



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

GISELA LIMA DA FONSECA

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS E
CIANOTOXINAS PELA TÉCNICA DE TRATAMENTO DE
CICLO COMPLETO EM ESCALA DE BANCADA**

Londrina
2014

GISELA LIMA DA FONSECA

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS E
CIANOTOXINAS PELA TÉCNICA DE TRATAMENTO DE
CICLO COMPLETO EM ESCALA DE BANCADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Edificações e Saneamento do Centro de Tecnologia e Urbanismo da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Edificações e Saneamento.

Orientadora: Profa. Dra. Emília Kiyomi Kuroda

Londrina
2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

F676a Fonseca, Gisela Lima da.

Avaliação da remoção de cianobactérias e cianotoxinas pela técnica de tratamento de ciclo completo em escala de bancada / Gisela Lima da Fonseca . – Londrina, 2014.
75 f. : il.

Orientador: Emília Kiyomi Kuroda.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Tecnologia e Urbanismo, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, 2014.

Inclui bibliografia.

1. Cianobactéria – Teses. 2. Cianotoxina – Teses. 3. Água - Purificação – Teses. 4. – Saúde pública -Teses. I. Kuroda, Emília Kiyomi. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Tecnologia e Urbanismo. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica. III. Título.

CDU 628.16

GISELA LIMA DA FONSECA

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS E
CIANOTOXINAS PELA TÉCNICA DE TRATAMENTO DE CICLO
COMPLETO EM ESCALA DE BANCADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Edificações e Saneamento do Centro de Tecnologia e Urbanismo da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Edificações e Saneamento.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Emília Kiyomi Kuroda
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Luiz Di Bernardo
Universidade de Ribeirão Preto - URP

Prof. Dr. Paulo César Meletti
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 20 de maio de 2014.

*Dedico aos meus pais João Francisco
e Rosângela.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado força e sabedoria para finalizar este trabalho.

Aos meus pais, João Francisco e Rosângela, por serem minha base, meus exemplos, por acreditarem e fazerem o necessário para que meus sonhos se realizem. Obrigada pelo amor incondicional nos momentos de alegria e sucesso e principalmente nos de preocupação e cansaço.

À Prof.^a Dra. Emília Kuroda, pela orientação, paciência, dedicação e ensinamentos que contribuíram para minha formação. A você minha sincera gratidão e admiração.

Aos estagiários de iniciação científica: Adriana Linhares, Paulo Daschevi, Isabeli Fiochi, Murilo Bento, Danilo Dassayev, Josemarque da Rosa, Luciana Müller, Henrique Sella, Renan Borelli e Isabella Crescêncio, por toda ajuda nos experimentos, pelo companheirismo e momentos de distração. Desejo a todos muito sucesso! Sentirei saudades!

Aos Srs. Carlos Duarte funcionário do Laboratório de Maquetes da UEL e Ivan Alves do Laboratório de Saneamento pelo auxílio nos experimentos.

Aos amigos do Laboratório de Saneamento: Aline Batista, Marcos Mendes, Wilson Junior e Jandira Pozzetti, pela amizade, pelas brincadeiras e risadas que tornaram esses dois anos mais leves.

Aos amigos do mestrado: Charles Moretto, Alessandro Kremer, Nill Aragão, Caio Zanna, Lucas Melchiori, Ana Carolina Padilha e Caroline Waidhelm, pelo convívio e saudosos churrascos que alegraram esses dois anos.

Aos amigos que levo ao longo dos anos: Cecília Ferronato, Helena Peggau, Caroline Ariyoshi, Juliana Bombarda, Mariana Nardy, Thais Liboni, Thais Miti, Ruth Guerra, Verena Cunha, Diana Mendonça, Guilherme Nomelini, Theo Bovo, André Marques e Tiago Menezes, muito obrigada pela amizade, pelos conselhos, pelas conversas encorajadoras, por me ampararem nos momentos de desânimo e pelos momentos de diversão. Muito obrigada!

À CAPES pela bolsa concedida.

*"Julgue seu sucesso pelas coisas
que você teve que renunciar para
conseguir."*

Dalai Lama

FONSECA, Gisela Lima da. **Avaliação da remoção de cianobactérias e cianotoxinas pela técnica de tratamento de ciclo completo em escala de bancada**. 2014. 75 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Edificações e Saneamento) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

RESUMO

A presença de cianobactérias em mananciais destinados ao abastecimento interfere diretamente na qualidade da água, pode comprometer a eficiência e produtividade do sistema de tratamento de água e causar efeitos negativos de risco à saúde pública, devido à produção de compostos potencialmente tóxicos e carcinogênicos, e de ordens estética e organoléptica pela produção de compostos que conferem odor e sabor às águas. Por outro lado, pesquisas tem mostrado que as tecnologias de tratamento por ciclo completo que envolve a coagulação química, floculação, sedimentação / flotação e filtração, não são capazes de, efetivamente, remover cianotoxinas e outros metabólitos na forma dissolvida, com destaque às microcistinas – MCs e saxitoxinas – SXTs. O objetivo deste trabalho foi avaliar a remoção de cianobactérias e cianotoxinas pela técnica de tratamento de ciclo completo com uso da sedimentação ou flotação e filtração em meio granular em escala de bancada. Para as condições estudadas no trabalho pode-se concluir que as condições de máxima eficiência de coagulação corresponderam à faixa de pH entre 6,8 e 7,0. Dos resultados de remoção celular de células de *C. raciborskii* e de *Microcystis* sp dos efluentes produzidos antes da filtração, a flotação mostrou ser mais eficiente do que a sedimentação. A remoção de cianotoxinas dissolvidas não foi eficiente pelos tratamentos testados.

Palavras-chave: Ciclo completo. *C. raciborskii*. *Microcystis* sp. Microcistinas. Saxitoxinas.

FONSECA, Gisela Lima da. **Evaluation of removing cyanobacteria and the technique cyanotoxins complete cycle of treatment on a bench scale**. 2014. 75 pp. Dissertation (Master's Degree in Electrical engineering) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

ABSTRACT

The presence of cyanobacteria in water sources that are used for public water supplies directly affects the water quality can compromise the efficiency and productivity of water treatment system and cause adverse effects to public health risk due to the production of potentially toxic and carcinogenic compounds , and aesthetic and organoleptic orders for the production of compounds that confer taste and odor to the water . On the other hand, research has shown that treatment technologies for complete cycle that involves chemical coagulation , flocculation , sedimentation / flotation and filtration , are not able to effectively remove cyanotoxins and other metabolites in dissolved form , especially the microcystins - MCs and saxitoxins - SXTs . The objective of this study was to evaluate the removal of cyanobacteria and cyanotoxins by treatment technique using complete cycle of sedimentation or flotation and granular media filtration bench scale . For the conditions studied in this work, it can be concluded that the conditions for maximum efficiency coagulation corresponded to between pH 6.8 and 7.0. From the results of removing cells from cell *C. raciborskii* and *Microcystis sp* effluent produced before filtration, flotation was more efficient than sedimentation. The removal of dissolved cyanotoxins was not efficient by the tested treatments.

Keywords: *C. raciborskii*. *Microcystis sp*. Microcystins. Saxitoxins .

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estrutura química das Microcistinas.....	21
Figura 2 –	Estrutura química geral das saxitoxinas.....	22
Figura 3 –	Estrutura química da debromoapliasiatoxinas.....	23
Figura 4.1.1 –	Câmaras de sedimentação para amostras de 2,0; 5,0; 10 ; 20 e 40 mL.....	29
Figura 4.1.3 –	Ilustração do processo de reação do método de imunoenensaio ELISA para análises de cianotoxinas.....	31
Figura 4.1.4 –	Fotos do material e equipamentos utilizados nas análises pelo método de imunoenensaio ELISA.....	32
Figura 4.2.1 –	Fotos das culturas de cianobactérias mantidas no laboratório	33
Figura 4.2.2 –	Fotomicrografias de cianobactérias da espécie <i>Microcystis sp</i> – TAC95.....	34
Figura 4.2.3 –	Fotomicrografias de cianobactérias da espécie <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> – A1	34
Figura 3 –	Etapas da produção dos extratos de toxinas	36
Figura 4 –	Fluxograma do delineamento experimental da pesquisa	39
Figura 5 –	Equipamento jarreste e sistema de filtros de laboratório de areia – FLAs.....	40
Figura 6 –	Equipamento floteste constituído por 3 jarros de acrílico, uma câmara de pressurização e dispositivo para aplicação de produtos químicos.....	42
Figura 7 -	Fotos da cultura da cepa toxigênica de <i>C. raciborskii</i> – A1 / Caracterização da cepa	48
Figura 8 –	Fotos da cultura da cepa toxigênica de <i>C. raciborskii</i> – A1 e Água de estudo AE-C	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados das cepas de cianobactérias testadas	32
Tabela 2 - Condições físicas para manutenção das culturas de cianobactérias	33
Tabela 3 - Métodos e equipamentos para caracterização física, química e microbiológica das águas de estudo e dos efluentes produzidos.....	37
Tabela 4 - Parâmetros operacionais utilizados nos Experimentos 1 e 2	41
Tabela 5 - Parâmetros operacionais utilizados nos Experimentos 3 e 4	43
Tabela 6 - Valores absolutos de clorofila-a e contagem celular da cepa toxigênica de <i>C raciborskii</i> – A1 monitorada durante 66 dias.....	45
Tabela 7 - Resultados da caracterização física, química e microbiológica das águas de estudo	49
Tabela 8 - Valores de densidade de cianobactérias e turbidez nas águas de estudo e efluentes produzidos nas respectivas condições de coagulação. Resumo dos resultados dos Ensaios de reprodução dos Experimentos para faixa ótima de pH.....	66

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Contagem de cianobactérias e concentração de clorofila-a na curva de crescimento da cepa toxigênica de <i>C. raciborskii</i> - A1	46
Gráfico 2 – Contagem celular, concentração de clorofila-a e microcistinas totais e extracelulares da curva de crescimento da cepa toxigênica de <i>M. sp.</i> TAC95	47
Gráfico 3 – Diagrama de Coagulação para turbidez dos sobrenadantes	50
Gráfico 4 – Diagrama de coagulação para turbidez dos filtrados do Experimento 1 / AE-A. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹ , Tfil=30min)	51
Gráfico 5 – Diagrama de coagulação para turbidez dos sobrenadantes do Experimento 2 / AE-B. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹)	52
Gráfico 6 – Diagrama de coagulação para turbidez dos filtrados do Experimento 2 / AE-B. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹ , Tfil=30min).....	52
Gráfico 7 – Diagrama de coagulação para turbidez dos subnadantes do Experimento 3 / AE-C. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹ , R=20%, Vasc=15 cm min ⁻¹ , P=4atm, Tsat=8min).....	53
Gráfico 8 – Diagrama de coagulação para turbidez dos filtrados do Experimento 3 / AE-C. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹ , R=20%, Vasc=15 cm min ⁻¹ , P=4atm, Tsat=8min, Tfil=30min).....	54
Gráfico 9 – Diagrama de coagulação para turbidez dos subnadantes do Experimento 4 / AE-D. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹ , R=20%, Vasc=15 cm min ⁻¹ , P=4atm, Tsat=8min).....	55
Gráfico 10 – Diagrama de coagulação para turbidez dos filtrados do Experimento 4 / AE-D. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹ , R=20%, Vasc=15 cm min ⁻¹ , P=4atm, Tsat=8min, Tfil=30min).....	55

Gráfico 11 – Valores de densidade de <i>Microcystis</i> sp e de turbidez dos sobrenadantes do Ensaio de reprodução do Experimento 1 / AE-A. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹).....	57
Gráfico 12 – Valores de densidade de <i>Microcystis</i> sp e de turbidez dos filtrados do Ensaio de reprodução do Experimento 1 / AE-A. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹ , Tfil=30min).....	57
Gráfico 13 – Valores de densidade de <i>C. raciborskii</i> e de turbidez dos sobrenadantes dos Ensaios de reprodução do Experimento 2 / AE-B®. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹).....	58
Gráfico 14 – Valores de densidade de <i>C. raciborskii</i> e de turbidez dos filtrados dos Ensaios de reprodução do Experimento 2 / AE-B®. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹ , Tfil=30min)	59
Gráfico 15 – Valores de densidade de <i>Microcystis</i> sp e de turbidez dos subnadantes dos ensaios de reprodução do Experimento 3 / AE-C®. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹ , R=20%, Vasc=15 cm min ⁻¹ , P=4atm, Tsat=8min).....	61
Gráfico 16 – Valores de densidade de <i>Microcystis</i> sp e de turbidez dos filtrados dos Ensaios de reprodução do Experimento 3 / AE-C®. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹ , R=20%, Vasc=15 cm min ⁻¹ , P=4atm, Tsat=8min, Tfil=30min).....	62
Gráfico 17 – Valores de densidade de <i>C. raciborskii</i> e de turbidez dos subnadantes dos Ensaios de reprodução do Experimento 4 / AE-D. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹ , R=20%, Vasc=15 cm min ⁻¹ , P=4atm, Tsat=8min)	64
Gráfico 18 – Valores de densidade de <i>C. raciborskii</i> e de turbidez dos filtrados dos Ensaios de reprodução do Experimento 4 / AE-D. (Tmr=60s, Gmr=600 s ⁻¹ , Tf=20min, Gf=20 s ⁻¹ , Vs=1,0 cm min ⁻¹ , R=20%, Vasc=15 cm min ⁻¹ , P=4atm, Tsat=8min, Tfil=30min).....	65

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	15
2	OBJETIVOS	17
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
3.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS CIANOBACTÉRIAS.....	18
3.2	Cianotoxinas.....	19
3.2.1	Hepatotoxinas.....	19
3.2.2	Neurotoxinas.....	21
3.2.3	Dermatotoxinas.....	22
3.3	LEGISLAÇÃO BRASILEIRA.....	23
3.4	TRATAMENTO DE ÁGUAS CONTENDO CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS PARA CONSUMO HUMANO	24
3.4.1	Tratamento de Águas Contendo Cianobactérias pela Técnica ee Tratamento por Ciclo Completo	24
4	MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1	MÉTODOS ESPECÍFICOS DE ANÁLISE.....	28
4.1.1	Contagem De Cianobactérias.....	28
4.1.2	Análise De Clorofila-A.....	29
4.1.3	Análise de Microcistinas e Saxitoxinas pelo Método de Imunoensaio <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay - ELISA</i>	30
4.2	CULTIVO DE CIANOBACTÉRIAS.....	32
4.2.1	Caracterização das Cepas de Cianobactérias.....	35
4.3	PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DE TOXINAS	35
4.4	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DAS ÁGUAS DE ESTUDO E DOS EFLUENTES PRODUZIDOS	36
4.5	ENSAIOS DE COAGULAÇÃO, FLOCULAÇÃO, SEDIMENTAÇÃO / FLOTAÇÃO E FILTRAÇÃO EM ESCALA DE BANCADA	37
4.5.1	Experimentos 1 e 2: Ensaio de Coagulação, Floculação, Sedimentação e Filtração em JARTESTE	39

4.5.2	Experimentos 3 e 4: Ensaio de Coagulação, Floculação, Flotação e Filtração em FLOTESTE.....	42
4.5.3	Ensaio de Reprodução e Condições de Máxima Eficiência	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1	CULTIVO DE CIANOBACTÉRIAS.....	44
5.1.1	Caracterização das Cepas de Cianobactérias.....	44
5.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DAS ÁGUAS DE ESTUDO	48
5.3	EXPERIMENTOS 1 e 2: ENSAIOS DE COAGULAÇÃO, FLOCULAÇÃO, SEDIMENTAÇÃO E FILTRAÇÃO EM JARTESTE.....	50
5.4	EXPERIMENTOS 3 E 4: ENSAIOS DE COAGULAÇÃO, FLOCULAÇÃO, FLOTAÇÃO E FILTRAÇÃO EM FLOTESTE.....	53
5.5	ENSAIOS DE REPRODUÇÃO E CONDIÇÕES SELECIONADAS DE MAIOR EFICIÊNCIA.....	56
6	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	69
7	BIBLIOGRAFIA.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Adda –	3-amino-9-metoxi-10-fenil-2,6,8-trimetildeca-4, 6- ácido dienóico
CV –	Coefficiente de variação
DL50 –	Dose letal para 50 % dos organismos
ELISA –	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
ETAs –	Estações de Tratamento de Águas
FUNASA –	Fundação Nacional da Saúde
LA –	Leucina e Alanina
LR –	Leucina e Arginina
LPS –	Lipopolissacarídeos
MC-LR –	Microcistina – LR
MC-RR –	Microcistina - RR
MCs –	Microcistinas
Mdha –	N-metildehidroalanina
mg.Kg ⁻¹ .p.c –	Miligrama por Kilograma de peso corpóreo
NaOH –	Hidróxido de Sódio
ND –	Não determinado
OMS –	Organização Mundial da Saúde
PSP –	<i>Paralithic Shellfish Poison</i>
µg.Kg ⁻¹ .p.c. –	Micrograma por Kilograma de peso corpóreo

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

As cianobactérias são microrganismos aeróbios fotoautotróficos, procariotos, e geralmente são aquáticos. Por possuírem pigmentos azulados, a ficocianina, são comumente chamadas algas azuis. Podem ser predominantes no fitoplâncton de águas continentais, alcançando uma ampla diversidade de formas, devido às adaptações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas adquiridas durante seu longo processo evolutivo. Podem produzir metabólitos secundários como as cianotoxinas, potencialmente tóxicas aos humanos e animais (BITTENCOURT & MOLICA, 2003).

Estudos sobre a ocorrência, distribuição e frequência de cianobactérias tóxicas foram realizados em vários países até meados da década de 1980, utilizando-se bioensaios. Os métodos analíticos para a determinação qualitativa e quantitativa das cianotoxinas foram disponibilizadas no final da década de 1980. Os resultados de ambas as abordagens indicam que as neurotoxinas são geralmente menos comuns. Em contraste, as toxinas peptídicas cíclicas que causam lesões hepáticas (microcistinas e nodularinas), são encontradas com maior frequência, sendo assim mais estudadas. Os gêneros potencialmente produtores de microcistinas são *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Cylindrospermopsis*, *Planktothrix*, (*Oscillatoria*), *Nostoc*, *Hapalosiphon*, *Synechocystis*, *Aphanocapsa* e *Anabaenopsis* (CHORUS & BARTRAM, 1999; FUNASA, 2003 e SANT'ANNA *et al.*, 2006).

A presença de cianobactérias em mananciais destinados ao abastecimento interfere diretamente na qualidade da água, pode comprometer a eficiência e produtividade do sistema de tratamento de água e causar efeitos negativos de risco à saúde pública, devido à produção de compostos potencialmente tóxicos e carcinogênicos, e de ordens estética e organoléptica pela produção de compostos que conferem odor e sabor às águas. Por outro lado, várias pesquisas tem mostrado que as tecnologias de tratamento por ciclo completo que envolve a coagulação química, floculação, sedimentação / flotação e filtração, empregada em aproximadamente 80 % dos sistemas existentes no Brasil, ou mesmo de filtração direta, não são capazes de, efetivamente, remover cianotoxinas e outros metabólitos na forma dissolvida, com destaque às microcistinas – MCs e saxitoxinas – SXTs (DI BERNARDO, MINILLO E DANTAS, 2010).

Nesse contexto a pré-cloração é uma prática realizada no Brasil, em muitos sistemas de tratamento de água, visando o controle e inativação de microalgas e cianobactérias. Entretanto, alguns problemas são gerados pela utilização deste pré-tratamento em mananciais com elevadas concentrações de fitoplâncton, com destaque à promoção de lise celular, com consequente liberação de metabólitos secundários, especialmente as cianotoxinas ou ainda, à formação de subprodutos organohalogenados potencialmente cancerígenos (DI BERNARDO, MINILLO E DANTAS, 2010).

Considerando o aumento inadvertido, dos riscos à saúde, associados à presença de florações de cianobactérias em águas destinadas ao abastecimento, a Fundação Nacional da Saúde (FUNASA) em colaboração com a Organização Panamericana da Saúde (OPAS), incluiu a obrigatoriedade do monitoramento da ocorrência de cianobactérias potencialmente nocivas, testes de toxicidade e análises de microcistinas em mananciais destinados ao abastecimento e na água tratada para consumo humano segundo a Portaria MS 518/2004 (BRASIL, 2004). Em dezembro de 2011 esta Portaria foi revogada pela Portaria nº 2.914 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011) com várias alterações relacionadas ao controle de cianobactérias e seus metabólitos. Dentre as principais alterações, destacam-se a inclusão, no padrão de potabilidade, do valor máximo permitido de saxitoxinas de 3,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e o estabelecimento do prazo máximo de 24 (vinte e quatro) meses, contados a partir da data de publicação da Portaria, para que os órgãos sujeitos à aplicação desta Portaria promovam as adequações necessárias ao seu cumprimento, no que se refere ao monitoramento dos parâmetros gosto e odor e saxitoxinas.

Diante do exposto, faz-se necessário investigar as limitações e potencialidades de técnicas usuais de tratamento como a de ciclo completo, composto por coagulação, floculação, sedimentação / flotação e filtração em águas contendo cianobactérias e cianotoxinas dentro dos critérios estabelecidos.

2 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar a remoção de células de cianobactérias dos gêneros *Microcystis* e *Cylindrospermopsis* e cianotoxinas pela técnica de tratamento de ciclo completo com uso da coagulação com hidróxido de alumínio, sedimentação ou flotação e filtração em meio granular em escala de bancada.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS CIANOBACTÉRIAS

As cianobactérias possuem longa história evolutiva na Terra, uma vez que os primeiros registros fósseis datam em 3,5 bilhões de anos e constituem um dos grupos de maior abundância e diversidade de microrganismos (WILMONTE, 1994). Esses microrganismos colonizaram praticamente todos os ecossistemas do planeta, porém, são mais comumente encontradas no plâncton de ambientes marinhos e de água doce. Por possuírem mecanismos que lhes confere tolerância a diversos ambientes, as cianobactérias suportam baixas e altas temperaturas, baixas concentrações de oxigênio e concentrações elevadas de metais pesados, (WHITTON & POTTS, 2000).

Semelhante às plantas e algas, as cianobactérias realizam fotossíntese mas apresentam, no entanto, estrutura celular bacteriana. Contém clorofila-a e outros pigmentos acessórios característicos armazenados em tilacóides como, por exemplo: ficocianina, ficoeritrina e aloficocianina; o que lhes confere coloração verde-azulada (STEWART, 1973; RAI, 1990). Sua morfologia básica inclui formas unicelulares, coloniais e filamentosas. Algumas espécies têm a capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico, em estruturas denominadas heterocitos, na forma metabolizável de amônio.

Em determinadas condições ambientais, como por exemplo: enriquecimento das águas com nutrientes provindos de esgotos urbanos, sobretudo nitrogênio e fósforo, as cianobactérias podem se tornar a parcela dominante do fitoplâncton de lagos, reservatórios e rios, ocasionando as florações. Nesse caso, é importante considerar que cianobactérias são potencialmente produtores de toxinas, que podem ocasionar graves danos a mamíferos e também à biota aquática (CARMICHAEL, 1997).

Entre os diversos gêneros identificados no Brasil em situações de florações e por seu potencial de sintetizar toxinas que causam efeitos nocivos em diversos organismos, destacam-se *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Microcystis*, *Planktothrix*, *Cylindrospermopsis* e *Nodularia* (CEBALLOS *et al.*, 2006). Um dos primeiros registros de florações de cianobactérias no Brasil data da década de 1950 com

representantes do gênero *Microcystis*, sendo a espécie *Microcystis aeruginosa*, a mais comum em todo mundo, causando efeitos nocivos a animais e à saúde do homem (TSUTSUMI *et al.*, 1998).

Por sua alta competitividade em ambientes eutrofizados, outra espécie frequentemente encontrada em florações é a *Cylindrospermopsis raciborskii*. Esta espécie é capaz de produzir duas toxinas: a cilindrospermopsina, um alcalóide com ação no fígado e rins (OHTANI *et al.*, 1992; LAGOS *et al.*, 1999) e a toxina paralisante do tipo PSP (*Paralytic Shellfish Poisons*), conhecida como saxitoxina, que age no sistema neuromuscular (LAGOS *et al.*, 1999). O primeiro relato da ocorrência de *C. raciborskii* no Brasil foi feito por Palmer (1969) para o Lago Paranoá em Brasília. Nesta época a espécie havia sido identificada como *Aphanizomenon flos-aquae* (BRANCO & SENNA, 1991).

As cianobactérias produzem toxinas que são liberadas, na maioria das vezes, quando ocorre a lise celular. Mais de um tipo de toxina pode ser produzido por espécie de cianobactéria, podendo inclusive existir cepas produtoras e cepas não produtoras de toxinas.

3.2 CIANOTOXINAS

As cianotoxinas podem ser classificadas de acordo com sua ação farmacológica em três classes principais: dermatotoxinas (aplysiatoxina e lyngbytoxina-a) e as mais comumente encontradas em corpos d'água e que geram maiores preocupações, que são as neurotoxinas e as hepatotoxinas (CARMICHAEL, 1997; CHORUS & BARTRAM, 1999; REBOUÇAS, BRAGA E TUNDISI, 2006).

As cianotoxinas podem ainda, serem divididas em três grupos, de acordo com sua estrutura química: os peptídeos cíclicos, os alcaloides e os lipopolissacarídeos.

3.2.1 Hepatotoxinas

A forma mais comum de intoxicação envolvendo cianobactérias tem sido associada às hepatotoxinas, que se caracteriza por apresentar ação lenta, podendo ocasionar a morte de mamíferos em poucas horas ou dias. Os principais sintomas hepatotóxicos observados em animais incluem fraqueza, palidez, respiração pesada, vômitos e diarreias.

As espécies já identificadas como produtoras de hepatotoxinas estão incluídas nos gêneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Cylindrospermopsis*, *Umezakia* e *Aphanizomenon* (CHORUS & BARTRAM, 1999; REBOUÇAS, BRAGA E TUNDISI, 2006). As primeiras hepatotoxinas identificadas foram as microcistinas, isoladas da espécie *Microcystis aeruginosa* (BISHOP *et al.*, 1959). São conhecidas atualmente mais de 70 tipos de microcistinas, sendo que a diferença estrutural das mesmas depende basicamente da variação de um dos dois L-aminoácidos e da presença ou ausência de grupos metilados em β -Me-Asp e/ou Mdha (SPOOF *et al.*, 2003).

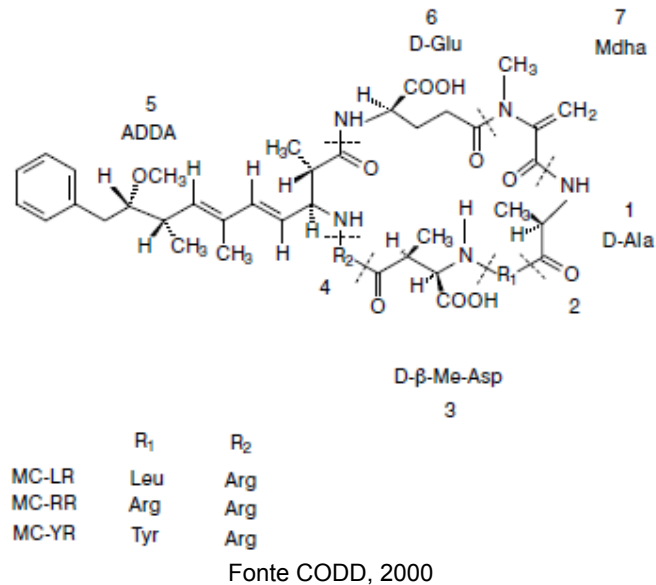
Sabe-se que as microcistinas são altamente tóxicas para animais e já foram envolvidas em acidentes de intoxicação humana levando-os a morte (JOCHIMSEN *et al.*, 1998, DUY *et al.*, 2000). O caso mais grave ocorreu em Caruaru em 1996 e envolveu 123 pacientes renais crônicos, que submetidos a sessões de hemodiálise passaram a apresentar grave hepatotoxicose. Do total de afetados, 54 faleceram poucos meses após o início dos sintomas (AZEVEDO, 1998).

As microcistinas RR (MC-RR) e LR (MC-LR) são as duas mais encontradas no meio aquático (LUCA, PEGORER E LUCA, 2010). Estas toxinas são produzidas por várias espécies do gênero *Microcystis*, principalmente por *M. aeruginosa*, e outras espécies de *Anabaena*, *Planktothrix*, *Nostoc*, *Hapalosiphon*, *Synechocystis* e *Aphanocapsa*.

Dependendo da dose ingerida de cianotoxinas, estas podem ocasionar intoxicações agudas e crônicas. A morte se dá por hemorragia intra-hepática e choque hipovolêmico. Em testes feitos em camundongos, a DL50 da microcistina-LR variou de 25-150 $\mu\text{g. kg}^{-1}$ p.c., (CHORUS & BARTRAM, 1999).

A estrutura molecular das microcistinas (Figura 1) é constituída de heptapeptídeo monocíclico ligado a dois aminoácidos terminais. São solúveis em água, porém não tem capacidade de penetrar nas membranas lipídicas das células, com exceção das poucas que são hidrofóbicas. Quando dentro das células hepáticas, promovem a desorganização dos filamentos intermediários e microfilamentos de actina desestruturando o citoesqueleto dos hepatócitos, causando graves lesões internas (CARMICHAEL, 1994). Os sintomas de intoxicação por hepatotoxinas em humanos incluem alteração em algumas enzimas no fígado, distúrbios gastrointestinais e dor de cabeça (FITZGERALD *et al.*, 1999).

Figura 1 - Estrutura química das Microcistinas

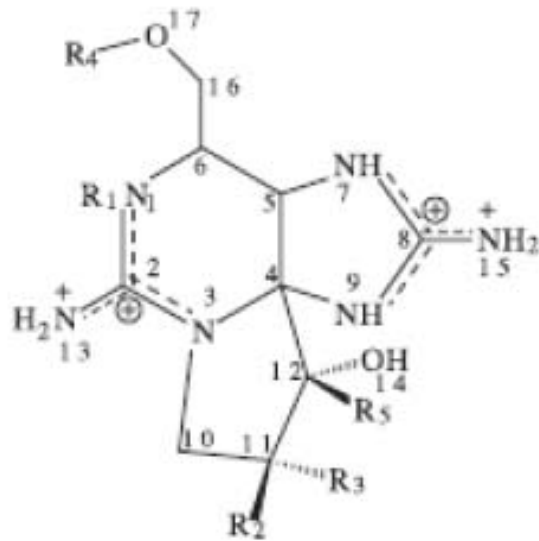


3.2.2 Neurotoxinas

As neurotoxinas são alcalóides de ação rápida que atuam no sistema nervoso, podendo ocasionar a morte por paralisia dos músculos respiratórios (CARMICHAEL, 1994). São produzidas por espécies dos gêneros *Anabaena* (CARMICHAEL *et al.*, 1990), *Aphanizomenon* (MAHMOOD e CARMICHAEL, 1986), *Oscillatoria* (SIVONEN *et al.*, 1989), *Lyngbya* (ONODERA *et al.*, 1997), *Cylindrospermopsis* (LAGOS *et al.*, 1999) e *Trichodesmium* (HAWSER *et al.*, 1991). Até o final da década de 1990, foram descritas três diferentes tipos de neurotoxinas produzidas pelos gêneros citados: anatoxina-a, anatoxina-a(s) e saxitoxinas (CHORUS e BARTRAM, 1999; FUNASA, 2003).

As saxitoxinas também são conhecidas como toxina paralisante de mariscos (toxinas do tipo *Paralytic Shellfish Poisons*). São constituídas por um grupo de alcalóides carbamatos que podem ser não sulfatados (saxitoxinas) (Figura 2), com um único grupamento sulfatado (G-toxinas ou goniautoxina) ou com dois grupamentos sulfatados (C-toxinas). Outras toxinas com grupamento decarbamoil (deSTX ou deGTX) foram isoladas (SIVONE e JONES, 1999). A toxicidade desse grupo varia bastante, sendo a saxitoxina a mais potente podendo apresentar DL50 de 10 µg kg⁻¹ (p.c.) quando aplicada intraperitonealmente em camundongos (CHORUS e BARTRAM, 1999).

Figura 2 - Estrutura química geral das saxitoxinas



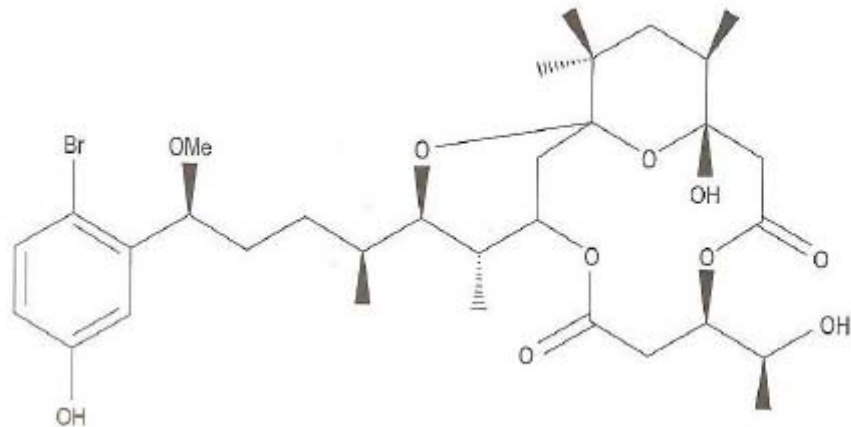
Fonte Adaptada de Chorus e Bartram, 1999.

A ação das toxinas paralisantes inibe a condução nervosa através do bloqueio dos canais de sódio, que como consequência impedirá a transmissão dos impulsos nervosos periféricos e musculares esqueléticos. Os sintomas característicos de intoxicação incluem tontura, fraqueza muscular, vômito e taquicardia (CARMICHAEL, 1994). As mortes humanas não foram causadas por ingestão direta de cianobactérias produtoras de saxitoxinas, mas aconteceram por ingestão direta de moluscos que acumularam toxinas paralisantes durante eventos de marés vermelhas (ANDERSON, 1994; CHORUS, 2001).

3.2.3 Dermatotoxinas

As dermatotoxinas são produzidas basicamente por cianobactérias marinhas que como em todas as bactérias gram-negativas, tem a parede celular constituída de lipopolissacarídeos (LPS). Esta molécula, quando em contato com a pele e mucosas, é capaz de causar irritações na pele, alergias e irritação nos olhos. (CALIJURI *et al.*, 2006). Neste grupo de toxinas destacam-se as: aplisiatoxinas e debromoaplisiatoxinas (Figura 3) que causam inflamações, e a lingbiatoxina-a que causa dermatite e inflamação gastrointestinal.

Figura 3 - Estrutura química da debromoapliasiatoxinas



Fonte Adaptada de Chorus e Bartram, 1999.

3.3 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

A Norma de potabilidade de água para consumo humano vigente é a Portaria nº 2914, de dezembro de 2011, que revogou a Portaria nº 518/2004 e dispõe sobre o padrão de potabilidade e os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano.

O monitoramento de cianobactérias foi atualizado introduzindo-se a necessidade de identificação dos gêneros com a finalidade de se avaliar a presença de algas toxigênicas. Além disso, recomenda-se a análise de clorofila-a no manancial como indicador de potencial aumento da densidade de cianobactérias, este avanço permite maior agilidade no controle da qualidade da água captada.

A obrigatoriedade da quantificação de saxitoxinas (com valor máximo permitido de $3,0 \mu\text{g.L}^{-1}$) e a recomendação das análises de cilindrospermopsina (com valor máximo aceitável de $1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$) e anatoxina-a(s), foi outra atualização desta portaria, quando for detectada a presença de gêneros de cianobactérias produtoras destas toxinas no monitoramento do ponto de captação. Outra mudança de destaque foi a redução do valor padrão de turbidez de 1 uT para 0,5 uT e do valor máximo de percepção de 6 para qualquer característica de gosto e odor, com exceção do cloro livre. A partir da data de publicação desta Portaria, os órgãos e entidades sujeitos à aplicação desta Portaria possuem prazo máximo de 24 meses para se adequarem ao cumprimento do monitoramento dos parâmetros gosto e odor e saxitoxinas.

3.4 TRATAMENTO DE ÁGUAS CONTENDO CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS PARA CONSUMO HUMANO

A água pode conter uma variedade de impurezas como partículas coloidais, elementos químicos, substâncias húmicas, bactérias, algas e outros microrganismos que dependendo da concentração, podem tornar a água imprópria para consumo humano. A presença de microalgas e cianobactérias em mananciais é um grave problema enfrentado pelas Estações de Tratamento de Água – ETAs, principalmente as que utilizam tratamento por ciclo completo e de filtração direta. Algumas espécies de algas podem flotar nos decantadores e causar a obstrução dos filtros com poucas horas de funcionamento. Além disso, algumas podem passar pelos filtros causando sabor e odor na água tratada. Alguns gêneros sintetizam toxinas que podem ser liberadas durante o tratamento da água. As florações e a produção de toxinas pelas cianobactérias podem comprometer a qualidade da água para abastecimento e aumentar consideravelmente os custos de seu tratamento (CARMICHAEL, 1996; CODD, 2000).

A pré-cloração é uma técnica bastante utilizada com a finalidade de remover / inativar as microalgas e cianobactérias. Porém, quando em mananciais com elevada concentração de fitoplâncton, pode haver a formação dos trihalometanos (THM) e outros subprodutos clorados, os quais são considerados cancerígenos e liberam metabólitos que podem ser tóxicos (MONDARDO, SENES E FILHO, 2006; KURODA, 2006).

3.4.1 Tratamento de Águas Contendo Cianobactérias pela Técnica de Tratamento por Ciclo Completo

No tratamento por Ciclo Completo – CC, a água é submetida às etapas de coagulação, floculação, sedimentação e filtração. Em alguns casos a sedimentação é substituída pela flotação.

A coagulação-floculação diminui ou elimina as forças de repulsão que mantêm as partículas dispersas na água, facilitando a agregação destas em unidades de maior tamanho (flocos). Esse processo é desencadeado pela adição de produtos químicos, os coagulantes químicos, sendo o sulfato de alumínio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 14 \text{H}_2\text{O}$), hidroxiclreto de alumínio ($\text{Al}(\text{OH})_x(\text{Cl})_y$), cloreto férrico (FeCl_3), sulfato ferroso

($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) e polímeros catiônicos os mais utilizados. Após coagulação na unidade de mistura rápida e posterior floculação, os flocos são removidos por sedimentação (nos decantadores) ou por flotação (nos flotores). A sedimentação é uma operação física em que as partículas em suspensão com densidade superior à do meio líquido apresentam movimento descendente pela ação da gravidade.

A flotação consiste na separação de fases sólido-líquido através do movimento ascendente de partículas ou flocos presentes em um líquido, onde as forças de empuxo predominam sobre as gravitacionais, por diferença de densidade ou por introdução de microbolhas de ar (HAHN, 1982 *apud* CENTURIONE FILHO, 2002).

A flotação por ar dissolvido - FAD iniciou-se em 1907 na área de processamento de minérios. Posteriormente, passou a ser utilizada também na indústria de papel e celulose, na recuperação de óleos e gorduras na indústria petroquímica e nas últimas décadas, no tratamento de água para abastecimento (BRATBY, 1983) como uma alternativa ao processo convencional de sedimentação. Mananciais de captação com elevadas concentrações de cianobactérias, e também, para águas com baixa turbidez e alcalinidade e cor elevada apresentam vantagem quando tratadas por FAD em comparação às tratadas por decantação devido às baixas velocidades de sedimentação dos flocos formados (EDZWALD, 1993). Segundo GREGORY (1997), “a FAD é uma técnica economicamente viável no tratamento de água proveniente de corpos d’água eutrofizados”. Várias pesquisas tem mostrado que as cianobactérias apresentam baixa densidade e formam flocos com baixa velocidade de sedimentação, característica que favorece a remoção por flotação (ZABEL, 1985).

A remoção de células de cianobactérias pelas operações de sedimentação e flotação tem sido objeto de várias pesquisas. Segundo os resultados obtidos por Oliveira (2005), utilizando água do lago Paranoá inoculada com 10^6 cél mL^{-1} de *Cylindrospermopsis raciborskii* e sulfato de alumínio como coagulante, a flotação mostrou-se mais eficiente na remoção de células de *C. raciborskii* do que a sedimentação, com eficiência máxima em relação à remoção de clorofila-a de 93%, com taxa de aplicação superficial de $72 \text{ m}^3/\text{m}^2 \text{ d}$, pH de coagulação de 5,5 e 18 mg L^{-1} do coagulante. Em relação à sedimentação, o valor máximo de remoção da clorofila-a foi de 86%, mesmo com o uso de taxa de aplicação superficial baixa ($7,2 \text{ m}^3/\text{m}^2 \text{ d}$). A remoção de turbidez foi influenciada positivamente com a diminuição da taxa de aplicação superficial de $14,4$ para $7,2 \text{ m}^3/\text{m}^2 \text{ d}$. Já a eficiência de remoção de

turbidez na flotação não foi consideravelmente influenciada pela redução da taxa de aplicação superficial de 144 m³/m² d para 72 m³/m² d.

Assis (2006) aplicou o processo de coagulação-floculação-flotação, com água de estudo com células de *Microcystis aeruginosa* de concentração de 10⁶ células mL⁻¹ e microcistinas dissolvidas (entre 100 e 200 µg L⁻¹). Os parâmetros operacionais para a mistura rápida foram: gradiente de velocidade de 800 s⁻¹ com tempo de detenção de 30 s; para a floculação: gradiente de velocidade de 50 s⁻¹ e tempo de detenção de 15 min; e para a flotação: velocidade de flotação de 144 m³/m² d (10 cm min⁻¹) e 72 m³/m² d (5 cm min⁻¹), pressão de 5 atm na câmara de saturação, tempo de saturação de 10 min e taxa de recirculação de 10%. Nas condições ótimas de dosagem do coagulante (a partir de 12 mg L⁻¹) e pH de coagulação em torno de 5, o uso do cloreto férrico apresentou valores de remoção de turbidez (91%) e de clorofila-a (92%) pouco superiores aos obtidos com sulfato de alumínio. Já no pH de coagulação de 7, o uso do sulfato de alumínio resultou em maiores remoções de turbidez e de clorofila-a, 92% e 91%, respectivamente. Com relação ao residual de microcistinas extracelulares, quando utilizado o sulfato de alumínio, o valor máximo de remoção foi 30%. Porém, com o cloreto férrico a remoção destas toxinas foi praticamente desprezível.

Perez (2008), realizou ensaios de coagulação-floculação-flotação da água de estudo com 10⁶ cél mL⁻¹, dosagem de 76 mg L⁻¹ de cloreto férrico com pH de 5,95 e velocidade ascensional de flotação de 170 m³/m² d. Nestas condições, os valores de cor aparente e turbidez foram, respectivamente, de 7,0 uH e 0,61 uT, correspondendo a eficiências de remoção de cor e turbidez de aproximadamente 99%. O autor ressalta que a etapa de flotação por ar dissolvido foi eficaz apenas para a remoção de microcistina intracelular porque a remoção de fitoplâncton foi superior a 99%. Porém, a eficiência na remoção de microcistina extracelular ficou entre 15 a 20% nos ensaios realizados com etapas de coagulação-floculação-flotação por ar dissolvido. A concentração inicial de clorofila-a foi de 8,2 µg L⁻¹ e após a flotação a remoção foi de 95% (0,41 µg L⁻¹).

Santiago (2008), utilizou água destilada inoculada com filamentos de *Cylindrospermopsis raciborskii* e células de *Microcystis protocystis* (na ordem de 10⁵ cel mL⁻¹), e cloreto férrico e sulfato de alumínio como coagulantes. O autor concluiu após a construção dos diagramas de coagulação que a morfologia das células de cianobactérias influenciou os processos de flotação e sedimentação e que a C.

raciborskii foi removida com maior dificuldade nos dois processos de tratamento. As doses de cloreto férrico acima de 25 mg L⁻¹ resultaram em menores valores de turbidez remanescente e cor aparente nos diagramas de coagulação envolvendo a *C. raciborskii*. Já os diagramas de coagulação das células de *M. protocystis* indicaram valores baixos de cor aparente (menores que 15 UC) e turbidez (abaixo de 1,0 uT) para doses de cloreto férrico acima de 5,0 mg L⁻¹. O sulfato de alumínio foi mais eficiente na redução da turbidez e da cor aparente remanescente nos ensaios com *M. protocystis* do que nos ensaios com *C. raciborskii*. Com relação à turbidez remanescente, os melhores resultados (abaixo de 1,0 uT) foram obtidos em doses entre 25 mg L⁻¹ e 40 mg L⁻¹ para a TAS de 7,2 m³ m² d. O melhor resultado na remoção de células de *C. raciborskii* e *M. protocystis* foi obtido com o cloreto férrico. Por fim, o autor salienta que a técnica de ciclo completo com flotação apresentou desempenho superior quando comparada à sedimentação nos dois pares de ensaios (sedimentação ou flotação com sulfato de alumínio e *C. raciborskii* ou cloreto férrico e *M. protocystis*).

Estes resultados corroboram os de Chorus e Bartram (1999), onde se afirma que a flotação por ar dissolvido com recirculação é mais eficiente na remoção de células intactas do que a sedimentação, em razão dos flocos resultantes serem leves e flutuarem facilmente, mas a remoção de toxina extracelular é pouco eficiente.

A tecnologia de tratamento de água por ciclo completo não é eficiente na remoção das cianotoxinas dissolvidas na água. Os coagulantes usualmente empregados não são capazes de remover estas toxinas impossibilitando a potabilização das águas (LIBÂNIO, 2008). Porém, existe a necessidade de tratamento complementar para compostos específicos, como é o caso das cianotoxinas. Os resultados obtidos nos trabalhos de Falconer *et al.* (1989) mostraram que o carvão ativado é capaz de remover cianotoxinas sozinho ou como uma etapa adicional ao tratamento convencional.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar a remoção de cianobactérias e cianotoxinas pela técnica de tratamento de ciclo completo com uso da sedimentação, flotação e filtração em meio granular em escala de bancada, foram necessários implementar alguns métodos de análise específicos relacionados às cianobactérias, detalhados a seguir.

4.1 MÉTODOS ESPECÍFICOS DE ANÁLISE

4.1.1 Contagem de Cianobactérias

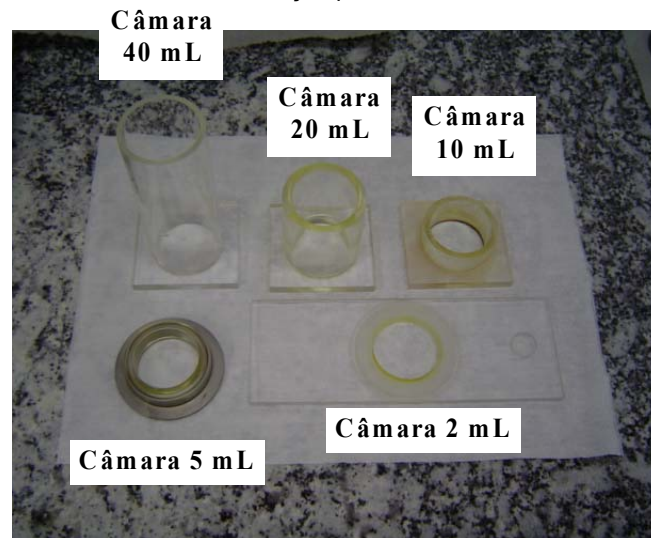
A determinação da contagem celular de cianobactérias em câmara de Neubauer foi realizada segundo o método 10200 F segundo APHA, AWWA, WEF, (2005) com adaptações, com alíquotas de 10 µL previamente fixadas em formol a 4 %. Para uniformizar a precisão de contagem efetuou-se diluições em água ultrapura até que se obtivesse entre 100 e 250 células por quadrante. O número de células foi calculado de acordo com a Equação 1:

$$\text{Densidade de cianobactérias (ind mL}^{-1}\text{)} = \frac{n^{\circ} \text{ indivíduos contados}}{n^{\circ} \text{ quadrantes contados}} \times 25 \times \text{diluição} \times 10^4$$

Equação 1

As baixas densidades de cianobactérias encontradas nos efluentes dos processos de tratamento pesquisados inviabilizaram a contagem por métodos diretos tais como Neubauer, Sedgwick Rafter, Fuchs Rosenthal, Thoma, Sêmen, Bürker, entre outros, sendo necessária a implementação do método de sedimentação em câmaras, descrito por UTERMÖHL (1958). De acordo com este método as amostras foram fixadas em lugol a 0,3% em temperatura ambiente, a fim de evitar a formação de bolhas de ar durante a sedimentação das células nas câmaras de contagem. Além de preservar as amostras, o uso do lugol favorece a sedimentação devido ao aumento do peso específico das células. Foram utilizadas câmaras de sedimentação de diferentes volumes (de 2 mL a 40 mL) Figura 4.1.1, em função da densidade fitoplanctônica da amostra.

Figura 4.1.1 – Câmaras de sedimentação para amostras de 2,0; 5,0; 10 ; 20 e 40 mL



Fonte do Autor (2014)

O tempo de sedimentação foi determinado de acordo com Margalef (1983). O procedimento de contagem foi realizado por meio de transectos, utilizando-se um microscópio invertido da marca Motic, modelo AE2000, com aumento máximo de 1000×(**Erro! Fonte de referência não encontrada.**). Cada célula ou filamento foi considerado como um indivíduo e a densidade foi expressa em indivíduos por mL (ind mL^{-1}) após contagem em duplicata.

4.1.2 Análise De Clorofila-A

Para análise de clorofila-a e feofitina-a foi utilizado o método espectrofotométrico 10200 H segundo APHA, AWWA, WEF, (2005) com adaptações. Alíquotas de 10 mL foram retiradas das amostras e filtradas em membrana tipo GF / C marca Sartorius sob baixa iluminação. Em seguida, as membranas foram submetidas à extração em 7 mL de acetona 90 % a 4°C por no mínimo 12 horas e posteriormente, os extratos foram centrifugados a 1520 g por 15 minutos para a retirada do material particulado e leitura da absorbância a 665 nm do sobrenadante, descontando-se a interferência de particulados a 750 nm. A acidificação do extrato para determinação da feofitina-a foi realizada adicionando-se 100 μl de solução de ácido clorídrico 0,1 N. A leitura do extrato acidificado foi realizada após 90 segundos, nos mesmos comprimentos de onda citados. A quantificação de clorofila-a descontando-se a feofitina-a foi realizada pela Equação 2 apresentada a seguir:

$$\text{Clorofila - a } (\mu\text{g/L}) = 26,73 \times \{(665b - 750b) - (665a - 750a)\} \times \frac{v}{V \times s}$$

Equação 2

em que:

b - absorvância da amostra não acidificada;

a - absorvância da amostra acidificada;

v - volume do solvente (mL);

V - volume da amostra filtrada (L);

s - comprimento ótico da cubeta (cm),

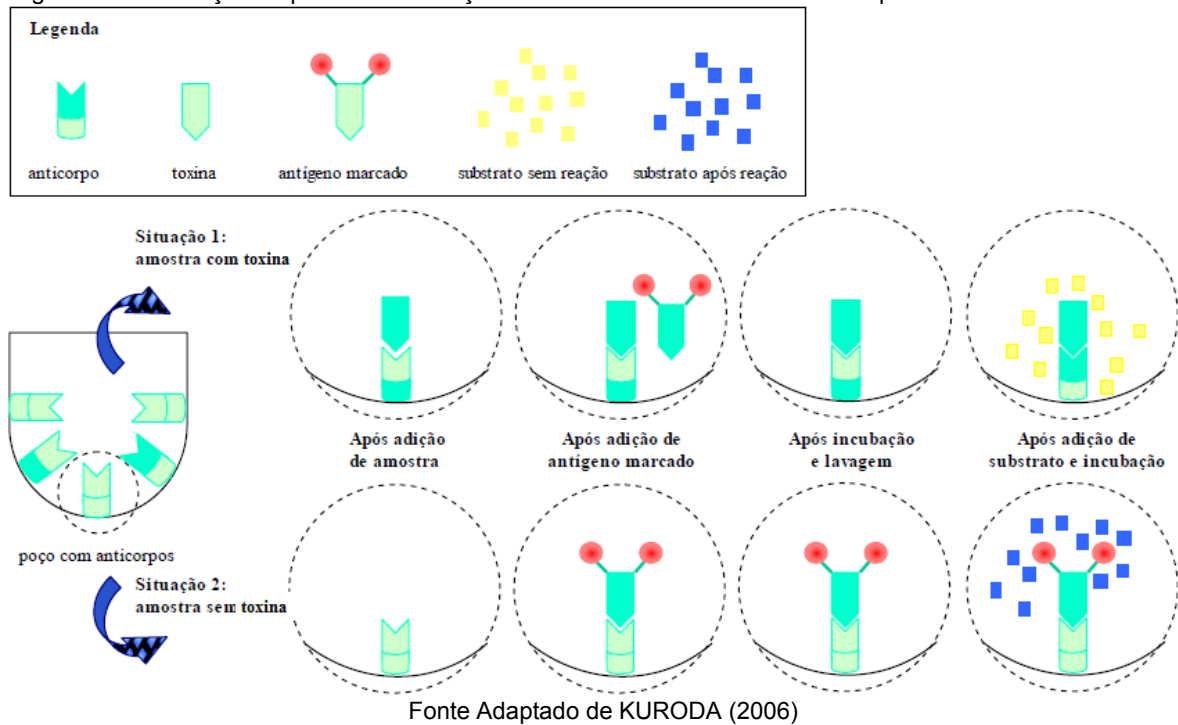
26,73 - coeficiente de absorção específica da clorofila-a em solução aquosa de acetona 90%;

4.1.3 Análise de Microcistinas e Saxitoxinas Pelo Método de Imunoensaio *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* - ELISA

As análises de microcistinas - MCs totais e saxitoxinas SXTs totais por imunoensaio ELISA foram realizadas utilizando kits de placas da Beacon *Analytical Systems Inc* (Figura 4.1.3). O método de imunoensaio ELISA utilizado baseia-se na competição direta entre dois tipos de antígenos: a toxina presente na amostra, seguida da toxina marcada.

Assim, os resultados das análises por imunoensaio ELISA são expressos, neste caso, na forma de equivalentes de toxinas totais. O processo de reação do método é ilustrado na Figura 4.1.2.

Figura 4.1.2 Ilustração do processo de reação do método de imunoenensaio ELISA para análises de cianotoxinas



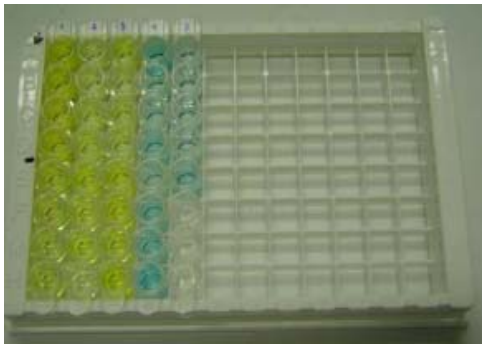
As curvas de calibração foram construídas e validadas, antes de cada bateria de análise, com o emprego de padrão externo com concentração previamente conhecida, se a porcentagem de recuperação resultasse entre 80 e 130 % (faixa estabelecida pelo fabricante para validação da curva de calibração). As análises foram realizadas no mínimo em duplicata, sendo estas consideradas válidas se os valores de coeficiente de variação – CV máximo resultassem inferiores a 15 %.

As análises foram realizadas com emprego de micropipetas automáticas de volume variáveis devidamente calibradas e reservadas especificamente para esse fim. As amostras foram previamente filtradas em filtro tipo GF/C e diluídas em água ultra pura de forma a possibilitar a quantificação pela curva de calibração com faixa de concentração entre 0 e 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para MCs totais e entre 0 e 0,32 $\mu\text{g L}^{-1}$ para SXTs totais. Cada kit contém uma placa de reação com 96 poços e requer 50 μL de amostra.

Figura 4.1.3 Fotos do material e equipamentos utilizados nas análises pelo método de imunoensaio ELISA



Kit ELISA para Microcistinas



Placa de reação



Leitora de microtiras por ELISA

Fonte do Autor (2014)

4.2 CULTIVO DE CIANOBACTÉRIAS

Para a realização dos experimentos foram utilizadas as cepas toxigênicas de *Microcystis sp.* TAC95 e de *Cylindrospermopsis raciborskii* – A1. A cepa de *Microcystis sp.* TAC95 foi selecionada por produzir grandes quantidades de MC-LR e foi cedida pelo Prof. Dr. Ken-ichi Harada do *Laboratory of Environmental Sciences, Faculty of Pharmacy, Meijo University Nagoya – Aichi – Japão*. A cepa de *Cylindrospermopsis raciborskii* – A1 foi gentilmente cedida pela Prof^a. Maria do Carmo Bittencourt de Oliveira do Laboratório de Cianobactérias, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Piracicaba – São Paulo – Brasil.

Tabela 1 - Dados das cepas de cianobactérias testadas

Cepa	Classificação	Origem	Meio de Cultura
TAC 95	<i>Microcystis sp.</i>	Japão	ASM-1
A1	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	Riacho do Pau, Arcoverde, PE	

Fonte do Autor (2014)

As culturas das cepas de cianobactérias foram mantidas no laboratório através de inoculações quinzenais em meio ASM-1 (GORHAM, 1964) estéril (autoclavado a 121°C durante 20 min) a 10%, em triplicata em tubos de ensaio de 22 mL com 10

mL de meio e em duplicata em erlenmeyers de 125 mL com 20 mL de meio à temperatura de 25°C e iluminação de $35 \mu\text{E. m}^{-2} \text{s}^{-1}$ com fotoperíodo de 12 h d⁻¹ e agitação manual diária de acordo com dados da e Figura 4.2.1.

Tabela 2 - Condições físicas para manutenção das culturas de cianobactérias

Temperatura (°C)	25 ± 1° C
Luz ($\mu\text{E. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	35
Fotoperiodicidade	12 h
Agitação (d-1)	1

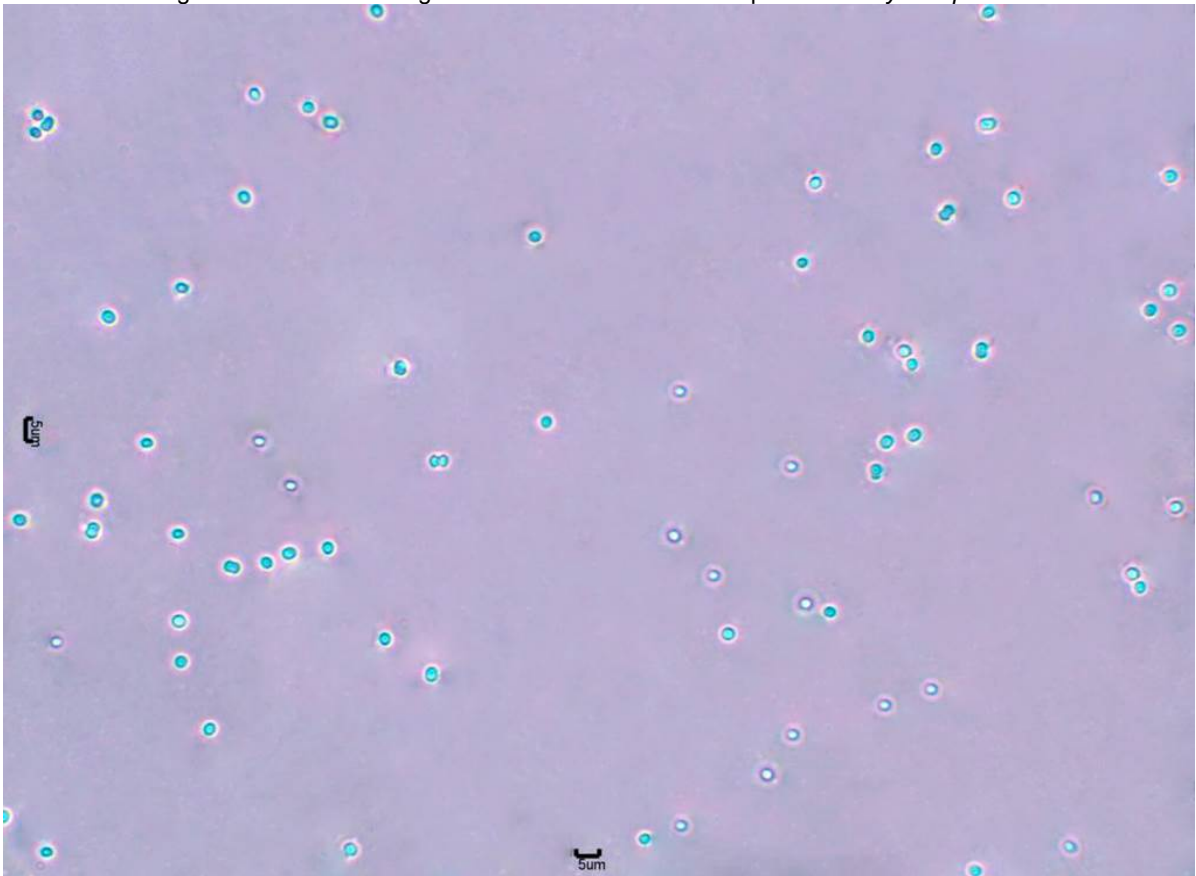
Fonte do Autor (2014)

Figura 4.2.1- Fotos das culturas de cianobactérias mantidas no laboratório

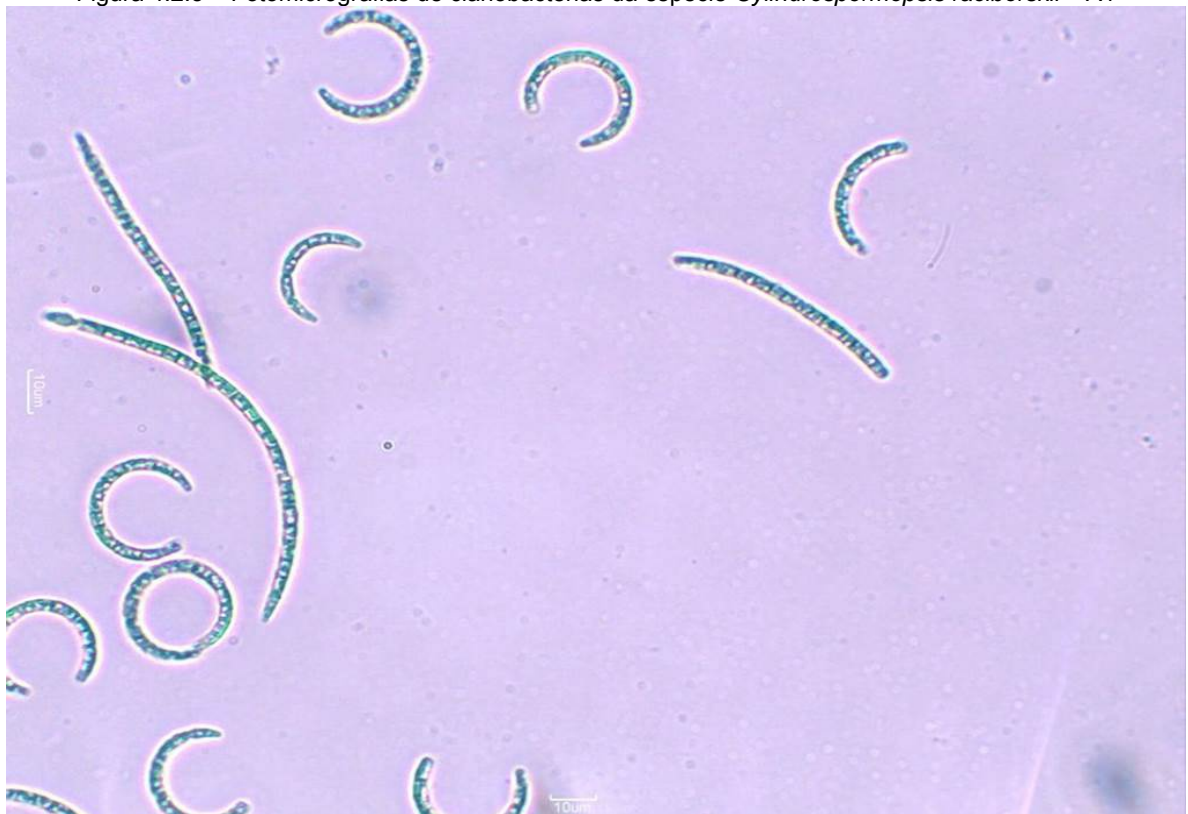


Fonte do Autor(2014)

Na Figura 4.2.2 são ilustradas fotos de imagens microscópicas de culturas das cepas de cianobactérias.

Figura 4.2.2 – Fotomicrografias de cianobactérias da espécie *Microcystis sp* – TAC95

Fonte do Autor (2014)

Figura 4.2.3 – Fotomicrografias de cianobactérias da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* – A1

Fonte do Autor (2014)

As células da cepa de *Microcystis* sp – TAC95 mantida no laboratório apresentaram, em média, tamanho de 5 µm. A cepa de *Cylindrospermopsis raciborskii* – A1, possui predomínio de filamentos curvos com tamanho médio de 70 µm.

4.2.1 Caracterização das Cepas de Cianobactérias

Para caracterização das cepas de cianobactéria foram elaboradas curvas de crescimento para fornecer dados sobre as fases de crescimento celular e produção de cianotoxinas a fim de subsidiar o planejamento e viabilizar os experimentos.

Para a cepa de *Microcystis* sp – TAC95 utilizou-se dados da curva de crescimento elaborada por Kuriama (2012).

A curva de crescimento da cepa de *Cylindrospermopsis raciborskii* – A1 foi preparada utilizando-se 8 L de meio ASM-1 estéril com inoculação a 20% de cultura concentrada, resultando em contagem inicial de $5,0 \times 10^4$ ind mL⁻¹. Em seguida, a cultura foi mantida à temperatura constante de 25°C, aeração contínua e fotoperíodo de 12 h d⁻¹.

Para a construção da curva de crescimento celular, amostras de 1 mL foram retiradas diariamente da cultura durante 66 dias e preservadas com formol a 4% para posterior contagem celular com câmara de Neubauer em microscópio óptico, conforme método apresentado no item 4.1.1.

Adicionalmente, foram retiradas alíquotas de 10 mL para determinação da concentração de clorofila-a, segundo metodologia apresentada no item 4.1.2. Para monitorar a produção de SXTs ao longo do crescimento celular, foram retiradas amostras de 2 mL que posteriormente foram quantificadas pelo método de imunoenensaio ELISA descrito no item 4.1.3.

4.3 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DE TOXINAS

Para produção dos extratos de microcistinas - MCs e saxitoxinas – SXTs optou-se pelo desenvolvimento das culturas em mesocosmos de *Microcystis* sp – TAC95 e de *Cylindrospermopsis raciborskii* – A1, respectivamente, em frascos transparentes de 20 litros para cultura com tampa e sistema de aeração autoclaváveis.

As cepas foram inoculadas a 20% e mantidas sob mesmas condições especificadas no item 4.2, porém, com aeração contínua por 15 dias. Posteriormente, as culturas foram centrifugadas a 1521 x g por 20 minutos para obtenção de biovolume. Após descarte do sobrenadante os biovolumes foram congelados a -20°C e submetidos a 3 séries de congelamento / descongelamento, liofilizados, macerados e ressuspensos em água ultrapura (Figura 4). Por fim, o extrato foi filtrado em membrana de fibra de vidro com porosidade média de 0,2 µm Millipore e armazenado a -20°C até momento de uso.

Figura 4 - Etapas da produção dos extratos de toxinas



Fonte Do Autor (2014)

4.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DAS ÁGUAS DE ESTUDO E DOS EFLUENTES PRODUZIDOS

A caracterização física, química e microbiológica das águas de estudo e dos sobrenadantes, subnadantes e filtrados produzidos foram realizadas no decorrer dos experimentos segundo os parâmetros, métodos analíticos e equipamentos listados na .

Tabela 3 - Métodos e equipamentos para caracterização física, química e microbiológica das águas de estudo e dos efluentes produzidos

Parâmetro	Método	Equipamento (modelo/marca)
pH	Potenciométrico	pHmetro: Digimed DM-2P Agitador: FISATOM 761
Temperatura (°C)	Termômetro de Hg	-
Turbidez (uT) (*)	Nefelométrico	Turbidímetro 2100Q
Cloro (mg L ⁻¹)	Espectrofotométrico	Colorímetro DR890
Clorofila-a (*) (µg L ⁻¹)	Espectrofotométrico	Espectrofotômetro BEL
Densidade cianobactérias (*) (ind mL ⁻¹)	Neubauer e Utermöhl	Microscópio óptico e Microscópio invertido
Microcistinas (*)- MCs (µg L ⁻¹)	Imunoensaio ELISA,	Quick ELISA
Saxitoxinas (*) - SXTs (µg L ⁻¹)	Imunoensaio ELISA	Quick ELISA

(*):Parâmetros analisados para os efluentes produzidos no tratamento

Fonte do Autor (2014)

Infelizmente, a limitada sensibilidade do método espectrofotométrico para quantificação de clorofila-a impossibilitou seu uso para caracterização dos efluentes produzidos no tratamento.

4.5 ENSAIOS DE COAGULAÇÃO, FLOCULAÇÃO, SEDIMENTAÇÃO / FLOTAÇÃO E FILTRAÇÃO EM ESCALA DE BANCADA

A parte experimental deste trabalho foi realizada no Laboratório de Hidráulica e Saneamento do Departamento de Construção Civil do Centro de Tecnologia e Urbanismo da Universidade Estadual de Londrina e foi constituída de quatro experimentos descritos a seguir.

- **Experimento 1:** Ensaio de ciclo completo constituídos por coagulação, floculação, sedimentação e filtração em escala de bancada – jarreste, utilizando-se a água de estudo AE-A, preparada com cultura e extrato de microcistinas - MCs da cepa de *Microcystis* sp – TAC95;
- **Experimento 2:** Ensaio de ciclo completo constituídos por coagulação, floculação, sedimentação e filtração em escala de bancada – jarreste, utilizando-se a água de estudo AE-B, preparada com cultura e extrato de saxitoxinas - SXTs da cepa de *Cylindrospermopsis raciborskii* – A1;

- **Experimento 3:** Ensaios de ciclo completo constituídos por coagulação, floculação, flotação e filtração em escala de bancada – floteste, utilizando-se a água de estudo AE-C, preparada com cultura e extrato de microcistinas - MCs da cepa de *Microcystis* sp – TAC95;
- **Experimento 4:** Ensaios de ciclo completo constituídos por coagulação, floculação, flotação e filtração em escala de bancada – floteste, utilizando-se a água de estudo AE-D, preparada com cultura e extrato de saxitoxinas - SXTs da cepa de *Cylindrospermopsis raciborskii* – A1.

Para avaliar a eficiência de remoção de cianobactérias de morfologias celulares distintas, circular e filamentar, foram preparadas quatro águas de estudo – AEs, utilizando-se água potável isenta de cloro, com volumes de 400 L, de forma a resultar em densidades da ordem de 10^5 ind mL⁻¹, especialmente para cada ensaio:

- **Águas de estudo AE-A e AE-C:** preparadas com cultura e extrato de microcistinas – MCs da cepa de *Microcystis* sp – TAC95;
- **Águas de estudo AE-B e AE-D:** preparadas com cultura e extrato de saxitoxinas - SXTs da cepa de *Cylindrospermopsis raciborskii* – A1.

Na Figura 5 é apresentado um fluxograma do delineamento experimental da pesquisa.



Fonte do Autor (2014)

4.5.1 Experimentos 1 e 2: Ensaio de Coagulação, Floculação, Sedimentação e Filtração em JARTESTE

Os Experimentos 1 e 2 referem-se aos Ensaio de ciclo completo constituídos por coagulação, floculação, sedimentação e filtração em escala de bancada – jarteste, utilizando-se as águas de estudo AE-A e AE-B, respectivamente.

O equipamento jarteste foi composto de 6 jarros de acrílico transparente de 2 L, tacômetro digital para visualização da rotação (até 600 rpm \pm 2 %), o que confere gradiente de velocidade de até 1.200 s⁻¹, dispositivo para aplicação de produtos químicos e coleta simultânea de água nos 6 jarros.

O sistema de filtros de laboratório de areia - FLAs foi constituído por seis filtros, cada um contendo corpo em acrílico transparente de 19 mm de diâmetro, 40 cm de altura e areia aderida na parede interna, de modo a evitar formação de correntes preferenciais durante a filtração. A cota de saída de água filtrada foi

posicionada, aproximadamente, 1 cm acima do topo da camada de areia com espessura de 15 cm. A taxa de filtração utilizada em todos os experimentos foi de $180\text{m}^3/\text{m}^2 \text{ d}$.

De acordo com testes preliminares realizados por Kuroda (2006), optou-se neste trabalho pelo uso de areia tipo 2, com faixa granulométrica entre 0,42 e 0,84 mm e tamanho efetivo - D10 de 0,62 mm, a fim de possibilitar que a variação das condições de coagulação fossem refletidas na qualidade dos efluentes produzidos em relação aos parâmetros de desempenho analisados.

Na Figura 6 é mostrada uma foto do equipamento jarteste com o sistema de filtros de laboratório de areia – FLAs acoplado.

Figura 6 - Equipamento jarteste e sistema de filtros de laboratório de areia – FLAs



Fonte Do Autor (2014)

Os ensaios foram realizados de acordo com os parâmetros operacionais mostrados na , selecionados após ensaios preliminares.

Tabela 4 - Parâmetros operacionais utilizados nos Experimentos 1 e 2

Tempo de mistura rápida - Tmr	60 s
Gradiente de velocidade média de mistura rápida - Gmr	600 s ⁻¹
Tempo de floculação - Tf	20 min
Gradiente de velocidade média da floculação - Gf	20 s ⁻¹
Velocidade de sedimentação - Vs	1,0 cm min ⁻¹
Tempo de filtração - Tfil	30 min

Fonte Do Autor (2014)

Para realização dos ensaios foram utilizados os seguintes produtos químicos:

- Hidróxido de sódio: com massa específica = 1,013 kg L⁻¹ como alcalinizante;
- Solução comercial de ácido clorídrico: com concentração de 37% (em massa) e massa específica = 1,187 kg L⁻¹ como acidificante;
- Solução comercial de hidroxocloreto de alumínio líquido: com 10,54% (m/m) de Al₂O₃, massa específica = 1,28 kg L⁻¹ da Guaíba Química Indústria e Comércio Ltda, como coagulante.

A avaliação de desempenho do tratamento foi realizada em relação à remoção de cianobactérias, turbidez e toxinas para diferentes dosagens de Alumínio (0,5 , 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,5, 10 e 20 mg.L⁻¹) do coagulante hidroxocloreto de alumínio - PAC e faixa de pH entre 4,0 e 8,0, com intervalo de 0,5 unidades em efluentes coletados após sedimentação e filtração.

Após o tempo de sedimentação e filtração alíquotas de 40 mL dos efluentes sobrenadantes e filtrados, respectivamente, foram coletadas para medidas de turbidez e construção do diagrama de coagulação. Amostras de 100 mL de cada jarro foram retiradas e fixadas com lugol a 0,3% para posterior contagem em câmaras de Utermöhl de acordo com o item 4.1.1 e alíquotas de 4 mL foram retiradas para a quantificação de cianotoxinas pelo método de imunoenensaio ELISA descrito no item 4.1.3.

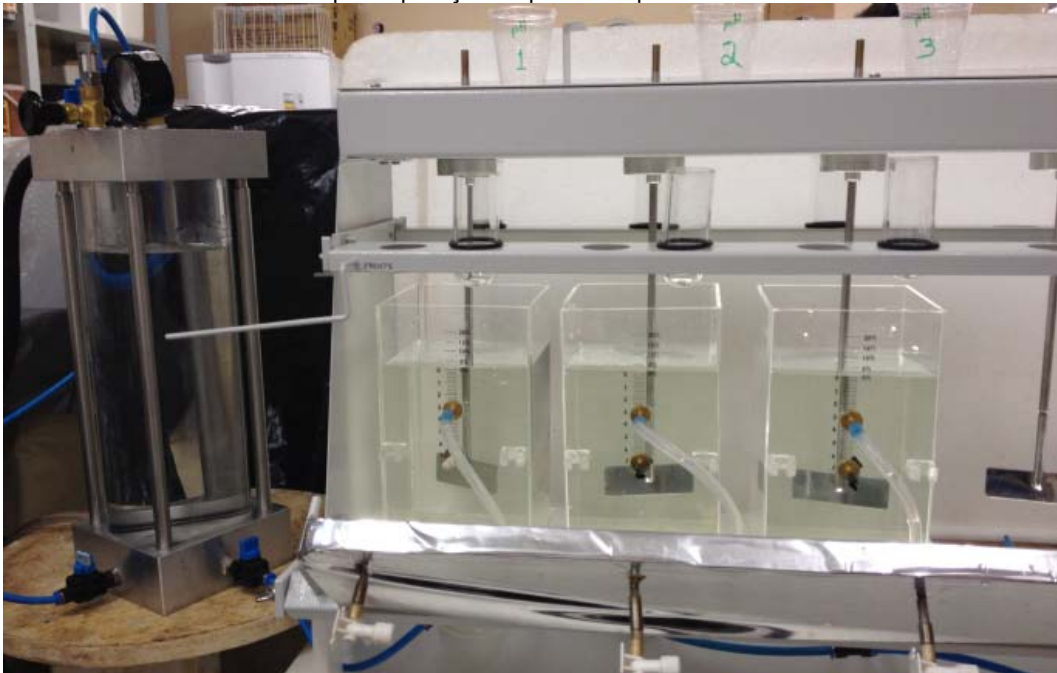
4.5.2 Experimentos 3 e 4: Ensaio de Coagulação, Floculação, Flotação e Filtração em FLOTESTE

Os Experimentos 3 e 4 referem-se aos Ensaio de ciclo completo constituídos por coagulação química, floculação, flotação e filtração em escala de bancada – floteste, utilizando-se as águas de estudo AE-C e AE-D, respectivamente.

O equipamento floteste foi composto de 3 jarros de acrílico transparente de 2 L, com placa de fundo perfurada a fim de possibilitar a introdução e distribuição uniforme de água saturada com ar, uma câmara de pressurização com volume útil de 2 L e válvula reguladora de pressão com filtro, tacômetro digital para visualização da rotação (até 600 rpm \pm 2 %), o que confere gradiente de velocidade de até 1.200 s⁻¹, dispositivo para aplicação de produtos químicos e coleta simultânea de água nos 3 jarros.

O sistema de filtros de laboratório de areia – FLAs foi constituído por três filtros com as mesmas características descritas no item 4.5.1. Na Figura 7 é mostrada uma foto do equipamento floteste.

Figura 7 - Equipamento floteste constituído por 3 jarros de acrílico, uma câmara de pressurização e dispositivo para aplicação de produtos químicos



Fonte Do Autor (2014)

Os ensaios foram realizados de acordo com os parâmetros operacionais mostrados na , selecionados após revisão da literatura pertinente e realização de ensaios preliminares.

Tabela 5 - Parâmetros operacionais utilizados nos Experimentos 3 e 4

Tempo de mistura rápida - Tmr	60 s
Gradiente de velocidade média de mistura rápida - Gmr	600 s ⁻¹
Tempo de floculação - Tf	20 min
Gradiente de velocidade média da floculação - Gf	20 s ⁻¹
Taxa de Recirculação – R	20%
Velocidade Ascensional	15 cm min ⁻¹
Pressão da Câmara de Saturação - P	4 atm
Tempo de Saturação - T _{sat}	8 min
Tempo de filtração - T _{fil}	30 min

Fonte Centurione (2002)

Os produtos químicos utilizados, as condições de coagulação – dosagem de Al e pH e os procedimentos para coleta de amostras após flotação e filtração (efluentes subnadaentes e filtrados), foram os mesmos dos empregados nos Experimentos 1 e 2.

4.5.3 Ensaio de Reprodução e Condições de Máxima Eficiência

Após elaboração dos diagramas de coagulação para turbidez dos efluentes sobrenadaentes produzidos por sedimentação, subnadaentes produzidos por flotação e filtrados produzidos na etapa subsequente, procedeu-se, para cada água de estudo e alternativa técnica de tratamento, a reprodução dos ensaios considerando-se a faixa de pH mais adequada para diferentes dosagens de Al. Os efluentes sobrenadaentes, subnadaentes e filtrados produzidos nessa etapa do trabalho foram caracterizadas previamente, para os parâmetros turbidez e densidade de cianobactérias. Posteriormente, os efluentes filtrados produzidos para a condição de máxima eficiência foram também avaliados em relação às toxinas totais (extras e intracelulares).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CULTIVO DE CIANOBACTÉRIAS

5.1.1 Caracterização das Cepas de Cianobactérias

Na Tabela 6 e no Gráfico 1, estão representados os valores de contagem de cianobactérias e de clorofila-a da curva de crescimento da cepa toxigênica *Cylindrospermopsis raciborskii* – A1 monitorada até o 66º dia. Os valores de contagem de cianobactérias foram acompanhados de acréscimos proporcionais da concentração de clorofila-a em função do tempo e apresentaram valores de densidade inicial de $0,5 \times 10^5$ ind mL⁻¹ no 1º dia, atingindo valor máximo de $40,5 \times 10^5$ ind mL⁻¹ no 49º dia e $38,0 \times 10^5$ ind mL⁻¹, ao final do monitoramento após 66 dias de cultura. Os valores das concentrações de clorofila-a variaram entre 140 µg L⁻¹ no 1º dia e 3087 µg.L⁻¹, correspondente ao valor máximo atingido no 36º dia. Após 66 dias de monitoramento a concentração de clorofila-a ainda foi de 869 µg L⁻¹.

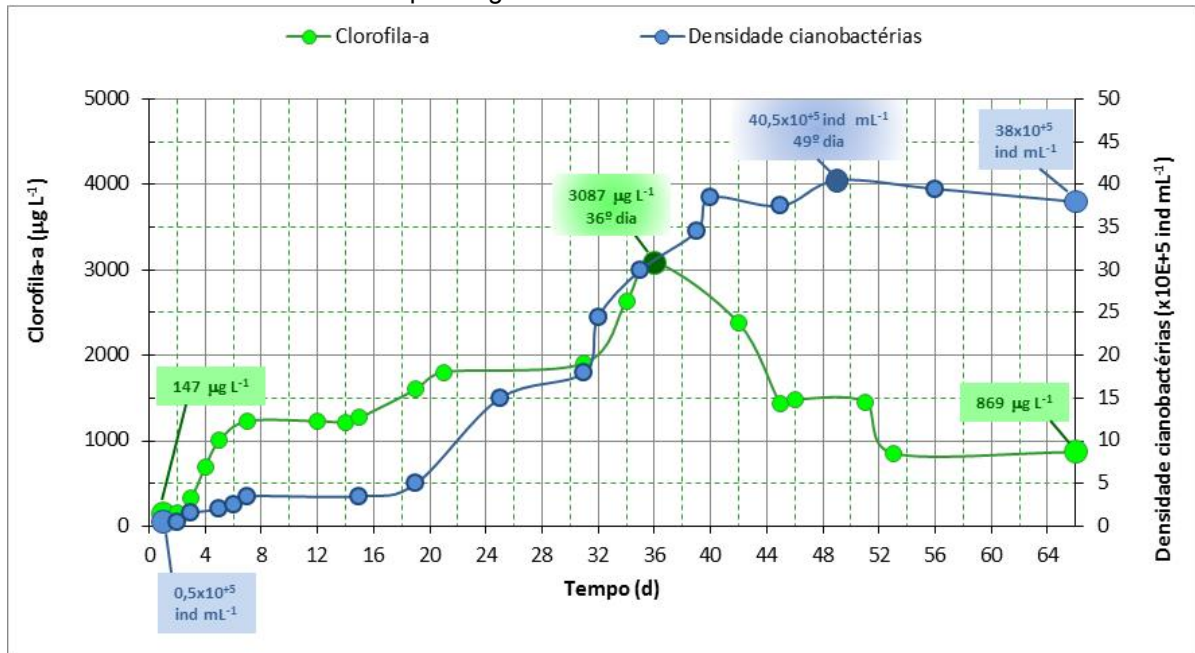
Tabela 6 - Valores absolutos de clorofila-a e contagem celular da cepa toxigênica de *C raciborskii* – A1 monitorada durante 66 dias

Tempo (Dia)	Clorofila-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Contagem celular (ind mL ⁻¹)
1	147,02	5,00E+04
2	160,38	nd
3	334,13	1,50E+05
5	1002,38	2,00E+05
6	nd	2,50E+05
7	1229,58	3,50E+05
15	1269,68	3,50E+05
19	1603,80	nd
25	1697,36	1,50E+06
30	1777,55	nd
31	1911,20	1,80E+06
32	nd	2,45E+06
35	2312,15	3,00E+06
36	3087	2,30E+06
39	nd	3,45E+06
40	2378,97	3,85E+06
45	1483,52	3,75E+06
49	748,44	4,05E+06
56	nd	3,95E+06
66	869	3,80E+06

Nd: não determinado.

Fonte do Autor (2014)

Gráfico 1 - Contagem de cianobactérias e concentração de clorofila-a na curva de crescimento da cepa toxigênica de *C. raciborskii* - A1



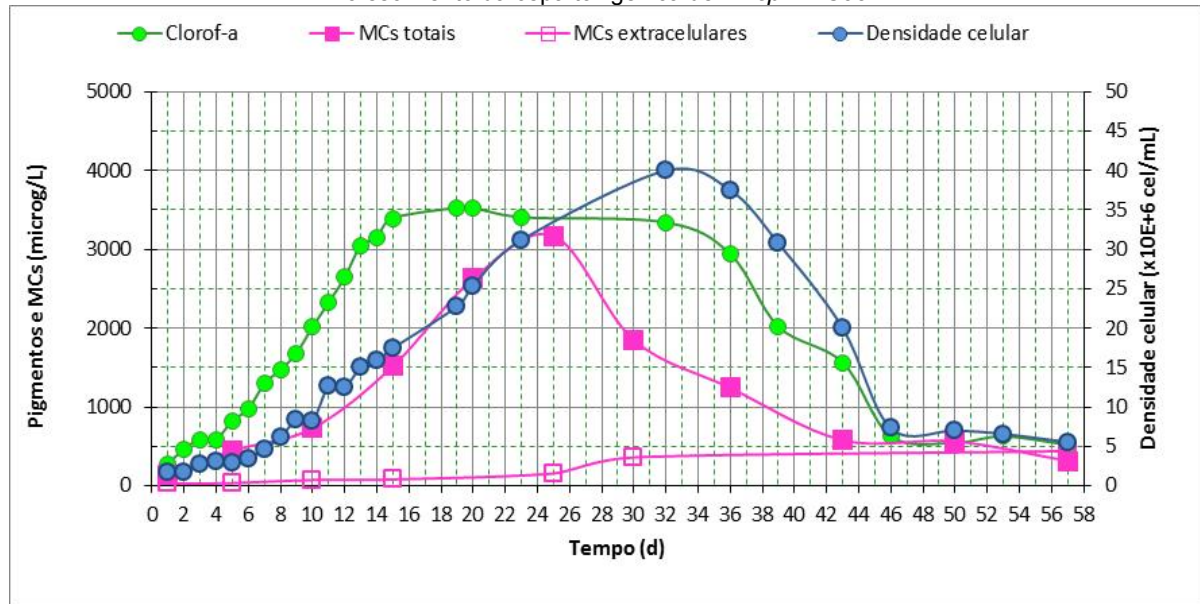
Fonte Do Autor (2014)

Vale ressaltar que a descontinuidade dos dados deve-se à dificuldade de se manter as condições físicas de cultivo, uma vez que devido à manutenção da rede elétrica da UEL, ocorreram várias interrupções no fornecimento de energia, muitas vezes por períodos contínuos de até 8 h, o que prejudicou sobremaneira o desenvolvimento do trabalho.

Em função dos dados apresentados, pode-se observar que a fase de adaptação (lag) ocorreu entre 0 e 4 dias e que a taxa de crescimento da cultura da cepa de *C. raciborskii* – A1 na fase foi menor que a observada por Kuriama (2012) com a cepa de *M. sp.* TAC95, o que resultou no prolongamento da fase de crescimento até os 36º e 49º dias para os parâmetros clorofila-a e densidade de cianobactérias. Apesar da diferença na duração dos estágios de crescimentos, os valores das concentrações máximas de clorofila-a e densidade de cianobactérias para as cepas TAC95 e A1 foram da mesma ordem de grandeza.

No Gráfico 2 estão representados os valores de contagem celular, clorofila-a, MCs totais e extracelulares da curva de crescimento da cepa toxigênica *M. sp.* TAC95 monitorada até o 57º dia obtida por Kuriama (2012).

Gráfico 2 - Contagem celular, concentração de clorofila-a e microcistinas totais e extracelulares da curva de crescimento da cepa toxigênica de *M. sp.* TAC95



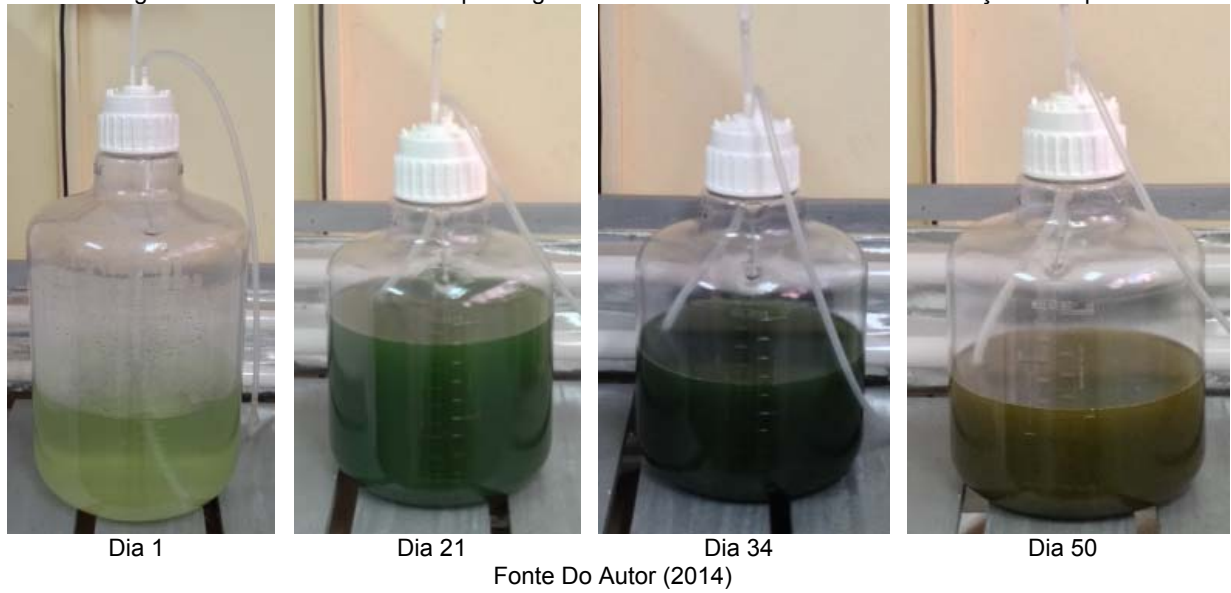
Fonte Kuriama (2012)

Com os resultados de clorofila-a, contagem celular e concentração de MCs, Kuriama (2012) estabeleceu as fases de crescimento que caracterizam a cepa toxigênica de *M. sp.* - TAC 95 para as condições empregadas. Após 6 dias de fase Lag (adaptação), iniciou-se a fase exponencial atingindo o estágio de crescimento em 20 e 30 dias. Após o 30º dia, foi iniciada a fase de senescência ou morte celular.

Assim como observado por Kuriama (2012), a produção de saxitoxinas pela cepa de *C. raciborskii* – A1 foi diretamente proporcional ao seu crescimento ao longo do tempo e apresentou concentrações de SXTs totais entre 0,07 µg.L⁻¹ e 5,77 µg.L⁻¹ e de SXTs extracelulares entre 0,03 µg.L⁻¹ e 2,73 µg.L⁻¹, no 1º dia e no 60º dia de monitoramento, respectivamente. No entanto, a produção de toxinas pela cepa A1 foi significativamente inferior à produzida pela cepa TAC95, da ordem de 1000 vezes menor.

Observa-se na Figura 8, que inicialmente, a cultura da cepa toxigênica *Cylindrospermopsis raciborskii* – A1 apresentou coloração esverdeada, que se intensificou gradualmente até o 34º dia atingindo um tom esverdeado mais intenso, correspondente à fase final de crescimento exponencial e posteriormente após 50 dias, um tom verde amarelado devido à degradação de clorofila-a.

Figura 8 - Fotos da cultura da cepa toxigênica de *C. raciborskii* – A1 / Caracterização da cepa



5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DAS ÁGUAS DE ESTUDO

A caracterização física, química e microbiológica das águas de estudo foi realizada logo após sua preparação e os resultados são apresentados na .

Na Figura 9, são mostradas fotos ilustrativas da suspensão da cepa toxigênica de *C. raciborskii* – A1 e da água de estudo AE-C preparada, por ocasião da realização dos ensaios do Experimento 3.

Figura 9 – Fotos da cultura da cepa toxigênica de *C. raciborskii* – A1 e Água de estudo AE-C



Cultura da cepa toxigênica de *C. raciborskii* – A1
com densidade de $1,0 \times 10^6$ ind mL⁻¹



Água de estudo AE-C com densidade de $1,5 \times 10^5$ ind mL⁻¹

Fonte do Autor (2014)

Tabela 7 - Resultados da caracterização física, química e microbiológica das águas de estudo

Parâmetro	AE-A	AE-B	AE-B®	AE-C	AE-C®	AE-D
pH	7,37	6,97	7,20	7,43	7,30	7,42
Turbidez (uT)	4,7	23,5	7,81	4,38	4,36	6,45
Densidade cianobactérias (ind mL ⁻¹)	5,4E+05	1,0E+05	2,1E+04	3,5E+05	1,5E+05	2,0E+04
Densidade de cianobactérias (cel mL ⁻¹)	5,4E+05	1,4E+06	2,9E+05	3,5E+05	1,5E+05	2,8E+05
Clorofila-a (µg L ⁻¹)	16,74	108,79	47,15	2,10	36,86	46,03
Toxinas extracelulares (µg L ⁻¹)	22,93 (*)	1,27	0,42 (**)	(***)	7,09(*)	1,11 (**)
Toxinas intracelulares (µg L ⁻¹)	29,77 (*)	1,47	0,21 (**)	(***)	3,58(*)	0,55 (**)
Toxinas totais (µg L ⁻¹)	52,7 (*)	2,74	0,63 (**)	(***)	10,67(*)	1,66 (**)

(*) : Concentrações de microcistinas – MCs;

(**) : Concentrações de saxitoxinas – SXTs

(***) Valor não determinado

Fonte Do Autor (2014)

As águas de estudos foram preparadas de forma que suas características resultassem similares a fim de viabilizar a avaliação comparativa dos resultados.

Após a adição das culturas de cianobactérias, as águas de estudo – AEs tiveram o pH ajustado entre 7,0 e 7,5 antes do início dos experimentos, utilizando as mesmas soluções de ácido clorídrico e hidróxido de sódio especificadas no item 4.5.1. Após coleta e acondicionamento adequado das amostras para caracterização das águas de estudo, as análises de clorofila-a e cianotoxinas foram realizadas ao final dos experimentos conforme metodologia descrita nos itens 4.1.2 e 4.1.3, respectivamente.

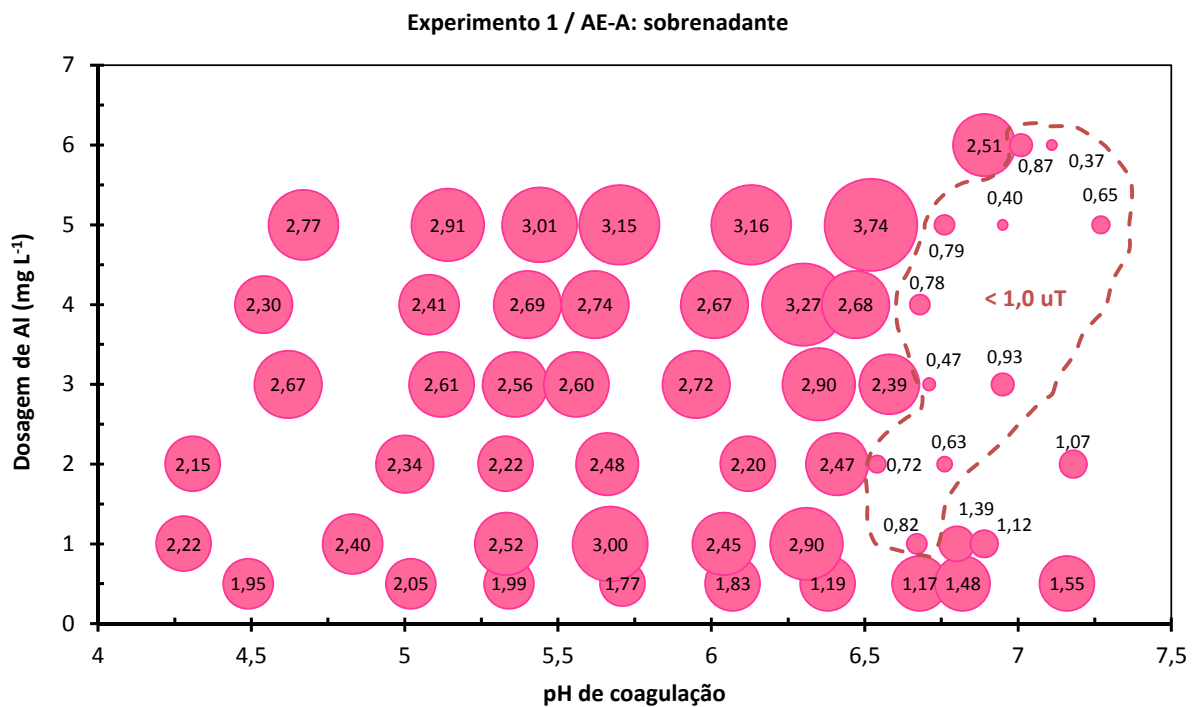
As concentrações de saxitoxinas - SXTs das águas de estudo AE-B e AE-D resultaram baixas, pois a cepa de *Cylindrospermopsis raciborskii* - A1 não produz SXTs em grandes quantidades. Por outro lado, por ser tratar de uma neurotoxina, cuidados especiais são requeridos como, por exemplo, uso de máscara e luvas a fim de minimizar o contato com esta toxina então não é prudente trabalhar com concentrações muito mais elevadas.

5.3 EXPERIMENTOS 1 e 2: ENSAIOS DE COAGULAÇÃO, FLOCULAÇÃO, SEDIMENTAÇÃO E FILTRAÇÃO EM JARTESTE

Os ensaios de coagulação-floculação-sedimentação-filtração foram realizados para obter os diagramas de coagulação para turbidez dos efluentes sobrenadante e filtrado. Para isso as águas de estudo AE-A e AE-B foram preparadas e caracterizadas conforme item 5.2.

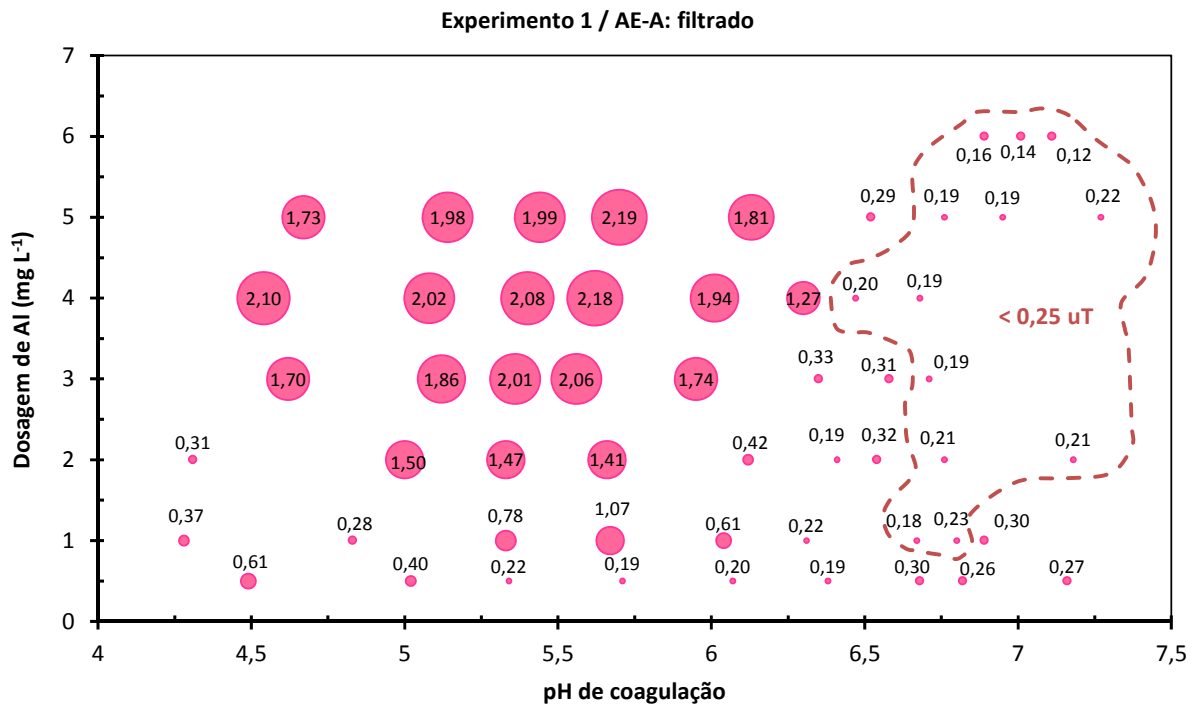
No Gráfico 3 e no Gráfico 4 são apresentados os diagramas de coagulação para turbidez dos efluentes sobrenadantes e filtrados, respectivamente, para a água de estudo AE-A preparada com a cepa de *Microcystis.sp.* - TAC95.

Gráfico 3 – Diagrama de Coagulação para turbidez dos sobrenadantes
Experimento 1 / AE-A. (T_{mr}=60s, G_{mr}=600 s⁻¹, T_f=20min, G_f=20 s⁻¹, V_s=1,0 cm min⁻¹)



Fonte Do Autor (2014)

Gráfico 4 – Diagrama de coagulação para turbidez dos filtrados do Experimento 1 / AE-A. (Tmr=60s, Gmr=600 s⁻¹, Tf=20min, Gf=20 s⁻¹, Vs=1,0 cm min⁻¹, Tfil=30min)



Considerando os sobrenadantes para a água de estudo AE-A do Experimento 1, as condições de máxima eficiência corresponderam às dosagens superiores a 1,0 mg L⁻¹ de Al e pH entre 6,7 e 7,3, com remoções superiores a 78,7% e valores residuais de turbidez inferiores a 0,93 uT (Gráfico 3).

De acordo com o diagrama de coagulação dos filtrados da água de estudo AE-A do Experimento 1 (Gráfico 4 **Erro! Fonte de referência não encontrada.**), os melhores resultados de remoção de turbidez foram obtidos para as mesmas condições do diagrama de coagulação dos sobrenadantes, com valores residuais de turbidez inferiores a 0,23 uT, o que corresponde à remoções superiores a 95,7%.

No Gráfico 5 e no Gráfico 6 são apresentados os diagramas de coagulação para turbidez dos efluentes sobrenadantes e filtrados, respectivamente, para a água de estudo AE-B do Experimento 2 preparada com a cepa de *Cylindrospermopsis raciborskii* – A1.

Gráfico 5 – Diagrama de coagulação para turbidez dos sobrenadantes do Experimento 2 / AE-B. (Tmr=60s, Gmr=600 s⁻¹, Tf=20min, Gf=20 s⁻¹, Vs=1,0 cm min⁻¹)

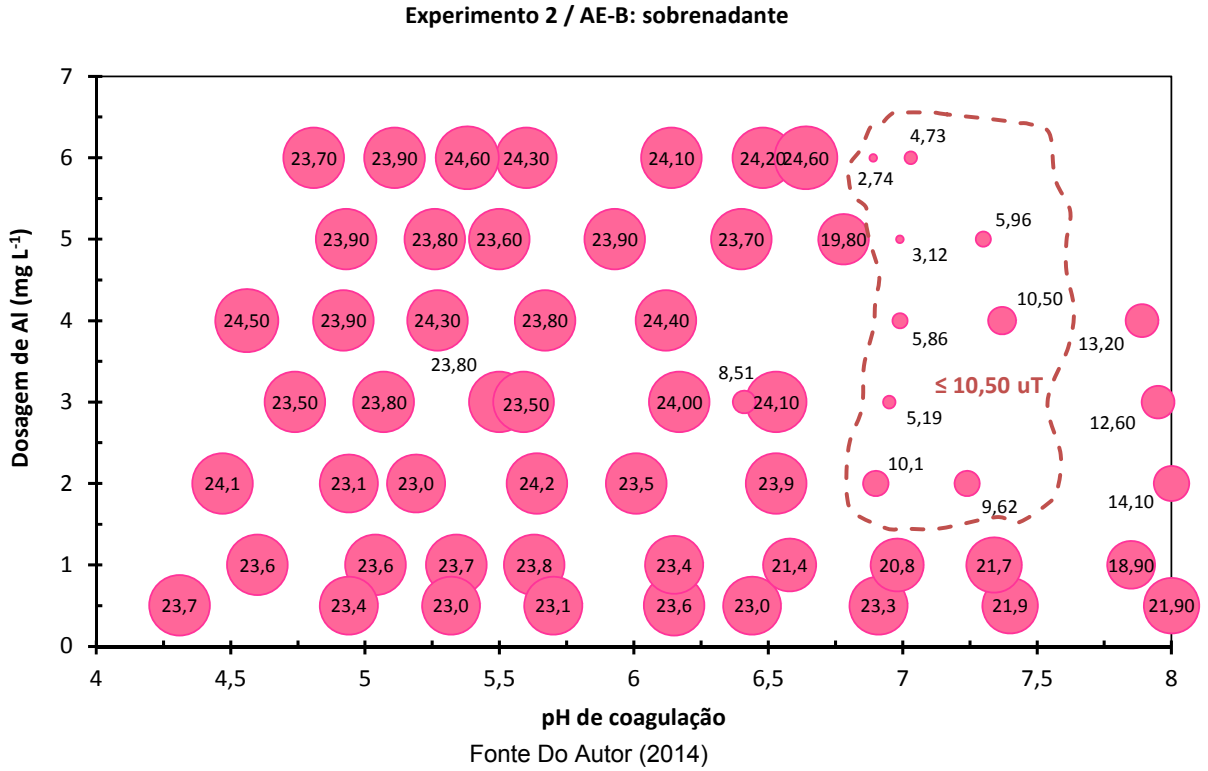
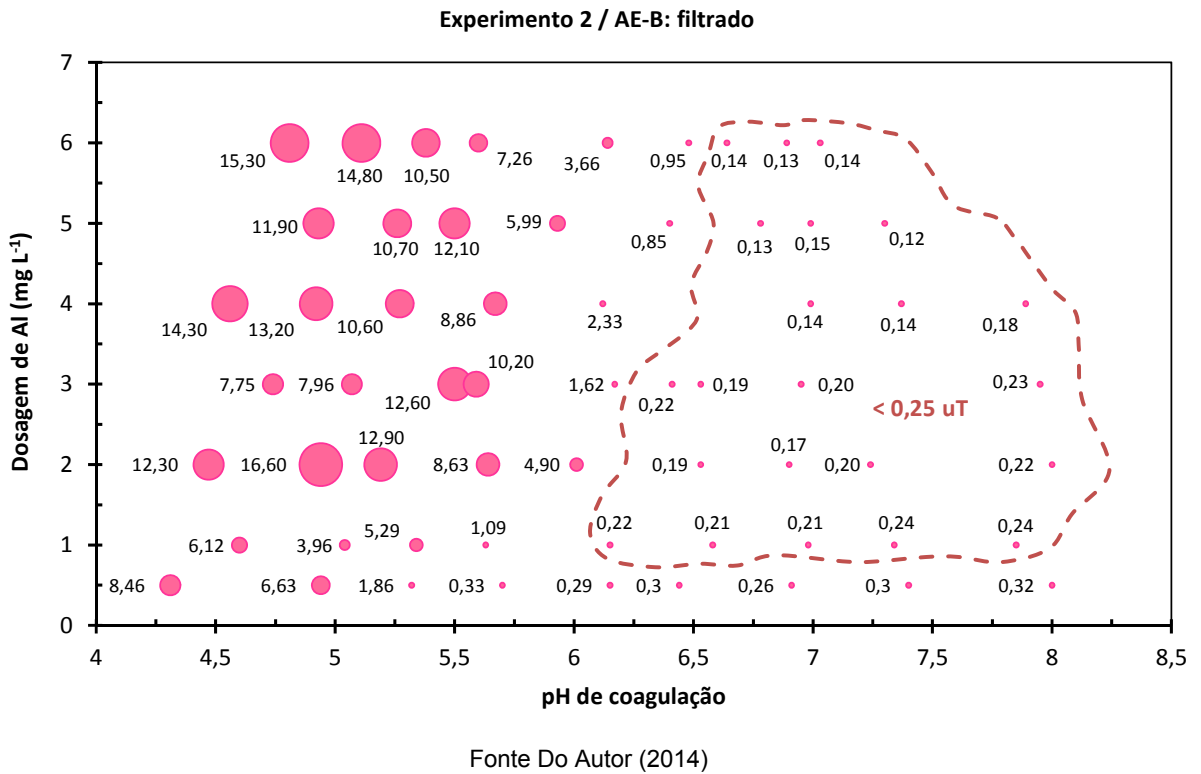


Gráfico 6 - Diagrama de coagulação para turbidez dos filtrados do Experimento 2 / AE-B. (Tmr=60s, Gmr=600 s⁻¹, Tf=20min, Gf=20 s⁻¹, Vs=1,0 cm min⁻¹, Tfil=30min)



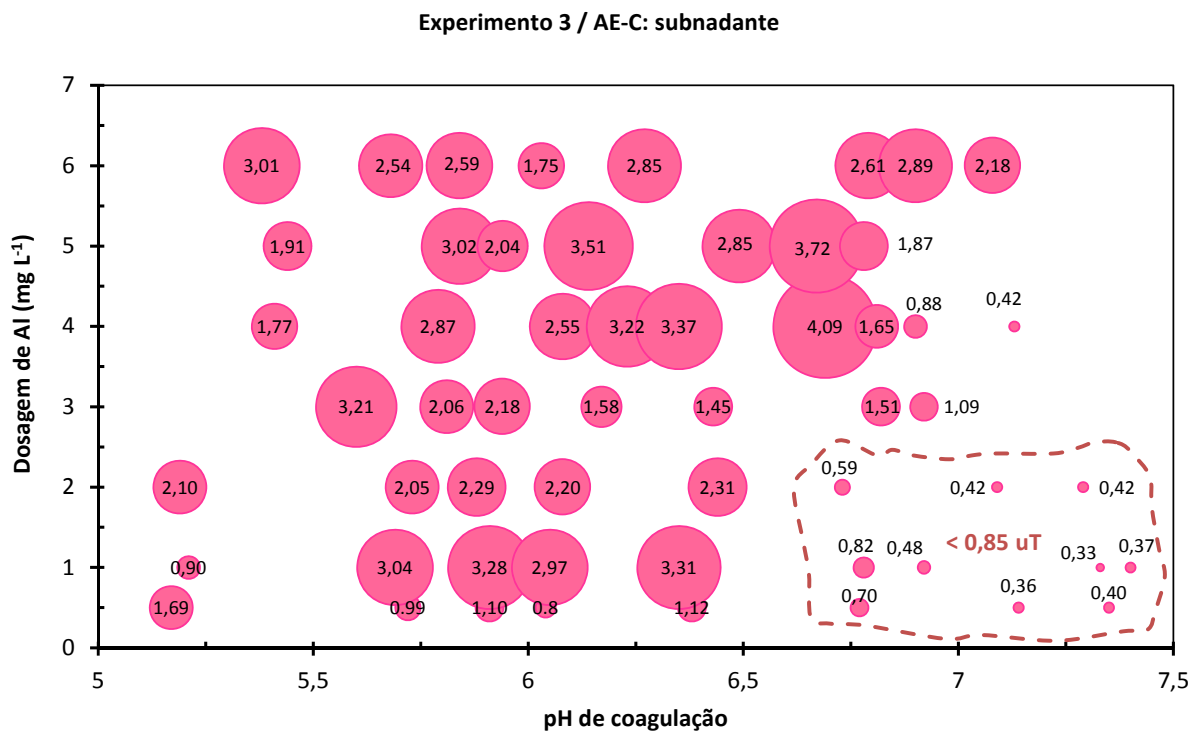
Analisando os sobrenadantes da água de estudo AE-B do Experimento 2 (Gráfico 5), as condições de coagulação com maiores eficiências situaram-se entre o pH 7,0 e 7,5 nas dosagens de 2,0 a 6,0 mg L⁻¹ de Al, com valores residuais de turbidez inferiores a 10,5 uT e porcentagens de remoção superiores a 55,3%.

Para os filtrados da água de estudo AE-B do Experimento 2 (Gráfico 6), as melhores eficiências de remoção de turbidez ocorreram entre o pH 6,0 e 8,0 e nas dosagens de 1,0 a 6,0 mg L⁻¹. Nestas condições, as remoções foram superiores a 98,9% com valores residuais abaixo de 0,25 uT.

5.4 EXPERIMENTOS 3 E 4: ENSAIOS DE COAGULAÇÃO, FLOCULAÇÃO, FLOTAÇÃO E FILTRAÇÃO EM FLOTESTE

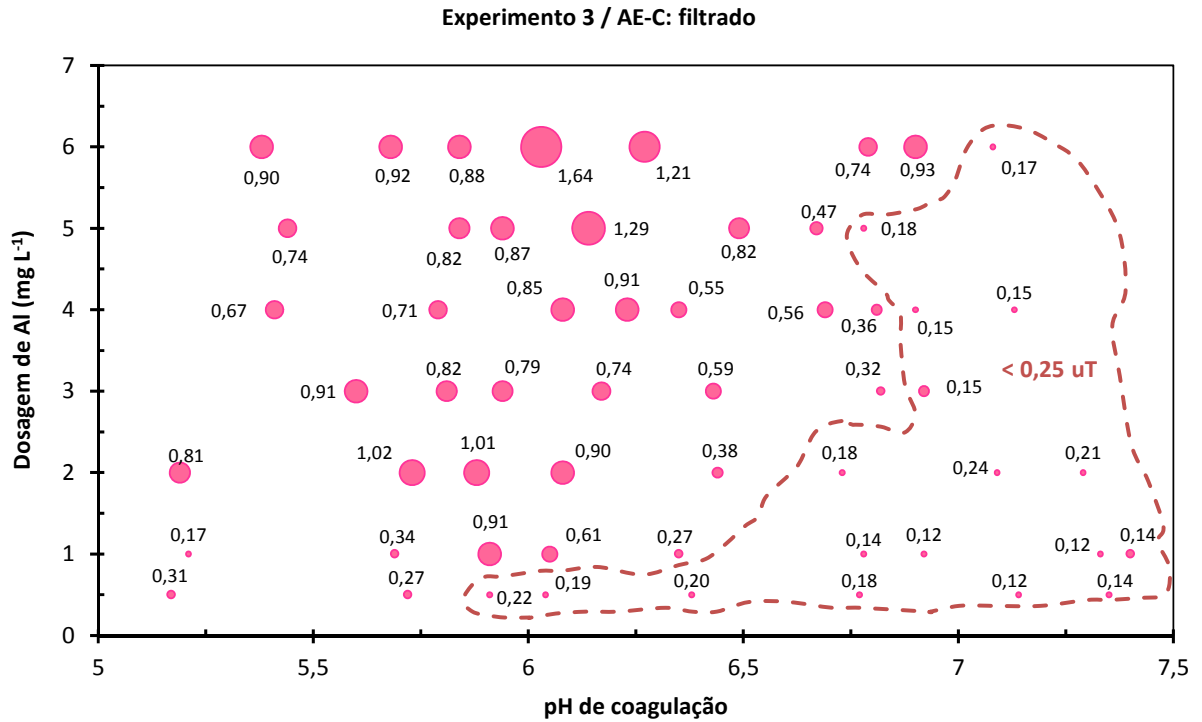
Os ensaios de coagulação-floculação-flotação-filtração foram realizados para obter os diagramas de coagulação para turbidez dos subnadantes e dos filtrados. Nos Gráfico 7 e Gráfico 8 são apresentados os diagramas de coagulação para turbidez dos subnadantes e filtrados, respectivamente, para a água de estudo AE-C preparada com a cepa de *Microcystis.sp.* – TAC95.

Gráfico 7 - Diagrama de coagulação para turbidez dos subnadantes do Experimento 3 / AE-C. (T_{mr}=60s, G_{mr}=600 s⁻¹, T_f=20min, G_f=20 s⁻¹, V_s=1,0 cm min⁻¹, R=20%, V_{asc}=15 cm min⁻¹, P=4atm, T_{sat}=8min)



Fonte Do Autor (2014)

Gráfico 8 - Diagrama de coagulação para turbidez dos filtrados do Experimento 3 / AE-C. (Tmr=60s, Gmr=600 s⁻¹, Tf=20min, Gf=20 s⁻¹, Vs=1,0 cm min⁻¹, R=20%, Vasc=15 cm min⁻¹, P=4atm, Tsat=8min, Tfil=30min)



Nos subnadaentes da água de estudo AE-C do Experimento 3 (Gráfico 7), observou-se que as melhores condições de remoção de turbidez, ocorreram entre os pH 6,7 e 7,4 e nas dosagens de 0,5 a 2,0 mg L⁻¹ de Al. Os valores residuais de turbidez foram menores que 0,82 uT resultando em remoções superiores a 81%.

De acordo com o diagrama de coagulação dos filtrados da água de estudo AE-C do Experimento 3(Gráfico 8), os melhores resultados foram obtidos entre o pH 6,7 e 7,4 e nas dosagens de 0,5 a 6,0 mg L⁻¹ de Al. Os valores residuais de turbidez foram menores que 0,24 uT resultando em remoções superiores a 99,8%.

No entanto, valores razoáveis de turbidez foram gerados para valores de pH inferiores a 6,8 e dosagem de 0,5 mg L⁻¹ de Al.

No Gráfico 9 e no Gráfico 10 são apresentados os diagramas de coagulação de turbidez dos sobrenadantes e filtrados, respectivamente, para a água de estudo AE-D do Experimento 4 preparada com a cepa de *Cylindrospermopsis raciborskii* – A1.

Gráfico 9 - Diagrama de coagulação para turbidez dos subnadaentes do Experimento 4 / AE-D. (Tmr=60s, Gmr=600 s⁻¹, Tf=20min, Gf=20 s⁻¹, Vs=1,0 cm min⁻¹, R=20%, Vasc=15 cm min⁻¹, P=4atm, T_{sat}=8min)

Experimento 4 / AE-D: subnadante

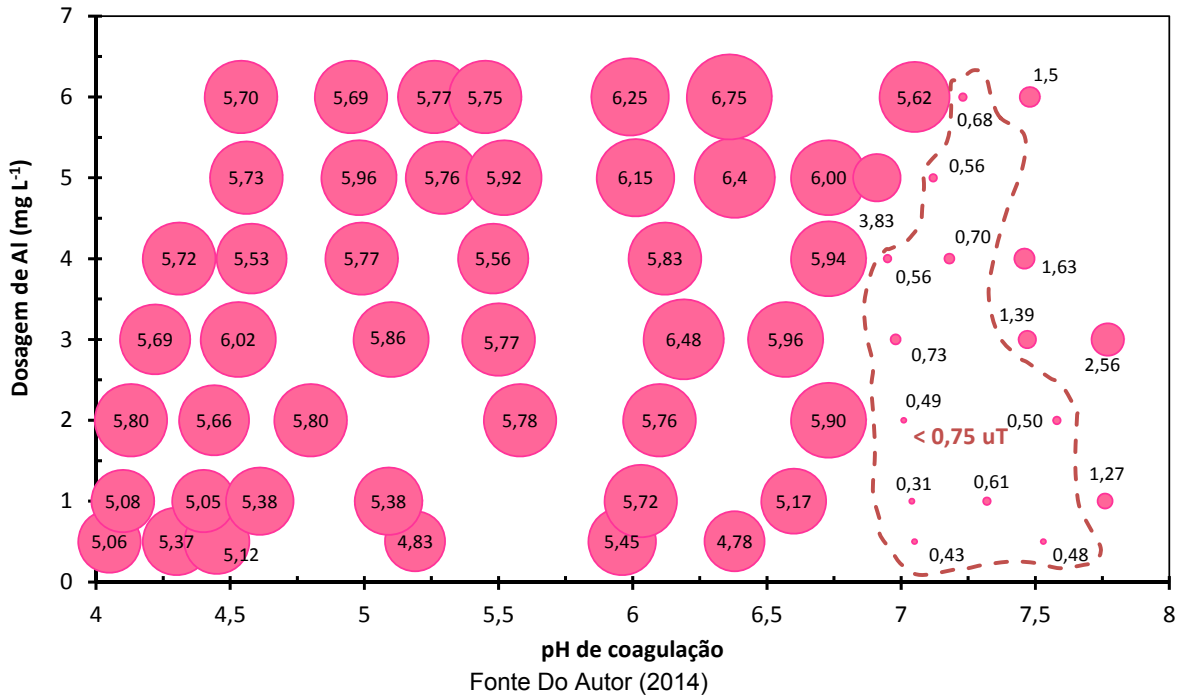
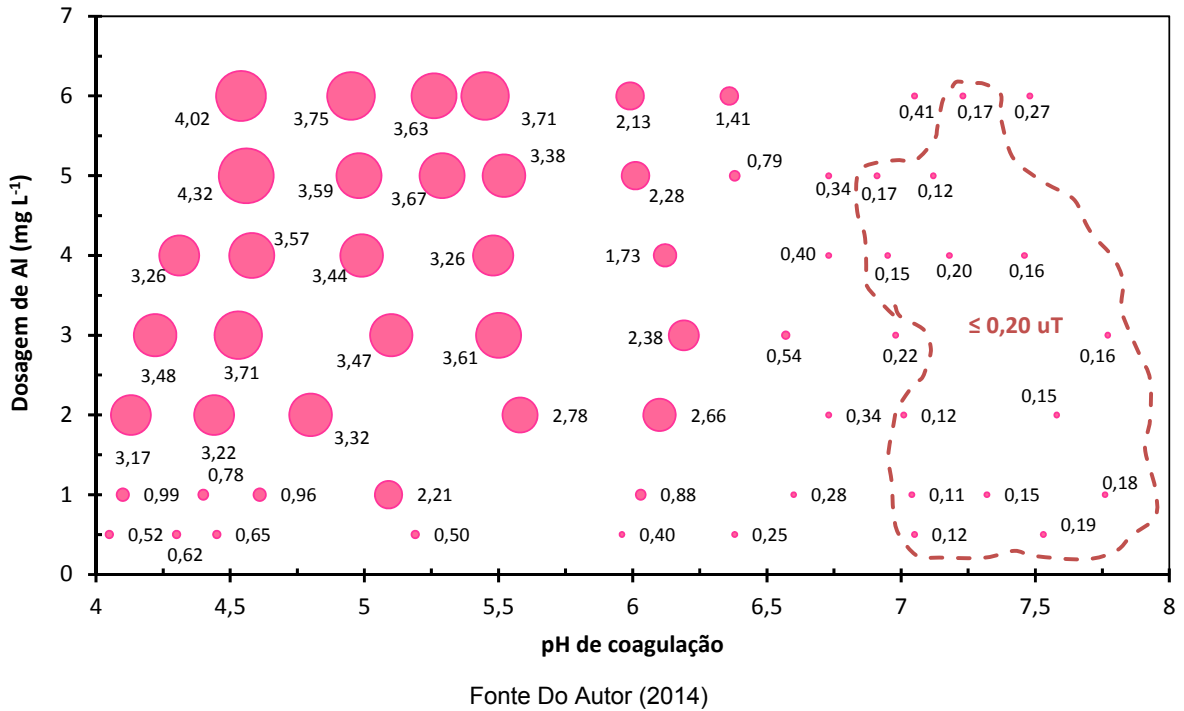


Gráfico 10 - Diagrama de coagulação para turbidez dos filtrados do Experimento 4 / AE-D. (Tmr=60s, Gmr=600 s⁻¹, Tf=20min, Gf=20 s⁻¹, Vs=1,0 cm min⁻¹, R=20%, Vasc=15 cm min⁻¹, P=4atm, T_{sat}=8min, Tfil=30min)

Experimento 4 / AE-D: filtrado



Considerando os sobrenadantes para a água de estudo AE-D do Experimento 4, as condições de máxima eficiência corresponderam às dosagens entre 0,5 mg L⁻¹ e 6,0 mg L⁻¹ de Al e faixa de pH entre 7,0 e 7,7, com remoções superiores a 88,6% e valores residuais de turbidez inferiores a 0,73 uT (Gráfico 9).

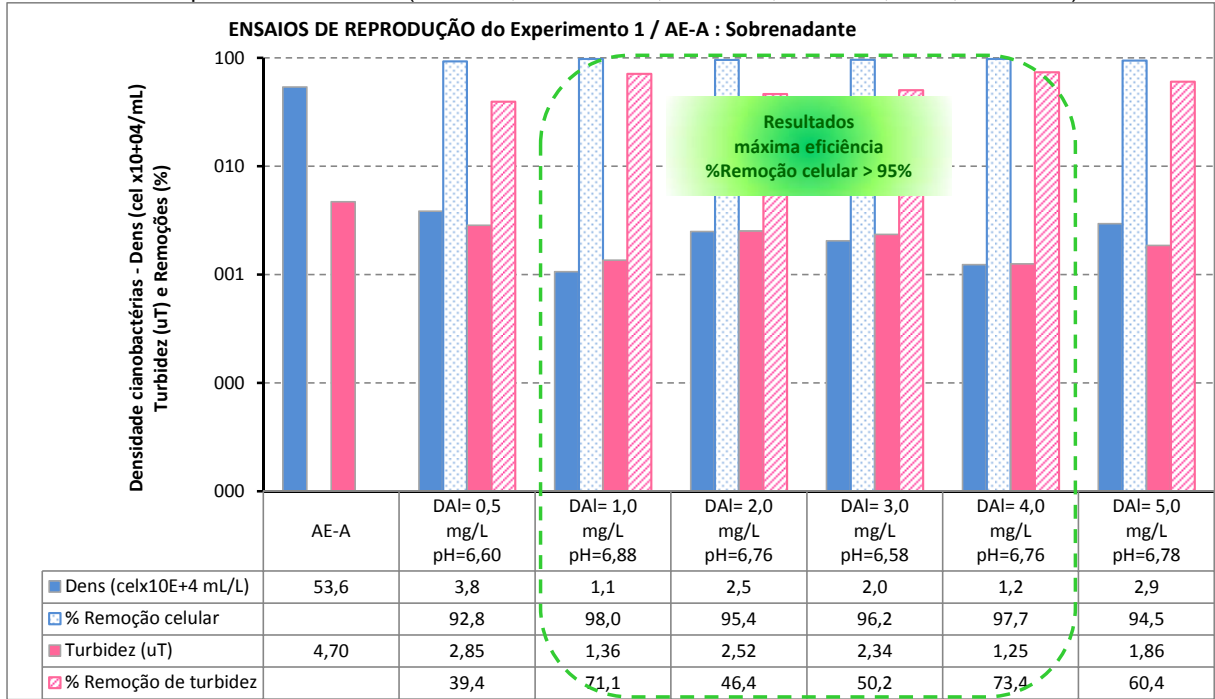
De acordo com o diagrama de coagulação do filtrado da água de estudo AE-D do Experimento 4 (Gráfico 10), os melhores resultados de remoção de turbidez foram obtidos para valores de pH entre 6,4 e 7,6 e dosagens de Al entre 0,5 mg L⁻¹ e 6,0 mg L⁻¹ com valores residuais de turbidez inferiores a 0,30 uT, o que corresponde à remoções superiores a 95,6%.

Os diagramas de coagulação para a turbidez dos sobrenadante, subnadante e filtrado elaborados para as águas de estudo A, B, C e D nos experimentos 1 a 4 mostraram que as condições de máxima eficiência corresponderam à faixa de pH entre 6,0 e 7,7 para dosagens entre 1,0 a 5 mg L⁻¹.

5.5 ENSAIOS DE REPRODUÇÃO E CONDIÇÕES SELECIONADAS DE MAIOR EFICIÊNCIA

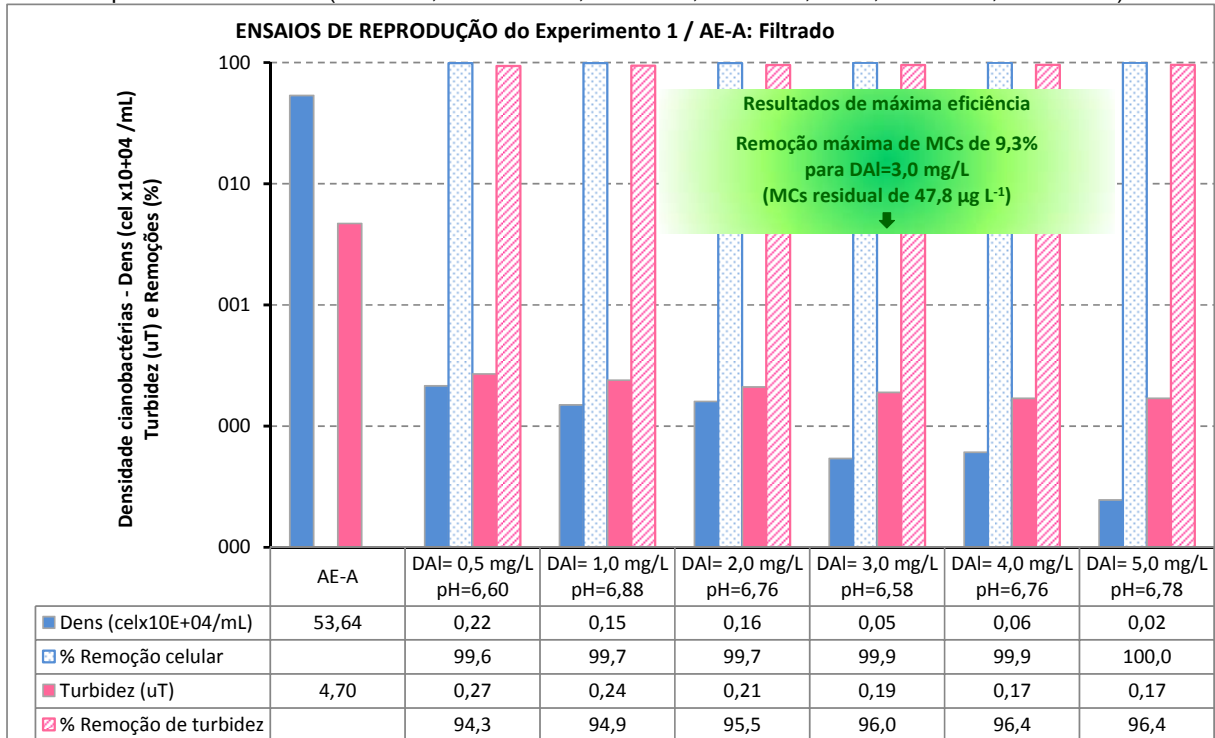
Os resultados da densidade celular e de turbidez dos sobrenadantes, subnadantes e filtrados produzidos nos ensaios de reprodução considerando-se a faixa de pH mais adequada para diferentes dosagens de Al são apresentados nos **Erro! Fonte de referência não encontrada.** ao **Erro! Fonte de referência não encontrada.** Para avaliar o efeito da variação de dosagem de coagulante, foram utilizadas em alguns ensaios, além das dosagens entre 1,0 a 5 mg L⁻¹, subdosagens (50% da menor dosagem) e superdosagens (50, 100 e 200% da maior dosagem) do coagulante.

Gráfico 11 – Valores de densidade de *Microcystis* sp e de turbidez dos sobrenadantes do Ensaio de reprodução do Experimento 1 / AE-A. (Tmr=60s, Gmr=600 s⁻¹, Tf=20min, Gf=20 s⁻¹, Vs=1,0 cm min⁻¹)



Fonte Do Autor (2014)

Gráfico 12 - Valores de densidade de *Microcystis* sp e de turbidez dos filtrados do Ensaio de reprodução do Experimento 1 / AE-A. (Tmr=60s, Gmr=600 s⁻¹, Tf=20min, Gf=20 s⁻¹, Vs=1,0 cm min⁻¹, Tfil=30min)



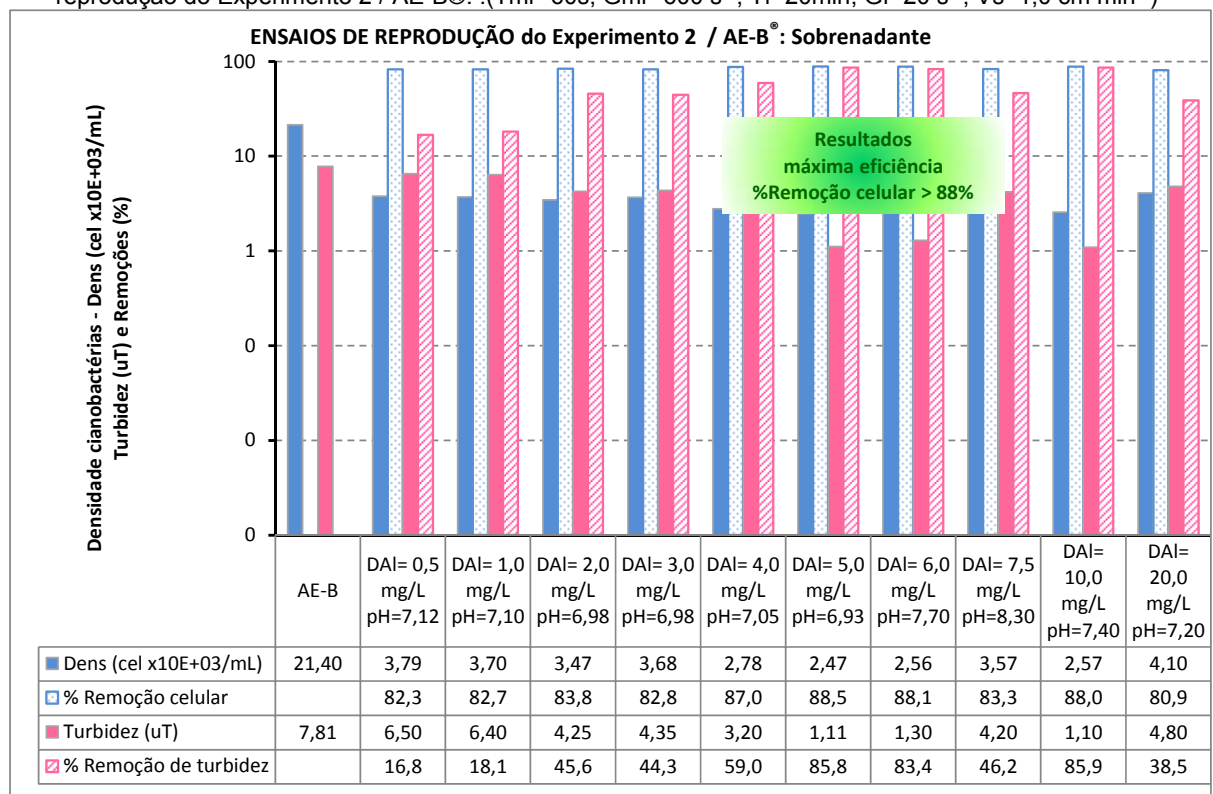
Fonte Do Autor (2014)

De acordo com os resultados do **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, considerando os sobrenadantes da água de estudo AE-A, preparada com a cepa de *M. sp.* - TAC95, coagulados em valores de pH próximos a 6,8, foram obtidos para

dosagens compreendidas entre 1 e 4 mg L⁻¹ de Al, remoções entre 95,4 e 98 % de cianobactérias e densidades residuais de 11000 e 25000 cel mL⁻¹. Para essas condições, as remoções de turbidez acompanharam as de densidade de cianobactérias e variaram entre 46,4 e 73,4 %, com valores residuais entre 1,25 e 2,52 uT. Para os filtrados (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), observou-se elevada eficiência para dosagens entre 1,0 e 5,0 mg L⁻¹ de Al, resultando em remoções superiores a 3 log e densidade residual máxima de cianobactérias de 1600 cel mL⁻¹ e remoções superiores a 94,9% de turbidez com valores residuais inferiores a 0,24 uT.

Como era esperado, a remoção máxima de MCs foi de 9,3% para a dosagem de 3 mg L⁻¹ de Al e pH 6,58, resultando em concentração residual de 47,8 µg L⁻¹ de MCs.

Gráfico 13 – Valores de densidade de *C. raciborskii* e de turbidez dos sobrenadantes dos Ensaio de reprodução do Experimento 2 / AE-B®. (Tmr=60s, Gmr=600 s⁻¹, Tf=20min, Gf=20 s⁻¹, Vs=1,0 cm min⁻¹)

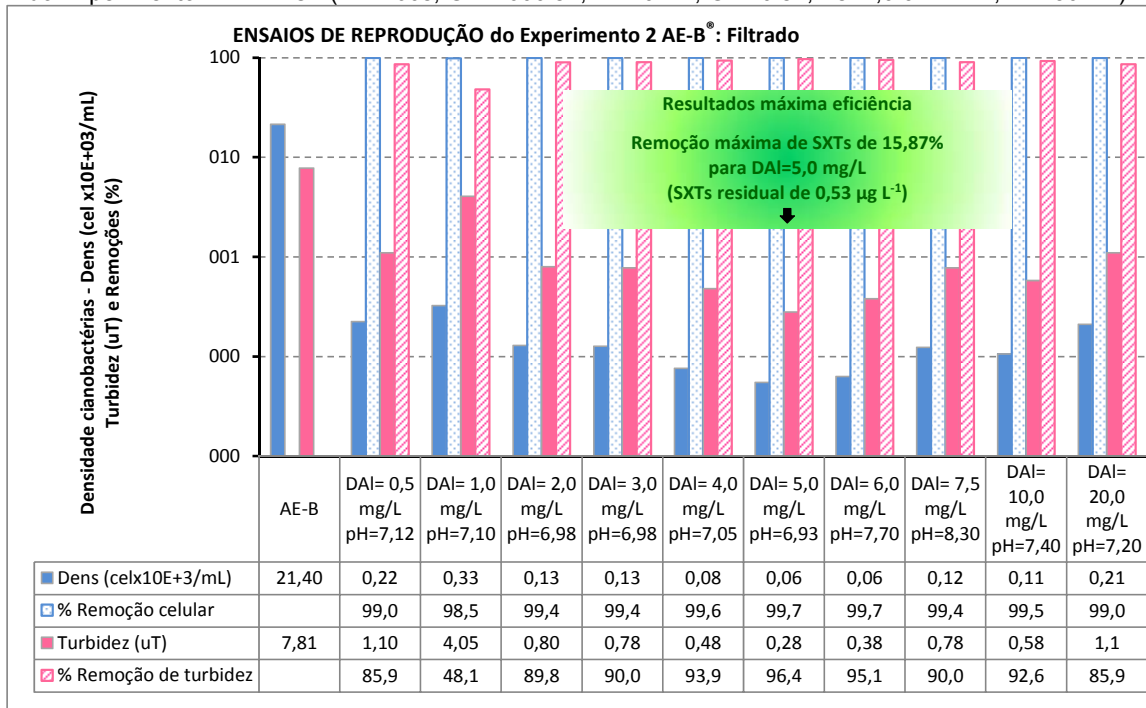


Fonte Do Autor (2014)

Considerando os sobrenadantes da água de estudo AE-B®, preparada com a cepa de *C. raciborskii* - A1, coagulados em valores entre pH 6,93 e 7,7, foram obtidos porcentagens de remoção de cianobactérias superiores ou iguais a 88% para dosagens de 5,0 e 6,0 mg L⁻¹ de Al. Para essas condições, as densidades celulares

residuais foram de 2467 e 2568 ind mL⁻¹ (34538 e 35784 cel mL⁻¹). Os valores de turbidez acompanharam as de densidade de cianobactérias e suas remoções resultaram entre 83,4 e 85,8 %, com valores residuais entre 1,10 e 1,30 uT.

Gráfico 14 - Valores de densidade de *C. raciborskii* e de turbidez dos filtrados dos Ensaio de reprodução do Experimento 2 / AE-B®. (Tmr=60s, Gmr=600 s⁻¹, Tf=20min, Gf=20 s⁻¹, Vs=1,0 cm min⁻¹, Tfil=30min)



Fonte Do Autor (2014)

Em relação aos filtrados (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), observou-se elevada eficiência para remoção de cianobactérias nas dosagens de 4,0, 5,0 e 6,0 mg L⁻¹ de Al, resultando em remoções da ordem de 99,7% com densidades residuais entre 60 e 80 ind mL⁻¹ (770 e 1064 cel mL⁻¹). Para essas condições, foram observadas remoções de turbidez superiores a 93,9%, com valores residuais inferiores a 0,48 uT.

Vale ressaltar que a água de estudo AE-B® foi preparada com a cepa filamentar de *C. raciborskii* - A1, que apresenta, devido a sua morfologia, maior facilidade para ser removida em relação às células de *Microcystis* sp. , uma vez que estas se encontram, neste trabalho, na forma de células individualizadas devido à perda da bainha de mucilagem em cultivo de laboratório e, portanto, desfavoráveis à remoção.

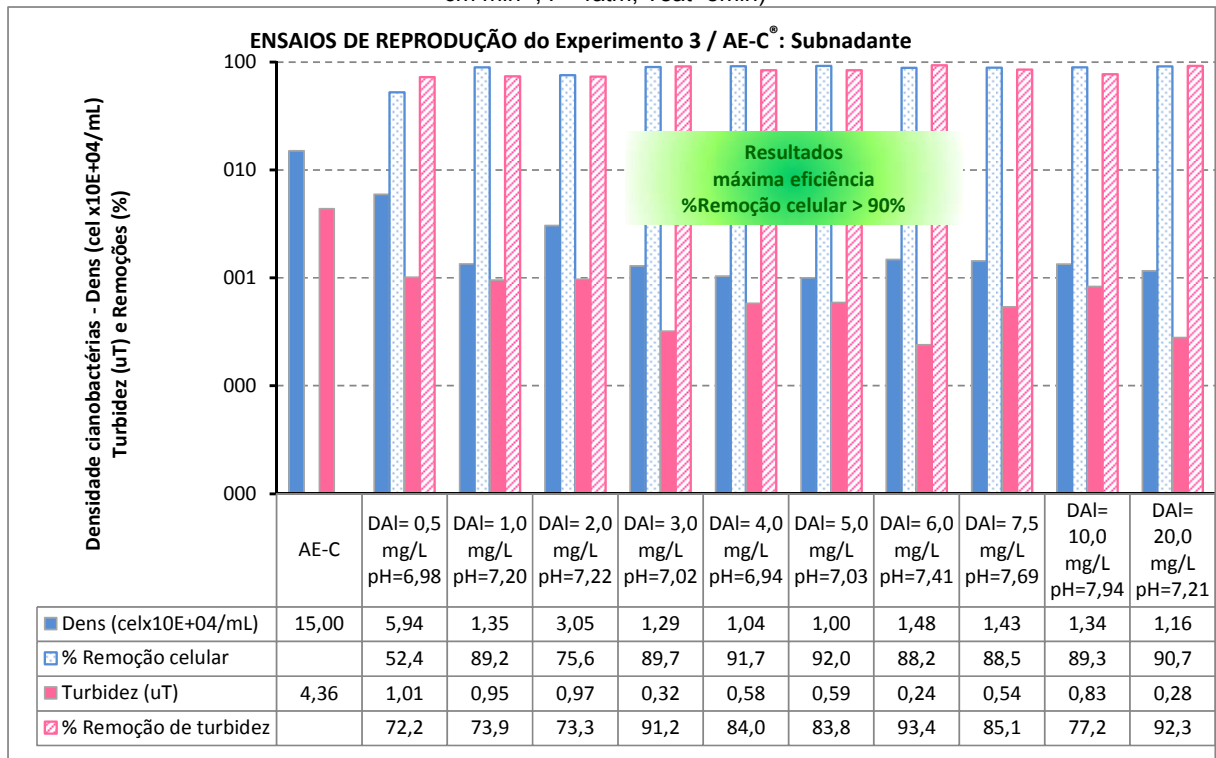
Por outro lado, deve-se considerar ainda que os valores de densidade de cianobactérias das águas de estudo preparadas com a cepa de *C. raciborskii* - A1, foram expressas em ind mL⁻¹ e para essa cepa, um indivíduo ou unidade filamentar

apresentou em média 14 células. Nessas condições, pode-se constatar que o tratamento por coagulação – floculação – sedimentação - filtração foi capaz de produzir filtrados com qualidade compatível ao Padrão de Potabilidade, estabelecido pela Portaria 2914/2013 do MS, em relação à turbidez, cujo valor máximo permitido do efluente pós-filtrado é de 0,5 uT (em 95% das amostras), quando o tratamento é realizado por filtração rápida, seja pela técnica de filtração direta ou pelo ciclo completo.

Pôde-se também verificar, que os filtrados da água de estudo AE-B® produzidos nesses ensaios de reprodução apresentaram concentrações residual mínima de 0,53 $\mu\text{g L}^{-1}$ de SXTs e atenderam à mesma Portaria 2914/2011 do MS que estabelece no seu Anexo VIII, o padrão de cianotoxinas com valor máximo permitido de 3,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para equivalentes totais de saxitoxinas – SXTs. No entanto, deve-se considerar que a concentração de SXTs na água de estudo AE-B® era limitada e apresentou valor de 0,63 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Esses resultados possibilitam também constatar que o aumento da dosagem de Al para 10,0 e 20,0 mg L^{-1} mantendo-se o pH a valores próximos de pH 7,0 não proporcionaram ganho de eficiência, o que denota a importância da determinação das condições mais apropriadas de coagulação para otimização do tratamento.

Gráfico 15 – Valores de densidade de *Microcystis* sp e de turbidez dos subnadantes dos ensaios de reprodução do Experimento 3 / AE-C®. (Tmr=60s, Gmr=600 s⁻¹, Tf=20min, Gf=20 s⁻¹, Vs=1,0 cm min⁻¹, R=20%, Vasc=15 cm min⁻¹, P=4atm, T_{sat}=8min)



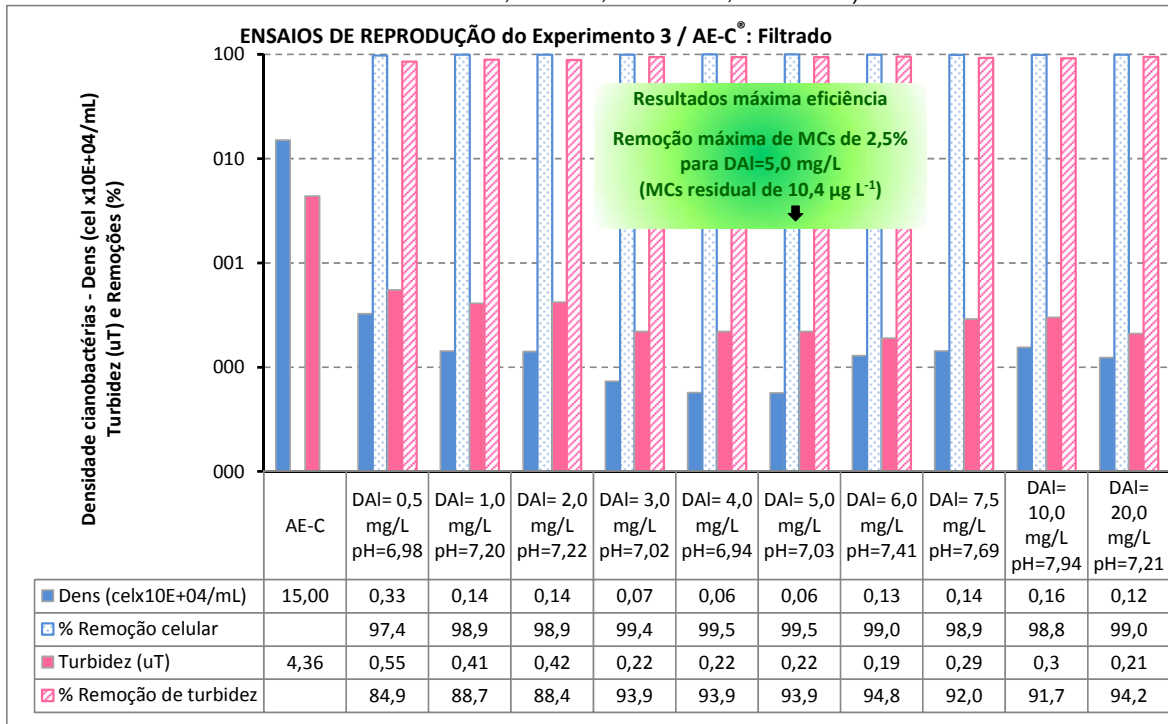
Fonte Do Autor (2014)

Considerando os subnadantes da água de estudo AE-C® do Experimento 3, preparada com a cepa de *M. sp.* - TAC95 e coagulação em valores de pH próximos a 7,0, as condições de máxima eficiência, de acordo com o **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, corresponderam às dosagens compreendidas entre 4 e 5 mg L⁻¹ de Al com remoções entre 91,7% e 92,0% de cianobactérias e densidades residuais de 10004 a 10360 cel mL⁻¹. Para essas condições, as remoções de turbidez não variaram e apresentaram valores residuais de 0,58 e 0,59 uT, inferiores aos obtidos para os efluentes sobrenadantes da água de estudo AE-A, com valor mínimo de 1,25 uT. O mesmo pode-se observar em relação à remoção de células cujas densidades de cianobactérias variaram entre 10626 e 24887 cel mL⁻¹.

Santiago (2008), após analisar os diagramas de coagulação das células de *M. protocystis*, constatou que a técnica de ciclo completo com flotação obteve desempenho superior quando comparada à técnica de ciclo completo com sedimentação, tanto para remoção de células de *C. raciborskii* quanto para *M. protocystis*, com valores residuais de turbidez abaixo de 1,0 uT. Esta mesma conclusão foi obtida no trabalho de Oliveira (2005), com máxima eficiência de

remoção de clorofila-a de 93% na flotação e 86% em relação à sedimentação. No entanto, não é possível afirmar que a flotação foi mais eficiente que a sedimentação em relação à remoção de turbidez e de cianobactérias uma vez que a densidade inicial da AE-A era da ordem de $5,4 \times 10^5 \text{ cel mL}^{-1}$ ou seja, 3,6 vezes superior à da AE-C®.

Gráfico 16 - Valores de densidade de *Microcystis* sp e de turbidez dos filtrados dos Ensaio de reprodução do Experimento 3 / AE-C®. (Tmr=60s, Gmr=600 s-1, Tf=20min, Gf=20 s-1, Vs=1,0 cm min-1, R=20%, Vasc=15 cm min-1, P=4atm, T_{sat}=8min, T_{fil}=30min)



Fonte Do Autor (2014)

Assim como observado para os filtrados dos sobrenadantes da água de estudo AE-A, observa-se no **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, elevada eficiência para dosagens a partir de $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Al, com densidade residual máxima de cianobactérias de 1286 cel mL^{-1} (remoção mínima de 99%) e remoções superiores a 93,9% de turbidez, com valores residuais inferiores a $0,22 \text{ uT}$.

Embora os filtrados provenientes das águas de estudo AE-A e AE-C®, preparadas com a cepa de *M. sp.* - TAC95, precedidos, respectivamente, da sedimentação e da flotação, tenham apresentados características similares em relação à remoção de turbidez e densidade celular, a qualidade dos sobrenadantes e subnadantes resultaram bem diferentes. Este fato pode estar associado à elevada eficiência da filtração, que foi capaz de assegurar a qualidade do efluente final. No entanto, deve-se considerar que essa variação de qualidade do afluente ao filtro

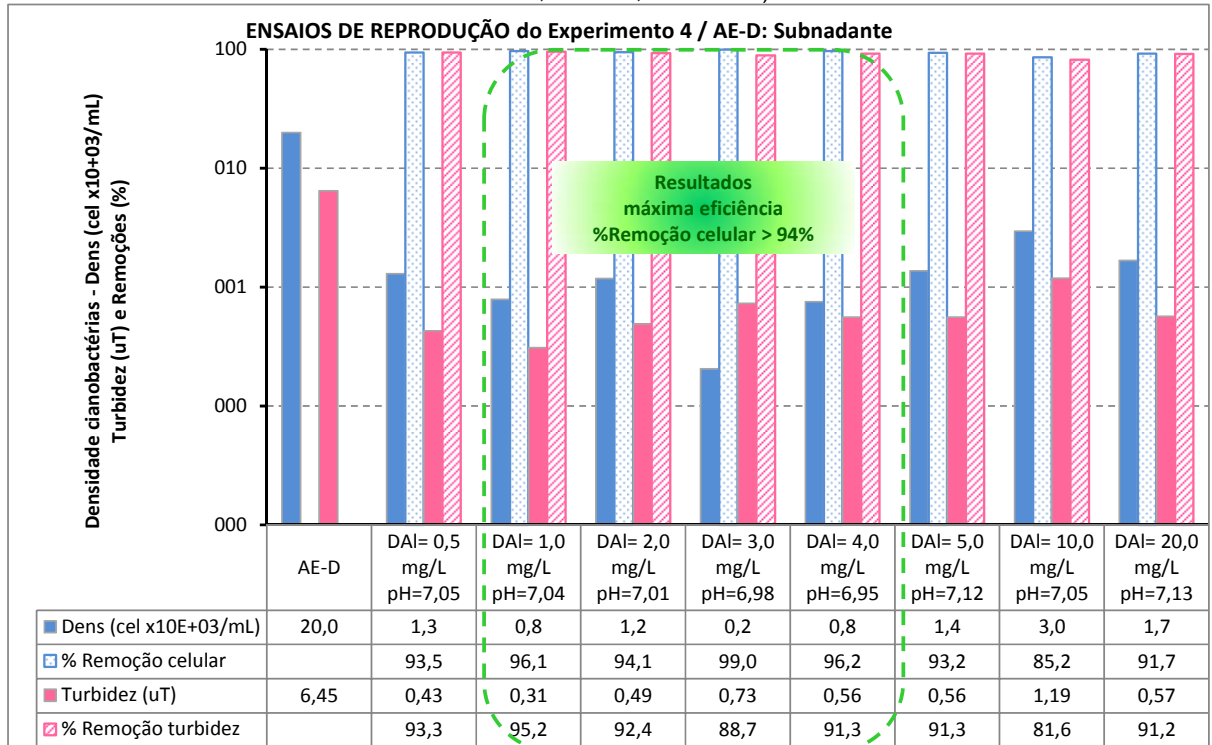
influenciará diretamente a duração das carreiras e colmatação superficial, e conseqüentemente, no desempenho do sistema de filtração.

Constatou-se que para o gênero *Microcystis*, tanto a sedimentação como a flotação seguida de filtração foi capaz de produzir efluente com qualidade compatível ao Padrão de potabilidade estabelecido pela Portaria 2914/2013 do MS, em relação à turbidez, cujo valor máximo permitido do filtrado é de 0,5 uT (em 95% das amostras) quando o tratamento é realizado por filtração rápida.

Em relação às microcistinas – MCs, os filtrados das águas de estudo AE-A e AE-C produzidos nos ensaios de reprodução, apresentaram concentrações residuais entre 47,8 e 10,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ de MCs respectivamente, e não atenderam à Portaria 2914/2013 do MS que estabelece no seu Anexo VIII, o padrão de cianotoxinas com valor máximo permitido de 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para equivalentes totais de MCs. Ressalta-se que a concentração de MCs na água de estudo AE-A era de 52,7 $\mu\text{g L}^{-1}$, o que comprova a baixa eficiência do tratamento para remoção dessas cianotoxinas.

As baixas remoções de microcistinas na AE-A e AE-C[®] 9,3 e 2,5 %, respectivamente, comprovam a limitada eficiência da técnica de ciclo completo na remoção de metabólitos secundários como as cianotoxinas, uma vez que, apenas a toxina contida na célula foi removida.

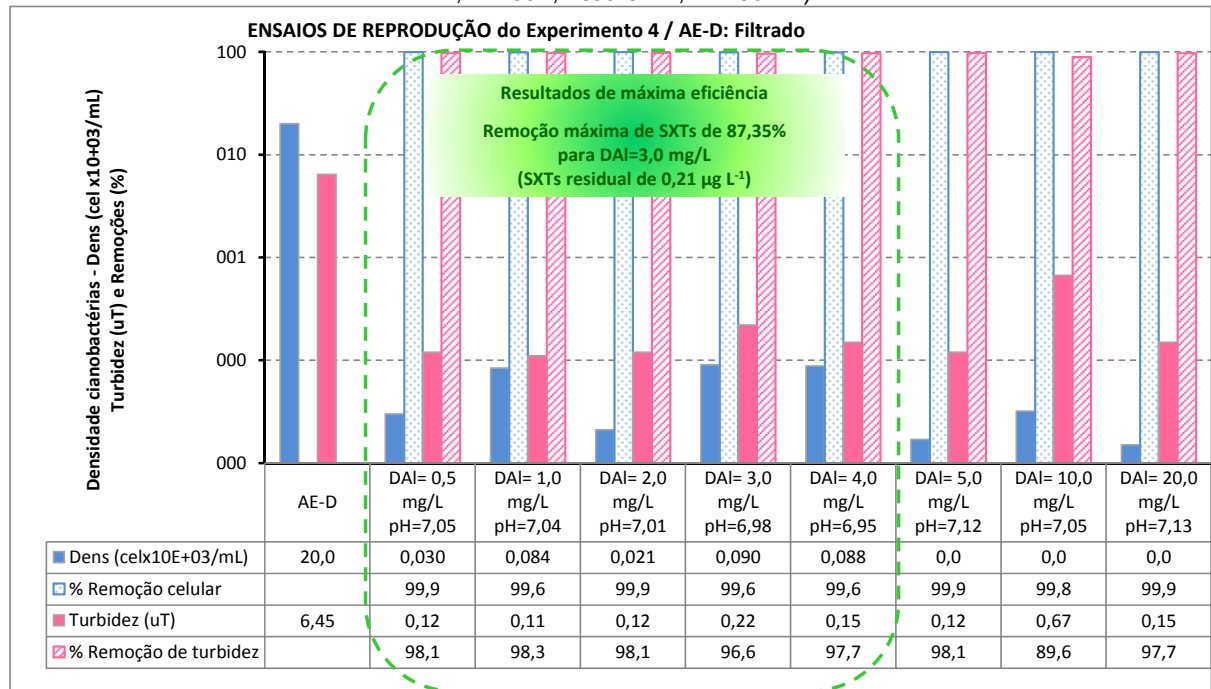
Gráfico 17 – Valores de densidade de *C. raciborkii* e de turbidez dos subnadantes dos Ensaio de reprodução do Experimento 4 / AE-D. .(Tmr=60s, Gmr=600 s-1, Tf=20min, Gf=20 s-1, Vs=1,0 cm min-1, R=20%, Vasc=15 cm min-1, P=4atm, Tsat=8min)



Fonte Do Autor (2014)

Considerando os subnadantes da água de estudo AE-D do Experimento 4, preparada com a cepa de *C. raciborkii* - A1 (**Erro! Autoreferência de indicador não válida.**) e coagulação em valores de pH próximos a 7,0, as condições de máxima eficiência corresponderam às dosagens compreendidas entre 1,0 e 4,0 mg L⁻¹ de Al com remoções superiores a 94,1% de cianobactérias e densidades residuais entre 206 e 1182 ind mL⁻¹ (2884 a 16548 cel . mL⁻¹). Para essas condições, as remoções de turbidez variaram entre 88,7 a 95,2% com valores residuais entre 0,31 e 0,73 uT.

Gráfico 18 - Valores de densidade de *C. raciborkii* e de turbidez dos filtrados dos Ensaio de reprodução do Experimento 4 / AE-D. (Tmr=60s, Gmr=600 s⁻¹, Tf=20min, Gf=20 s⁻¹, Vs=1,0 cm min⁻¹, R=20%, Vasc=15 cm min⁻¹, P=4atm, T_{sat}=8min, T_{fil}=30min)



Em relação aos filtrados (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), observou-se elevada eficiência para remoção de cianobactérias nas dosagens 0,5 a 4,0 mg L⁻¹ de Al, resultando em remoções acima de 99,6% com densidade residual máxima de 90 ind mL⁻¹ (1260 cel mL⁻¹). Para essas condições, foram observadas remoções superiores a 96,6% de turbidez, com valores residuais inferiores a 0,22 uT.

Dentre os filtrados da água de estudo AE-D do Experimento 4 a concentração residual mínima foi de 0,21 µg L⁻¹ de SXTs para dosagem de 3,0 mg L⁻¹ de Al e pH 6,98 e atendeu à Portaria 2914/2013 do MS que estabelece no seu Anexo VIII, o padrão de cianotoxinas com valor máximo permitido de 3,0 µg L⁻¹ para equivalentes totais de saxitoxinas – SXTs. No entanto, deve-se considerar que a concentração de SXTs na água de estudo AE-D era limitada e apresentou valor de 1,66 µg L⁻¹.

A **Erro! Fonte de referência não encontrada.** a seguir apresenta um resumo dos resultados obtidos nos experimentos 1 a 4.

Tabela 8 - Valores de densidade de cianobactérias e turbidez nas águas de estudo e efluentes produzidos nas respectivas condições de coagulação. Resumo dos resultados dos Ensaio de reprodução dos Experimentos para faixa ótima de pH.

Exp 1	Parâmetros	AE-A	Condições máxima eficiência de Coagulação (Dosagem Al e pH)	Sobrenadante	Remoção (%)	Condições máxima eficiência de Coagulação (Dosagem Al e pH)	Filtrado	Remoção (%)
	Densidade de cianobactérias (cel mL ⁻¹)	5,4E+05	1 - 4 mg L ⁻¹ 6,58-6,8	10.626 - 24887	95,4 - 98,0	1 - 5 mg L ⁻¹ 6,5 - 6,88	246 - 1600	99,7 - 100
Turbidez (uT)	4,70		1,25 - 2,52 uT	46,4 - 73,4		0,17 - 0,24 uT	94,9 - 96,4	
Exp 2	Parâmetros	AE-B ^o	Condições máxima eficiência de Coagulação (Dosagem Al e pH)	Sobrenadante	Remoção (%)	Condições máxima eficiência de Coagulação (Dosagem Al e pH)	Filtrado	Remoção (%)
	Densidade de cianobactérias (cel mL ⁻¹)	2,1E+04	5,0 e 6,0 mg L ⁻¹ 6,9 e 7,7	34538 - 35784	88,1 - 88,5	4 - 6 mg L ⁻¹ 6,93 - 7,7	770 - 1064	99,6 - 99,7
Turbidez (uT)	7,81		1,11 - 1,30 uT	83,4 - 85,8		0,28 - 0,48 uT	93,9 - 96,4	
Exp 3	Parâmetros	AE-C ^o	Condições máxima eficiência de Coagulação (Dosagem Al e pH)	Subnadante	Remoção (%)	Condições máxima eficiência de Coagulação (Dosagem Al e pH)	Filtrado	Remoção (%)
	Densidade de cianobactérias (cel mL ⁻¹)	1,5E+05	4,0 e 5,0 mg L ⁻¹ 6,94 e 7,03	10004 - 10360	91,7 - 92,0	3 - 6 mg L ⁻¹ 6,94 - 7,41	569 - 1286	99,0 - 99,5
Turbidez (uT)	4,36		0,58 - 0,59 uT	83,8 - 84		0,19 - 0,22 uT	93,9 - 94,8	
Exp 4	Parâmetros	AE-D	Condições máxima eficiência de Coagulação (Dosagem Al e pH)	Subnadante	Remoção (%)	Condições máxima eficiência de Coagulação (Dosagem Al e pH)	Filtrado	Remoção (%)
	Densidade de cianobactérias (cel mL ⁻¹)	2,0E+04	1,0 e 4,0 mg L ⁻¹ 6,95 - 7,04	2884 - 16548	94,1 - 99,0	0,5 - 4,0 mg L ⁻¹ 6,95 - 7,05	294 - 1260	99,6 - 99,9
Turbidez (uT)	6,45		0,31 - 0,73 uT	88,7 - 95,2		0,11 - 0,22 uT	96,6 - 98,3	

Fonte do Autor (2014)

De uma forma geral, o aumento da dosagem de Al para 7,5, 10,0 e 20,0 mg L⁻¹ (50, 100 e 200% da maior dosagem testada) mantendo-se o pH ótimo de coagulação não proporcionaram ganho de eficiência que justificassem a aplicação dessas condições de coagulação.

Dos resultados dos efluentes produzidos após sedimentação e flotação, para as condições de máxima eficiência para cada Ensaio de reprodução (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), foi possível observar que comparando as técnicas de

tratamento testadas a remoção de células de *C. raciborskii* e de *Microcystis* sp foi mais eficiente na flotação do que na sedimentação, uma vez que os flocos resultantes são leves e flutuam, tornando mais vantajosa a remoção de células intactas por flotação por ar dissolvido (Chorus e Bartram, 1999). Esta mesma conclusão foi obtida no trabalho de Oliveira (2005), com máxima eficiência de remoção de clorofila-a de 93% na flotação e 86% em relação à sedimentação. Santiago (2008) também concluiu que a técnica de ciclo completo com flotação foi superior à sedimentação tanto para remoção de células de *C. raciborskii* quanto para *M. protocystis*.

Em relação às diferenças de morfologia celular das cepas utilizadas, os resultados obtidos indicam que o gênero *Microcystis* é mais facilmente removido especialmente por sedimentação do que por flotação. Para ambos os gêneros, o pH ótimo de coagulação variou entre 6,8 e 7,0.

Os resultados dos sobrenadantes, subnadantes e filtrados produzidos após filtração para as condições de máxima eficiência para cada Ensaio de reprodução são relacionados a seguir:

- **Ensaio de reprodução do Experimento 1/AE-A:** para DAI = 5,0 mg L⁻¹ e pH = 6,78, o filtrado produzido para a condição de máxima eficiência apresentou 246 cel mL⁻¹; 0,17 uT;
- **Ensaio de reprodução do Experimento 2/ AE-B®:** para DAI = 5,0 mg L⁻¹ e pH = 6,93, o filtrado produzido para a condição de máxima eficiência apresentou 770 cel mL⁻¹, 0,28 uT;
- **Ensaio de reprodução do Experimento 3/ AE-C®:** para DAI= 4,0 mg L⁻¹ e pH = 6,94, o filtrado produzido para a condição de máxima eficiência apresentou 570 cel mL⁻¹, 0,22 uT;
- **Ensaio de reprodução do Experimento 4/ AE-D:** para DAI= 2,0 mg L⁻¹ e pH = 7,01, o filtrado produzido para a condição de máxima eficiência apresentou 294 cel mL⁻¹, 0,12 uT.

Após filtração, os resultados deste trabalho não permitiram confirmar diferenças significativas entre as eficiências obtidas com sedimentação e flotação, nem com as diferentes morfologias celulares empregadas, uma vez que os resultados apresentaram-se similares e da mesma ordem de grandeza. No entanto, tanto pela sedimentação como pela flotação, foi possível obter filtrados com

qualidade compatível ao Padrão de potabilidade, estabelecido pela Portaria 2914/2013 do MS, em relação à turbidez, cujo valor máximo permitido do efluente pós-filtrado é de 0,5 uT (em 95% das amostras), quando o tratamento é realizado por filtração rápida, seja pela técnica de filtração direta ou pelo ciclo completo.

Os valores residuais de MCs dos filtrados das águas de estudo AE-A e AE-C foram 47,8 e 10,4 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, e confirmaram a baixa eficiência dos tratamentos para remoção dessas cianotoxinas uma vez que a água de estudo AE-A apresentava concentração de 52,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ de MCs. Além disso, estes residuais de MCs são superiores aos limites estabelecidos pela Portaria 2914/2013 do MS;

Os valores residuais de SXTs produzidos pelos efluentes filtrados das águas de estudo AE-B e AE-D de 0,53 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,21 $\mu\text{g L}^{-1}$, nesta ordem, e atenderam à Portaria 2914/2011 do MS, porém, as concentrações de SXTs nestas águas de estudo eram limitadas e apresentaram valores de 0,63 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 1,66 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Para as condições estudadas neste trabalho pode-se concluir que:

- Pelos resultados dos diagramas de coagulação para turbidez as condições de máxima eficiência de coagulação corresponderam à faixa de pH entre 6,8 e 7,0;
- Dos resultados dos efluentes produzidos após sedimentação e flotação foi possível observar que comparando as técnicas de tratamento testadas a remoção de células de *Microcystis* sp foi mais eficiente na sedimentação e para *C. raciborskii* na flotação,
- Nos ensaios de reprodução, os resultados dos sobrenadantes e subnadantes obtidos indicaram que células de forma circular (*Microcystis*) foram mais facilmente removidas do que as de forma filamentar (*C. raciborskii*), especialmente por sedimentação;
- Nos ensaios de reprodução, os resultados dos filtrados para densidade de cianobactérias variaram entre 246 cel mL⁻¹ a 1600 cel mL⁻¹ com porcentagens de remoção entre 93,9 a 100%;
- Nos ensaios de reprodução, os resultados dos filtrados obtidos não permitiram constatar diferenças significativas de eficiência entre a flotação e a sedimentação, mas foi possível obter filtrados com qualidade compatível ao Padrão de potabilidade, estabelecido pela Portaria 2914/2011 do MS, em relação à turbidez;
- Como esperado, a remoção de cianotoxinas dissolvidas não foi eficiente pelos tratamentos testados.

Após realização deste trabalho, seguem as recomendações para as próximas pesquisas:

- Aquisição e uso de uma cepa de *C. raciborskii* que produza saxitoxinas em maiores quantidades;
- Viabilização de experimentos de comparação entre as diferentes técnicas utilizando-se de preferência a mesma água de estudo;

- Desenvolvimento de estudos sobre a estabilidade das saxitoxinas em relação às variações de pH, tempo, adição de produtos químicos, entre outros;
- Estudo de aplicação de técnicas de tratamento complementar após a filtração, que promova a remoção de células e cianotoxinas residuais.

7 BIBLIOGRAFIA

ALBUQUERQUE JUNIOR, E. C. **Produção e caracterização de carvão ativado para remoção de microcistinas**. 2006. 239 f. Tese de Doutorado – Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, 2006.

ANDERSON, D.M. (1994). **Red tides**. Scientific American, New York, v.270, n.8, p 52-56.

APHA, AWWA, WEF **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) e Water Environment Federation (WEF) / 21ª edição, 2005.

ASSIS, R. S. S.. **Remoção de Microcystis aeruginosa e Microcistinas por Flotação por Ar Dissolvido – Estudo em Escala de Bancada Utilizando Sulfato de Alumínio e Cloreto Férrico como Coagulantes**. 2006. 137p .Dissertação de Mestrado. (Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos). Publicação PTARH.DM-096A/06, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

AZEVEDO, S. M. F. O. (1998). **Toxinas de Cianobactérias: causas e consequências para a saúde pública**. Disponível em: <www.medonline.com.br/med_ed/med3/microcis.htm>. Acesso em: 5 fev 2014.

BISHOP, C.T.; ANET, E.F.L.J & GORHAM, P.R. 1959. **Isolation and identification of the past-death factor in Microcystis aeruginosa NRC-1**. Canadian Journal of Biochemical and Physiology, 37: 453-471.

BITTENCOURT, M. C. O.; MOLICA, R. **Cianobactéria Invasora**. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio30/cianobacteria.pdf>> Acesso em: 5 fev 2014.

BRANCO, C. W. C. & SENNA, P. A. C. **The taxonomic elucidation of the Paranoá Lake (Brasília, Brazil) problem: Cylindrospermopsis raciborskii**. Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique 61:85-91. 1991.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº518: Procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 de março de 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 dez. 2011.

BRATBY, J. R. **Aplicação de flotação a ar dissolvido em tratamento de água e esgoto**. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 12, Camboriú, SC. SEECLA, 27p, 1983.

CALIJURI, M.C., ALVES, M A. and SANTOS, A.C.A. *Cianobactérias e cianotoxinas em águas continentais*. São Carlos: Rima Editora, 2006; 118 p.

CARMICHAEL W.W.; AN. J.S.; AZEVEDO, S.M.F.O.; LAU, S.; RINEHART, K.L.; JOCHIMSEN, E.M.; HOLMES, C.E.M & SILVA, J.B. **Analysis for microcystins involved in outbreak of liver failure and death of humans at a hemodialysis center in Caruaru, Pernambuco, Brazil**. IV Simpósio da Sociedade Brasileira de Toxinologia, 1996.

CARMICHAEL, W. W.. **The cyanotoxins**. *Advances in Botanical Research*, v.27. 1997. p.211-212.

CARMICHAEL, W. W.; MAHMOOD, N. A.; HYDE, E. G. **Natural toxins from cyanobacterial (bluegreen algae)**. In: Hall S, Strichartz G, editors. *Marine toxins: origin, structure, and molecular pharmacology*. Washington, D.C; American Chemical Society; 1990. P.87-106.

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

CEBALLOS, B. S. O; AZEVEDO, S. M. F. O.; BENDATE, M. M. A.(2006). **Fundamentos biológicos e ecológicos relacionados às cianobactérias**. In: Valter L. Pádua. (Org). *Contribuição ao estudo da remoção de cianobactérias e microcontaminantes orgânicos por meio de técnicas de tratamento de água para consumo*. Belo Horizonte: PROSAB, 2006, p.23-82.

CENTURIONE FILHO, P. L. **Desenvolvimento e Operação de Uma Instalação de Flotação de Bancada**. 2002. 110 p. Dissertação de mestrado.(Programa de Pós-Graduação em Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo. SP.

CHORUS, I. **Cyanotoxins: occurrence, causes, consequences**. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. New York. 2001. 357pp.

CHORUS, I. BARTRAM, J. **Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management**. London e New York: WHO, 1999.

CHORUS, I. e BARTRAM, J. **Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management**. London e New York: WHO, 1999. *apud* DI BERNARDO, L. MINILLO, A. DANTAS, A. D. *Florações de algas e de cianobactérias: Suas influências na qualidade da água e nas tecnologias de tratamento*. São Carlos: Editora LDiBe, 2010.

CODD, G. A. **Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control**. *Ecological Engineering*, Amsterdam, v.16, n.1. 2000. p.51-60,Oct.

DI BERNARDO, L. MINILLO, A. DANTAS, A. D. **Florações de algas e de cianobactérias**: Suas influências na qualidade da água e nas tecnologias de tratamento. São Carlos: Editora LDiBe, 2010. EDZWALD, 1993

DUY, T. N.; LAM, P. K. S.; SHAW, G. & CONNELL, D. W. **Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (bluegreen algal) toxins in water**. In Apeldoorn, M. E., Egmond, H. P., Speijers, G. J. A. & Bakker, G. J. I., 2007. Toxins of cyanobacteria. *Molecular Nutrition and Food Research* 51: 7-60. 200.

FALCONER IR, RUNNEGAR MTC, BUCKLEY T, HUYN VL, BRADSHAW P. Using activated carbon to remove toxicity from drinking water containing Cyanobacterial blooms. *Journal of The American Water Works Association* 1989; 81(2):102-5.

FITZGERALD, D. J. CU LIFFE, D. A. BURCH, M. D. **Development of health alerts for cyanobacteria and related toxins in drinking water in South Australia**. *Environmental Toxicology*. 14(1):203-7. 1999.

FUNASA. **Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano**. Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde. 2003.

GORHAM, P. R.; **“Toxic algae”**. In: JACKSON (ed.) – *Algae and Man*. D. F. New York: Plenum Press, p. 307-36, 1964. GREGORY, 1997,

GREGORY, J. **The density of particle aggregates**. *Water Science and Technology*, 36(4): 1-13. 1997

HAWSER, S. P.; CARPENTER, G. A.; CAPONE, D. G. **A neurotoxic factor associated with the bloom-forming cyanobacterium Trichodesmium**, *Toxicon*, 29. 1991.277-278.

JANSSENS, J. G. e BUEKENS, A.. **“Assessment of process selection for particle removal in surfasse water treatment.”** *Journal Water SRT – Aqua*, 42(5) .1993.p. 279-288.

JOCHIMSEN, E. M.; CARMICHAEL, W. W.; AN, J. S.; CARDO, D. M.; COOKSON, S. T.; HOLMES, C. E.; ANTUNES, M. B.; MELO FILHO, D. A.; LYRA, T. M.; BARRETO, V. S., AZEVEDO, S. M.; JARVIS, W. R. **Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil**. *The New England Journal of Medicine*, v.338. 1998.p.873-878.

KURIAMA, F.. **Avaliação do potencial de biodegradação de microcistinas e biocontrole de cianobactérias por microrganismos em águas**. 2012. 97p. Dissertação de mestrado. (Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Edificações e Saneamento do Centro de Tecnologia e Urbanismo). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

KURODA, E. K. **Remoção de células e subprodutos de Microcystis spp. por dupla filtração, oxidação e adsorção**. 2006. 276 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

LAGOS, N. ONODERA, H. ZAGATTO, P. A. ANDRINOLO, D. AZEVEDO, S. M. F. O. OSHIMA, Y. **The first evidence of Paralytic Shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* isolated from Brazil.** *Toxicon* 1999; 37:1359-73.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água**, Ed. 3, Campinas – SP, Editora Átomo, 2008. LIBÂNIO, 2010.

LUCA, S. J. PEGORER, M. G. LUCA, M. A. **Oxidação de microcistinas-LR em águas pelo íon ferrato (VI)**, *Revista Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 15, n. 1, p. 5 – 10, jan/mar 2010.

MAHMOOD, N.A.; CARMICHAEL, W.W., 1986. **Paralytic shellfish poisons produced by the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae* NH-5.** *Toxicon* 24 (2), 175-186.

MARGALEF, R. 1983. *Limnologia*. Editora Omega, Barcelona, 1100 p

MONDARDO, R. I. SENS, M. L. FILHO, L. C. M. **Pré-tratamento com cloro e ozônio para remoção de cianobactérias.** *Engenharia Sanitária e Ambiental*, Rio de Janeiro, v. 11, n 4 out/dez 2006.

OLIVEIRA, J. M. B.. **Remoção de *Cylindrospermopsis raciborskii* por Meio de Sedimentação e de Flotação: Avaliação em Escala de Bancada.** 2005. 122p. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, Publicação PTARH.DM-085/05, (Departamento de Engenharia Civil e Ambiental), Universidade de Brasília, Brasília, DF,

ONODERA H; SATAKE M; OSHIMA Y; YASUMOTO T; CARMICHAEL, W. W (1997b) **New saxitoxin analogues from the freshwater filamentous cyanobacterium *Lyngbya wollei*.** *Nat Toxins* 5: 146-151

PALMER, C. M. **Report on the algae in relation to water quality of Paranoá Lake, Brasilia: Relatório de consultoria.** Pan American Health Organization/WHO, Brasilia. 1969.

PEREZ, M. F. **Remoção de fitoplâncton e microcistina de águas de abastecimento, pela associação das técnicas de flotação por ar dissolvido e oxidação química com cloro e permanganato de potássio.** 2008. 259 p. Tese de doutorado do Programa de Pós-Graduação (Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, SP.

RAI, H. (1980). **Some problems in determination of photosynthetic planktonic pigments and their decomposition products.** *Arch. Hydrobiol. Beach. Stuttgart.* v. 14. p.3-13.

REBOUÇAS, A. C. BRAGA, B. TUNDISI, J. G. **Águas Doces no Brasil Capital Ecológico, Uso e Conservação**, 3ª Edição, São Paulo: Editora Escrituras, 2006.

RICHTER, C. A. **Água: Métodos e tecnologias de tratamento**, São Paulo: Editora Blucher, 2009. SANT'ANNA et al., 2006

SANT'ANNA, C. L. AZEVEDO, M. T. P. AGUJARO, L. F. CARVALHO, M. C. CARVALHO, L. R. SOUZA, R. C. R. **Manual ilustrado para identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras**. São Paulo: Editora Independência Ltda, 2006.

SANTIAGO, L. M. **Remoção de células de cianobactérias por processos de sedimentação e flotação por ar dissolvido: avaliação em escala de bancada**. 2008. 125p. Dissertação de mestrado. (Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

SIVONEN, K; HIMBERG, K; LUUKKAINEN, R; NIEMELA, S. I; POON, G.K.; CODD, G. A **Preliminary characterization of neurotoxic cyanobacteria blooms and strains from Finland**. Toxicity Assessment 4: 339-352.1989.

SIVONEN, K. e JONES, G. – **Cyanobacterial toxins, in Toxic Cyanobacteria in Water. A guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management**, editado por Ingrid Chorus e Jamie BBartram, London, Editora: E & FN SPON, 1999.

SPOOF, L.; VESTERKVIST, P.; LINDHOLM, T.; MERILUOTO, J.. **Screening for cyanobacterial hepatotoxins, microcystins and nodularin in environmental water samples by reversed-phase liquid-chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry**. J. Chromatogr. A 1020. 2003. p.105–119.

STEWART, W. D. P. **Nitrogen fixation**. Botanical Monographs, Washington, v.9, p. 260-278,1973.

TSUTSUMI, T.; NAGATA, S.; YOSHIBA, F.; YUENO, Y., 1998. **Anti idiotypic monoclonal antibodies against anti-microcystin antibody and the use in enzyme immunoassay**. Toxicon,36: 235-245.

UTERMÖHL *apud* Norma Técnica Cetesb L5.303/2005. **Fitoplâncton de água doce: métodos qualitativo e quantitativo: Método de Ensaio**. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo.1958.

WHITTON, B.A.; POTTS, M. **The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space**. Dordrecht, Kluwer, 2000.

WILMOTTE, A. & GOLUBIC, S. **Morphological and genetic criteria in the taxonomy of Cyanophyta / Cyanobacteria**, Algological Studies (Stuttgart), v. 64, p. 1-24, 1991.

ZABEL, T. F. **The advantages of dissolved air flotation for water treatment**. Journal of the American Water Works Association 1985; 77(5):42-6.