada, K. (1997). “Stability of Microcystins from cyanobacteria - iv. effect of chlorination on decomposition.” *Toxicon* **35** (7), 1033-1041.
- Tucci, A.; Sant'Anna, C. L. (2003). “*Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju (Cyanobacteria): variação semanal e relações com fatores ambientais em um reservatório eutrófico, São Paulo, SP, Brasil.” *Revista Brasil.Bot.* **26** (1), 97-112.
- Vale, C.; Alfonso, A.; Vieytes, M. R.; Romarís, X. M.; Arévalo, F.; Botana, A. M.; Botana L. M. (2008). “In vitro and in vivo evaluation of paralytic shellfish poisoning toxin potency and the influence of the pH of extraction.” *Anal Chem.* **80** (5), 1770-6.
- Viana, M. (2006). *Avaliação de técnicas de remoção de saxitoxinas em águas de consumo humano*. Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 95 p.
- Vlaški, A.; Van Breeman, A. N. e Alaerts, G.J. (1996). “Optimisation of coagulation conditions for the removal of cyanobacteria by dissolved air flotation or sedimentation.” *Jour. Water SRT-Aqua*, **45** (5), 253-261.
- Wood, L. W. (1985). “Chloroform-methanol extraction of chlorophyll-*a*.” *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **42**, 38-43.
- World Health Organization. (1993). *Guidelines for drinking-water quality*. 2<sup>nd</sup> edition. Geneva: WHO.
- World Health Organization. (2008). *Guidelines for drinking-water quality*. 3<sup>rd</sup> edition incorporating the first and second addenda. Geneva: WHO.

- Wormer, L.; Cires, S.; Carrasco, D.; Quesada, A. (2008). "Cylindrospermopsin is not degraded by co-occurring natural bacterial communities during a 40-day study." *Harmful Algae* **7**, 206–213.
- Yan, M. Q.; Wang, D. S.; Shi, B. Y.; Wei, Q. S.; Qu, J. H.; Tang, H. X. (2007). "Transformations of particles, metal elements and natural organic matter in different water treatment processes." *Journal of Environmental Sciences* **19**, 271-277.
- Yilmaz, M.; Philips, E. J.; Szabo, N. J.; Badylak, S. (2008). "A comparative study of Florida strains of *Cylindrospermopsis* and *Aphanizomenon* for cylindrospermopsin production". *Toxicon* **51**, 130-139.
- Yuan, M.; Carmichael, W. W. (2004). "Detection and analysis of the cyanobacterial peptide hepatotoxins microcystin and nodularin using SELDI-TOF mass spectrometry." *Toxicon* **44**, 561–570.
- Yunes, J. S. ; Cunha, N. T. ; Conte, S. M. ; Giordani, A. T. ; Rabello, I. M. M. ; Bendatti, M. M. ; Maizonave, C. R. ; Granada, G. L. ; Hein, R. P. ; Coimbra, N. J. (2000). "Programa AGUAAN: Agilização do Gerenciamento e Utilização de Águas com Algas Nocivas." *Anais do XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental*, Porto Alegre, RS. Brasil.
- Žegura, B.; Zajc, I.; Lah, T. Y.; Filipič, M. (2008). "Patterns of microcystin-LR induced alteration of the expression of genes involved in response to DNA damage and apoptosis, *Toxicon* **51** (4), 615–623.

## **APÊNDICES**

## APÊNDICE A: Diagramas de coagulação (Duplicatas)

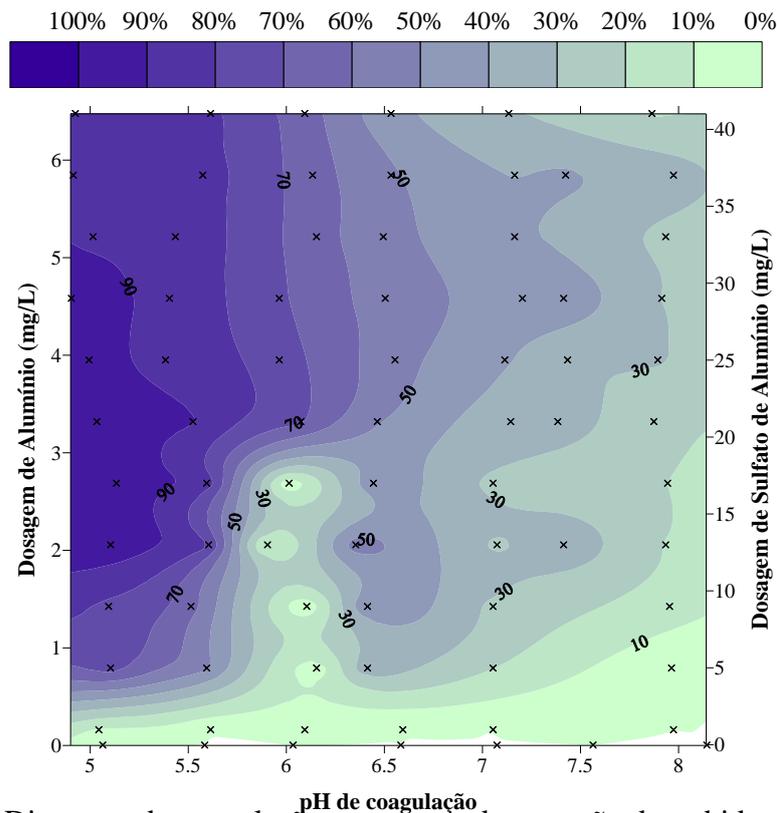


Figura A.1 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de turbidez, com água de estudo contendo  $7,5 \times 10^5$  células/mL de *Microcystis aeruginosa*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante (Experimento 1). Turbidez inicial: 28 UT.

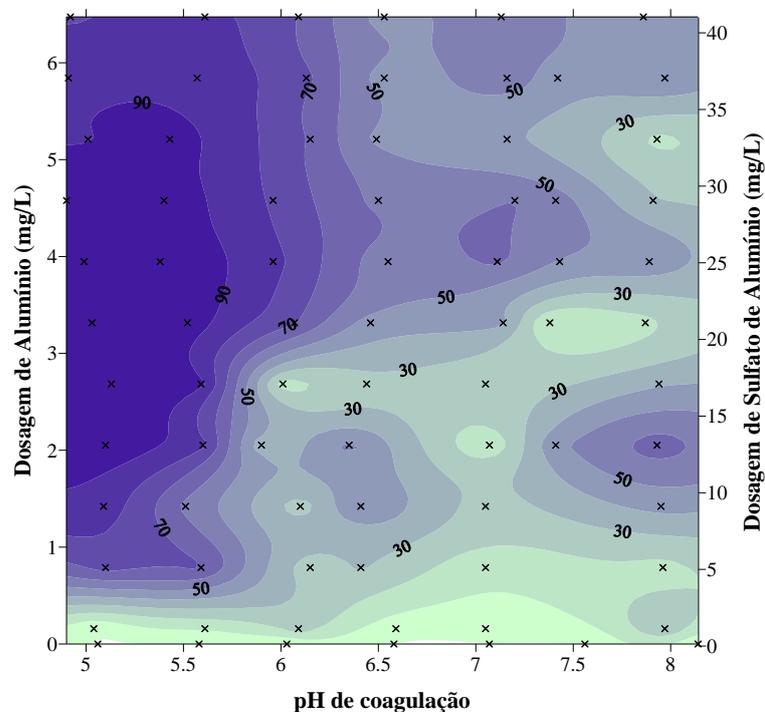


Figura A.2 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de clorofila-a, com água de estudo contendo  $7,5 \times 10^5$  células/mL de *Microcystis aeruginosa*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante (Experimento 1). Clorofila inicial: 504,24  $\mu\text{g/L}$

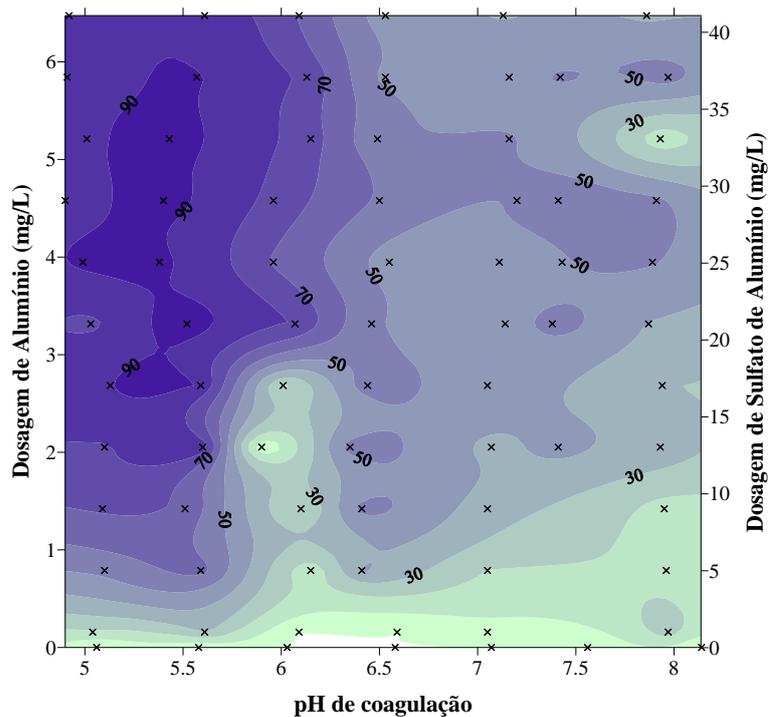


Figura A.3 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de células com água de estudo contendo  $7,5 \times 10^5$  células/mL de *Microcystis aeruginosa*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante (Experimento 1).

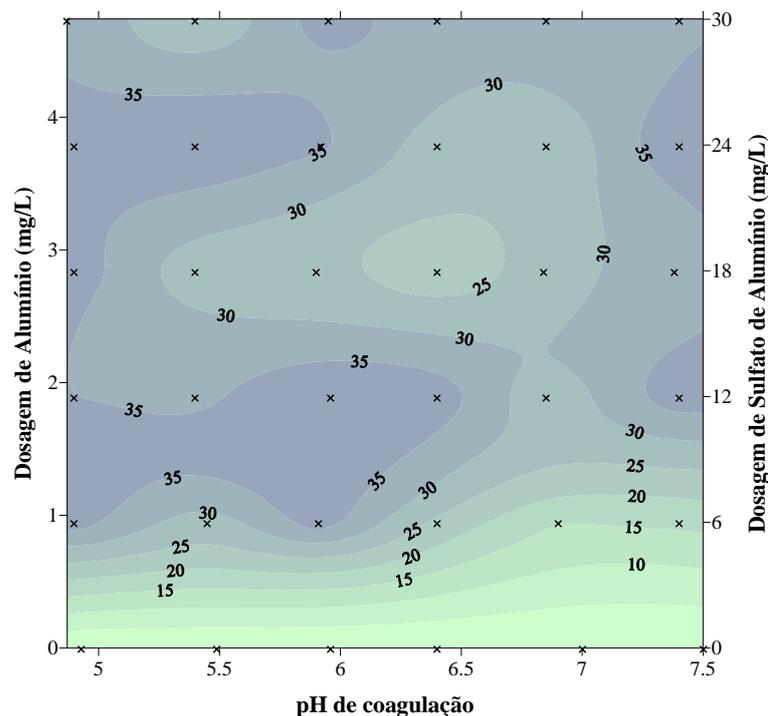


Figura A.4 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de turbidez, com água de estudo contendo  $2,9 \times 10^6$  células/mL de *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante (Experimento 2). Turbidez inicial: 13 UT.

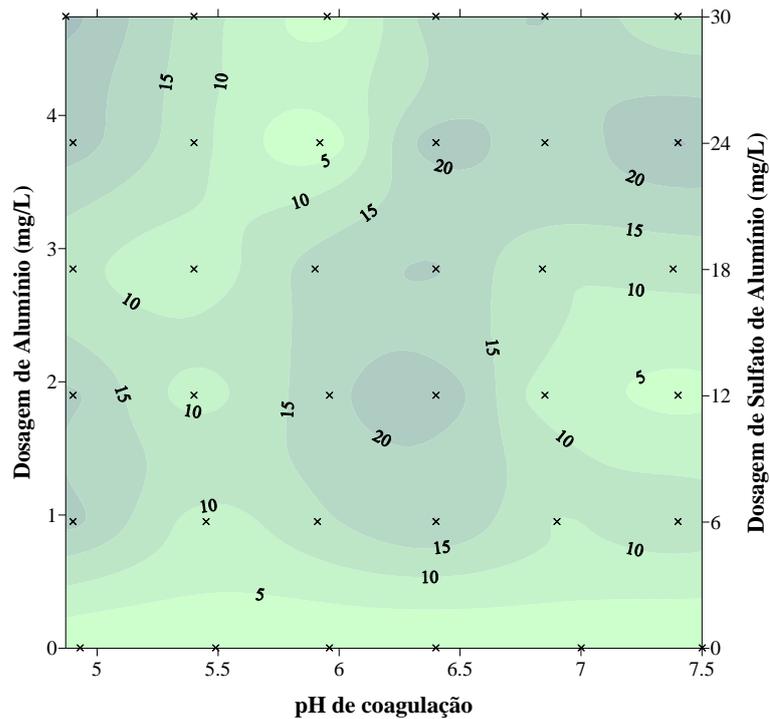


Figura A.5 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de clorofila-a, com água de estudo contendo  $2,9 \times 10^6$  células/mL de *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante (Experimento 2). Clorofila inicial: 205  $\mu\text{g/L}$ .

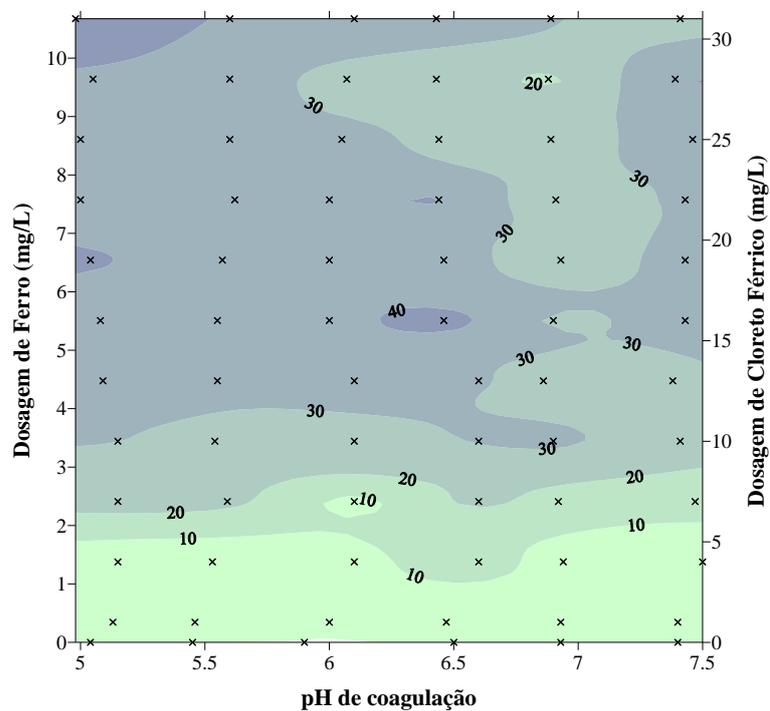


Figura A.6 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de turbidez, com água de estudo contendo 1,2 células/mL de *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando cloreto férrico como coagulante (Experimento 2). Turbidez inicial: 16 UT.

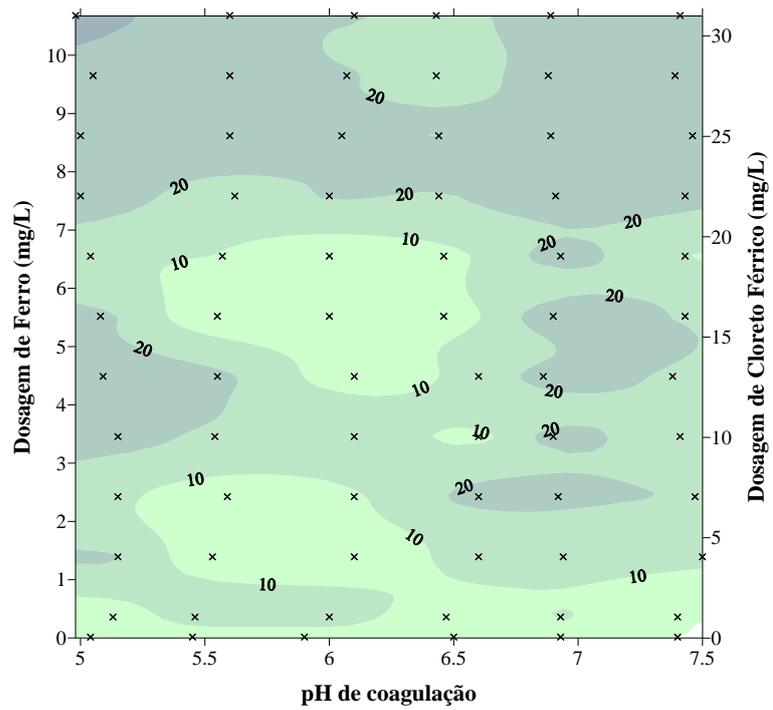


Figura A.7 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de clorofila-a, com água de estudo contendo  $1,2 \times 10^6$  células/mL de *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando cloreto férrico como coagulante (Experimento 2). Clorofila inicial: 295,68  $\mu\text{g/L}$ .

## APÊNDICE B: Residuais de Ferro e Alumínio

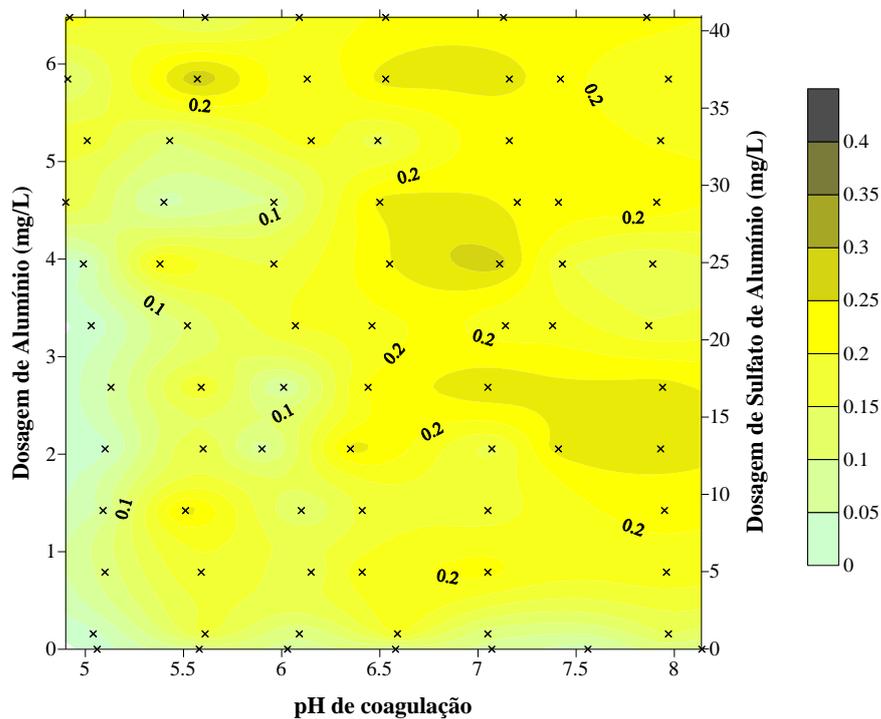


Figura B.1 – Alumínio residual para o experimento com *Microcystis aeruginosa*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante (Experimento 1).

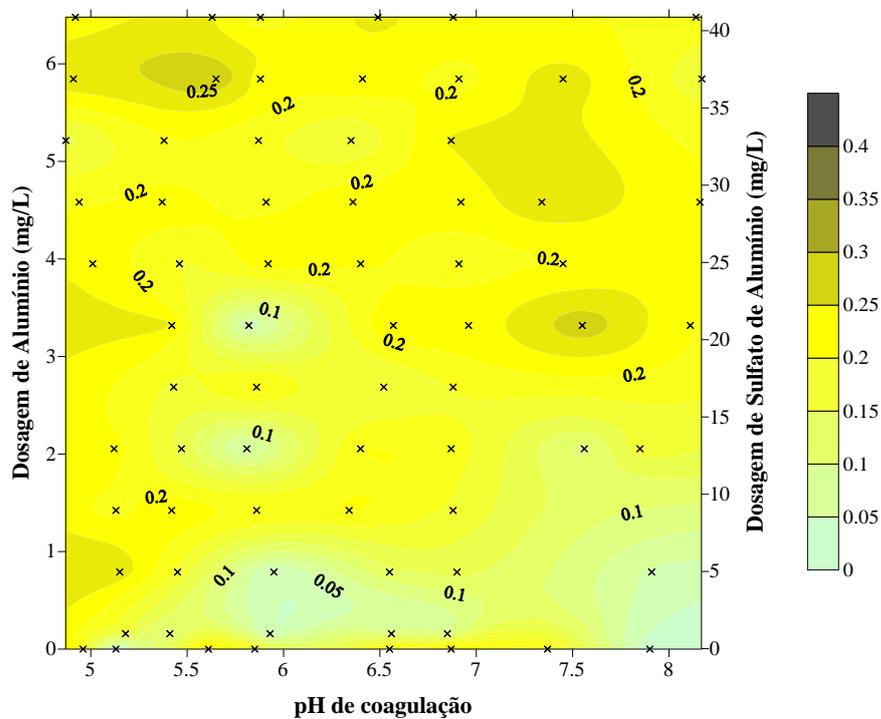


Figura B.2 – Alumínio residual para o experimento com *Microcystis aeruginosa*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante (Experimento 2).

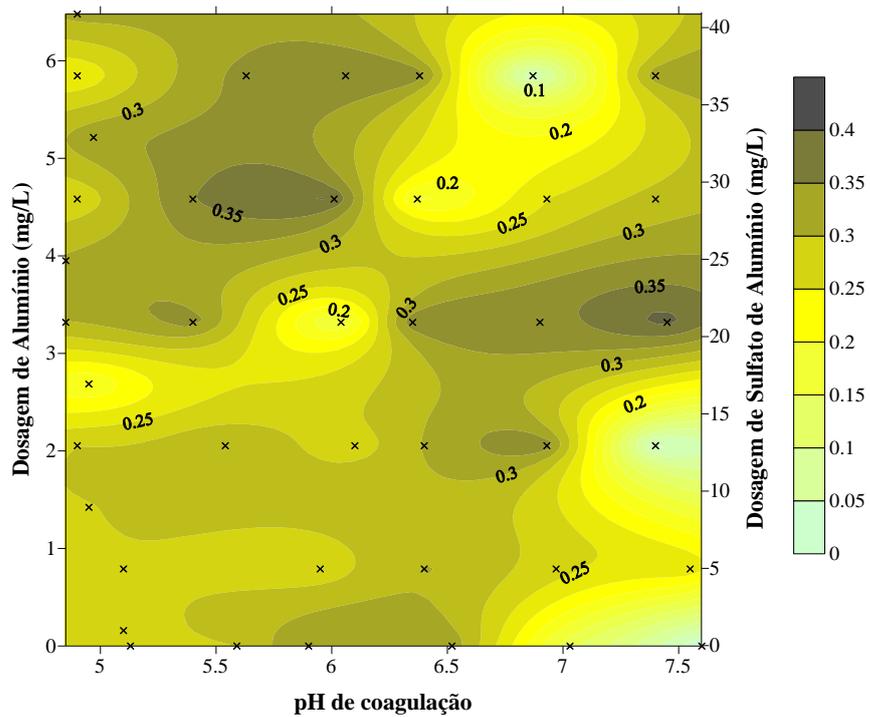


Figura B.3 – Alumínio residual para o experimento com *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando sulfato de alumínio como coagulante.

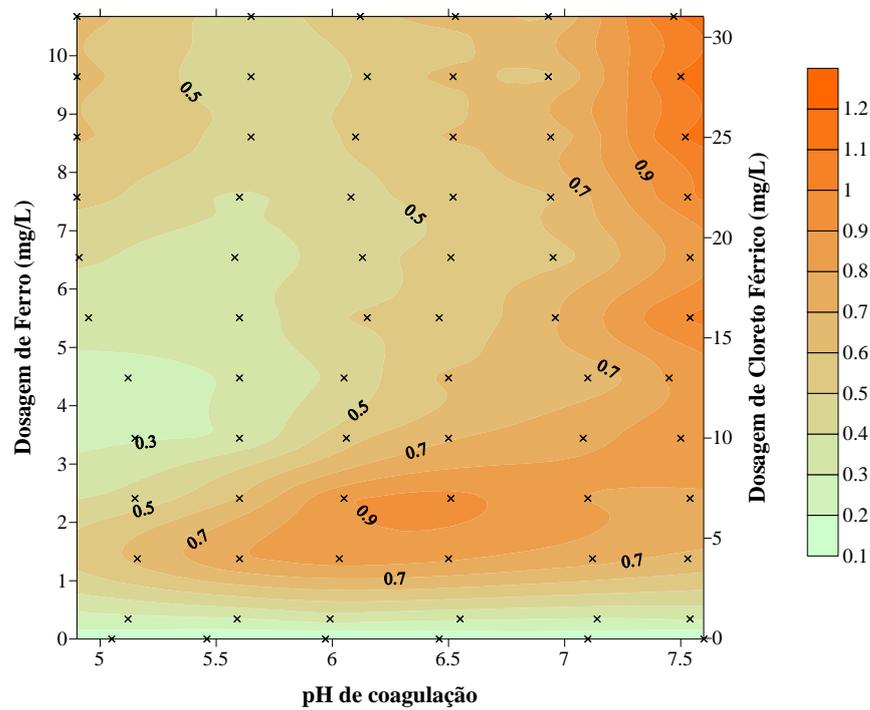


Figura B.4 – Ferro residual para o experimento com *Cylindrospermopsis raciborskii*, utilizando cloreto férrico como coagulante.

## APÊNDICE C: Equivalentes de STX extracelular

A conversão das variantes de saxitoxinas em equivalentes de STX (Eq. STX) foi feita por meio da Equação C.1, adaptada por Oshima (1995, *apud* Viana, 2006).

$$\text{Eq. STX} = \sum [(C_i * T_i)] \quad \text{Equação (C.1)}$$

Na qual:

$C_i$  = concentração de toxina ( $\mu\text{g/L}$ );

$T_i$  = toxicidade relativa da toxina.

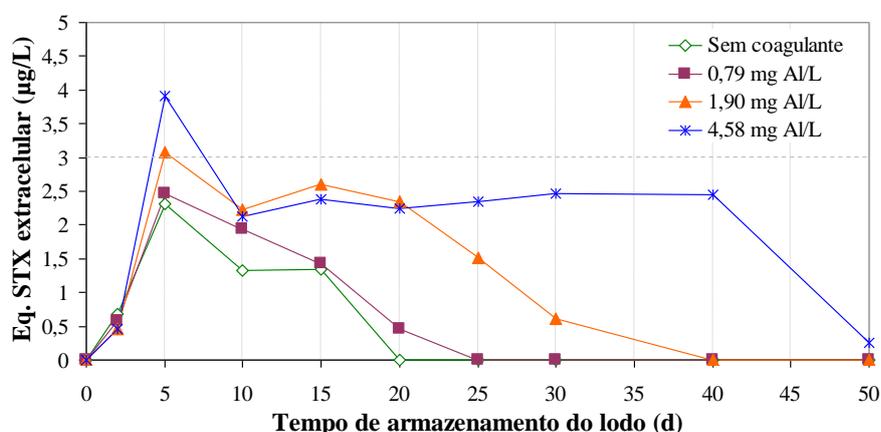


Figura C.1 – Concentração de equivalentes de STX extracelular no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 5,5. Experimento com *Cylindrospermopsis raciborskii* e sulfato de alumínio como coagulante.

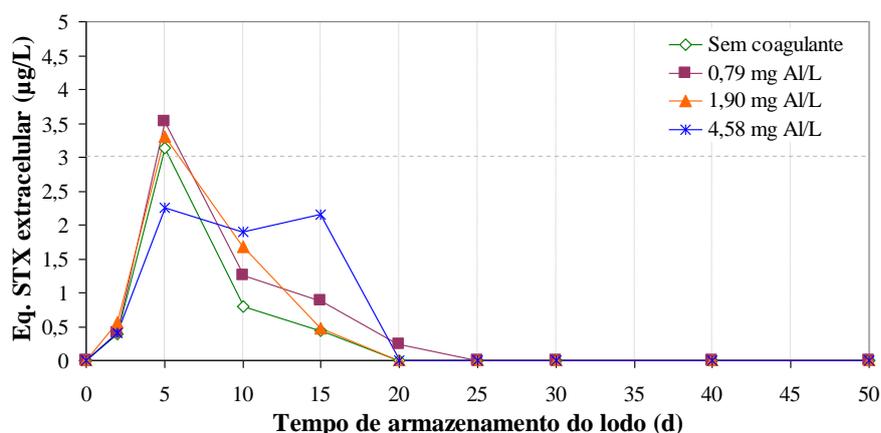


Figura C.2 – Concentração de equivalentes de STX extracelular no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 7,0. Experimento com *Cylindrospermopsis raciborskii* e sulfato de alumínio como coagulante.

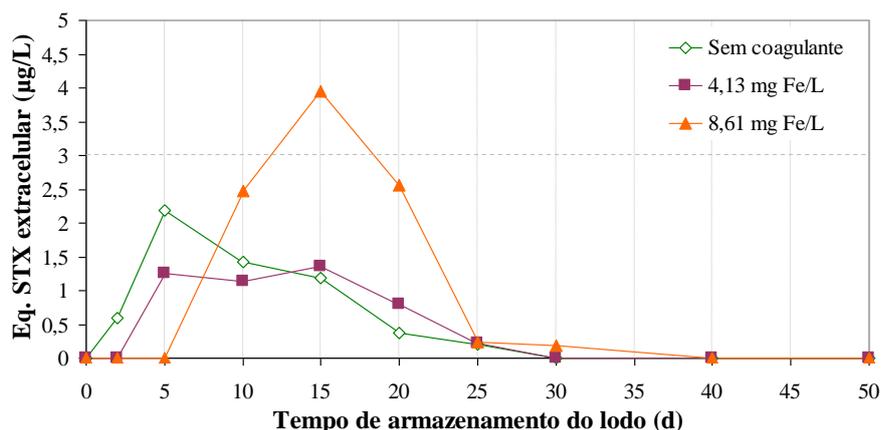


Figura C.3 – Concentração de equivalentes de STX extracelular no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 5,0. Experimento com *Cylindrospermopsis raciborskii* e cloreto férrico como coagulante.

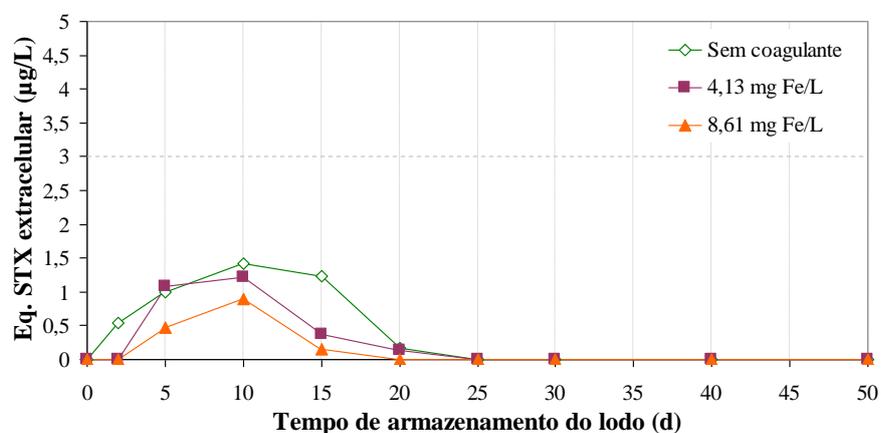


Figura C.4 – Concentração de equivalentes de STX extracelular no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 6,5. Experimento com *Cylindrospermopsis raciborskii* e cloreto férrico como coagulante.

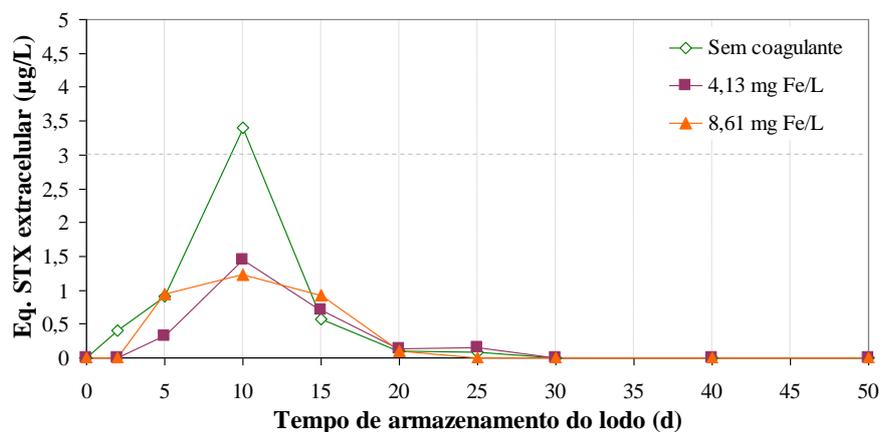


Figura C.5 – Concentração de equivalentes de STX extracelular no clarificado ao longo do período de armazenamento do lodo (dias) para o valor de pH de coagulação igual a 7,5. Experimento com *Cylindrospermopsis raciborskii* e cloreto férrico como coagulante.