



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE MICROCISTINA-LR POR ADSORÇÃO EM
CARVÃO ATIVADO GRANULAR**

ALUNA: SÁTIVA BARBOSA DE BRITO LÉLIS VILLAR

ORIENTADOR: Prof^o. Dr. WILTON SILVA LOPES

CAMPINA GRANDE
DEZEMBRO/2012

SÁTIVA BARBOSA DE BRITO LÉLIS VILLAR

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE MICROCISTINA-LR POR ADSORÇÃO EM
CARVÃO ATIVADO GRANULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de mestre.

ORIENTADOR: Profº. Dr. WILTON SILVA LOPES

CAMPINA GRANDE
DEZEMBRO/2012

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL-UEPB

V719a Villar, Sátiva Barbosa de Brito Lélis.

Avaliação de remoção de microcistina-LR por adsorção em carvão ativado granular [manuscrito] / Sátiva Barbosa de Brito Lélis Villar. – 2012.

58 f. : il. color.

Digitado

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental), Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual da Paraíba, 2012.

“Orientação: Prof. Dr. Wilton Silva Lopes, Departamento de Química”

1. Tratamento de água. 2. Microcistina-LR. 3. Carvão granular. I. Título.

21. ed. CDD 628.3

SÁTIVA BARBOSA DE BRITO LÉLIS VILLAR

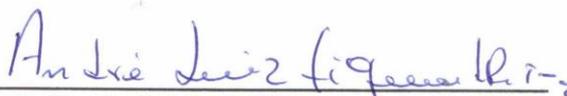
AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE MICROCISTINA-LR POR ADSORÇÃO EM
CARVÃO ATIVADO GRANULAR

Aprovado em 19/12/2012

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. WILTON SILVA LOPES
(Orientador - Universidade Estadual da Paraíba - UEPB)



Prof. Dr. André Luiz Fiquene de Brito
(Examinador Externo – Universidade Federal de Campina Grande - UFCG)



Prof. Dr. Valder Duarte Leite
(Examinador Interno - Universidade Estadual da Paraíba - UEPB)

CAMPINA GRANDE
DEZEMBRO/2012

**Dedico este trabalho aos meus pais
Suêdo e Socorro Villar, pelo amor e
apoio incondicionais.**

AGRADECIMENTOS

A DEUS, fonte de amor e sabedoria.

Aos meus pais, Suêlto e Socorro Villar, por serem grandes exemplos de luta e de vida, pelo apoio e dedicação à nossa família.

À minha querida irmã Savana, por estar ao meu lado em todos os momentos.

Aos meus avós Rita e José (*in memoriam*) aos quais tenho grande admiração.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da UEPB, em especial ao professor Wilton Lopes pela orientação e ensinamentos.

Ao professor Etham e a todos do Laboratório de Ecologia Aquática (LEAq) da UEPB.

Aos companheiros de laboratório Silvania, Josué, Alaine, Hindria, Aluísio, Railson, Albiery, Ana Paula, Tales e Wilza por fazerem dos momentos na EXTRABES e na UEPB melhores, pelo apoio e amizade.

Aos demais amigos da pós-graduação Andreza, Andressa, Israel, Edlamara, Catarina, Suely, Rebeca, Marielle, Raphaella, Juliana, Wagner e Matheus.

Ao Miguel, pelo companheirismo e incentivo.

À Maricelma, pelo prazer de convivência nesta caminhada.

À Ângela pelo apoio.

Aos amigos que me acompanharam e que de alguma forma contribuíram para a construção desse trabalho.

A CAPES pelo auxílio financeiro.

RESUMO

VILLAR, S. B. B. L. (2012). Avaliação da remoção de microcistina-LR por adsorção em carvão ativado granular. 57p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

O objetivo deste estudo foi avaliar a remoção de microcistina-LR de água utilizando carvão ativado granular de casca de coco de dendê. A água de estudo utilizada foi preparada a partir da diluição, em água deionizada, de extrato proveniente do cultivo de *Microcystis aeruginosa*. Realizou-se um planejamento fatorial 2^3 , no qual foram estudados os seguintes fatores e níveis: concentração inicial de microcistina-LR (14,56 e 29,26 $\mu\text{g.L}^{-1}$), pH (6,4 e 8,3) e tempo de contato (60 e 90 s). Dessa forma, foram monitorados oito tratamentos em triplicata, totalizando 24 experimentos. Cada tratamento consistia na operação de três colunas, alimentadas com mesma água de estudo e com mesmo tempo de contato, sendo que os tratamentos com tempo de contato de 60 s eram compostos por colunas de 20 gramas de carvão ativado granular, enquanto os experimentos que foram realizados com tempo de contato de 90 s, eram compostos por colunas com 30 gramas do carvão. Cada coluna foi monitorada durante 15 horas e as amostras eram coletadas a cada hora. A concentração de microcistina-LR era determinada com o auxílio de kits ELISA. Concentrações efluentes de MC-LR acima do volume máximo permitido (VMP) de $1\mu\text{g.L}^{-1}$, determinado pela Portaria 2914/2011, foram detectadas em colunas operadas a partir dos tratamentos 3 e 7. Esses tratamentos apresentavam concentração afluenta de MC-LR de $29,26\mu\text{g.L}^{-1}$ e tempo de contato de 60 s. A capacidade adsortiva e a taxa de uso nessas condições foi de $21,2\mu\text{g.g}^{-1}$ e $1,33\text{g.L}^{-1}$ respectivamente. O tempo de contato foi o fator que mais influenciou no processo de adsorção de microcistina-LR, este comportamento foi observado a partir de 6 horas de monitoramento e se manteve até o final do monitoramento. O pH foi o fator que menos exerceu influência significativa na adsorção de microcistina-LR.

Palavras-chave: tratamento de água, microcistina-LR, carvão ativado granular.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura geral das microcistinas.....	18
Figura 2. Estrutura da nodularina.....	19
Figura 3. Opções de localização para o tratamento por CAG. Adaptado de Brady (1997).....	27
Figura 4. Fluxograma metodológico.....	31
Figura 5. Cultivo das células de <i>Microcystis aeruginosa</i>	33
Figura 6. Análise de microcistina-LR (a) Kit de placas ELISA- Beacon Analytical Systems Inc. (b) Reação colorimétrica observada durante a adição da solução <i>Stop</i>	36
Figura 7. Desenho das colunas de CAG utilizadas. (a) Coluna de configuração A. (b) Coluna de configuração B.....	39
Figura 8. Gráfico da concentração efluente de MC-LR de colunas monitoradas pelo tratamento 1.....	42
Figura 9. Gráfico da concentração efluente de MC-LR de colunas monitoradas pelo tratamento 2.....	42
Figura 10. Gráfico da concentração efluente de MC-LR de colunas monitoradas pelo tratamento 3.....	43
Figura 11. Gráfico da concentração efluente de MC-LR de colunas monitoradas pelo tratamento 4.....	43
Figura 12. Gráfico da concentração efluente de MC-LR de colunas monitoradas pelo tratamento 5.....	43
Figura 13. Gráfico da concentração efluente de MC-LR de colunas monitoradas pelo tratamento 6.....	44
Figura 14. Gráfico da concentração efluente de MC-LR de colunas monitoradas pelo tratamento 7.....	44
Figura 15. Gráfico da concentração efluente de MC-LR de colunas monitoradas pelo tratamento 8.....	44
Figura 16. Gráfico de contorno para a remoção de MC-LR, variando concentração inicial de MC-LR ($\mu\text{g.L}^{-1}$) e tempo de contato (s).....	46
Figura 17. Efeito da influência da concentração inicial de MC-LR ($\mu\text{g.L}^{-1}$); tempo de contato (s); pH ao longo das 15 horas de operação dos 8 sistemas de tratamento. Legenda: A= Concentração Inicial ($\mu\text{g.L}^{-1}$); B= Tempo de contato (s); C= pH.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características das águas de estudo.....	25
Tabela 2. Planejamento experimental.....	32
Tabela 3. Geratriz do planejamento experimental.....	32
Tabela 4. Características das águas de estudo.....	35
Tabela 5. Especificações do CAG de casca de coco do dendê - Carbonmar Com. e Ind. de carvão ativado Ltda.....	36
Tabela 6. Configuração das colunas de CAG.....	37
Tabela 7. Caracterização do CAG.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AE - Água de Estudo

ASTM - American Society for Testing and Materials

CA - Carvão Ativado

CAG - Carvão Ativado Granular

CAP - Carvão Ativado em Pó

EF - Efluente

ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ETA - Estação de Tratamento de Água

ETE - Estação de Tratamento de Esgoto

EXTRABES - Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários

LR - leucina-arginina

LPS - lipopolissacarídeos

RR - arginina-arginina

UEPB - Universidade Estadual da Paraíba

UF - Ultrafiltração

UFOP - Universidade Federal de Ouro Preto

VMP - Valor Máximo Permitido

YA - tirosina-alanina

YR - tirosina-arginina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
3.1 CIANOBACTÉRIAS.....	15
3.2 CIANOTOXINAS.....	16
3.2.1 Classificação das cianotoxinas.....	17
3.2.1.1 Hepatotoxinas.....	17
3.2.1.2 Neurotoxinas.....	19
3.2.1.3 Dermatotoxinas.....	21
3.3 REMOÇÃO DE CIANOTOXINAS A PARTIR DO TRATAMENTO DE ÁGUA DO TIPO CONVENCIONAL.....	21
3.4 ADSORÇÃO POR CARVÃO ATIVADO.....	23
3.4.1 Aplicação do Carvão Ativado no tratamento de água.....	26
3.4.2 Uso do carvão ativado na remoção de cianotoxinas em água de abastecimento.....	29
4. METODOLOGIA.....	30
4.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	30
4.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS.....	31
4.3 CULTIVO DE <i>Microcystis aeruginosa</i>	33
4.4 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO DE MICROCISTINA-LR.....	34
4.5 ÁGUAS DE ESTUDO.....	34
4.6 ANÁLISE DE MICROCISTINA-LR.....	35
4.7 DESCRIÇÃO E MONTAGEM DAS COLUNAS DE CAG.....	36
4.8 OPERAÇÃO DAS COLUNAS.....	37
4.9 CÁLCULO DA CAPACIDADE ADSORTIVA E TAXA DE USO DO CAG.....	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO CARVÃO ATIVADO GRANULAR.....	39

5.2 MONITORAMENTO DOS SISTEMAS DE TRATAMENTO.....	41
5.3 CÁLCULO DA CAPACIDADE ADSORTIVA E TAXA DE USO.....	46
5.4 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS.....	47
6. CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS.....	52

1 INTRODUÇÃO

As cianobactérias são organismos que fazem parte do fitoplâncton natural e essencial do ecossistema aquático e ocorre em baixa densidade celular na maioria das águas superficiais. Em determinadas condições, como águas com valor de pH entre 6 e 9, temperatura entre 15 e 30°C, alta concentração de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo e ambientes de água doce de fluxo lântico, a maioria das espécies apresenta melhor crescimento e podem proliferar a altas densidades, ocasionando florações (SANT' ANNA et al., 2008; CODD, 2000; MOLICA e AZEVEDO, 2009).

A ocorrência de florações de cianobactérias em reservatórios destinados ao abastecimento público gera preocupação de ordem de saúde pública, principalmente, pela capacidade desses organismos de produzirem e liberarem as cianotoxinas, compostos que podem ser altamente perigosos à saúde dos seres vivos (CHORUS e BARTRAM 1999).

A toxicidade das microcistinas, assim como sua ocorrência em águas superficiais destinadas ao abastecimento público, excitou a indicação do limite máximo de $1\mu\text{g.L}^{-1}$ dessa toxina em água para consumo humano pela Organização Mundial de Saúde (OMS), este valor corresponde ao valor máximo permitido das variantes de microcistinas nas formas intracelular e extracelular, ou dissolvida. Seguindo tal indicação, no Brasil, o monitoramento da qualidade da água de abastecimento, regido pela Portaria 2914/11, estabelece o valor máximo permitido (VMP) de $1\mu\text{g.L}^{-1}$ para a soma das variantes de microcistinas em água de abastecimento.

A remoção de microcistinas da água de abastecimento a partir do tratamento do tipo convencional (comumente empregado) é considerada efetiva quando estas toxinas se encontram na forma intracelular. No entanto, o mesmo tratamento não é satisfatório no caso da cianotoxina se encontrar na forma dissolvida (HOEGER et al., 2004; HIMBERG et al., 1989; CHOW et al., 1999). A dificuldade de remoção de microcistinas dissolvidas pelos sistemas de tratamento usualmente empregados, associada ao aumento da ocorrência de florações tóxicas de cianobactérias em reservatórios destinados ao abastecimento público, tem intensificado a busca por tecnologias operacionalmente e economicamente viáveis para o efetivo cumprimento da legislação vigente no que tange a concentração de microcistinas na água de abastecimento (HOEGER et al., 2004; DI BERNARDO et al., 2010).

A grande diversidade de estruturas e propriedades dos carvões ativados favorece sua utilização na adsorção de compostos orgânicos passíveis de conferir sabor, odor, mutagenicidade e toxicidade à água, como pesticidas, metilisoborneol (MIB), geosmina e

cianotoxinas. No entanto, não se pode generalizar que qualquer carvão ativado removerá eficientemente qualquer composto orgânico indesejável da água. O emprego do carvão ativado depende do entendimento da molécula a ser adsorvida, das características do adsorvente e dos processos que influenciam a sua utilização.

O carvão ativado tem sido avaliado com sucesso na remoção da fase líquida de muitas cianotoxinas dissolvidas, inclusive as microcistinas. A boa eficiência do carvão ativado é relatada quando o mesmo é utilizado de forma isolada ou em complemento ao tratamento convencional (HIMBERG et al., 1989; HO et al., 2011; WANG et al., 2007; WESTRICK et al., 2010; PENDLETON et al., 2001).

O emprego do carvão ativado depende do entendimento da molécula a ser adsorvida, das características do adsorvente e dos processos que influenciam a sua utilização. Dessa forma, a obtenção de dados para estimar o desempenho do carvão ativado frente ao contaminante específico que se pretende eliminar pode ser realizada através de testes em escala de bancada ou em unidades-piloto (BRADY, 1997; BANSAL e GOYAL, 2005).

No presente trabalho foram realizados ensaios em escala de bancada para avaliar a eficiência de adsorção de microcistina-LR a partir de carvão ativado granular.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a remoção de microcistina-LR de água sintética utilizando carvão ativado granular de casca de coco de dendê.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar as características físicas e químicas do carvão ativado de casca de coco de dendê.
- Avaliar a influência do pH, concentração afluente de microcistina-LR e tempo de contato no processo de adsorção da toxina em carvão ativado granular de casca de coco de dendê.
- Estimar a capacidade adsortiva e taxa de uso do carvão ativado de casca de coco de dendê nas condições dos ensaios.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 CIANOBACTÉRIAS

As cianobactérias constituem um grupo dentro do domínio *Bacteria*. São organismos procariotas Gram-negativos, fotoautotróficos e fazem parte do grupo das eubactérias. Esses organismos primitivos e altamente adaptáveis são unicelulares, sendo possível encontrá-las em águas salgada, salobra e doce, nascentes quentes e frias, ambientes terrestres, e em ambientes onde nenhuma outra microalga possa existir, pois em geral, as cianobactérias toleram grandes variações de temperatura, salinidade, pH e disponibilidade de nutrientes (CHORUS e BARTRAM, 1999; MOLICA e AZEVEDO, 2009).

A prevalência das cianobactérias na Terra se deve a algumas características fisiológicas que dão a várias espécies, vantagens competitivas em ecossistemas aquáticos. As vesículas de gás representam uma dessas estruturas, graças a elas, as cianobactérias tem mobilidade na coluna de água, se movendo para a superfície em busca de nutrientes e luz para realizar a fotossíntese ou para baixo quando suas necessidades nutricionais estão satisfeitas. Algumas espécies de cianobactérias possuem a capacidade de fixação de nitrogênio através de estruturas denominadas heterócitos. Este fato permite que as espécies que dispõem de heterócitos, se desenvolvam em ambientes com baixas concentrações de nitrogênio. Além disso, as cianobactérias possuem pigmentos acessórios (ficobilinas) que auxiliam na captação de luz para a fotossíntese, tornando possível sua sobrevivência em ambientes de pouca luz. Entretanto, a maioria das espécies apresenta um melhor crescimento em águas com valor de pH entre 6 e 9, temperatura entre 15 e 30°C, alta concentração de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo e ambientes de água doce de fluxo lântico (SANT' ANNA et al., 2008; CODD, 2000; MOLICA e AZEVEDO, 2009).

A origem das cianobactérias foi estimada em aproximadamente 3,5 bilhões de anos, sendo provavelmente os primeiros produtores fotoautotróficos a liberar oxigênio elementar para a atmosfera primitiva do planeta Terra, então altamente redutora (CALIJURI et al., 2006).

Existem cerca de 150 gêneros e 2000 espécies de cianobactérias e podem ocorrer de forma unicelular, unicelular colonial ou ainda de forma filamentosa. Podem estar presentes no meio em vida livre, em conjunto com outros organismos, como fungos, algas e outras

bactérias. Sob certas condições, especialmente em águas ricas em nutrientes e expostas à luz solar, as cianobactérias podem multiplicar-se a altas densidades e apresentar biomassa maior que a média do ambiente aquático, uma condição conhecida como floração (“bloom” em inglês) (MOLICA e AZEVEDO, 2009). Diversos gêneros de cianobactérias causam florações e até o momento, os mais frequentes registrados são: *Microcystis*, *Anabaena* e *Cylindrospermopsis*. (CARMICHAEL, 1994; CARMICHAEL, 2001; COSTA et al., 2006).

Durante os episódios de floração, as cianobactérias formam um biofilme artificial de cor verde com vários centímetros de profundidade. Esta densa camada de células altera o equilíbrio dos ecossistemas aquáticos, pois provoca a diminuição da transparência da água e contribui para condições de anoxia na parte inferior da coluna de água pela decomposição da biomassa algal (HEISLER et al., 2008; CODD, 2000; CARMICHAEL, 1992; CODD et al., 2004).

Uma das preocupações mais relevantes relativas à presença de cianobactérias em corpos de água é a possibilidade de produção e liberação de substâncias tóxicas, as cianotoxinas. As florações de cianobactérias nem sempre são compostas de espécies tóxicas, no entanto, muitos estudos tem demonstrado que durante eventos de florescimentos, cerca de 50 a 70% são constituídas por espécies tóxicas (YOO et al., 1995; SIVONEN et al., 1990).

3.2 CIANOTOXINAS

As cianotoxinas são produtos do metabolismo secundário de cianobactérias. As causas para a produção de cianotoxinas por cianobactérias ainda não estão bem esclarecidas, porém, alguns pesquisadores acreditam que as cianotoxinas desempenham funções protetoras contra espécies zooplancônicas, seus predadores primários, como fazem algumas plantas vasculares ao produzirem taninos, fenóis, alcaloides ou esteroides (CALIJURI et al., 2006). Essas substâncias tóxicas podem ser formadas em todos os estágios de desenvolvimento da célula, produzidas e armazenadas no interior das células de cianobactérias produtoras em crescimento ativo e somente liberadas a partir do rompimento dessas células (lise).

Uma vez liberadas na água, a persistência das cianotoxinas no ambiente aquático pode durar dias ou até várias semanas, dependendo das condições ambientais, principalmente pH e temperatura da água (KOTAK et al., 1995; CHORUS, 2001).

As vias de exposição humana às cianotoxinas são a ingestão acidental de água contaminada, por contato com a água em atividades de recreação ou ainda pelo consumo de pescado contaminado. Entretanto, a principal via de intoxicação é pela ingestão de água de abastecimento público quando esta se encontra fora dos padrões de potabilidade para cianotoxinas.

As cianotoxinas constituem um grupo quimicamente heterogêneo, com propriedades toxicológicas diversas. De acordo com a ação farmacológica, as cianotoxinas são classificadas como hepatotoxinas, neurotoxinas e dermatotoxinas (SIVONEN e JONES, 1999).

3.2.1 Classificação das cianotoxinas

3.2.1.1 Hepatotoxinas

As espécies conhecidas como produtoras de hepatotoxinas são *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Oscillatoria*, *Nostoc* e *Cylindrospermopsis*. As hepatotoxinas agem principalmente no fígado. De um modo geral, a ocorrência de florações de cianobactérias produtoras de hepatotoxinas são mais frequentes em todo o mundo. Por conseguinte são responsáveis pela maioria das intoxicações envolvendo cianobactérias (CARMICHAEL, 1994).

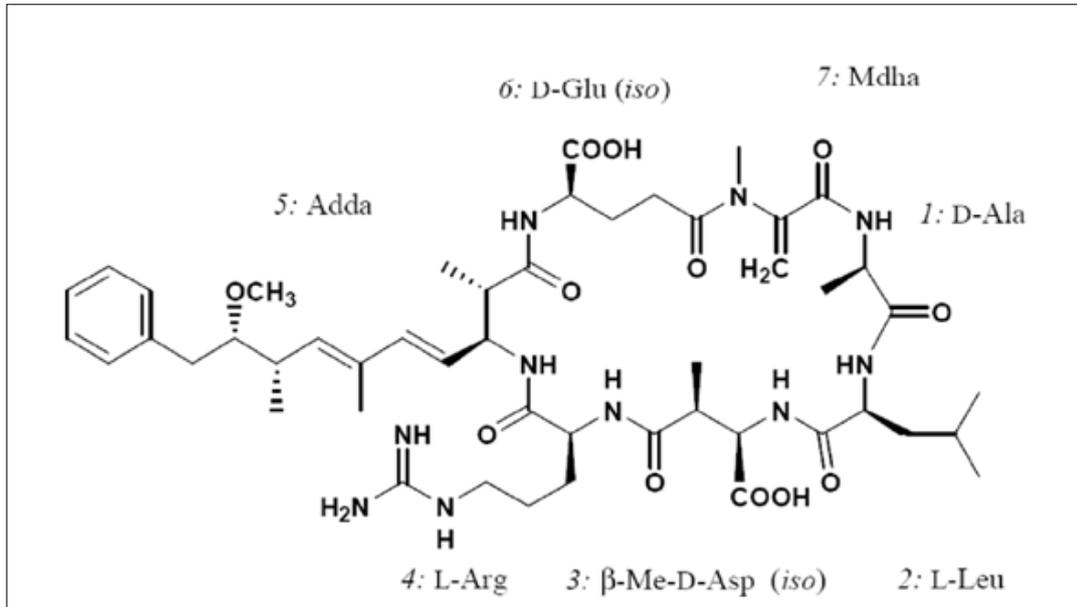
Dentre as hepatotoxinas encontram-se os peptídeos cíclicos que compreendem as microcistinas e as nodularinas, e um alcalóide, a cilindrospermopsina.

- Microcistina

As microcistinas são heptapeptídios cíclicos e devido a sua estrutura, são muito estáveis e resistentes a hidrólise química e oxidação, em pH próximo da neutralidade. Possuem pequena massa molecular, (compreendido entre 800 e 1100 g.mol⁻¹) e foram isoladas de *Microcystis sp*, e dos gêneros *Anabaena flos-aquae*, *Nostoc rivulare* e *Oscillatoria agradhii*.

A estrutura geral das microcistinas (ver Figura 1) é caracterizada por D-alanina₁-X₂-D-MeAsp₃-Z₄-Adda₅-D-glutamato₆-Mdha₇, em que X e Z representam dois L-aminoácidos variáveis (R¹ e R² na Figura 1), D-MeAsp corresponde a D-eritro-β-metil ácido aspártico e Mdha equivale a Nmetildehidroalanina (CARMICHAEL et al., 1988).

Figura 1. Estrutura geral das microcistinas.



Essas toxinas são quimicamente caracterizadas por uma estrutura formada por sete aminoácidos (heptapeptídeos), com dois aminoácidos terminais do peptídeo linear que se ligam para formar este composto cíclico, sendo classificadas de acordo com o arranjo dos aminoácidos na molécula (Figura 1). As variações estruturais mais frequentes nas moléculas de microcistina ocorrem nas posições dois e quatro, resultados de substituições de L-aminoácidos e desmetilações de resíduos nas posições três e sete. A nomenclatura atual adotada foi proposta por Carmichael et al. (1988) e se baseia nas variações do L-aminoácidos das moléculas.

É relatada a existência de mais de 60 tipos de microcistinas identificadas, entre as quais, as variantes LR (leucina-arginina), RR (arginina-arginina), YA (tirosina-alanina) e YR (tirosina-arginina) são as mais estudadas (SIVONEN e JONES, 1999; CARMICHAEL et al., 1988). Dentre as microcistinas, a mais recorrente no ambiente é a variante LR.

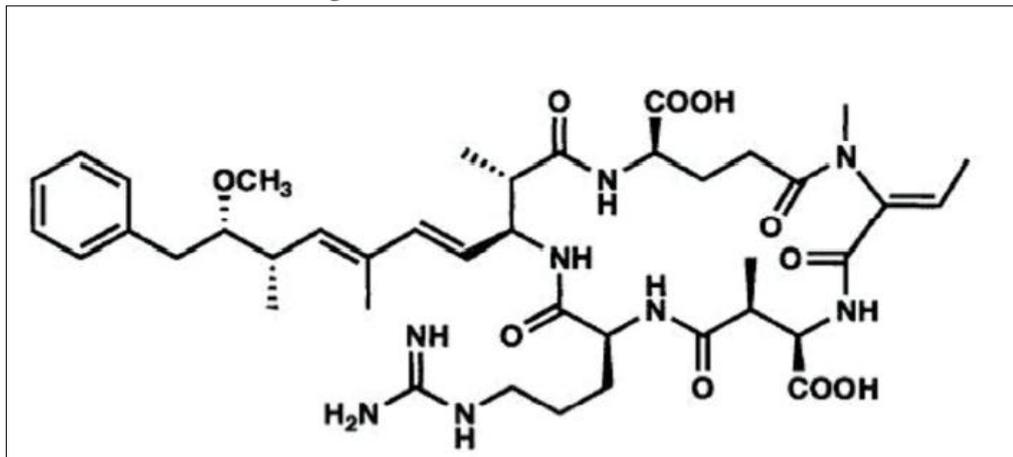
As microcistinas são solúveis em água, mas não são capazes de penetrar diretamente nas membranas lipídicas das células, exceto as poucas que são hidrofóbicas. Essas toxinas são

inibidoras das proteínas fosfatases (PP1 e PP2A), provocando hiperfosforilação e leva a um total desacoplamento das atividades celulares. Este desacoplamento em mamíferos e peixes promove a necrose das células do fígado, além do aparecimento de tumores (CALIJURI et al., 2006; UENO et al., 1999; TAKENAKA, 2000; HUMPAGE e FALCONER, 1999). A toxicidade dessas microcistinas em animais de laboratório situa-se entre 50 e 1.200 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de peso corpóreo e entre 5.000 e 10.900 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de peso corpóreo por administração oral (CHORUS e BARTRAM 1999).

- Nodularinas

As nodularinas são pentapeptídios cíclicos identificadas primeiramente na espécie *Nodularia spumigen*. As nodularinas apresentam aspectos semelhantes à microcistina, como a estrutura química (Figura 2) e o risco associado à saúde humana (FITZGERALD et al., 1999). Tanto as microcistinas quanto as nodularinas são solúveis em água e apresentam alta estabilidade química.

Figura 2. Estrutura da nodularina.



3.2.1.2 Neurotoxinas

As neurotoxinas são toxinas que atuam especificamente no sistema nervoso, mesmo em baixas concentrações (CALIJURI et al., 2006). São alcalóides que inibem a condução nervosa

por bloqueamento dos canais de sódio ao afetar a permeabilidade ao potássio ou à resistência das membranas (CARMICHAEL, 1994).

As neurotoxinas são produzidas principalmente pelos gêneros: *Anabaena sp.*, *Aphanizomenon sp.*, *Oscillatoria sp.*, *Trichodesmium sp.*, *Lyngya sp.* E *Cylindropermopsis sp.* Os três tipos de neurotoxinas produzidas a partir de espécies desses gêneros são: anatoxina-a, anatoxina-a(s), saxitoxinas (STX) e seus análogos.

- Anatoxina-a

São alcalóides com potente efeito despolarizador neuromuscular que se ligam irreversivelmente à receptores de acetilcolina. Os gêneros *Aphanizomenon*, *Arthrospira*, *Cylindropermopsis*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Raphidiopsis* são os principais produtores dessa toxina. A DL₅₀ administrada intraperitoneal (i.p) em camundongos para a toxina purificada é de 200 µg.kg⁻¹ de peso corpóreo, com um tempo de sobrevivência de 1 a 20 minutos (CARMICHAEL, 1992; FALCONER, 1999).

- Anatoxina-a (s)

É um éster organofosforado natural (N-hidroxiguanidina fosfato de metila) produzido pelas espécies *Anabaena flos-aquae*, *Anabaena lemmermann*. O mecanismo de ação consiste na inibição a atividade da acetilcolinesterase, impedindo a degradação da acetilcolina ligada aos receptores. A DL₅₀ (i.p.) em camundongos é de 20 µg.kg⁻¹ de peso corpóreo e, portanto, dez vezes mais potente que a anatoxina-a, no entanto, até o momento, não ha registros de intoxicação humana por esta toxina. (CARMICHAEL, 1994, CALIJURI et al., 2006).

- Saxitoxinas

Segundo Carmichael (1994), essas toxinas inicialmente foram detectadas em dinoflagelados marinhos, responsáveis por florações chamadas de marés vermelhas; posteriormente foram encontradas nos gêneros de cianobactérias: *Anabaena sp.*, *Aphanizomenon sp.*, *Lyngbia sp.* e *Cylindrospermopsis sp.*

As saxitoxinas são alcalóides carbamatos, que impedem a interrupção da comunicação entre neurônios e células musculares pelo bloqueamento dos canais de sódio, afetando a permeabilidade ao potássio ou a resistência das membranas (ROSET et al., 2001). A DL₅₀ (i.p.) em camundongos para saxitoxina purificada é de 10 µg.kg⁻¹ de peso corpóreo, enquanto que por consumo oral, a DL₅₀ é de aproximadamente 263,0 µg.kg⁻¹ de peso corpóreo (CHORUS e BARTRAM, 1999).

3.2.1.3 Dermatotoxinas

São lipopolissacarídeos (LPS), integrantes da parede celular de cianobactérias e outras bactérias (SIVONEN e JONES, 1999). São toxinas irritantes ao contato com a pele e causam danos menos graves à saúde humana quando comparadas com neurotoxinas e hepatotoxinas.

3.3 REMOÇÃO DE CIANOTOXINAS A PARTIR DO TRATAMENTO DE ÁGUA DO TIPO CONVENCIONAL

Diversas configurações de tratamento de água são possíveis, ficando a cargo dos projetistas de estações de tratamento e responsáveis pelo sistema a escolha da melhor configuração a partir de estudos de qualidade da água. No entanto no Brasil, a grande maioria dos sistemas de tratamento de água operados é do tipo convencional, sem a realização prévia de um adequado estudo de qualidade da água bruta a ser tratada (DI BERNARDO et al., 2010).

O tratamento convencional de água compreende as seguintes operações unitárias: coagulação, floculação, decantação e filtração. Em algumas estações de tratamento, existem variações do tratamento convencional, tais como: utilização da flotação em substituição a decantação e utilização da filtração direta. Contudo, o princípio é o mesmo, utilizar a coagulação química para modificar as propriedades do material que se encontra suspenso ou dissolvido na água a ser tratada.

A presença de cianobactérias e cianotoxina intracelular na água bruta aduzida às estações de tratamento pode causar problemas operacionais ao sistema de tratamento, como dificuldade de coagulação e floculação, baixa eficiência de decantação, colmatação dos filtros e aumento dos subprodutos da desinfecção, dificultando o tratamento de água.

No entanto, o tratamento convencional quando bem operado pode ser eficaz na remoção de células de cianobactérias e conseqüentemente de cianotoxina intracelular. Os estudos desenvolvidos por Chow et al. (1999) confirmam essa assertiva. Os autores avaliaram o impacto da energia de mistura usualmente empregada na coagulação e floculação de ETAs operadas por tratamento convencional e o uso do sulfato de alumínio como coagulante. A partir de testes de bancada com *jar tests*, os autores observaram que não houve sinais de lise celular e a remoção de células intactas de *Microcystis aeruginosa* foi possível.

Em diversos outros estudos o tratamento convencional se mostrou efetivo na remoção de cianotoxinas intracelulares (Hart et al.; 1998; Drikas et al.; 2001; Hoeger et al., 2004).

O envelhecimento celular e a ação de fatores ambientais podem provocar a lise celular das cianobactérias e a conseqüente liberação de cianotoxinas para o meio aquoso, onde essas toxinas permanecem na forma dissolvida (DRIKAS et al., 2009; SIVONEN e JONES, 1999;). Nessas situações, o tratamento de água contaminada por cianotoxina extracelular, ou dissolvida, se torna ainda mais complexo.

Ao contrário do que ocorre com cianotoxina intracelular, o tratamento convencional não se mostra eficaz na remoção de cianotoxina extracelular (KURODA et al., 2005; CHOW et al., 1999). A baixa eficácia do tratamento convencional na remoção das cianotoxinas extracelulares é explicada pelas propriedades químicas que essas toxinas apresentam, como estabilidade e resistência à hidrólise química ou oxidação (CHRISTOPHER, 1999; DI BERNARDO et al., 2010; CHOW et al., 1998). Devido à essas propriedades, os coagulantes não são eficazes na desestabilização e precipitação de cianotoxinas extracelulares, não sendo possível a separação das mesmas, nos processos de separação sólido-líquido que se seguem.

Tendo como objetivo o monitoramento de cianotoxinas extracelulares em água destinada ao abastecimento público, a Portaria N° 2.914, do Ministério da Saúde, de 12 de

dezembro de 2011 estabelece que a análise de microcistina e saxitoxina na água na saída do sistema de tratamento é obrigatória quando a densidade de células de cianobactérias for igual ou superior a 20.000 cel/mL (2 mm³/L de biovolume), e o valor máximo permitido de cianotoxinas é de 1,0 µg.L⁻¹ para a soma de todas as variantes de microcistinas e 3,0 µg.L⁻¹ para saxitoxinas. A portaria sugere que as análises para cianotoxinas incluam a determinação de cilindrospermopsina e anatoxina-a (s), quando for detectada a presença de gêneros produtores dessas toxinas e o valor máximo aceitável para cilindrospermopsina é de 1,0µg.L⁻¹.

Para o devido cumprimento à portaria de potabilidade vigente quanto à concentração de cianotoxinas extracelulares, o implemento de tecnologias mais complexas que a normalmente utilizada para a potabilização são necessárias. O grande desafio é encontrar sistemas de tratamento operacionalmente e economicamente viáveis a ser aplicados, nesse sentido, a filtração por membrana e a adsorção são as técnicas de remoção de cianotoxinas extracelulares em água, mais frequentemente estudadas.

3.4 ADSORÇÃO POR CARVÃO ATIVADO

Carvão ativado (CA) é a denominação dado ao grupo de materiais carbonáceos amorfos, constituído por uma malha de poros interligados formando uma estrutura aleatória de grande área superficial e elevado grau de porosidade (BANSAL e GOYAL, 2005; BRADY, 1997). Precursores comuns para a produção de carvão ativado são madeira, casca de coco ou turfa.

O carbono é o principal constituinte de carvões ativados, correspondendo a 85 a 96% da constituição do carvão. Além de carbono, o carvão ativado possui outros elementos, como hidrogênio, nitrogênio, enxofre e oxigênio, sendo a proporção desses elementos dependente da matéria-prima utilizada, assim como da ativação do carvão ativado ou outros processos desenvolvidos na sua fabricação (BANSAL e GOYAL, 2005).

A capacidade adsortiva do carvão ativado é alcançada no seu tratamento. Carvões ativados são principalmente preparados a partir da pirólise a temperaturas inferiores a 1000°C. A preparação envolve duas etapas principais: a carbonização da matéria-prima em temperaturas abaixo de 800°C em uma atmosfera inerte e ativação do produto a temperaturas de 950 a 1000°C.

A adsorção de uma substância envolve a sua acumulação na interface entre duas fases, tais como um líquido e um sólido ou um gás e um sólido. A molécula que se acumula, ou adsorve na interface é chamada de adsorvato, e a sólida sobre a qual a adsorção ocorre é o adsorvente (SNOEYINK, 1990).

Primeiramente ocorre o transporte das moléculas do adsorvato da fase líquida para a camada limite que circunda o adsorvente. O transporte das moléculas pode ocorrer por difusão ou por turbulência. Posteriormente ocorrerá o transporte por difusão molecular do adsorvato até a superfície externa do adsorvente. Depois de vencer a etapa que circunda o adsorvente, conhecido por camada limite, o transporte do adsorvato ocorrerá no interior do adsorvente, ou seja intrapartícula. A partir daí, o transporte poderá ocorrer por difusão molecular ao longo dos vazios internos da partícula até a chegada de um sítio de adsorção vazio, onde efetivamente ocorre a adsorção.

A adsorção de moléculas pode ser representada a partir da reação:

(1)

Onde: A: adsorvato; B: adsorvente; A.B: composto adsorvido.

Essa reação, em muitos casos é reversível e os adsorvatos se mantêm adsorvidos por forças químicas como as pontes de hidrogênio, interações dipolo-dipolo e forças de van der Waals. Quando a taxa de reação direta (adsorção) é igual à taxa de reação inversa (dessorção), é atingido o equilíbrio e não haverá mais acumulação ou adsorção (SNOEYINK, 1990).

A adsorção em carvão ativado pode ser física ou química. Na adsorção física, a natureza do adsorvente não é alterada. A reversibilidade da adsorção física depende das forças atrativas entre o adsorvato e o adsorvente, se estas forem fracas, a adsorção ocorre com certa facilidade. Quando a adsorção é química, acontece compartilhamento ou troca de elétrons entre o adsorvato e o adsorvente. As ligações químicas são mais fortes que as ligações que regem a adsorção física e é necessária energia para reverter o processo.

Mesmo pequenas variações nas condições de estrutura e composição química da matéria-prima podem resultar em grandes diferenças nas propriedades físicas do produto acabado, propriedades estas que exercem influência direta na adsorção (NEWCOMB e DÍXON, 2006). De acordo com Snoeyink (1990), as principais características que afetam o

processo de adsorção são: área superficial, distribuição de tamanho de poros, superfície química do carvão ativado e o pH da solução.

O pH da solução é um dos principais fatores que controlam a adsorção de eletrólitos orgânicos, uma vez que designa as interações eletrostáticas. O valor de pH da solução determina a carga superficial do carvão e a dissociação ou protonação do eletrólito da seguinte forma: a superfície do carvão é positivamente carregada quando o pH da solução é menor que o pH_{pcz} (valor de pH no qual a carga superficial total é nula) e negativamente carregada quando o pH da solução é mais alto que o pH_{pcz} (MORENO-CASTILLA, 2004).

A área superficial é um dos parâmetros mais importantes na determinação da sua capacidade adsorptiva. Em geral, os adsorventes que apresentam grandes extensões de área superficial normalmente possuem grande capacidade adsorptiva, pois quanto maior a área fornecida para a adsorção, melhor desempenho será esperado, se não houver outras forças atuando sobre o sistema adsorvato/adsorvente. O valor mínimo de área superficial dos carvões geralmente aplicados na potabilização de águas é de $650\text{m}^2\text{g}^{-1}$ (BRADY 1997).

A química superficial dos carvões ativados depende essencialmente do conteúdo de heteroátomos e principalmente do conteúdo de complexos superficiais de oxigênio. A superfície química influi na adsorção, pois determina além da carga de superfície, a sua hidrofobicidade (MORENO-CASTILLA, 2004). Os métodos para a determinação dos grupos funcionais encontrados na superfície do carvão incluem: técnicas titulométricas, espectroscopia de infravermelho, espectroscopia de raios-X, espectroscopia de ressonância magnética nuclear, medidas eletrocinéticas, entre outras (BOEHM, 2002).

Carvões ativados podem ser caracterizados pela razão entre micro, meso e macroporosidade. De acordo com União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), os poros do carvão ativado são classificados de acordo com seu tamanho da seguinte forma:

Tabela 1. Características das águas de estudo

CLASSIFICAÇÃO	DIÂMETRO (nm)
Microporos primários	<0,8
Microporos secundários	0,8 nm – 2,0
Mesoporos	2,0 nm – 50
Macroporos	> 50

Na prática, um grande volume de microporos geralmente corresponde a uma grande superfície e uma grande capacidade de adsorção de moléculas pequenas, enquanto que um grande volume de mesoporos e macroporos geralmente está diretamente correlacionado com a capacidade em adsorver moléculas grandes (SNOEYINK, 1990; NEWCOMBE e DÍXON, 2006).

O carvão ativado tem vasta gama de aplicações que incluem indústrias alimentícias, de bebidas, farmacéutica, química, tratamento de ar e tratamento de água.

3.4.1 Aplicação do carvão ativado no tratamento de água

Na potabilização de águas, o carvão ativado pode ser utilizado sob a forma de pó (CAP) ou na forma granular (CAG). A forma granular é associada a maiores diâmetros de poros e uma menor área de superfície interna e a forma em pó tem uma grande área de superfície interna e pequenos poros (BANSAL e GOYAL, 2005).

O CAP possui grãos com tamanhos compreendidos entre 0,01 e 0,10 mm. O carvão ativado em pó é adicionado à água, misturado por um tempo curto e removido. A adsorção de moléculas ocorre enquanto o CAP está em contato direto com a água. Essa forma de carvão é geralmente utilizada como um tratamento temporário pela versatilidade de seu uso, que pode ser feito de forma intermitente e em dosagens variadas, além da capacidade de adequar-se facilmente às instalações de uma ETA em funcionamento, podendo ser aplicado em qualquer etapa do tratamento que anteceda as unidades de filtração, ficando a escolha em função das características da água bruta, do adsorvato e do adsorvente. Por isso, considera-se como solução adequada para usos em situações emergenciais (BRADY; NEWCOMBE e DÍXON, 2006).

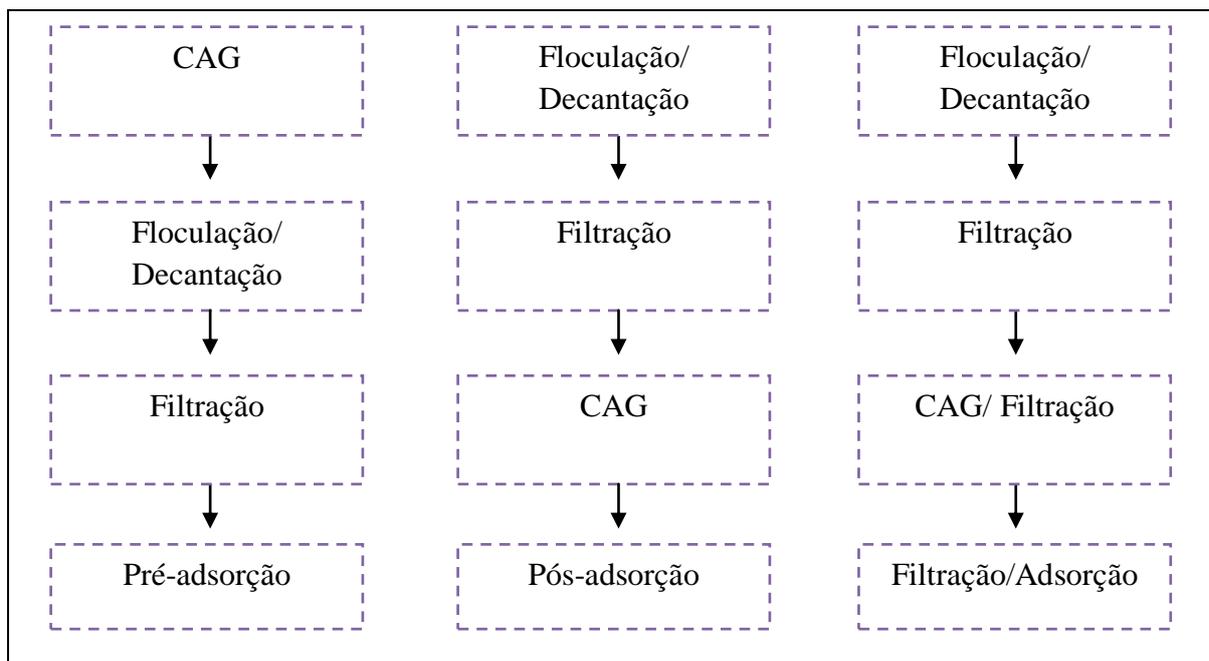
No entanto, no tratamento de água por filtração direta o emprego do CAP é restrito, pois o excesso de material em suspensão, ocasionado pela adição do carvão pode causar sobrecarga de sólidos nos filtros, reduzindo a carreira de filtração.

O CAG possui grãos com tamanhos compreendidos entre 0,42mm e 2,4mm e é geralmente utilizado em leitos de adsorção. Os leitos de CAG podem funcionar por gravidade ou pressão, ter fluxo ascendente ou descendente, configuração em série ou paralelo e ainda posicionados em três pontos do sistema de tratamento de água (BRADY, 1997). O

posicionamento de sistemas adsortivos depende da natureza da substância a ser removida e o resultado dos testes piloto.

Quando associado ao tratamento convencional de água, o CAG pode ser utilizado sob a forma de colunas, nesse caso pode ser alocado a montante ou a jusante das unidades filtrantes, configurando a pré-adsorção e a pós-adsorção. Há ainda a opção da associação do CAG à unidade filtrante, que passa a funcionar como um filtro de CAG. A localização das unidades adsortivas de CAG, quando associadas ao tratamento convencional de água se encontram descritas na Figura 3.

Figura 3. Opções de localização para o tratamento por CAG.



Com relação a filtração/adsorção, embora na maioria dos casos seja a opção mais barata de implantação do sistema adsortivo em ETAs por não demandar a construção de instalação específica para este fim, a utilização desse sistema apresenta o inconveniente de permitir tempos de contato entre adsorvato e adsorvente muito curtos.

A pré-adsorção não é a forma mais apropriada de alocação da unidade adsortiva quando o objetivo for a remoção de contaminantes específicos, pois na água ainda pode haver muita matéria orgânica natural ainda não removida, que pode competir pelos sítios de adsorção com os contaminantes que se pretende realmente eliminar. Essa competição pode reduzir a eficiência de remoção dos contaminantes-alvo e reduzir o tempo de vida útil do CAG. Isso

ocorre, pois, ao longo da operação dos leitos fixos de CAG, as superfícies dentro dos poros do carvão ativado tornam-se gradualmente cobertas por moléculas químicas adsorvidas, o que promove a redução progressiva dos sítios de adsorção ativos. Essa redução de superfícies disponíveis para adsorver novas moléculas faz a capacidade de adsorção do carvão ativado diminuir. À medida que a capacidade de adsorção do adsorvente for exaurida em qualquer local da coluna de CAG, a zona de adsorção migra mais para baixo do leito e as concentrações dos contaminantes aumentam progressivamente no efluente, até que o carvão não seja mais capaz de adsorver moléculas novas (BANSAL e GOYAL, 2005). Dessa forma, para a remoção de micropoluentes, a alocação de sistema adsortivo no final do tratamento é uma opção desejável.

A capacidade de adsorção do CAG gasto pode ser restaurada a partir de processos de regeneração. A taxa em que os contaminantes rompem o leito de carvão determina o tamanho do sistema de regeneração, por esse motivo, o principal critério de projeto de um sistema de reativação é a taxa de regeneração do carvão, que é medida pela massa de carvão por unidade de tempo (kg/h).

Os métodos de regeneração do CAG são: regeneração biológica, térmica e química. Dos três métodos, a regeneração térmica é o mais amplamente utilizado (BRADY, 1997). A regeneração completa ou o processo de reativação geralmente consiste de um sistema de forno, incluindo um sistema de alimentação, um sistema de secagem ou desidratação e uma etapa de reativação. As instalações para regeneração do CAG na própria ETA são caras, o que geralmente torna a regeneração in-situ impraticável para sistemas menores de tratamento de água (BANSAL e GOYAL, 2005).

Além da escolha da localização do sistema adsortivo, a eficiência de sistemas de tratamento por CAG pode ser aprimorada a partir da adoção de medidas como: escolha do tipo de CAG mais apropriado para adsorver as moléculas dos contaminantes usualmente encontrados na água bruta, determinação de suficiente tempo de contato entre o adsorvato e o adsorvente e a limitação do tempo de uso do carvão ativado. Para que tais condições sejam satisfeitas no projeto de um leito de CAG para aplicação em escala real, a realização de testes em escala piloto, ou até mesmo em escala de bancada podem ser ferramentas úteis que auxiliem na adoção de parâmetros de projeto mais apropriados às características da água a ser tratada (SNOEYINK, 1990; NEWCOMBE e DÍXON, 2006).

3.4.2 Uso do carvão ativado na remoção de cianotoxinas em água de abastecimento

Diversos trabalhos relatam que a adsorção por carvão ativado sozinho ou de forma combinada com o tratamento convencional é considerada efetiva na remoção de cianotoxinas. Himberg et al. (1989) testaram uma sequência de tratamento que compreendia floculação com sulfato de alumínio, filtração em filtros de areia, filtração em CAG e cloração e obtiveram 100% de remoção para toxinas provenientes de uma floração composta principalmente por *Microcystis wesenbergii* e *M. viridis* e do cultivo de *Oscillatoria agardhii*.

Em estudos realizados por Ho et al. (2011) utilizando CAP na água bruta coletada no ponto de entrada de três ETAs, o carvão ativado foi considerado eficaz na remoção de cilindrospermopsina (CYN) e quatro variantes de microcistinas (MC-RR, MC-yR, MC-LR e MC-LA).

De acordo com Newcombe e Nicholson (2004), o CAP pode ser eficiente na remoção de todas as cianotoxinas, desde que seja empregado carvão de boa qualidade e em dosagem adequada. No entanto, em vários trabalhos, as dosagens necessárias de CAP para remover cianotoxinas foi geralmente mais elevada que as dosagens geralmente utilizadas em ETAs para remover sabor e odor (FALCONER et al., 1983; HIMBERG et al., 1989; KEIJOLA et al., 1988).

Newcombe (2002) investigou a eficiência de carvão ativado na remoção de variantes de saxitoxina e informaram que o carvão ativado foi eficaz na remoção dessas toxinas. Resultados semelhantes também foram obtidos por Dixon et al. (2011); Ho et al. (2011); Wang et al. (2007); Westrick et al. (2010); Pendleton et al. (2001); Kuroda et al. (2005); Muller et al. (2009).

4 METODOLOGIA

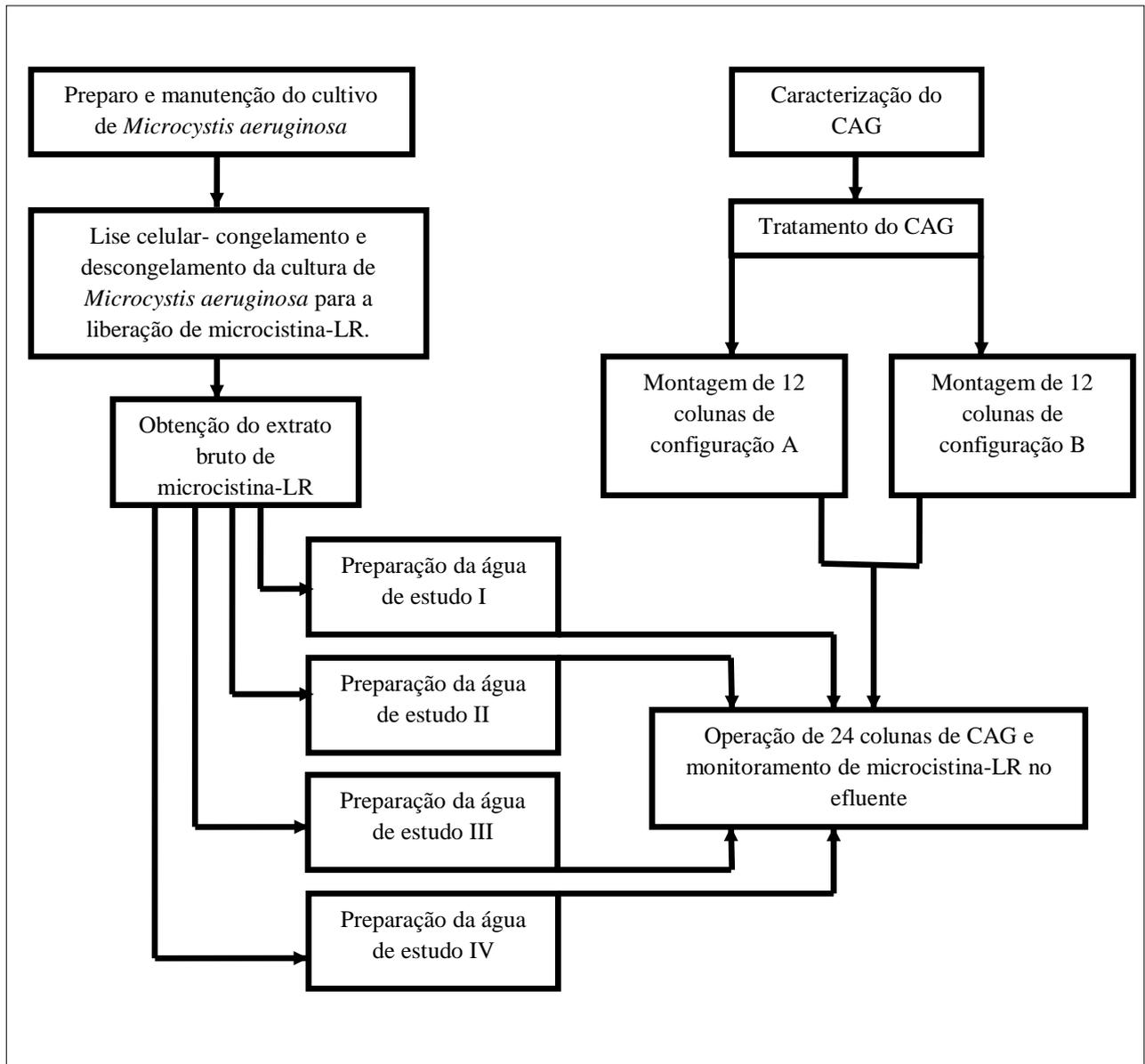
4.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O trabalho foi realizado na Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários- EXTRABES, pertencente à Universidade Estadual da Paraíba e à Companhia de Água e Esgotos da Paraíba- CAGEPA.

Foram realizados oito tratamentos com o objetivo de avaliar a adsorção de microcistina-LR em água de estudo preparada com água deionizada e extrato bruto de *Microcystis aeruginosa* por carvão ativado granular de casca de coco de dendê. Os tratamentos consistiram na operação de 24 colunas de CAG, alimentadas durante 15 horas com 4 águas de estudo (cada água de estudo alimentou quatro diferentes colunas de CAG).

O parâmetro de controle monitorado na execução dos tratamentos foi a concentração de MC-LR efluente das 24 colunas de CAG. Os materiais e métodos utilizados, assim como o desenvolvimento dos tratamentos estão descritos nos itens que se seguem. O fluxograma da sequência metodológica desenvolvida está disposto na Figura 4.

Figura 4. Fluxograma metodológico.



4.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

Realizou-se um planejamento fatorial 2^3 , a partir desse planejamento experimental, a investigação das influências de todas as variáveis experimentais de interesse e os efeitos nas respostas é possível. Os fatores utilizados foram: concentração de MC-LR, pH e tempo de contato. Cada fator apresentou dois níveis: concentração de MC-LR de 14,56 e 29,26 $\mu\text{g.L}^{-1}$, pH de 6,4 e 8,3 e tempo de contato de 60 e 90 s. Dessa forma, foram executados 8

tratamentos, que realizados em triplicata, totalizaram na operação de 24 colunas de CAG de casca de coco de dendê em escala de bancada e em regime de batelada. O planejamento e o tratamento estatístico dos dados foram realizados com o auxílio do software estatístico Minitab 16. O planejamento é apresentado na Tabela 3 e a geratriz do planejamento é apresentada na Tabela 4.

Tabela 2. Planejamento experimental.

FATORES	NÍVEIS	
CONCENTRAÇÃO DE MC-LR ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	14,56	29,26
pH	6,4	8,3
TEMPO DE CONTATO (s)	60	90

Tabela 3. Geratriz do planejamento experimental.

TRATAMENTO	CONCENTRAÇÃO DE MICROCISTINA-LR (A)	TEMPO DE CONTATO (B)	pH (C)
T1	-	-	-
T2	-	+	-
T3	+	-	-
T4	+	+	-
T5	-	-	+
T6	-	+	+
T7	+	-	+
T8	+	+	+

Os dados utilizados para avaliação estatística no trabalho experimental corresponderam a concentração de MC-LR nas amostras de efluente das 24 colunas monitoradas. As amostras eram coletadas com 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 6h, 8h, 10h, 12h e 15h de operação em cada uma das colunas.

Para verificar se existiam diferenças entre as respostas médias dos tratamentos realizou-se a análise de variância (ANOVA). O procedimento foi utilizado para inferir se tais diferenças realmente existem a um nível de confiança de 0,95 (95%).

A variância é uma medida de dispersão absoluta das observações. É dada pela soma das diferenças quadráticas das observações em relação a sua média dividida pelo número total de observações. Para isso foram testadas duas hipóteses: se as médias dos tratamentos foram iguais ou não. As duas hipóteses foram as seguintes:

- H_0 (hipótese nula): admite que as médias são iguais e não existe diferenças significativas entre os tratamentos;

- H_a (hipótese alternativa): admite que as médias não são iguais e existem diferenças significativas entre os tratamentos.

A sensibilidade dos parâmetros estudados sobre a resposta de interesse foi examinada através do gráfico de pareto. Ele consiste em um gráfico de barras que ordena as frequências das ocorrências da maior para a menor. A partir do gráfico de pareto podem-se identificar quais parâmetros ou interações entre parâmetros que mais influenciam no processo de adsorção de MC-LR nas condições dos experimentos.

4.3 CULTIVO DE *Microcystis aeruginosa*

A cepa de *Microcystis aeruginosa*, produtora de microcistina-LR foi cedida pelo Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos- SP e foi obtida a partir do isolamento de células de *Microcystis aeruginosa*, em água coletada no Rio Tieté- SP.

O cultivo de *Microcystis aeruginosa* foi realizado em sala de cultivo instalada nas dependências da Estação Experimental de Esgoto Sanitário- EXTRABES. A sala de cultivo era mantida à temperatura média de 24°C, fotoperíodo de 12 horas, intensidade luminosa de aproximadamente 1200 LUX, obtida a partir de lâmpadas tubulares de 40W, pH de aproximadamente 8 e meio de cultura ASM-1, estéril, preparado com 13 sais orgânicos e inorgânicos. Dessa forma foram fornecidas as condições necessárias para o crescimento da cepa.

O cultivo foi iniciado em tubos de ensaio de 10 mL e erlenmeyers de 250 mL, sob agitação diária. A fase exponencial de crescimento (10^6 cel.mL⁻¹) era alcançada entre 15 e 18 dias e monitorada por meio de contagem de indivíduos em microscópio invertido pelo método UTHERMÖHL (1958). Com a finalidade de aumentar o volume do cultivo e alcançada a fase exponencial, certa quantidade de células eram transferidas (repique) para volumes maiores em erlenmeyers de 2L, seguindo a proporção de 1:9 (inoculo:meio) e sequencialmente após o período de incubação, transferidos para recipientes maiores, com capacidade de 16 L. A Figura 5 apresenta o cultivo de *Microcystis aeruginosa* realizado na EXTRABES.

Figura 5. Cultivo das células de *Microcystis aeruginosa*.



4.4 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO DE MICROCISTINA-LR

Após atingir a fase exponencial, com densidade celular de 10^6 cel.mL⁻¹, a cultura de *Microcystis aeruginosa* foi mantida fora do alcance da luz, em freezer sob temperatura de -20°C. Para a obtenção das toxinas, as células cultivadas de *Microcystis aeruginosa* eram submetidas ao processo de gelo/degelo com no mínimo quatro repetições consecutivas. Esse procedimento promove o rompimento da membrana celular de *Microcystis aeruginosa*, e a consequente liberação da toxina intracelular para o meio aquoso.

A suspensão obtida a partir da cultura lisada foi filtrada em membrana de poros de 1 µm (WHATMAN GFC/Fibra de vidro) e em seguida em membrana de poros de 0,45 µm (MILLIPORE). Após separação do material suspenso, os extratos foram homogeneizados e

divididos em alíquotas que foram mantidas no congelador. Todos os experimentos de adsorção foram realizados com o mesmo lote de extrato bruto.

4.5 ÁGUAS DE ESTUDO

Foram utilizadas 4 águas de estudo (AE-I, AE-II, AE-III, AE-IV), preparadas com água deionizada e extrato bruto de MC-LR. A toxina foi obtida através da adição de extrato bruto proveniente da cultura de *Microcystis aeruginosa* (descrito no item 4.3). Os valores de pH foram ajustados com ácido clorídrico e hidróxido de sódio.

Segundo Broke et al. (2006), em águas naturais contaminadas por cianotoxinas, a concentração de 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de toxina representaria uma condição extrema. Com isso, optou-se por utilizar valores próximos a 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de MC-LR nas águas de estudo.

As concentrações de MC-LR e os valores de pH em cada água de estudo se encontram descritas na Tabela 4.

Tabela 4. Características das águas de estudo.

ÁGUA DE ESTUDO	CONCENTRAÇÃO DE MICROCISTINA-LR ($\mu\text{g/L}$)	pH
I	14,56 μgL^{-1} (-)	6,4 (-)
II	14,56 μgL^{-1} (-)	8,3 (+)
III	29,26 μgL^{-1} (+)	6,4 (-)
IV	29,26 μgL^{-1} (+)	8,3 (+)

4.6 ANÁLISE DE MICROCISTINA-LR

As análises para avaliar a concentração de MC-LR foram realizadas no Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), no Complexo Integrado de Pesquisa Três Marias da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

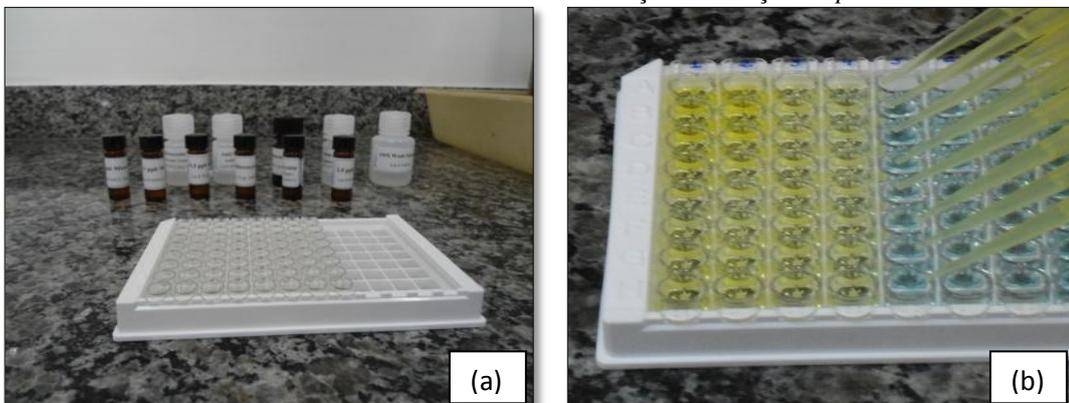
As amostras analisadas foram: AE-I, AE-II, AE-III, AE-IV e EF das 24 colunas de CAG monitoradas. As amostras de EF eram coletadas com 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 6h, 8h, 10h, 12h e 15h de operação em cada uma das colunas.

As análises foram realizadas em duplicata, pelo método ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), com kit de placas da marca Beacon Analytical Systems Inc, apresentado na Figura 6 (a). O limite de detecção estimado pelo fabricante é de $0,16 \mu\text{g.L}^{-1}$.

A técnica do imunoensaio enzimático (ELISA), destinada a análise de microcistinas, é baseada na competição sequencial entre dois grupos de antígenos sobre anticorpos policlonais específicos contidos em uma placa de reação. O primeiro grupo de antígenos submetido à reação enzimática é o das microcistinas presentes na amostra e o grupo seguinte exposto à reação é chamado antígeno marcador, que é o conjugado de enzimas-microcistinas (Di BERNARDO et al., 2010). O antígeno ligado à enzima e a amostra (antígeno não ligado) competem pela ligação com os anticorpos.

Após o fim da reação a placa é lavada com solução de lavagem e somente a MC-LR que se ligou aos anticorpos permanece. A reação com um substrato específico promove a mudança de cor, desenvolvendo cor azul. A etapa subsequente corresponde a adição de solução stop e a partir daí a coloração muda para amarelo, conforme mostrado na Figura 6 (b). A leitura da absorbância do conteúdo de cada poço é realizada através de leitora de placa TP-Reader (Thermo-Plate) e a coloração resultante ao final da reação enzimática é inversamente proporcional à concentração de microcistinas na amostra analisada.

Figura 6. Análise de microcistina-LR (a) Kit de placas ELISA- Beacon Analytical Systems Inc. (b) Reação colorimétrica observada durante a adição da solução *Stop*.



4.7 DESCRIÇÃO E MONTAGEM DAS COLUNAS DE CAG

O CAG selecionado para ser utilizado nos experimentos tem como matéria-prima a casca de coco de dendê, com granulometrias de 12x40 mesh (0,42-1,40mm). O carvão foi adquirido na empresa Carbonmar- Com. e Ind. de carvão ativado Ltda, localizada na Bahia. As especificações do CAG fornecidas pela empresa fabricante estão dispostas na Tabela 5.

Tabela 5. Especificações do CAG de casca de coco do dendê - Carbonmar Com. e Ind. de carvão ativado Ltda.

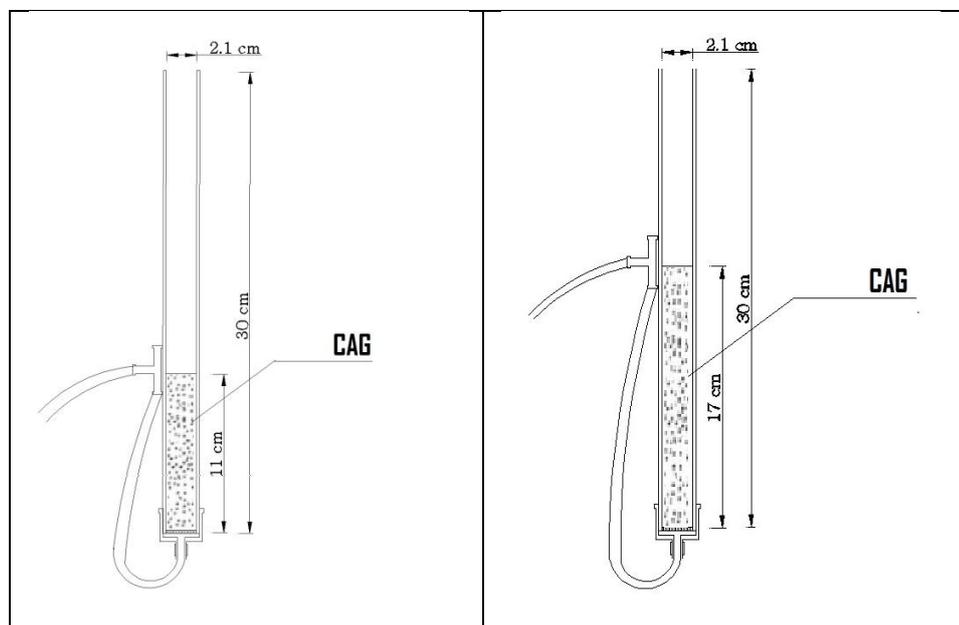
ESPECIFICAÇÃO	VALOR
Número de iodo	Min. 900 mg.g ⁻¹
Massa Específica	Min. 0,45 - 0,55 ± 0,05 g.cm ⁻³
Dureza	Min. 95 %
Abrasão	Min. 85 %
Cinzas	Max. 10 %
Granulometria	12x40 mesh
Umidade ao embalar	Max. 3 %

O material adsorvedor utilizado nos experimentos primeiramente foi lavado diversas vezes com água destilada e em seguida seco em estufa a 110°C. O CAG lavado e seco foi pesado, transferido para um erlenmeyer de 500 ml e fervido com água destilada por 10 minutos para que impurezas voláteis fossem eliminadas. Em seguida o CAG foi cuidadosamente disposto em um frasco de sucção, onde foi aplicado vácuo por cerca de 15 minutos, de modo a permitir a completa introdução de água nos vazios do CAG e a consequente retirada do ar de seu interior. Por fim, as colunas foram preenchidas com o carvão imerso em água destilada.

As colunas de CAG foram confeccionadas em tubo de PVC, com diâmetro interno de 21 mm e 30 cm de comprimento. A granulometria do CAG utilizado em todas as colunas foi de 1,40-0,42mm e a vazão para as 24 colunas foi fixada em 1 L.h⁻¹. Foram operadas 24 colunas de CAG de leito fixo, com duas alturas de leito, 12 colunas de configuração A e 12 de configuração B. Ambas as configurações se encontram descritas na Tabela 6. A figura 7 apresenta o desenho das colunas de CAG utilizadas.

Tabela 6. Configuração das colunas de CAG.

CONFIGURAÇÃO DA COLUNA	VOLUME DA COLUNA (mL)	MASSA (g)	ALTURA (cm)	VOLUME DE VAZIO DA COLUNA (mL)	TEMPO DE CONTATO TEÓRICO (s)
A	38	20	11	17	60
B	57	30	17	25	90

Figura 7. Desenho das colunas de CAG utilizadas. (a) Coluna de configuração A. (b) Coluna de configuração B.

4.8 OPERAÇÃO DAS COLUNAS

A operação das 24 colunas foi realizada durante 6 dias, de modo que a cada dia, 2 águas de estudo eram utilizadas para alimentar 4 colunas de CAG durante 15 horas.

Antes do início da operação das colunas, eram preparados 4 L de cada AE (conforme descrição no item 4.5) e armazenadas em reservatórios separados. Esses reservatórios

consistiam em recipientes plásticos com capacidade de armazenar 5 litros em volume. A cada meia hora as AE eram submetidas à agitação de forma manual.

A AE de cada reservatório era bombeada com vazão controlada de 1 L.h^{-1} , por intermédio de duas bombas peristálticas, de forma que cada reservatório fornecia água para alimentar duas colunas de CAG (uma de configuração A e outra de configuração B). A frequência de preparação de cada AE era de uma hora e meia.

4.9 CÁLCULO DA CAPACIDADE ADSORTIVA E TAXA DE USO DO CAG

A relação da quantidade de MC-LR adsorvida por massa de carvão (q_e) foi avaliada a partir da equação 1:

$$\text{—————} \quad (2)$$

Onde:

q_e : Concentração de MC-LR por massa de carvão ativado granular ($\mu\text{g.g}^{-1}$)

C_i : Concentração inicial do adsorbato ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

C_f : Concentração máxima permitida pela Portaria 2914/11 ($1 \mu\text{g.L}^{-1}$)

Q : Vazão (L.h^{-1})

t : tempo referente a concentração maior que o VMP (s)

m : massa do carvão ativado granular (g)

Com base nos dados obtidos, calculou-se a taxa de uso (TU) do CAG com base na equação:

$$\text{—————} \quad (3)$$

Onde:

TU: Taxa de uso do CAG (g.L^{-1})

C_i : Concentração inicial do adsorbato ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

C_f : Valor máximo permitido (VMP) pela portaria 2914/11 ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

q_e : Concentração de microcistina-LR por massa de carvão ativado granular ($\mu\text{g.g}^{-1}$)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O processo de adsorção por carvão ativado é de grande importância para a potabilização de águas e sua aplicação rentável depende de um entendimento do adsorvente e dos processos que influenciam a sua utilização. Este capítulo apresenta uma visão geral da estrutura do carvão ativado granular de casca de coco de dendê e os processos que influenciam a remoção de MC-LR em água deionizada.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO CARVÃO ATIVADO GRANULAR

A caracterização do CAG utilizado nos experimentos foi realizada no Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas e Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) e se encontra descrita na Tabela 7.

Tabela 7. Caracterização do CAG.

ESPECIFICAÇÕES	VALOR
Granulometria (mm)	12x40 mesh (1,40 - 0,42 mm)
pH _{pcz}	9,58
Superfície Específica BET (m ² .g ⁻¹)	374,036
Volume superficial de microporos (cm ³ .g ⁻¹)	0,209
Área superficial de Microporos (m ² .g ⁻¹)	587,930
Tamanho médio dos Microporos (Å)	14,202
Volume Total de Poros (cm ³ .g ⁻¹)	0,225
Diâmetro Máximo dos Poros (Å)	754,0
Diâmetro Médio dos Poros (Å)	18,22

A baixa granulometria do carvão utilizado (1,40 - 0,42 mm) é interessante para os processos adsortivos, pois o tamanho do adsorvente determina o tempo requerido para o

transporte dentro dos poros, que são os locais onde efetivamente ocorre a adsorção e quanto menores forem os grãos, maior será a taxa de adsorção (SNOEYINK, 1990; DI BERNARDO e DANTAS, 2005).

A área superficial, determinada pelo método BET, foi inferior ao valor de $650\text{m}^2\text{g}^{-1}$, apontado como o mínimo verificado nos carvões aplicados na potabilização de águas (BRADY 1997). Apesar disso, a baixa correlação entre a superfície específica de carvões ativados e a adsorção de MC-LR verificada por Donati et al. (1993), sugere que nem é particularmente útil a utilização desse parâmetro como indicador geral da eficácia de carvões ativados para adsorção de MC-LR.

O volume superficial de poros do CAG de casca de coco de dendê é de $0,225\text{cm}^3\text{g}^{-1}$. Esse valor está de acordo com a média dos carvões geralmente utilizados no tratamento de água, que se encontram na faixa entre $0,20$ e $0,60\text{cm}^3\text{g}^{-1}$ (BANSAL e GOYAL, 2004).

Observa-se a predominância de microporos (diâmetro médio dos poros de $18,22\text{Å}$), que correspondem a $92,88\%$ do volume total de poros. A relevância desse fator encontra-se na melhor afinidade da molécula de MC-LR por carvões mesoporosos quando comparada com a adsorção por carvões microporosos apontada por alguns autores (DONATI et al., 1993; PENDLETON et al., 2001; NEWCOMB e NICHOLSON, 2002; HUANG et al., 2007). Apesar disso, a adsorção de MC-LR nos microporos do CAG de coco de dendê é confirmada ao analisarmos o comprimento máximo possível da molécula de MC-LR em qualquer ângulo, de $2,94\text{nm}$ e o menor, de cerca de $1,4\text{nm}$ (SATHISHKUMARA et al., 2010).

O pH_{pcz} do CA foi básico e maior que 9, ou seja, maior que os valores de pH das águas de estudo que foram de 6,4 e 8,3. Este fato favorece a adsorção de MC-LR, pois, carvões ativados com elevados valores de pH_{pcz} , tipicamente exibem uma carga neutra ou positiva em sua superfície, promovendo o aumento da adsorção de MC-LR que é uma molécula carregada negativamente, na superfície do carvão (BANSAL e GOYAL, 2005; MORENO-CASTILLA, 2004; HUANG et al. 2007).

5.2 MONITORAMENTO DOS SISTEMAS DE TRATAMENTO

As figuras 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 e 15 apresentam os resultados das concentrações de MC-LR efluente ao longo das 15 horas de monitoramento dos tratamentos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, respectivamente.

Figura 8. Gráfico da concentração efluente de MC-LR ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) de colunas monitoradas pelo tratamento 1.

Legenda: M-DP: média – desvio padrão; M: média; M+DP: média + desvio padrão.

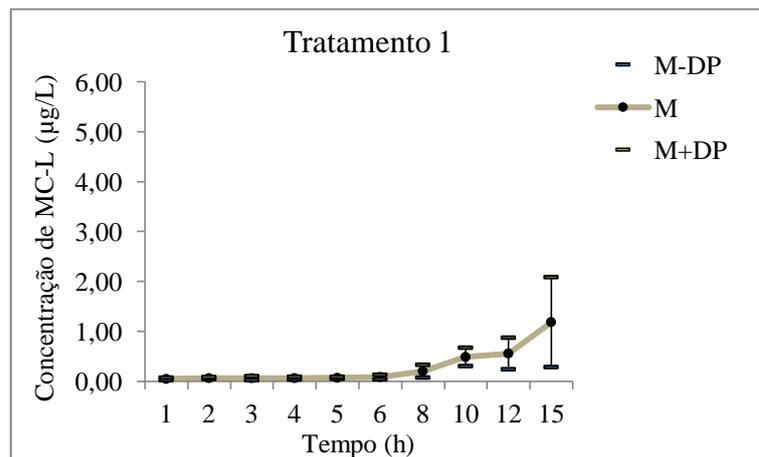


Figura 9. Gráfico da concentração efluente de MC-LR ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) de colunas monitoradas pelo tratamento 2.

Legenda: M-DP: média – desvio padrão; M: média; M+DP: média + desvio padrão.

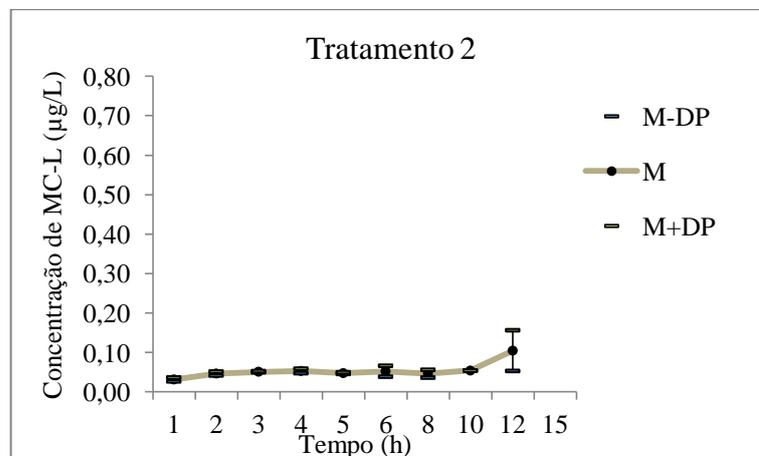


Figura 10. Gráfico da concentração efluente de MC-LR ($\mu\text{g.L}^{-1}$) de colunas monitoradas pelo tratamento 3.

Legenda: M-DP: média – desvio padrão; M: média; M+DP: média + desvio padrão.

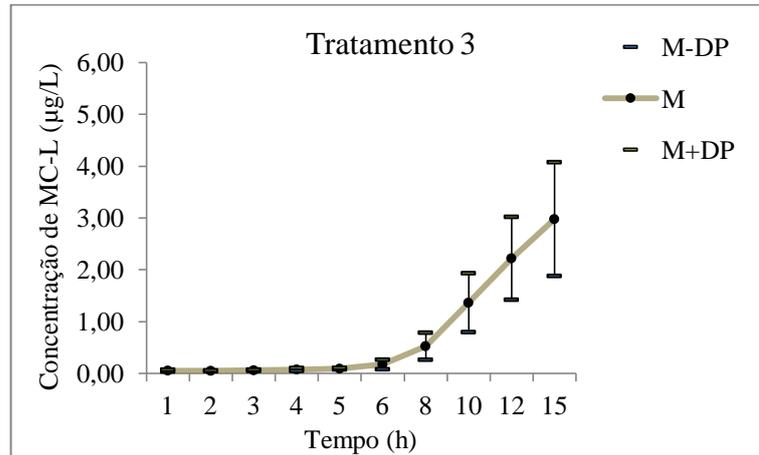


Figura 11. Gráfico da concentração efluente de MC-LR ($\mu\text{g.L}^{-1}$) de colunas monitoradas pelo tratamento 4.

Legenda: M-DP: média – desvio padrão; M: média; M+DP: média + desvio padrão.

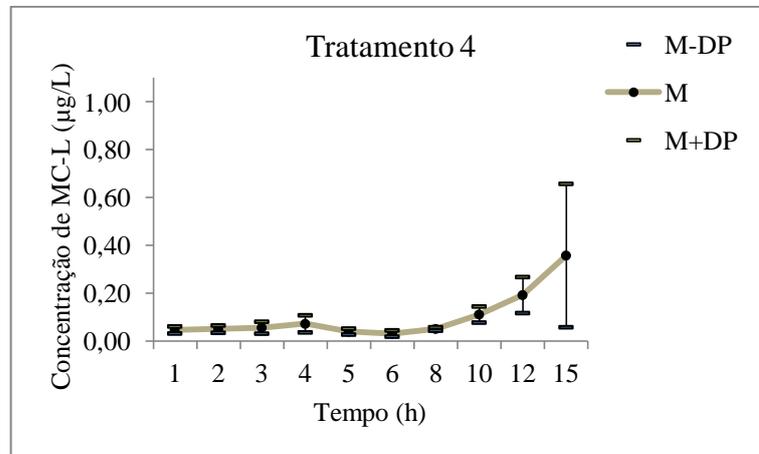


Figura 12. Gráfico da concentração efluente de MC-LR ($\mu\text{g.L}^{-1}$) de colunas monitoradas pelo tratamento 5.

Legenda: M-DP: média – desvio padrão; M: média; M+DP: média + desvio padrão.

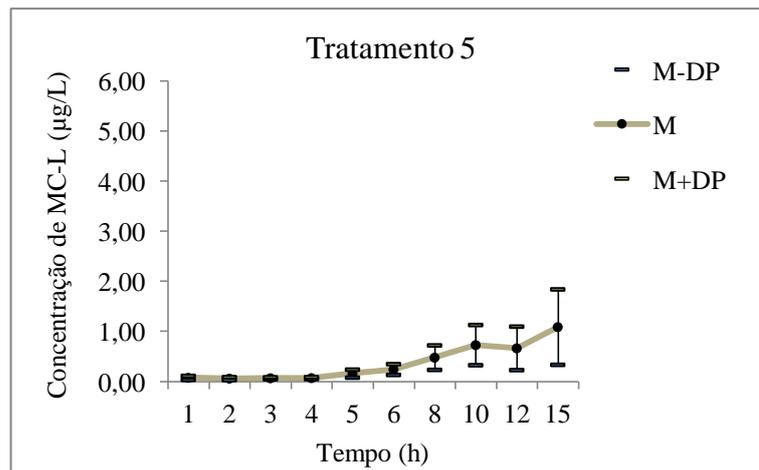


Figura 13. Gráfico da concentração efluente de MC-LR ($\mu\text{g.L}^{-1}$) de colunas monitoradas pelo tratamento 6.

Legenda: M-DP: média – desvio padrão; M: média; M+DP: média + desvio padrão.

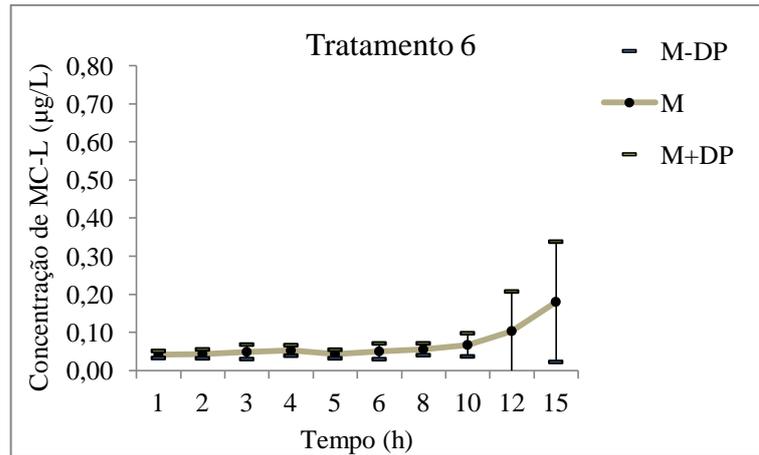


Figura 14. Gráfico da concentração efluente de MC-LR ($\mu\text{g.L}^{-1}$) de colunas monitoradas pelo tratamento 7.

Legenda: M-DP: média – desvio padrão; M: média; M+DP: média + desvio padrão.

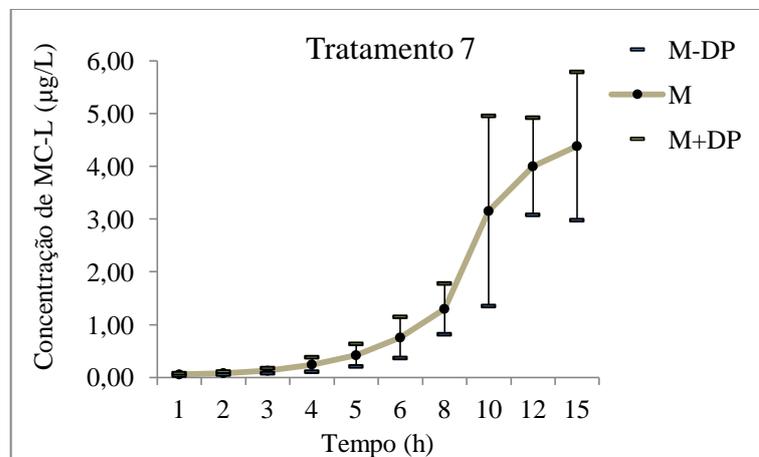
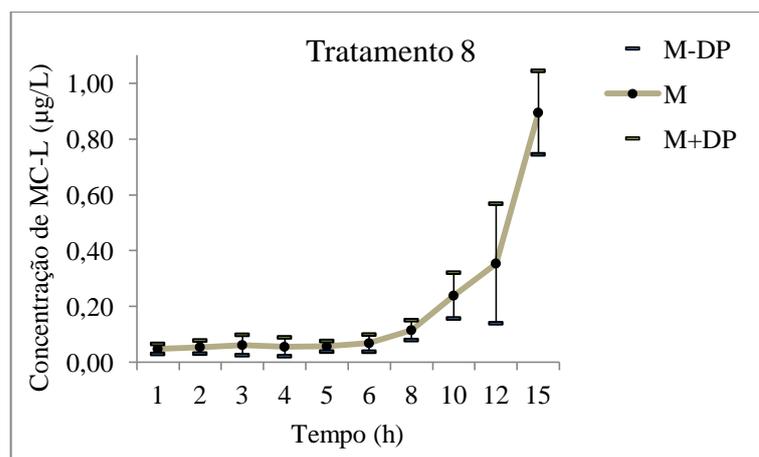


Figura 15. Gráfico da concentração efluente de MC-LR ($\mu\text{g.L}^{-1}$) de colunas monitoradas pelo tratamento 8.

Legenda: M-DP: média – desvio padrão; M: média; M+DP: média + desvio padrão.



O conhecimento da eficiência de adsorção de elevadas concentrações de cianotoxinas por CAG ao longo do tempo é um fator importante, pois, na prática, se a presença de altas concentrações de cianotoxinas na água ocorrer quando o carvão já estiver parcialmente saturado, o transpasse de concentrações significativas de toxina poderá ocorrer. Por esse motivo, as concentrações afluentes das 24 colunas operadas foram próximas a $20 \mu\text{g.L}^{-1}$, valor este que, segundo Broke et al. (2006), representa uma condição extrema para águas naturais contaminadas por cianotoxinas.

Devido aos baixos valores de toxina efluente nas primeiras horas (abaixo do limite de detecção do método ELISA), não foi possível a realização do cálculo da eficiência de remoção de MC-LR nas primeiras horas a partir dos sistemas de tratamento, mas sugere-se que se encontravam próximas a 100%.

Resultados diferentes foram obtidos por Oliveira et al. (2004), no qual os autores obtiveram 81,3% de eficiência de remoção de MC-LR (dissolvida em água deionizada) em CAG de coco logo na primeira hora de operação das colunas de adsorção. O baixo tempo de contato utilizado por Oliveira et al (2004), da ordem de 9s, pode ter contribuído para que a eficiência de remoção observada pelos autores tenha sido mais baixa quando comparada com os resultados do presente estudo, já que os tempos de contato nos nossos sistemas de tratamento foram de 60 e 90s.

Foi verificada elevação da eficiência de adsorção de MC-LR com o decréscimo da concentração de toxina. Nos tratamentos que utilizavam concentração afluente de $29,26 \mu\text{g.L}^{-1}$, o percentual médio de remoção em 15 horas de operação foi de 94,5%, enquanto que tratamentos com concentração afluente de MC-LR de $14,56 \mu\text{g.L}^{-1}$, apresentaram percentual médio de remoção de 96,8% em 15 horas de operação. A partir dos resultados obtidos observa-se que, apesar da melhor remoção de MC-LR verificada nos tratamentos que utilizaram afluente com concentração de MC-LR mais baixa, a adsorção da toxina em todos os sistemas de tratamento testados apresentou boa eficiência de remoção.

Um fator que pode ter contribuído para a elevada eficiência do CAG utilizado na remoção de MC-LR observada, é a ausência de compostos orgânicos suspensos nas águas de estudo, tais como matéria orgânica natural (MON), ou subprodutos da cloração que competiriam com a MC-LR pelos sítios de adsorção caso estivessem presentes.

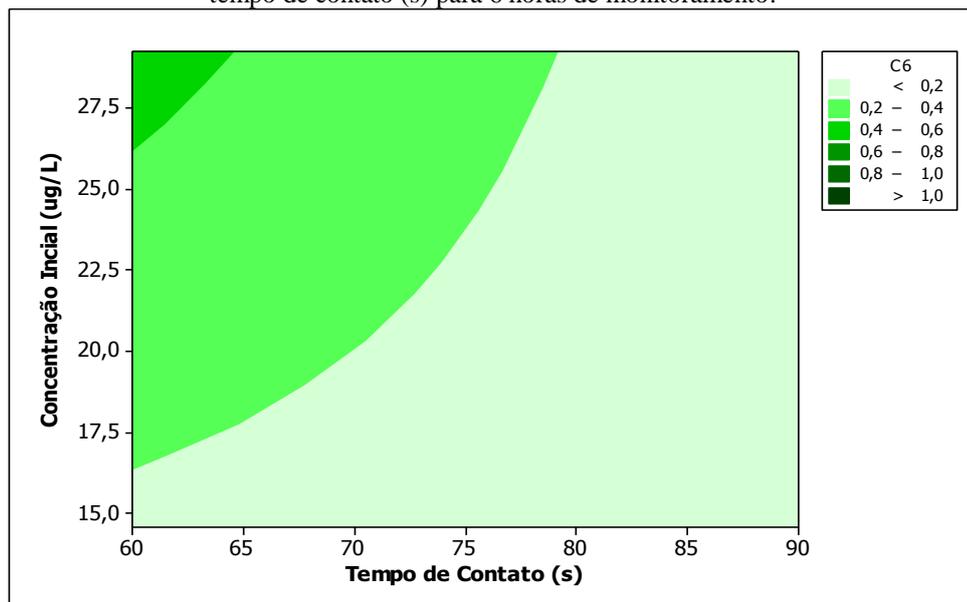
Nos experimentos realizados por Huang et al. (2007), os autores avaliaram a adsorção de MC-LR dissolvida em duas águas de estudo, água coletada na ETA e água Milli-Q e observaram que a capacidade adsortiva de MC-LR pelo CAG de madeira diminuiu de 12 a 65% quando a toxina se encontrava dissolvida na água proveniente da ETA. Os autores

apontaram a presença de matéria orgânica natural, na água coletada na ETA (COD = 7,8 mg.L⁻¹ e predominantemente constituída de compostos orgânicos hidrofílicos) como a responsável pela redução da capacidade do carvão ativado em adsorver a toxina. Em diversos outros trabalhos, a presença de matéria orgânica é apontada como responsável por prejudicar a eficiência de adsorção de MC-LR por carvão ativado (WANG et al., 2007; DONATI et al., 1993; KURODA et al., 2005; HUANG et al., 2007).

Na prática, uma vez que cada água bruta contém uma combinação única e diferente de moléculas de matéria orgânica, a influência da competição entre a matéria orgânica da água bruta e a molécula de MC-LR pelos poros de carvão ativado irá depender da afinidade entre a molécula de matéria orgânica e o carvão ativado. Sendo necessária avaliação caso a caso. Desse modo, embora a elevada remoção de MC-LR apresentada pelo CAG de casca de coco de dendê, a competição com a matéria orgânica dissolvida em água natural deve ser avaliada para evitar problemas na prática do tratamento.

Na Figura 15 é apresentado o gráfico de contorno para remoção de MC-LR.

Figura 16. Gráfico de contorno para a remoção de MC-LR, variando concentração inicial de MC-LR (μgL^{-1}) e tempo de contato (s) para 6 horas de monitoramento.



Observa-se que a eficiência de remoção de MC-LR pelo CAG utilizado é inversamente proporcional à concentração afluyente da toxina, ou seja, a eficiência de remoção de MC-LR diminui com a elevação da concentração afluyente. Com relação ao tempo de contato, ocorre o

inverso, a diminuição do tempo de contato provoca redução na eficiência de remoção de toxina, conforme mostra a Figura 15.

Percebeu-se que a água afluyente ácida (pH de 6,4) foi mais favorável à adsorção de MC-LR pelo carvão testado, apesar da pouca diferença de eficiência de remoção. Colunas de CAG monitorados com água de estudo afluyente com pH de 6,4 apresentaram eficiência de remoção média de MC-LR de 96,35%, enquanto que eficiência de remoção média de 94,97% foi alcançada a partir dos tratamentos monitorados com água de estudo afluyente com pH de 8,3.

Concentrações acima do VMP determinado na Portaria 2914/11 para microcistinas ($1\mu\text{g.L}^{-1}$), foram detectadas em amostras EF coletadas em 15 horas de T3 e T7. Vale ressaltar que T3 e T7 eram constituídos por colunas operadas com menor tempo de contado (60s) e maior concentração afluyente ($29,26\mu\text{g.L}^{-1}$).

5.3 CÁLCULO DA CAPACIDADE ADSORTIVA E TAXA DE USO

Durante a adsorção em carvão ativado, a retenção do adsorvato no material adsorvente se mantém constante ao longo do tempo até que os poros comecem a saturar e o transpasse do contaminante orgânico ao qual se pretende eliminar acontece. Quando ocorre o transpasse, significa dizer que o sistema de tratamento produz efluente com concentração do composto orgânico além do nível máximo regulamentado.

A adsorção de MC-LR pelo CAG de casca de coco de dendê mostrou-se bastante eficiente, visto que em T1, T2, T4, T5, T8 não foi verificada a ocorrência concentrações de MC-LR acima do VMP determinado na Portaria 2914/11 para microcistinas ($1\mu\text{g.L}^{-1}$) nas concentrações médias efluentes das colunas operadas a partir desses tratamentos. No entanto, concentrações acima de $1\mu\text{g.L}^{-1}$ foram detectadas na média de amostras EF coletadas em 15 horas de T3 e T7. Vale ressaltar que T3 e T7 eram constituídos por colunas operadas com menor tempo de contado (60s) e maior concentração afluyente ($29,26\mu\text{g.L}^{-1}$).

A ocorrência do transpasse de MC-LR em colunas operadas a partir dos tratamentos 3 e 7 suscitou ao cálculo da capacidade adsortiva do CAG de casca de coco de dendê. A capacidade adsortiva obtida foi de $21,2\mu\text{g.g}^{-1}$ e significa dizer que cada grama do CAG utilizado foi capaz de adsorver $21,2\mu\text{g}$ de MC-LR nas condições do experimento.

A taxa de uso é um parâmetro de projeto muito importante pois, a partir dela, é possível estimar o tempo de serviço do CAG utilizado numa ETA, isto é, o tempo até que o VMP

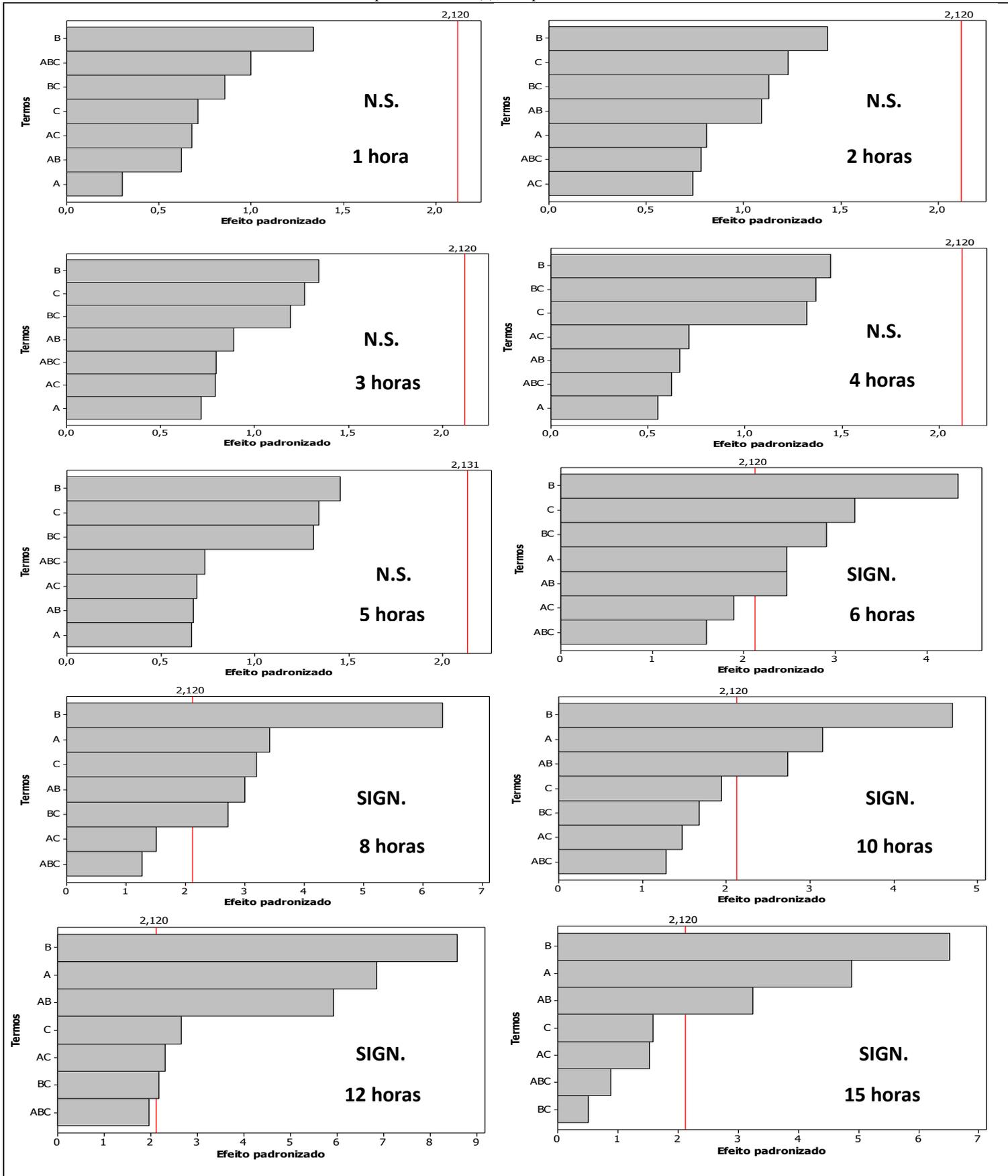
determinado pela portaria de potabilidade para microcistinas seja atingido no efluente dos sistemas adsorptivos. Além disso, fornece informação para o cálculo da taxa no qual o carvão será esgotado em escala real e o conhecimento da frequência na qual o CAG deve ser substituído ou regenerado. A taxa de uso do CAG utilizado foi calculada e o valor de $1,33\text{g.L}^{-1}$ foi obtido.

5.4 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

Foi realizada análise estatística para avaliar a influência da concentração de MC-LR afluente, pH da água de estudo afluente e tempo de contato entre o adsorvato e o adsorvente no processo de adsorção de MC-LR ao longo do monitoramento das 24 colunas de CAG.

Na Figura 9 são apresentados os diagramas de pareto dos efeitos padronizados para a remoção de MC-LR com nível de significância de 95% para estimativa dos efeitos principais em valor absoluto do planejamento fatorial completo 2^3 . A magnitude de cada efeito é representada pelas colunas e pela linha transversal às colunas, que indica a relevância estatística de cada efeito na adsorção de MC-LR.

Figura 17. Efeito da influência da concentração inicial de MC-LR ($\mu\text{g.L}^{-1}$); tempo de contato (s); pH ao longo das 15 horas de operação dos 8 sistemas de tratamento. Legenda: NS= Não significativo; S= Significativo; A= Concentração Inicial ($\mu\text{g.L}^{-1}$); B= Tempo de contato (s); C= pH.



Até as 3 horas, em todas as amostras coletadas, a concentração de MC-LR estava abaixo do limite de detecção do método de imunoenensaio do tipo ELISA ($0,16\mu\text{g.L}^{-1}$), no entanto, essas concentrações não são consideradas nulas para MC-LR, como observado na condição do controle do kit ELISA. As baixas concentrações de MC-LR verificadas nas amostras EF coletadas nas primeiras horas de monitoramento de todos os tratamentos, denota a um comportamento uniforme dos sistemas monitorados. Em consequência disso, a partir dos gráficos de pareto gerados, pode-se verificar que os fatores concentração afluente de MC-LR e tempo de contato não exerceram influência significativa na adsorção da toxina até a quinta hora de monitoramento (ver Figura 16).

A maior disponibilidade de sítios de adsorção vagos nas primeiras horas de operação dos sistemas, tornando a difusão das moléculas de MC-LR nos poros das partículas de CAG fácil e independente da concentração do adsorvato pode ser apontada como responsável pela ausência de significância dos fatores concentração afluente de MC-LR e tempo de contato nas primeiras horas de monitoramento.

Vale ressaltar que o tempo de contato foi o fator que exerceu mais influência desde a primeira hora de monitoramento, porém, influência significativa somente foi observada a partir das 6 horas e essa característica foi mantida até o final do monitoramento (ver Figura 16).

A relevância estatística do fator concentração inicial de MC-LR no processo adsortivo aumentou ao longo do monitoramento e a partir das 6 horas passou a ser significativa (ver figura 16). A partir das oito horas, a concentração inicial de MC-LR mostrou ser o segundo fator mais influente no processo de adsorção, dentre os analisados, mantendo esse comportamento até as 15 horas de monitoramento.

Da mesma forma que ocorreu com os outros fatores (concentração inicial de toxina e tempo de contato), o pH passou a ser significativo somente a partir das 6 horas de monitoramento. Nos gráficos de pareto correspondentes a 8 e 12 horas de monitoramento, o pH manteve-se exercendo influência estatisticamente significativa, porém em 10 e 15 horas de monitoramento, essa influência não foi verificada, evidenciando a pouca influência desse fator ao longo do monitoramento das colunas.

O pH foi o fator que menos influenciou isoladamente na adsorção de MC-LR. Estes resultados não estão de acordo com a literatura que indica que, o valor do pH da solução é um dos fatores chave do controle da adsorção de eletrólitos e polieletrólitos orgânicos, uma vez

que designa as interações eletrostáticas. O valor do pH da solução determina a carga superficial do carvão e a dissociação ou protonação do eletrólito, exercendo influência direta na adsorção (MORENO-CASTILLA, 2004). Para MC-LR, melhor eficiência de adsorção da molécula em carvões ativados é observada em pH ácido da solução (SATHISHKUMARA et al., 2010).

A adsorção de MC-LR se mostra mais eficiente em pH ácido pois, a repulsão eletrostática entre sítios de adsorção vizinhos de carga negativa, provocam a diminuição do estiramento da molécula de MC-LR com a diminuição do pH (HUANG et al., 2007). Como resultado, as moléculas de MC-LR podem se tornar menores em tamanho devido ao efeito bobina, que reduz as dimensões moleculares, facilitando a adsorção da molécula. Além disso, pontes de hidrogênio também podem ser formadas entre as moléculas e a superfície do carvão em pH baixo, levando ao aumento da adsorção de MC-LR (SATHISHKUMARA et al., 2010).

A reduzida significância do parâmetro pH observada estatisticamente no presente estudo, pode estar relacionada a pequena diferença entre os valores de pH testados (6,4 e 8,3).

6 CONCLUSÕES

- O carvão utilizado apresentou volume de poros e granulometria de acordo com os carvões geralmente aplicados na potabilização de águas e valor de pH_{pcz} favorável à adsorção de MC-LR nas condições dos experimentos. Esses fatores podem ter sido fundamentais para a remoção da toxina.
- A adsorção por CAG de casca de coco de dendê se mostrou um processo eficiente para a remoção de MC-LR, visto que eficiências médias de remoção da toxina acima de 88,8 % foram observadas em todos os tratamentos realizados, sendo os tratamentos 3 e 7 os que apresentaram menores eficiências de remoção, correspondendo a 92,4 e 88,8% de remoção média de MC-LR, respectivamente.
- Seis dos oito tratamentos realizados garantiram efluente com concentração inferior ao VMP de 1 µg.L⁻¹ exigido pela Portaria 2914/11 até as 15 horas de monitoramento. Em T3 e T7 foram verificadas concentrações médias de MC-LR efluentes acima de 1 µg.L⁻¹ na décima quinta hora de monitoramento. Vale ressaltar que esses tratamentos apresentavam concentração afluenta de MC-LR de 29,26 µg.L⁻¹ e tempo de contato de 60 s. Nessas condições, que representavam as piores condições experimentais, a capacidade adsortiva e a taxa de uso do CAG foram de 21,2 µg.g⁻¹ e 1,33g.L⁻¹ respectivamente. A capacidade adsortiva e a taxa de uso calculadas foram consideradas elevadas, o que reforça a alternativa da aplicação do CAG de casca de coco de dendê na adsorção de MC-LR.
- A partir da aplicação da ferramenta estatística, foi verificado que o tempo de contato foi o fator que mais influenciou isoladamente no processo de adsorção de MC-LR, seguido pelo fator concentração afluenta de MC-LR. O pH foi o fator que menos exerceu influência isoladamente na adsorção da toxina.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, S. M. F. O.; GOMES, L. N. L. Técnicas de manejo e pré-tratamento no manancial. In: PÁDUA, V. L. **Contribuição ao estudo da remoção de cianobactérias e microcontaminantes orgânicos por meio de técnicas de tratamento de água para consumo humano**. Rio de Janeiro: ABES, 2006.

BANSAL, R. C.; GOYAL, M. **Activated carbon adsorption**. London, Taylor and Francis Group, p. 351-353, 2005.

BRASIL. **Portaria nº 2914 de 12 de dezembro do Ministério da Saúde**. *Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade*. Diário Oficial da União; Poder executivo, Brasília, DF, 14 dez. 2011, Seção 1, p.39-46, 2011.

BAÇAOU, A. S.; YAACOUBI, Y.; DAHBI, A.; BENNOUNA, C.; LUU, R. P. T.; MALDONADO-HODAR, F. J.; RIVERA-UTRILLA, J.; MORENO-CASTILLA, C. Optimization of conditions for the preparation of activated carbons from olive-waste cakes. **Carbon**, n. 39, p. 425 - 432, 2001.

BRADY, R. D. Activated carbon processes. In: **Water Treatment Plant Desind**. AWWA e ASCE, California, EUA, p. 377 - 416, 1997.

CODD, G. A. Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. **Ecological Engineering**, v. 16, p. 51 - 50, 2000.

CHOW, C. W. K.; DRIKAS, M.; HOUSE, H.; BURCH, M. D.; VELZEBOER, R. M. A. The impact of conventional water treatment processes on cells of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. **Water Research**, v. 33, n. 15, p. 3253 - 3262, 1999.

CHOW, C.W.K.; HOUSE, J.; VELZEBOER, R.M.A.; DRIKAS,M.; BURCH, M.D. e STEFFENSEN, D.A. The effect os ferric chloride flocculation on cyanobacterial cells. **Water Research**, v. 32, n. 3, p. 808-814, 1998.

CALIJURI, M. C.; ALVES, M. S. A.; SANTOS, A. C. A. **Cianobactérias e cianotoxinas em águas continentais**. São Carlos: Rima, p. 25 – 46, 2006.

CHRISTOPHER, W.K.; CHOW; DRIKAS, M; JENNY HOUSE, MICHAEL D.B. RENATE M.A.VELZEBOER. The impact of conventional water treatment process on cells of the cyanobacterium *Microcystis Aeruginosa*. **Wat. Res.** v. 33, n. 15, p. 3253-3262, 1999.

CARMICHAEL, W. W. Cyanobacteria secondary metabolites – The Cyanotoxins. **J. Appl. Bact.**,v. 72, p. 445 - 459, 1992.

CARMICHAEL, W. W. The toxins of Cyanobacteria. **Scientific American**; 270 (1), p. 78 - 86, 1994.

CARMICHAEL, W. W. Health effects of toxin-producing cyanobacteria: The Cyano HABs. Human and Ecological. **Risk Assessment**, v. 75, p. 1393 – 1407, 2001.

CHORUS, I. e BARTRAM, J. **Toxic cyanobacteria in water, A guide to public health consequences, monitoring and management, E and FN Spon on behalf of WHO**. London. p. 416, 1999.

COSTA, I. A. S.; AZEVEDO, S. M. F. O.; SENNA, P. A. C.; BERNARDO, R. R.; COSTA, S. M.; CHELLAPPA, N. T. Occurrence of toxin-producing cyanobacteria blooms in a brazilian semiarid reservoir. **Braz. J. Biol**, v. 66, p. 211 - 219, 2006.

Di BERNARDO, L.; MINILLO, A.; DANTAS, A.D.B. **Florações de Algas e de Cianobactérias: Suas Influências na Qualidade da Água e nas Tecnologias de Tratamento**. São Carlos: Editora LDiBe, 2010.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. ed 2^a. São Carlos: Rima, p. 792, 2005.

DIXON, M. B; FALCONETC, C.; HO, L.; CHOW, C. W. K.; O'NEILL, B. K.; NEWCOMBE, G. Removal of cyanobacterial metabolites by nanofiltration from two treated waters. **Journal of Hazardous Materials**, n. 188 p- 288-295, 2011.

DRIKAS, M.; CHOW; C. W. K.; HOUSE, J.; BURCH, M. D. Using coagulation, flocculation, and settling to remove toxin cyanobacteria. **Journal American Water Work Association**, v. 93, n. 2, p. 100-111, 2001.

DRIKAS, M., DIXON, M.; MORRAM, J. Removal of MIB and gosmin using granular activated carbon with and without MIEX pre-treatment. **Water Research**. v. 43, p. 5151-5159, 2009.

FALCONER, I R. et al., Safe levels and safe practices. In: **Chorus I, Bartram J, editors. Toxic Cyanobacteria in Water**. London: E and FN Spon, 1999.

HART, J.; FAWELL, J.K.; CROLL, B. The fate of both intra- and extracellular toxins during drinking water treatment. **Water Supply**, v. 16, p. 611-616, 1998.

HEISLER, J.; GLIBERT, P.M.; BURKHOLDER, J.M.; ANDERSON, D.M. COCHLAN, W. DENNISON, W.C. DORTCH, Q.; GOBLER, C.J.; HEIL, C.A. HUMPHRIES, E. LEWITUS, A; MAGNIEN, R.; MARSHALL, H.G.; SELLNER, K.; STOCKWELL, D.A. STOECKER, D.K.; SUDDLESON, M. Eutrophication and harmful algal blooms: A scientific consensus. **Harmful Algae**, v. 8, p. 3-13, 2008.

HOEGER, S.J.; HITZFELD, B.C.; DIETRICH, D.R. Occurrence and elimination of cyanobacterial toxins in drinking water treatment plants. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 203, p. 231-242, 2004.

HO, L.; LAMBLING, P.; BUSTAMANTE, H.; DUKER, P.; NEWCOMBE, G. Application of powdered activated carbon for the adsorption of cylindrospermopsin and microcystin toxins from drinking water supplies. **Water Research**, v. 45, p. 2954 - 2964, 2011.

HIMBERG, K., KEIJOLA, AM., HIISVIRTA, L., PYYSAALO, H. e SIVONEN, K. The effect of water treatment process from *Microcystis* and *Oscillatoria* cyanobacteria: a laboratory study. **Water Research**, v. 23, n. 8, p. 979-984, 1989.

HUANG, W.J.; CHENG, B.L.; CHENG, Y.L. Adsorption of microcystin-LR by three types of activated carbon. **Journal of Hazardous Materials**. n.141, p. 115–122, 2007.

HUMPAGE, A.R.; FALCONER, I.R. Microcystin-LR and liver tumor promotion: effects on cytokinesis, ploidy, and apoptosis in cultured hepatocytes. *Environ. Toxicol.* v. 14 n. 1 p. 61-75. 1999.

KURODA, E. K.; ALBUQUERQUE JR, C. E.; DI BERNARDO, L.; TROFINO, C. J. Caracterização e escolha do tipo de carvão ativado a ser empregado no tratamento de águas contendo microcistinas. In: 23° **Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, Campo Grande. **Anais eletrônicos I-072**, p.1 - 9, 2005.

KOTAK, B.G.; LAM, A.K.Y.; PREPAS, E.F. Variability of the hepatotoxin microcystin-LR in hypereutrophic drinking water lakes. **Journal of Phycology**. V. 31, p. 248-263. 1995

LAMBERT, T. W., HOLMES, C. F. B., HRUDEY, S. E. Adsorption of microcystin-LR by activated carbon and removal in full scale water treatment. **Water Research**, v. 30, n. 6, p. 1411-1422, 1996.

MOLICA, R.; AZEVEDO, S. M. F. O. Ecofisiologia de cianobactérias produtoras de cianotoxinas. **Oecol. Bras**, v. 13, n. 2, p. 229 - 246, 2009.

MORENO-CASTILLA, C. Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon materials. **Carbon**. v. 42, p. 83-94, 2004.

MULLER, C. C.; RAYA-RODRIGUES, M. T.; CYBIS, L. R. Adsorção em carvão ativado em pó para remoção de microcistina de água de abastecimento público. **Eng. Sanit. Ambient.** v. 14, n. 1, p. 28-38, 2009.

NEWCOMBE, G; DIXON, D. Interface Science in Drinking Water Treatment. In: **Removal of natural metabolites using activated carbon organic material and algal**. Australian Water Quality Centre, a partner in the Cooperative Research Centre for Water Quality and Treatment, PMB 3, Salisbury, South Australia, Australia: 133 – 153, 2006.

ORR, P. T.; JONES, G. J., HAMILTON, G. R. Removal of saxitoxins from drinking water by granular activated carbon, ozone and hydrogen peroxide - implications for compliance with the Australian drinking water guidelines. **Water Research**, v. 38, p. 4455 – 4461, 2004.

PENDLETON, P.; SCHUMANN, R.; WONG, S. Microcystin-LR Adsorption by Activated Carbon. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 240, p. 1 – 8, 2001.

OLIVEIRA, A. C. P.; AZEVEDO, S. M. F.O. Avaliação da capacidade de adsorção e saturação de microcistinas por carvão ativado granular utilizado em sistema de purificação de água de centro de diálise. **J. Bras. Nefrol.** V. 26, n. 3, 2004.

ROSET. J.; AGUAYO, S.; MUÑOZ, M.J. Detecction de cianobacterias y toxinas. Uma revisión. **Rev. Toxicología**, v. 18 p. 65-71. 2001

SANT'ANNA, C. L., AZEVEDO, M. T. P. Contribution to the knowledge of potentially toxic cyanobacteria from Brazil. **Nova Hedwigia**, v. 71, p. 359 – 385, 2000.

SANT'ANNA, C.; AZEVEDO, M. T. P.; WERNER, V. R.; DOGO, C. R.; RIOS, F. R.; CARVALHO, L. R. Review of toxic species of cyanobacteria in Brasil. **Algogenical Studies**, v. 126, p. 359 - 385, 2008.

SATHISHKUMAR, M.; PAVAGADHI, S.; VIJAYARAGHAVAN, K.; BALASUBRAMANIAN, S. L. Experimental studies on removal of microcystin-LR by peat. **Journal of Hazardous Materials**. n.184, p. 417–424, 2010.

SNOEYINK, V. Adsorption of organic compounds. In: **Water Quality and tratament: A Handbook of Community Water Supplies**.Mc Graw Hill, Nova York, EUA: p. 781 - 867, 1990.

SIVONEN, K. E JONES, G. Cyanobacterial toxins. In: **Chorus, I.; Bartram, J. (ed.). Toxic cyanobacteria in water**. London: E and FN Spon, p. 41 - 112, 1999.

TUNDISI J.G.; MATSUMARA-TUNDISI. **Limnologia**. 2008.

TAKENAKA, S. Effects of Lcysteine and reduced glutathione on the toxicities of microcystin-LR: the effect for acute liver failure and inhibition of protein phosphatase 2A activity. **Aquat. Toxicol.** v. 48. n. 1. p. 65-68, 2000.

UENO, Y.; MAKITA, Y.; NAGATA, S.; TSUTSUMI, T.; YOSHIDA, F.; TAMURA, S.I.; SEKIJIMA, M.; TASHIRO, F.; HARADA, T.; YOSHIDA, T. No chronic oral toxicity of a low dose of microcystin-LR, a cyanobacterial hepatotoxin, in female BALB/c mice. **Environ. Toxicol.** v. 14. n. 1. p. 45-55, 1999.

WANG, H.; HO, L.; LEWIS, M. D.; BROOKES, J. D.; NEWCOMBE, G. Discriminating and assessing adsorption and biodegradation removal mechanisms during granular activated carbon filtration of microcystin toxins. **Water Research**, v. 41, p. 4262 – 4270, 2007.

WESTRICK, J.A.; SZLAG, D.C.; SOUTHWELL, B.J.; SINCLAIR, J. A review of cyanobacteria and cyanotoxins removal/ inactivation in drinking water treatment. **Anal. Bioanal. Chem.** v. 397, p. 1705-1714. 2010.

YUAN, M.; CARMICHAEL, W. W.; HILBORN, E. D. Microcystin analysis in human sera and liver from human fatalities in Caruaru, Brazil 1996. **Toxicon**, v. 48, p. 627 – 640, 2006.

YOO, R.S.; CARMICHAEL, W.W.; HOEHN, R.C. HRUDEY, S.E. Cyanobacterial (blue-green algal) toxins: a resource guide. **AWWA Research Foundation and the American Water Works Association**, 229 p., 1995.