



**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**

**ALUÍZIO GONÇALVES DA SILVA**

**AVALIAÇÃO DO pH DE OXIDAÇÃO DO PROCESSO FENTON NA REMOÇÃO DE  
MICROCISTINA-LR DE ÁGUA DE ABASTECIMENTO**

**CAMPINA GRANDE**  
**DEZEMBRO/2015**

**ALÚZIO GONÇALVES DA SILVA**

**AVALIAÇÃO DO pH DE OXIDAÇÃO DO PROCESSO FENTON NA REMOÇÃO DE  
MICROCISTINA-LR DE ÁGUA DE ABASTECIMENTO**

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:** Prof. Dr. WILTON SILVA LOPES

**CO ORIENTADOR:** Prof. Dr. JOSIVANDRO DO NASCIMENTO SILVA

**CAMPINA GRANDE**

**DEZEMBRO/2015**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na 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.

S586a Silva, Aluizio Gonçalves da.  
Avaliação do pH de oxidação do processo Fenton na remoção de Microcistina-LR de água de abastecimento [manuscrito] / Aluizio Gonçalves da Silva. - 2015.  
102 p. : il. color.

Digitado.  
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2015.  
"Orientação: Prof. Dr. Wilton Silva Lopes, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa".  
"Co-Orientação: Prof. Dr. Josivandro do Nascimento Silva".

1. Reagente Fenton. 2. Microcistina-LR. 3. Sedimentação.  
4. Potabilização da água. I. Título.

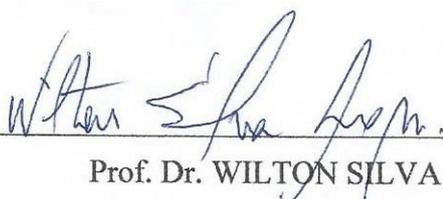
21. ed. CDD 363.739 4

**ALÚZIO GONÇALVES DA SILVA**

**AVALIAÇÃO DO pH DE OXIDAÇÃO DO PROCESSO FENTON NA REMOÇÃO DE  
MICROCISTINA-LR DE ÁGUA DE ABASTECIMENTO**

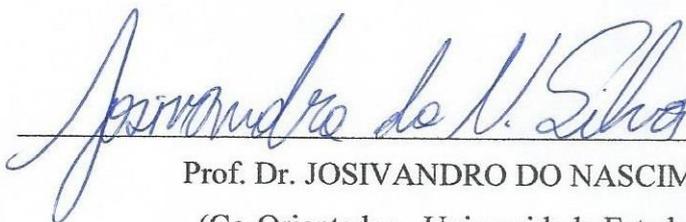
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 24 DE NOVEMBRO DE 2015

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.



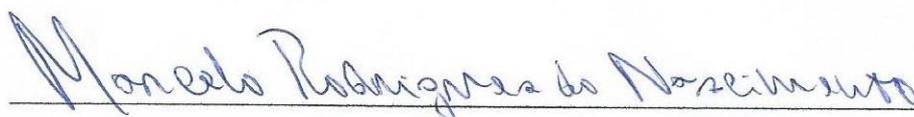
Prof. Dr. WILTON SILVA LOPES

(Orientador - Universidade Estadual da Paraíba)



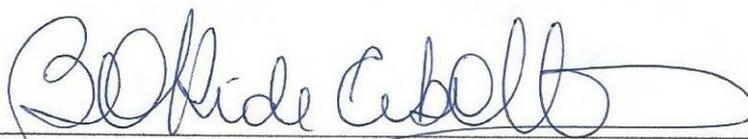
Prof. Dr. JOSIVANDRO DO NASCIMENTO SILVA

(Co-Orientador - Universidade Estadual da Paraíba)



Prof. Dr. MARCELO RODRIGUES DO NASCIMENTO

(Examinador Externo - Instituto Federal da Paraíba)



Profa. Dra. BEATRIZ SUSANA OVRUSKI DE CEBALLOS

(Examinadora Interna - Universidade Estadual da Paraíba)

## **Dedicatória**

Dedico este trabalho à minha família, em especial, à minha mãe pelo seu amor, exemplo e eterno apoio. A ela devo as minhas conquistas e, acima de tudo, a própria vida.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pelo seu poder infinito e sabedoria por ter concedido a plenitude de viver, amar e sonhar.

A minha família pelo apoio, compreensão e ensinamentos que levarei por toda a vida.

Ao meu orientador professor Wilton Silva Lopes pela contribuição, paciência, incentivo e oportunidade oferecida.

A professora Beatriz Ceballos pelos ensinamentos, encorajamento, estímulo, compreensão que teve apoiando sempre com sua amizade.

A Josivandro do Nascimento Silva pelos ensinamentos, conselhos, palavras de apoio, incentivo e paciência que demonstrou durante essa jornada.

Aos meus amigos e colegas do mestrado que contribuíram direta ou indiretamente Eyre Katrine, Dayane Andrade, Jessyca Freitas, Andreza Miranda, Virgínia Albuquerque, Tércio José, Erivana Karlene, Vanderley Nascimento, Natassya, Edilma Bento, Geovânia Cordeiro, Yohanna klafke, Paula Mikácia e Larissa Barreto pelo compartilhamento de experiências, apoio, amizade e encorajamento.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba e ao secretário Josemberg Nascimento Moura por sempre se dispor e ajudar.

À CAPES pela concessão da bolsa e à FINEP por ter subsidiado a pesquisa.

## RESUMO

Florações de algas e cianobactérias tóxicas em mananciais destinados ao abastecimento humano tem sido relatado em vários países nas últimas décadas devido aos impactos e ações do homem nos mais diversos ecossistemas do planeta. A presença de linhagens de cianobactérias produtoras de cianotoxinas tem efeitos negativo nos corpos hídricos em particular nos destinados ao abastecimento público devido ao efeito nocivo dessas substâncias à saúde humana e de animais. Em geral as cianotoxinas não são removidas pelas tecnologias convencionais de potabilização de água. O presente trabalho buscou avaliar a eficiência do processo de oxidação avançada com o reagente Fenton na oxidação da microcistina-LR de água destinada ao abastecimento público utilizando as etapas de tratamento convencional de coagulação, floculação e sedimentação. A água de estudo foi preparada com adição de cultivo de células lisadas de *Microcystis aeruginosa* com água potável desclorada. Foram realizadas as etapas de oxidação, coagulação, floculação e sedimentação em *JarTest* programado com tempo de mistura rápida de 10 s, gradiente de mistura rápida  $1000\text{ s}^{-1}$ , tempo de floculação 20 min, gradiente de floculação  $30\text{ s}^{-1}$  e velocidade de sedimentação de  $1,4\text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$ . Foram testados diferentes faixas de pH (2,0, 4,5, e 7,0) e diferentes concentrações do reagente Fenton na proporção de 1/3 de  $\text{H}_2\text{O}/\text{Fe}^{2+}$ . Os resultados obtidos mostraram a oxidação da microcistina-LR nos tratamentos com pH 2,0; 4,5; e 7,0. Através da varredura dos íons no espectrômetro de massas foi possível identificar os picos de massa/carga (m/z) dos fragmentos possibilitando a confirmação da oxidação através da presença dos subprodutos da oxidação. Além disso, após a sedimentação o reagente Fenton possibilitou a remoção significativa sendo tratamento T2 no tempo de 15 minutos o melhor por abranger percentuais de remoção de turbidez 0,07 uT, cor verdadeira 2,61 uH, COD 7,7 mg.L e MC-LR 0,07  $\mu\text{g}\cdot\text{L}$ .

**Palavras chave:** Reagente Fenton. Microcistina-LR. Coagulação/floculação. Sedimentação.

## ABSTRACT

Algal blooms and toxic cyanobacteria in fountains intended for human supply has been reported in many countries in recent decades due to impacts and human actions in the most diverse ecosystems on the planet. The presence of lineages of cyanobacteria producing cyanotoxins has negative effects on water bodies in particular in the intended to the public supply due to the harmful effect of these substances on human health and animals. In general, cyanotoxins are not removed by conventional purifying water technologies. This study aimed to evaluate the efficiency of advanced oxidation process with the Fenton reagent in the oxidation of microcystin-LR water for public supply using conventional treatment steps coagulation, flocculation and sedimentation. The study water was prepared by adding the lysed cell cultivation *Microcystis aeruginosa* dechlorinated with potable water. Oxidation steps were performed, coagulation, flocculation and sedimentation *JarTest* programmed with rapid mixing time of 10 s, rapid mixing gradient of  $1000\text{ s}^{-1}$ , flocculation time 20 min, flocculation gradient  $30\text{ s}^{-1}$  and sedimentation velocity  $1,4\text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$ . Different pH ranges were tested (2,0, 4,5 and 7,0) and different concentrations of the Fenton reagent in the proportion of  $1/3\text{ H}_2\text{O}/\text{Fe}^+$ . The obtained results showed the oxidation of microcystin-LR in the treatments with pH 2,0; 4,5; and 7,0. By scanning the ions in the mass spectrometer it was possible to identify the peaks of mass/charge (m/z) fragments of enabling confirmation of oxidation by the presence of oxidation by products. Furthermore, after sedimentation the Fenton reagent enables significant removal being treatment T2 in time of 15 minutes the best for include percentage removal of turbidity 0,07 uT, true color 2,61 uH, COD 7,7 mg.L and MC-LR 0,07  $\mu\text{g}\cdot\text{L}$ .

**Keywords:** Reagent Fenton. Microcystin-LR. Coagulation/flocculation. Sedimentation.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b>	Estrutura geral das neurotoxinas: a) anatoxina-a e b) anatoxina-a (S).....	21
<b>FIGURA 2</b>	Estrutura geral das saxitoxinas.....	22
<b>FIGURA 3</b>	Estrutura geral da nodularina.....	24
<b>FIGURA 4</b>	Estrutura geral da cilindrospermopsina.....	24
<b>FIGURA 5</b>	Estrutura geral da microcistina.....	25
<b>FIGURA 6</b>	Configuração esquemática da dupla camada elétrica.....	35
<b>FIGURA 7</b>	Esquema da repicagem de inóculos.....	46
<b>FIGURA 8</b>	Cultivo de <i>Microcystis aeruginosa</i> : a) botijão de 20 litros e b) cepas em tubos de ensaio.....	47
<b>FIGURA 9</b>	Sistema experimental: <i>JarTest</i> da marca Poli Control.....	51
<b>FIGURA 10</b>	Curva analítica para determinação do COD .....	54
<b>FIGURA 11</b>	Curva analítica para quantificação da MC-LR.....	57
<b>FIGURA 12</b>	Carbono orgânico dissolvido remanescente após a oxidação e sedimentação.....	60
<b>FIGURA 13</b>	Turbidez remanescente após a etapa de sedimentação.....	62
<b>FIGURA 14</b>	Cor aparente remanescente após a etapa de sedimentação.....	63
<b>FIGURA 15</b>	Cor verdadeira remanescente após a etapa de sedimentação.....	64
<b>FIGURA 16</b>	Diagrama de Pareto para Turbidez com tempo de sedimentação de 15 min.....	67
<b>FIGURA 17</b>	Superfície de resposta para Turbidez remanescente.....	69
<b>FIGURA 18</b>	Superfície de resposta para Turbidez com tempo de sedimentação de 15 min.....	70

<b>FIGURA 19</b>	Diagrama de Pareto para cor aparente com tempo de sedimentação de 15 min.....	71
<b>FIGURA 20</b>	Superfície de resposta para cor aparente com tempo de sedimentação de 15 min.....	72
<b>FIGURA 21</b>	Superfície de resposta para cor aparente com tempo de sedimentação de 15 min.....	73
<b>FIGURA 22</b>	Espectro de massas para a variante MC-LR obtido no modo SRM com energia de colisão zero a partir da infusão de uma solução padrão.....	75
<b>FIGURA 23</b>	Espectro de massas obtido no modo fullscan para MC-LR.....	75
<b>FIGURA 24</b>	Cromatograma para o padrão de MC-LR 100 ng.mL <sup>-1</sup> obtida no modo SIM.....	76
<b>FIGURA 25</b>	Possível rota de degradação da MC-LR.....	78
<b>FIGURA 26</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T1.....	79
<b>FIGURA 27</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T2.....	80
<b>FIGURA 28</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T3.....	80
<b>FIGURA 29</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T4.....	81
<b>FIGURA 30</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T5.....	81
<b>FIGURA 31</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T6.....	82
<b>FIGURA 32</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T7.....	82
<b>FIGURA 33</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T8.....	83
<b>FIGURA 34</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T9.....	83
<b>FIGURA 35</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T10.....	84
<b>FIGURA 36</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T11.....	84
<b>FIGURA 37</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T12.....	85

<b>FIGURA 38</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T13.....	85
<b>FIGURA 39</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T14.....	86
<b>FIGURA 40</b>	Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T15.....	86

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b>	Principais variantes das saxitoxinas mas estudadas.....	23
<b>TABELA 2</b>	Principais variáveis da microcistina.....	26
<b>TABELA 3</b>	Principais gêneros de cianobactérias potencialmente toxigênicas.....	30
<b>TABELA 4</b>	Classificação típica dos principais Processos Oxidativos Avançados.....	38
<b>TABELA 5</b>	Utilização dos POAs na degradação de microcistinas.....	39
<b>TABELA 6</b>	Potencial de oxidação padrão de oxidantes comuns.....	41
<b>TABELA 7</b>	Relação do pH da solução e as espécies de ferro.....	42
<b>TABELA 8</b>	Soluções do meio de cultura ASM-1.....	48
<b>TABELA 9</b>	Fatores e variáveis para executar a matriz de planejamento.....	49
<b>TABELA 10</b>	Matriz de planejamento Box-Behnken.....	50
<b>TABELA 11</b>	Parâmetros utilizados nos ensaios de oxidação, coagulação, floculação e sedimentação.....	51
<b>TABELA 12</b>	Parâmetros analisados através do APHA e seu respectivo método.....	53
<b>TABELA 13</b>	Característica do método utilizado para determinação do carbono orgânico.....	54
<b>TABELA 14</b>	Parâmetro utilizados nas análises por cromatografia.....	55
<b>TABELA 15</b>	Descrição dos parâmetros utilizados na análise de CLAE/EM.....	56
<b>TABELA 16</b>	Caracterização da água de estudo.....	58
<b>TABELA 17</b>	Microcistina-LR remanescente após a oxidação.....	59

<b>TABELA 18</b>	Características físicas e químicas da água tratada após 15 minutos de sedimentação.....	65
<b>TABELA 19</b>	Análise de variância para Turbidez com tempo de sedimentação de 15 minutos.....	68
<b>TABELA 20</b>	Análise de variância para cor aparente com tempo de sedimentação de 15 min.....	72
<b>TABELA 21</b>	Principais fragmentos identificados com sua respectiva m/z.....	77

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
2.1	Gerais.....	15
2.2	Específicos.....	15
<b>3.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>16</b>
3.1	Eutrofização dos corpos hídricos.....	16
3.2	Cianobactérias e cianotoxinas.....	17
3.3	Detecção e quantificação de cianotoxinas.....	31
3.4	Tecnologias de tratamento de água e remoção de cianotoxinas.....	32
3.4.1	Coagulação e floculação.....	33
3.4.2	Sedimentação.....	36
3.4.3	Filtração rápida.....	36
3.4.4	Desinfecção.....	37
3.5	Processos Oxidativos Avançados (POAs) no Tratamento de Água.....	37
3.5.1	Reação Fenton.....	40
<b>4.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>45</b>
4.1	Local da pesquisa e descrição geral.....	45
4.2	Cultivo de <i>Microcystis aeruginosa</i> .....	46
4.3	Extração da MC-LR e preparação da água de estudo (AE).....	48
4.4	Planejamento Experimental.....	49
4.5	Descrição da execução dos experimentos.....	50
4.6	Parâmetros de análises.....	53

4.6.1	Análises pelo <i>Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater</i> .....	53
4.6.2	Análise de carbono orgânico dissolvido.....	53
4.6.3	Cromatografia Iônica.....	54
4.6.4	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.....	55
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>58</b>
5.1	Caracterização da água de estudo.....	58
5.2	Ensaio de oxidação.....	59
5.3	Definição do tempo de sedimentação.....	60
5.3.1	Carbono orgânico dissolvido (COD).....	60
5.3.2	Turbidez.....	61
5.3.3	Cor aparente.....	63
5.3.4	Cor verdadeira.....	64
5.4	Características da água tratada.....	64
5.5	Tratamento estatístico dos dados.....	67
5.5.1	Turbidez.....	67
5.5.2	Cor aparente.....	70
5.6	Quantificação da Microcistina-LR.....	74
5.7	Subprodutos da oxidação da Microcistina-LR.....	76
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>88</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>90</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O aumento das atividades industriais, agrícolas e o lançamento de compostos de nitrogênio e fósforo, nutrientes importantes para os produtores primários, proveniente de efluentes domésticos e industriais em reservatórios tem acentuado nos últimos anos o processo da eutrofização que afeta ambientes lênticos e lóticos ao redor do mundo. A contaminação dos açudes por rejeitos oriundos de atividades antrópicas é atualmente um dos maiores fatores de risco para a saúde humana, especialmente em países em desenvolvimento que apresentam condições precárias de saneamento básico e suprimento de água potável.

Os açudes (reservatórios do semiárido) se comportam hidraulicamente como ambientes lênticos devido ao tempo longo de retenção de água. Estes são a principal fonte de água para abastecimento da população nordestina, sendo grave o fato de, nas últimas décadas, terem recebido acúmulo de poluentes devido ao crescimento acelerado da população e consequente eutrofização passando a apresentarem acúmulos ou florescimento frequentes de fitoplâncton.

A biomassa fitoplanctônica é constituída por florações ou “*blooms*” de cianobactérias e algas junto com macrófitas, que em seu conjunto alteram a qualidade da água armazenada ocasionando prejuízos à biota natural e aos homens e animais que usam essas águas. A produção de biotoxinas e de substâncias que causam gosto, odor e turbidez, dificulta o tratamento da água que deve remover maiores quantidades de material orgânico o que aumenta os custos operacionais do tratamento da água por estar contaminada (ESTEVES, 2011; DUAN *et al.*, 2014).

As florações de cianobactérias mais frequentes em reservatórios eutrofizados tornaram-se um grave problema ambiental e de saúde pública principalmente pela produção de cianotoxinas. Estas são endotoxinas que ficam no interior das células de cianobactérias mas com a senescência e lise das células são liberadas ao ambiente aquático e ficam dissolvidas na água, seja doce, salgada ou salobra.

A microcistina (MC) é uma hepatotoxina constituída por sete aminoácidos sendo cinco fixos e dois variáveis, produzida principalmente pela espécie *Microcystis aeruginosa*. Na família das MCs, a microcistina-LR (MC-LR), que apresenta os aminoácidos Leucina e Arginina, constituem a biotoxina mais comumente encontrada em corpos aquáticos eutrofizados e tem chamado atenção mundial nas últimas três décadas (SANTOS *et al.*, 2008; DAI *et al.*, 2012). No Brasil um caso de grande repercussão aconteceu em 1996 em Caruaru, no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil, e que resultou na morte de 60 pacientes de uma

clínica de hemodiálise que usou água contaminada com microcistina-LR (POURIA *et al.*, 1998; AZEVEDO *et al.*, 2002).

As tecnologias de tratamento de água que realizam o ciclo completo, referida como convencional, incluem a coagulação, floculação, sedimentação, filtração em filtro de areia, e desinfecção. São insuficientes para remoção de micropoluentes orgânicos como as microcistinas e outras cianotoxinas dissolvidas na água ou as removem de maneira insatisfatória, tornando necessário o emprego de técnicas complementares que podem ser acopladas antes, durante ou após o tratamento de ciclo completo (DI BERNARDO *et al.*, 2005).

Dessa forma, a proliferação de algas potencialmente toxigênicas ameaça seriamente a qualidade da água de abastecimento que pode não atingir os padrões de potabilidade com grandes riscos a população abastecida. Torna-se necessário o uso de tecnologias alternativas que otimizem o tratamento completo visando remover as células intactas e seus produtos metabólicos. Várias tecnologias estão em destaque nos últimos anos como alternativas eficientes para remoção de compostos orgânicos e cianotoxinas. As membranas de filtração, o carvão ativado em pó ou granulado e os Processos Oxidativos Avançados (POAs) tem se destacado nos últimos anos na remoção/degradação de poluentes orgânicos.

Os POAs constituem tecnologias alternativas para a remoção eficiente de moléculas orgânicas específicas que causam gosto e odor, mutagenicidade e toxicidade como as MC-LR, tornando-se uma técnica bastante promissora e eficiente para o tratamento de águas eutrofizada com presença de cianotoxinas, poluentes de efluentes orgânicos com alta estabilidade química ou baixa biodegradabilidade.

Atualmente existe uma diversidade de POAs que são classificados de acordo com a fase do catalizador e a presença ou ausência de radiação UV. No entanto, todos eles são baseados no princípio de produzir radicais hidroxila ( $\text{OH}^\bullet$ ). A oxidação de compostos como a MC-LR ocorre devido ao potencial de oxidação da hidroxila que pode gerar produtos não-tóxicos, como  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ .

É nessa perspectiva que a presente pesquisa busca avaliar em escala de bancada a eficiência de um tipo de Processo Oxidativo Avançado denominado Reagente Fenton seguido de tratamento convencional (coagulação, floculação e sedimentação) visando a oxidação da microcistina-LR.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Avaliar a eficiência da oxidação da Microcistina-LR (MC-LR) da água destinada ao abastecimento público utilizando um tipo de Processo Oxidativo Avançado (Reagente Fenton) seguido de coagulação, floculação e sedimentação.

### **2.2 Específicos**

- Determinar o melhor pH e tempo de oxidação da Microcistina-LR (MC-LR) no processo de Reação Fenton;
- Identificar a melhor dosagem do Reagente Fenton para o tratamento da água em estudo;
- Detectar os fragmentos moleculares remanescentes da oxidação da MC-LR;
- Avaliar a capacidade de remoção de cor aparente e verdadeira, turbidez e carbono orgânico dissolvido no processo Fenton.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Eutrofização dos corpos hídricos**

A água é um recurso natural de fundamental importância para sobrevivência e manutenção de todos os organismos vivos, bem como para o funcionamento adequado dos ecossistemas devendo estar disponível em quantidade e qualidade suficiente para o suprimento da população humana e de todos os seres vivos. O aumento da população mundial e o crescimento das atividades agrícolas e industriais intensificaram a degradação dos corpos hídricos colocando em risco a disponibilidade e a qualidade dos mesmos. Água de baixa qualidade representa um risco a saúde humana e dos ecossistemas, limita a produtividade econômica, dificulta e aumenta os custos de tratamento (TUNDISI, 2003).

O crescimento demográfico e a urbanização intensificaram as atividades antrópicas como a agricultura, a indústria, a mineração, o descarte de resíduos sólidos causando impactos negativos sobre a qualidade dos recursos hídricos, principalmente dos reservatórios superficiais destinados ao abastecimento humano. Esgoto sem tratamento ou inadequadamente tratados, efluentes industriais e agrícolas, produtos químicos como fertilizantes são despejados diretamente em corpos hídricos alterando as características físico-químicas, biológicas e conseqüentemente seus usos (ESTEVES, 2011).

O lançamento de cargas pontuais (esgotos sanitários ou efluentes industriais) ou difusas (aporte de nutrientes através da drenagem urbana) contribui para o processo de eutrofização (VON SPERLING, 2005). A eutrofização artificial, ou antrópica, é um tipo de poluição que produz mudanças significativas na qualidade da água causando desequilíbrio na vida aquática (REYNOLDS, 2006).

A eutrofização antrópica é comum em diversos países devido à ocupação desordenada das bacias hidrográficas e à poluição antropogênica. A urbanização, a agropecuária e o desmatamento aumentam a carga de nutrientes, especialmente nitrogênio inorgânico (nitrato, nitrito e amônia) e fósforo inorgânico (ortofosfato), nos reservatórios, contribuindo para uma maior ocorrência do processo de eutrofização em mananciais (COSTA *et al.*, 2009; OLIVER *et al.*, 2012).

As principais mudanças ocasionadas em lagos, reservatórios e rios eutrofizados são: (1) aumento na produtividade de organismos fotossintetizantes (algas, cianobactérias e macrófitas) viabilizando o desenvolvimento de espécies nocivas para a comunidade aquática, muitas das quais são potencialmente tóxicas; (2) depleção de oxigênio dissolvido ocasionado pelo consumo de O<sub>2</sub> para degradar a matéria orgânica gerando a morte de peixes e organismos aeróbios; (3) diminuição da transparência da água; (4) aumento de substâncias que causam sabor e odor; (5) aumento no uso de produtos químicos na ETA gerando custo elevado no tratamento da água; (6) colmatação dos filtros nas estações de tratamento de água diminuindo as carreiras de filtração devido a presença de algas; (7) perda das qualidades cênicas do corpo aquático gerando impactos econômicos negativos referente aos usos seja para fins recreativos, lazer, abastecimento, entre outros; (REYNOLDS, 2006; ESTEVES, 2011).

A interação de fatores como a alta concentrações de nutrientes (fósforo e nitrogênio), radiação solar, temperatura elevada, turbidez, pH, salinidade e disponibilidade de carbono propiciam o desenvolvimento de florações ou “*Blooms*” de algas e cianobactérias que recobrem grande parte da superfície do corpo aquático formando uma camada esverdeada (AZEVEDO *et al.*, 2002; SANT’ANNA *et al.*, 2008). Os ecossistemas de água doce tropicais são os ambientes apropriados para o desenvolvimento de cianobactérias, pois a maioria das espécies apresentam melhor crescimento em água com pH de 6 a 9, temperatura entre 15 e 30 °C e elevada radiação solar (CALIJURI *et al.*, 2006; MOSS *et al.*, 2011).

### **3.2 Cianobactérias e cianotoxinas**

Evidências moleculares e químicas indicam que as cianobactérias produtoras de oxigênio surgiram na terra há cerca de 2,7 bilhões de anos e foram responsáveis pela oxigenação do planeta. A produção de oxigênio molecular (O<sub>2</sub>) na Terra originalmente anóxica abriu caminho para a evolução das células aeróbias que poderiam utilizar o gás oxigênio O<sub>2</sub> comoceptor final de elétrons (CODD *et al.*, 2005). O desenvolvimento de organismos superiores, como as plantas e os animais, ocorreu bilhões de anos mais tarde, com o aumento da concentração de oxigênio no ambiente gerando a atmosfera com sua composição química atual de 20% de O<sub>2</sub> favorecendo o desenvolvimento e predominância da vida aeróbia (WHITTON *et al.*, 2012; SCHOPF, 2012).

Cianobactérias, antigamente denominadas cianofíceas ou algas azuis são microrganismos procariontes (desprovidos da membrana que reveste o material genético) que compreende um grande grupo de fototróficos oxigênicos que apresentam uma diversidade morfológica e heterogênea e são classificadas no domínio *Bacteria* na classificação Carl Woese. Representam um dos principais filões de *Bacteria* e possuem características semelhantes as bactérias Gram-negativas (CALIJURI *et al.*, 2006; MADIGAN *et al.*, 2012).

As cianobactérias compreendem aproximadamente 150 gêneros com mais de 2.000 espécies identificadas podendo ocorrer nos mais diversos ambientes terrestres, água doce, salobra ou marinha, habitats extremos como fontes termais, neve e desertos (CHORUS e BARTHAM, 1999; HITZFELD, 2000). O tamanho celular varia de acordo com a espécie de 0,5-1 µm de diâmetro e células grandes com 40 µm de diâmetro e as filamentosas com mais de 15 µm. As cianobactérias podem apresentar-se unicelular, colonial e filamentosas.

A estrutura da parede celular apresenta peptidoglicano, algumas espécies apresentam envelope mucilaginoso, ou bainhas, que promovem a associação de grupos de células, ou filamentos. Possuem somente uma variedade de clorofila, clorofila-a, e todas apresentam pigmentos característicos do tipo biliproteínas, as ficobilinas, que atuam como pigmentos acessórios durante a realização da fotossíntese. As ficocianinas, um tipo de ficobilinas que possui coloração azul, em conjunto com a clorofila-a (verde), são responsáveis pela coloração verde-azulada das cianobactérias (CALIJURI *et al.*, 2006; MADIGAN *et al.*, 2012; KRANZLER *et al.*, 2013).

Algumas espécies de cianobactérias podem conter estruturas especiais chamadas heterocistos que atuam na fixação de nitrogênio atmosférico contribuindo para sua adaptação no ambiente. Várias espécies apresentam uma proteína granular chamada cianoficina que é uma reserva de energia. A cianoficina é um produto de armazenamento de nitrogênio e, quando ele torna-se deficiente no ambiente, esse polímero é clivado e utilizado como fonte de energia (WHITTOM *et al.*, 2012; MADIGAN *et al.*, 2012).

O crescimento excessivo de cianobactérias acarreta sérios problemas que afetam a qualidade do corpo aquático e seus usos preponderantes. A camada esverdeada que recobre a superfície do corpo aquático eutrofizado é constituída por colônias de cianobactérias aderidas ao biofilme bacteriano com agregados de diversas células que impede a entrada de luz na coluna de água e aumenta os processos de decomposição da matéria orgânica com a consequente

depleção de oxigênio dissolvido que por sua vez causa mortandade de peixes e liberação de substâncias tóxicas (DIGNUM *et al.*, 2005; WEIRICH *et al.*, 2014).

*Blooms* de algas e de cianobactérias são encontrados em diversos lagos e rios mesotróficos, eutróficos e hipereutróficos em todo o mundo (LAMBERT *et al.*, 1994; MEREL *et al.*, 2013). Nos países tropicais, com mananciais poluídos e exposto a altas temperaturas e intensa radiação solar, apresentam condições ideais para o crescimento e desenvolvimento de cianobactérias que podem proliferar em tais condições e ao longo do tempo alterando a qualidade da água (MOLICA *et al.*, 2009; SANT'ANNA *et al.*, 2008). No Brasil a ocorrência de cepas tóxicas de cianobactérias em mananciais destinado ao abastecimento público já foram relatados nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Paraná, Paraíba, Bahia, Pernambuco e no Distrito Federal. No estado da Paraíba a ocorrência de cianobactérias nos reservatórios tem aumentado nos últimos anos. Dentre os vinte maiores reservatórios de abastecimento da Paraíba 3% apresentaram florações de cianobactérias no ano de 2006, 20% em 2007, 45% em 2008 e 62% em 2009 (VASCONCELOS *et al.*, 2011).

O açude Argemiro de Figueiredo (Acauã) é responsável pelo abastecimento de cerca de 40.000 pessoas sendo o quarto maior reservatório do estado da Paraíba e apresenta eutrofizado desde sua construção em 2002 até os dias de hoje chegando a ser classificado de eutrófico para hipereutrófico em 2009 (OLIVEIRA, M.C.N.; CEBALLOS, B.S.O., 2014).

Jardim (2014) e colaboradores verificaram a presença de sucessivas florações de cianobactérias tóxicas entre o período de 2008 à 2012 na bacia do Rio Doce, Minas Gerais, Sudeste do Brasil, com predomínio de *Cylindrospermopsis raciborskii*. MACEDO (2009) realizou uma investigação em vinte reservatórios de abastecimento público do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. O autor destacou a presença de florações de cianobactérias potencialmente tóxicas na maioria dos reservatórios de abastecimento público, principalmente no período de seca, com decréscimo de cianobactérias na maioria dos reservatórios durante o período chuvoso.

O tempo e a duração de uma floração de cianobactérias dependem de varios fatores que podem variar em cada região. Nas zonas temperadas, os “*Blooms*” são mais proeminentes durante o final do verão e início do outono podendo durar por 2 ou 4 meses. Regiões de climas subtropicais, a temporada de floração pode começar mais cedo e persistem por mais tempo. Países como o Japão, Portugal, Espanha, África do Sul e Sul da Austrália, as florações podem

ocorrer por um período de 6 meses ou mais. Em períodos de seca prolongada, em áreas tropicais ou subtropicais do Brasil, China e Austrália, florações de cianobactérias podem ocorrer em quase todo o ano (CHORUS e BARTHAM, 1999; DÖRR *et al.*, 2010).

A presença de florações de cianobactérias pode ser detectada e monitorada por diferentes métodos. Um método eficiente é realizar a análise da clorofila-a, um pigmento fotossintético básico contido em todos os microrganismos fototróficos que possuem metabolismo fotossintético oxigênico, ou seja, que na fotossíntese produzem e liberam oxigênio molecular (O<sub>2</sub>). A quantificação da clorofila-a permite estimar de forma aproximada a densidade de algas e cianobactérias presente no ambiente.

A dominância de cianobactérias nos corpos aquáticos destinados ao abastecimento humano compromete os usos dessas águas pelo risco à saúde pública associados aos metabólitos secundários como as cianotoxinas produzidas por esses microrganismos e liberados pelas células senescentes (FIGUEIREDO, 2004; METCALF *et al.*, 2012; ŽEGURA *et al.*, 2011). As cianotoxinas são metabólitos secundários das cianobactérias, em sua maioria endotoxinas potentes que são liberadas no meio ambiente com a morte celular e que causam danos na biota aquática variando desde intoxicação até a morte de animais e seres humanos (CODD *et al.*, 2005; KARDINAAL *et al.*, 2005; IBELINGS *et al.*, 2007).

As cianotoxinas podem ser classificadas de acordo com sua estrutura química e com seu efeito toxicológico. Quimicamente elas podem apresentar peptídeos cíclicos, alcalóides e lipopolissacarídeos. A biotoxicidade podem ser: dermatotóxicos, neurotóxicos ou hepatotóxicos (CALIJURI *et al.*, 2006; APELDOORN *et al.*, 2007).

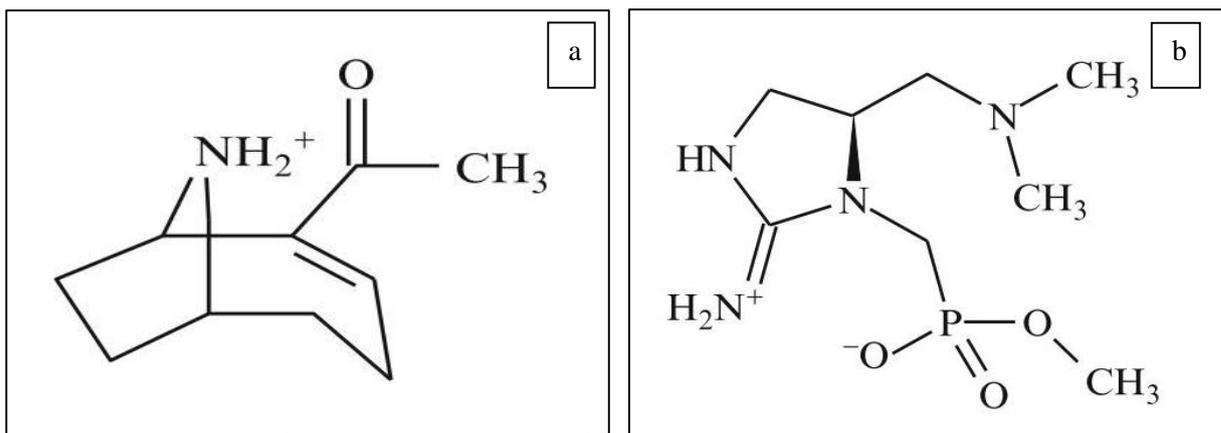
As dermatotoxinas são lipopolissacarídeos integrantes da parede celular de bactérias Gram-negativas e cianobactérias secretadas por células vivas sendo liberadas em grandes quantidades apenas quando as células morrem. Quando em contato com a pele pode causar vários sintomas como irritação, vermelhidão e lesões da pele, irritação dos olhos, conjuntivite, urticária, obstrução nasal e asma. Quando ingeridas induzem tanto em homens quanto em animais uma série de efeitos que incluem neutropenia, trombocitopenia, níveis anormais de glicose e mudanças metabólicas, como acidose e alcalose (SANT'ANNA *et al.*, 2008; VAN DER MERWE, 2015).

As neurotoxinas são alcalóides carbamatos ou organofosforados que atuam na inibição da transmissão dos impulsos nervosos, provocando a morte por parada respiratória. Ocorrências

em massa de cianobactérias neurotóxicas foram relatados na América do Norte, Europa e Austrália, onde elas causaram intoxicações em animais (CHORUS e BARTHAM, 1999). Em bioensaios utilizando camundongos a morte por parada respiratória ocorre rapidamente dentro de 2-30 minutos através de aplicação intraperitoneal (CALIJURI *et al.*, 2006). As principais neurotoxinas mais estudadas são: anatoxina-a, anatoxina-a (S) e saxitoxinas.

A anatoxina-a apresenta efeito semelhante ao da acetilcolina sendo responsável pela inibição da transmissão nervosa através do bloqueio dos canais de sódio nas células. A anatoxina-a (S) é um éster organofosforado natural que inibe a colinesterase impedindo a degradação da acetilcolina ligada aos receptores. O "S" da nomenclatura da anatoxina-a (s) deriva da excessiva salivagem viscosa observada em camundongos tratados com esta cianotoxinas (RODRÍGUEZ *et al.*, 2006). A estrutura química da anatoxina-a e anatoxina-a (s) é apresentada na Figura 1.

**Figura 1:** Estrutura geral das neurotoxinas: a) anatoxina-a e b) anatoxina-a (S).



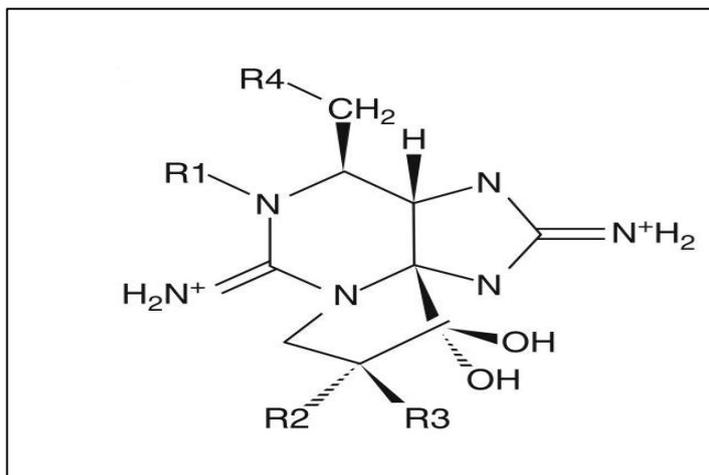
Fonte: METCALF *et al.*, 2012

As saxitoxinas (STX) compreende um grupo de alcalóides carbamatos e decarbamoil que são produzidas por dinoflagelados marinhos de água doce e algumas cepas de cianobactérias como a *Cylindrospermopsis raciborskii*.

Atua no sistema nervoso bloqueando os canais de sódio impedindo a comunicação dos neurônios com as células musculares (CYBIS *et al.*, 2006; APELDOORN, 2007). A ocorrência é mundialmente menos significativa do que as hepatotoxinas, sendo mais relevante na Austrália, onde a espécie *Anabaena circinalis* produtora de saxitoxinas é comumente encontrada (PUSCHNER *et al.*, 2012). No Brasil, já foram registrados diversos casos de cepas

de *Cylindrospermopsis raciborskii* produtoras de saxitoxinas em mananciais destinados ao abastecimento público (BITTENCOURT-OLIVEIRA *et al.*, 2003; MOLICA *et al.*, 2009). A Figura 2 apresenta a estrutura padrão da molécula de saxitoxina.

**Figura 2:** Estrutura geral das saxitoxinas.



**Fonte:** METCALF *et al.*, 2012

Quimicamente as variantes das saxitoxinas são alcalóides carbamato duplamente sulfatados, isoladamente sulfatada ou não-sulfatados apresentado diferenças no grau da toxicidade (LLEWELLYN, 2006). As principais variantes das saxitoxinas são neosaxitoxina (neoSTX); goniautoxinas (GTX); decarbamoilsaxitoxinas (dcSTX) e toxinas de *Lyngbya wollei* (LWTX). A Tabela 1, mostra as principais variantes de saxitoxinas.

**Tabela 1:** Principais variantes das saxitoxinas.

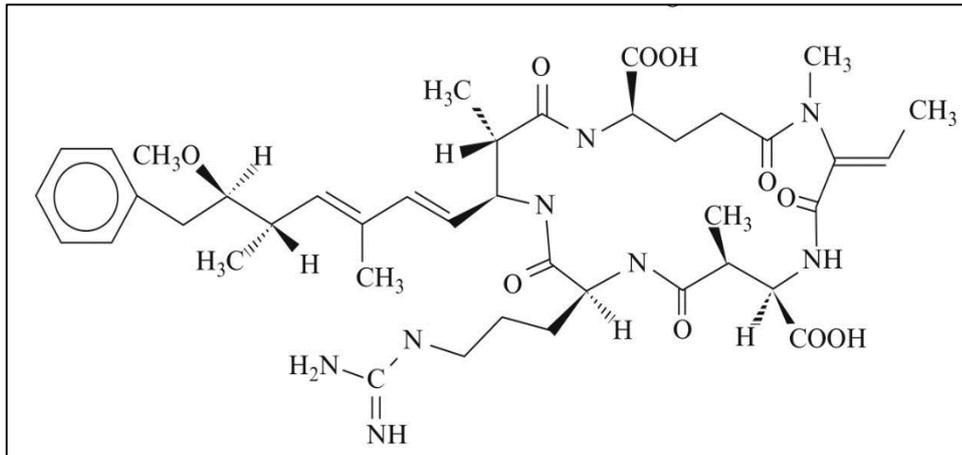
VARIANTE	R1	R2	R3	R4	R5
STX	H	H	H	CONH <sub>2</sub>	OH
neoSTX	OH	H	H	CONH <sub>2</sub>	OH
GTX1	OH	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CONH <sub>2</sub>	OH
GTX2	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CONH <sub>2</sub>	OH
GTX3	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	CONH <sub>2</sub>	OH
GTX4	OH	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	CONH <sub>2</sub>	OH
GTX5	H	H	H	CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	OH
dcSTX	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	OH
dcGTX2	H	H	H	H	OH
dcGTX3	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	H	OH
LWTX1	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H

**Fonte:** SIVONEN *et al.*, 1999

As hepatotoxinas constituem um grupo de cianotoxinas notavelmente estudada nos últimos anos devido ao seu efeito nocivo que pode acometer diversos órgãos e tecidos de mamíferos e outras espécies de animais trazendo consequências fisiológicas e dano celular (METCALF *et al.*, 2012). As principais hepatotoxinas são: nodularinas, cilindrospermopsina e microcistina (MC).

As nodularinas são um grupo de hepatotoxinas sendo produzidas principalmente pela espécie *Nodularia spumigena*. A estrutura química é constituída por cinco aminoácidos: D-MeAsp (N-metildehidroalanina), L-arginina, Adda (3-amino-9-metoxi-10-fenil-2,6,8, trimetildeca-4,6-ácido dienólico), D-glutamato e Mdha (ácido 2-metilamino-2-deidrobutírico) (EDWARDS *et al.*, 2008). São conhecidas dez variantes de nodularinas, classificadas de acordo com as variações no grau de metilação, composição e isomerização de seus aminoácidos. Estas toxinas têm sido correlacionadas com mortes de animais domésticos e selvagens. A toxicidade de nodularinas é devido à inibição das proteínas fosfatases 1 (PP-1), 2A (PP-2A) e 3 (PP-3), o que leva a perturbação funcional e estrutural das células hepáticas (CHEN, 2013). A estrutura geral da molécula é mostrada na Figura 3.

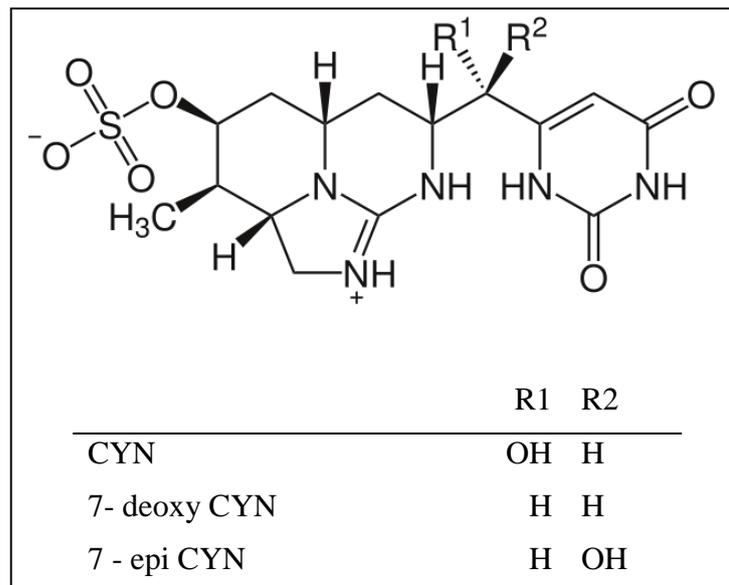
**Figura 3:** Estrutura geral da nodularina.



**Fonte:** METCALF *et al.*, 2012

A cilindropermopsina é um alcalóide produzido por várias espécies de cianobactérias filamentosas e atua na inibição da síntese de proteínas. Os principais sintomas patológicos são danos no fígado, rins, pulmões, coração, estômago, glândulas supra-renais, sistema vascular e linfático. Os sintomas clínicos agudos são insuficiência renal e hepática. (DE LA CRUZ *et al.*, 2013). Existem três análogos naturais da molécula. A estrutura geral é apresentada na Figura 4.

**Figura 4:** Estrutura geral da cilindropermopsina.

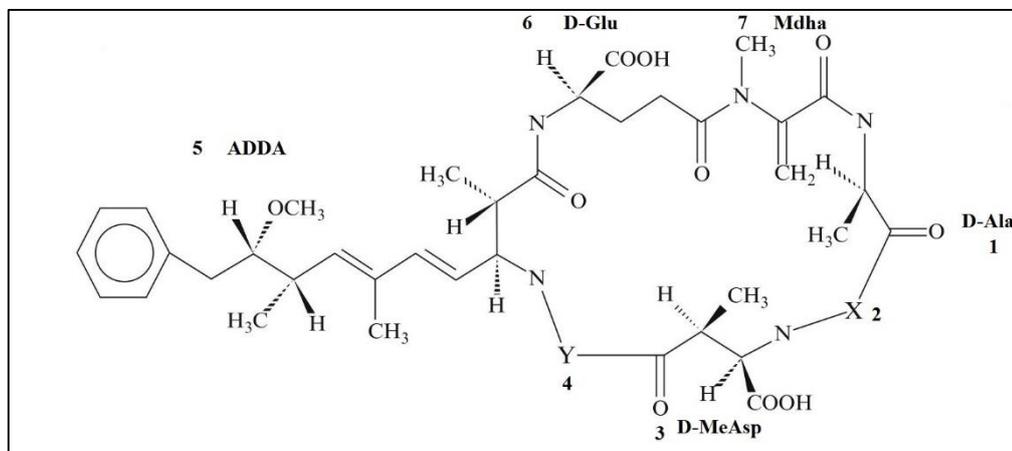


**Fonte:** METCALF *et al.*, 2012

A microcistina compreende um heptapeptídeo monocíclico extremamente estável e resistente a agentes químicos, hidrólise ou oxidação em pH próximo de neutro podendo permanecer ativa mesmo em temperaturas acima de 100 °C (ŠEJNOHOVÁ *et al.*, 2012). Em águas naturais e na ausência de luz, a microcistina pode persistir por meses ou anos. Em temperaturas elevadas (40 °C) a degradação por hidrólise de 90% pode durar 10 semanas em pH ácido e 12 semanas em pH alcalino (CYBIS *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2008).

A microcistina é constituída quimicamente por sete aminoácidos possuindo uma porção invariável da molécula que contém três D-aminoácidos: β-eritro-β-metil ácido aspártico, alanina e γ-ácido glutâmico (D-β MeAsp, D-Ala e D-Glu), dois L-aminoácidos variáveis (localizado na região X e Y na Figura 5) e dois aminoácidos raros (Mdha e Adda). O Mdha é o N-metildehidroalanina e o Adda, responsável pelo caráter tóxico da molécula é o 3-amino-9-metoxi-10-fenil-2,6,8, trimetil-deca-4,6-ácido dienóico (CHORUS e BARTHAM, 1999; CHRISTINE, 1995; CALIJURI *et al.*, 2006). A Figura 5 apresenta a estrutura molecular padrão da microcistina.

**Figura 5:** Estrutura geral da microcistina.



**Fonte:** METCALF *et al.*, 2012

A toxicidade da microcistina varia de acordo com os dois L-aminoácidos variáveis podendo ser classificada em: alta (MC-LR, MC-LA, MC-YR) média (MC-WR) e fraca (MC-RR). A microcistina-LR além de ser mais comum nos reservatórios eutrofizado com florações de cianobactérias apresentam toxicidade elevada em relação as outras variantes (CHORUS e BARTHAM, 1999).

O efeito tóxico agudo da MC é caracterizado pela morte em camundongos e ratos de laboratório dentro de 1 a 3 horas (SCHMIDT *et al.*, 2014). O fígado é o principal órgão afetado demonstrando necroses hemorrágicas extensas e desestruturação dos sinusóides (ŽEGURA *et al.*, 2003). A congestão hepática leva ao aumento do órgão (LEAL *et al.*, 2004). O transporte da molécula ocorre através de um polipeptídeo transportador de aniões orgânicos (OATP) presente no sistema de transporte de membrana específica do fígado que desloca a molécula para os hepatócitos (FISCHER *et al.*, 2010). No entanto, outros órgãos podem ser afetados, tais como o cérebro (FEURSTEIN *et al.*, 2009), coração (WANG, 2008), intestino (CADEL-SIX *et al.*, 2014), rim (ALVERCA *et al.*, 2009) e órgãos reprodutivos (ZHOU *et al.*, 2015).

Existem mais de 90 análogos de microcistina diferenciadas pela constituição dos L-aminoácidos, nas posições “2” e “4” apresentando massa molar diferenciada (SCOTT *et al.*, 2012). As variantes da microcistina mais estudadas são apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2:** Principais variáveis da microcistina.

Variável	Massa molar (M)	Posição 4	Posição 2
MC-WR	1068	Arginina	Homo-tirosina
MC-YR	1045,19	Arginina	Tirosina
MC-RR	1038,20	Arginina	Arginina
MC-LR	995,17	Arginina	Leucina
MC-LF	986	Fenilalanina	Leucina
MC-VF	972	Fenilalanina	Valina
MC-YM	972	Metionina	Tirosina
MC-LM	970	Metionina	Tirosina
MC-YA	960	Alanina	Tirosina
MC-AR	953	Arginina	Alanina
MC-LL	952	Leucina	Leucina
MC-LA	910,06	Alanina	Leucina

**Fonte:** DAWSON, 1998

A liberação da toxina para o meio ambiente depende de fatores ambientais físicos, químicos e biológicos que afetam a viabilidade celular resultando na lise da célula. Entretanto, o mais importante é a idade da célula, que quando senescente, se lisa naturalmente (COSTA, 2009; CATHERINE *et al.*, 2013; JURCZAK *et al.*, 2005). A produção e liberação das cianotoxinas no meio ambiente pode estar associada com o impedimento contra a alimentação de zooplâncton e o suprimento do crescimento de espécies concorrentes. Os metabólitos secundários em outras bactérias e fungos, são normalmente ligados a exportação da substância a partir de células sob certas condições ambientais ou estado de crescimento (CHORUS e BARTHAM, 1999).

As principais vias de contaminação por cianotoxinas são pela ingestão de água bruta ou tratada inadequadamente, recreação em corpos aquáticos com florações de algas e consumo de alimentos como peixes, crustáceos e moluscos (KARDINAAL *et al.*, 2005; BACKER *et al.*, 2010).

Quando dissolvidas na água, as cianotoxinas podem ser bioacumulada ao longo dos níveis tróficos da cadeia alimentar (FILHO, 2009). Diversos estudos realizados em espécies de mamíferos, peixes, crustáceos, mariscos, mexilhões e invertebrados, confirmaram a capacidade desses organismos em acumular altas concentrações de toxinas em seus tecidos (MAGALHÃES *et al.*, 2003; JIANG *et al.*, 2012; ZHANG, 2009; ZHANG *et al.*, 2012; BARDA *et al.*, 2015; PALDAVIČIENĖ *et al.*, 2015). Esse fato reforça a possibilidade de danos ao longo da cadeia alimentar e aos seres humanos através do consumo de alimentos contaminados.

A bioacumulação de microcistina ocorre pelo consumo de células de cianobactérias em eventos de florações produtoras dessas cianotoxinas que se transfere aos peixes também pela ingestão da água e de zooplâncton contaminados e se biomagnifica como resultado da cadeia alimentar até atingir animais e homens através do consumo de água contaminada (ZHANG *et al.*, 2012).

Jia (2014) e colaboradores estudaram a bioacumulação de três variantes da microcistina (MC-LR, MC-YR e MC-RR) em quatro espécies de peixes: carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*), carpa cabeçuda (*Aristichthys nobilis*), pimpão (*Carassius auratus*) e carpa comum (*Cyprinus carpio*). Os resultados mostraram que as MCs estavam presentes na parede do intestino, sugerindo que a absorção ocorre principalmente através do

trato gastrointestinal para os órgãos internos altamente irrigados pelo sangue como fígado, rim, etc. Hauser-Davis (2015) e colaboradores estudaram o acúmulo da microcistina em tilápia (*Oreochromis niloticus*) e os resultados mostraram altas concentrações da toxina nos músculos, seguido de gônadas, fígado e na bile.

Estudo de bioacumulação em plantas também tem sido alvo de pesquisas. Gutiérrez-Praena (2014) e colaboradores investigaram a toxicidade da microcistina-LR em cultura de *Lycopersicon esculentum* (tomates). O autor destacou alterações fisiológicas como a diminuição da capacidade das plantas em sintetizar ATP e realizar a fotossíntese, aumento da fixação do carbono e diminuição de reações do metabolismo de carboidratos. Além disso a MC-LR foi detectada nas raízes, tomates verdes, tomates maduros e folhas.

Vários incidentes de envenenamento de animais silvestres e domésticos, bem como as lesões corporais e morte devido a florações de cianobactérias tóxicas têm sido relatados (FLEMING *et al.*, 2002; MAKAREWICZ *et al.*, 2009; ISAACS *et al.*, 2014).

Teixeira e Rosa (1993) realizaram uma investigação epidemiológica que descreve uma evidência de correlação entre a ocorrência de florações de cianobactérias do gênero *Anabaena* e *Microcystis*, no reservatório de Itaparica, Bahia Nordeste do Brasil, e a morte de 88 pessoas, entre as 200 intoxicadas, pelo consumo de água do reservatório entre março e abril de 1988. O quadro clínico destacava vômitos (55,3%), dor abdominal tipo cólica (72,4%) e febre na fase inicial da doença (33,3%).

Em fevereiro de 1996, 126 pacientes renais crônicos após submeterem a sessões de hemodiálise em Caruaru, Nordeste do Brasil, passaram a apresentar um quadro clínico de hepatotoxicidade subaguda. Os sintomas apresentados incluíam mal-estar, mialgia e fraqueza, náuseas, hepatomegalia e uma variedade de sintomas neurológicos: zumbido, vertigem, dores de cabeça, surdez e convulsões. Cinco meses depois 60 pacientes vieram a óbito após o início dos sintomas. Exames realizados com amostras de soro, filtros de diálise e colunas de tratamento de água apresentaram microcistina. Em períodos de falha no abastecimento pela rede a clínica recebia água sem tratamento completo e usualmente era feita cloração no próprio caminhão tanque utilizado para transportar a água que era coletada de um lago que apresentava crescimento maciço de cianobactérias (POURIA *et al.*, 1998; YUAN *et al.*, 2006).

Esse evento contribuiu para a evolução dos padrões de potabilidade que ocorreu logo com as recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS) culminando com a inserção

de compostos novos como parâmetro de qualidade para água de consumo humano, tendo em vista o teor nocivo que esses compostos representam para a saúde pública. A microcistina no Brasil passou a ser um parâmetro de análise na Portaria 1469/2000 do Ministério da Saúde, que foi sucedida pela Portaria 518 de 29 de março de 2004 e por sua vez foi substituída pela Portaria 2914 de 12 de dezembro de 2011.

A Portaria 2914/2011 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* determina o Valor Máximo Permitido (VMP) de  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$  de MC, sendo que este valor inclui o somatório das concentrações de todas as variantes de microcistinas na água para consumo humano e também determina o valor de  $3 \mu\text{g}$  equivalente STX.L<sup>-1</sup> para saxitoxina (BRASIL, 2011).

A referida portaria estabelece o monitoramento mensal do reservatório quando o número de células de cianobactérias for inferior ou igual a  $10.000 \text{ cel.mL}^{-1}$  e monitoramento semanal quando este valor exceder  $20.000 \text{ cel.mL}^{-1}$ . Se houver cianotoxinas no manancial deverá realizar análise e identificar os gêneros de cianobactérias, no ponto de captação do manancial superficial, assim como comunicar imediatamente às clínicas de hemodiálise e às indústrias de injetáveis. Os principais gêneros de cianobactérias produtoras de cianotoxinas estão descritos na Tabela 3.

**Tabela 3:** Principais gêneros de cianobactérias potencialmente toxigênicas.

<b>Cianotoxina</b>	<b>Atividade</b>	<b>DL50</b>	<b>Principais gêneros</b>
<b>Hepatotoxinas</b>			
Microcistina	Inibe proteínas fosfatases PPA1 e PPA2	25 a 150 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	<i>Anabaena, Anabaenopsis, Phormidium, Hapalosiphon, Merismopedia, Microcystis, Nostoc, Oscillatoria, Planktothrix e Synechococcus</i>
Nodularina	Inibe proteínas fosfatases PPA1 e PPA2	50 a 200 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	<i>Nodularia e Nostoc</i>
Cilindrospermopsina	Inibe a síntese protéica	2,0 $\text{mg.kg}^{-1}$ (24 horas) 0,2 $\text{mg.kg}^{-1}$ (5-6 dias)	<i>Aphanizomenon, Anabaena, Cyindrospermopsis, Raphidiopsis, Sphaerospermopsis e Umezakia</i>
<b>Neurotoxinas</b>			
Anatoxina-a	Impedem a despolarização neuromuscular	200 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	<i>Aphanizomenon, Anabaena, Cyindrospermum, Oscillatoria, Phormidium, Planktothrix, Raphidiopsis e Woronichinia</i>
Anatoxina-a (S)	Inibi a acetilcolinesterase	20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	<i>Anabaena</i>
Saxitoxinas	Bloqueia os canais de sódio	10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Cyindrospermum, Lyngbya, Planktothrix, e Scytonema</i>
<b>Endotoxinas</b>			
Lipopolissacarídeos	Inflamação na epiderme e irritação gastrointestinal		<i>Todas as espécies de cianobactérias e bactérias Gram-negativas</i>

**Fonte:** CYBIS *et al.*, 2006; DL50: Dose letal responsável pelo óbito de 50% de uma população.

### 3.3 Detecção e quantificação de cianotoxinas

Para a identificação e quantificação de cianotoxinas em amostra de água é necessário o emprego de técnicas específicas. Os métodos mais utilizados na quantificação e identificação de cianotoxinas compreendem os bioensaios, testes imunoenzimático (Elisa) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Durante a década de 1980 diversos estudos sobre a ocorrência, distribuição e frequência de cianobactérias tóxicas foram realizados em diversos países utilizando a técnica de bioensaio. Os bioensaios são testes de avaliação toxicológica realizados em animais (geralmente camundongos) ou grupo de células alvos. São utilizados para adquirir informações sobre a toxicidade. Os bioensaios não possuem sensibilidade suficiente para detecção de uma cianotoxina específica podendo apenas correlacionar as classes de toxinas aos seus efeitos adversos. Somente no final dos anos 80 os métodos de análise para a determinação quantitativa para cianotoxinas tornou-se disponível (CHORUS e BARTHAM, 1999).

O método imunoenzimático ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) amplamente utilizado é baseado na reação entre antígeno (toxinas específica) e anticorpo. A reação imuno-enzimática é inversamente proporcional à concentração da toxina. Este teste apresenta valores de concentração de toxina total de uma amostra, eliminando a necessidade de uma ampla faixa de padrões analíticos. O manuseio é fácil e rápido utilizando kits que permite a sua aplicação com o mínimo de treinamento técnico e simples processamento da amostra. Além disso apresenta resultados de alto desempenho, com sensibilidade de detecção na faixa de ppb ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) e os resultados podem ser obtidos em 90 minutos. Os testes de ELISA determinam a concentração total da toxina sem a diferenciação das variantes do mesmo grupo de toxina em uma amostra. Apesar das várias marcas de kits de teste de ELISA estarem disponíveis comercialmente, trata-se ainda de uma técnica de custo elevado, o que inviabiliza a sua utilização na rotina de laboratórios que analisam números elevados de amostras para detectar a qualidade de águas e mais dificilmente para comunidades dispersas relativamente pequenas onde os riscos são mais elevados (ARANDA-RODRIGUEZ *et al.*, 2015).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) tem se destacado nos últimos anos devido à alta sensibilidade de separação dos componentes do analito. A identificação pode ser realizada por um detector ultravioleta (CLAE/UV), ou por uma análise acoplada em espectrometria de massas (CLAE/EM).

A Espectrometria de Massas é uma técnica superior a outras técnicas analíticas conhecidas devido as certas características como sensibilidade, seletividade, possibilidade de caracterizar compostos de massa molar ou de combinar com cromatografia líquida ou gasosa. Os constituintes do analito são separados por técnicas cromatográfica e posteriormente através do espectrômetro de massas ocorre a formação de íons em fase gasosa possibilitando a identificação, através da relação massa/carga, ( $m/z$ ), de estrutura ou propriedades físico-químicas (CHIARADIA *et al.*, 2008).

O espectrômetro de massas é composto pelo sistema de introdução de amostras, fonte de ionização, analisador de massas e detector. A fonte de ionização é responsável por converter o analito de interesse em íons na fase gasosa. O analisador de massas separa os íons de acordo com sua massa/carga. Nos detectores ocorre a conversão do feixe de íons em sinal elétrico que são posteriormente processados pelo sistema de dados (KRUIVE *et al.*, 2015). Embora a análise de toxinas seja capaz de fornecer informações precisas e específicas sobre a identidade e a quantidade de cada variante da toxina em nanogramas (ng), o método requer instrumentação, treinamento especializado, cuidados na preparação da amostra e na aquisição de padrões específicos da toxina em estudo contribuindo para o elevado custo da análise.

### **3.4 Tecnologias de tratamento de água e remoção de cianotoxinas**

O tratamento de água reúne um conjunto de operações unitárias que em conjunto possibilita a potabilização da água para consumo humano resultando na clarificação e desinfecção da água. O tratamento possibilita a remoção ou inativação de contaminantes microbiológicos, como vírus, bactérias, cistos e oocistos de protozoários patogênicos tornando a água dentro dos padrões de potabilidade requerido pelo Ministério da Saúde. A tecnologia de tratamento de água predominante nas Estações de Tratamento de Água (ETA) no Brasil é denominada “convencional” de ciclo completo que inclui a coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia e desinfecção (LIBÂNIO, 2010). O tratamento convencional possibilita a remoção de grande parte das células e indivíduos intactos de algas e cianobactérias, porém é ineficiente para remoção de cianotoxinas dissolvidas (DI BERNARDO *et al.*, 2010).

Dados do IBGE (2008), destacam que no Brasil a maior parte do volume de água potável distribuída (69,2%) é tratada utilizando o processo convencional empregado em maiores proporções nas Regiões Nordeste, Sudeste e Sul. Na Região Norte o tratamento convencional

é feito em menos da metade (40,8%) da água distribuída sendo que 31,7% do tratamento da água é feito por processos não convencionais e 27,4% é feito por simples desinfecção. Observa-se ainda que o tratamento convencional é mais utilizado nos municípios com mais de 100 mil habitantes. Em contrapartida, nos municípios com menos de 20 mil habitantes o tratamento é apenas uma simples desinfecção.

### **3.4.1 Coagulação e floculação**

A coagulação é um processo químico e físico que promove a desestabilização das partículas e impurezas presente na água através da dissolução do coagulante e transporte das espécies hidrolisadas até as impurezas presente na solução. As partículas coloidais possuem tamanho entre 1 nm e 0,1  $\mu$ m sendo responsáveis pela cor e turbidez na água e geralmente possuem carga superficial negativa. Os coagulantes mais utilizados são a base de ferro ou alumínio. A coagulação é realizada na unidade de mistura rápida que se inicia segundos após a adição do coagulante, com a formação de espécies hidrolisadas de carga positiva que são transportadas e por atração eletrostática reúne as partículas com carga negativa como os colóides e compostos orgânicos dissolvidos, microrganismos causando a desestabilização dessas partículas (DI BERNARDO *et al.*, 2005).

A coagulação consiste na primeira etapa do tratamento e de diversas outras tecnologias de tratamento de água, à exceção da filtração lenta (LIBÂNIO, 2010). A coagulação promove a interação de partículas para formar agregados maiores que podem se unir formando flocos na etapa posterior.

O processo de coagulação é caracterizado pela redução do potencial zeta pela adição de íons específicos. O potencial zeta é a diferença de tensão elétrica entre a superfície de cada colóide e sua suspensão líquida. A coagulação ocorre quando um eletrólito catiônico baixa o potencial zeta, causando a redução das forças repulsivas permitindo que a ação das forças atrativas de Van Der Waals promova a aglutinação das partículas (LIBÂNIO, 2010). Os íons de carga positiva como os de ferro e alumínio ao entrarem em contato com a solução aquosa formam fortes ligações com os átomos de oxigênio liberando átomos de hidrogênio ocasionando o aumento significativo do íon  $H^+$  na solução causando a redução do pH (potencial hidrogeniônico).

O processo de desestabilização de partículas estáveis em suspensão pode ser otimizado para aumentar a tendência de aglomeração de modo que possam posteriormente ser adsorvida em superfície fixa, como em filtros granulares. Os mecanismos responsáveis pela desestabilização das partículas coloidais de carga negativa são adsorção-formação de pontes químicas, varredura, adsorção-neutralização de cargas e compressão da dupla camada.

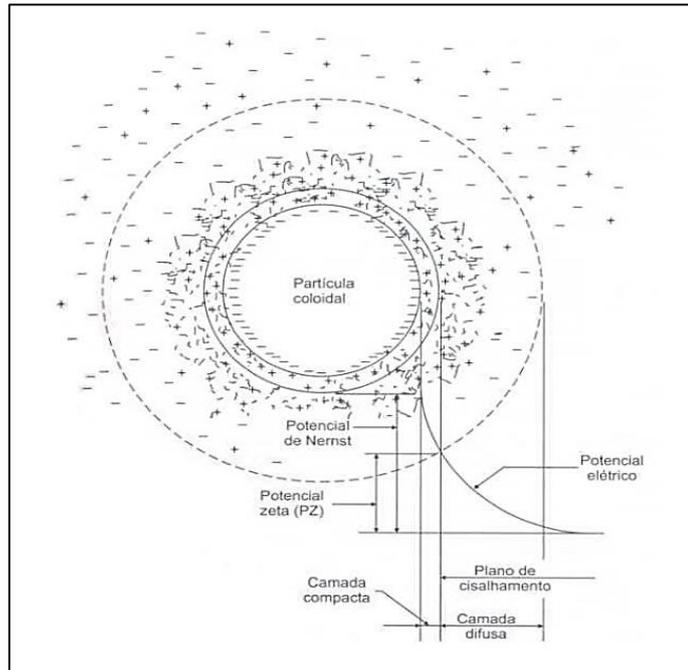
Adsorção e formação de pontes químicas caracteriza-se por envolver o uso de polímeros de grandes cadeias moleculares que servem de ponte entre a superfície à qual estão aderidos e outras partículas (DI BERNARDO *et al.*, 2005).

O mecanismo de varredura predomina quando utiliza quantidades elevada de coagulante e depende do pH da mistura e da concentração de alguns tipos de íons na água, possibilitando a formação de precipitados semelhantes ao  $\text{Al}(\text{OH})_3$  ou  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  capazes de envolver as partículas coloidais. Dessa forma a concentração e a dimensão destas partículas possibilita a probabilidade de choques otimizando a floculação e influenciando a velocidade de sedimentação dos flocos (LIBÂNIO, 2010).

No mecanismo de adsorção e neutralização de cargas, após a adição do coagulante, ocorre a hidrólise dos íons metálicos e conseqüentemente adsorção das espécies hidrolisadas, de carga positiva na superfície dos coloides ocasionando a sua desestabilização.

A compressão da dupla camada ocorre através da introdução de um eletrólito em um sistema coloidal que aumenta a densidade de cargas na camada difusa diminuindo a “esfera” de influência das partículas. Concentrações elevadas de íons positivos e negativos na água acarretam acréscimo do número de íons na camada difusa, que, para se manter eletricamente neutra, necessariamente tem seu volume reduzido (diminuição da espessura), de modo que as forças de Van Der Waals sejam dominantes, eliminando a estabilização eletrostática (Figura 6).

**Figura 6:** Configuração esquemática da dupla camada elétrica.



**Fonte:** DI BERNARDO *et al.*, 2005.

Alguns fatores podem interferir na coagulação diminuindo seu êxito. O tipo e a quantidade do coagulante utilizado em uma ETA pode ter um efeito significativo sobre o tipo e quantidade de resíduos produzidos. O coagulante mais utilizado nas ETAs, no Brasil, é o sulfato de alumínio devido sua praticidade e preço de aquisição. O pH de coagulação é influenciado pela alcalinidade, dosagem do coagulante e pelas características físicas e químicas da solução. Representa um parâmetro importante por estar relacionado em diversos processos químicos como a precipitação de íons e metais pesados, assim como na solubilidade de nutrientes, atua diretamente na fisiologia das diversas espécies aquáticas e na prevalência das espécies hidrolisadas do coagulante quando a coagulação se efetua com sais de alumínio ou de ferro, independente do mecanismo predominante (LIBÂNIO, 2010).

As impurezas agregadas na coagulação passam para etapa de mistura lenta (floculação) que favorece a colisão entre as partículas já desestabilizadas. A finalidade do processo de floculação é para promover a interação de partículas e formar agregados que poderão ser eficientemente removidas por processos de separação subsequentes tais como sedimentação, flotação, filtração e adsorção. Para floculação ser eficiente a partícula em suspensão deve ser desestabilizada (LETTERMAN *et al.*, 1999).

### **3.4.2 Sedimentação**

A sedimentação é um processo clássico de separação sólido-líquido utilizado no tratamento de água principalmente para reduzir a concentração de sólidos em filtros granulares. Dessa forma, os filtros podem ser operados mais facilmente e com baixo custo para produzir água filtrada dentro das normas de potabilização. A sedimentação é um processo físico caracterizado por uma separação gravitacional que se baseia na diferença da densidade entre a partícula, ou floco, e a água. Esse processo é influenciado pelo tamanho da partícula. O lodo constitui o resíduo sedimentado composto por produtos utilizados durante a coagulação/floculação sendo constituído por partículas, matéria orgânica, microrganismos, produtos químicos que geralmente são acumulados por um certo período de tempo no próprio tanque de sedimentação (GREGORY *et al.*, 1999).

### **3.4.3 Filtração rápida**

A filtração é um processo físico-químico unitário utilizado na potabilização da água principalmente para remover o material remanescente como argila, microrganismos, colóides, matéria orgânica natural, precipitados de alumínio ou de ferro utilizado na coagulação (CLEASBY *et al.*, 1999). Ocorre em meio granular no qual as partículas são retidas nos vazios do meio granular sendo resultado da interação dos mecanismos de transporte, aderência e desprendimento (LIBÂNIO, 2010). Os filtros são compostos de areia apresentando granulometria diferenciada ficando sobreposta na camada suporte que é geralmente constituída de cascalho e pedregulho.

O mecanismo de transporte é caracterizado pela condução das partículas à superfície do material granular e posterior adesão por ação de forças superficiais. Quando essas forças de adesão são superadas as partículas são desprendidas e seguem para outras camadas do filtro, aumentando sua concentração no efluente e assim comprometendo a capacidade do meio filtrante em reter as impurezas (DI BERNARDO *et al.*, 2005).

A filtração é essencial para remoção das partículas responsáveis pela cor e turbidez, além disso, corrige falhas ocorridas durante a coagulação, floculação e sedimentação assegurando a qualidade da água tratada.

### 3.4.4 Desinfecção

A desinfecção constitui a etapa do tratamento que tem como objetivo a redução, destruição ou inativação de microrganismos remanescentes ao longo do tratamento sendo realizada pela adição de agentes físicos e/ou químicos.

Uma variedade de agentes químicos ou físicos podem ser utilizados para realizar a desinfecção. Os agentes físicos que se destacam na desinfecção são a radiação UV, a radiação gama, radiação solar e, em nível domiciliar, a fervura. A oxidação dos compostos químicos resulta na ruptura da parede celular e na difusão do desinfetante para o interior da célula. No caso dos agentes químicos destacam-se em ordem potencial de oxidação o ozônio, dióxido de cloro, cloro, bromo e iodo. Os desinfetantes químicos mais comumente utilizados são o cloro (livre e cloroaminas), o dióxido de cloro, o ozônio e a radiação ultravioleta (LIBÂNIO, 2010).

O tratamento convencional é insuficiente para remoção das cianotoxinas quando estão dissolvidas na água (DRICAS *et al.*, 2001). Dessa forma, torna-se necessário uma tecnologia de tratamento de água complementar que possa atuar em conjunto visando a otimização do processo. Várias tecnologias têm se destacado nos últimos anos, entre elas, oxidação química (CHANG *et al.*, 2015), microfiltração (SORLINI *et al.*, 2013; HUANG *et al.*, 2015), ultrafiltração (GIJSBERTSEN-ABRAHAMSE *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 2008), nanofiltração (TEIXEIRA *et al.*, 2005), osmose reversa (VILLACORTE *et al.*, 2015), adsorção utilizando carvão ativado (DONATI *et al.*, 1994; HUANG *et al.*, 2007; DIXON *et al.*, 2011; HO *et al.*, 2011) e os Processos Oxidativos Avançados.

### 3.5 Processos Oxidativos Avançados (POAS) no tratamento de água

Em 1894 o químico inglês Henry John Horstman Fenton e seus colaboradores publicaram um estudo descritivo mostrando que íons de ferro (II) na presença de certos agentes oxidantes produziram uma solução com elevado poder oxidante sendo referido posteriormente como "Reagente Fenton". Seu trabalho descreveu que íons ferrosos promoveram a oxidação do ácido tartárico na presença do peróxido de hidrogênio indicando seu poder de oxidação de moléculas orgânicas (FENTON, 1894; BARBUSIŃSKI, 2009).

Os POAs são alternativas de tratamento de água e águas residuárias com significativa importância sendo aplicado na restauração ambiental degradando diversos poluentes orgânicos. Podem ser combinados com outras tecnologias de tratamento, tais como pré-tratamento ou pós-tratamento sendo amplamente utilizado para melhorar o desempenho aumentando a eficiência do tratamento (NEYENS *et al.*, 2003; OLLER *et al.*, 2011). Ao longo das últimas duas décadas uma diversidade de POAs com base na geração de radicais hidroxila (OH<sup>•</sup>) foram desenvolvidos (Tabela 4).

**Tabela 4:** Classificação típica dos principais Processos Oxidativos Avançados.

	COM IRRADIAÇÃO	SEM IRRADIAÇÃO
HOMOGÊNEOS	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV	Fe <sup>2+</sup> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (Fenton)
	O <sub>3</sub> /UV	O <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
	Foto-Fenton	O <sub>3</sub> /OH <sup>•</sup>
	O <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV	
	Feixe de elétrons	
HETEROGÊNEOS	TiO <sub>2</sub> /O <sub>2</sub> /UV	Eletro-Fenton
	TiO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O/UV	

**Fonte:** FIOREZE *et al.*, 2014

Os sistemas homogêneos não apresentam catalizador na fase sólida. Os sistemas heterogêneos possuem catalizadores semi-condutores como o TiO<sub>2</sub>, ZnO e Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, que aceleram a velocidade da reação até atingir um equilíbrio químico sem sofrerem alteração química (NOGUEIRA, 2007).

Atualmente os POAs têm sido utilizados no tratamento de água (LINDEN *et al.*, 2014), efluentes industriais (KARTHIKEYAN *et al.*, 2011) e domésticos (CESARO *et al.*, 2013), antibióticos (LIU *et al.*, 2013), corantes (SOUZA *et al.*, 2005) desreguladores endócrinos (GAMA, 2012), fármacos (LI *et al.*, 2012), herbicidas (PIPI *et al.* 2014;), inseticidas (QUIROZ *et al.*, 2011), lixiviado (LOPES *et al.*, 2004), petróleo (MOTA *et al.*, 2008) desinfecção (GOSSELIN *et al.*, 2013); efluente têxteis (HALASZ *et al.*, 2012), aterro sanitário (SILVA *et al.*, 2006), entre outras substâncias de natureza orgânicas que são difíceis de serem removidas pelo tratamento convencional.

Os POAs oxidam compostos orgânicos e contaminantes inorgânicos melhorando a biodegradabilidade do efluente (ANTONOPOULOU, 2014; NOGUEIRA, 2007). A oxidação avançada dos poluentes orgânicos complexos e persistentes resultam na mineralização rápida, com a formação de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), água e espécies inorgânicas simples (CHRISTINE, 1995; SHARMA *et al.*, 2011). Atualmente tem intensificado o uso de uma variedade de POAs na degradação de variantes de cianotoxinas como as microcistinas obtendo-se excelentes resultados de degração dessas moléculas (Tabela 5).

**Tabela 5:** Utilização dos POAs na degradação de microcistinas.

<b>Processo Oxidativo Avançado</b>	<b>Variantes</b>	<b>Referências</b>
UV/ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	MC-LR, MC- RR e MC-YR	HE <i>et al.</i> , 2015
Fotocatalise	MC-LR	PINHO <i>et al.</i> , 2015
Fotocatalise (TiO <sub>2</sub> )	MC-LR	EL-SHEIKH <i>et al.</i> , 2014
Foto-Fenton solar, UV-A/Foto-Fenton e UV-C/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	MC-LR	FREITAS <i>et al.</i> , 2013
UV- H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	MC-LR	ZONG <i>et al.</i> , 2013
Fotocatalise (TiO <sub>2</sub> )	[D-Leu]-MC-LR	VILELA <i>et al.</i> , 2012
UV-C/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	MC-LR	HE <i>et al.</i> , 2012
Vis/FeY/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	MC-LR	FANG <i>et al.</i> , 2011
Reagente Fenton	MC-LR	BURITI, 2011
UV- H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	MC-LR	LI <i>et al.</i> , 2009
Reagente Fenton	MC-RR	ZONG <i>et al.</i> , 2009
Fotocatalise (TiO <sub>2</sub> )	MC-RR	ANTONIOU <i>et al.</i> , 2008
Reagente Fenton e O <sub>3</sub>	MC-LR	BOBER <i>et al.</i> , 2008
O <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , O <sub>3</sub> /Fe(II), Reagente Fenton	MC-LR e MC-RR	AL MOMANI <i>et al.</i> , 2007
TiO <sub>2</sub> e Fe (VI).	MC-LR	YUAN <i>et al.</i> , 2006
UV- H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	MC-RR	QIAO <i>et al.</i> , 2005
Reagente Fenton	MC-LR	BANDALA <i>et al.</i> , 2004
Reagente Fenton	MC-LR	YUAN, 2002
Reagente Fenton	MC-LR	GAJDEK <i>et al.</i> , 2001
TiO <sub>2</sub> - H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	MC-LR	CORNISH <i>et al.</i> , 2000

### 3.5.1 Reação Fenton

A reação Fenton é um tipo de POA que ocorre através da decomposição do peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) catalisada por íons férrico (Fe<sup>2+</sup>) em meio ácido gerando radicais hidroxila (OH<sup>•</sup>). O íon férrico é oxidado (perde elétrons) para íon ferroso (Fe<sup>3+</sup>) produzindo radical hidroxila (OH<sup>•</sup>) e um íon hidroxila (OH<sup>-</sup>), (Equação 1).



Várias reações secundárias podem ocorrer durante a reação Fenton. O íon férrico pode ser regenerado voltando ao ciclo através da redução do íon ferroso gerando também um radical hidroperoxila (HO<sub>2</sub><sup>•</sup>) e um próton (H<sup>+</sup>), (Equação 2).



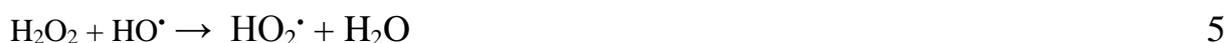
A reação de oxidação do íon férrico com o radical hidroxila produz íon ferroso e um íon hidroxila como mostra a Equação 3.



O peróxido de hidrogênio pode ser produzido voltando ao ciclo através da reação entre dois radicais hidroxila (Equação 4).



Quando o peróxido de hidrogênio está em concentrações excessivas pode reagir com o radical hidroxila produzindo água e radical hidroperoxila causando efeito negativo na degradação dos poluentes (GULKAYA *et al.*, 2006) (Equação 5).



O radical hidroxila é altamente reativo sendo um dos mais potentes oxidantes. Em condições ácidas, ele apresenta o segundo maior potencial de oxidação quando comparado com outros oxidantes (Tabela 6).

**Tabela 6:** Potencial de oxidação padrão de oxidantes comuns.

Oxidante	Potencial de oxidação (v)
Flúor (F <sub>2</sub> )	3,03
Radical hidroxila (OH <sup>*</sup> )	2,80
Oxigênio atômico (O <sub>2</sub> )	2,42
Ozônio (O <sub>3</sub> )	2,07
Peróxido de hidrogênio (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	1,77
Dióxido de cloro (ClO <sub>2</sub> )	1,67
ácido hipocloroso (HClO)	1,5
Cloro (Cl <sub>2</sub> )	1,49
Oxigênio (O <sub>2</sub> )	1,23
Bromo (Br <sub>2</sub> )	1,09

**Fonte:** BABUPONNUSAMI *et al.*, 2014; LINDEN, 2014

O pH é um parâmetro de grande importância na reação Fenton, uma vez que, está diretamente relacionado com a velocidade de degradação de compostos orgânicos. O pH eficiente na degradação de compostos orgânicos situa-se entre 2,5 e 3,0 (BOKARE *et al.*, 2014). Valor de pH acima de 3,0 contribui para a formação de precipitado de Fe(OH)<sub>3</sub> diminuindo drasticamente sua interação com peróxido de hidrogênio e, conseqüentemente, a produção de OH<sup>\*</sup> (KANG, 2002). Em solução alcalina (pH 11) o radical hidroxila e o peróxido de hidrogênio reagem para formar um óxido e um íon de peróxido (ASGHAR *et al.*, 2015). A relação entre as espécies químicas predominante do íon Fe<sup>+2</sup> e o pH são apresentadas na Tabela 7.

**Tabela 7:** Relação do pH da solução e as espécies de ferro.

pH	Espécie química predominante
1,0	$[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}_{(2)}$
2,0	$[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5\text{OH}]^+_{(2)}$
4,0	$[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{OH})_2]$

**Fonte:** BOKARE *et al.*, 2014

Abaixo de pH 2,5, a velocidade de degradação também diminui apesar das espécies de  $\text{Fe}^{+2}$  permanecerem solúveis, pois altas concentrações de  $\text{H}^+$  podem sequestrar radicais hidroxila de acordo com a Equação 6 (BOKARE *et al.*, 2014).



Esta estreita faixa de pH em que é máxima a eficiência da reação Fenton é uma das grandes limitações do processo, pois há a necessidade de ajuste de pH durante o tratamento, gerando o consumo de produtos químicos como alcalinizante e acidificante, além da necessidade de neutralização após tratamento antes do descarte em corpos hídricos (KANG, 2000).

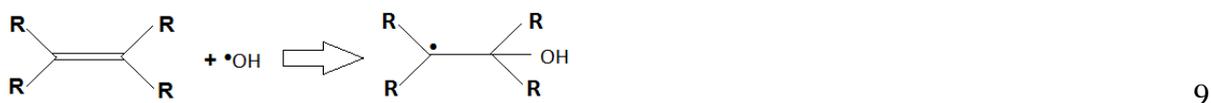
A reação da  $\text{OH}^\bullet$  com compostos orgânicos pode ocorrer através de três mecanismos: abstração de átomo de hidrogênio, adição eletrofílica e transferência eletrônica. A reação por abstração de átomo hidrogênio ocorre geralmente com hidrocarbonetos alifáticos. Os radicais hidroxila formados são capazes de oxidar compostos orgânicos gerando radicais orgânicos (Equação 7) (BRITO, 2012).



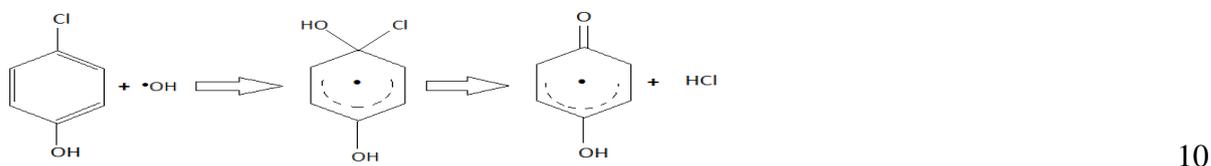
Posteriormente ocorre adição de oxigênio molecular formando radical peróxido (Equação 8).



A adição eletrofílica de radical hidroxila a compostos orgânicos que contêm ligações  $\pi$  resulta na formação de radicais orgânicos. Essas reações ocorrem normalmente com hidrocarbonetos insaturados ou aromáticos (Equação 9).



Os íons cloretos podem ser formados quando ocorre a rápida descloração de clorofenóis (Equação 10).



As reações de transferência eletrônica ocorrem em hidrocarboneto clorado. A transferência de elétrons é normalmente encontrada em reações entre radicais de íons hidroxila e inorgânicos (Equação 11) (NOGUEIRA *et al.*, 2007; BRITO, 2012).



Apesar da extensa diversificação e aplicações generalizadas de POAs baseados na reação Fenton, o ferro constitui o catalisador mais usado para decompor  $\text{H}_2\text{O}_2$  em  $\text{OH}^\cdot$ . O uso do ferro catalítico tem grandes vantagens como: (1) abundância elevada (quarto elemento mais abundante na crosta terrestre sendo o elemento mais comum na Terra em termos de massa total); (2) compatibilidade ambiental e de baixa toxicidade; (3) alta reatividade tanto para espécies  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$  e (4) baixo custo comercial. No entanto, a reatividade química do ferro é estritamente dependente da especiação do pH das espécies do  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$  determinando o tipo, a adequação e requisitos práticos para cada POA (CHRISTINE, 1995).

As principais razões para o uso do reagente Fenton são: (1) os radicais oxidantes são gerados em pressão e temperatura ambiente; (2) a natureza e flexibilidade do processo; (3) a facilidade de integração com processos existentes de tratamento de água, como a coagulação, filtração e oxidação biológica; (4) a rápida reação que ocorre entre o ferro e  $\text{H}_2\text{O}_2$  possibilitando

a ativação do  $\text{H}_2\text{O}_2$  e a geração subsequente de  $\text{OH}^\bullet$ ; (5) melhoram a qualidade organoléptica da água tratada; (6) em muitos casos consomem menos energia acarretando menor custo; (7) possibilitam tratamento *in situ* e (8) o custo e manuseio dos reagentes (ferro e  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) que faz com que o processo Fenton seja rentável e praticamente viável aumentando a eficiência da mineralização e a transformação de poluentes orgânicos em produtos não-tóxico (BOKARE *et al.*, 2014; BRITO, 2012; GAJDEK *et al.*, 2001).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Local da pesquisa e descrição geral

A pesquisa foi desenvolvida em escala de bancada no Laboratório de Química e Saneamento Ambiental (LAQUISA) localizado na Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários (EXTRABES) pertencente a Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), localizado na cidade de Campina Grande, Paraíba.

O presente trabalho avaliou a eficiência do Reagente Fenton na oxidação de água desclorada contaminada com Microcistina-LR seguido das etapas de coagulação, floculação e sedimentação. A Microcistina-LR foi escolhida por ser a variante mais tóxica do grupo das microcistinas que pode acometer organismo humano e de animais que entram em contato com a cianotoxina e por ser encontrada na maioria das florações de cianobactérias tóxicas relatadas no mundo inteiro. O desenvolvimento experimental seguiu as seguintes etapas:

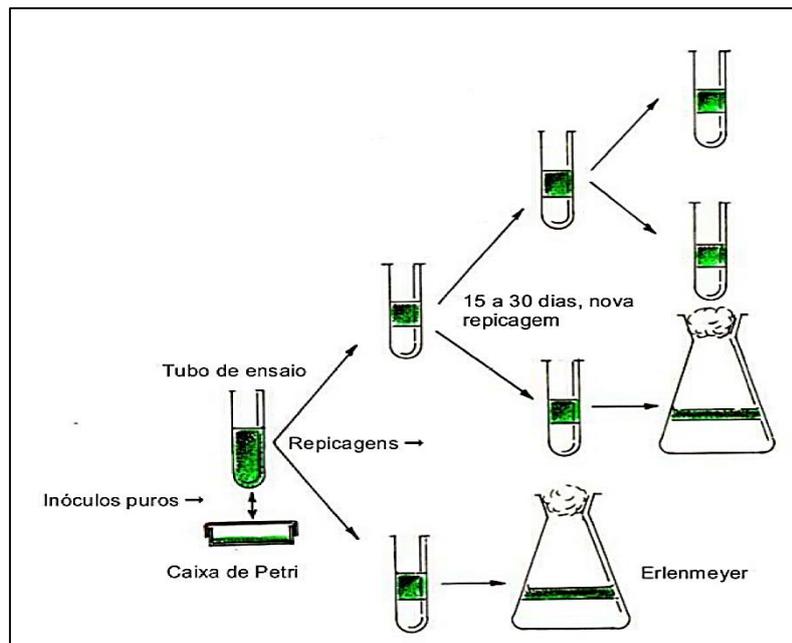
1. Cultivo da cepa tóxica de *Microcystis aeruginosa*;
2. Lise de células de *M. aeruginosa* realizada através do congelamento e descongelamento 3X de alíquotas do cultivo para liberar a microcistina-LR
3. Preparação da água de estudo: água potável desclorada + cultivo com microcistina-LR dissolvida e restos de células lisadas de *Microcystis aeruginosa*;
4. Elaboração do planejamento experimental Box-Behnken;
5. Execução de ensaio de oxidação, coagulação, floculação e sedimentação com Reagente Fenton utilizando diferentes dosagens de  $Fe^{+2}$ , pH, tempo de oxidação e sedimentação;
6. Análise dos parâmetros de controle: cor verdadeira, cor aparente, turbidez, microcistina-LR, carbono orgânico dissolvido, dureza total, nitrito, nitrato e amônia.

## 4.2 Cultivo de *Microcystis aeruginosa*

A cepa de *Microcystis aeruginosa* utilizada foi cedida pelo Prof. Dr. Armando Augusto Henriques Vieira, da Universidade Federal de São Carlos - Departamento de Botânica, que obteve a partir do isolamento de células coletadas no Reservatório do Rio Tietê/SP.

A espécie *M. aeruginosa* foi cultivada no LAQUISA em quantidades satisfatórias para a execução dos ensaios. O cultivo foi realizado em sala de cultura climatizada (24 °C) com fotoperíodo de 12 horas sob iluminação recebendo uma intensidade luminosa em torno de 1200 LUX, fornecidos por lâmpadas fluorescentes de 40W e 12 horas sem iluminação. Os cultivos de 2000 mL foram aerados com auxílio de compressor de ar utilizados em aeração de aquário. Os procedimentos realizados para repicagem da cultura de *Microcystis aeruginosa* são apresentados na Figura 7:

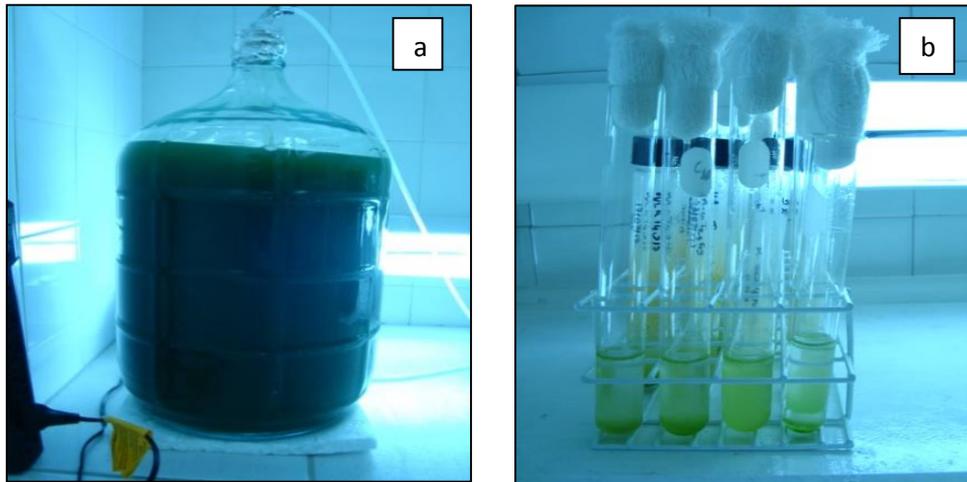
**Figura 7:** Esquema da repicagem de inóculos.



**Fonte:** FERREIRA, 2004. Desenhado por J. J Sá e Silva

As células inicialmente foram repicadas em volumes pequenos de 10 mL em tubos de ensaios e posteriormente em volumes maiores de 1000 mL até chegar em um volume 20 litros (Figura 8).

**Figura 8:** Cultivo de *Microcystis aeruginosa*: a) recipiente de 20 litros e b) cepas em tubos de ensaio.



O meio de cultura utilizado foi o ASM-1 líquido modificado de GORHAM *et al.*, (1964) e ZAGATTO & ARAGÃO (1992) que contém os nutrientes necessários para o desenvolvimento da biomassa de cianobactérias. As soluções que compõem o meio ASM-1 (A, B, C e D) foram diluídas em 1.000 mL de água deionizada e posteriormente o pH do meio de cultura foi ajustado para 7,4 e esterilizado em autoclave à 121 °C durante 20 minutos.

A esterilização do meio de cultura e da vidraria utilizada seguia as etapas: (1) imersão em solução de ácido clorídrico (5%) durante 24 horas; (2) autoclavagem à 121 °C e pressão de 1 atm durante 20 minutos e (3) radiação UV durante 30 minutos. O repique foi realizado em câmara de fluxo laminar com o meio ASM-1 e toda vidraria esterilizada e em temperatura ambiente. As soluções que compõem o meio de cultura ASM-1 são apresentadas na Tabela 8.

**Tabela 8:** Soluções do meio de cultura ASM-1

Soluções Estoque	Nutrientes	Quantidade (g)
Sol. A	NaNO <sub>3</sub>	8,5000
	MgSO <sub>4</sub> + 7H <sub>2</sub> O	2,4500
	MgCl <sub>2</sub> + 6H <sub>2</sub> O	2,0500
	CaCl <sub>2</sub> + 2H <sub>2</sub> O	1,4500
Sol. B	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	8,7000
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> + 12H <sub>2</sub> O	17,8000
Sol. C	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	28,4000
	MnCl <sub>2</sub> + 4H <sub>2</sub> O	13,9000
	FeCl <sub>2</sub> + 6H <sub>2</sub> O	10,8000
	ZnCl <sub>2</sub>	3,3500
	CoCl <sub>2</sub> + 6H <sub>2</sub> O	0,1900
	CuCl <sub>2</sub> + 2H <sub>2</sub> O	0,0140
Sol. D	EDTA titriplex	18,6000

O cultivo realizado foi baseado no método Estático ou Batch caracterizado pela transferência de células que ainda não atingiram a fase de crescimento estacionário. Os repiques foram realizados a cada 15 dias, quando o cultivo apresentava o crescimento exponencial, na ordem de  $10^6$  cel.mL<sup>-1</sup>. A densidade celular foi quantificada através da contagem de células utilizando microscópio invertido e aplicando-se o método de sedimentação de UTHERMÖHL (1958).

#### 4.3 Extração da MC-LR e preparação da água de estudo (AE)

Para o presente trabalho utilizou-se água potável distribuída pela Companhia de Água e Esgoto da Paraíba (CAGEPA) que foi desclorada durante 48 horas antes do uso. A água de estudo (AE) foi preparada adicionando cultivo de células lisadas de *M. aeruginosa* obtida no laboratório na proporção de 1/10 (cultivo/água potável) diretamente na água desclorada.

A lise do cultivo foi obtida através do processo de congelamento e descongelamento realizado três vezes para promover a ruptura celular e liberação da toxina para o meio líquido. O processo de gelo/degelo foi realizado no final de 15 dias de incubação, momento que o cultivo atingiu a fase de crescimento exponencial chegando a uma concentração de  $10^6$  células.mL<sup>-1</sup>. O cultivo lisado foi mantido sob congelamento até o momento do uso.

#### 4.4 Planejamento Experimental

O planejamento fatorial é uma ferramenta de grande utilidade quando se deseja estudar os efeitos de duas ou mais variáveis de influência em um determinado experimento. São realizadas tentativas com todas as combinações possíveis dos níveis de cada variável investigada.

O planejamento experimental de três fatores e três níveis tipo Box-Behnken foi empregado para a realização dos experimentos. Este planejamento permite a construção de um modelo polinomial de segunda ordem para caracterizar ou otimizar um processo com um menor número de experimentos. Este modelo inclui pelo menos um nível intermediário (0), estabelecido para cada combinação de fatores. O modelo apresenta a seguinte forma:

$$Y_i = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_4X_1X_2 + a_5X_2X_3 + a_6X_1X_3 + a_7X_1^2 + a_8X_2^2 + a_9X_3^2 + E \quad 12$$

onde,  $a_0 - a_9$ : são os coeficientes de regressão;

$X_1$  a  $X_3$ : denotam os fatores;

$Y$ : é a resposta medida associada com as combinações dos fatores;

$E$ : representa o erro experimental.

Os fatores em estudos incluíram a concentração do  $Fe^{2+}$  (de acordo com a razão  $H_2O_2/Fe^{2+}$  de 1/3 definidas para todos os ensaios), pH e o tempo de oxidação. No estudo os fatores foram estabelecidos em um nível baixo, intermediário e alto, codificados como -1, 0 e 1, respectivamente. A Tabela 9 mostra os fatores e seus níveis para o desenvolvimento do Box-Behnken.

**Tabela 9:** Fatores e variáveis para executar a matriz de planejamento

Fatores	Níveis		
	-	0	+
$X_1$ : $Fe^{2+}$ (mg.L <sup>-1</sup> )	5	17,5	30
$X_2$ : pH	2	4,5	7
$X_3$ : Tempo (min)	5	12,5	20

A Tabela 10 apresenta o planejamento experimental tipo Box-Behnken.

**Tabela 10:** Matriz de planejamento Box-Behnken

Tratamento	Variáveis					
	Codificadas			Numéricas		
	X1	X2	X3	X1	X2	X3
			Fe <sup>2+</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	pH	Tempo	
T1	-1	-1	0	5,0	2,0	12,5
T2	1	-1	0	30,0	2,0	12,5
T3	-1	1	0	5,0	7,0	12,5
T4	1	1	0	30,0	7,0	12,5
T5	-1	0	-1	5,0	4,5	5,0
T6	1	0	-1	30,0	4,5	5,0
T7	-1	0	1	5,0	4,5	20,0
T8	1	0	1	30,0	4,5	20,0
T9	0	-1	-1	17,5	2,0	5,0
T10	0	1	-1	17,5	7,0	5,0
T11	0	-1	1	17,5	2,0	20,0
T12	0	1	1	17,5	7,0	20,0
T13	0	0	0	17,5	4,5	12,5
T14	0	0	0	17,5	4,5	12,5
T15	0	0	0	17,5	4,5	12,5

Os dados obtidos durante os experimentos foram interpretados e analisados através de ferramentas estatísticas plotando-se gráfico de superfície de resposta, diagrama de Pareto e análise de variância (ANOVA) através dos softwares Microsoft Excel 2013, Statistic 8.0 e Origin 8.1.

#### 4.5 Descrição da execução dos experimentos

Os experimentos de oxidação, coagulação, floculação e sedimentação foram realizados em *JarTest* (Figura 9) que simula as etapas iniciais que fazem parte do ciclo completo de uma Estação de Tratamento de Água (ETA) convencional.

**Figura 9:** Sistema experimental: *JarTest* da marca Poli Control.



Os experimentos em *JarTest* possibilitam identificar e otimizar as melhores condições operacionais que resulte na melhor eficiência de reagentes podendo determinar a dosagem ótima do oxidante e o melhor tempo e pH. Os parâmetros hidráulicos pré-programados no *JarTest* para todos os ensaios utilizados durante os experimentos de oxidação, coagulação, floculação e sedimentação estão descritos na Tabela 11.

**Tabela 11:** Parâmetros utilizados nos ensaios de oxidação, coagulação, floculação e sedimentação.

PARÂMETRO	VALOR
Tempo de Mistura rápida ( $T_{mr}$ )	10 s
Gradiente médio de mistura rápida ( $G_{mr}$ )	$1000 \text{ s}^{-1}$
Tempo de floculação ( $T_f$ )	20 min
Gradiente médio de floculação ( $G_{mf}$ )	$30 \text{ s}^{-1}$
Velocidade de sedimentação ( $V_s$ )	$1,40 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$

SANTIAGO (2008) adaptado do Programa de Pesquisa em Saneamento Básico (PROSAB) Edital 5 tema 1 (2006).

Antes de executar os ensaios construíram-se curvas para determinar a quantidade de ácido clorídrico (HCl) para ajustar o pH da água de estudo para o desejado (2,0; 4,5 e 7,0). Da mesma forma definiu o volume de hidróxido de sódio (NaOH) para elevar o pH para 8,0. A estequiométrica da dosagem dos reagentes foi utilizada de acordo com a metodologia estabelecida por DE JÚLIO *et al.*, 2006. A dosagem de peróxido de hidrogênio foi três vezes o

requerido na estequiometria (3E) da reação Fenton sendo esta relação usada para todas as dosagens do sulfato ferroso.

De acordo com a Equação da reação Fenton, verifica-se que 1 mol de  $\text{Fe}^{+2}$  reage com 1 mol de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Sabe-se que 1 mol de  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  possui massa de 278,02 g, correspondendo a uma massa de  $\text{Fe}^{+2}$  de 55,85 g. Uma dosagem de  $15 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  corresponde a  $3,01 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Fe}^{+2}$  ( $15 \times 55,85/278,02$ ), cuja estequiometria estabelece uma dosagem de  $1,83 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $3,01 \times 34,01/55,85$ ). Para uma dosagem de 3E, tem-se  $5,5 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $3 \times 1,83$ ).

A água de estudo foi adicionada nas seis jarras, sendo dois litros em cada jarra, e o reagente Fenton, sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) foram colocados em tubos de ensaio separados e adicionados simultaneamente no início do processo. Para os testes de oxidação, coagulação/floculação e sedimentação utilizaram dosagem do reagente Fenton sendo utilizada a razão molar  $1/3$  de  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ . A solução de  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  foi preparada com concentração de 1% e a de  $\text{H}_2\text{O}_2$  com concentração de  $2000 \text{ mg.L}^{-1}$ .

Durante a oxidação buscou-se definir o melhor pH, tempo de oxidação e melhor razão  $\text{Fe}^{+2}/\text{H}_2\text{O}_2$  que promovessem as melhores remoções dos parâmetros em estudo. No final da oxidação adicionava o hidróxido de sódio (NaOH) 1M para elevar o pH para 8,0 e interromper a oxidação e coletava uma amostra de cada jarra para realizar a análise da microcistina-LR e do carbono orgânico dissolvido. Em seguida iniciava a coagulação realizada em mistura rápida após o pH ser ajustado para 8,0. A floculação seguia a coagulação sendo realizada em mistura lenta durante 20 minutos. Posteriormente realizava a sedimentação visando determinar o melhor tempo de sedimentação testando tempos de 5, 10, 15, 20 e 30 minutos. No final dessa etapa coletava uma amostra de cada jarra para análise dos “parâmetros de controle”.

## 4.6 Parâmetros de controle

### 4.6.1 Análises pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*

Os parâmetros analisados de acordo com as recomendações do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012) foram a turbidez, cor verdadeira e cor aparente conforme descrito na Tabela 12.

**Tabela 12:** Parâmetros analisados e seu respectivo método.

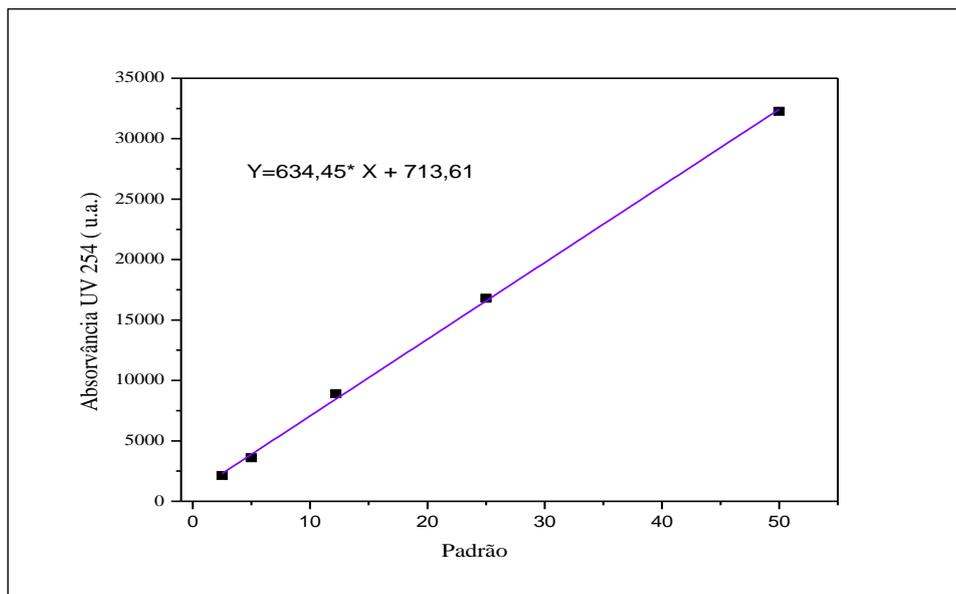
PARÂMETRO	MÉTODOS APHA, (2012)
Turbidez (uT)	Nefelométrico 2130 B
Cor verdadeira (uH)	Espectrofotométrico 2120 C
Cor aparente (uH)	Espectrofotométrico 2120 C

### 4.6.2 Análise de carbono orgânico dissolvido

O carbono orgânico dissolvido (COD) foi determinado através do método TOC DIFF em um analisador de carbono da marca Analytik Jena MC 3100 que realiza a determinação direta do carbono orgânico total (COT), carbono orgânico não-purgável (CONP), carbono total (TC), carbono inorgânico total (CIT) e carbono orgânico purgável (COP) (determinação indireta) em amostras de água. Os padrões para a curva analítica para determinação do COT foram feitos com solução de biftalato de potássio, e para o CIT foi realizada com solução de carbonato e bicarbonato de sódio.

Para determinação do COD realizava a filtração de 20 mL da amostra em membrana de acetato de celulose (Millipore®) de porosidade correspondente a 0,45 µm. A Figura 10 apresenta a curva realizada para determinação do carbono orgânico dissolvido e a Tabela 13 apresenta as características do método utilizado para determinação do carbono orgânico dissolvido.

**Figura 10:** Curva analítica para determinação do COD.



**Tabela 13:** Característica do método utilizado para determinação do carbono orgânico

Método de análise	TOC DIFF
Limite de Detecção	945,1 (mg.L <sup>-1</sup> )
Limite de identificação	1,89 (mg.L <sup>-1</sup> )
Limite de quantificação	3,67 (mg.L <sup>-1</sup> )
Volume da amostra	500 µL
Temperatura do forno	850°C
Leitura do padrão	3X

### 4.6.3 Cromatografia Iônica

As análises de dureza total (cálcio e magnésio), nitrito, nitrato e amônia foram realizadas por Cromatografia Iônica utilizando cromatógrafo da marca Dionex – Thermo Scientific, modelo ICS – 1100. As amostras foram filtradas em membrana de acetato de celulose (Millipore®) 0,45 µm e em seguida em filtro de seringa nylon (Allcron) com tamanho de poro 0,22 µm, após a filtragem as amostras foram diluídas e posteriormente analisadas. As condições de trabalho para cada um dos módulos cromatográficos são apresentadas na Tabela 14.

**Tabela 14:** Parâmetro utilizados nas análises por cromatografia.

<b>Análise de ânions</b>	Coluna cromatográfica	Dionex Ion Pac AG23
	Pré-coluna	Dionex Ion Pac AG23
	Supressora	ASRS 300 2 mm
	Eluente	Solução de Carbonato (4,5 mM) e Bicarbonato de Sódio (98 mM)
	Pressão da coluna e pré-coluna	≤ 1100 Psi
	Volume do Loop	25 µL
	Temperatura	35 °C
	Fluxo do Eluente	0,25 mL.min <sup>-1</sup>
<b>Análise de cátions</b>	Coluna cromatográfica	Dionex Ion Pac CS 12A
	Pré-coluna	CS CG 12 <sup>a</sup>
	Supressora	ASRS 300 2 mm
	Eluente	Solução 10 mmol.L <sup>-1</sup> de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
	Pressão da coluna e pré-coluna	≤ 1100 Psi
	Volume do Loop	25 µL
	Temperatura	35 °C
	Fluxo do Eluente	0,25 mL.min <sup>-1</sup>

Para remoção da interferência de cloretos realizou uma preparação das amostras visando a precipitação. Preparava uma solução com 500 µL da amostra, 3,5 mL de água destilada e 1 mL de sulfato de prata. Realizava a homogeneização para formar flocos e posteriormente filtrava em membrana de 0,2 µm.

#### 4.6.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

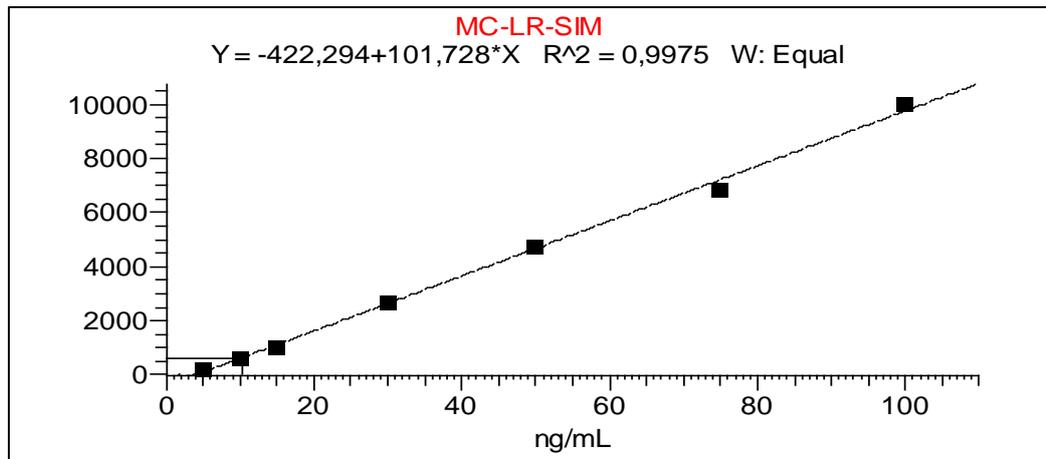
A identificação e quantificação de microcistina-LR foi realizada através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao Espectrômetro de Massas (CLAE/EM). A curva analítica foi feita com solução-padrão da microcistina-LR com concentração de 10 µg.mL<sup>-1</sup>, certificada e obtida da National Research Council, Canadá. As condições analíticas para identificar e quantificar a MC-LR foi baseada no método desenvolvido por DE JÚLIO, 2010 com algumas modificações, descritas na Tabela 15.

**Tabela 15:** Descrição dos parâmetros utilizados na análise de CLAE/EM.

PARÂMETROS	DESCRIÇÃO
Pré –Coluna	Cartucho ULTRA C18 (3 x 2,1 mm)
Coluna	KINETEX C18 (2,6 µm x 100 mm x 2,1 mm)
Gradiente de concentração	50% H <sub>2</sub> O e 50% de acetonitrila e 1% de ácido fórmico (isocrático)
Tempo total de análise	5 minutos
Volume de injeção da amostra	100 µL
Gases utilizados	Hélio e Nitrogênio
Temperatura do capilar	350 °C
Voltagem do detector	5 kV
Interface	Electrospray ionization (ESI) - modo positivo
Íons monitorados	Monitoramento no modo positivo FULLSCAN
Intervalo de varredura m/z	0 até 5 minutos (800 a 1050). Monitoramento no modo positivo de ionização, varredura dos íons no modo FULLSCAN, e SIM para Microcistina LR: m/z = 995,5560 (M+H) <sup>+</sup>
Tempo de acumulação de íons no octapolo	Microcistina-LR: 100 milisegundos
Temperatura do Forno da coluna	40 °C

A curva foi construída com sete pontos e as respectivas concentrações: 5; 10; 15; 30; 50; 75; 100 µg.L<sup>-1</sup>. Todos os pontos da curva analítica foram preparados utilizando o solvente 50% água/metanol sendo analisadas em ordem crescente de concentração e de acordo com as características descritas na Tabela 15 que representam condições cromatográficas otimizadas para a determinação da microcistina-LR. A curva analítica obtida no espectrômetro de massas para o padrão da MC-LR foi linear com o coeficiente de correlação (r) de 0,9975. A Figura 11 apresenta a curva analítica preparada com o padrão da MC-LR.

**Figura 11:** Curva analítica para quantificação da MC-LR.



Para detecção da MC-LR remanescente no espectrômetro de massa foi necessário o emprego de técnica de concentração da amostra. Inicialmente um volume de 60 mL da amostra foi filtrada em membrana de acetato de celulose (Millipore®) de porosidade de 0,45 µm e posteriormente o volume filtrado foi concentrado em cartucho octadecil C18 para retenção da microcistina-LR. Antes de utilizar o cartucho (C18) realizou-se o processo de condicionamento utilizando 5 mL de metanol e 5 mL de água. Após concentrar a amostra descarta o filtrado e recolhe o concentrado que ficou adsorvido na fase sólida no cartucho eluindo-o com 5 mL de metanol.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização da água de estudo

A água de estudo foi previamente caracterizada antes de todos os ensaios. Os resultados estão dispostos na Tabela 16.

**Tabela 16:** Caracterização da água de estudo.

Parâmetro	Média
pH	7,4
Cor Verdadeira (uH)	20,91
Cor Aparente (uH)	478
Turbidez (uT)	29,95
COD (mg.L <sup>-1</sup> )	23,68
Dureza Total (mg.L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub> )	18,4
Nitrito (mg.L <sup>-1</sup> )	1,47
Nitrato (mg.L <sup>-1</sup> )	2,54
Amônia (mg.L <sup>-1</sup> )	0,03
MC-LR (µg.L <sup>-1</sup> )	10,24

De acordo com a Tabela 16 a água de estudo apresentou pH com leve alcalinidade. A turbidez e a cor aparente apresentaram valores bastante elevados em relação ao recomendado pela portaria 2914 do Ministério da Saúde. Isso se deve a composição da água de estudo que é constituída por cultivo lisado de cianobactérias que foi adicionado diretamente na água potável sem nenhum processo de filtração e, portanto, com concentração bastante elevada de matéria orgânica, pigmentos e restos celulares de cianobactérias conferindo turvação. Dessa forma, objetiva-se simular uma situação de eutrofização que ocorre em ambiente natural. A concentração de MC-LR também apresentou valor bastante elevado em relação à Portaria 2914/2011, sendo um valor encontrado com frequência em ambientes lênticos e indica riscos sérios à saúde humana.

## 5.2 Ensaios de oxidação

A Tabela 17 apresenta os resultados da concentração de microcistina-LR remanescente após a oxidação Fenton e o respectivo percentual de remoção.

**Tabela 17:** Microcistina-LR remanescente após a oxidação

Tratamento	Fe <sup>2+</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	pH	Tempo de oxidação (minutos)	MC-LR (µg.L <sup>-1</sup> )	% Remoção
T1	5,0	2,0	12,5	ND	100
T2	30,0	2,0	12,5	0,07	99,3
T3	5,0	7,0	12,5	ND	100
T4	30,0	7,0	12,5	0,08	99,2
T5	5,0	4,5	5,0	ND	100
T6	30,0	4,5	5,0	0,07	99,3
T7	5,0	4,5	20,0	0,09	99,1
T8	30,0	4,5	20,0	ND	100
T9	17,5	2,0	5,0	ND	100
T10	17,5	7,0	5,0	0,08	99,2
T11	17,5	2,0	20,0	0,08	99,2
T12	17,5	7,0	20,0	ND	100
T13	17,5	4,5	12,5	ND	100
T14	17,5	4,5	12,5	ND	100
T15	17,5	4,5	12,5	ND	100

ND: não detectada

De acordo com a Tabela 17 a MC-LR remanescente após a oxidação foi detectada somente nos tratamentos T2, T4, T6, T7, T10 e T11 indicando a eficiência do tratamento realizado. Dessa forma, conforme foi observado nesta pesquisa a concentração de MC-LR de 10,24 foi degradada em todas as faixas de pH estudadas (2,0; 4,5; 7,0) nos tempos de oxidação de 5; 12,5 e 20 minutos e nas concentrações de 5,0; 17,5 e 30 mg.L<sup>-1</sup>.

As concentrações detectadas nos tratamentos foram inferiores a 1 µg.L<sup>-1</sup> tornando a água dentro dos padrões de qualidade estabelecido pela legislação atual para esse parâmetro.

Zhong (2009) e colaboradores avaliaram a eficácia de remoção e possível mecanismo de oxidação da MC-RR, variante da MC, utilizando o reagente Fenton. Foi observado que os

valores iniciais de pH 3,01; 4,18; 5,12 e 6,84 apresentaram boa eficiência de remoção de MC-RR. O autor destaca que o pH 2,01 apresentou uma eficiência de degradação baixa justificado pelo efeito das espécies de ferro na produção dos radicais hidroxila.

Vilela (2012) e colaboradores analisaram a degradação da [D-Leu]-Microcystin-LR uma variante da MC-LR com concentração de 10 mg.L<sup>-1</sup> com pH ajustado para 3,0, descrito como o pH ótimo para a adsorção da toxina em TiO<sub>2</sub>. Os autores relataram que foram necessários 150 minutos para reduzir a concentração de 90% da concentração inicial.

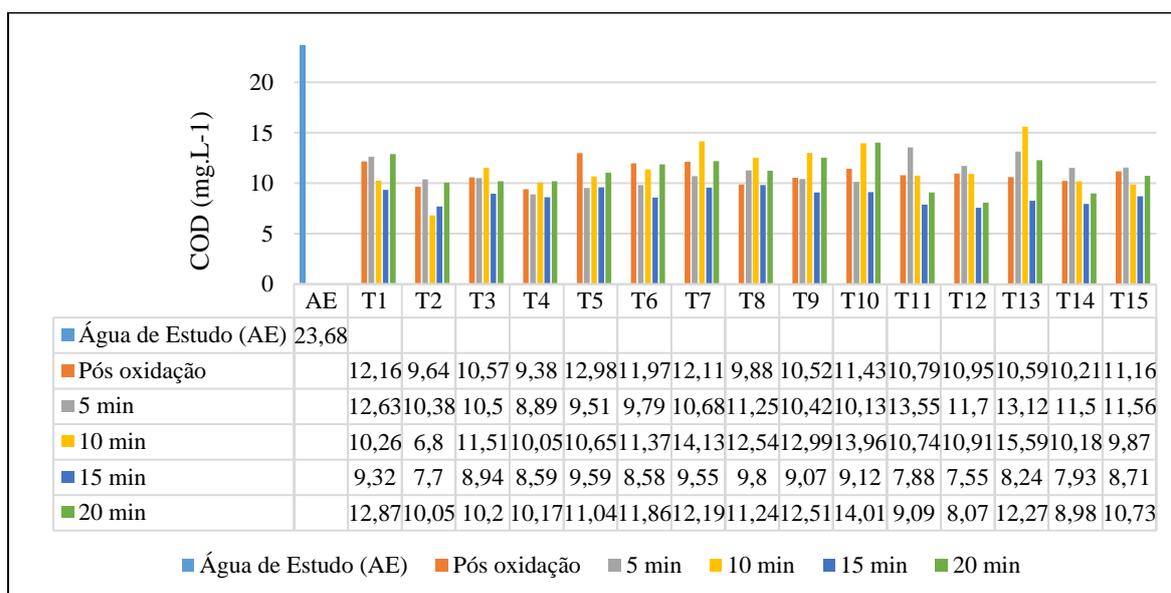
### 5.3 Definição do tempo de sedimentação

São apresentados os resultados de todos os tratamentos de acordo com o tempo de sedimentação estabelecido visando definir o melhor tempo de sedimentação e o melhor tratamento que apresentaram resultados expressivos.

#### 5.3.1 Carbono orgânico dissolvido (COD)

A Figura 12 apresenta os resultados para o COD remanescente após a oxidação Fenton e no final do tratamento nos tempos de sedimentação de 5, 10, 15 e 20 minutos. O valor inicial do COD na água de estudo foi de 23,68 (mg.L<sup>-1</sup>).

**Figura 12:** Carbono orgânico dissolvido remanescente após oxidação Fenton e sedimentação.



De acordo com a Figura 12 os resultados do COD após a oxidação são semelhantes aos encontrados após a sedimentação. O COD diminui de forma similar em todos os tratamentos nos tempos de sedimentação de 5, 10 e 15 minutos e aumenta após 20 minutos de sedimentação. Esse aumento do COD ao longo do tempo de sedimentação de 20 minutos pode ser explicado devido ao fato que períodos de sedimentação longos favorecem a dissolução dos flocos formados resultando no aumento da matéria orgânica dissolvida (DI BERNARDO *et al.*, 2005).

O valor do COD indica a concentração de matéria orgânica natural dissolvida numa amostra. O COD é a fração dissolvida do COT após filtração em membrana de 0,45 µm. A matéria orgânica natural no ambiente aquático é resultado da presença de compostos orgânicos que são derivados principalmente da decomposição de resíduos de vegetais e animais (SILLANPÄÄ *et al.*, 2015).

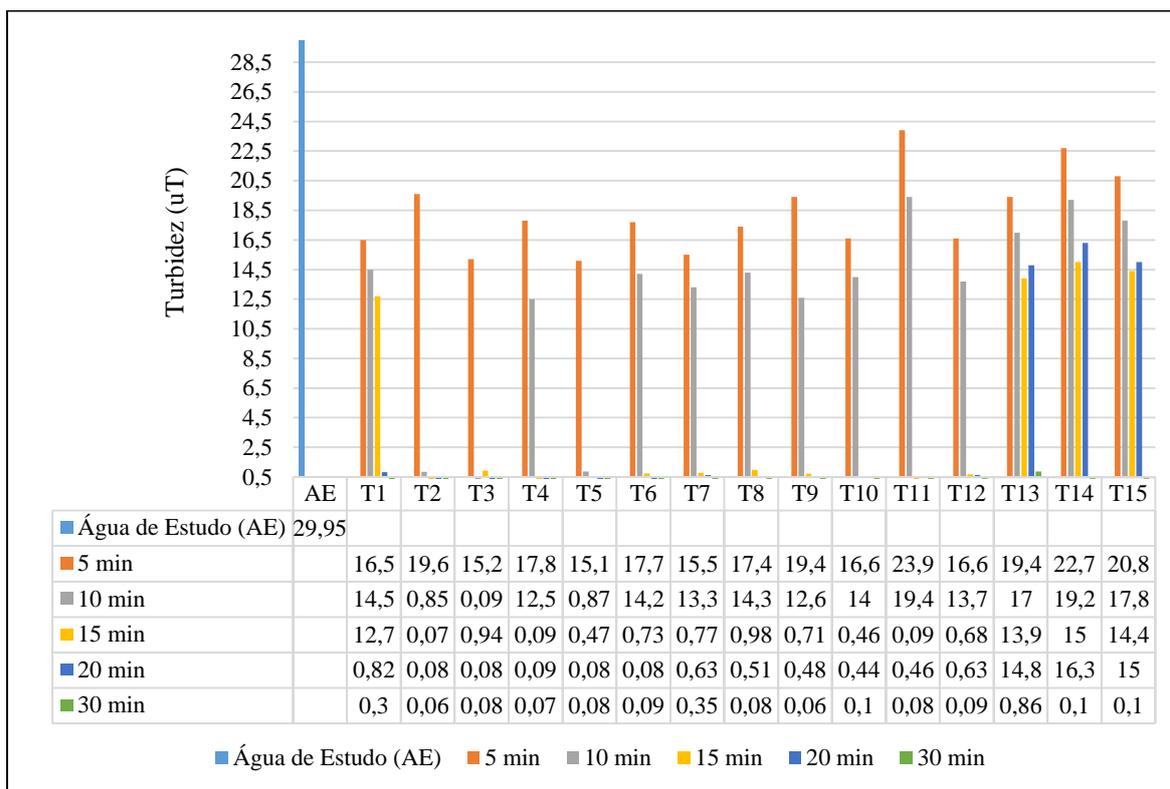
A remoção da matéria orgânica natural é uma estratégia para reduzir a formação de subprodutos cancerígenos tais como os trihalometanos e ácidos haloacéticos que podem ser formados durante a desinfecção por cloração além de contribuírem para a formação de biofilme bacteriano em sistemas de distribuição de água potável (SILLANPÄÄ *et al.*, 2015)

Murray (2004) e colaboradores avaliaram o desempenho do reagente Fenton e Foto-Fenton na remoção do COD. O parâmetro mais significativo na determinação da eficiência de remoção foram essencialmente o pH e a dose do Fe<sup>2+</sup>. A alta eficiência de remoção é alcançada dentro de uma faixa de pH 4-6, tornando o processo mais atraente para os serviços públicos de água.

### **5.3.2 Turbidez**

Na Figura 13 são apresentados os resultados da turbidez remanescente no final do tratamento com os tempos de sedimentação de 5, 10, 15, 20 e 30 minutos.

**Figura 13:** Turbidez remanescente após a etapa de sedimentação.

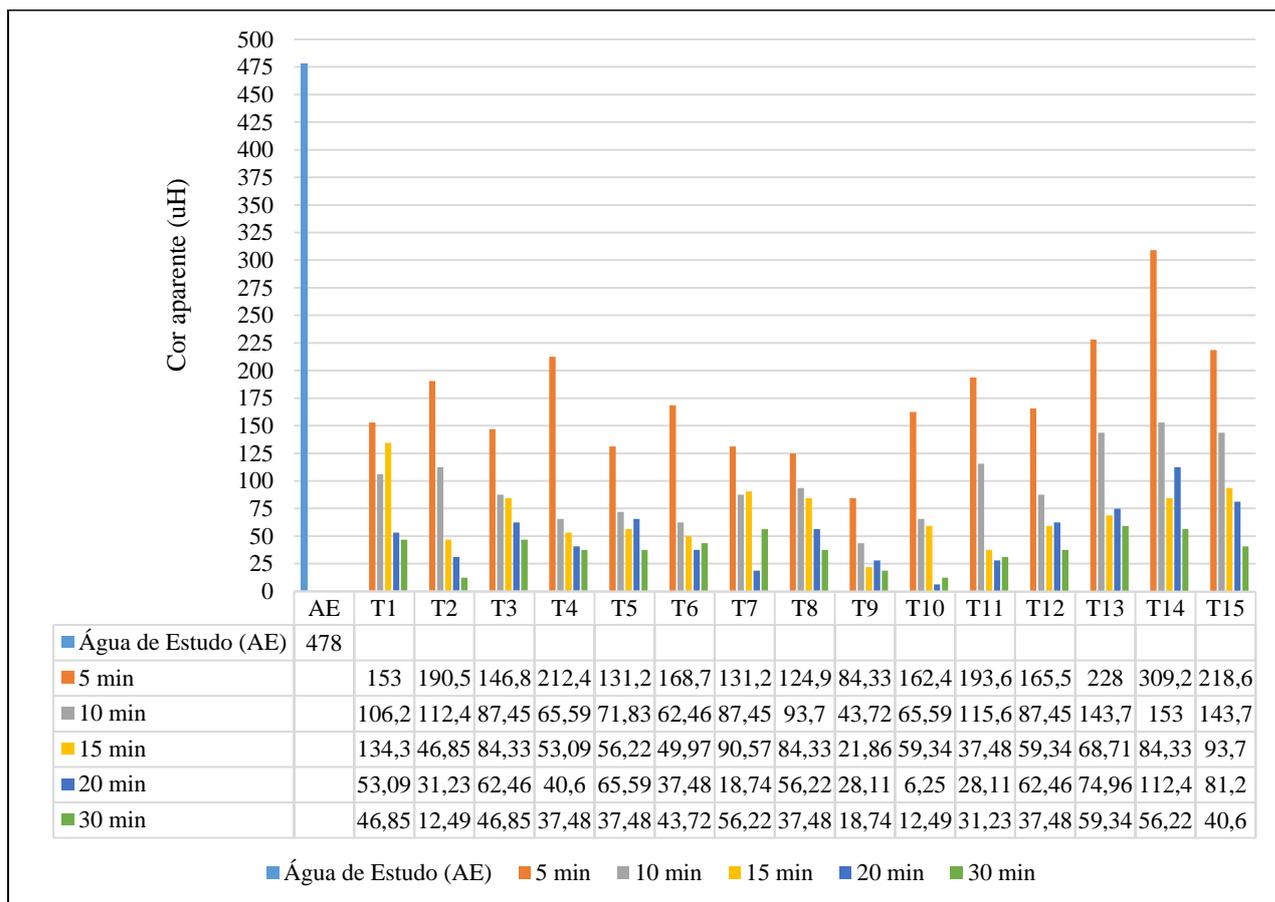


Conforme a Figura 13 o tempo de 5 minutos de sedimentação apresentou valores elevado em todos os tratamentos mostrando que é inviável para obtenção de valores que atendam a portaria 2914/2011. Como pode ser observado de forma geral quanto maior o tempo de sedimentação, menor o valor da turbidez remanescente, desta forma o tempo de 5 minutos apresentou os resultados menos expressivos. Este comportamento se deve ao fato de que quanto maior o tempo de repouso, maior será a quantidade de partículas floculadas que serão decantadas. Após 10 minutos de sedimentação os tratamentos T2, T3 e T5 apresentaram valores de turbidez que atendem as recomendações da portaria vigente. No tempo de 15 minutos os tratamentos T2 à T12 apresentam turbidez inferior a 1,0 uT, enquanto os tratamentos T1, T13, T14 e T15 apresentam valores bastante elevados. A partir de 30 minutos todos os tratamentos produziram turbidez remanescente inferior a 0,5 uT.

### 5.3.3 Cor Aparente

A Figura 14 apresenta os resultados de cor aparente remanescente. O valor inicial da cor aparente na água de estudo foi de 478 uH.

**Figura 14:** Cor aparente remanescente após a etapa de sedimentação.

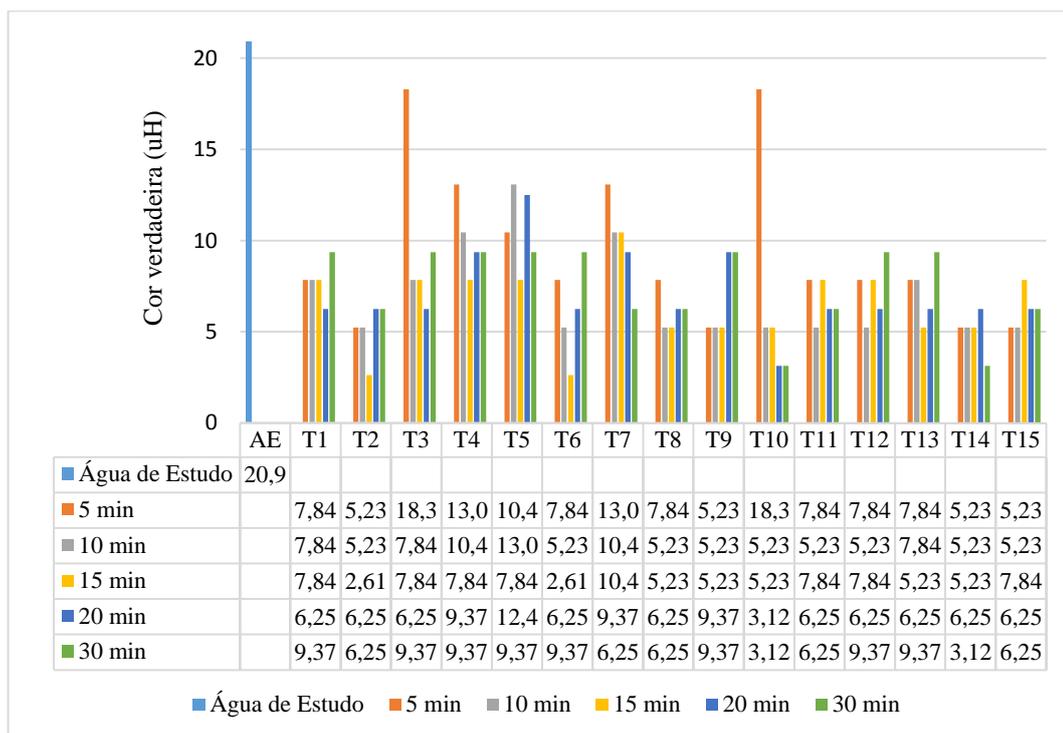


De acordo com a Figura 14 os resultados de cor aparente apresentaram comportamento semelhante com a turbidez na maioria dos tratamentos, ou seja, com o aumento do tempo de sedimentação ocorre a diminuição da cor aparente. Dessa forma o tratamento T2 com 30 minutos de sedimentação apresentou cor aparente de 12,49 uH valor de acordo com a portaria 2914 de 2011 do Ministério da Saúde.

### 5.3.4 Cor verdadeira

A Figura 15 apresenta os resultados de cor verdadeira remanescente. O valor inicial da cor verdadeira na água de estudo foi de 20,91 uH.

**Figura 15:** Cor verdadeira remanescente após a etapa de sedimentação.



De acordo com os resultados apresentados na Figura 15, pode observar que o reagente Fenton também é muito eficiente na remoção da cor verdadeira. Os tratamentos T2 e T6 no tempo de sedimentação de 15 minutos apresentaram valores mais expressivos de remoção apresentando 2,61 uH.

### 5.4 Características da água tratada

A Tabela 18 apresenta os resultados obtidos em função do melhor tempo de sedimentação. Desta forma escolheu-se como ideal o tempo de sedimentação de 15 minutos, uma vez que, tempo maior que 15 minutos ocasiona a ressolubilização dos flocos aumentando a matéria orgânica dissolvida que resulta na elevação da cor verdadeira e do COD. Para o tempo

de 15 minutos de sedimentação foram realizadas análises da dureza total, nitrito, nitrato e amônia.

**Tabela 18:** Características físicas e químicas da água tratada após 15 minutos de sedimentação

Tratamento	Turbidez (uT)	Cor verdadeira (uH)	Cor aparente (uH)	COD (mg.L <sup>-1</sup> )	Dureza total (mg.L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub> )	Nitrito (mg.L <sup>-1</sup> )	Nitrato (mg.L <sup>-1</sup> )	Amônia (mg.L <sup>-1</sup> )
Água de estudo	29,95	20,91	478	23,68	18,4	1,47	2,54	0,03
T1	12,70	7,84	134,30	9,32	12,5	0,00	0,17	0,01
T2	0,07	2,61	46,85	7,7	20,5	0,00	0,07	0,02
T3	0,94	7,84	84,33	8,94	15,7	0,14	0,00	0,02
T4	0,09	7,84	53,09	8,59	14,3	0,11	0,00	0,01
T5	0,47	7,84	56,22	9,59	10,15	0,30	0,00	0,02
T6	0,73	2,61	49,97	8,58	4	0,11	0,00	0,04
T7	0,77	10,46	90,57	9,55	7,1	7,57	0,00	0,05
T8	0,98	5,23	84,33	9,8	8,1	0,12	0,00	0,00
T9	0,71	5,23	21,86	9,07	3,32	0,00	1,58	0,02
T10	0,46	5,23	59,34	9,12	23,8	0,27	0,30	0,01
T11	0,09	7,84	37,48	7,88	5,5	0,14	0,43	0,06
T12	0,68	7,84	59,34	7,55	22	0,00	0,00	0,00
T13	13,90	5,23	68,71	8,24	17,76	0,16	0,55	0,08
T14	15,00	5,23	84,33	7,93	9	0,09	0,24	0,2
T15	14,40	7,84	93,70	8,71	10,7	0,04	0,00	0,01

A Tabela 18 indica que o tempo de sedimentação de 15 minutos foi o ideal tendo em vista a eficiência de remoção dos parâmetros em estudo. A escolha foi feita em função do COD e da cor verdadeira que apresentaram aumento nos tempos de sedimentação de 20 e 30 minutos.

Conforme a Tabela 18 os melhores valores de turbidez foram obtidos com os tratamentos T2-T12 gerando valores inferiores a 1 uT e os maiores valores foram identificados nos tratamentos T1, T13, T14 e T15. Os tratamentos T2 e T6 foram os mais significativos para remoção da cor verdadeira 2,61 uH. O T2 e T12 foram os mais expressivos para remoção do COD apresentando respectivamente concentração de 7,7 e 7,55 mg.L<sup>-1</sup>.

A dureza total e amônia apresentaram valores baixos e de acordo com as recomendações da portaria 2914/2011-MS. O nitrato atingiu concentrações inferiores a  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  sendo o tratamento T7 o único que apresentou valor acima do recomendado ( $7,57 \text{ mg.L}^{-1}$ ). A cor aparente apresentou valores acima aos da portaria citada em todos os tratamentos, no entanto, por ser causada por partículas suspensas pode ser removida em filtros de areia.

Com base nos resultados obtidos nessa pesquisa o tratamento T9 (pH de oxidação: 2,0; tempo de oxidação: 5 minutos e  $17,5 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{Fe}^{2+}$ ) após 15 minutos de sedimentação apresentou os melhores resultados para o conjunto de parâmetros estudados. É importante ressaltar que não se realizou a filtração em filtro de areia, última etapa do tratamento por ciclo completo, dessa forma, a cor aparente que se encontra acima do valor limite da portaria em todos os tratamentos e pode ser removida por essa técnica simples de filtração rápida.

Buriti (2012) avaliou a remoção de MC-LR aplicando reagente Fenton em água de estudo com turbidez de 5,8 uT, cor aparente de 115 uH e concentração de MC-LR de  $18,52 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ . O melhor resultado foi obtido com as concentrações de  $15 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $5,5 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e tempo de sedimentação de 15 minutos. Após a coagulação, floculação e sedimentação, a turbidez remanescente foi 3,0 uT, cor aparente remanescente 81 uH e concentração de microcistina-LR  $9,59 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ , apresentando percentuais de remoção de 48%, 30% e 48%, respectivamente. Esses valores foram bem mais elevados em relação aos encontrados nesta pesquisa.

A cor verdadeira e o carbono orgânico dissolvido não apresentaram diferença estatística significativa no tempo de sedimentação de 15 minutos apenas a turbidez e cor aparente foram significativas nesse tempo.

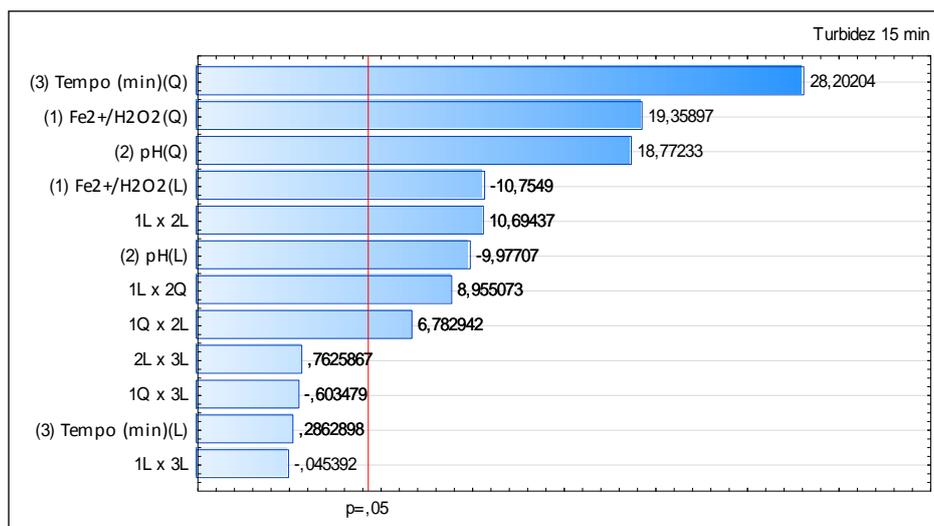
As análises estatísticas aplicadas incluem o diagrama de Pareto, a análise de variância e o gráfico de superfície de resposta que são apresentados a seguir.

## 5.5 Tratamento estatístico dos dados

### 5.5.1 Turbidez

A Figura 16 mostra o diagrama de Pareto obtido através do planejamento experimental, para a turbidez remanescente no tempo de sedimentação de 15 minutos.

**Figura 16:** Diagrama de Pareto para Turbidez com tempo de sedimentação de 15 min.



1L - variável Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Linear

2L - variável pH Linear

3L - variável Tempo Linear

1Q - variável Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Quadrática

2Q - variável pH Quadrática

3Q - variável Tempo Quadrática

O diagrama de Pareto ilustra graficamente a influência das variáveis independentes (Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, pH e Tempo) sobre as variáveis dependentes que são as respostas (parâmetros analisados), considerando-se significativas aquelas cujas colunas horizontais ultrapassem a linha tracejada, representativa para intervalo de confiança de 95 % (p<0,05). No tempo de 15 minutos as variáveis mais expressivas foram: Tempo (min) (Q), pH (Q), Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (L) e (Q), pH (L). As interações entre os fatores também apresentaram valores significativos nas relações Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (L) x pH (L), Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (L) x pH (Q) e Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Q) x pH (L). A Tabela 19 apresenta a análise de variância (Anova) para a turbidez remanescentes de 15 minutos.

**Tabela 19:** Análise de variância para Turbidez com tempo de sedimentação de 15 minutos

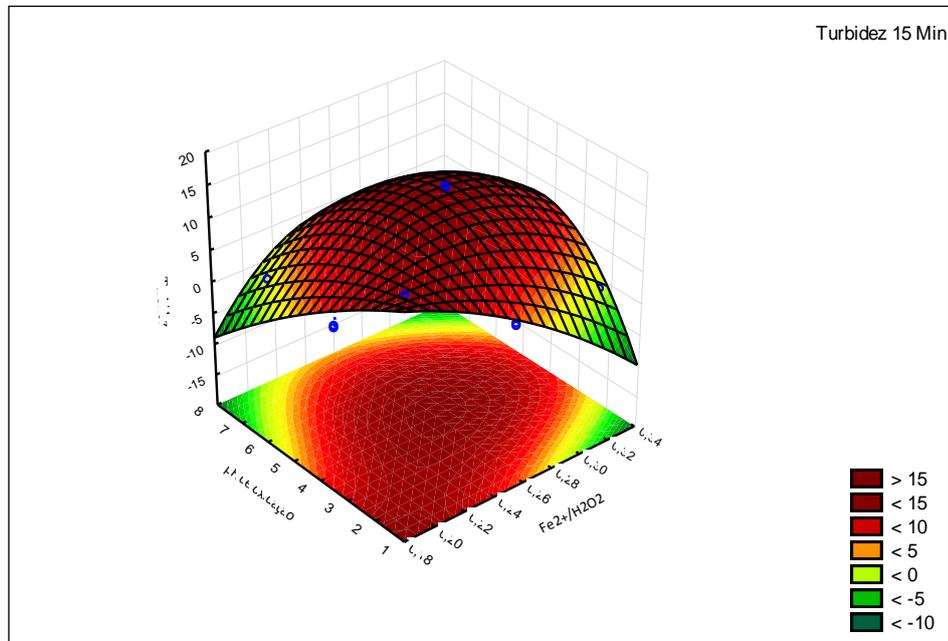
Fator	Soma dos quadrados (SS)	Grau de Liberdade (df)	Media dos quadrados (MS)	F	p
(1) Fe <sup>2+</sup> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> L+ Q	139,5258	2	69,7629	229,9875	0,004329
(2) pH L+ Q	137,0891	2	68,5446	225,9711	0,004406
(3) Tempo (min) L+ Q	241,2825	2	120,6412	397,7184	0,002508
1*2	77,2582	3	25,7527	84,8991	0,011664
1*3	0,1134	2	0,0567	0,1870	0,842471
2*3	0,1764	1	0,1764	0,5815	0,525376
Erro puro	0,6067	2	0,3033		
Total SS	535,0659	14			

A análise de variância Anova possui como princípio fundamental comparar a variação entre e dentro dos grupos (fatores), a variação (e não variância) é representada tanto pela soma dos quadrados entre grupos (SS-B) quanto por intragrupos (SS-W), no caso da Tabela 19, está expressa apenas a variação entre grupos, portanto, a soma dos quadrados indicada é a SS (B), com variância (intergrupo) denotada pela Média dos Quadrados Dentro dos Grupos (MS) – soma da variação dentro dos grupos dividida pelos graus de liberdade (df), ou seja, SS/df. Já o teste F é a taxa de duas variáveis Qui quadrado divididas pelos seus respectivos graus de liberdade. Chama-se comumente apenas teste F, e corresponde à taxa de duas amostras de variância. Ou seja, este teste é encontrado dividindo a variância entre grupos por aquela intragrupos. O teste F sugere apenas o grau de variância interna de cada fator. Já o *p* é a probabilidade das variáveis serem significativamente diferentes ao índice de significância ( $\alpha$ : 0,05).

Conforme mostra a Tabela 19 o resultado do teste de comparação entre médias da análise de variância simples (One Way ANOVA) entre variáveis (aqui indicadas como fatores) supostamente dependentes, observa-se que todos os fatores (variáveis) se mostraram altamente significativos ao nível de significância escolhido para o teste, sugerindo que as médias entre eles são diferentes em magnitude. Porém, apenas as variáveis (fatores) 1\*2 se mostraram dependentes, indicando que pH L+ Q varia de acordo com Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> L+ Q. A Figura 17

apresenta a superfície de resposta para turbidez remanescente em função do pH de oxidação e da razão de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$  após o tempo de sedimentação de 15 min.

**Figura 17:** Superfície de resposta para Turbidez remanescente.



De acordo com a Figura 17, observa-se que a turbidez é menor em situações de pH neutro (ou pouco alcalino). A turbidez mais elevada pode ser encontrada em pH inferior a 5 e com dosagens de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$  menor que  $0,26 \text{ mg.L}^{-1}$ . A Equação 13 representa o modelo experimental para turbidez remanescente em função do pH de oxidação e da razão de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ .

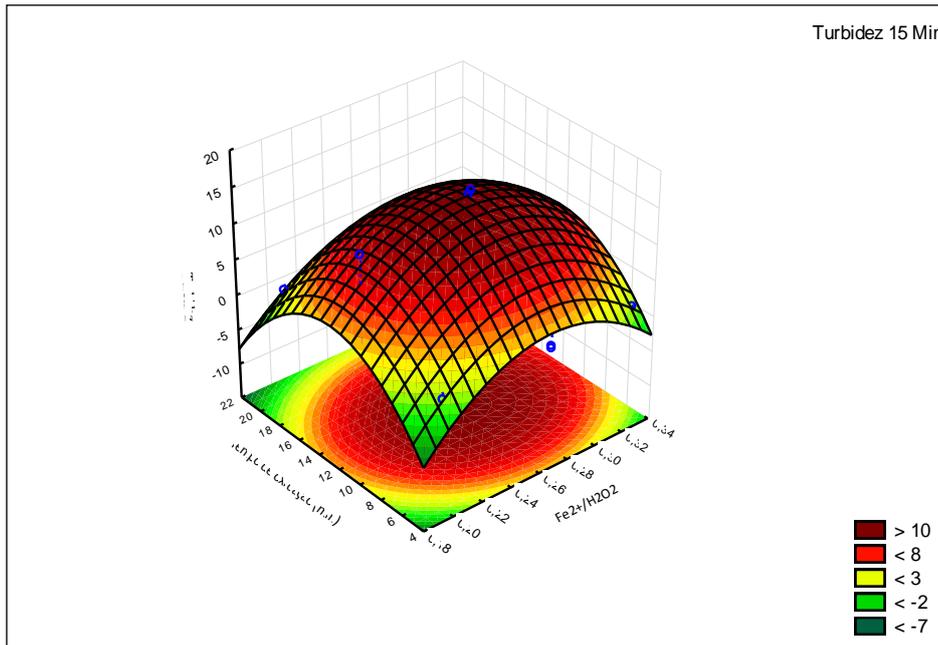
$$z = 22,24 - 102,04 * x - 271,6 * x^2 - 34,50 * y + 1,36 * y^2 + 222,4 * x * y - 8,4 * x * y^2 - 242,45 * x^2 * y - 3,8 * 12,5 * x + 7,2 * 12,5 * x^2 + 0,1 * 12,5 * y + 28,2$$

13

onde, z: Turbidez remanescente; x: pH de oxidação e y: razão de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$

A Figura 18 apresenta o gráfico de superfície de resposta para Turbidez remanescente com tempo de sedimentação de 15 minutos em função do tempo de oxidação e da razão de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ .

**Figura 18:** Superfície de resposta para Turbidez com tempo de sedimentação de 15 min.



A Figura 18 mostra que a turbidez é menor com tempo de oxidação inferior a oito minutos e razão de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$  menor que  $0,22 \text{ mg.L}^{-1}$ . Os maiores valores da turbidez podem ser encontrados quando se utiliza tempo de oxidação entre dez e dezoito minutos e razão de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$  maior que 0,22. A Equação 14 representa o modelo experimental para turbidez remanescente em função do tempo de oxidação e da razão de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ .

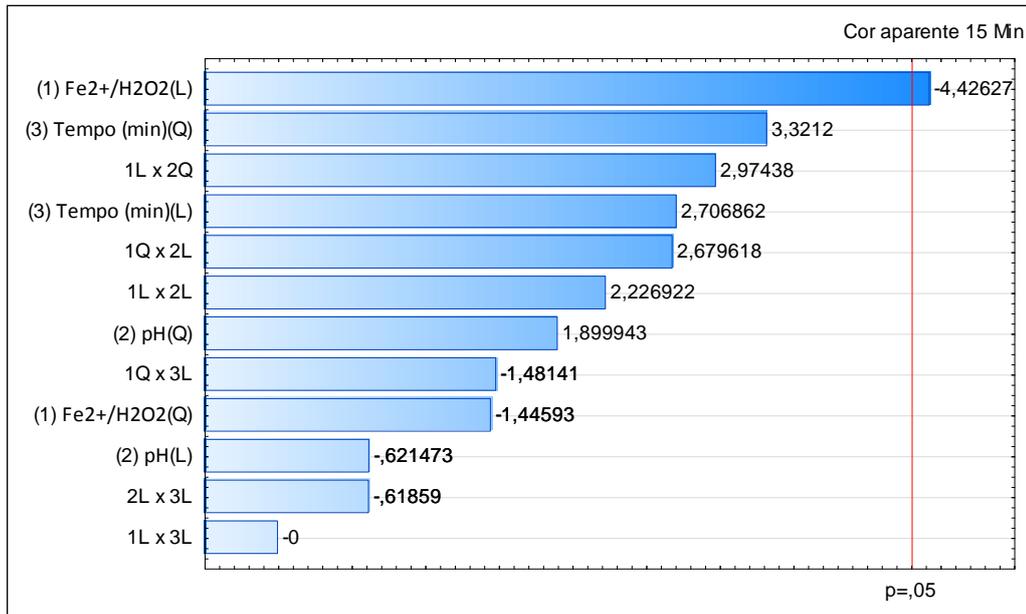
$$z=22,24-102,04*x-271,66*x^2+4,05*y-,14*y^2+222,31*4,5*x-8,36*20,25*x-242,45*4,5*x^2-3,85*x*y+7,19*x^2*y+,01*4,5*y-127,55 \quad 14$$

onde, z: Turbidez remanescente; x: Tempo de oxidação e y: razão de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$

### 5.5.2 Cor aparente

A Figura 19 mostra o diagrama de Pareto obtido através do planejamento experimental, para a cor aparente remanescente no tempo de sedimentação 15 minutos.

**Figura 19:** Diagrama de Pareto para cor aparente com tempo de sedimentação de 15 min.



1L - variável Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Linear

2L - variável pH Linear

3L - variável Tempo Linear

1Q - variável Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Quadrática

2Q - variável pH Quadrática

3Q - variável tempo Quadrática

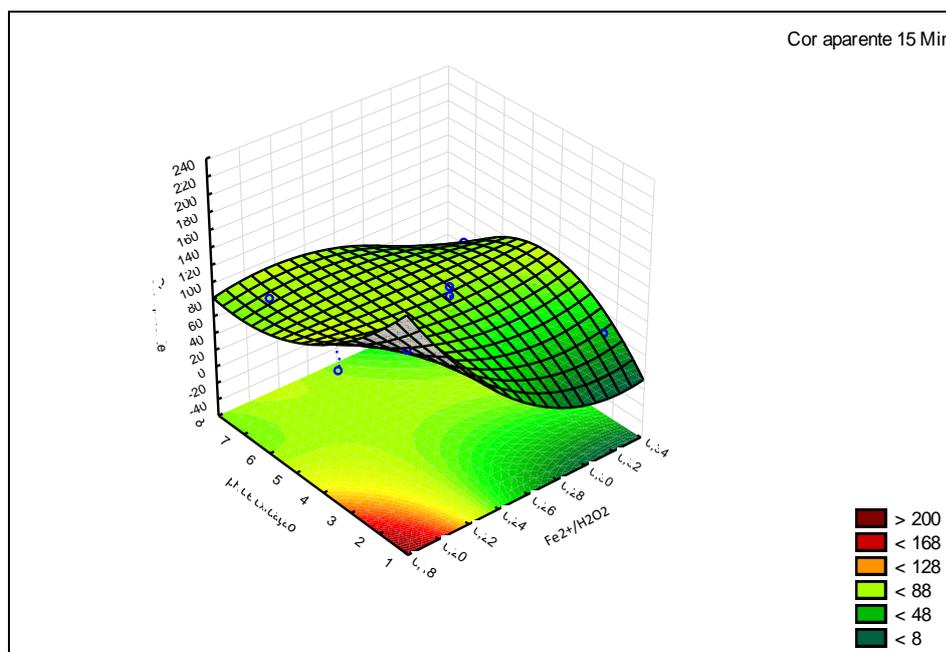
Conforme o diagrama de Pareto (Figura 19) a variável Linear (1) Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi a única que apresentou relevância significativa no intervalo de confiança de 95 % (p<0,05). Dessa forma, o aumento da concentração do Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produzem efeitos redutivos no valor da resposta (cor aparente). A Tabela 20 mostra a análise de variância para cor aparente com tempo de sedimentação de 15 min.

**Tabela 20:** Análise de variância para cor aparente com tempo de sedimentação de 15 min.

Fator	SS	df	MS	F	p
(1) Fe <sup>2+</sup> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> L+ Q	3121,40	1	3121,401	19,59184	0,047439
(2) pH L+ Q	636,65	2	318,326	1,99801	0,333555
(3) Tempo (min) L+ Q	2924,74	2	1462,370	9,17874	0,098244
1*2	3527,43	3	1175,809	7,38010	0,121663
1*3	352,38	2	176,188	1,10587	0,474864
2*3	60,96	1	60,965	0,38265	0,599251
Erro puro	318,64	2	159,322		
Total SS	10707,71	14			

De acordo com a Tabela 20 a análise de variância (ANOVA) para o modelo foi realizada com um nível de confiança de 95% para (p<0,05). Os resultados do teste da análise de variância mostraram que a variável Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> L+ Q influencia significativamente a resposta. A Figura 20 apresenta o gráfico de superfície de resposta para cor aparente remanescente com tempo de sedimentação de 15 minutos em função do pH de oxidação e da razão de Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Figura 20:** Superfície de resposta para cor aparente com tempo de sedimentação de 15 min.



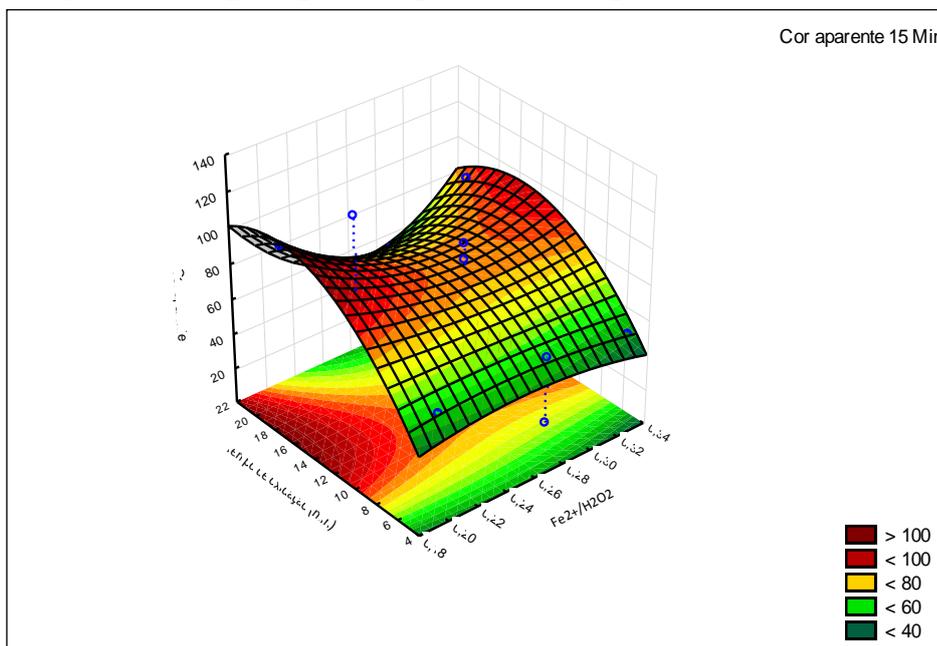
Conforme a Figura 20 o pH inferior a 4 e a concentração do  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$  inferior a 0,24 propiciam no aumento da cor aparente remanescente no tempo de sedimentação de 15 minutos. Dessa forma, valores baixos podem ser obtidos em pH alcalino e concentrações mais elevadas do  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ . A Equação 15 representa o modelo experimental para cor aparente remanescente em função do pH de oxidação e da razão de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ .

$$z = 894,53 - 5450,07 * x + 7000,42 * x^2 - 305,47y + 14,98 * y^2 + 1828,49 * x * y - 63,71 * x * y^2 - 2195,16 * x^2 * y - 215,74 * 12,5 * x + 404,52 * 12,5 * x^2 - ,20 * 12,5 * y + 438,26 \quad 15$$

onde, z: cor aparente remanescente; x: pH de oxidação e y: razão de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$

A Figura 21 apresenta o gráfico de superfície de resposta para cor aparente remanescente com tempo de sedimentação de 15 min em função do tempo de oxidação e da razão de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ .

**Figura 21:** Superfície de resposta para cor aparente com tempo de sedimentação de 15 min.



De acordo com a Figura 21 é possível observar que a cor aparente aumenta com o aumento do tempo de oxidação. A Equação 16 representa o modelo experimental para cor aparente remanescente em função do tempo de oxidação e da razão de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ .

$$z = 894,53 - 5450,07 * x + 7000,42 * x^2 + 39,92 * y - 38 * y^2 + 1828,499748569 * 4,5 * x + 63,71 * 20,25 * x - 2195,16 * 4,5 * x^2 - 215,74 * x * y + 404,52 * x^2 * y - 20 * 4,5 * y - 1071,1745$$

16

onde, z: cor aparente remanescente; x: tempo de oxidação e y: razão de  $Fe^{2+}/H_2O_2$

## 5.6 Quantificação de Microcistina

O cultivo de *Microcystis aeruginosa* do LAQUISA apresentou quatro variantes entre elas a MC-LR (995 m/z) foi a predominante. Após o crescimento exponencial do cultivo e a etapa de extração em fase sólida utilizando o cartucho C18, 500 µL do extrato semipurificado foi utilizado para infusão no espectrômetro de massas. As condições utilizadas no LCQ Fleet foram:

Temperatura do capilar = 350 °C

Voltagem do capilar = 35 V

Tube Lens = 110 V

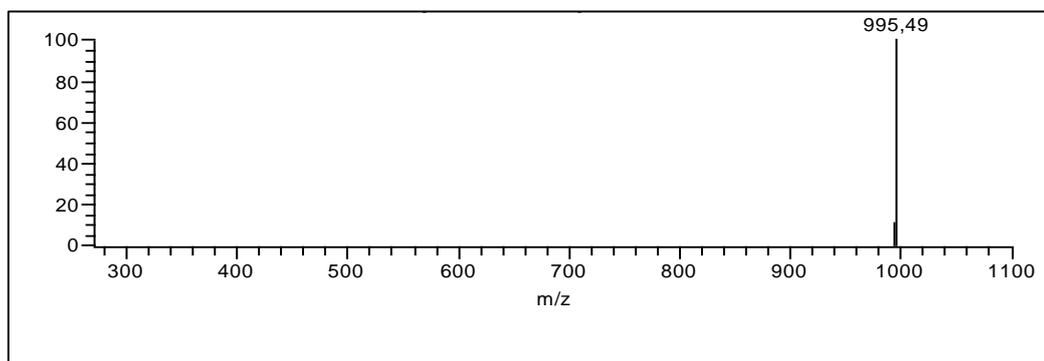
Sheath gás = 30

Auxiliar gás = 10

Fluxo = 10 µL min<sup>-1</sup>

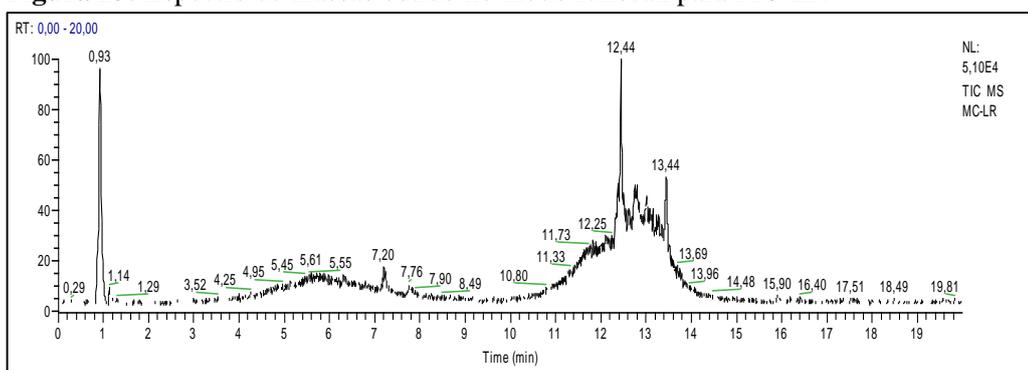
O modo de aquisição de dados selecionado foi SRM com tempo de acumulação de íons (modo positivo) de 100 ms com energia de colisão zero variando de 270 a 1100 m/z (Figura 22).

**Figura 22:** Espectro de massas para a variante MC-LR obtido no modo SRM com energia de colisão zero a partir da infusão de uma solução padrão.



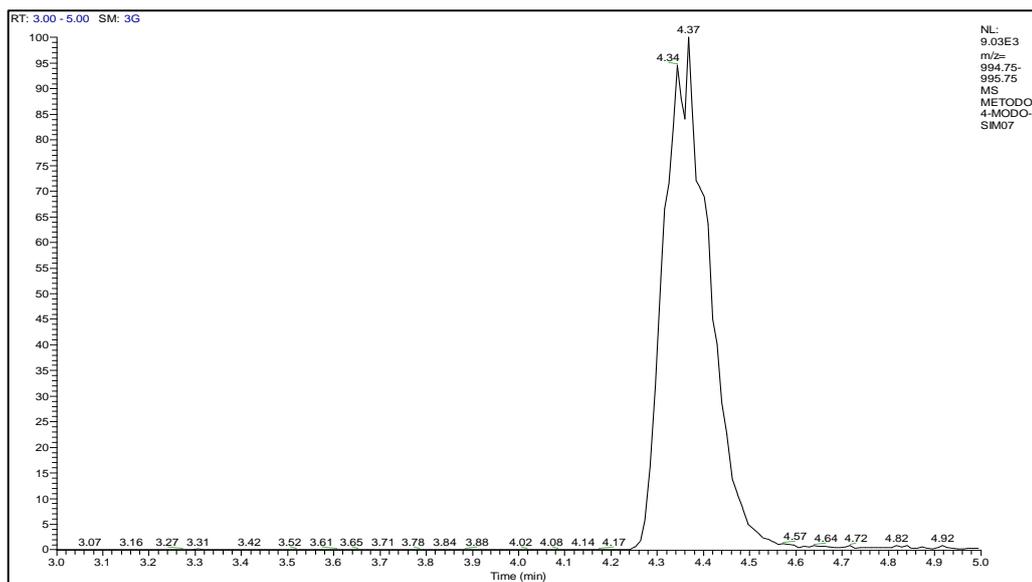
O espectro de massa para o íon MC-LR  $[H+1]^+$  apresentou intensidade de sinal de  $1,36 \times 10^1$ , o que denota a presença de MC-LR em quantidade superior quando comparada com as outras variantes. A Figura 23 apresenta um cromatograma de íon total (tic) típico para MC-LR quando um gradiente é utilizado para a eluição do analito. O espectro criado pelo registro da intensidade do sinal observado decorrido do instante em que a amostra foi injetada até o pico máximo. O tempo total de varredura do analito foi de 20 minutos e o pico do padrão da MC-LR de 995 foi encontrado no tempo de retenção de 12,44 minutos.

**Figura 23:** Espectro de massas obtido no modo fullscan para MC-LR



A Figura 24 apresenta o cromatograma para o padrão de MC-LR  $100 \text{ ng.mL}^{-1}$  obtida no modo Single Ion Monitoring (SIM) para o íon filho MC-LR  $[H + 1]^+$  com Área = 10000 e S/R = 300.

**Figura 24:** Cromatograma para o padrão de MC-LR 100 ng.mL<sup>-1</sup> obtida no modo SIM.



## 5.7 Subprodutos da oxidação da Microcistina-LR

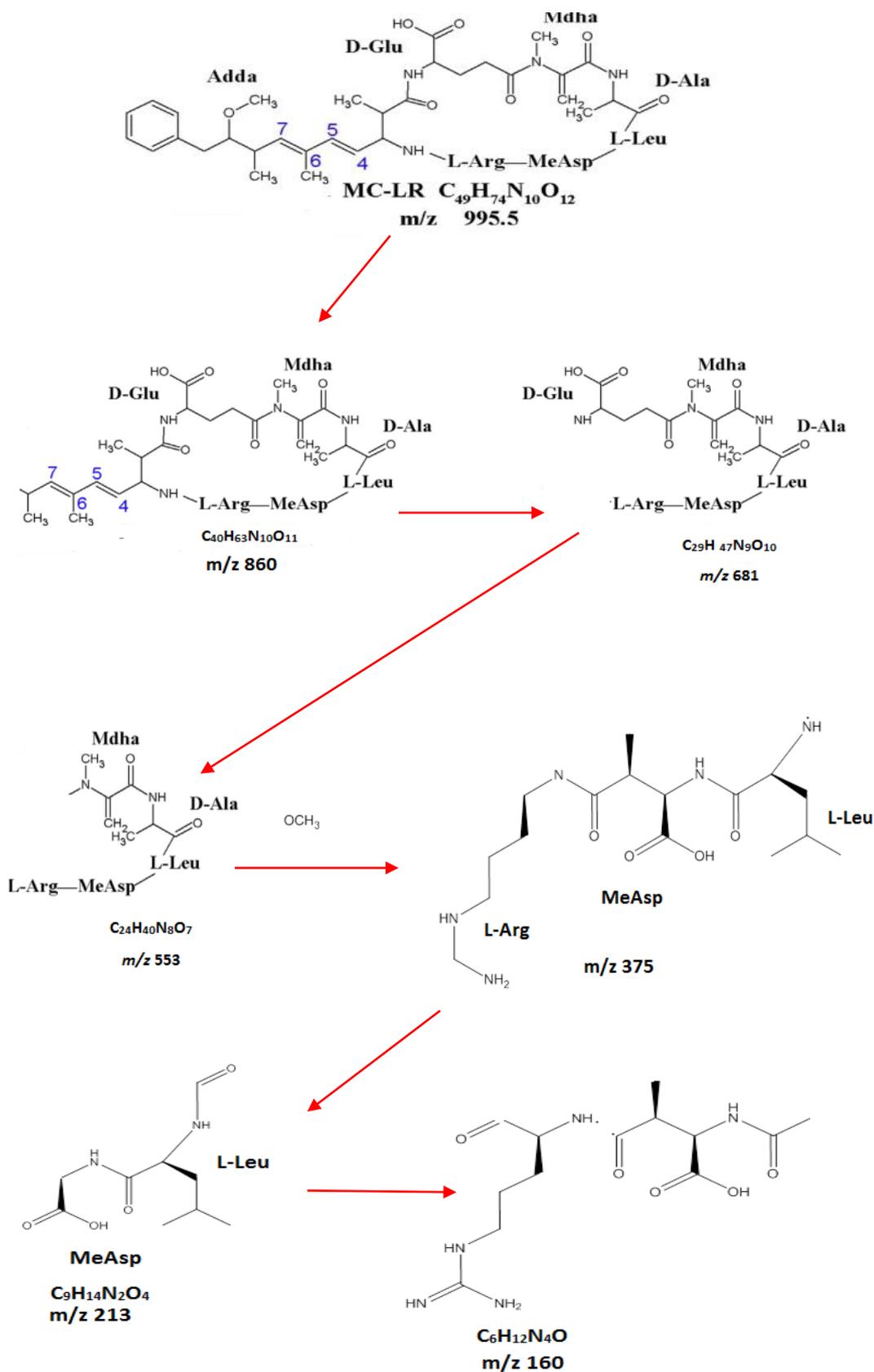
A degradação da MC-LR foi confirmada através de varredura no modo “FULL MS2” realizada no espectrômetro de massas possibilitando a identificação dos fragmentos da molécula. A microcistina-LR é uma molécula relativamente grande e apresenta vários grupos funcionais em diversas posições e cada grupo apresenta suscetibilidade para rompimento das ligações gerando os subprodutos da degradação. Os fragmentos identificados nessa pesquisa apresentam massa/carga (m/z) de 69; 87; 135; 159; 213; 286; 374; 445; 553; 558; 682; 778; 866; 967 e 995 que se mostraram presentes com pequenas variações de intensidade relativa nos 15 tratamentos realizados. A identificação de alguns fragmentos foi realizada com base na literatura pesquisada conforme mostra a Tabela 21.

**Tabela 21:** Principais fragmentos identificados com sua respectiva m/z.

Subprodutos identificados	Fragmento sugerido	Referência
866	Arg – Adda – Glu – Mdha – Ala – Leu	ZONG <i>et al.</i> , 2013
728	MeAsp – Arg – Adda – Glu	MAYUMI <i>et al.</i> , 2006
682	Arg – Adda – Glu – Mdha	MAYUMI <i>et al.</i> , 2006
599	Arg – Adda – Glu	MAYUMI <i>et al.</i> , 2006
553	Mdha – Ala – Leu – MeAsp – Arg	BENKE <i>et al.</i> , 2015
375	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O – Glu – Mdha	FASTNER <i>et al.</i> , 2011
286	MeAsp – Arg	FASTNER <i>et al.</i> , 2011
213	Glu – Mdha	DAHLMANN <i>et al.</i> , 2010
135	ADDA	ANTONIOU <i>et al.</i> , 2008

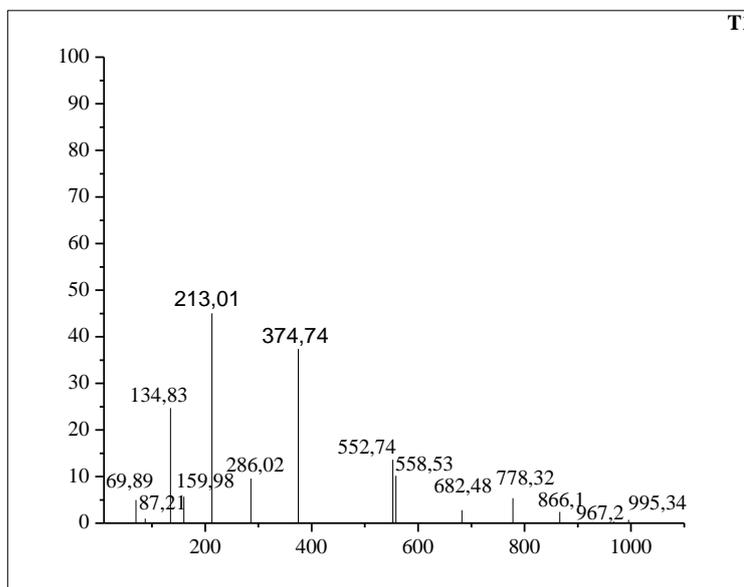
De acordo com Song (2009) e colaboradores esses fragmentos foram gerados pela clivagem de ligações peptídicas, uma vez que, os números de massa/carga correspondem à diferença entre a molécula precursora (MC-LR m/z 995) e as porções dos peptídeos libertados. Comparando os resultados obtidos por MIAO *et al.*, (2010) e CHANG *et al.*, (2014) os autores identificaram intermediários de massa molar de m/z 855, 853, 835, 827, 815 e 795 aplicando o processo de ionização, com intensidade relativa alta o que diverge dessa pesquisa com Fenton, os picos intermediários identificados de massa molar maiores de m/z 681, 778, 860 e 967 foram detectados com intensidade significativamente baixa o que comprova a eficiência de degradação da MC-LR e a toxicidade relacionada. O fragmento com a relação massa/carga 135 é característico do aminoácido ADDA presente na molécula e responsável pela hepatotoxicidade sendo observado nos tratamentos T4, T11, T13 e T14. A varredura também constatou a presença de fragmentos da oxidação do ADDA de m/z 134 detectado nos tratamentos T1, T2, T3, T5, T6, T7, T8, T9, T10 T11, T12 e T14. A Figura 25 mostra a possível rota de degradação da MC-LR pela reação Fenton.

**Figura 25:** Possível rota de degradação da MC-LR

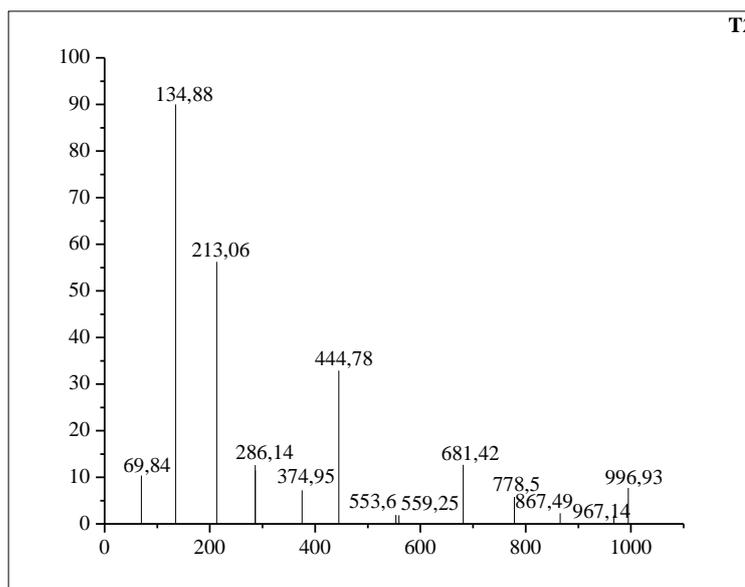


Os intermediários formados durante o ataque da hidroxila através da reação Fenton sobre a MC-LR, a rota de degradação analisada pode ser aplicada para os 15 tratamentos do planejamento. A análise da Figura 25 mostra o possível local onde a decomposição foi iniciada, e como as ligações duplas conjugadas foram as mais afetadas pela clivagem do mecanismo de oxidação. A princípio a maior parte dos intermediários identificados tinha a estrutura cíclica intacta e ao decorrer da degradação os intermediários foram sendo linearizados, os peptídeos com massa molar mais baixos podem ser identificados pela clivagem da porção MeAsp e L-Arg. Os espectros de todos os 15 tratamentos com seus respectivos fragmentos observados foram listados e são apresentados nas Figuras de 26-40.

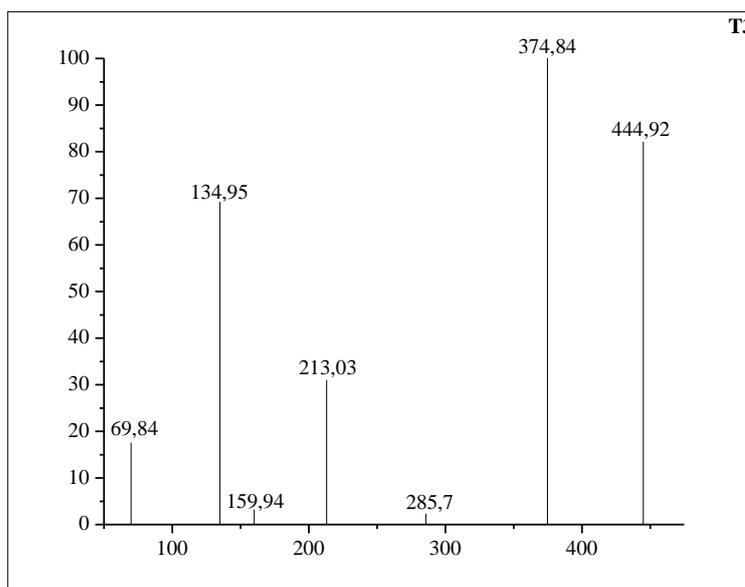
**Figura 26:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T1.



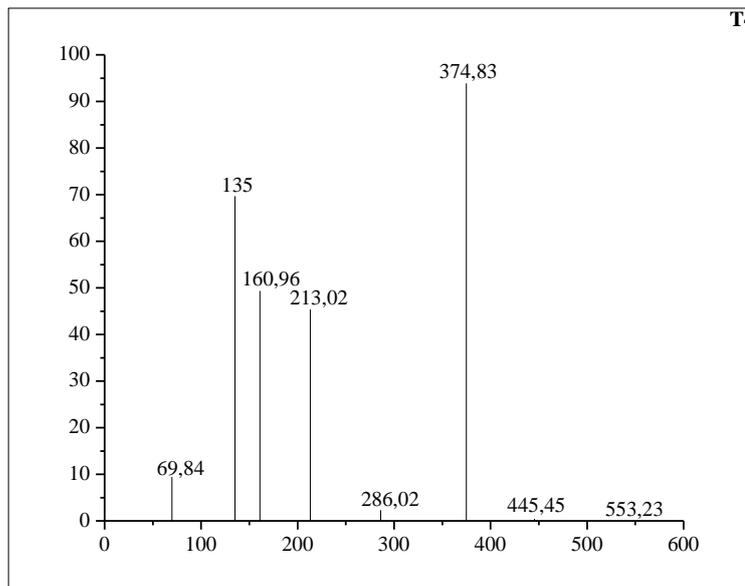
**Figura 27:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T2.



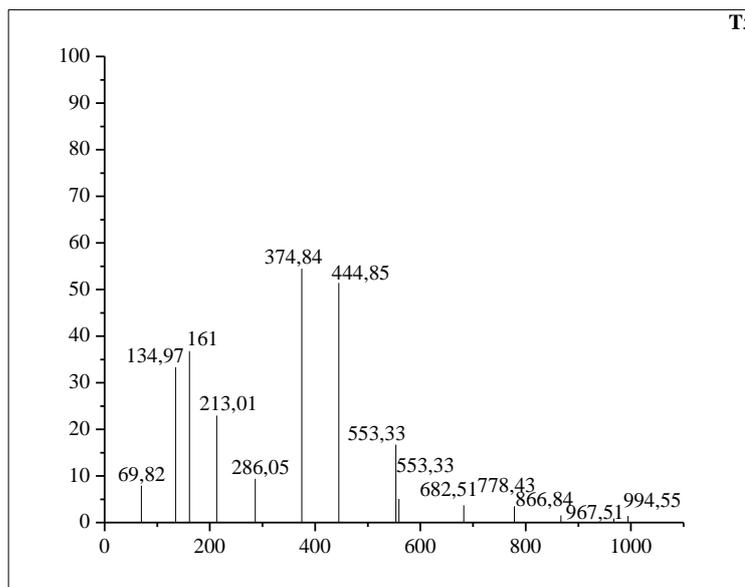
**Figura 28:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T3.



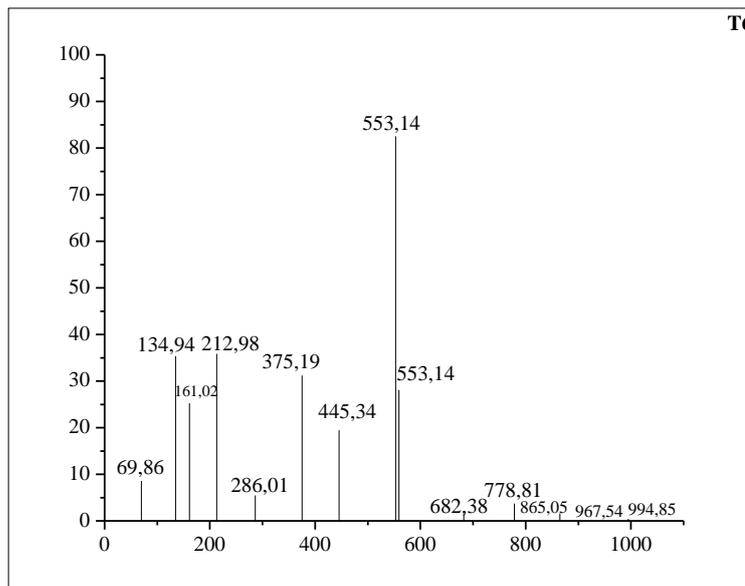
**Figura 29:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T4.



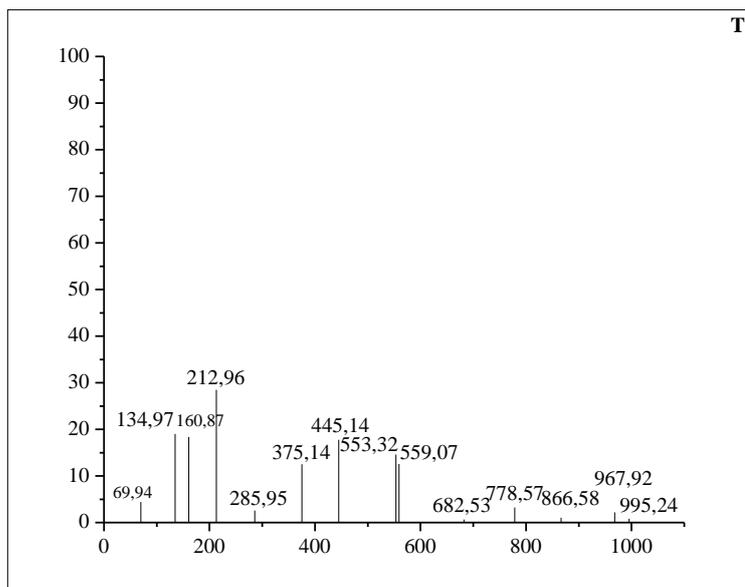
**Figura 30:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T5.



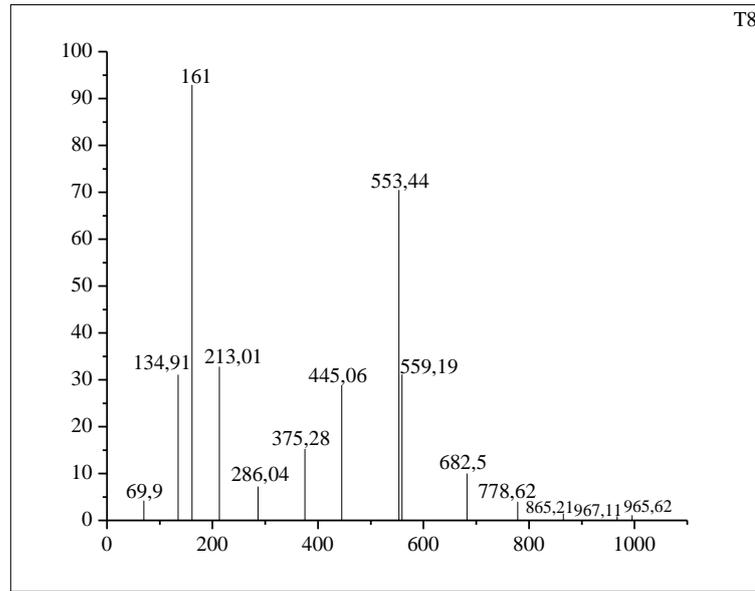
**Figura 31:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T6.



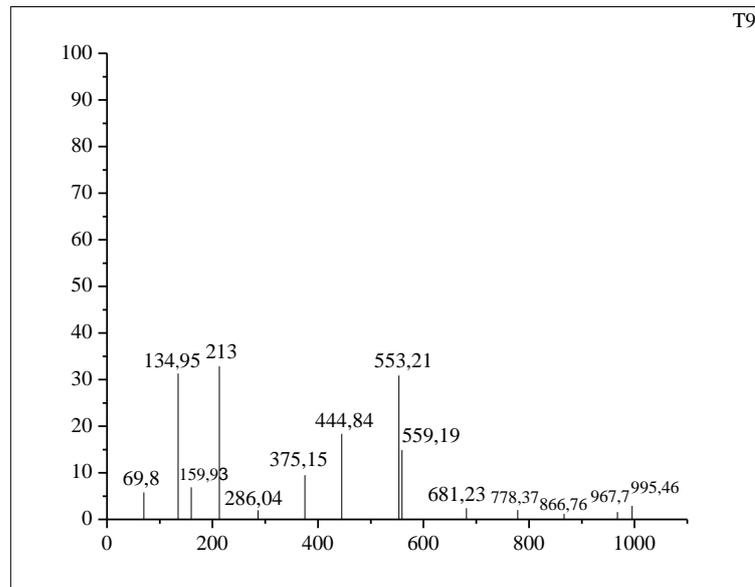
**Figura 32:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T7



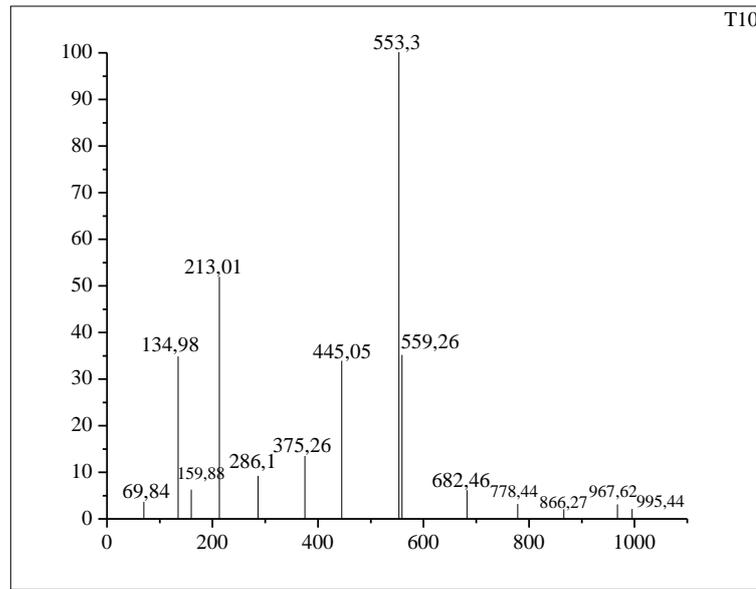
**Figura 33:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T8



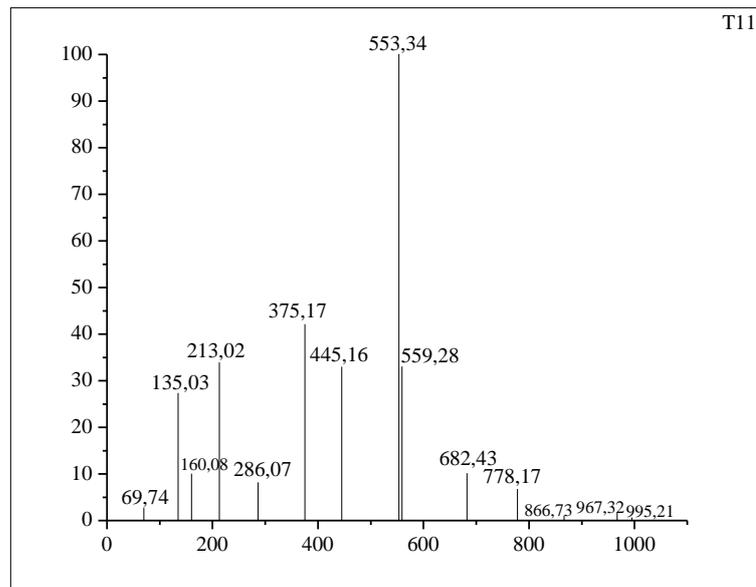
**Figura 34:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T9.



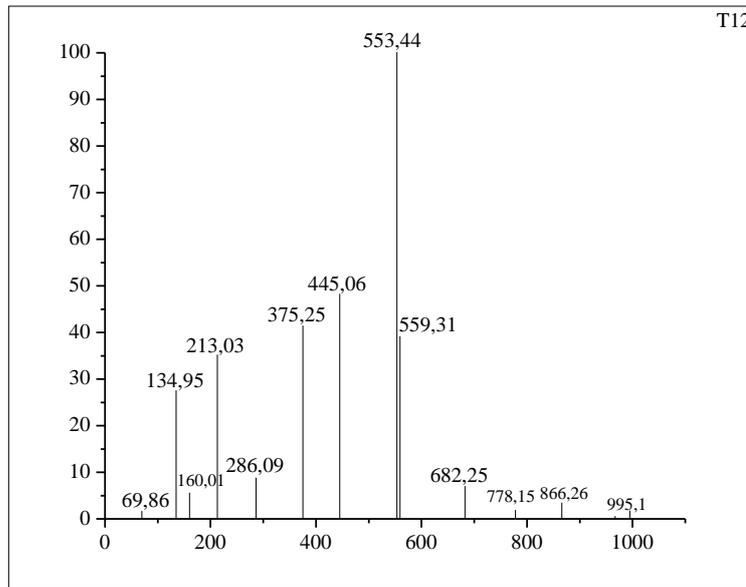
**Figura 35:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T10



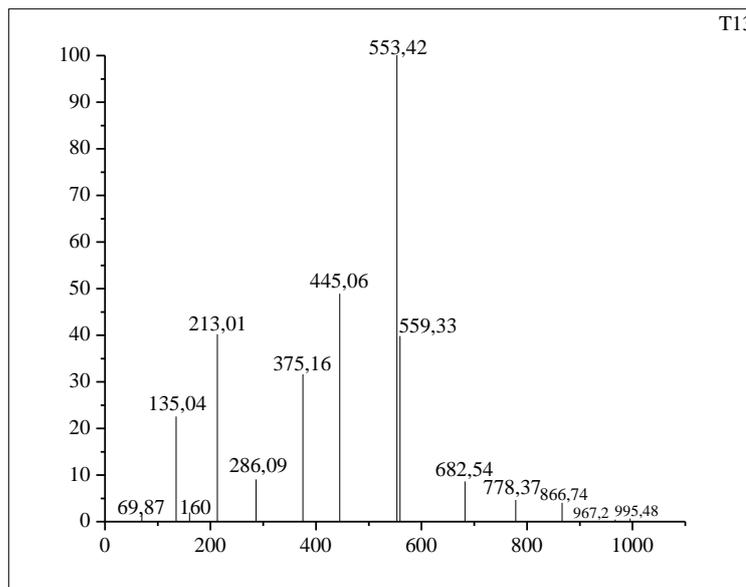
**Figura 36:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T11



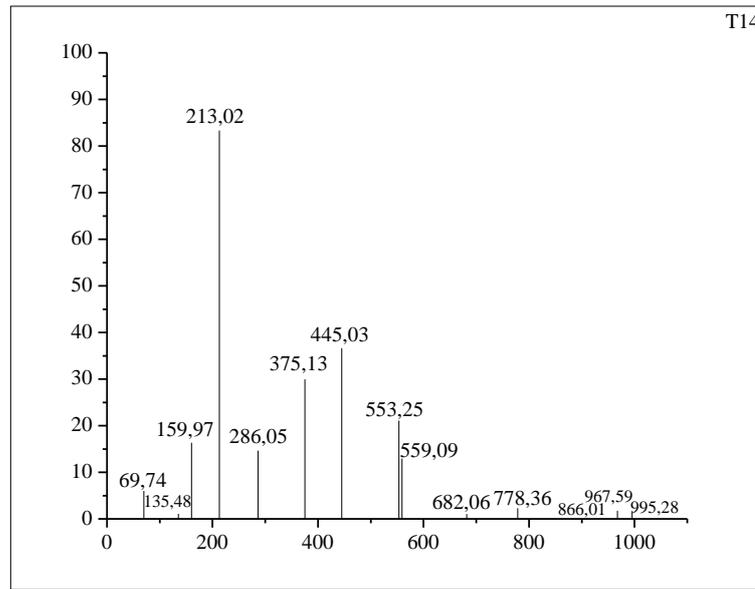
**Figura 37:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T12



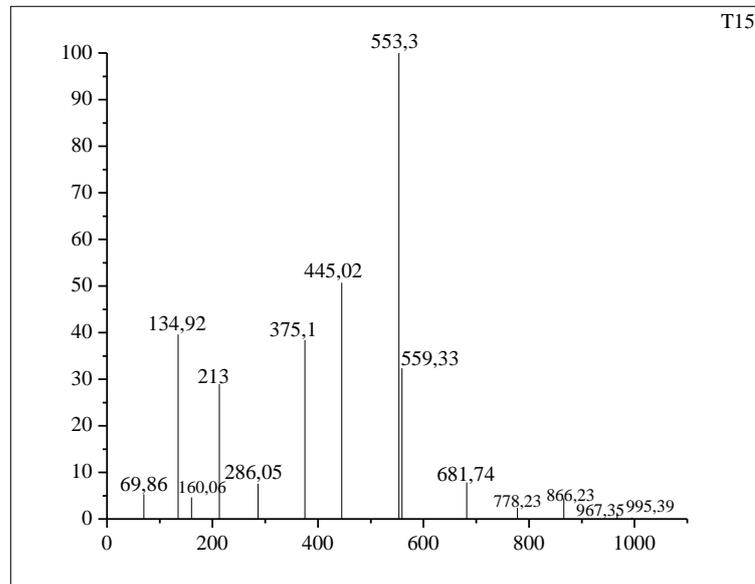
**Figura 38:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T13



**Figura 39:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T4



**Figura 40:** Espectro da fragmentação da MC-LR obtido no Tratamento T15



Antoniou (2008) e colaboradores estudaram as possíveis quebras de ligações químicas da MC-LR e a formação de subprodutos durante a degradação fotocatalítica utilizando  $\text{TiO}_2$  e os mecanismos de ataque do radical hidroxila a MC-LR. O autor destacou que os locais mais propensos ao ataque da  $\text{HO}^\bullet$  são nas ligações duplas conjugadas devido à sua posição na molécula. As vias destacadas no estudo foram o anel aromático, o grupo metoxi do aminoácido

ADDA e ligação dupla do aminoácido MDHA. O ataque de radicais hidroxila no grupamento Adda permite a eliminação de grupos químicos pouco estáveis assim como reações de ciclização intramolecular formando ciclos de massa molar menor.

Zong (2013) e colaboradores identificaram isômeros prováveis para cada tipo de subprodutos formados pela oxidação da MC-LR através da oxidação com UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indicando o anel aromático, a ligação dieno conjugada no Adda e a ligação C=C em MDHA como os principais locais-alvo de oxidação. A reação do radical hidroxila com a MC-LR pode ocorrer através de várias vias incluindo o anel benzeno, ligações dieno e abstração de átomos de hidrogênio alifáticos. A degradação dos radicais hidroxila induzida pela MC-LR ocorre predominantemente através da oxidação do grupo Adda, o que resulta na perda de atividade biológica da molécula (SONG *et al.*, 2009).

Com base nos resultados dessa pesquisa, o reagente Fenton pode ser empregado em Estações de Tratamento de Água na potabilização de água com concentrações elevadas de compostos orgânicos e microcistina-LR, uma vez que, foi observado redução significativa da cor aparente, cor verdadeira, COD, turbidez e microcistina-LR possibilitando água tratada de acordo com a recomendação da Portaria 2914/2011-MS. Além disso, o reagente Fenton possibilitou a redução de matéria orgânica natural (COD) reduzindo a formação dos subprodutos halogenados na desinfecção. Outra vantagem é o uso do reagente Fenton como um pré-oxidante e coagulante reduzindo custos operacionais.

## 6. CONCLUSÃO

- O Reagente Fenton apresentou-se como ótimo oxidante e coagulante tendo em vista a elevada eficiência da oxidação da Microcistina-LR no tratamento de água com elevada concentração de MC-LR ( $10,24 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). A concentração da microcistina-LR remanescente apresentou valores inferiores a  $1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$  nas faixas de pH 2,0; 4,5 e 7,0 e nos tempo de oxidação 5,0; 12,5 e 20 minutos.
- O método empregado para análise da oxidação da microcistina-LR utilizando a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Espectrometria de Massas mostrou-se uma técnica altamente sensível, rápida e sofisticada na detecção de fragmentos resultantes da oxidação através do reagente Fenton comprovando a eficácia do tratamento. Os principais fragmentos apresentam m/z 69, 87, 135, 159, 213, 186, 374, 445, 553, 558, 682, 778, 866, 967 e 995.
- A melhor dosagem do reagente Fenton para a água em estudo foi de  $17,5 \text{mg.L}^{-1}$  de  $\text{Fe}^{+2}$  que contribuiu para redução dos parâmetros estudados.
- Com base nos resultados obtidos é possível afirmar que o uso do reagente Fenton para a potabilização de água eutrofizada com elevada cor e matéria orgânica pode ser benéfico, uma vez que, atua como pré-oxidante e coagulante. Após a etapa de oxidação observou-se degradação significativa de Microcistina-LR e redução de COD na água remanescente. Após a sedimentação de 15 minutos o reagente Fenton possibilitou remoção significativa de turbidez 100%, cor aparente 90%, cor verdadeira 91% e COD 70%.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL MOMANI, F. Degradation of cyanobacteria anatoxin-a by advanced oxidation processes. **Separation and Purification Technology**, v.57, p.85-93, 2007.

ALVERCA, E.; ANDRADE, M.; DIAS, E.; SAM BENTO, F.; BATOREU, M.C.C.; JORDAN, P.; SILVA, M.J.; PEREIRA, P. Morphological and ultrastructural effects of microcystin-LR from *Microcystis aeruginosa* extract on a kidney cell line. **Toxicol**, v.54, p.283-294, 2009.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22th. **APHA**, 2012.

ANTONIOU, M.G.; SHOEMAKER, J.A.; CRUZ, A.A.; DIONYSIOU, D.D. LC/MS/MS structure elucidation of reaction intermediates formed during the TiO<sub>2</sub> photocatalysis of microcystin-LR. **Toxicol**, v.51, p.1103-1118, 2008.

ANTONOPOULOU, M. A review on advanced oxidation processes for the removal of taste and odor compounds from aqueous media. **Water research**, v.53, p.215-234, 2014.

APELDOORN, M.E.V.; EGMOND, H.P.V.; SPEIJERS, G.J.A. **Toxins of cyanobacteria**. *Molecular Nutrition & Food Research*, v.51, p.7-60, 2007.

ARANDA-RODRIGUEZ, R.; JIN, Z.; HARVIE, J.; CABECINHA, A. Evaluation of three field test kits to detect microcystins from a public health perspective. **Harmful Algae**, v.42, p.34-42, 2015.

ASGHAR, A.; RAMAN, A.A.A.; DAUD, W.M.A.W. Advanced oxidation processes for in-situ production of hydrogen peroxide/hydroxyl radical for textile wastewater treatment: a review. **Journal of Cleaner Production**. v.87, p.826-838, 2015.

AZEVEDO, S.M.F.O.; CARMICHAEL, W.W.; JOCHIMSEN, E.M.; RINEHART, K.L.; LAU, S.; SHAW, G.R.; EAGLESHAM, G.K. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru/Brazil. **Toxicology**, v.181-182, p.441-446, 2002.

BABUPONNUSAMI, A.; MUTHUKUMAR, K. A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**. v.2, p.557-572, 2014.

BACKER, L.C.; MCNEEL, S.V.; BARBER, T.; KIRKPATRICK, B.; WILLIAMS, C.; IRVIN, M.; ZHOU, Y.; JOHNSON, T.B.; NIERENBERG, K.; AUBEL, M.; LEPRELL, R.; CHAPMAN, A.; FOSS, A.; CORUM, S.; HILL, V.R.; KIESZAK, S.M.; CHENG, Y.S. Recreational exposure to microcystins during algal blooms in two California lakes. **Toxicol**, v.55, p.909-921, 2010.

BANDALA, E.R.; MARTIÑEZ, D.; MARTIÑEZ, E.; DIONYSIOU, D.D. Degradation of microcystin-LR toxin by Fenton and Photo-Fenton processes. **Toxicon**, v.43, p.829-832, 2004.

BARBUSIŃSKI, K. Henry John Horstman Fenton - short biography and brief history of Fenton reagent discovery. **Chemia-dydaktyka-ekologia-metrologia**, v.14, p.101-105, 2009.

BARDA, I.; KANKAANPÄÄ, H.; PURINA, I.; BALODE, M.; SJAÖVALL, O.; MERILUOTO, J. Bioaccumulation of hepatotoxins - A considerable risk in the Latvian environment. **Environmental Pollution**, v.196, p.313-320, 2015.

BENKE, P.I.; VINAY KUMAR, M.C.; PAN, D.; SWARUP, S. A mass spectrometry-based unique fragment approach for the identification of microcystins. **Analyst**, v.140, p.1198, 2015.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.C.; MOLICA, R. Cianobactéria invasora. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, ed.30, p.82-90, 2003.

BOBER, B.; PUDAS, K.; LECHOWSKI, Z.; BIALCZYK, J. Degradation of microcystin-LR by ozone in the presence of Fenton reagent. **Journal of Environmental Science and Health**, v.43, p.186-190, 2008.

BOKARE, A.D.; CHOI, W. Review Of iron-free Fenton-like Systems for activating H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in Advanced oxidation processes. **Journal of Hazardous Materials**, v.275, p.121-135, 2014.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, Portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: **Diário Oficial da União**, 2011.

BRITO, N.N.; SILVA, V.B.M. Processo oxidativo avançado e sua aplicação ambiental. **Revista Eletrônica de Engenharia Civil**, v.3, p.36-47, 2012.

BURITI, J.S. Remoção de Microcistina-LR de água utilizando coagulação com Reagente de Fenton, floculação, decantação e filtração seguido de carvão ativado granular. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande/PB, p.97. 2012.

CADEL-SIX, S.; MOYENGA, D.; MAGNY, S.; TROTIEREAU, S.; EDERY, M.; KRYS, S. Detection of free and covalently bound microcystins in different tissues (liver, intestines, gills, and muscles) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by liquid chromatography e tandem mass spectrometry: Method characterization. **Environmental Pollution**, v.185, p.333-339, 2014.

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

CATHERINE, Q.; SUSANNA, W.; ISIDORA, E.S.; MARK, H.; AURELIE, V.; JEAN-FRANCOIS, H. A review of current knowledge on toxic benthic freshwater cyanobacteria e Ecology, toxin production and risk management. **Water research**, v.47, p.5464-5479, 2013.

CESARO, A.; NADDEO, V.; BELGIORNO, V. Wastewater Treatment by Combination of Advanced Oxidation Processes and Conventional Biological. **Systems Bioremediation & Biodegradation**, v.4, p.1-8, 2013.

CHANG, J.; CHEN, Z.; WANG, Z.; SHEN, J.; CHEN, Q.; KANG, J.; YANGA, L.; LIU, X.; NIE, C. Ozonation degradation of microcystin-LR in aqueous solution: intermediates, by products and pathways. **Water research**, v.63, p.52-61, 2014.

CHANG, J.; CHEN, Z.L.; WANG, Z.; KANG, J.; CHEN, Q.; YUAN, L.; SHEN, J.M. Oxidation of microcystin-LR in water by ozone combined with UV radiation: The removal and degradation pathway. **Chemical Engineering Journal**. v.276, p.97-105, 2015.

CHEN, Y.; SHEN, D.; FANG, D.; Nodularins in poisoning. **Clinica Chimica Acta**, v.425, p.18-29, 2013.

CHIARADIA, M.C.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Quim. Nova**, v.31, p.623-636, 2008.

CHORUS, I; BARTRAM, J. (Eds.). Toxic Cyanobacteria in Water. In: **A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management**. Published by WHO, Spon Press, London, 1999.

CHRISTINE, C. Toxicity of iron and hydrogen peroxide: The Fenton reaction. **Toxicology Letters**, v. 82/83, p.969-974, 1995.

CLEASBY, J. L.; LOGSDON, G.S. Granular bed and precoat filtration In: **Water Quality and Treatment**. Org: LETTERMAN, R.D. 5.ed, American Water Works Association, 1999.

CODD, G.A.; AZEVEDO, S.M.F.O.; BAGCHI, S.N.; BURCH, M.D.; CARMICHAEL, W.W.; HARDING, W.R.; KAYA, K.; UTKILEN, H.C. South and Central America: Toxic cyanobacteria. In: Codd, G.A. *et al.* (ed.) **Cyanonet: a global network for cyanobacterial bloom and toxin risk management**. Paris: IHP Unesco, p.115-126, 2005.

CODD, G.A.; LINDSAY, J.; YOUNG, F.M.; MORRISON, L.F.; METCALF, J.S. Harmful Cyanobacteria. In: HUISMAN, J.; MATTHIJS, H.C.P.; VISSER, P. M. (Org.) **HARMFUL CYANOBACTERIA**. **Aquatic Ecology Series**, v.3, 2005.

CORNISH, B.J.P.A.; LAWTON, L.A.; Robertson, P.K.J. Hydrogen peroxide enhanced photocatalytic oxidation of microcystin-LR using titanium dioxide. **Applied Catalysis B: Environmental**, v.25, p.59-67, 2000.

COSTA, I.A.S.; CUNHA, S.R.S.; PANOSSO, R.; ARAÚJO, M.F.F.; MELO, J.L.S.; ESKINAZI-SANT'ANNA, E.M. Dinâmica de cianobactérias em reservatórios eutróficos do semiárido do Rio Grande do Norte. **Oecologia Brasiliensis**. v.13, p.382-401, 2009.

CYBIS, L.F.; BENDATI, M.M.; MAIZONAVE, C.R.M.; WERNER, V.R.; DOMINGUES, C. D. Manual para estudo de cianobactérias planctônicas em mananciais de abastecimento público: caso da represa Lomba do Sabão e Lago Guaíba, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Rio de Janeiro: **ABES**, 2006.

DAHLMANN, J.; LUCKAS, B. Analysis of Selected Microcystins in Drinking and Surface Water Using a Highly Sensitive Direct Injection Technique. **Food & Environmental**, 2010.

DAI, G.; QUAN, C.; ZHANG, X.; LIU, J.; SONG, L.; GAN, N. Fast removal of cyanobacterial toxin microcystin-LR by a low-cytotoxic microgel-Fe(III) complex. **Water research**, v.46, p. 1482-1489, 2012.

DAWSON, R.M. The toxicology of microcystins. **Toxicon**, v.36, n.7, p.953-962, 1998.

DE JÚLIO, M. Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de microcistina-LR e agrotóxicos em águas superficiais, utilizando as técnicas de Cromatografia Líquida e Cromatografia Gasosa Acopladas a Espectrometria de Massas. **Dissertação de Mestrado em Engenharia Ambiental**. Universidade Federal de Ouro Preto, M.G. 2010

DE JULIO, M.; NEVES, E.F.A.; TROFINO, J.C.; DI BERNARDO, L. Emprego do reagente de fenton como agente coagulante na remoção de substâncias húmicas de água por meio da flotação por ar dissolvido e filtração. **Eng. sanit. ambient.** v.11, n.3, p.260-268, 2006.

DE LA CRUZ, A.A.; HISKIA, A.; KALOUDIS, T.; CHERNOFF, N.; HILL, D.; ANTONIOU, M. G.; HE, X.; LOFTIN, K.; O'SHEA, K.; ZHAO, C.; PELAEZ, M.; HAN, C.; LYNCH, T.J.; DIONYSIOU, D.D. A review on cylindrospermopsin: The global occurrence, detection, toxicity and degradation of a potent cyanotoxin. **Environmental Science Processes & Impacts**, 2013.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A.D.B. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. v.1, 2.ed. São Carlos: Rima, 2005.

DI BERNARDO, L.; MINILLO, A.; DANTAS, A.D.B. **Florações de algas e cianobactérias: suas influências na qualidade da água e nas tecnologias de tratamento**, São Carlos: LDiBe, 2010.

DIGNUM, M.; MATTHIJS, H.C.P.; PEL, R.; LAANBROEK, H.J.; MUR, L.R. Nutrient limitation of freshwater cyanobacteria. In: HUISMAN, J.; MATTHIJS, H.C. P.; VISSER, P. M. (Org.) HARMFUL CYANOBACTERIA. **Aquatic Ecology Series**, v.3, 2005.

DIXON, M.B.; RICHARD, Y.; HO, L.; CHOW, C.W.K.; O'NEILL, B.K.; NEWCOMBE, G.A. Coagulation - powdered activated carbon-ultrafiltration - Multiple barrier approach for removing toxins from two Australian cyanobacterial blooms. **Journal of Hazardous Materials**, v.186, p.1553-1559, 2011.

DONATI, C.; DRIKAS, M.; HAYES, R.; NEWCOMBE, G. Microcystin-LR adsorption by powdered activated carbon. **Water Research**, v.28, n.8, p.1735-1742, 1994.

DÖRR, F.A.; PINTO, E.; SOARES, R.M.; AZEVEDO, S.M.F.O. Microcystins in South American aquatic ecosystems: Occurrence, toxicity and toxicological assays. **Toxicon**. v.56 p.1247-1256, 2010.

DRIKAS, M.; CHOW, C.W.K.; HOUSE, J.; BURCH, M.D. Using coagulation, flocculation, and settling to remove toxic cyanobacteria. **Journal AWWA**, v.93, ed.2, p.100-111, 2001.

DUAN, H.; MA, R.; LOISELLE, S.A.; SHEN, Q.; YIN, H.; ZHANG, Y. Optical characterization of black water blooms in eutrophic waters. **Science of the Total Environment** v.482-483, p.174-183, 2014.

EDWARDS, C.; GRAHAM, D.; FOWLER, N.; LAWTON, L.A. Biodegradation of microcystins and nodularin in freshwaters. **Chemosphere**, v.73, p.1315-1321, 2008.

EL-SHEIKH, S.M.; ZHANG, G.; EL-HOSAINY, H.M.; ISMAIL, A.A.; O'SHEA, K.E.; FALARAS, P.; KONTOS, A.G.; DIONYSIOU, D.D. High performance sulfur, nitrogen and carbon doped mesoporous anatase-brookite TiO<sub>2</sub> photocatalyst for the removal of microcystin-LR under visible light irradiation. **Journal Hazard Mater**, v.280, p.723-733, 2014.

ESTEVEZ, F.A. **Fundamentos de limnologia**. 3.ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011.

FANG, Y.F.; CHEN, D.X.; HUANG, Y.P.; YANG, J.; CHEN, G.W. Heterogeneous Fenton Photodegradation of Microcystin-LR with Visible Light Irradiation. **Chinese journal of analytical chemistry**, v.39, 2011.

FASTNER, J.; ERHARD, M.; VON DÖHREN, H. Determination of Oligopeptide Diversity within a Natural Population of *Microcystis spp.* (Cyanobacteria) by Typing Single Colonies by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry. **Applied and Environmental Microbiology**, v.67, n.11, p.5069-5076, 2011.

FENTON, H.J.H. Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *J. Chem. Soc., Trans.* v.65, p.899-911, 1894.

FEURSTEIN, D.; HOLST, K.; FISCHER, A.; DIETRICH, D.R. Oatp-associated uptake and toxicity of microcystins in primary murine whole brain cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**. v.2, p.247–255, 2009.

FERREIRA, P.P. **Manual de cultivo e bioencapsulação da cadeia alimentar para a larvicultura de peixes marinhos**. São Paulo: Rima, 2004.

FIGUEIREDO, D.R. Microcystin-producing blooms a serious global public health issue. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.59, p.151-163, 2004.

FILHO, A.S.F. Bioacumulação de cianotoxinas e seus efeitos em organismos aquáticos. **Oecol. Bras.**, v.13, p.272-312, 2009.

FIGURE, M.; SANTOS, E.P.; SCHMACHTENBERG, N. Processos oxidativos avançados: fundamentos e aplicação ambiental. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v.18, p.79-91, 2014.

FISCHER, A.; HOEGER, S.J.; STEMMER, K.; FEURSTEIN, D.J.; KNOBELOCH, D.; NUSSLER, A.; DIETRICH, D.R. The role of organic anion transporting polypeptides (OATPs/SLCOs) in the toxicity of different microcystin congeners in vitro: A comparison of primary human hepatocytes and OATP-transfected HEK293 cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.245, p.9-20, 2010.

FLEMING, L.E.; RIVERO, C.; BURNS, J.; WILLIAMS, C.; BEAN, J.A.; SHEA, K.A.; STINN, J. Blue green algal (cyanobacterial) toxins, surface drinking water, and liver cancer in Florida. **Harmful Algae**, p.157-168, 2002.

FREITAS, A.M.; SIRTORI, C.; LENZ, C.A.; ZAMORA, P.G.P. Microcystin-LR degradation by solar photo-Fenton, UV-A/photo-Fenton and UV-C/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: a comparative study. **Photochem Photobiol Sci**, p.696-702, 2013.

GAJDEK, P.; LECHOWSKI, Z.; BOCHNIA, T.; KEÏPCZYNÂSKI, M. Decomposition of microcystin-LR by Fenton oxidation. **Toxicon**, v.39, p.1575-1578, 2001.

GAMA, M.R. Processos Fenton como Alternativa na Remoção de Interferentes Endócrinos e outros Micropoluentes Ambientais. **Rev. Virtual Quim**, v.4, n.6, p.777-787, 2012.

GIJSBERTSEN-ABRAHAMSE, A.J.; SCHMIDT, W.; CHORUS, I.; HEIJMAN, S.G.J. Removal of cyanotoxins by ultrafiltration and nanofiltration. **Journal of Membrane Science** v.276, p.252-259, 2006.

GORHAM, P.R.; MCLACHLAN, J.; HAMMER, U.T.; KIM, W.K. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos-aquae* (lyng) de Breb. Verh. **Int. Verein. Limnol.**, v.15, p.796-804, 1964.

GOSSELIN, F.; MADEIRA, L.M.; JUHNA, T.; BLOCK, J.C. Drinking water and biofilm disinfection by Fenton-like reaction. **Water Research**, v.47, p.5631-5638, 2013.

GREGORY, R.; ZABEL, T.F.; EDZWALD, J.K. Sedimentation and flotation. In: **Water Quality and Treatment**. Org: LETTERMAN, R.D. 5.ed, American Water Works Association, 1999.

GULKAYA, I.; SURUCU, G.A.; DILEK, F.B. Importance of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup> ratio in Fenton's treatment of a carpet dyeing wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, v.36, p.763-769, 2006.

GUTIÉRREZ-PRAENA, D.; CAMPOS, A.; AZEVEDO, J.; NEVES, J.; FREITAS, M.; GUZMÁN-GUILLÉN, R.; CAMEÁN, A.M.; RENAUT, J.; VASCONCELOS, V. Exposure of *Lycopersicon esculentum* to Microcystin-LR: Effects in the Leaf Proteome and Toxin Translocation from Water to Leaves and Fruits. **Toxins**, v.6, p.1837-1854, 2014.

HALASZ, M.R.T.; JUNIOR, J.C.T. Processos oxidativos avançados e físico-químicos aplicados na remediação de efluentes têxteis. **Enciclopédia biosfera**, v.8, n.14, p.1363, 2012.

HAUSER-DAVIS, R.A.; LAVRADAS, R.T.; ROJAS, R.C.L.E.G.A.; GUARINO, A.W.S.; ZIOLLI, R.L. Accumulation and toxic effects of microcystin in tilapia (*Oreochromis niloticus*) from an eutrophic Brazilian lagoon. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.112, p.132-136, 2015.

HE, X.; DE LA CRUZ, A.A.; HISKIA, A.; KALOUDIS, T.; O'SHEA, K.; DIONYSIOU, D.D. Destruction of cyanotoxin microcystins by UV-254 nm based direct photolysis and advanced oxidation processes (AOPs): Influence of variable amino acids on the degradation kinetics and reaction mechanisms. **Water Research**, v.74, p.227-238, 2015.

HE, X.; PELAEZ, M.; WESTRICK, J.A.; O'SHEA, K.E.; HISKIA, A.; TRIANTIS, T.; KALOUDIS, T.; STEFAN, M.I.; DE LA CRUZ, A.A.; DIONYSIOU, D.D. Efficient removal of microcystin-LR by UV-C/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in synthetic and natural water samples. **Water research**, v.46 p.1501-1510, 2012.

HITZFELD, B.C.; LAMPERT, C.S.; SPAETH, N.; MOUNTFORT, D.; KASPAR, H.; DIETRICH, D.R. Toxin production in cyanobacterial mats from ponds on the McMurdo Ice Shelf, Antarctica. **Toxicon**, v.38, p.1731-1748, 2000.

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.

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

HUANG, W.; CHU, H.; DONG, B.; HU, M.; YU, Y. A membrane combined process to cope with algae blooms in water. **Desalination**, v.355, p.99-109, 2015.

IBELINGS, B.W.; CHORUS, I. Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater "seafood" and its consequences for public health: A review. **Environmental Pollution**, v.150 p.177-192, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE (2008). **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico**. Rio de Janeiro, Brasil, 2008.

ISAACS, J.D.; STRANGMAN, W.K.; BARBERA, A.E.; MALLIN, M.A.; MCIVER, M.R.; WRIGHT, J.L.C. Microcystins and two new micropeptin cyanopeptides produced by unprecedented *Microcystis aeruginosa* blooms in North Carolina's Cape Fear River. **Harmful Algae**, v.31, p.82-86, 2014.

JARDIM, F.A.; SPERLING, E.V.; JARDIM, B.F.M.; ALMEIDA, K.C.B. Fatores determinantes das florações de cianobactérias na água do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **Eng. Sanit. Ambient.**, v.19, n.3, p. 207-218, 2014.

JIA, J.; LUO, W.; LU, Y.; GIESY, J.P. Bioaccumulation of microcystins (MCs) in four fish species from Lake Taihu, China: Assessment of risks to humans. **Science of the Total Environment**, v.487, p.224-232, 2014.

JIANG, J.; SHI, Y.; SHAN, Z.; YANG, L.; WANG, X.; SHI, L. Bioaccumulation, oxidative stress and HSP70 expression in *Cyprinus carpio* L. exposed to microcystin-LR under laboratory conditions. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.155, p.483-490, 2012.

JURCZAK, T.; TARCZYNSKA, M.; IZYDORCZYK, K.; MANKIEWICZ, J.; ZALEWSKI, M.; MERILUOTO, J. Elimination of microcystins by water treatment processes - examples from Sulejow Reservoir, Poland. **Water Research**, v.39, p.2394-2406, 2005.

KANG, S.F. Pre-oxidation and coagulation of textile wastewater by the Fenton process. **Chemosphere**, v.46, p.923-928, 2002.

KANG, Y.W.; HWANG, K.Y. Effects of reaction conditions on the oxidation efficiency in the fenton process. **Water research**. v.34, n.10, p.2786-2790, 2000.

KARDINAAL, W.E.A.; VISSER, P.M. Dynamics of cyanobacterial toxins. In: HUISMAN, J.; MATTHIJS, H.C.P.; VISSER, P.M. (Org.) HARMFUL CYANOBACTERIA. **Aquatic Ecology Series**, v.3, 2005.

KARTHIKEYAN, S.; TITUS, A.; GNANAMANI, A.; MANDAL, A.B.; SEKARAN, G. Treatment of textile wastewater by homogeneous and heterogeneous Fenton oxidation processes. **Desalination**, v.281, p.438-445, 2011.

KRANZLER, C.; RUDOLF, M.; KEREN, N.; SCHLEIFF, E. Iron in Cyanobacteria. **Advances in Botanical Research**, v.65, p.57-105, 2013.

KRUVE, A.; REBANE, R.; KIPPER, K.; OLDEKOP, M.L.; EVARD, H.; HERODES, K.; RAVIO, P.; LEITO, I. Tutorial review on validation of liquid chromatography - mass spectrometry methods: Part I. **Analytica Chimica Acta**, v.870, p.29-44, 2015.

LAMBERT, T.W.; HOLMES, C.F.B.; HRUDE, S.E. Microcystin class of toxins: health effects and safety of drinking water supplies. **Water Supplies. Environ.** v.2, p.167-186, 1994.

LEAL, A.C.; SOARES, M.C.P. Hepatotoxicidade da cianotoxina microcistina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.37, p.84-89, 2004.

LEE, J.; WALKER, H.W. Mechanisms and factors influencing the removal of microcystin-LR by ultrafiltration membranes. **Journal of Membrane Science**. v.320, p.240-247, 2008.

LETTERMAN, R.D.; AMIRTHARAJAH, A.; O'MELIA, C.R. Coagulation and Flocculation. In: **Water Quality and Treatment**. Org: LETTERMAN, R.D. 5.ed, American Water Works Association, 1999.

LI, L.; GAO, NAI-YUN; DENG, Y.; YAO, JUAN-JUAN; ZHANG, KE-JIA; LI, HAI-JUN; YIN, DI-DI; OU, HUA-SE; GUO, JIAN-WEI. Experimental and model comparisons of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> assisted UV photodegradation of Microcystin-LR in simulated drinking water. **Journal of Zhejiang University SCIENCE**, v.10, p.1660-1669, 2009.

LI, W.; NANABOINA, V.; ZHOU, Q.; KORSHIN, G.V. Effects of Fenton treatment on the properties of effluent organic matter and their relationships with the degradation of pharmaceuticals and personal care products. **Water research**, v.46, p.403-412, 2012.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento da água**. Campinas: Átomo, 2010.

LINDEN, K.G.; MOHSENI, M. Advanced Oxidation Processes: Applications in Drinking Water Treatment. **Comprehensive Water Quality and Purification**, v.2, p.148-172, 2014.

LIU, S.; ZHAO, X.R.; SUN, HU-YUAN; LI, RUI-PING; FANG, YAN-FENG; HUANG, YING-PING. The degradation of tetracycline in a photo-electro-Fenton system. **Chemical Engineering Journal**, v.231, p.441-448, 2013.

LLEWELLYN, L.E. Saxitoxin, a toxic marine natural product that targets a multitude of receptors. **Nat. Prod. Rep.**, v.23, p.200-222, 2006.

LOPEZ, A.; PAGANO, M.; VOLPE, A.; DI PINTO; A.C. Fenton's pre-treatment of mature landfill leachate. **Chemosphere**, v.54, p.1005-1010, 2004.

MACEDO, D.R.G. Microcistina na água e biomagnificação em peixes de reservatórios de abastecimento público do Estado da Paraíba. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - **PRODEMA**, Universidade Federal da Paraíba - Universidade Estadual da Paraíba, João Pessoa – PB, 2009.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; STAHL, D.; CLARK, D.P. **Microbiology Brock**. 13. ed. Pearson Education, p. 2012.

MAGALHÃES, V.F.; MARINHO, M.M.; DOMINGOS, P.; OLIVEIRA, A.C.; COSTA, S.M.; AZEVEDO, L.O; AZEVEDO, S.M.F.O. Toxicon Microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brasil, RJ). **Toxicon**, v.42, p.289-295, 2003.

MAKAREWICZ, J.C.; BOYER, G.L.; LEWIS, T.W.; GUENTHER, W.; ATKINSON, J.; ARNOLD, M. Spatial and temporal distribution of the cyanotoxin microcystin-LR in the Lake Ontario ecosystem: Coastal embayments, rivers, nearshore and off shore, and upland lakes. **Journal of Great Lakes Research**, v.35, p.83-89, 2009.

MAYUMI, T.; KATO, H.; IMANISHI, S.; KAWASAKI, Y.; HASEGAWA, M.; HARADA, K.J. Structural Characterization of Microcystins by LC/MS/MS under Ion Trap Conditions. **Antibiotics**, v.59, p.710-719, 2006.

MEREL, S.; WALKER, D.; CHICANA, R.; SNYDER, S.; BAURÈS, E.; THOMAS, O. State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. **Environment International**, v.59, p.303-327, 2013.

METCALF, J.S.; CODD, G.A. Cyanotoxins. In Freshwater Benthic Environments. In: WHITTON, B.A. (Org.) **Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time**, New York: Springer, p.1-13, 2012.

MIAO, H.F.; QIN, F.; TAO, G.J.; TAO, W.Y.; RUAN, W.Q. Detoxification and degradation of microcystin-LR and -RR by ozonation. **Chemosphere**, v.79, p.355-361, 2010.

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

MOSS, B.; KOSTEN, S.; MEERHOFF, M.; BATTARBEE, R.W.; JEPPESEN, E.; MAZZEO, N.; HAVENS, K.; LACEROT, G.; LIU, Z.; MEESTER, L.; PAERL, H.; SCHEFFER, M. Allied attack: climate change and eutrophication. **Inland Waters**, p.101-105, 2011.

MOTA, A.L.N.; ALBUQUERQUE, L.F.; BELTRAME, L.T.C.; CHIAVONE-FILHO, O.; MACHULEK, J.R.A.; NASCIMENTO, C.A.O. Advanced oxidation processes and their application in the petroleum industry: a review. **Brazilian Journal of Petroleum and Gas**. v.2, n.3, p.122-142, 2008.

NEYENS, E.; BAEYENS, J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. **Journal of Hazardous Materials**, v.98, p.33-50, 2003.

NOGUEIRA, R.F.P. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos fenton e foto-fenton. **Química Nova**, v.30, n.2, p.400-408, 2007.

OLIVEIRA, M.C.N.; CEBALLOS, B.S.O. Níveis de eutrofização de um reservatório localizado no Semiárido Paraibano. In: 158º Congresso Nordestino de Biólogos. João Pessoa. **Anais eletrônicos**, v.4, p.1-4, 2014.

OLIVER, R.L.; HAMILTON, D.P.; BROOKES, J.D.; GANF, G.G. Physiology, Blooms and Prediction of Planktonic Cyanobacteria. In Freshwater Benthic Environments. In: WHITTON, B. A. (Org.) **Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time**, New York: Springer, p.1-13, 2012.

OLLER, I.M.S.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J.A. Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for wastewater decontamination - A review. **Science of the Total Environment**, v.409, p.4141-4166, 2011.

PALDAVIČIENĖ, A.; ZAIKO, A.; MAZUR-MARZEC, H.; RAZINKOVAS-BAZIUKAS, A. Bioaccumulation of microcystins in invasive bivalves: A Case study from the boreal lagoon ecosystem. **Oceanologia**. v.57, p.93-101, 2015.

PINHO, L.X.; AZEVEDO, J.; BRITO, Â.; SANTOS, A.; TAMAGNINI, P.; VILAR, V.J.P.; VASCONCELOS, V.M.; VENTURA, R.A.R.B. Effect of TiO<sub>2</sub> Photocatalysis on the Destruction of Microcystis aeruginosa Cells and Degradation of Cyanotoxins Microcystin-LR and Cylindrospermopsin. **Chemical Engineering Journal**, v.268, p.144-152, 2015.

PIPI, A.R.F.; SIRÉS, I.; ANDRADE, A.R.; BRILLAS, E. Application of electrochemical advanced oxidation processes to the mineralization of the herbicide diuron. **Chemosphere**, v.109, p.49-55, 2014.

POURIA, S.; ANDRADE, A.; BARBOSA J.; CAVALCANTI, R.L.; BARRETO, V.T.S.; WARD, C.J.; PREISER, W.; POON, G.K.; NEILD, G.H.; CODD, G.A. Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. **The Lancet**, v.352, p. 21-26, 1998.

PUSCHNER, B.; ROEGNER, A.F. Cyanobacterial (blue-green algae) toxins. In: GUPTA, R. C. (Org.). **Veterinary Toxicology: Basic & Clinical Principles**. San Diego, p.953-966, 2012.

QIAO, R.P.; LI, N.; QI, X.H.; WANG, Q.S.; ZHUANG, Y.Y. Degradation of microcystin-RR by UV radiation in the presence of hydrogen peroxide. **Toxicon**, v.45, 745-752, 2005.

QUIROZ, M.A.; BANDALA, E.R.; MARTÍNEZ-HUITLE, C.A. Advanced Oxidation Processes (AOPs) for Removal of Pesticides from Aqueous Media. In: STOYTCHIEVA, M. (Org.) **Pesticides - Formulations, Effects, Fate**, 2011.

REYNOLDS, C.S. **The ecology of phytoplankton**. Cambridge University Press, Cambridge, 2006.

RODRÍGUEZ, V.; MOURA, S.; PINTO, E.; PEREIRA, C.M.P.; BRAGA, R.C. Aspectos toxicológicos e químicos da anatoxina-a e seus análogos. **Quim. Nova**, v.29, n.6, p.1365-1371, 2006.

SANT'ANNA, C.L.; AZEVEDO, M.T.P.; WERNER, V.R.; DOGO, C.R.; RIOS, F.R.; CARVALHO, L.R. Review of toxic species of Cyanobacteria in Brazil. **Algol Studies**. v.126, p.251-265, 2008.

SANTIAGO, L.M. 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, 2008.

SANTOS, A.P.M.E.; BRACARENSE, A.P.F.R.L. Hepatotoxicidade associada à microcistina. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v.29, n.2, p.417-430, 2008.

SCHMIDT, J.R.; WILHELM, S.W.; BOYER, G.L. The Fate of Microcystins in the Environment and Challenges for Monitoring. **Toxins**, v.6, p.3354-3387, 2014.

SCHOPF, J.W. The Fossil Record of Cyanobacteria. In: WHITTON, B.A. (Org) **Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time**, New York: Springer, p.16-36, 2012.

SCOTT, A.J.T.; MARCARELLI, M. Cyanobacteria. In Freshwater Benthic Environments. In: WHITTON, B.A. (Org.) **Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time**, New York: Springer, p.271-289, 2012.

ŠEJNOHOVÁ, L.; MARŠÁLEK, B. Microcystis. In: WHITTON, B.A. (Org.) **Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time**, New York: Springer, p.1-13, 2012.

SHARMA, S.; RUPARELIA, J.P.; PATEL, M.L. A general review on Advanced Oxidation Processes for wastewater treatment. **NUICONE**, 2011.

SILVA, C.E.; LANGE, L.C.; AMARAL, M.C.S.; ARTHUZO, P.P. Aplicação dos processos fenton e foto-fenton no tratamento de percolados de aterros sanitários. **XVI Congresso brasileiro de engenharia química**, 2006.

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

SONG, W.; XU, T.; COOPER, W.J.; DIONYSIOU, D.D.; DE LA CRUZ, A.A.; O'SHEA, K.E. Radiolysis Studies on the Destruction of Microcystin-LR in Aqueous Solution by Hydroxyl Radicals. **Environ Sci Technol**. v.43, p.1487-1492, 2009.

SORLINI, S.; GIALDINI, F.; COLLIVIGNARELLI, C. Removal of cyanobacterial cells and Microcystin-LR from drinking water using a hollow fiber microfiltration pilot plant. **Desalination**, v.309, p.106-112, 2013.

SOUZA, C.R.L.; PERALTA-ZAMORA, P. Degradação de corantes reativos pelo sistema ferro metálico/peróxido de hidrogênio. **Quim. Nova**, v.28, n.2, p.226-228, 2005.

TEIXEIRA, M.R.; ROSA, M.J. Microcystins removal by nanofiltration membranes. **Separation and Purification Technology**, v.46, p.192-201, 2005.

TEIXEIRA, M.G.L.; COSTA, M.C.N.; CARVALHO, V.L.P.; PEREIRA, M.S.; HAGE, E. Epidemia de gastroenterite área da barragem de Itaparica, Bahia. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v.114, p.502-512, 1993.

TUNDISI, J.G. Água no século 21: enfrentando a escassez. **RIMA/IIIE**, 2003.

VASCONCELOS, J.F.; BARBOSA, J.E.L.; DINIZ, C.R.; CEBALLOS, B.S.O. Cianobactérias em reservatórios do Estado da Paraíba: ocorrência, toxicidade e fatores reguladores. **Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia**, n.2, v.39, p.1-20, 2011.

VAN DER MERWE, D. Cyanobacterial (Blue-Green Algae) Toxins. In: *GUPTA, R.C.* (ed.). **Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents**, 2.ed., p.421-429, 2015.

VILELA, W.F.D.; MINILLO, A.; ROCHA, O.; VIEIRA, E.M.; AZEVEDO, E.B. Degradation of [D-Leu]-Microcystin-LR by solar heterogeneous photocatalysis (TiO<sub>2</sub>). **Solar Energy**, v.86, p.2746-2752, 2012.

VILLACORTE, L.O.; TABATABAI, S.A.A.; ANDERSON, D.M.; AMY, G.L.; SCHIPPERS, J.C.M.; KENNEDY, D. Seawater reverse osmosis desalination and (harmful) algal blooms **Desalination**, v.360, p.61-80, 2015.

VON SPERLING, M. **Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos: Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias**. v.1, Belo Horizonte: DESA-UFMG, 2005.

WANG, Q.; XIE, P.; CHEN, J.; LIANG, G. Distribution of microcystins in various organs (heart, liver, intestine, gonad, brain, kidney and lung) of Wistar rat via intravenous injection. **Toxicol**, v.52, p.721-727, 2008.

WEIRICH, C.A.; MILLER, T.R. Freshwater Harmful Algal Blooms: Toxins and Children's Health. **Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care**, v.44, p.2-24, 2014.

WHITTON, B.A.; POTTS, M. Introduction to the Cyanobacteria. In: WHITTON, B.A. (Org.) **Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time**, New York: Springer, p.1-13, 2012.

UTERMÖHL, H. Zur Vervollkommung der quantitativen phytoplankton-methodik. **Mitteilungen Internationale Vereinigung fur Theoretische und Angewandte Limnologie** v.9, p.1-38, 1998.

YUAN, B.; LI, Y.; HUANG, X.; LIU, H.; QU, J. Fe (VI) - assisted photocatalytic degrading of microcystin-LR using titanium dioxide. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v.178, p.106-111, 2006.

YUAN, B.L.; QU, J.H.; FU, M.L. Removal of cyanobacterial microcystin-LR by ferrate oxidation-coagulation. **Toxicol**, v.40, p.1129-1134, 2002.

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

ZAGATTO, P.A.; ARAGÃO, M.A. Implantação de métodos para avaliação de algas tóxicas. São Paulo. **Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB)**, p.23, 1992.

ŽEGURA, B.; SEDMAK, B.; FILIPIC, M. Microcystin-LR induces oxidative DNA damage in human hepatoma cell line HepG2. **Toxicol**, v.41, p.41-48, 2003.

ŽEGURA, B.; ŠTRASER, A.; FILIPIČ, M. Genotoxicity and potential carcinogenicity of cyanobacterial toxins – a review. **Mutation Research**, v.727, p.16-41, 2011.

ZHANG, D.; XIE, P.; LIU, Y.; QIU, T. Transfer, distribution and bioaccumulation of microcystins in the aquatic food web in Lake Taihu, China, with potential risks to human health. **Science of the total environment**, v.407, p.2191-2199, 2009.

ZHANG, J.; WANG, Z.; SONG, Z.; XIE, Z.; LI, L.; SONG, L. Bioaccumulation of microcystins in two freshwater gastropods from a cyanobacteria-bloom plateau lake, Lake Dianchi. **Environmental Pollution**, v.164, p.227-234, 2012.

ZHONG, Y.; JIN, X.; QIAO, R.; QI, X.; ZHUANG, Y. Destruction of microcystin-RR by Fenton oxidation. **Journal of Hazardous Materials**, v.167, p.1114-1118, 2009.

ZHOU, M.; TU, W.; XU, J. Mechanisms of microcystin-LR-induced cytoskeletal disruption in animal cells. **Toxicol**, v.101, p.92-100, 2015.

ZONG, W.; SUN, F.; SUN, X. Oxidation by-products formation of microcystin-LR exposed to UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Toward the generative mechanism and biological toxicity. **Water research**, v.47, p.3211-3219, 2013.