



UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ENGENHARIA CIVIL
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

JOANA RUPPRECHT ZABLONSKY

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS E
CIANOTOXINAS DE AMBIENTES EUTROFIZADOS POR
COAGULAÇÃO E MEMBRANAS FILTRANTES**

DISSERTAÇÃO

CURITIBA

2012

JOANA RUPPRECHT ZABLONSKY

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE CIANOBACTÉRIAS E
CIANOTOXINAS DE AMBIENTES EUTROFIZADOS POR
COAGULAÇÃO E MEMBRANAS FILTRANTES**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Civil, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Área de Concentração: Meio Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Thomaz Aurélio Pagioro.

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Fátima de Jesus Bassetti.

CURITIBA

2012

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela presença constante em minha vida.

Ao professor Dr. Thomaz Aurélio Pagioro pela orientação e dedicação em todos os momentos.

À professora Dr^a. Fátima de Jesus Bassetti pela co-orientação, incentivo e apoio.

Aos meus pais João Almir e Adriana pelo amor, incentivo e força que sempre me deram.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná e ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil, pela formação acadêmica e infra-estrutura fornecida para o trabalho.

Ao namorado Caio pelo amor, companheirismo e compreensão.

Aos meus irmãos Adriano e Mariana pela paciência e apoio.

Ao meu amigo Augusto Lima da Silveira que acompanhou todo o meu trabalho dividindo dúvidas e conhecimentos. A sua dedicação e apoio foram fundamentais.

À professora Dr^a. Marlene Soares pela disposição no esclarecimento de dúvidas.

À professora Dr^a. Lúcia Regina Costa Martins pela ajuda com seus conhecimentos em cromatografia e a sua dedicação.

À professora Dr^a. Rosângela Bergamasco da Universidade Estadual de Maringá por fornecer as sementes de *Moringa oleifera* utilizadas no trabalho.

À CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior, pela concessão da bolsa.

Ao CNPQ e Fundação Araucária pelo apoio financeiro.

Aos meus amigos Amanda, Franczy, Andréia, Rafael, Handrey e Gabriel pela compreensão da minha ausência em alguns momentos de diversão.

Aos meus colegas de laboratório de microbiologia Bruna, Rejane, Luis, Morgana, Carol, Anna Lou, Joicy e Diogo pela companhia e pela ajuda.

Aos meus amigos do laboratório da pesquisa Renan, Fernanda, Bruno, Geancarlo, Tâmara, Thalita pela companhia.

Ao professor Dr. Armando Augusto Henriques Vieira da Universidade Federal de São Carlos por ceder à cepa da *Microcystis aeruginosa* BB005 utilizada no trabalho.

A todos que direta ou indiretamente me apoiaram e ajudaram nesta jornada, o meu muito obrigada.

**“Não é no silêncio que os homens
se fazem, mas na palavra,
no trabalho, na ação-reflexão.”**

(Paulo Freire)

RESUMO

ZABLONSKY, Joana Rupprecht. **Avaliação da remoção de cianobactérias e cianotoxinas de ambientes eutrofizados por coagulação e membranas filtrantes**. 2012. p. 110. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, Paraná, 2012.

A eutrofização atinge diversos reservatórios de abastecimento de água, causando problemas principalmente da ordem operacional e comprometimento da qualidade da água para a população. Algumas tecnologias de tratamento de água passam por um processo de aperfeiçoamento e outras surgem para melhorar a eficiência do tratamento. Este trabalho teve por objetivo avaliar a remoção de cianobactérias e cianotoxinas por meio de coagulação com *Moringa oleifera*, seguida de microfiltração e nanofiltração. Sendo assim a primeira etapa do trabalho foi o cultivo em laboratório da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* e a determinação de curvas de crescimento deste microrganismo. Na seqüência foram realizados ensaios para verificar as melhores condições de coagulação/floculação/sedimentação com a solução coagulante de *M. oleifera* (1%), como respostas foram utilizadas a remoção de células da *M. aeruginosa* e a redução da turbidez. Foram avaliadas as seguintes variáveis: tempo de coagulação; velocidade rápida, tempo de floculação, velocidade lenta, tempo de sedimentação, turbidez inicial, quantidade de solução coagulante. Em seguida o processo de coagulação/floculação/sedimentação foi associado à microfiltração, nesta etapa foi realizada com água do cultivo e água da Represa do Passaúna –PR contaminada com o cultivo da *M. aeruginosa*. Por fim, devido à *M. aeruginosa* cultivada ser tóxica e produtora de microcistina avaliou-se a coagulação/floculação/sedimentação associada à nanofiltração. Os resultados indicam que as melhores condições de coagulação e floculação foram com 2 minutos de coagulação a 80 rpm, e 18 minutos para floculação a 13 rpm tendo uma remoção de células de 95,6 % e uma redução da turbidez de 97,5%. Verificou-se que 60 minutos de sedimentação já foi suficiente para remoções acima de 90% da cianobactéria, e 95% de redução da turbidez. Com relação à quantidade de solução coagulante observou-se um aumento na eficiência dos processos com o aumento da quantidade da solução coagulante, porém em 70 mg essa remoção já não tem grandes variações. A associação da coagulação/floculação/sedimentação com a microfiltração foi positiva, pois após 60 minutos a turbidez chegou a 0 uT e a ausência de células de *M. aeruginosa*. A retenção da microcistina com a nanofiltração apresentou uma retenção de 87,3% no início, porém com o decorrer do tempo este valor apresentou uma queda para 58,0%. Em resumo, pode-se considerar a associação da o uso da *M. oleifera* como coagulante com a microfiltração como uma boa alternativa para redução de turbidez e remoção de cianobactérias, assim como o uso da nanofiltração para remoção de microcistina.

Palavras-chave: Cianobactérias. Microfiltração. Microcistina. *Moringa oleifera*. Nanofiltração.

ABSTRACT

ZABLONSKY, Joana Rupprecht. **Evaluation of the removal cyanobacterial and cyanotoxins of eutrophic environments by coagulation and filtration membranes.** 2012. p. 111. Dissertation (Master's degree in Civil Engineering) - Post-Graduate Program in Civil Engineering, Federal University of Technology - Paraná. Curitiba, 2012.

The eutrophication affects many reservoirs of water, causing problems, specially the commitment of operational and water quality for the population. Some water treatment technologies go through a process of improvement and others appear to improve treatment efficiency. This work aimed to evaluate the removal of cyanobacterial and cyanotoxins through coagulation with *Moringa oleifera*, followed by microfiltration and nanofiltration. Thus the first stage of work was growing in the laboratory of the cyanobacterial *Microcystis aeruginosa* and determination of growth curves of this microorganism. Following tests were conducted to verify the optimal conditions for coagulation/flocculation/sedimentation with coagulant solution of *M. oleifera* (1%) were used in response to removal of cells from *M. aeruginosa* and reduced turbidity. The following variables were evaluated: coagulation time, fast speed, time of flocculation, slow speed, time of sedimentation, turbidity initial amount of the coagulant solution. Then the process of coagulation/flocculation/ sedimentation was associated with microfiltration this step was carried out with water end crop water of Passaúna –PR contaminated with the cultivation of *M. aeruginosa*. Finally, due to *M. aeruginosa* grown to be toxic microcystin producing and evaluate produce the coagulation/flocculation/sedimentation associated with nanofiltration. The results indicate that optimum conditions for coagulation and flocculation were clotting with 2 minutes at 80 rpm, and 18 minutes for flocculation at 13 rpm with a removal of cells and a 95,6% reduction in turbidity of 97,5%. It was found that 60 minutes was enough sediment removal for over 90% of the cyanobacterial, and 95% reduction in turbidity. With respect to the amount of coagulant solution was observed an increase in process efficiency by increasing the amount of coagulant solution, but at 70 mg such removal no longer has large variations. The association of coagulation /flocculation/sedimentation with microfiltration was positive, because after 60 minutes reached the turbidity 0 uT and the absence of cells of *M. aeruginosa*. The retention of microcystin with nanofiltration showed a retention of 87,3% at the beginning, but with the passage of time this value showed a decrease to 58,0%. In summary, one can consider adding the use of *M. oleifera* as a coagulant with microfiltration as a good alternative to reduce turbidity and removal of cyanobacterial, as well as the use of nanofiltration removal of microcystin.

Key-words: Cyanobacterial. Microfiltration. Microcystins. *Moringa oleifera*. Nanofiltration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fotografias das florações de cianobactérias: (a) Represa de Guarapiranga – São Paulo SP; (b) Reservatório do Iraí – Curitiba PR (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010).....	26
Figura 2 – Fotografia das colônias de <i>Microcystis aeruginosa</i> (CHORUS; BARTRAM, 1999).....	29
Figura 3 – Estrutura geral das microcistinas (CHORUS; BARTRAM, 1999).....	30
Figura 4 – Fluxograma típico da tecnologia de tratamento convencional (adaptado de LIBÂNIO, 2010. p.148).....	34
Figura 5 – Fotografia da <i>Moringa oleifera</i> : (a) flor, (b) semente (http://www.granjaparaíso.com.br).....	37
Figura 6 – Fotografias do preparo da solução coagulante de <i>Moringa oleifera</i> : (a) sementes da <i>M. oleifera</i> utilizadas; (b) filtração a vácuo da solução coagulante.....	47
Figura 7 – Fluxograma de desenvolvimento da pesquisa proposta.....	49
Figura 8 - Esquema de inoculação da cianobactéria <i>Microcystis aeruginosa</i>	51
Figura 9 – Fotografia do cultivo em erlenmeyers para curva de crescimento: (a) dia da inoculação, (b) 30 dias de cultivo de <i>M. aeruginosa</i>	52
Figura 10 – Fotografia do equipamento <i>Jar Test</i> com 200 mL das amostras de água contaminada por <i>M. aeruginosa</i>	54
Figura 11 - Célula de filtração utilizada nos ensaios (adaptado de BASSETTI, 2002).	58
Figura 12 – Fotografia da câmara de Neubauer.....	63
Figura 13 – Fotografia do cultivo da <i>M. aeruginosa</i> : (a) Cultivo em laboratório (temperatura ambiente (20-26°C); foto período claro escuro (12-12 h); luz: 215 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$); (b) Células do cultivo da <i>M. aeruginosa</i> (aumento de 1000x).....	66
Figura 14 - Curvas de crescimento da <i>Microcystis aeruginosa</i> sem aeração. Curva 1: 100 mL de meio de cultivo ASM-1 e 0,1 mL de inóculo (sem aeração); curva 2: 250 mL de meio de cultivo ASM-1 e 0,1 mL de inóculo (com aeração); curva 3: 250 mL de meio de cultivo ASM-1 e 10 mL de inóculo (com aeração). Temperatura ambiente (20-26°C); foto período claro escuro (12-12 h); luz: 215 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	67
Figura 15 - Rendimento máximo (cél.mL ⁻¹)de cada curva de crescimento. Temperatura ambiente (20-26°C); foto período claro escuro (12-12 h); luz: 215 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$	69
Figura 16 - Remoção das células <i>M. aeruginosa</i> em cada ensaio do planejamento fatorial da coagulação/floculação com <i>M. oleifera</i> (60 mg) tempo de sedimentação de 90 minutos, para os tempos de mistura rápida 2, 3 e 4 minutos, velocidade da mistura rápida 80, 95 e 110 rpm, tempo da mistura lenta 12, 15 e 18 minutos e velocidade de mistura lenta 7, 10 e 13 rpm. Turbidez inicial da água 250 uT.....	71
Figura 17 – Efeito das variáveis sobre a remoção de células de <i>M. aeruginosa</i> . Coagulação: Tmr: tempo de mistura rápida; Vmr: velocidade de mistura rápida; Floculação: Tml: tempo de mistura lenta; Vml: velocidade de mistura lenta.....	72

Figura 18 – Superfície de resposta (remoção da cianobactéria <i>M. aeruginosa</i>) em função dos tempos de mistura lenta 12 e 18 minutos e velocidade de mistura lenta 7 e 13 rpm.....	73
Figura 19 – Redução da turbidez cada ensaio do planejamento fatorial da coagulação/floculação com <i>M. oleifera</i> (60 mg) tempo de sedimentação de 90 minutos, para os tempos de mistura rápida 2, 3 e 4 minutos, velocidade da mistura rápida 80, 95 e 110 rpm, tempo da mistura lenta 12, 15 e 18 minutos e velocidade de mistura lenta 7, 10 e 13 rpm. Turbidez inicial da água 250 uT.....	73
Figura 20 – Efeito das variáveis sobre a redução da turbidez. Coagulação: Tmr: tempo de mistura rápida; Vmr: velocidade de mistura rápida; Floculação: Tml: tempo de mistura lenta; Vml: velocidade de mistura lenta.....	74
Figura 21 – Superfície de resposta (redução da turbidez) em função dos tempos de mistura rápida 2 e 4 minutos e velocidade de mistura lenta 7 e 13 rpm.....	75
Figura 22 – Variação na remoção de células de <i>M. aeruginosa</i> e redução da turbidez em função do tempo de sedimentação, com turbidez inicial de 250 uT. Coagulação: Tmr: 2 min; Vmr: 80 rpm. Floculação: Tml: 18 min; Vml: 13 rpm.....	76
Figura 23 – Remoção das células de <i>M. aeruginosa</i> e redução da turbidez em função da quantidade de <i>M. oleifera</i> . Condições: coagulação: Tmr: 2 min; Vmr: 80 rpm; floculação: Tml: 18 min; Vml: 13 rpm; turbidez inicial 250 uT; tempo de sedimentação 60 min.....	78
Figura 24 – Remoção das células de <i>M. aeruginosa</i> e redução da turbidez em função da turbidez inicial com a solução de <i>M. oleifera</i> (70 mg). Condições: coagulação: Tmr: 2 min; Vmr: 80 rpm; floculação: Tml: 18 min; Vml: 13 rpm; tempo de sedimentação 60 min.....	79
Figura 25 – Permeabilidade média à água da membrana de microfiltração com 1 h de água ultrapura a pressão de 1 bar, e 22 ° C.....	82
Figura 26 – Remoção de células de <i>M. aeruginosa</i> e a redução da turbidez em função do tempo de microfiltração, a pressão de 1 bar, turbidez inicial de 250 uT, 70 mg de <i>M. oleifera</i> , turbidez pós coagulação 21,3 uT – água do cultivo da <i>M. aeruginosa</i>	83
Figura 27 – Fluxo antes, durante e após a passagem da água pós coagulação (água do cultivo da <i>M. aeruginosa</i>) pela membrana de microfiltração: (a) ensaio 1; (b) ensaio 2; (c) ensaio 3; (d) fluxo médio da amostra de água pós coagulação nas 3 h de filtração a pressão de 1 bar; temperatura média 24 °C.....	84
Figura 28 – Remoção de células de <i>M. aeruginosa</i> e a redução da turbidez em função da quantidade de <i>M. oleifera</i> - água do Passaúna. Condições: coagulação: Tmr: 2 min; Vmr: 80 rpm; floculação: Tml: 18 min; Vml: 13 rpm; turbidez inicial 250 uT; tempo de sedimentação 60 min.....	85
Figura 29 – Remoção de células de <i>M. aeruginosa</i> e a redução da turbidez em função do tempo (min) de microfiltração a pressão de 1 bar, turbidez inicial de 250 uT, 130 mg de <i>M. oleifera</i> , turbidez pós coagulação 23,8 uT – água do Passaúna contaminada com o cultivo de <i>M. aeruginosa</i>	86
Figura 30 – Fluxo antes, durante e após a passagem da água pós coagulação (água do Passaúna) pela membrana de microfiltração: (a) ensaio 1; (b) ensaio 2; (c) ensaio 3; (d) fluxo médio da amostra pós coagulação nos três ensaios fluxo 3 h de filtração; a pressão de 1 bar, temperatura média 25°C.....	87

Figura 31 – Concentração de microcistina ($\mu\text{g.L}^{-1}$) no decorrer dos tratamentos aplicados coagulação: Tmr: 2 min; Vmr: 80 rpm; floculação: Tml: 18 min; Vml: 13 rpm; tempo de sedimentação 60 min. Nanofiltração (N-270) por 3h, a pressão de 5 bar, temperatura média de 24 ° C.....	90
Figura 32 – Remoção (%) de microcistina no decorrer das 3 h da nanofiltração com a membrana N-270, a pressão de 5 bar.....	91
Figura 33 – Fluxo permeado nos ensaios de remoção da microcistina com a membrana de nanofiltração N-270: (a) ensaio 1; (b) ensaio 2; (c) ensaio 3; (d) fluxo médio da amostra nos três ensaios, a pressão de 5 bar, a temperatura média de 24 °C.....	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos recentes sobre a presença de cianobactérias no Brasil.....	26
Tabela 2 – Principais grupos de cianotoxinas.....	27
Tabela 3 – Composição do meio de cultivo de cianobactéria ASM-1 (GORHAM et al., 1964).....	50
Tabela 4 – Preparo de 1.000 mL de meio de cultivo de cianobactérias ASM-1 (GORHAM et al., 1964).....	50
Tabela 5 – Desenho experimental do planejamento fatorial do tipo 2 ⁴ para otimização da coagulação e floculação com semente de <i>Moringa oleifera</i>	55
Tabela 6 – Detalhamento de cada ensaios realizado do planejamento fatorial..	55
Tabela 7 – Condições de coagulação/floculação/sedimentação antes da microfiltração.....	59
Tabela 8 – Condições das curvas de crescimento da <i>M. aeruginosa</i> determinadas.....	67
Tabela 9 - Taxa de crescimento médio e tempo de duplicação na fase exponencial para as curva de crescimento 1, 2 e 3 da <i>Microcystis aeruginosa</i> (BB005).....	69
Tabela 10 – Valores de <i>p</i> para as respostas avaliadas em função do tempo de sedimentação, concentração de <i>M. oleifera</i> e a turbidez inicial.....	80
Tabela 11 – Valores de qui-quadrado (X ²) para estatística de <i>Kruskal-Wallis</i>	80
Tabela 12 – Valores de <i>p</i> para as respostas avaliadas em função do tempo de filtração coma membrana de microfiltração.....	88
Tabela 13 – Valores de qui-quadrado (X ²) para estatística de <i>Kruskal-Wallis</i>	89

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ADDA	Ácido-3-amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10 fenildeca-4,6-dienóico.
Atm	Atmosfera
Bar	Bar
°C	Grau Celsius
CaCl ₂	Cloreto de cálcio
cél.mL ⁻¹	Células por mL
CoCl ₂	Cloreto de cobalto II
CuCl ₂	Cloreto de cobre II
Da	Dalton
dc-STX	Decarbamoil-saxitoxina
DI	Diálise
D-MeAsp	Ácido D-eritro-β-metilaspártico
DMF	N´N´Dimetilformamida
ED	Eletrodiálise
ETA	Estação de Tratamento de Água
EDTA Na ₂	Ácido etilenodiamino tetra-acético dissódico
FAD	Flotação por Ar Dissolvido
FeCl ₂	Cloreto de Ferro II
G	Gramma
g.L ⁻¹	Gramas por litro
g.mol ⁻¹	Gramas por mol
GTX	Goniautoxinas
G.dia ⁻¹	Taxa de duplicação
h	Hora
H ₃ BO ₃	Ácido Bórico
HNO ₃	Ácido Nítrico
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
kDa	Kilodalton
kg	Kilograma
kg.m ⁻² .h ⁻¹	Kilograma por metro quadrado por hora
KH ₂ PO ₄	Fosfato de Potássio Dibásico

L	Litro
M11	Membrana de microfiltração
m	Metro
m ²	Metro Quadrado
Mdha	N-metil-deidroalanina
MF	Microfiltração
mg	Miligrama
min	Minuto
mm	Milímetro
mm ³	Milímetro cúbico
MMPB	Ácido 3-metoxi-2-metil-4-fenil butírico
mL	Mililitro
mg.L ⁻¹	Miligrama por litro
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
MgSO ₄ .	Sulfato de magnésio
MnCl ₂	Cloreto de manganês
n ^o	Número
N270	Membrana de nanofiltração
Na ₂ HPO ₄	Fosfato de sódio dibásico
NaNO ₃	Nitrato de sódio
NaOCl	Hipoclorito de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
Neo-STX	Neosaxitoxina
NF	Nanofiltração
ng	Nanograma
nm	Nanômetro
PES	Polietersulfona
pH	Potencial Hidrogeniônico
PG	Permeação de gases
ppb	Partes por Bilhão
ppm	Partes por Milhão
PV	Pervaporação
OR	Osmose reversa

rpm	Rotações por minuto
SUS	Sistema Único de Saúde
STX	Saxitoxina
T_{ml}	Tempo de mistura lenta
T_{mr}	Tempo de mistura rápida
UF	Ultrafiltração
uT	Unidades de Turbidez
V_{ml}	Velocidade de mistura lenta
V_{mr}	Velocidade de mistura rápida
$ZnCl_2$	Cloreto de Zinco
μm	Micrômetros
$\mu g.L^{-1}$	Micrograma por litro
$\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$	Micromols por metro quadrado por segundo
$\mu.dia^{-1}$	Micro por dia
μL	Micrôlitros

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
1.1 OBJETIVO.....	18
1.1.1 Objetivo Geral.....	18
1.1.2 Objetivos específicos.....	18
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 ÁGUA.....	19
2.1.1 Padrões de Potabilidade.....	20
2.1.1.1 Portaria nº 518/2004 e nº 2.914/2011.....	21
2.1.2 Resoluções: CONAMA nº 357/2005 e nº 430/2011.....	22
2.1.3 Poluição dos Mananciais.....	23
2.2 CIANOBACTÉRIAS.....	24
2.2.1 <i>Microcystis aeruginosa</i>	27
2.3 CIANOTOXINAS.....	28
2.3.1 Microcistinas.....	30
2.3.2 Análise de microcistinas.....	31
2.4 TECNOLOGIAS DE TRATAMENTO DE ÁGUA PARA ABASTECIMENTO..	32
2.4.1 Coagulação/floculação.....	35
2.4.1.1 Coagulantes Naturais.....	36
2.4.1.2 Remoção de cianobactérias por coagulação/floculação.....	38
2.4.2 Sedimentação.....	39
2.4.3 Processos de separação por membranas.....	40
2.4.3.1 Microfiltração.....	42
2.4.3.2 Nanofiltração.....	43
2.4.3.3 Aplicação dos processos de separação por membranas para o tratamento de água para consumo humano.....	43
3. METODOLOGIA.....	46
3.1 MATERIAIS UTILIZADOS.....	46
3.1.1 Cultivo da <i>M. aeruginosa</i>	46
3.1.2 <i>Moringa oleifera</i>	46
3.1.3 Membranas de microfiltração e nanofiltração.....	47
3.1.4 Água da Represa do Passaúna.....	48

3.2 DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL.....	48
3.2.1 ESTUDO DO CULTIVO DA <i>M. aeruginosa</i>	49
3.2.1.1 Curvas de crescimento da <i>M. aeruginosa</i>	51
3.2.1.2 Determinação das taxas de crescimento, tempo de duplicação e rendimento celular máximo.....	52
3.2.2 ESTUDO DA REMOÇÃO DA <i>M. aeruginosa</i> POR MEIO DA COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO COM <i>M. oleifera</i>	53
3.2.2.1 Otimização das condições de mistura rápida e lenta	54
3.2.2.2 Avaliação da influência do tempo de decantação.....	56
3.2.2.3 Avaliação da melhor dosagem do coagulante.....	56
3.2.3 ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DA COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO COM A MICROFILTRAÇÃO PARA REMOÇÃO DA <i>M. aeruginosa</i>	57
3.2.3.1 Permeabilidade à água da membrana de microfiltração.....	57
3.2.3.2 Coagulação/floculação com <i>M. oleifera</i> seguida de microfiltração – água do cultivo.....	58
3.2.3.3 Coagulação/floculação com <i>M. oleifera</i> seguida de microfiltração – água da Represa do Passaúna.....	59
3.2.4 ESTUDO DA REMOÇÃO DA MICROCISTINA POR NANOFILTRAÇÃO	60
3.3 MÉTODOS ANALÍTICOS.....	61
3.3.1 Contagem de células de cianobactérias.....	62
3.3.2 Análise das cianotoxinas.....	62
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	62
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
4.1 ESTUDO DO CULTIVO DA <i>M. aeruginosa</i>	65
4.1.1 Curvas de crescimento da <i>M. aeruginosa</i>	66
4.1.2 Crescimento da <i>M. aeruginosa</i> no período exponencial de cada curva.	68
4.2 ESTUDO DA REMOÇÃO DA <i>M. aeruginosa</i> POR MEIO DA COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO COM <i>M. oleifera</i>	70
4.2.1 Otimização das condições de mistura rápida e lenta.....	71
4.2.2. Avaliação da influência do tempo de sedimentação.....	76
4.2.3 Avaliação da melhor dosagem do coagulante.....	77
4.2.4 Avaliação da turbidez inicial.....	79
4.3 ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DA COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO COM A	

MICROFILTRAÇÃO PARA REMOÇÃO DA <i>M. aeruginosa</i>	81
4.3.1 Permeabilidade à água da membrana de microfiltração.....	81
4.3.2 Coagulação/floculação com <i>M. oleifera</i> seguida de microfiltração – água do cultivo.....	82
4.3.3 Coagulação/floculação com <i>M. oleifera</i> seguida de microfiltração – água da Represa do Passaúna.....	85
4.4 ESTUDO DA REMOÇÃO DA MICROCISTINA POR NANOFILTRAÇÃO...	89
5. CONCLUSÕES.....	95
REFERÊNCIAS.....	98
APÊNDICE - A - CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DA MICROCISTINA.....	110

1. INTRODUÇÃO

Não há dúvidas de que a água é um recurso de primeira necessidade (RODRIGUES, 2010). Contudo o uso intenso sem os devidos cuidados, coloca em risco a disponibilidade deste precioso recurso e gera problemas em muitas regiões e países.

Em 2007, a Organização das Nações Unidas declarou que cerca de 1,1 bilhões de pessoas em todo mundo não tinham acesso à água potável e estima-se que 2 milhões de crianças morrem todos os anos pela falta dela ou de saneamento básico (ONU, 2008).

Parece controverso pensar que dois terço do planeta é coberto por água, e a população mundial enfrenta problemas de escassez deste recurso, porém quase toda água encontra-se sob a forma de gelo ou água salgada, sem contar que a água potável não é distribuída igualmente em todo Planeta. Para complicar ainda mais a situação, a poluição das águas disponíveis para consumo é visível e preocupante (RICARDO, CAMPANILI, 2007).

A crescente urbanização e o desenvolvimento da agricultura são as principais causas da poluição das águas da Terra. Este problema é mais agravante quando se trata de água para abastecimento público, pois esta para o consumo humano no caso do Brasil, deve obedecer aos padrões de potabilidade estabelecidos pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2004).

O aumento na quantidade de nutrientes disponíveis nos reservatórios aumenta cada dia, principalmente por ações antrópicas, como despejo de esgoto tanto doméstico como industrial e a drenagem pluvial (DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010). Este aumento causa um problema conhecido como eutrofização, que é a passagem de um determinado ambiente aquático do estado oligotrófico, ou seja, baixa produtividade para mesotrófico (média produtividade) ou eutrófico (alta produtividade) (ESTEVES, 1998 *apud* DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010). O enriquecimento com nutrientes destes lagos propicia a proliferação de cianobactérias produtoras de cianotoxinas que alteram a qualidade da água produzindo odor e sabor a esta (CHEN; CHI, 2003). Este processo de eutrofização tem ocorrido em diversos ambientes aquáticos de todo Planeta nos últimos anos (BRASIL, 2003).

No Brasil alguns casos de morte por intoxicação já foram detectados, por isto o Ministério da Saúde através da Portaria nº 518/2004 determinou que sempre que o número de cianobactérias na água do manancial no ponto de captação, exceder 20.000 células/mL durante o monitoramento, será exigida a análise semanal de cianotoxinas na água na saída do tratamento e nas entradas (hidrômetros) das clínicas de hemodiálise e indústrias de injetáveis (BRASIL, 2004). Estas recomendações foram mantidas na Portaria nº 2.914/2011 do Ministério da Saúde.

Pesquisas para remoção de cianobactérias e suas toxinas têm sido desenvolvidas, principalmente visando manter o padrão de potabilidade da água. Os atuais sistemas de tratamento de água para abastecimento que geralmente envolvem coagulação, floculação, sedimentação e filtração tem demonstrado certa eficiência na remoção destes microrganismos. Porém, a busca por melhorias deve ser considerada (CORAL, 2009).

Assim, o aperfeiçoamento de alguns tratamentos já utilizados deve ser considerado, dentro deste contexto, hoje as pesquisas com coagulantes naturais tem tido avanços significativos, por estes apresentarem vantagens econômicas e ambientais. Em comparação com o sulfato de alumínio utilizado hoje que deixa resíduos químicos que pode causar mal de Alzheimer a população, o uso da *Moringa oleifera* como coagulante demonstra-se proveitoso (BONGIOVANI et al., 2010).

A *Moringa oleifera* é uma árvore nativa da Índia, e encontrada em diversos estados do nordeste brasileiro. Esta planta pode ser utilizada para diversos fins além da clarificação das águas, por exemplo, na alimentação. A propriedade coagulante das sementes da moringa está associada à presença de proteínas, em especial leucina, encontrada em grande quantidade nas sementes (BORBA, 2001; CARDOSO, 2007; NISHI et al., 2011).

Os processos de separação por membranas são uma tecnologia ainda recente no Brasil, mas muito utilizada fora do país. Esta tecnologia vem sendo utilizada para retenção de cianobactérias e suas toxinas e tem apresentado resultados satisfatórios para este fim (CORAL, 2009; LEE, WALKER, 2008; TEIXEIRA, ROSA, 2006; TEIXEIRA, ROSA, 2005).

Nesse sentido destaca-se a importância dos estudos de remoção de cianobactérias das águas contaminadas visando à proteção dos ambientes aquáticos e a saúde da população.

1.1 OBJETIVO

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a eficiência da remoção das células da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* (Kützing) e da microcistina por meio da coagulação/floculação/sedimentação com sementes de *Moringa oleifera* Lam associada à microfiltração e a nanofiltração.

1.1.2 Objetivos específicos

Em análise mais detalhada, os objetivos específicos são:

- Avaliar o crescimento dos cultivos da *M. aeruginosa*;
- Verificar as melhores condições de tempo e velocidade de mistura rápida (coagulação), tempo e velocidade da mistura lenta (floculação), tempo de sedimentação, turbidez inicial da água assim como a quantidade de *M. oleifera*, para remoção da cianobactéria *M. aeruginosa* e redução da turbidez;
- Avaliar o fluxo permeado para as membranas planas de microfiltração e a de nanofiltração (N270) selecionada através de estudos de permeabilidade à água;
- Analisar a eficiência na remoção da *M. aeruginosa* na associação dos processos de coagulação/floculação/sedimentação e microfiltração a pressão de 1 bar;
- Avaliar a remoção da microcistina por meio da coagulação/floculação/sedimentação associado à nanofiltração a pressão de 5 bar.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ÁGUA

Hoje a preocupação com a água está relacionada com a escassez em algumas regiões do Planeta, porém em outras onde a disponibilidade é maior o problema é a qualidade. O mau uso e uma gestão inadequada deste recurso comprometem a qualidade, principalmente para o abastecimento da população. Vale lembrar também que diversas doenças têm sua origem na água contaminada e representam mais da metade das internações hospitalares na rede pública de saúde, (RICARDO; CAMPANILI, 2007).

O Brasil detém 8% da água doce superficial do Planeta, porém não está distribuída de forma regular, onde há maior disponibilidade não coincide onde se encontra a maior população do país (MORAES; JORDÃO, 2002). De acordo com o Ministério das Cidades através do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento, em 2008, 94,7% da população brasileira foi atendida com água, e cerca de 2 bilhões de reais foram investidos nesse setor. Porém outra informação preocupante é o índice de esgoto tratado, que foi de apenas 34,6% em 2008, de acordo com a mesma fonte.

A distribuição relativa do consumo de água no Brasil, refere-se às principais atividades desenvolvidas tais como: indústria, população rural, população urbana, animal e irrigação. Observa-se a supremacia do uso da água para irrigação com 46%, resultado das atividades agrícolas (DI BERNARDO; SAGOBAL-PAZ, 2008).

Durante séculos, os diferentes usos da água pelo homem aumentaram excessivamente, o que ocasionou uma degradação do meio ambiente. Pode-se considerar que a deterioração das fontes de água está relacionada com alguns fatores como o crescimento populacional, a diversificação das atividades agrícolas, o aumento da urbanização e a intensificação das atividades humanas nas bacias hidrográficas (MORAES; JORDÃO, 2002).

Devido à preocupação em relação à água para o abastecimento das pessoas, desenvolver pesquisas em tecnologias que visem à melhoria da qualidade da água é de suma importância.

2.1.1 Padrões de Potabilidade

No Brasil em 1977, através da Portaria nº 56/Bsb do Ministério da Saúde foi estabelecido o primeiro padrão de potabilidade definindo limites máximos de algumas características físicas, químicas e biológicas das águas para consumo humano. Algumas recomendações da Organização Mundial da Saúde viram em 1990, quando então surge a Portaria 36 que aumenta o número de parâmetros e torna-se mais restritiva (LIBÂNIO, 2010).

Em junho de 2003, foi instituída a Secretaria de Vigilância em Saúde dentro do Ministério da Saúde, o que culminou em uma nova portaria, a nº. 518 de março de 2004. Além dos padrões de potabilidade a Portaria n.º 518/2004 estabeleceu procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para o consumo humano (LIBÂNIO, 2010).

Os novos padrões de potabilidade indicam a preocupação com a presença de novos contaminantes orgânicos e inorgânicos, pois são surtos e eventos de contaminação proporcionam as revisões dos padrões de potabilidade da água para consumo. Dentro deste contexto verifica-se que estas revisões estão dentro de duas premissas básicas: maior número e valores máximos permissíveis mais restritivos para alguns parâmetros de controle, e aspectos relacionados à vigilância da qualidade de água para consumo humano (BRASIL, 2004).

Mortes confirmadas em Caruaru-PE por ingestão de água contaminada por cianobactérias e suas toxinas, e as confirmações científicas acerca dos efeitos danosos à saúde humana em razão da ingestão de água contendo cianotoxinas concorreram para que a Portaria nº 518/2004 do Ministério da Saúde, além de vedar o uso de algicidas, recomendasse o monitoramento mensal de cianobactérias na água bruta quando o número de células inferior a 20.000 células/mL e semanal se superior (LIBÂNIO, 2010).

Vale ressaltar que é vetado o uso de algicidas para o controle de crescimento de cianobactérias ou qualquer intervenção no manancial que provoque a lise das células desses microrganismos, quando a densidade das cianobactérias exceder 20.000 células/mL (ou 2 mm³/L de biovolume) (BRASIL, 2004).

2.1.1.1 Portarias nº 518/2004 e nº 2.914/2011

O processo de revisão da Portaria nº. 518/2004 do Ministério da Saúde iniciou em 2009, devido à necessidade de atualizações. Assim o Ministério da Saúde declarou aberto o processo de consulta pública da referente portaria no período de 5 a 30 de novembro de 2010.

No que tange a questão das cianobactérias e cianotoxinas diversos comentários e sugestões foram feitos, sendo que a principal justificativa e a falta de atualização das informações com a realidade atual. Os principais comentários foram referentes a inclusão de alguns grupos de cianotoxinas tais como: as saxitoxinas ((STX, neoSTX, dc-STX) e as goniautoxinas (GTX1,GTX6, dcGTX2 e dcGTX3) e das do grupo C (C1, C2, C3, C4). Outro comentário diz respeito às formas de identificação das cianobactérias com potencial tóxico, que não é clara na atual portaria. Por fim, o último comentário destaca a exclusão da análise de clorofila-a como um método de determinação de biomassa de cianobactérias, pois este é considerado um método indireto.

No período de 6 a 10 de dezembro de 2010 ocorreu o I Simpósio de Saúde Ambiental em Belém-PA. Neste, foi realizada uma Plenária de discussão da revisão da Portaria nº.518/2004. Pois, além de atualização de índices, é necessário enfrentar as realidades de crescimento na produção e consumo de substâncias químicas no país, de incertezas quanto aos danos conseqüentes do seu uso e de incapacidade de um controle satisfatório que garanta a saúde ambiental e humana.

No dia 12 de dezembro de 2011 foi publicada a nova Portaria nº. 2.914/2011 do Ministério da Saúde que dispõe sobre os procedimentos e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.

Esta nova portaria mantém o valor máximo permitido de microcistinas de 1,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e inclui a limite de 3,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para as saxitoxinas. A Portaria nº 2.014/2011 também estabelece um período máximo de 24 meses para que órgãos e entidades sujeitos a aplicação desta portaria promovam as adequações necessárias ao seu cumprimento, no que se refere ao monitoramento dos parâmetros gosto e odor, saxitoxina, cistos de *Giardia spp.* e oocistos de *Cryptosporidium spp.*

2.1. 2 Resoluções: CONAMA nº 357/2005 e nº 430/2011

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) criou em março de 2005, a Resolução nº 357, classificando as águas doces (classe I, II, III e IV), salobras e salinas do Brasil. Esta Resolução também estabelece valores máximos de parâmetros de qualidade para cada classe, e exige mais de setenta parâmetros de qualidade, sendo alguns quantificados somente em laboratórios bem especializados. A Resolução nº 357 representou um grande avanço em relação à Resolução nº 20 de 1986, pois incluiu alguns parâmetros como: *Escherichia coli*, concentração de clorofila-a, densidade de cianobactérias, cor verdadeira, entre outros.

Recentemente o CONAMA publicou a resolução nº 430 em maio de 2011, que dispõe sobre as condições, parâmetros, padrões e diretrizes para gestão de lançamento de efluentes em corpos de água receptores, altera e complementa a Resolução nº 357/2005 do mesmo órgão. A principal alteração que esta nova Resolução apresenta é em relação às condições e padrões de lançamento de efluentes. Por exemplo, inclui alguns parâmetros orgânicos como: benzeno (1,2 mg/L), tolueno (1,2 mg/L), xileno (1,0 mg/L), estireno (0,07 mg/L) e etilbenzeno (0,84 mg/L). Também apresenta novas definições, tais como (BRASIL, 2011):

- Capacidade suporte do corpo receptor: valor máximo de determinado poluente que o corpo hídrico pode receber, sem comprometer a qualidade da água e seus usos determinados pela classe de enquadramento;
- Concentração de efeito não observado (CENO): maior concentração do efluente que não causa efeito deletério estatisticamente não significativo na sobrevivência e reprodução dos organismos em um determinado tempo de exposição, nas condições de ensaio;

Por fim esta nova Resolução nº 430 dá um prazo de três anos aos empreendimentos e demais atividades poluidoras para se adequarem às novas condições e padrões novos ou mais rigorosos estabelecidos pela norma.

2.1.3 Poluição dos Mananciais

Poluição indica a ocorrência de alterações prejudiciais ao meio aquático e quando tais alterações colocam em risco a saúde dos elementos da biota ou do ser humano que dele faz uso, a poluição passa assim a denominar-se contaminação (LIBÂNIO, 2010).

O manancial é o componente de maior relevância no sistema de abastecimento de água, com influência direta na quantidade e qualidade da água a ser captada, tratada e distribuída (DI BERNARDO; SAGOBAL-PAZ, 2008). Estes sofrem com a poluição devido ao: despejo dos esgotos domésticos e industriais, esgotos pluviais agregados com resíduos sólidos urbanos e escoamento superficial que drenam áreas agrícolas tratadas com pesticidas ou outros compostos orgânicos (MORAES; JORDÃO, 2002).

A eutrofização é uma forma de poluição que vem afetando diversos lagos e reservatórios de água em várias regiões do mundo (AZEVEDO et al., 2002; CORAL, 2009; GIJSBERTSEN-ABRAHANSE et al., 2006). Pois devido ao aumento da quantidade de nutrientes o ambiente passa do estado oligotrófico para eutrófico devido ao aumento na produtividade, a principal consequência é o surgimento de cianobactérias que podem produzir toxinas. No Brasil, vários estados já apresentaram graves problemas com florações algas como São Paulo, Paraná, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Bahia, Distrito Federal, Pernambuco (ANDREOLI; CARNEIRO, 2005).

O processo de eutrofização da água gera várias consequências como: mortandade de peixes, problemas estéticos e recreacionais, toxicidade das algas, dentre outros. A excessiva presença de algas aumenta a dificuldade e os custos do tratamento de água, pois exige remoção das algas, da cor, do sabor dentre outros problemas que comprometem a qualidade da água para o abastecimento (VON SPERLING, 1996).

A toxicidade destas florações de cianobactérias pode apresentar uma variação temporal, desde intervalos curtos de tempo até diferenças sazonais e também espaciais, provavelmente decorrentes de alterações na proporção de cepas tóxicas e não tóxicas na população (BRASIL, 2004).

2.2 CIANOBACTÉRIAS

As cianobactérias ou cianofíceas, também conhecidas como algas azuis, são microrganismos procariontes aeróbicos fotoautotróficos, que necessitam apenas de água, dióxido de carbono, substâncias inorgânicas e luz para sua sobrevivência (BRASIL, 2003). A fotossíntese é sua principal forma de obtenção de energia para o metabolismo. (CHORUS; BARTRAM, 1999; MELO FILHO, 2006).

Estas podem ser encontradas em oceanos, tanto em regiões neríticas quanto pelágicas, ecossistemas de águas salobras como mangues e estuários, ambientes continentais, que sejam poluídos ou não, nos rios, lagos ou fontes termais (WHITTON; POTTS, 2000). Sendo capazes de suportar temperaturas acima de 50°C, já foram encontradas no alto de montanhas, regiões polares com temperaturas negativas e até mesmo em crateras vulcânicas (CHORUS; BARTRAM, 1999).

Elas possuem paredes delgadas e estão geralmente cobertas por substâncias mucilaginosas que às vezes formam filamentos (CHORUS, BARTRAM, 1999). Possuem clorofila-a e vários pigmentos acessórios, cujos principais são as ficobiliproteínas. O produto de reserva é a cianoficina, também ocorrendo lipídios (CALIJURI; ALVES; SANTOS, 2006).

Com relação a sua morfologia são encontradas nas formas unicelulares, coloniais e de filamentos multicelulares, podendo ser ou não ramificados e portadores de células especializadas (ESTEVES, 1998). Para regular a flutuação muitas espécies de cianobactérias possuem vesículas gasosas, que ajudam na capacidade de ajustar sua posição vertical na coluna de água (ESTEVES, 1998; MELO, 2006). O tamanho das células varia de 0,5 e 10,0 μm , até células grandes de 40 μm (CALIJURI; ALVES; SANTOS, 2006).

A capacidade de fixação do nitrogênio atmosférico, quando este se encontra escasso na água, permite que as cianobactérias se desenvolvam em ambientes pobres em nitrogênio, tornando-se assim, bastante presentes em mananciais de abastecimento de água (SÁ, 2002).

Segundo Chorus e Bartram (1999), muitas cianobactérias produzem quelantes (hidroxamatos) eficientes em sequestrar metais traço da água em baixíssimas concentrações, assim garantem o funcionamento normal das células.

Diferentemente da maioria das algas, muitas espécies de cianobactérias podem se acumular na superfície da água, formando escumas, frequentemente denominadas *blooms*, apresentando densidade de células extremamente elevada (CHORUS; BARTRAM, 1999). Resultado do aumento de nutrientes (fósforo e nitrogênio) nos ambientes, esses *blooms* ou florações têm sido observados em diversas regiões, temperada, tropical e sub-tropical. Condições ambientais resultantes do processo de eutrofização, tais como, baixa transparência da água, valores de pH (6 a 9), concentração de nutrientes e elevada temperatura da água favorecem algumas espécies de cianobactérias (SANT'ANNA et al., 2008).

Pesquisas dentro da história evolutiva das cianobactérias, estudos sobre a sua ecofisiologia, e recentes investigações da dinâmica do fitoplâncton em resposta as mudanças climáticas mundiais, sugerem que o crescimento de espécies de cianobactérias é provável em condições ambientais associadas ao aquecimento global.

No Paraná, o reservatório do Iraí, que compõe o Sistema de Abastecimento da Região Metropolitana de Curitiba sofre com florações desde o término do seu enchimento no início de 2001. Em um estudo desenvolvido pelo Projeto Iraí no período de 2002 a 2003 foram encontradas várias espécies de cianobactérias: *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis panniformis*, *Pseudanabaena mucicola* (FERNANDES et al., 2005).

A ocorrência de eutrofização em todo Brasil é evidente pela grande quantidade de pesquisas realizadas envolvendo espécies de cianobactérias principalmente as tóxicas. A Tabela 1 apresenta alguns trabalhos recentes que abordam a presença de cianobactérias em reservatórios, lagos e lagoas no Brasil.

Tabela 1 – Estudos recentes sobre a presença de cianobactérias no Brasil

Referência	Espécie	Local
MELO FILHO, 2006; CORAL, 2009	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	Lagoa do Petri – SC
OLIVEIRA, 2009	<i>Microcystis sp.</i>	Reservatório de Barra Bonita – SP
MINILLO et al., 2000	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Lagoa dos Patos –RS
ALMEIDA, 2007	<i>Microcystis panniformis</i>	Lagoa da Pampulha – MG
SÁ, 2006	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Lago Paranoá – DF
LAGOS, 2009	<i>Anabaena solitaria</i> , <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> e <i>Microcystis aeruginosa</i> .	Reservatório do Iraí – PR
OLIVEIRA, 2005	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	Lago Paranoá – DF

A Figura 1 mostra a situação da água de alguns ambientes aquáticos nos estados do Paraná e São Paulo com florações de cianobactérias neste caso em especial a *Microcystis aeruginosa*.

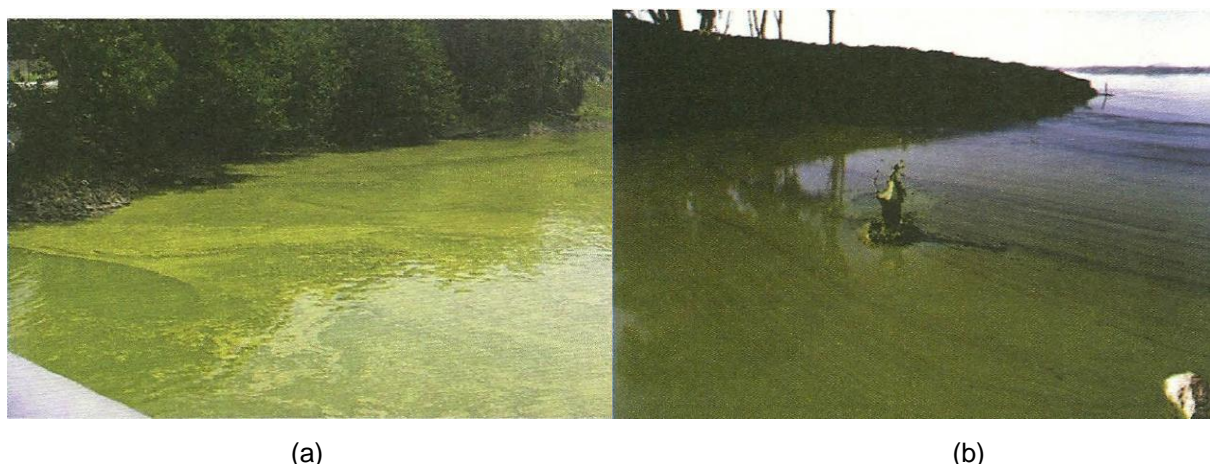


Figura 1 – Fotografias das florações de cianobactérias: Represa de Guarapiranga – São Paulo SP (a); Reservatório do Iraí – Curitiba PR (b)
Fonte: DI BERNARDO; MINILLO; DANTAS, 2010.

2.2.1 *Microcystis aeruginosa*

Florações de cianobactérias do gênero *Microcystis* têm sido relatadas em diversas regiões do mundo (ESTEVES, 1998; OUDRA et al., 2001; TEIXEIRA; ROSA, 2006; MOISANDER; OCHIAI; LINCOFF, 2009). Segundo o Instituto Ambiental do Paraná, os reservatórios de abastecimento de Curitiba e Região Metropolitana tem sofrido com florações de cianobactérias e principalmente da *Microcystis aeruginosa*, que afeta em muito a qualidade da água (PARANÁ, 2009).

A *Microcystis aeruginosa* que pertence à ordem *Choorococales* e a família *Microcystacea* é uma espécie colonial, tipicamente planctônica. Esta possui envelope mucilaginoso incolor envolvendo as células esféricas cuja distribuição é irregular dentro da colônia, quando cultivada em laboratório perde a característica colonial e cresce como células esféricas livres (BICUDO; MENEZES, 2005 *apud* SANTOS, 2009).

Esta espécie pode apresentar aerótopos que permitem regular sua posição na coluna d'água e no microscópio são visualizados como corpos irregulares e refringentes. Estudos indicam que culturas de *Microcystis aeruginosa* quando submetidas a diferentes condições de temperatura, intensidade luminosa e nutriente deixam de produzir aerótopos ou dependendo das condições aumentam o número de aerótopos produzidos (KAPPERS, 1984, BROOKES; GANF, 2001 *apud* JACINAVICIUS, 2010).

A Figura 2 ilustra uma foto da colônia de *Microcystis aeruginosa*.

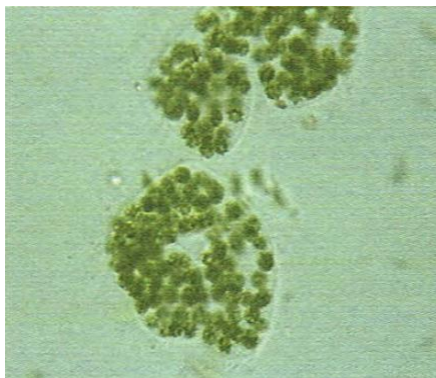


Figura 2 – Fotografia da colônia de *Microcystis aeruginosa*.

Fonte: CHORUS; BARTRAM, 1999.

2.3 CIANOTOXINAS

Cianotoxinas são toxinas produzidas pelas cianobactérias que apresentam efeitos adversos à saúde por ingestão oral (BRASIL, 2004). Melo Filho (2006), destaca que a função exata das cianotoxinas é desconhecida, porém deve apresentar alguma função biológica importante as cianobactérias, tais como, defesa contra herbívora, relações simbióticas, e excreção de produtos indesejáveis.

Em condições ambientais desfavoráveis, as cianobactérias morrem, propiciando a lise celular e a liberação das toxinas ao meio, as quais são capazes de originar efeitos agudos e crônicos no homem, animais e vegetais (RABELO, 2006). As cianotoxinas geralmente são classificadas em três grupos funcionais: hepatotoxinas, neurotoxinas e dermatotoxinas. De acordo com a sua estrutura química são classificadas em: lipopolissacarídeos, alcalóides e peptídeos cíclicos (TEIXEIRA; ROSA, 2005). Segundo Rabelo (2006) estima-se que mais de 50% das florações de cianobactérias sejam tóxicas. Dentre os gêneros de cianobactérias produtoras de toxinas estão: *Anabaena*, *Planktothrix (Oscillatoria)*, *Aphanizomenon*, *Nodularia*, *Microcystis* e *Cylindrospermopsis* (BITTENCOURT-OLIVEIRA; MOLICA, 2003).

O grupo da hepatotoxinas ataca primeiramente o fígado. Entre as hepatotoxinas mais conhecidas, merecem destaque as microcistinas e as nodularinas, classificadas como peptídeos cíclicos e tendo como principais produtores os gêneros *Microcystis* e *Nodularia*, respectivamente, e a cilindrospermopsina, tendo como principal produtor a espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* (BITTENCOURT-OLIVEIRA; MOLICA, 2003).

Estudos mostram que as neurotoxinas são as menos encontradas, porém letais. Estas agem rapidamente e se manifestam causando a paralisação do músculo esquelético e do músculo respiratório, causando a morte por parada respiratória poucos minutos após a exposição (AZEVEDO, 1998). Dentre as neurotoxinas mais conhecidas, têm-se a anatoxina-a, a anatoxina-a(s) e a saxitoxina, sendo seus principais gêneros produtores: *Anabaena*, *Aphanizomenon* e *Cylindrospermopsis*.

As dermatotoxinas ou toxinas irritantes ao contato, por sua vez, cujo mecanismo de intoxicação se dá pelo contato com os filamentos de cianobactérias

ou pelo contato com os lipopolissacarídeos da membrana. As dermatotoxinas podem ser produzidas pelos gêneros *Lyngbya*, *Oscillatoria* e *Schizothrix* (AZEVEDO, 1998).

Em relação aos efeitos crônicos das toxinas, a incidência de câncer hepático na China é uma das mais altas do mundo. Estudos epidemiológicos indicam que as cianotoxinas como um dos fatores dessa doença, já que as cianobactérias são abundantes nas águas superficiais chinesas (YU, 1995 *apud* DI BERNARDO; SAGOBAL-PAZ, 2008).

A Tabela 2 apresenta os principais grupos de cianotoxinas, gênero produtor e órgão alvo da toxina.

Tabela 2 – Principais grupos de cianotoxinas

Grupo de Cianotoxina	Gênero Produtor	Órgão-alvo
Pepitídios cilícos	Microcistinas <i>Microcystis, Anabaena, Planktothrix, Oscillatoria, Nostoc, Hapalosiphon, Anabaenopsis, Aphanocapsa</i>	Fígado, rins
	Nodularinas <i>Nodularia</i>	Fígado
Alcalóides	Cilindrospermopsina (CYN) <i>Cylindrospermopsis, Umezakia, Aphanizomenon</i>	Rins e fígado
	Anatoxina-a (ANTX) <i>Anabaena, Planktothrix, Oscillatoria, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis</i>	Sinapse nervosa
	Anatoxina-a(s) (ANTX-S) <i>Anabaena, Planktothrix</i>	Sinapse nervosa
	Saxitoxinas (STXs) <i>Anabaena, Aphanizomenon, Lynglya, Cylindrospermopsis, Planktothrix</i>	Axônios nervosos
Lipopolissacarídeos (LPS)	Todos	Irritante potencial: afeta qualquer tecido exposto

Fonte: Adaptado de Melo Filho (2006), *apud* Coral, 2009.

2.3.1 Microcistinas

As microcistinas são cianotoxinas encontradas em florações tóxicas que já estiveram envolvidas em incidentes de envenenamento animal e enfermidades humanas. Sendo que no Brasil o caso mais representativo ocorreu em uma clínica de hemodiálise em, Caruaru - PE, onde pacientes receberam doses intravenosas de água contaminada com toxinas (AZEVEDO et al., 2002).

Durante a sua síntese, a molécula de microcistina pode sofrer modificações que levam a formação de mais de 75 variantes, sendo a microcistina LR a mais estudada (LEFFLAIVE; TEM-HAGE, 2007). As diferenças encontram-se principalmente nos aminoácidos leucina e arginina, nas posições 2 e 4, respectivamente. Porém, algumas variações menos comuns incluem modificações no ADDA¹ (posição 5), e a desmetilação dos aminoácidos Mdha² (posição 7) e D-MeAsp³ (posição 3) (DAWSON, 1998).

A Figura 3 apresenta a estrutura geral das microcistinas.

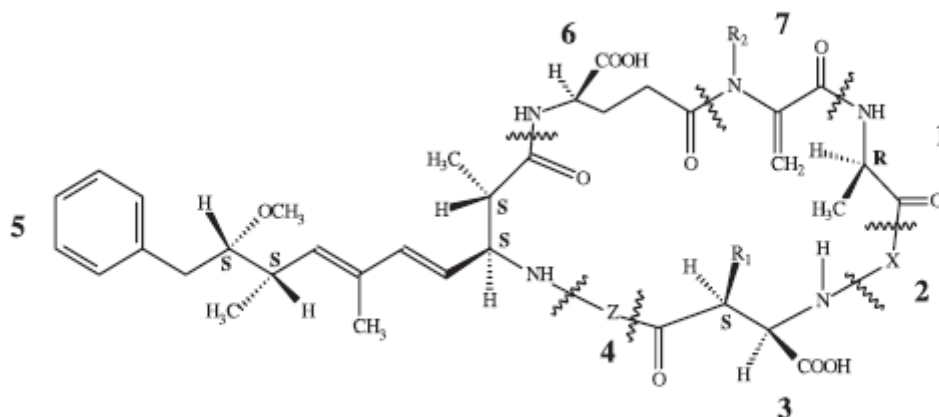


Figura 3 – Estrutura geral das microcistinas, onde 2 e 4 representam os dois L-aminoácidos variáveis e R₁ e R₂ são os locais de possíveis metilações.
Fonte: CHORUS; BARTRAM (1999).

¹ Ácido (2S, 3S, 8S, 9S)-3-amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10 fenildeca-4,6-dienóico.

² N-metil-deidroalanina.

³ Ácido D-eritro-β-metilaspártico.

A liberação das toxinas ao meio ambiente aquático pode ocorrer, na grande maioria durante a fase de senescência, morte ou lise celular e não por excreção contínua (CHORUS; BARTRAM, 1999).

Consumir plantas expostas a microcistinas, via irrigação, pode apresentar riscos à saúde. Por exemplo, após a ingestão da microcistina-LR, o estômago absorve uma parte desta toxina, mas a maior parte é absorvida pelo íleo, uma parte do intestino delgado (ITO et al., 2000). O principal alvo das microcistinas é o fígado, já que os hepatócitos possuem o transportador de ácidos biliares e podem capturar a microcistina ativamente.

Devido a sua estrutura peptídica cíclica as microcistinas são estáveis e resistentes à hidrólise química e oxidação, em pH próximo da neutralidade. Além disso, as microcistinas mantêm a sua toxicidade mesmo após a fervura. Em condições naturais, no escuro, as microcistinas podem persistir por meses ou anos (HARADA et al., 1996). Porém, já foi observada uma lenta degradação fotoquímica das microcistinas expostas à luz solar, e estudos indicam que a presença de substâncias húmicas também parece acelerar este processo de degradação (FERREIRA, 2009).

A Organização Mundial da Saúde estabelece de forma provisória apenas para a microcistina-LR a concentração máxima de $1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ (LIBÂNIO, 2010).

2.3.2 Análise de microcistinas

Muitas técnicas têm sido desenvolvidas de análise de microcistinas de cianobactérias em águas. Dentre os principais destacam-se biológicos: bioensaios, bioquímicos: ensaio imunoenzimático (ELISA, do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*), inibição da proteína fosfatase, e químicos: cromatografia líquida e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (MERILUOTO, 1997; SANCHES et al., 2007; YUAN et al., 2006). Menos sofisticada a cromatografia planar (cromatografia em camada delgada) também pode ser utilizada, (CARVALHO et al., 2007). Segundo Amorim (1997), a utilização de métodos químicos e bioquímicos tem a desvantagem, em relação aos bioensaios, de as amostras necessitarem de um tratamento prévio bem elaborado.

A seguir estas técnicas serão descritas assim como o seu limite de detecção, critério importante na escolha da técnica a ser utilizada (MACHADO, 2008, adaptado de DAHLMANN et al., 2005 e NICHOLSON et al., 2001).

- Inibição da fosfatase: a determinação ocorre através do grau da inibição enzimática (desfosforilação do substrato), também mede a soma total das microcistinas. Este método tem um limite de detecção de aproximadamente $0,3 \mu\text{g.L}^{-1}$.
- Eletroforese capilar: ocorre a separação por eletroforese capilar e a detecção por ultravioleta ou arranjo diodo, assim ocorre à determinação individual das toxinas através dos padrões analíticos. Para este método não há limite de detecção determinado.
- Método MMPB⁴: ocorre a oxidação de microcistinas, onde Adda⁵ é convertida a MMPB, e a determinação é por cromatografia gasosa, com limite de detecção de 43 ng. Semelhante ao ELISA, este método fornece a soma total de microcistinas, como o equivalente em microcistina-LR, se o padrão da mesma é utilizado.
- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência: ocorre a separação e a determinação individual das toxinas através de padrões analíticos. O que difere são os métodos de detecção e os limites de detecção (LD). A primeira forma é por ultravioleta (UV) com LD de $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ para cada toxina se utilizado 1 L de amostra. Com o mesmo limite de detecção temos a detecção por diodo com espectro UV dos analitos. Já a detecção por espectrometria de massa tem um LD de $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$.
- Cromatografia planar: este método é qualitativo, pois só identifica a presença do composto em interesse não quantifica. Realizada em placas de vidro cobertas por silicagel ou alumina, a fase sólida é espalhada em camada fina sobre esta placa de vidro. Para fixar o adsorvente à superfície da lâmina usa-se sulfato de cálcio (gesso) ou um polímero orgânico. Uma pequena quantidade de uma amostra orgânica é colocada em um ponto numa das extremidades da placa, sendo adsorvida pela fase sólida. Em seguida a placa cromatográfica é colocada em uma câmara fechada contendo um eluente que percorre a fase fixa em movimento ascendente por ação capilar, carregando

⁴ MMPB = Ácido 3-metoxi-2-metil-4-fenil butírico.

⁵ Adda = ácido 3-amino-9-metóxi-2,6,8-trimetil-10-fenil-deca-4,6-dienóico.

consigo a amostra orgânica. À distância percorrida por cada composto em uma amostra, dividida pela frente do solvente é conhecido como o R_f (CARVALHO et al., 2007).

- ELISA: a determinação ocorre através do grau de interação das toxinas com os anticorpos. Neste caso o resultado é a soma total das microcistinas, como equivalente em microcistina-LR se o padrão da mesma é utilizado, apresenta um limite de detecção de $0,05 \mu\text{g.L}^{-1}$.
- Kit microcistina em tubos: teste semiquantitativo para identificação de microcistina, esta presente na amostra compete com o conjugado microcistina – enzima (peroxidase) por um número limitado de anticorpos ligados à superfície interna do tubo de ensaio. Apresenta uma resposta visual, porém pode se feito uma leitura em espectrofotômetro.

2.4 TECNOLOGIAS DE TRATAMENTO DE ÁGUA PARA ABASTECIMENTO

Segundo Di Bernardo e Dantas (2005), do ponto de vista tecnológico, a água de qualquer qualidade pode ser teoricamente, transformada em água potável, porém os custos envolvidos e a confiabilidade na operação e manutenção podem inviabilizar o uso de determinado curso d'água como fonte de abastecimento.

Para Libânio (2010), o tratamento de água consiste na remoção de partículas suspensas e coloidais, matéria orgânica, microrganismos e outras substâncias nocivas à saúde humana. As tecnologias de tratamento de água devem conciliar alguns objetivos como: menor custo de implantação, operação e manutenção, e gerar o menor impacto ambiental nas áreas circunvizinhas. Porém, as características da água bruta são os principais fatores intervenientes na definição da tecnologia a ser empregada.

Para a potabilização das águas naturais, as tecnologias de tratamento, basicamente dividem-se em três fases: clarificação, filtração e desinfecção. Sendo assim pode-se afirmar que a etapa de clarificação engloba a coagulação, floculação e sedimentação/flotação. Em seguida à filtração cabe essencialmente a remoção de sólidos dissolvidos e microrganismos. Por fim, à desinfecção serve para inativar os

microrganismos ainda presentes, como bactérias e vírus (LIBÂNIO, 2010). O esquema descrito está ilustrado na Figura 4.

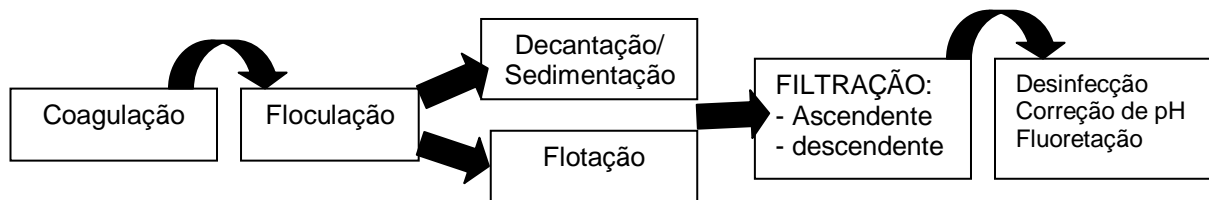


Figura 4 – Fluxograma típico da tecnologia de tratamento convencional (adaptado de LIBÂNIO, 2010, p.148).

As elevadas concentrações de cianobactérias além de causarem problemas de ordem toxicológicas, acarretam problemas de ordem operacional nas estações de tratamento de água (ETA), tais como: obstrução da canalização, dificuldade nos processos de coagulação, floculação e sedimentação, e ainda pode ocorrer um aumento da dosagem requerida de desinfetantes (MELO FILHO, 2006).

Neste sentido muitos estudos têm sido realizados visando à remoção destes microrganismos nos reservatórios, dentre as tecnologias utilizadas e com resultados positivos, destacam-se os processos de separação por membranas (nanofiltração), flotação por ar dissolvido (FAD), cloração e ozonização (CORAL, 2009; SILVA, 2008; MELO FILHO, 2006; TEIXEIRA; ROSA, 2005).

De acordo com Coral (2009), a associação da flotação por ar dissolvido com a tecnologia de separação por membranas dentro da nanofiltração, é viável para remoção de cianobactérias e suas toxinas. Teixeira e Rosa (2005) também testaram a nanofiltração com FAD, para remoção de cianobactérias e cianotoxinas, também chegaram a resultados positivos.

A literatura cita que pesquisas utilizando filtração em colunas em substituição à filtração em margem é viável na remoção de cianobactérias (RABELO, 2006). Já Santiago (2008) comparou a sedimentação com a flotação por ar dissolvido na remoção de cianobactérias, verificando que a remoção é superior na flotação por ar dissolvido.

Diferentemente, Melo Filho (2006) estudou a ozonização como pré e pós-tratamento para a filtração direta descendente, chegando à conclusão que a

ozonização como pré-tratamento foi mais eficiente na remoção de cianobactérias e cianotoxinas.

2.4.1 Coagulação/floculação

Para Ritcher e Netto (2003), coagulação e floculação são utilizados como sinônimos, já que ambos significam o processo integral de aglomeração das partículas. A coagulação é considerada um processo porque envolve simultaneamente fenômenos físicos e químicos, e decorreu inicialmente da necessidade de melhorar o aspecto visual da água para consumo humano (LIBÂNIO, 2010).

A coagulação é um processo que consiste na desestabilização das partículas coloidais ou neutralização das moléculas de substâncias húmicas através de dois fenômenos: o primeiro, químico, em que acontecem as reações do coagulante com a água e a formação de espécies hidrolisadas com carga positiva ou os precipitados do metal do coagulante usado; o segundo, físico, consiste no transporte das espécies hidrolisadas ou dos precipitados para que haja contato com as impurezas presentes na água, de maneira que formem aglomerados maiores, os quais podem ser removidos nas unidades seguintes (DI BERNARDO; SABOGAL-PAZ, 2008).

A interação entre o coagulante e a água ocorre na unidade de mistura rápida onde se formam espécies hidrolisadas, e geralmente é necessária uma agitação intensa para que o processo de coagulação seja eficiente (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

A definição do coagulante a ser utilizado deve considerar fatores relacionados à adequabilidade à água bruta, à tecnologia de tratamento e o custo do coagulante de outros produtos químicos a ele associados. Outro ponto importante dentro da escolha do coagulante é a quantidade e as características do lodo gerado no tratamento (LIBÂNIO, 2010).

O sulfato de alumínio é hoje o coagulante químico mais utilizado no Brasil, porém concentrações de alumínio residual têm colocado em dúvida sua utilização. Nesse sentido pesquisas com outros coagulantes químicos como: cloreto férrico,

hidróxicloreto de alumínio e sulfato férrico estão sendo desenvolvidas (PAVANELLI; DI BERNARDO, 2002).

Na floculação ocorre à agregação das partículas em suspensão, em função das forças de Van Der Waals. Para isto fornecem-se condições, em termos de tempo e agitação (mistura lenta), para que ocorram os choques entre as partículas anteriormente desestabilizadas pela ação do coagulante objetivando a formação de flocos a serem removidas por sedimentação/flotação ou filtração (LIBÂNIO, 2010).

Segundo Spinelli (2001), as etapas de coagulação e floculação configuram a parte mais delicada do tratamento de água para abastecimento, já que qualquer falha neste processo pode acarretar grandes prejuízos na qualidade e no custo do produto distribuído à população.

2.4.1.1 Coagulantes Naturais

Para Silva (2005) a busca de coagulantes que apresentem baixa toxicidade, simplicidade no uso, baixo custo e fácil obtenção e aplicação, os coagulantes naturais encontrados na biodiversidade dos recursos naturais tem sido uma alternativa para a clarificação da água bruta. Neste contexto destacam-se o uso da quitosana, da *Moringa oleifera* e de alguns taninos vegetais como coagulantes naturais para tratamento de água (MORAES et al., 2005; BERGAMASCO et al., 2010; CAPELETTE, 2011).

A eficiência da quitosana como coagulante tem sido avaliada, e tem apresentado resultados satisfatórios se comparados aos coagulantes inorgânicos (MORAES et al., 2005; CAPELETTE, 2011). O lodo gerado ainda pode ser utilizado como fertilizante por não apresentar metais pesados.

A *Moringa oleifera* uma planta encontrada no Brasil e em alguns países tropicais também apresenta uma boa redução principalmente de turbidez da água quando suas sementes são usadas como coagulante para tratar água bruta (BORBA, 2001; BERGAMASCO et al., 2010; NISHI et al., 2011).

A *Moringa oleifera* Lam pertence à família Moringaceae, que é composta apenas de um gênero (*Moringa*), esta é nativa do Norte da Índia e cresce atualmente em vários países dos trópicos. É uma árvore que cresce rápido e alcança 12 m de

altura, seu desenvolvimento ocorre em clima quente e semi-árido tropicais com temperaturas na faixa de 25-35°C (ARANTES, 2010). A Figura 5 mostra a flor e as sementes da *Moringa*.



(a)

(b)

Figura 5 – Fotografia da *Moringa oleifera* Lam: flor (a), semente (b).
FONTE: <http://www.granjaparaíso.com.br>

A *Moringa oleifera* apresenta diversas propriedades e usos, por exemplo, suas folhas e vagens são bastante nutritivas, sendo fonte de vitaminas A, B e C, podendo ser inseridas na alimentação humana de diversas formas como, por exemplo, nas saladas ou refogadas (PRICE; DAVIS, 2000 *apud* ARANTES, 2010). O óleo extraído das suas sementes pode ser utilizado na produção de sabão, em lamparinas e na lubrificação de peças.

No Brasil a *M. oleifera* existe desde o século passado, porém seu conhecimento só se deu em 1950 no Maranhão. Mais tarde ainda, o seu uso como coagulante que se iniciou somente a partir de 1996, com a vinda da Dr^a Samia Al Azhria Jahn que visitou o nordeste brasileiro (GERDES, 1997 *apud* CARDOSO, 2007).

Os estudos da utilização desta planta têm se voltado para purificação das águas, já que pesquisadores indicam a presença de proteínas catiônicas hidrossolúveis de peso molécula entre 12-14 kDa nas sementes da *M. oleifera*, que apresentam boa atividade coagulante (NDABIGENGESERE et al.,1995; OKUDA et al.,1999 *apud* ARANTES, 2010).

Já foram desenvolvidas algumas pesquisas para identificar os componentes da semente da *M. oleifera* Jahn (1989) verificou a presença de seis aminoácidos em maior quantidade: ácido glutâmico, prolina, metionina e arginina. Já Campos et al., (2003) utilizando HPLC identificaram dezessete aminoácidos presentes nas sementes: ácido aspártico, serina, glicina, histidina, treonina, alanina, tirosina, valina, cistina, isoleucina, leucina, fenilalanina e lisina, além dos quatro já encontrados por Jahn (1989).

Cardoso (2007) trabalhou com as sementes de *M. oleifera* como coagulante para potabilização da bacia do Rio Pirapó em Maringá e obteve boa remoção dos parâmetros de qualidade físico-químicos, atendendo aos valores tolerados pela legislação. Porém os parâmetros bacteriológicos não obedeceram à legislação vigente, mas tiveram reduções.

Em estudo semelhante também com água da bacia do Rio Pirapó Nishi et al. (2011) avaliaram a remoção de protozoários (*Giardia* e *Cryptosporidium*) da água com solução coagulante obtida a partir das sementes da *M. oleifera*. A remoção foi acima de 90%, na concentração de 150 mg.L⁻¹, comprovando o bom desempenho como coagulante das sementes de *M. oleifera*.

2.4.1.2 Remoção de cianobactérias por coagulação/floculação

Estudos mostram que a remoção de cianobactérias por coagulação, floculação e filtração é guiada pelos mesmos princípios da remoção de partículas inorgânicas coloidais em suspensão, ou seja, as cianobactérias podem ser desestabilizadas e floculadas através dos mesmos mecanismos que os coagulantes atuam sobre as partículas inorgânicas (BENHARDT; CLASEN (1991), *apud* MELO FILHO, 2006).

Julio et al., (2009), estudou a remoção de cianobactérias utilizando como coagulante cloreto férrico, a remoção de células de cianobactérias foi boa, porém a quantidade de ferro residual ficou acima do valor permitido pela Portaria nº. 518/2004 do Ministério da Saúde.

Estudos indicam que a adição de sulfato de alumínio à cultura de *Microcystis aeruginosa* não causa danos à célula e não há liberação de toxinas. O que acontece

é um aumento na densidade das células, indicando que a população de cianobactérias cresce durante a experiência, e isto pode contribuir para aumentar a produção de microcistina – LR e por consequência sua liberação na solução (CHOW et al., 1999).

Bergamasco et al. (2010), avaliaram a remoção de células de *Microcystis protocystis* submetidas à coagulação/floculação, com solução de sementes de *M. oleifera* 1%. Testou-se a concentração de 5-7,5 mg.L⁻¹ em pH 7, chegando a uma melhor remoção (62,5%) na concentração de 6 mg.L⁻¹. Segundo os autores a principal vantagem deste coagulante é a produção de um lodo biodegradável de manejo mais adequado, mas outros processos devem ser associados para que a remoção seja de total. Em estudo semelhante realizado por Nishi et al. (2011), a remoção máxima da cianobactéria *M. protocystis* com a solução coagulante de *M. oleifera* (250 mg.L⁻¹) foi de 91% com uma turbidez inicial de 250 uT.

Capelette (2011) comparou o uso da quitosana com o sulfato de alumínio na melhora da qualidade da água do lago Paranoá contaminada com *M. aeruginosa*. Os resultados mostraram que a quitosana pode ser considerada um bom coagulante para remoção de turbidez, cor aparente, matéria orgânica dissolvida e clorofila-a, para águas com baixa turbidez.

Com base nos resultados acima apresentados, verifica-se a importância da avaliação das condições de coagulação/floculação com *M. oleifera* em relação à remoção de cianobactérias.

2.4.2 Sedimentação

Segundo Di Bernardo e Sagobal-Paz (2008) a sedimentação é o fenômeno físico em que, devido à ação da gravidade, as partículas suspensas apresentam movimento descendente em meio líquido de menor massa específica. Na sedimentação os flocos já com tamanho aumentado tendem pela ação da gravidade a sedimentar resultando na clarificação da água pela separação das fases sólidas e líquidas. Podem ocorrer dois tipos de sedimentação (DI BERNANDRO; DANTAS, 2005):

- ◆ Sedimentação das partículas discretas: neste caso admite-se que as partículas não têm tamanho, densidade e formatos alterados, e que as partículas são independentes umas das outras decantando de forma individual.
- ◆ Sedimentação das partículas floculentas: neste caso considera-se que a velocidade de sedimentação não é constante e há um aumento do tamanho das partículas com o tempo. Isto ocorre devido ao encontro e agregação entre as partículas.

2.4.3 Processos de separação por membranas

O desenvolvimento dos processos de separação por membranas e suas aplicações são considerados relativamente recentes, principalmente levando-se em conta que fenômenos envolvendo membranas são estudados há mais de um século (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006).

Uma membrana é um filtro absoluto que elimina todos os compostos maiores do que seu peso molecular de corte. Os processos de separação por membranas são caracterizados pelo fato da corrente de alimentação ser dividida em duas correntes distintas, uma que atravessa a membrana e é chamada de permeado e outra que fica retida na membrana, denominada concentrado. Dependendo do objetivo, uma das correntes será determinada como o produto de interesse (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006).

De acordo com o tipo de membrana utilizada na separação, ao princípio de operação e fenômenos envolvidos ou pela força motriz que atua na separação temos a classificação dos processos de separação por membranas (NOBREGA, 1995). Na literatura, os termos Microfiltração (MF), Ultrafiltração (UF), Nanofiltração (NF) e Osmose Reversa (OR) são freqüentemente utilizados para descrever os vários processos com membranas. Outros processos, como a diálise (DI), eletrodiálise (ED), permeação de gases (PG) e a pervaporação (PV) são igualmente relacionados ao princípio da separação por membranas. O tamanho das espécies a serem separadas, os mecanismos de rejeição ou de reflexão, a estrutura química, a composição das membranas, a geometria de construção e as forças motrizes que

regem o processo são variáveis que interferem e classificam os processos de filtração (GONÇALVES, 2003 *apud* CORAL, 2009).

Atualmente as membranas filtrantes são a principal inovação tecnológica dentro dos processos de tratamento de água e esgoto, sendo a primeira grande inovação desde o desenvolvimento das tecnologias convencionais de tratamento (SCHNEIDER; TSUTYA, 2001 *apud* SILVA, 2008). Sendo assim as principais vantagens deste processo que impulsionam seu crescimento são (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006):

- Economia de energia;
- Seletividade;
- Separação de compostos termolábeis;
- Simplicidade de operação e escalonamento.

Do ponto de vista morfológico as membranas podem ser divididas em: densas ou porosas. A seleção de qual delas utilizar é definida pelas características da superfície da membrana que está em contato com a solução a ser separada (HABERT; BORGES; NOBREGA, 2006).

A diferença de tamanho entre as moléculas que compõe a mistura de alimentação e os poros da membrana é a seletividade da membrana (NASCIMENTO, 2004). O peso molecular de corte de uma membrana refere-se ao peso molecular da menor molécula que pode ser retida, ou seja, moléculas com pesos moleculares superiores ao especificado são removidas (MIERZWA, 2006).

As membranas mais utilizadas podem ser classificadas (LIBÂNIO, 2010):

- membranas de microfiltração com poros de diâmetro nominal entre 0,1 e 10 μm , aptas a remover cistos e oocistos de protozoários, bactérias, algas, cianobactérias, zooplâncton e óxidos de ferro e manganês;
- membranas de ultrafiltração adequadas à separação de partículas de dimensões entre 1 e 100 μm e a remover substâncias de peso molecular entre 1.000 e 2.000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, incluindo colóides, compostos orgânicos e solúveis;
- membranas de nanofiltração passíveis de remover substâncias de peso molecular entre 200 e 1.000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, diversos compostos químicos e íons;

- membranas de osmose reversa capazes de remover íons, sais dissolvidos e praticamente toda matéria orgânica, com peso molecular de corte inferior a 200 g.mol^{-1} .

As membranas podem ser produzidas em larga escala em duas configurações geométricas básicas (SCHNEIDER; TSUTYA, 2001 *apud* SILVA, 2008):

- Folhas planas, para membranas de nanofiltração (NF) e osmose reversa (OR);
- Cilindros, principalmente para microfiltração (MF) e ultrafiltração (UF), classificadas em membranas tubulares (diâmetro maior que 3 mm) e membranas de fibra oca (diâmetro menores que 3 mm).

O módulo de membrana é o elemento básico de um sistema de membrana que agrega todas as estruturas necessárias para viabilizar a operação da membrana como unidade de separação. O módulo contém os seguintes elementos: membranas, estruturas de suporte da pressão ou do vácuo aplicada ao conjunto, canais de alimentação e remoção do permeado e do concentrado. Atualmente no mercado, são encontrados módulos de diversos tipos: módulos com placa, espirais, tubulares e com fibras ocas (SILVA, 2008).

Apesar das diversas vantagens da utilização das membranas principalmente para o tratamento de água, não se deve esquecer o *fouling*, processo o qual forma-se uma “torta” sobre a membrana, desde o início da filtração, devido à rejeição das moléculas maiores pela membrana (BASSETTI, 2002).

2.4.3.1 Microfiltração

A microfiltração é uma técnica de separação capaz de remover partículas de tamanho de microns, como bactérias células de levedura, colóides e partículas suspensas de suspensões ou gases, por meio da passagem por uma membrana com diâmetro de poro entre 0,1 a $10 \mu\text{m}$ (ANADÃO, 2010).

A microfiltração é utilizada em diversos setores como na biotecnologia, na indústria alimentícia, no tratamento de efluentes e no tratamento de água. Estudos indicam que em 2006 foram movimentados no mercado mundial US\$ 7,6 bilhões, e este número só deve aumentar nos próximos anos (ANADÃO, 2010).

2.4.3.2 Nanofiltração

A nanofiltração pode ser considerada um processo relativamente novo, de acordo com Petrinic et al., 2007 *apud* Coral (2009) esta apresenta características intermediárias entre a ultrafiltração e a osmose reversa. As membranas de nanofiltração permitem uma retenção de partículas de peso molecular aparente de 200 a 1.000 Da, podendo reter, por exemplo, microcistinas (950-1.100 Da) e saxitoxinas (258 Da) (SCHNEIDER; TSUTIYA, 2001).

Considerando ainda aplicação das membranas de nanofiltração verifica-se a aplicação deste processo na remoção de compostos orgânicos de baixo peso molecular, pesticidas, no tratamento de efluentes da indústria de papel, e na remoção de cor em efluentes da indústria têxtil (LOPES; PETRUS; RIELLA, 2005).

Vale destacar que os processos de nanofiltração não são desenvolvidos para a separação de sólidos em suspensão, inclusive coloidal e, em função da pressão de operação, a presença de sólidos pode ocasionar a formação de depósitos irreversíveis havendo a necessidade de substituir as membranas. Sendo assim verifica-se a necessidade de um pré tratamento visando à eficiência a manutenção das membranas (MIERZWA, 2006).

2.4.3.3 Aplicação dos processos de separação por membranas para o tratamento de água para consumo humano

O uso de membranas para potabilização da água iniciou na II Guerra Mundial, quando os alemães usavam membranas para eliminar os contaminantes da água

após os bombardeios (MADAENI, 1999). Desde então os processos de separação por membranas tem sido estudados para potabilidade da água.

Hillis et al. (1998) cita que na década de 80 começaram a serem utilizados os processos de MF e UF para o tratamento de água para consumo humano. Esta tecnologia de membranas também é muito utilizada para outros fins, como reutilização de água e tratamento de águas residuais.

No intuito de aperfeiçoar os usos da filtração por membranas no tratamento água para abastecimento, muitos estudos tem sido desenvolvidos. Yoon et al. (2006) avaliou a remoção de compostos orgânicos da água para abastecimento chegando a uma remoção de 93% na nanofiltração e 40% para ultrafiltração. Já Domany et al. (2002) estudaram o desempenho de sistemas de ultrafiltração para remoção de matéria orgânica natural, tendo como resultado remoção entre 60 e 90%.

Considerando a grande ocorrência de processos de eutrofização em diversos reservatórios e lagos do mundo, estudos para remoção de cianobactérias e suas toxinas são de grande relevância. Para este fim membranas de microfiltração e nanofiltração tem sido utilizadas, porém as de NF tem sido mais utilizadas por apresentarem porosidade menor que as de UF.

Gijsbertsen-Abrahamsen et al. (2006) avaliaram a remoção de cianobactérias e cianotoxinas pela UF e NF, e obtiveram a remoção de células de *Microcystis* acima de 98% a partir da ultrafiltração, com lise inferior a 2%. Porém a concentração de toxinas no permeado foi igual ou levemente inferior a concentração de microcistina na água de alimentação. Já no processo de nanofiltração não se verificou a presença de microcistinas no permeado, obtendo uma remoção de 99% da microcistina-RR e da microcistina-LR. Para tais análises foi utilizado o método de detecção da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Lee e Walker (2008) estudaram a retenção de microcistina com membranas de ultrafiltração de cinco materiais diferentes: acetato de celulose, polietersulfona, poliamida, polisulfona e fluoreto de polivinilideno. Testes realizados com uma concentração de 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de microcistina mostraram que as membranas de polietersulfona, poliamida e polisulfona tiveram boa adsorção retendo na ordem de 90% a microcistina-LR.

Teixeira e Rosa (2005) verificaram a remoção acima de 97% para variantes da microcistina-LR, microcistina-LY e microcistina-LF a partir da nanofiltração. Em estudo posterior, Teixeira e Rosa (2006), continuaram na nanofiltração avaliando as

cianotoxinas: anatoxina-a e microcistina, chegando a uma remoção da ordem de 94%.

Os trabalhos realizados até o momento indicam a eficiência da tecnologia de separação por membranas, porém as baixas concentrações das microcistinas encontradas não têm permitido uma avaliação mais quantitativa da eficiência do processo. Sendo assim, o desenvolvimento de mais estudos torna-se relevante.

3. METODOLOGIA

3.1 MATERIAIS UTILIZADOS

3.1.1 Cultivo da *Microcystis aeruginosa*

Como o presente trabalho teve como objetivo avaliar a remoção de células de cianobactéria da água optou-se por realizar o cultivo da *Microcystis aeruginosa* (*Kützing*) em laboratório. Esta espécie foi escolhida devido a sua presença já ter sido relatada no reservatório do Iraí que abastece o município de Curitiba e a Região Metropolitana (Lagos, 2009).

O estudo foi realizado com uma cultura axênica de *Microcystis aeruginosa* (BB005) fornecido gentilmente pelo professor Dr. Armando Augusto Henriques Vieira do Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos. O procedimento de cultivo da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* será melhor descrito em item posterior.

3.1.2 *Moringa oleifera*

A *Moringa oleifera* foi escolhida para ser utilizada coagulante natural por não deixar resíduos de metais na água além de produzir um lodo biodegradável (BONGIOVANI et al., 2010). As sementes utilizadas no trabalho foram fornecidas pela professora Dr^a Rosângela Bergamasco da Universidade Estadual de Maringá.

A solução coagulante foi preparada a partir das sementes descascadas da *M. oleifera* (Figura 6). Utilizou-se 1 g da semente descascada e completou-se com água destilada até 100 g, esta solução foi triturada em liquidificador e filtrada a vácuo em membrana de acetato de celulose 45 µm de poro, formando uma solução padrão coagulante (1%) (*m/m*) (adaptado de Cardoso, 2007).



(a) (b)
Figura 6 – Fotografias do preparo da solução coagulante de *M. oleifera*: (a) sementes da *M. oleifera* utilizadas; (b) filtração a vácuo da solução coagulante.

3.1.3 Membranas de microfiltração e nanofiltração

No trabalho foram utilizadas membranas planas de microfiltração para remoção de células da cianobactéria *M. aeruginosa* e de nanofiltração para remoção da toxina produzida pela cianobactéria a microcistina.

A membrana de microfiltração foi preparada por Fernandes, Janissetti (2011) utilizando o polímero Polietersulfona (PES) e o solvente N,N-Dimetilformamida (DMF). As concentrações em massa de PES e DMF foram respectivamente 11%:89% (*m/m*) na solução polimérica. Essas concentrações foram baseadas em estudos realizados por Bassetti (2002).

A técnica utilizada na confecção da membrana foi a de inversão de fase, em que o polímero é dissolvido em um solvente e a solução resultante é depositada sobre um suporte na forma de um filme fino. O suporte coberto com o filme é introduzido em um banho coagulante, em que o filme entra em contato com um líquido não solvente (no presente trabalho, água à 20° C).

A membrana de nanofiltração utilizada nos experimentos foi a N-270, cedida pela Empresa *Dow Chemical Company*[®] com peso molecular de corte de 300 Da (LÓPEZ- MUÑOZ et al., 2009 *apud* CORAL, 2009). Segundo López-Muñoz et al.

(2009), a membrana é composta por um fino filme de poliamida com camada suporte microporosa de polisulfona. Hilal et al. (2005), avaliou o tamanho do poro desta membrana e chegou a um valor médio de 0,71 nm, com variações de 0,47 e 0,99 nm. Esta foi usada nas dimensões do equipamento.

3.1.4 Água do estudo - Represa do Passaúna

A água utilizada para repetir alguns ensaios foi coletada na represa do Passaúna no dia 10 de novembro de 2011. A represa localiza-se na porção oeste do município de Curitiba e abastece parte do município e alguns da Região Metropolitana, tendo grande importância no fornecimento de água na região.

No dia da coleta a água tinha uma turbidez média de 6 uT, pH 7,6, à 25°C. Às amostras de água foram congeladas para nos dias seguintes ser utilizada para os ensaios. Foram separados 500 mL da água coletada e fixada com solução de lugol acético com concentração de 1% para verificar posteriormente a presença de cianobactérias nesta água.

3.2 DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

A fase experimental foi realizada no período de março a dezembro de 2011, nos laboratórios do Departamento Acadêmico de Química e Biologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Curitiba.

A Figura 7 apresenta o fluxograma do trabalho proposto, a seguir serão detalhadas todas as etapas de forma mais específica.

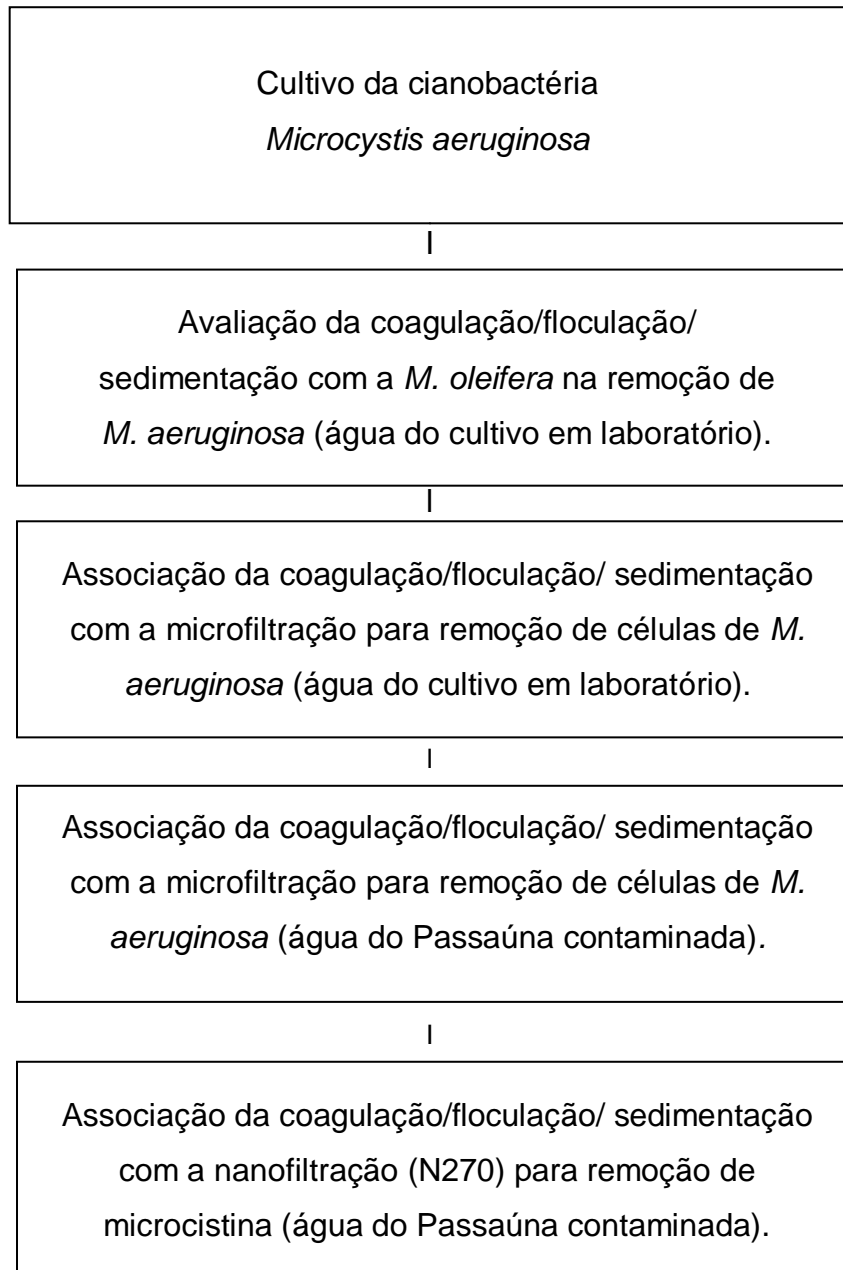


Figura 7 – Fluxograma de desenvolvimento da pesquisa proposta.

3.2.1 ESTUDO DO CULTIVO DA *Microcystis aeruginosa*

O meio de cultivo utilizado para o crescimento da *M. aeruginosa* foi o ASM-1 (Tabela 3 e Tabela 4) com pH 7. Os cultivos foram mantidos nas seguintes condições: temperatura ambiente (20-26°C); $215 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 12-12 h claro-escuro (AZEVEDO; SANT'ANNA, 2003).

Tabela 3 – Composição do meio de cultivo de cianobactérias ASM-1

Solução estoque	Nutriente	Concentração (g.L⁻¹)
A	NaNO ₃	8,500
	MgSO ₄ .7H ₂ O	2,450
	MgCl ₂ .6H ₂ O	2,050
	CaCl ₂ .2H ₂ O	1,450
B	KH ₂ PO ₄	8,700
	Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	17,800
C	H ₃ BO ₃	28,400
	MnCl ₂ .4H ₂ O	13,900
	FeCl ₂ .6H ₂ O	10,800
	ZnCl ₂	3,350
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,190
	CuCl ₂ .2H ₂ O	0,014
D	EDTA Na ₂	18,600

Fonte: Gorham et al., 1964.

Tabela 4 – Preparo de 1.000 mL do meio de cultivo de cianobactérias ASM-1

Soluções estoque	
A	20 mL
B	2 mL
C	0,1 mL
D	0,4 mL

Fonte: Gorham et al., 1964.

Para os ensaios em maior escala, adotou-se erlenmeyers de 250 mL e 1L. Antes da inoculação, esterilizaram-se os erlenmeyers com os meios em autoclave por um período de 30 minutos à 121°C e a pressão de 1,5 atm, depois de esterilizados eram resfriados à temperatura ambiente. Em erlenmeyers com 250 mL de meio eram colocados 25 mL de inóculo e nos de 1 L que continham apenas 800 mL de meio eram inoculados 80 mL, sempre respeitando um período de 7 dias para atingir a fase exponencial, este procedimento está ilustrado na Figura 8.

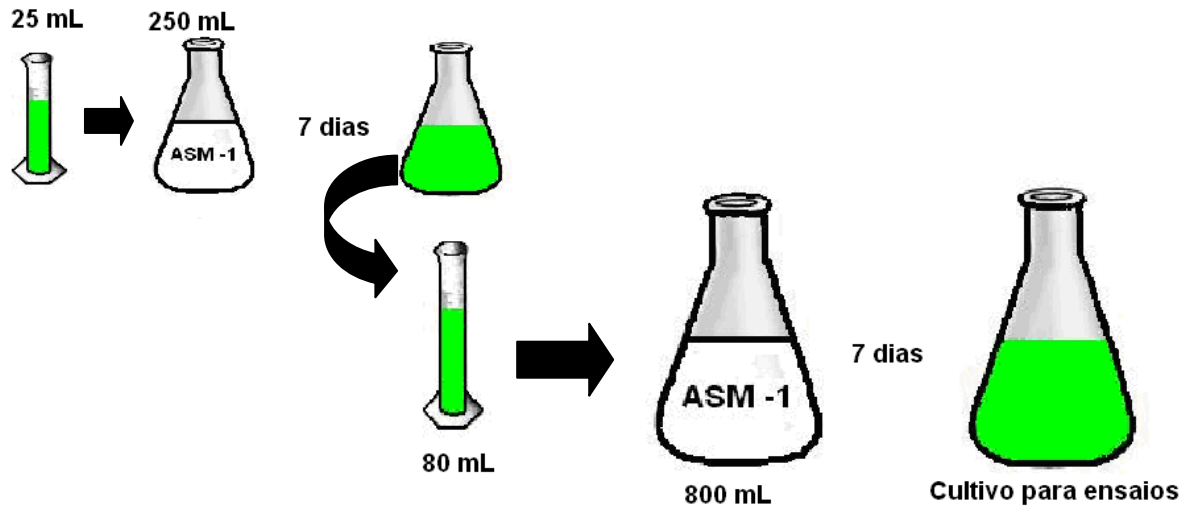


Figura 8 - Esquema de inoculação da cianobactéria *M. aeruginosa* (adaptado de JACINAVICIUS, 2010).

3.2.1.1 Curvas de crescimento da *Microcystis aeruginosa*

A fim de verificar a fase de crescimento exponencial da cianobactéria (*Microcystis aeruginosa*) foram feitas três curvas de crescimento. Uma inicial sem aeração, e outras duas com aeração, com quantidades diferentes de inóculo.

Para verificar o crescimento sem aeração (curva 1) foi colocado em erlenmeyers de 250 mL, 100 mL do meio de cultivo ASM-1 e 0,1 mL de inóculo. O experimento foi feito em triplicata como mostra a Figura 9 e as contagens das células foram feitas a cada 72 h, por um período de 58 dias, em câmara de Neubauer. Os erlenmeyers foram deixados nas mesmas condições de foto-período (12-12 h), intensidade luminosa e temperatura utilizada para todos os cultivos do trabalho.



Figura 9 – Fotografia do cultivo em erlenmeyers para curva de crescimento: dia da inoculação (a), 30 dias de cultivo (b).

Foram feitas duas curvas com aeração, sendo uma com 250 mL de meio de cultivo ASM-1 e 0,1 mL de inóculo (curva 2) e outra com a mesma quantidade de meio de cultivo mas com 10 mL (curva 3) de inóculo para verificar a influência no crescimento.

As contagens foram realizadas a cada 72 h, com o auxílio da câmara de Neubauer, por um período de 54 dias para curva 2 e 81 dias para curva 3. As curvas foram plotadas a partir do logaritmo do número de células versus número de dias.

3.2.1.2 Determinação das taxas de crescimento, tempo de duplicação e rendimento celular máximo.

Após a determinação das curvas foram calculadas as taxas de crescimento ($\mu \cdot \text{dia}^{-1}$) Equação 1 e o tempo de duplicação ($G \cdot \text{dia}^{-1}$) Equação 2 para *M. aeruginosa* cada uma das condições propostas. Estas taxas foram calculadas segundo as fórmulas apresentadas por Fogg; Thake 1987, *apud* Jacinavicius, 2010.

$$\mu = \frac{(\ln N - \ln N_0)}{(t - t_0)} \quad (1)$$

$$G = \ln 2 \cdot \mu^{-1} \quad (2)$$

μ : velocidade específica de crescimento ($\mu\text{g.L}^{-1}$).

G: tempo de duplicação celular, calculado a partir de μ (G.dia⁻¹).

N_0 : número inicial de células por mL no tempo inicial t_0 .

N: número final de células por mL no tempo t.

O rendimento celular máximo (R), medido em células por mL, corresponde ao número máximo de células menos o número de células do inóculo inicial conforme a Equação 3 (CARNEIRO, 2005 *apud* JACINAVICIUS, 2010).

$$R = N_{m\acute{a}x} - N_0 \quad (3)$$

R: rendimento celular máximo (cél.mL⁻¹).

$N_{m\acute{a}x}$: número máximo de células por mL.

N_0 : número de células por mL no inoculo inicial.

3.2.2 ESTUDO DA REMOÇÃO DA *M. aeruginosa* POR MEIO DA COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO COM *M. oleifera*

Para os ensaios de coagulação/floculação/sedimentação foi utilizada a solução de *M. oleifera* da solução já descrita no item 3.1.2, e nesta primeira etapa foi utilizada água proveniente do cultivo.

Os ensaios foram realizados no *jar test* (Milan JT102), onde foram adaptados béqueres de 600 mL (Figura 10). Foram utilizados somente 200 mL de cultivo de *Microcystis aeruginosa* para os ensaios, pois foram feitos testes os mesmos ensaios

com 1 L e 200 mL nas condições: coagulação 3 minutos à 95 rpm e floculação 15 minutos à 10 rpm, verificou-se que a diferença na remoção foi de apenas 3%. Portanto, optou-se por utilizar 200 mL nos ensaios do *jar test* para minimizar a geração de resíduos, já que para as análises de turbidez e contagem de células era utilizado um pequeno volume.

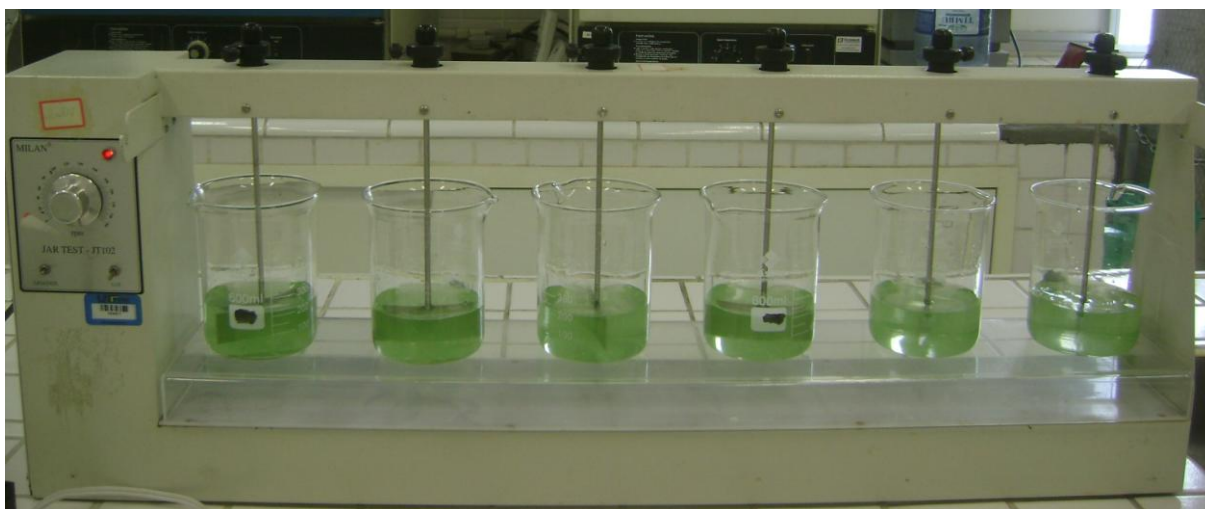


Figura 10 – Fotografia do equipamento *Jar Test* utilizado com 200 mL das amostras.

As respostas analisadas foram à remoção das células e a redução da turbidez. A remoção das células foi verificada através da contagem em câmara de Neubauer da água antes da coagulação/floculação e após a sedimentação de 90 minutos (CARDOSO, 2007). A turbidez foi medida com um turbidímetro digital (Poli Control – AP 2.000) também antes e depois do processo.

3.2.2.1 Otimização das condições de mistura rápida e lenta

Para avaliar as melhores condições de coagulação e floculação foi feito um planejamento fatorial 2^4 com ponto central, tendo como variáveis as velocidades e os tempos de mistura rápida e lenta. Os valores foram deduzidos a partir do ponto central que foi a condição ótima de Cardoso (2007) que utilizou semente de *M. oleifera* como coagulante na remoção de cor e turbidez para obtenção de água potável. O tempo de sedimentação também se baseou no mesmo trabalho

(CARDOSO, 2007) e a quantidade de *M. oleifera* foi de 60 mg. A Tabela 5 apresenta o desenho experimental do planejamento fatorial 2^4 com ponto central.

Tabela 5 – Desenho experimental do planejamento fatorial do tipo 2^4 para otimização da coagulação e floculação com semente de *M. oleifera*.

Variáveis	Nível (-)	Nível (0)	Nível (+)
Tempo de mistura rápida	2 min	3 min	4 min
Velocidade de mistura rápida	80 rpm	95 rpm	110 rpm
Tempo de mistura lenta	12 min	15 min	18 min
Velocidade de mistura lenta	7 rpm	10 rpm	13 rpm

Todos os ensaios (Tabela 6) foram feitos em triplicata e os resultados foram trabalhados no programa *Statgraphics Centurion*.

Tabela 6 – Detalhamento de cada ensaios realizado do planejamento fatorial.

Ensaio	Tmr^6 (min)	Vmr^7 (rpm)	Tml^8 (min)	Vml^9 (rpm)
1	2	110	12	7
2	4	80	12	7
3	4	80	18	7
4	4	110	12	7
5	4	110	18	7
6	4	110	18	13
7	2	110	18	7
8	2	80	12	13
9	2	80	18	7
10	4	80	12	13
11	2	110	12	13
12	4	80	18	13
13	2	80	18	13
14	2	110	18	13
15	4	110	12	13
16	2	80	12	7
17	3	95	15	10

⁶ Tmr: tempo de mistura rápida (coagulação).

⁷ Vmr: velocidade de mistura rápida (coagulação).

⁸ Tml: tempo de mistura lenta (floculação).

⁹ Vml: velocidade de mistura lenta (floculação).

A temperatura foi verificada a cada dia, porém foi utilizada a temperatura do cultivo que teve uma variação de 20-26°C nos dias de realização do experimento. Nesta etapa do trabalho avaliou-se o pH que se manteve neutro 7-8, conforme indicam alguns estudos que o pH não tem grandes variações para estes ensaios com *M. oleifera* por não consumir alcalinidade do meio (NISHI et al., 2011).

3.2.2.2 Avaliação da influência do tempo de sedimentação

Após a otimização e verificada as melhores condições de coagulação e floculação a próxima etapa foi à avaliação do tempo de sedimentação. Para isto, verificou-se a remoção de células e a redução da turbidez nos tempos de sedimentação de 60, 90 e 120 minutos. A quantidade de coagulante foi à mesma do planejamento fatorial anterior de 60 mg, e os ensaios foram realizados com a turbidez inicial 250 uT, tendo a concentração média de células de *M. aeruginosa* na ordem de 10^6 cél.mL⁻¹.

3.2.2.3 Avaliação da melhor dosagem da solução coagulante

Verificado que o aumento no tempo de sedimentação não teve aumento significativo na remoção dos parâmetros estudados optou-se por utilizar o tempo de 60 minutos. Assim na seqüência foi realizada uma variação na quantidade da solução coagulante de *M. oleifera* (item 3.1.2). Os ensaios foram realizados com a turbidez inicial de 250 uT (10^6 cél.mL⁻¹) para as seguintes quantidades de coagulante de *M. oleifera*: 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mg.

3.2.2.4 Avaliação da turbidez inicial

Após analisado alguns fatores de influência na eficiência do processo de coagulação/floculação/sedimentação, o último fator avaliado foi a turbidez inicial da água do cultivo da *M. aeruginosa*, pois até o momento todos os ensaios foram realizados com a 250 uT. Assim realizou-se a variação da turbidez inicial para mais e para menos, tendo 200, 250, 300 uT ajustada com água destilada, para os ensaios. Neste caso, a quantidade de coagulante de *M. oleifera* foi de 70 mg baseada nos ensaios anteriores, mistura rápida 2 minutos a 80 rpm, e mistura lenta 18 minutos a 13 rpm e tempo de sedimentação 60 minutos.

3.2.3 ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DA COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO/SEDIMENTAÇÃO COM A MICROFILTRAÇÃO PARA REMOÇÃO DA *M. aeruginosa*.

Após alguns estudos da utilização da semente de *M. oleifera* na remoção de célula da cianobactéria em estudo e redução da turbidez, verificou-se a necessidade de um tratamento complementar para que a redução dos parâmetros estudados atendesse a legislação. Para isto optou-se pela utilização de membranas de microfiltração.

Este estudo utilizou a membranas de microfiltração M11, produzida nos laboratórios da UTFPR, e já utilizada para outros estudos de tratamento de água (FERNANDES; JANISSETTI, 2011).

Este estudo foi dividido em duas etapas, sendo a primeira realizada com a água proveniente do cultivo da *M. aeruginosa* com turbidez inicial de 250 uT, e a segunda com água do Passaúna contaminada com o cultivo da cianobactéria com a mesma turbidez inicial.

3.2.3.1 Permeabilidade à água da membrana de microfiltração

O ensaio de permeabilidade à água consiste em determinar o fluxo permeado da membrana de acordo com a pressão exercida, que fornece informações importantes como porosidade e caráter hidrofílico-hidrofóbico da membrana em estudo. Este procedimento foi realizado com a membrana de microfiltração de área efetiva de $5,8119 \times 10^{-4} \text{ m}^2$.

O equipamento utilizado para os testes de filtração com as membranas está ilustrado na Figura 11. Consiste num dispositivo de filtração com capacidade de 300 mL de aço inoxidável, operando em fluxo perpendicular e sob pressão constante. A pressão exercida é obtida a partir de um cilindro de nitrogênio líquido pressurizado ligado ao equipamento.

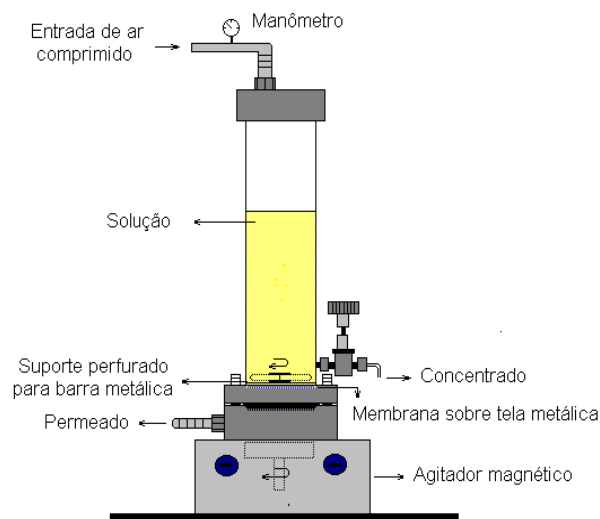


Figura 11 - Célula de filtração utilizada nos ensaios (adaptado de BASSETTI, 2002).

Este teste foi realizado com água destilada à pressão de 1 bar, sendo testado uma hora. Foram coletadas amostras a cada 5 minutos, a fim de verificar o fluxo permeado e outras características da membrana.

O cálculo do fluxo permeado é indicado na Equação 4 (HABERT, BORGES, NOBREGA, 2006):

$$J_0 = \frac{m}{A.t} \quad (4)$$

J_0 : fluxo permeado ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$)

m: massa coletada (kg)

A: área efetiva da membrana (m^2)

t : tempo de coleta determinado (h).

3.2.3.2 Coagulação/floculação/sedimentação com *M. oleifera* seguida de microfiltração – água do cultivo da *M. aeruginosa*.

Os ensaios foram realizados três ensaios em dias distintos, de forma a obter uma triplicata. As condições de coagulação/floculação/sedimentação foram às melhores do estudo realizado anteriormente descrita na Tabela 7.

Tabela 7 – Condições de coagulação/floculação/sedimentação antes da microfiltração.

<i>Parâmetro</i>	<i>Valor</i>
Turbidez inicial	250 uT
Concentração de <i>M. aeruginosa</i>	10^6 cél.mL ⁻¹
Quantidade de <i>M. oleifera</i>	70 mg
Tempo de coagulação	2 min
Velocidade de coagulação	80 rpm
Tempo de floculação	18 min
Velocidade de floculação	13 rpm
Tempo de sedimentação	60 min

Conforme já citado, foi utilizada a membrana de microfiltração, após a coagulação foi analisada a concentração de cél.mL⁻¹ e a turbidez. O ensaio de filtração consistiu em passar 1 h de água ultrapura no equipamento, 3 h da água após a coagulação/floculação/sedimentação, e mais 1 h de água ultrapura. Para analisar a remoção de células por mL e a redução da turbidez foram coletadas

amostras nos tempos 0, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos. Também durante todo o período de filtração foi verificado o fluxo com coletas a cada 15 minutos.

Como para os três ensaios foi utilizado a mesma de membrana, portanto realizou-se um processo de limpeza entre cada um dos três ensaios. Pois de acordo com Bassetti (2002) a limpeza das membranas é fundamental para que se elimine a camada de gel e a colmatagem, para restaurar parcial ou totalmente o fluxo permeado do início.

Portanto entre os ensaios realizou-se o procedimento descrito a seguir:

- ◆ Circulação de água ultra pura até 50 °C e pressão de 0,5 bar até não perceber mais opacidade;
- ◆ Circulação de solução de NaOH 0,5% (fração mássica) + NaOCl (500 ppm) por 30 minutos, na mesma temperatura, a pressão de 0,5 bar;
- ◆ Lavagem com água ultrapura até o pH neutro na saída do permeado;
- ◆ Circulação de solução de HNO₃ 0,5% (fração mássica) por 30 minutos, nas mesmas condições da solução básica;
- ◆ Lavagem com água ultrapura até o pH neutro na saída do permeado.

3.2.3.3 Coagulação/floculação/sedimentação com *M. oleifera* seguida de microfiltração – água da Represa do Passaúna contaminada com *M. aeruginosa*.

A água coletada da represa do Passaúna não apresentou cianobactérias, portanto esta água foi contaminada com o cultivo em laboratório da cianobactéria *M. aeruginosa* até uma turbidez de 250 uT (10^6 cél.mL⁻¹). Este procedimento foi realizado para repetir a melhor condição de coagulação/floculação/sedimentação e microfiltração estudada a fim de avaliar melhor as condições de uma situação mais próxima da realidade de um reservatório.

As condições de coagulação/floculação/sedimentação, foram semelhantes aos ensaios da água do cultivo. Porém foi necessário aumentar a concentração de *M. oleifera*, pois como a água do Passaúna tinha uma turbidez inicial de 6 uT, a quantidade de 70 mg não foi suficiente para remover a turbidez na proporção da água do cultivo. Portanto, avaliaram-se maiores quantidades (90, 110, 130 mg), por

fim, optou-se pela quantidade de 130 mg, por apresentar uma maior remoção da turbidez. Após o processo de coagulação/floculação/sedimentação, foram verificados a remoção de células de *M. aeruginosa* e a turbidez inicial.

Em seguida foram realizados os ensaios de filtração com a membrana de microfiltração. Conforme já descrito entre os ensaios foi realizado o processo de limpeza da membrana utilizada. A filtração consistiu em verificar a permeabilidade da membrana de microfiltração passando 1 h de água ultrapura seguida de 3 h da água após a coagulação/floculação/sedimentação e por fim 1 h de água ultrapura novamente verificando o *fouling* ocorrido. Dessa forma verificou-se todo o fluxo coletando amostras a cada 15 minutos nas 5 horas de filtração. Foram coletadas amostras nos tempos 0, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos para análises de turbidez e células de *M. aeruginosa*. Os ensaios foram realizados em triplicata para obter-se uma média dos valores de remoção dos parâmetros analisados.

3.2.4 AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DA MICROCISTINA POR NANOFILTRAÇÃO E *M. oleifera*.

Para avaliar a remoção da microcistina foi utilizada a membrana de nanofiltração N-270 a uma pressão de 5 bar, pois esta foi a primeira em se verificou-se fluxo. O equipamento utilizado para nanofiltração foi o mesmo utilizado para microfiltração, somente realizou-se uma limpeza e a troca da membrana.

Como não havia uma grande concentração de células de cianobactérias, principalmente *M. aeruginosa*, na água do Passaúna optou-se por contaminar a água com o cultivo realizado em laboratório de *M. aeruginosa*. Utilizou-se a proporção 1:1 de água do Passaúna e cultivo de *M. aeruginosa*. Esta amostra era colocada no ultrassom para a extração da microcistina por 3 ciclos de 8 minutos cada. Na seqüência a amostra era filtrada em membrana de fibra de vidro de poro 0,45 µm para remoção de material particulado. Para análise das toxinas foi utilizado o kit microcistinas em tubos.

3.2.4.1 Associação da coagulação com *M. oleifera* e nanofiltração para remoção de *M. aeruginosa*.

Como se observou uma boa remoção de células de *M. aeruginosa* com a solução coagulante de *M. oleifera* optou-se por verificar a remoção da microcistina na associação da coagulação/floculação/sedimentação, seguida da nanofiltração.

Desta forma promoveu-se a coagulação com a solução de *M. oleifera* (130 mg), seguindo as condições já estudadas:

- ◆ Coagulação (mistura rápida): 2 min, 80 rpm;
- ◆ Floculação (mistura lenta): 18 min, 13 rpm;
- ◆ Tempo de sedimentação: 60 min.

Após este processo amostras eram coletadas para verificar a concentração de microcistina, número de cél.mL⁻¹, e turbidez. Em seguida esta amostra era passada na membrana N-270, seguindo os ensaios anteriores 1h de água ultrapura, 3 h água com microcistina e por 1 h de água ultrapura. Para análise da microcistina foi coletado amostra nos tempos 0, 30 e 180 minutos de filtração, e o fluxo foi verificado nas 5 h com coletas a cada 10 minutos.

3.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

3.3.1 Contagem de células de cianobactérias

As contagens foram realizadas em microscópio (*Olympus BX51*) com o auxílio câmara de Neubauer como mostra a Figura 12.

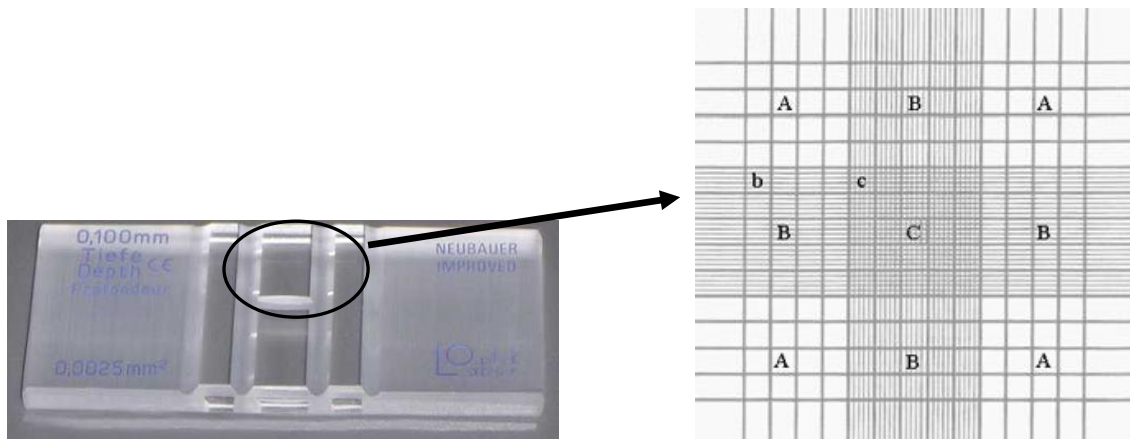


Figura 12 – Fotografia da câmara de Neubauer.

O primeiro passo era fixar uma lamínula nas barras laterais umedecendo-as com água e depositando a lamínula em sua superfície. A amostra era homogeneizada com a micropipeta. Um pequeno volume (aproximadamente 20 μL) e, com a ponteira inclinada, encostava-se a extremidade da ponteira na borda da lamínula preenchendo cuidadosamente a câmara, de modo que não formasse bolhas de ar no seu interior.

No microscópio as contagens eram feitas no aumento de 400x. Quando tinha baixa densidade celular a contagem era realizada no quadrante A, já quando havia alta densidade a contagem era feita pelo quadrante C, sendo os quatro quadrantes menores dos cantos e o central, tirando-se uma média.

Para obter o número de células por mL dependia de qual quadrante havia sido feita a contagem, seguindo a seguinte relação:

- Quadrante A:
(média dos quatro quadrantes) $\times 10^4 = \text{cel.mL}^{-1}$
- Quadrante C:
(média dos cinco quadrantes) $\times 0,16 \times 10^6 = \text{cél.mL}^{-1}$

3.3.2 Análise das cianotoxinas

Para a análise da microcistina utilizou-se o kit microcistina em tubos da marca *EnviroLogix* com 36 tubos, este é um método semi quantitativa. As leituras de

absorbância foram realizadas em espectrofotômetro (*Varian Carin 50*) e a curva de calibração utilizada para determinação das concentrações está no apêndice A.

3.4 ANALISE ESTATÍSTICA

O programa *Statgraphics Centurion* foi utilizado para analisar os resultados da otimização dos tempos de coagulação/floculação e das velocidades rápidas e lentas (POCINHO, 2009).

A primeira análise estatística realizada foi verificação da correlação entre as duas respostas avaliadas, remoção das células da *M. aeruginosa* e da redução da turbidez através de gráficos de dispersão e o valor de r (POCINHO, 2009).

Para verificar a diferença entre as médias dos resultados de coagulação/floculação/sedimentação e microfiltração utilizou-se teste *Kruskal-Wallis*, uma alternativa ao ANOVA para dados não paramétricos (POCINHO, 2009).

Na seqüência foi avaliado utilizado o *test t student* para verificar a diferença entre os fluxos dos ensaios com a água do cultivo em laboratório da *M. aeruginosa* e a água do Passaúna contaminada com o cultivo da membrana de microfiltração utilizada (POCINHO, 2009).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados de todos os procedimentos propostos no presente trabalho. Iniciando com o cultivo da cianobactéria *M. aeruginosa* e na sequência os ensaios de remoção de por meio de coagulação com *M. oleifera* e microfiltração. Por fim devido à toxicidade da cepa da cianobactéria cultivada também se avaliou a retenção de microcistinas por meio da nanofiltração.

4.1 ESTUDO DO CULTIVO DA *M. aeruginosa*

No início a *M. aeruginosa* apresentou dificuldades de crescimento em frascos de plásticos, portanto optou-se por usar somente vidro. Para o período de inverno baixas temperaturas utilizou-se um aquecedor para manter a temperatura de 20-26°C, assim a cianobactéria teve bom crescimento tornando possível realizar os ensaios de remoção.

A Figura 13 apresenta as condições do cultivo e as células provenientes do cultivo em laboratório da *M. aeruginosa*.

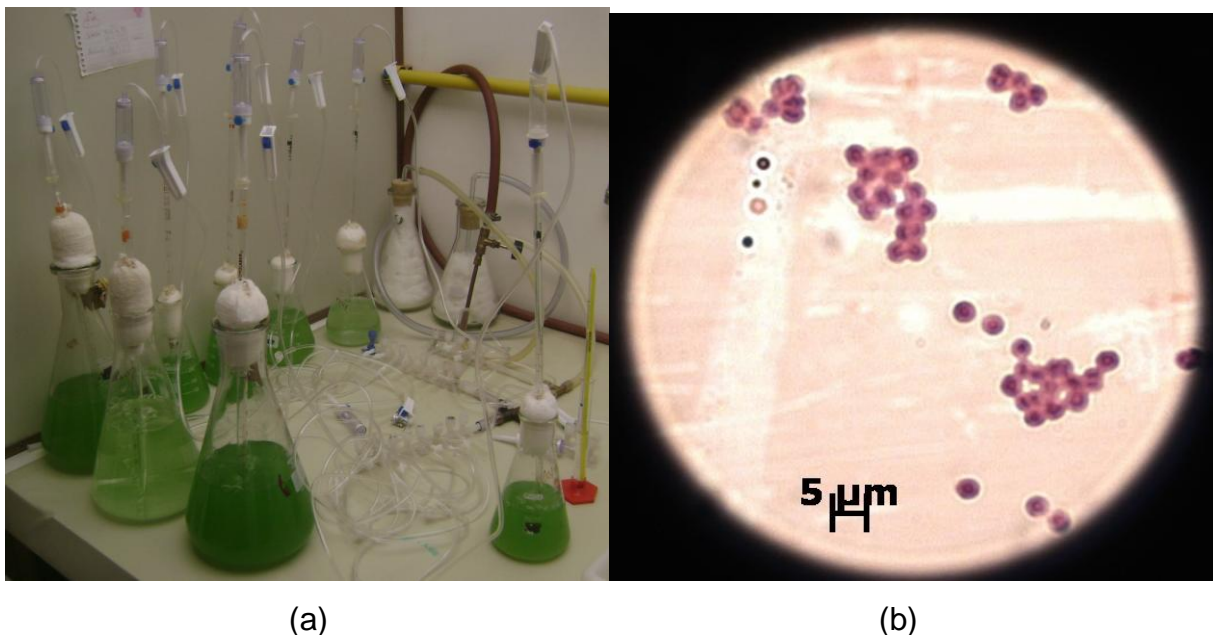


Figura 13 – Fotografia do cultivo da *M. aeruginosa*: (a) Cultivo em laboratório (temperatura ambiente (20-26°C); foto período claro escuro (12-12 h); luz: $215 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$); (b) Células do cultivo da *M. aeruginosa* (aumento de 1000x).

As células provenientes do cultivo desenvolvido no laboratório N114 da UTFPR tiveram um diâmetro médio de 3,5 μm . A Figura 13 ilustra estas células de *M. aeruginosa* próximo ao encontrado na literatura de 4 a 6 μm (CABEÇADAS, 2009).

4.1.1 Curvas de crescimento da *M. aeruginosa*

As curvas de crescimento foram delineadas em relação ao logaritmo do número de células por mL em função do tempo (dia). As curvas foram plotadas para verificar a influência da aeração e da quantidade de inóculo inicial colocada no início do cultivo no crescimento da *M. aeruginosa* em laboratório. Perfazendo as seguintes condições (Tabela 8).

Tabela 8 – Condições das curvas de crescimento propostas para a *M. aeruginosa*

Curva	Aeração	Quantidade de meio de cultivo de cianobactérias ASM-1	Quantidade de inóculo inicial de <i>M. aeruginosa</i>
1	Não	100 mL	0,1 mL
2	Sim	250 mL	0,1 mL
3	Sim	250 mL	10 mL

A Figura 15 apresenta as curvas de crescimento para *M. aeruginosa* para as três condições propostas na Tabela 8.

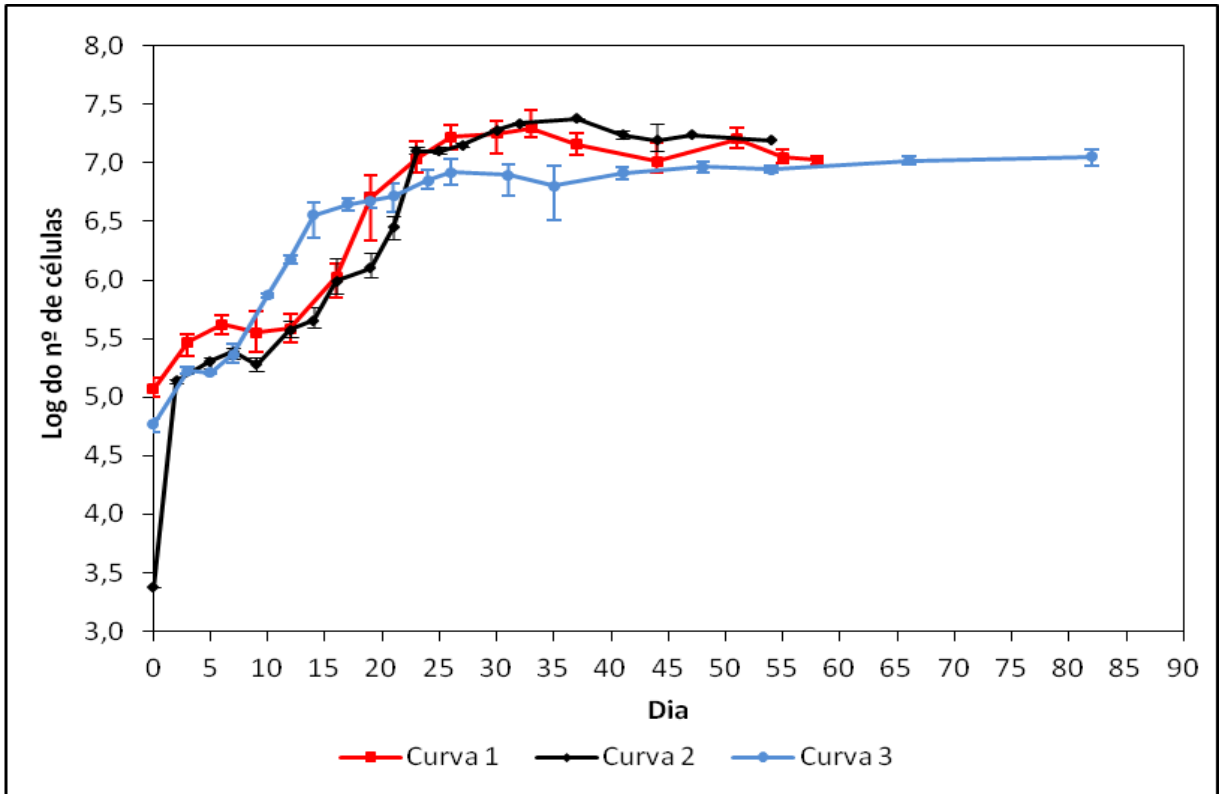


Figura 14 - Curvas de crescimento da *M. aeruginosa* sem aeração. Curva 1: 100 mL de meio de cultivo ASM-1 e 0,1 mL de inóculo (sem aeração); curva 2: 250 mL de meio de cultivo ASM-1 e 0,1 mL de inóculo (com aeração); curva 3: 250 mL de meio de cultivo ASM-1 e 10 mL de inóculo (com aeração). Temperatura ambiente (20-26°C); foto período claro escuro (12-12 h); luz: 215 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

A primeira curva de crescimento determinada foi sem aeração, com 100 mL de meio de cultivo ASM-1 e 0,1 mL de inóculo. Para esta curva realizavam-se contagens a cada 72h durante 58 dias. Observa-se na Figura 14 que a fase exponencial inicia-se entorno do 12º dia de crescimento até o 23º onde há mais crescimento e sim uma queda no número de células.

Na curva 2 (Figura 14) considera-se que a fase exponencial inicia-se no 9º dia seguindo com um crescimento maior até o 25º dia, porém o crescimento continua de forma mais lenta até o 36º dia.

Na curva 3 (Figura 14) com mais inóculo inicial verifica-se o início da fase exponencial entorno do 6º dia até o dia 15º dia, onde a partir daí há um crescimento menor até o 27º dia, seguindo para uma estabilização no número de células, com uma leve queda.

Fazendo uma comparação inicial verifica-se uma diferença no início da fase exponencial das três curvas. Primeiro observa-se que as curvas 2 e 3 que tinham aeração apresentaram o início da fase exponencial antes da curva 1 que não tinha

aeração, comprovando que a aeração ajuda no seu desenvolvimento pois elimina formas coloniais e a bainha de mucilagem típica desta espécie (BICUDO; MENEZES, 2005). Em relação às curvas 2 e 3 verifica-se a influência da quantidade de inóculo inicial, pois a curva 3 inicia a fase exponencial antes da curva 2 com menor quantidade de inóculo inicial.

4.1.2 Crescimento da *M. aeruginosa* no período exponencial de cada curva.

Após a obtenção das curvas de crescimento e verificadas as fases exponenciais foram calculados os valores de taxa de crescimento médio, tempo de duplicação e rendimento máximo para *M. aeruginosa* (BB005) em cada uma das três curvas.

Na Tabela 9 são apresentados os valores de taxa de crescimento médio ($\mu \cdot \text{dia}^{-1}$) e o tempo de duplicação ($G \cdot \text{dia}^{-1}$) da *M. aeruginosa* (BB005) nas curvas 1, 2 e 3 em diferentes condições.

Tabela 9 - Taxa de crescimento médio e tempo de duplicação na fase exponencial para as curva de crescimento 1, 2 e 3 da *M. aeruginosa* (BB005).

Curva	Fase exponencial (dia)	Taxa de crescimento médio ($\mu \cdot \text{dia}^{-1}$)	Tempo de duplicação ($G \cdot \text{dia}^{-1}$)
1	12 – 23	0,1861	3,7245
2	9 – 23	0,3073	2,2557
3	6 – 15	0,3085	2,2471

Verifica-se na Tabela 9 que a curva 3 apresenta a maior taxa de crescimento médio na fase exponencial, provavelmente pelo fato desta ter a maior quantidade de inóculo inicial, porém todas as curvas a fase exponencial inicial com o número de células da ordem de 10^5 cél.mL^{-1} . Em relação ao tempo de duplicação observa-se que a curva 1 foi a que apresentou o maior tempo de duplicação e menor taxa de crescimento condizendo assim com a literatura, já que onde há menor crescimento a taxa de duplicação será maior (JACINAVICIUS, 2010).

Verifica-se que as curvas 2 e 3 apresentam uma pequena diferença (0,0012) nos valores de crescimento e taxa de duplicação, vale lembrar que a curva 3 tem 100 vezes mais inóculo inicial que a outra.

A Figura 15 apresenta o rendimento celular máximo de cada uma das três curvas de crescimento da *M. aeruginosa* determinadas.

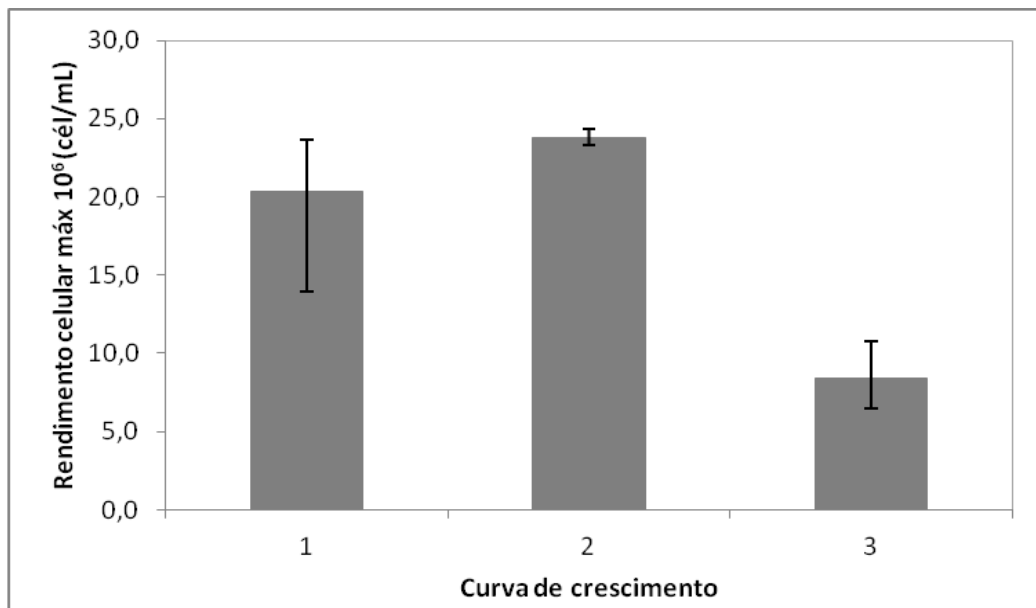


Figura 15 - Rendimento máximo (cél.mL⁻¹) de cada curva de crescimento. Temperatura ambiente (20-26°C); foto período claro escuro (12-12 h); luz: 215 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Verifica-se na Figura 15 que na curva 2 que a cianobactéria *M. aeruginosa* teve o maior rendimento máximo entre as três curvas determinadas. Se compararmos esta com a curva 1 que não tinha aeração e menor quantidade de meio de cultivo de cianobactéria ASM-1, mas a mesma quantidade de inóculo inicial (0,1 mL), constata-se que a aeração não teve influência no crescimento, pois ambas as curvas chegaram a concentração da ordem de 10^7 cél.mL⁻¹ porém em tempos diferentes. Já na análise do rendimento máximo das curvas 2 e 3 verificou-se que a curva 3 teve menor rendimento já que está não chegou a concentração de 10^7 cél.mL⁻¹.

Considerando os resultados obtidos das curvas de crescimento para *M. aeruginosa* é possível dizer que a quantidade de inoculo inicial reflete no crescimento da espécie da cianobactéria estudada. Portanto, devido à necessidade

de obtenção de grandes volumes em um pequeno espaço de tempo para os ensaios propostos no presente trabalho optou-se por uma quantidade maior de inóculo inicial (10%) do que as estudadas nas curvas de crescimento (0,04%, 0,1% e 5%). Pois, na literatura foram encontrados estudos que utilizaram até 15% do volume de meio de cultivo de inóculo inicial (OLIVEIRA, 2005).

4.2 ESTUDO DA REMOÇÃO DA *M. aeruginosa* POR MEIO DA COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO COM *M. oleifera*.

Partindo dos princípios da análise multivariada, a primeira etapa foi avaliar mais de uma variável para as condições de coagulação/floculação/sedimentação, na sequência algumas variáveis foram avaliadas individualmente.

4.2.1 Otimização das condições de mistura rápida (coagulação) e lenta (floculação).

A primeira etapa dos ensaios de coagulação e floculação com a solução de *M. oleifera* foi à avaliação das melhores condições. Para isto utilizou-se de um planejamento fatorial 2^4 com ponto central. As respostas avaliadas foram à remoção de células de *M. aeruginosa* e a redução da turbidez.

A Figura 16 apresenta o valor médio de remoção de células da *M. aeruginosa* em cada ensaio do planejamento fatorial. As barras indicam o desvio padrão, pois os ensaios foram realizados em triplicata.

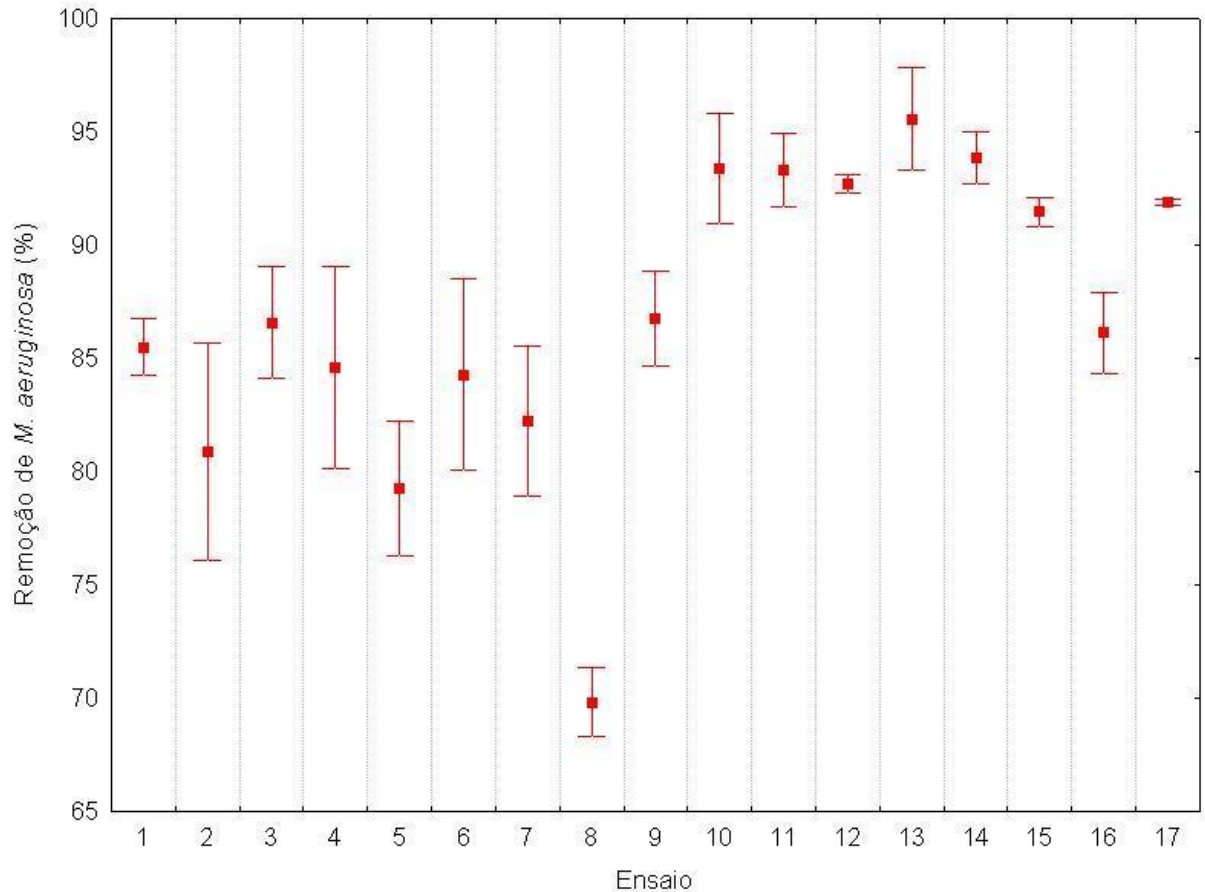


Figura 16 - Remoção das células *M. aeruginosa* em cada ensaio do planejamento fatorial da coagulação/floculação com *M. oleifera* (60 mg) tempo de sedimentação de 90 minutos, para os tempos de mistura rápida 2, 3 e 4 minutos, velocidade da mistura rápida 80, 95 e 110 rpm, tempo da mistura lenta 12, 15 e 18 minutos e velocidade de mistura lenta 7, 10 e 13 rpm. Turbidez inicial da água 250 uT.

Verifica-se na Figura 16 que as remoções médias de células da cianobactéria *M. aeruginosa* sempre estiveram acima de 75% com exceção do ensaio 8 onde a coagulação: 2 minutos à 80 rpm e a floculação: 18 minutos à 13 rpm. O ensaio que ocorreu a melhor remoção média foi no ensaio 13 que diferencia apenas no tempo de floculação do ensaio 8, mostrando que esta variável tem influência, provando que um tempo maior na floculação é necessário para uma melhor remoção das células da *M. aeruginosa*.

De acordo com Bernhardt; Clasen (1991) quando as células de algas apresentam formato aproximadamente esférico e superfície lisa, há predominância na coagulação do mecanismo de adsorção-neutralização de cargas, porém se as células são compridas e filamentosas, há predomínio da varredura.

Os resultados foram analisados com o auxílio do programa *Statgraphics Centurion*, onde pode ser verificado o efeito das variáveis sobre a resposta, mostra a Figura 17.

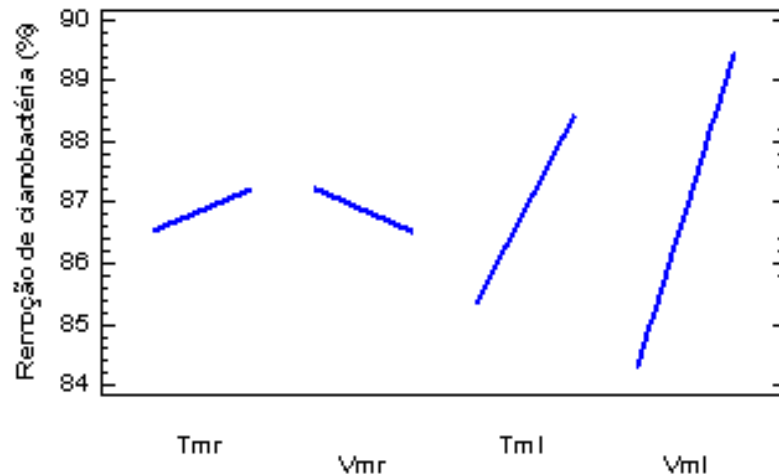


Figura 17 – Efeito das variáveis sobre a remoção de células de *M.aeruginosa*.
Coagulação: Tmr: tempo de mistura rápida; Vmr: velocidade de mistura rápida;
Floculação: Tml: tempo de mistura lenta; Vml: velocidade de mistura lenta.

Observa-se na Figura 17 que o processo de floculação tem efeito positivo sobre a remoção de células de *M. aeruginosa*, já a velocidade de mistura rápida (coagulação) tem efeito negativo sobre a resposta. Enquanto o tempo de mistura rápida (coagulação) tem efeito positivo, porém pequeno comparado a outras variáveis.

Verificado o efeito positivo das variáveis da floculação e a interação entre elas foi significativa ($p= 0,0221$), projetou-se uma superfície de resposta (Figura 18) onde é possível verificar que o aumento na remoção da *M. aeruginosa* em função do tempo e da velocidade de floculação.

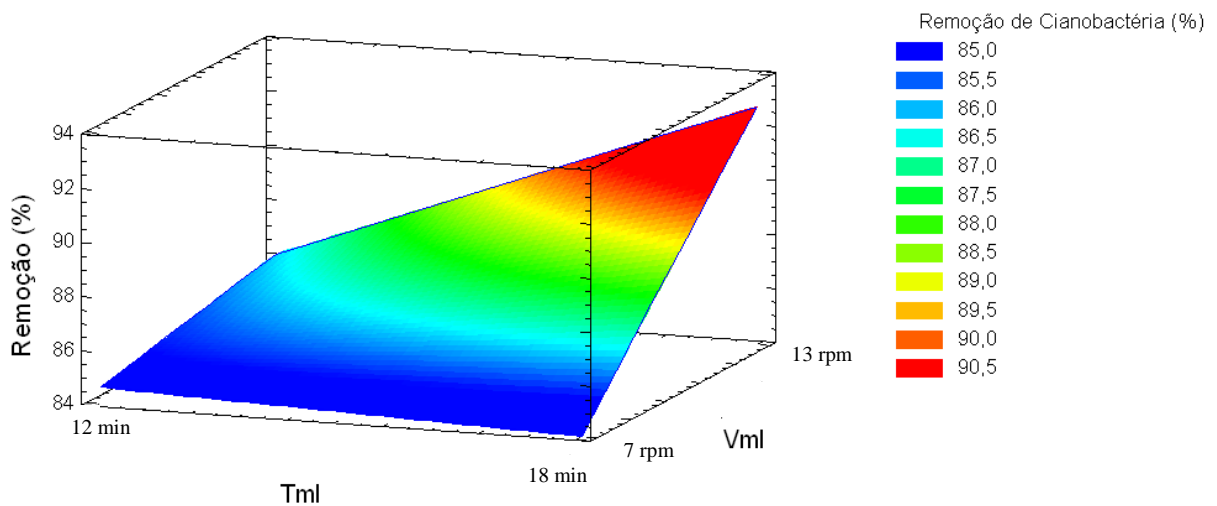


Figura 18 – Superfície de resposta (remoção da cianobactéria *M. aeruginosa*) em função dos tempos de mistura lenta 12 e 18 minutos e velocidade de mistura lenta 7 e 13 rpm.

Observando a Figura 18 verifica-se que há um aumento de aproximadamente 5% na remoção das células da cianobactéria quando as condições são alteradas.

A Figura 19 apresenta o valor médio de redução da turbidez em cada ensaio do planejamento fatorial.

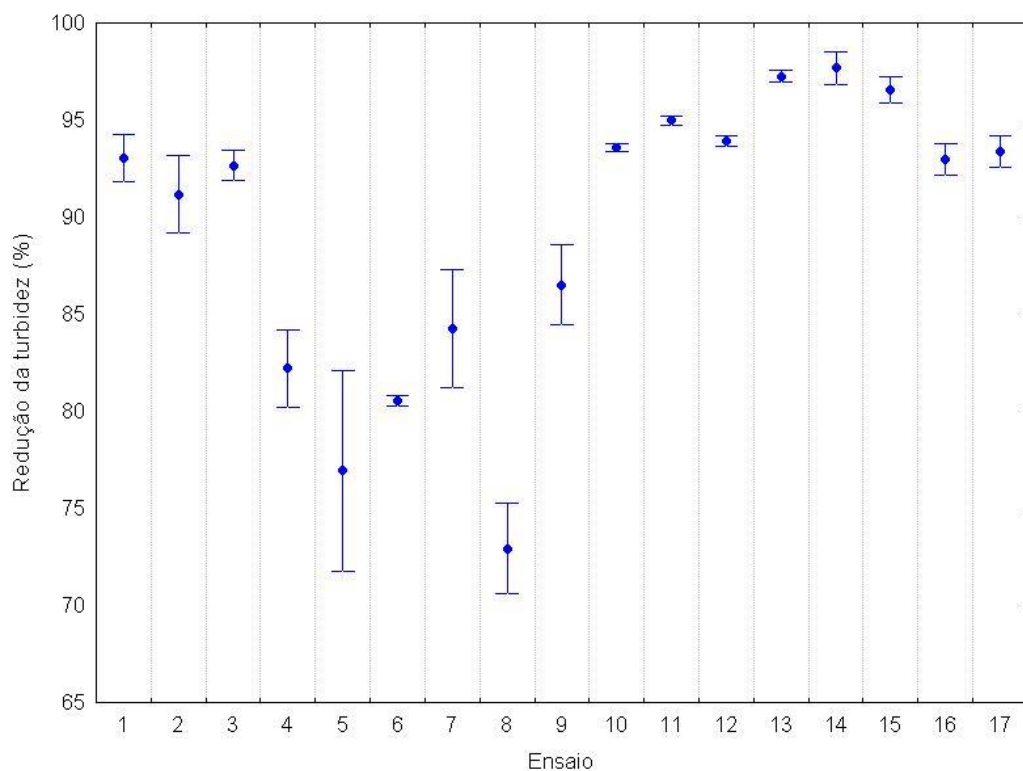


Figura 19 – Redução da turbidez cada ensaio do planejamento fatorial da coagulação/floculação com *M. oleifera* (60 mg) tempo de sedimentação de 90 minutos, para os tempos de mistura rápida 2, 3 e 4 minutos, velocidade da mistura rápida 80, 95 e 110 rpm, tempo da mistura lenta 12, 15 e 18 minutos e velocidade de mistura lenta 7, 10 e 13 rpm. Turbidez inicial da água 250 uT.

Observando-se a Figura 19 constata-se que semelhante a remoção de células da *M. aeruginosa* o ensaio onde ocorreu a menor redução média da turbidez (97,7%) foi o ensaio 8 com uma turbidez remanescente de 10,3 uT. Já a condição onde houve uma melhor redução média da turbidez foi ao ensaio 14 onde o tempo de coagulação foi de 2 minutos a 105 rpm, e à floculação 18 minutos a 13 rpm, diferenciado apenas na velocidade de coagulação do ensaio 13 onde ocorreu a melhor remoção média de *M. aeruginosa*.

Teixeira; Rosa (2006), avaliaram uma água contaminada com 10^5 cél.mL⁻¹ de *M. aeruginosa* com o coagulante sulfato de alumínio (14 mg.L⁻¹) obtiveram uma redução de 80% da turbidez. Porém o uso do sulfato de alumínio como coagulante vindo sendo questionado pela quantidade remanescente na água e o suas consequências a saúde humana.

Os resultados foram analisados com o auxílio do programa *Statgraphics Centurion*, onde pode ser verificado o efeito das variáveis sobre a redução da turbidez, como ilustra a Figura 20.

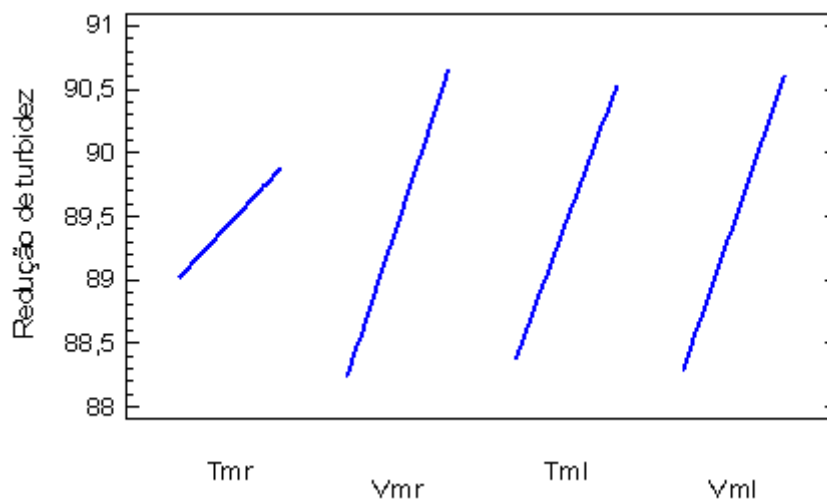


Figura 20 – Efeito das variáveis sobre a redução da turbidez.
Coagulação: Tmr: tempo de mistura rápida; Vmr: velocidade de mistura rápida;
Floculação: Tml: tempo de mistura lenta; Vml: velocidade de mistura lenta.

Na Figura 20 verifica-se que todas as variáveis têm efeito positivo sobre a redução da turbidez. Pela análise estatística verificou-se uma interação significativa ($p=0,0033$) entre o tempo de mistura rápida (coagulação) e a velocidade de mistura

lenta (floculação), portanto projetou-se a superfície de resposta em função destas duas variáveis (Figura 21).

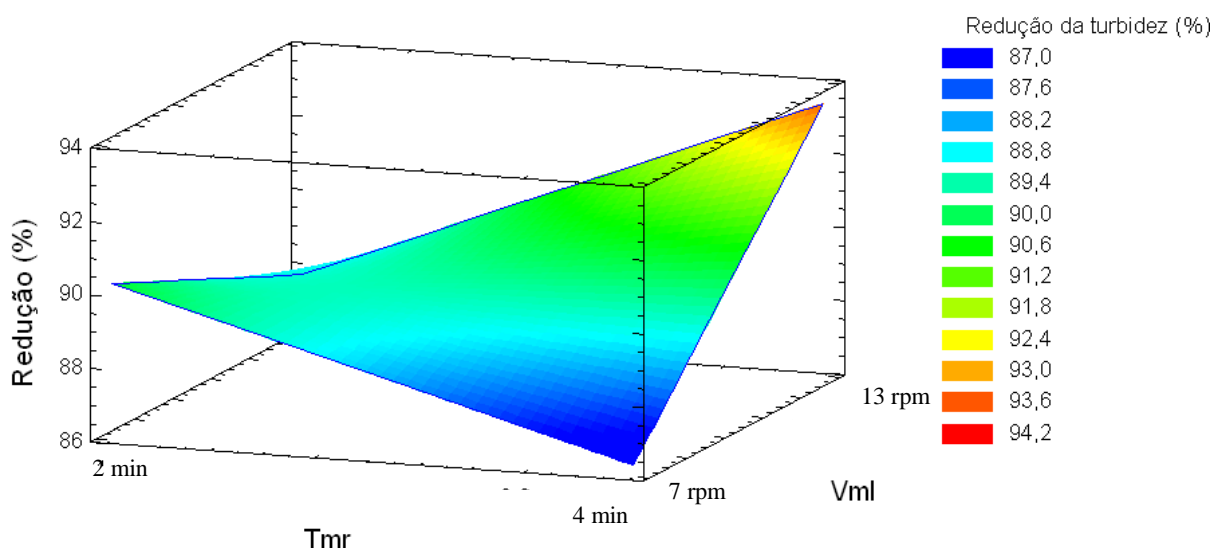


Figura 21 – Superfície de resposta (redução da turbidez) em função dos tempos de mistura rápida 2 e 4 minutos e velocidade de mistura lenta 7 e 13 rpm.

Na figura 21 verifica-se que o aumento no tempo de mistura rápida (coagulação) e na velocidade de mistura lenta (floculação) são positivos ao aumento na redução da turbidez. Portanto, a condição considerada mais adequada para continuidade dos ensaios foi a do ensaio 13 (mistura rápida 2 min, 80 rpm; mistura lenta 18 min, 13 rpm), pois alguns autores citam que com uma agitação muito intensa, as forças de cisalhamento podem causar a ruptura dos flocos e também, a partir de certo tempo de floculação, ocorre à erosão do floco (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

A remoção de células da cianobactéria *M. aeruginosa* foi acima de 75 %, porém no ensaio 13 restou uma média de $146.111 \text{ cél.mL}^{-1}$ e no ensaio 14 uma quantidade média de $157.500 \text{ cél.mL}^{-1}$ o que constata a necessidade de um tratamento complementar, pois os valores encontram-se acima da legislação, onde o valor máximo permitido é de $20.000 \text{ cél.mL}^{-1}$ (BRASIL, 2011).

Com relação ao pH foi apenas verificado nos ensaios antes e depois ficando na faixa de 7-8, pois de acordo com a literatura a *M. oleifera* não altera o pH da água tratada por não consumir alcalinidade do meio (RANGEL, 2005 *apud* CARDOSO,

2007). Para BORBA, 2001 este fato é típico dos polieletrólitos devido ao mecanismo das reações que ocorrem. Assim o pH não foi considerado um parâmetro de monitoramento da eficiência dos tratamentos aplicados.

Coral (2009) utilizou o coagulante policloreto de alumínio (PAC) para a remoção de células da cianobactéria *C. raciborskii*, chegou a uma remoção de 97,5% das células e uma redução da turbidez de 74%, porém, os as concentração de alumínio residual ficaram acima do permitido pela portaria do Ministério da Saúde nº. 2.914/2011. Assim ressalta-se o uso de coagulantes naturais como a *M. oleifera* que não deixam remanescentes de metais na água após a coagulação.

4.2.2. Avaliação da influência do tempo de sedimentação

Após a determinação das melhores velocidades e tempos de mistura foi avaliado o tempo de sedimentação. A Figura 22 apresenta os valores de remoção das células de *M. aeruginosa* e da redução de turbidez em função dos tempos de sedimentação 60, 90 e 120 minutos. Nestes ensaios utilizou-se 2 minutos para coagulação com velocidade rápida de 80 rpm, 18 minutos para floculação com velocidade lenta de 13 rpm e uma quantidade de 60 mg da solução coagulante de *M. oleifera*.

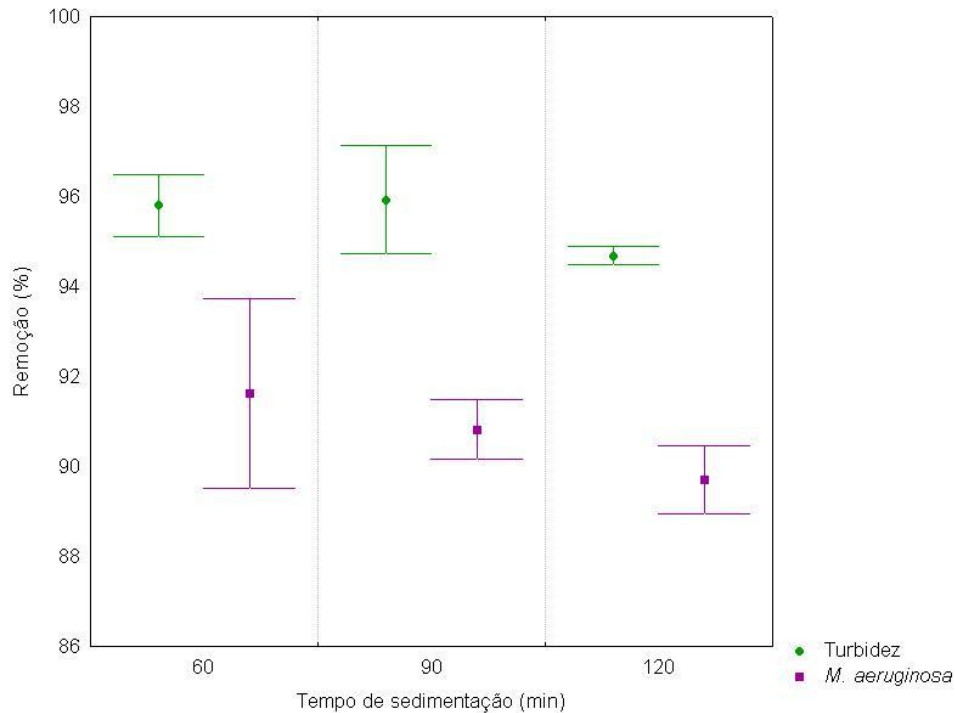


Figura 22 – Variação na remoção de células de *M. aeruginosa* e redução da turbidez em função do tempo de sedimentação, com turbidez inicial de 250 uT. Coagulação: Tmr: 2 min; Vmr: 80 rpm. Floculação: Tml: 18 min; Vml: 13 rpm.

Observa-se na Figura 22 que não há grandes variações tanto na remoção de células como na turbidez aumentando o tempo de sedimentação, pelo contrário há uma redução. Devido o aumento na redução da turbidez ser de apenas 0,13% e na remoção de células da *M. aeruginosa* ter tido uma queda de 0,80%, não se justifica esperar mais 30 minutos, portanto o tempo de 60 minutos já é suficiente, pois as remoções médias já estão acima de 90%.

Santiago (2008) comparou o uso do coagulante sulfato de alumínio e do cloreto férrico seguido de sedimentação, para remoção da cianobactéria *Microcystis protocystis*. O cloreto férrico apresentou remoção de células da cianobactéria e redução da turbidez superior ao coagulante sulfato de alumínio.

No entanto pesquisas com uso do coagulante natural quitosana, indicam que a turbidez da água clarificada com sedimentação obtida com o uso da quitosana foi menor do que a coagulada com sulfato de alumínio (CAPELETTE, 2011).

Segundo Silva (2005) *apud* Cardoso (2007) a *M. oleifera* satisfaz as características exigidas para um bom coagulante, que é a de que haja uma redução da turbidez da ordem de 90% a 95%.

A análise estatística de correlação linear dos dados de remoção da *M. aeruginosa* e redução da turbidez indicou fraca correlação ($r=0,323$) entre estas variáveis (POCINHO, 2009).

4.2.3 Avaliação da melhor dosagem da solução coagulante

A Figura 23 apresenta os valores de remoção de células de *M. aeruginosa* e a redução de turbidez da água em função da quantidade de coagulante de *M. oleifera*. Trabalhou-se com uma quantidade inicial de 40 mg até 100 mg, variando em 10 mg. A turbidez inicial utilizada também foi a de 250 uT como nos demais ensaios já realizados.

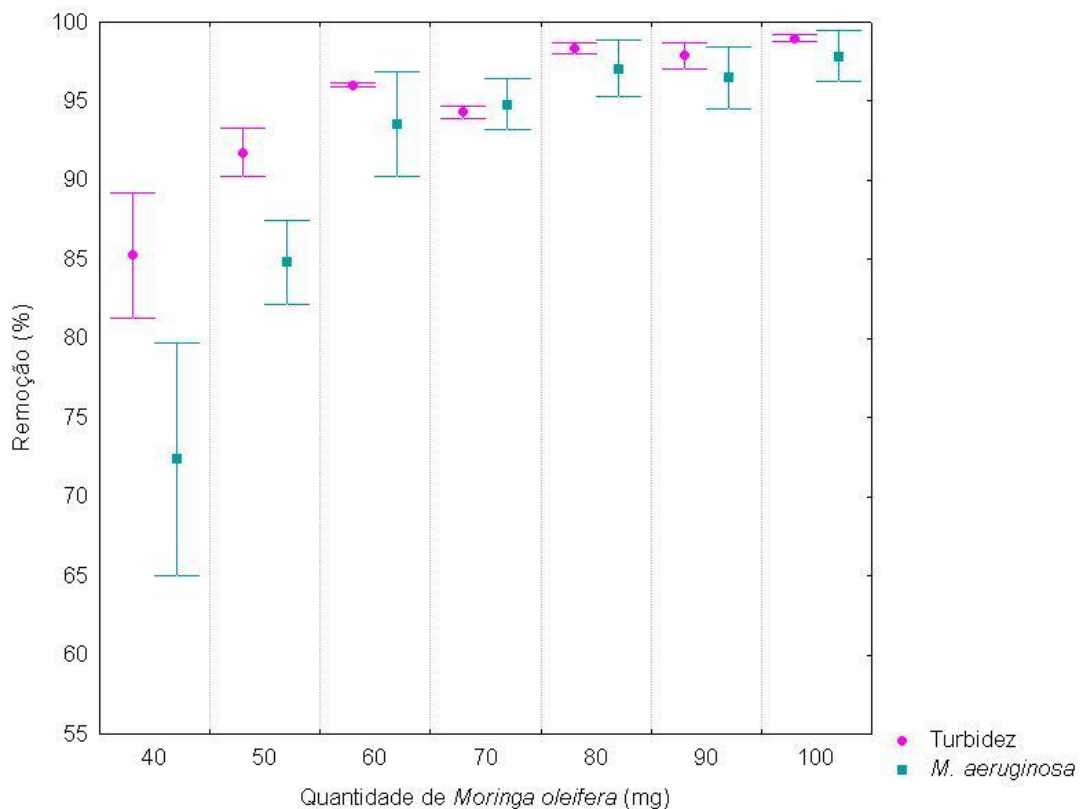


Figura 23 – Remoção das células de *M. aeruginosa* e redução da turbidez em função da quantidade do coagulante. Condições: coagulação: Tmr: 2 min; Vmr: 80 rpm; floculação: Tml: 18 min; Vml: 13 rpm; turbidez inicial 250 uT; tempo de sedimentação 60 min.

Na Figura 23 verifica-se que com o aumento da quantidade de *M. oleifera* há um aumento dos dois parâmetros analisados (*M. aeruginosa* e turbidez). Porém este aumento é maior no início diminuindo a partir de 70 mg.

Cardoso (2007) avaliou o uso da *M. oleifera* como coagulante primário com reduções de turbidez acima de 90% e como auxiliar de coagulação, juntamente com o sulfato de alumínio, reduzindo a quantidade do coagulante químico usada.

A análise estatística indicou uma correlação linear muito elevada ($r= 0,9198$) entre os valores de remoção da *M. aeruginosa* e redução da turbidez em função da quantidade da *M. oleifera* na solução coagulante (POCINHO, 2009).

4.2.4 Avaliação da turbidez inicial

A Figura 24 mostra os valores de remoção de células e da redução de turbidez da água em função da turbidez inicial (200, 250 e 300 uT).

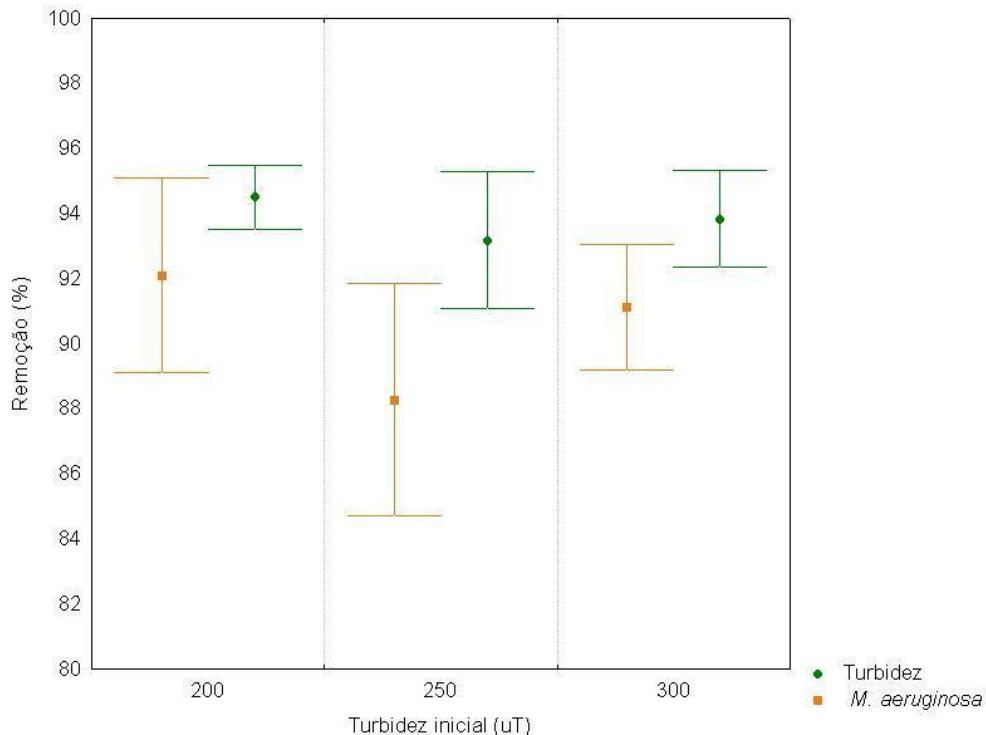


Figura 24 – Remoção das células de *M. aeruginosa* e redução da turbidez em função da turbidez inicial com a solução de *M. oleifera* (70 mg). . Condições: coagulação: Tmr: 2 min; Vmr: 80 rpm; floculação: Tml: 18 min; Vml: 13 rpm.; tempo de sedimentação 60 min.

Na Figura 24 observa-se que na turbidez que não há uma tendência da variável turbidez inicial em relação às respostas avaliadas. Pois a melhor remoção (92,1%) de *M. aeruginosa* foi com a turbidez inicial de 200 uT, e a pior (88,3%) com a turbidez inicial média de 250 uT, provando que a turbidez inicial não influencia tanto nas respostas avaliadas. Apesar da remoção da *M. aeruginosa* chegar a 92,1% para turbidez inicial de 200 uT a quantidade de células presentes na água após sedimentação ainda é de 117.083 cél.mL⁻¹, portanto faz-se necessário um tratamento complementar para atender a legislação.

A análise estatística de correlação linear indicou moderada ($r= 0,6613$) correlação entre os valores de remoção da *M. aeruginosa* e redução da turbidez (POCINHO, 2009).

Procurou-se analisar estatisticamente a influência do tempo de sedimentação, da concentração de *M. oleifera* e da turbidez inicial sobre a remoção da cianobactéria em estudo e a redução da turbidez, considerando α igual a 5%. A Tabela 10 apresenta os valores de p para o teste estatístico de *Kruskal-Wallis*, alternativa não paramétrica ao ANOVA.

Tabela 10 – Valores de p para as respostas avaliadas em função do tempo de sedimentação, concentração de *M. oleifera* e a turbidez inicial.

Variável	Remoção de cianobactéria <i>M. aeruginosa</i>	Redução da turbidez
Tempo de sedimentação	0,2881	0,0859
Quantidade de <i>M. oleifera</i>	0,0134	0,0038
Turbidez inicial	0,4298	0,4937

Na Tabela 10 verificou-se que apenas a quantidade de *M. oleifera* na solução coagulante exerce influência ($p<0,05$) na remoção da *M. aeruginosa* e na redução da turbidez (POCINHO, 2009).

Com relação à diferença entre as médias foi realizado o teste estatístico de *Kruskal-Wallis*, considerando a hipótese nula (H_0) de que não há diferença entre as médias. A Tabela 11 apresenta os valores da estatística do teste ou qui-quadrado (X^2) para a remoção da *M. aeruginosa* e a redução da turbidez, em relação as

variáveis testadas: tempo de sedimentação, quantidade de *M. oleifera* e turbidez inicial.

Tabela 11 – Valores de qui-quadrado (X^2) para estatística de *Kruskal-Wallis*.

Variável	Remoção de cianobactéria <i>M. aeruginosa</i>	Redução da turbidez	Qui-quadrado tabelado
	X^2_{cal}	X^2_{cal}	X^2_{tab}
Tempo de sedimentação	2,489	4,908	5,991
Quantidade de <i>M. oleifera</i>	16,052	19,232	12,592
Turbidez inicial	1,689	1,412	5,991

Na Tabela 11 observou-se que apenas nos ensaios da variação da quantidade de *M. oleifera* pode-se descartar a hipótese de que não há diferença entre as médias em ambas as respostas avaliadas, pois $X^2_{cal} > X^2_{tab}$. Já para as outras duas variáveis tempo de sedimentação e turbidez inicial a hipótese de que as não há diferença entre as médias não pode ser descartada ($X^2_{cal} < X^2_{tab}$).

Alguns autores (BORBA, 2001; CARDOSO, 2007) salientam a boa redução da turbidez de águas com elevada turbidez por meio da coagulação com as sementes da *M. oleifera*.

Lurling; Beekman (2010) avaliaram a inibição no crescimento da *M. aeruginosa* com filtrados de sementes de *M. oleifera* esmagadas, nas quantidades de 20 a 160 mg das sementes os crescimento foram negativos. Foi um estudo preliminar, porém já ressalta a ação antibacteriana das sementes de *M. oleifera*. Estudos indicam que a sedimentação e a desinfecção provocada pelas sementes da *M. oleifera* está associada à presença de derivados polipeptídios (SUAREZ et al., 2005).

4.3 ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DA COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO COM A MICROFILTRAÇÃO PARA REMOÇÃO DA *M. aeruginosa*.

Após a avaliação dos parâmetros de alguns fatores que influenciam no processo de coagulação/floculação/sedimentação verificou-se que os resultados foram satisfatórios, porém a densidade de células de *M. aeruginosa* ainda estavam acima do permitido pela legislação que é de 20.000 cél.mL⁻¹ (BRASIL, 2011), portanto verificou-se a necessidade de um tratamento de polimento para que a remoção fosse total e atendesse a legislação, para isto utilizou-se as membranas de microfiltração.

4.3.1 Permeabilidade à água da membrana de microfiltração

A Figura 25 apresenta a permeabilidade média à água da membrana de microfiltração usada.

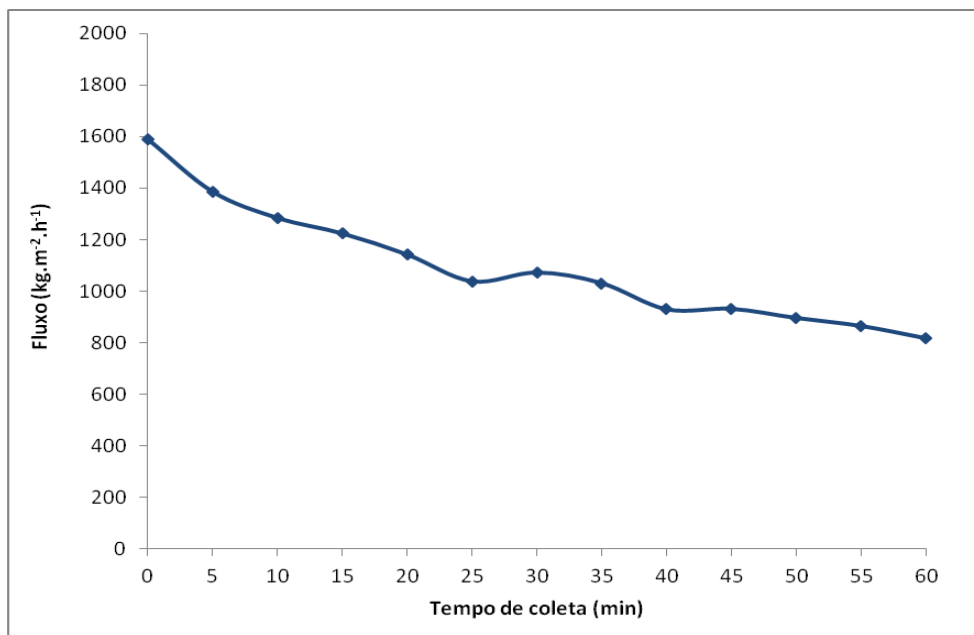


Figura 25 – Permeabilidade média à água da membrana de microfiltração com 1 h de água ultrapura a pressão de 1 Bar, e 22 ° C.

De acordo com a Figura 25 observa-se que o fluxo na permeabilidade média da membrana de microfiltração variou de 1.588,2 e 817,5 kg.m⁻².h⁻¹. Estes valores estão dentro dos encontrados na literatura para membranas de microfiltração (RIBEIRO, DE LUCA, 1998).

4.3.2 Coagulação/floculação/sedimentação com *M. oleifera* seguida de microfiltração – água do cultivo da *M. aeruginosa*.

A Figura 26 apresenta a remoção das células da *M. aeruginosa* e da redução da turbidez, após a coagulação e em função dos tempos de filtração com a membrana de microfiltração.

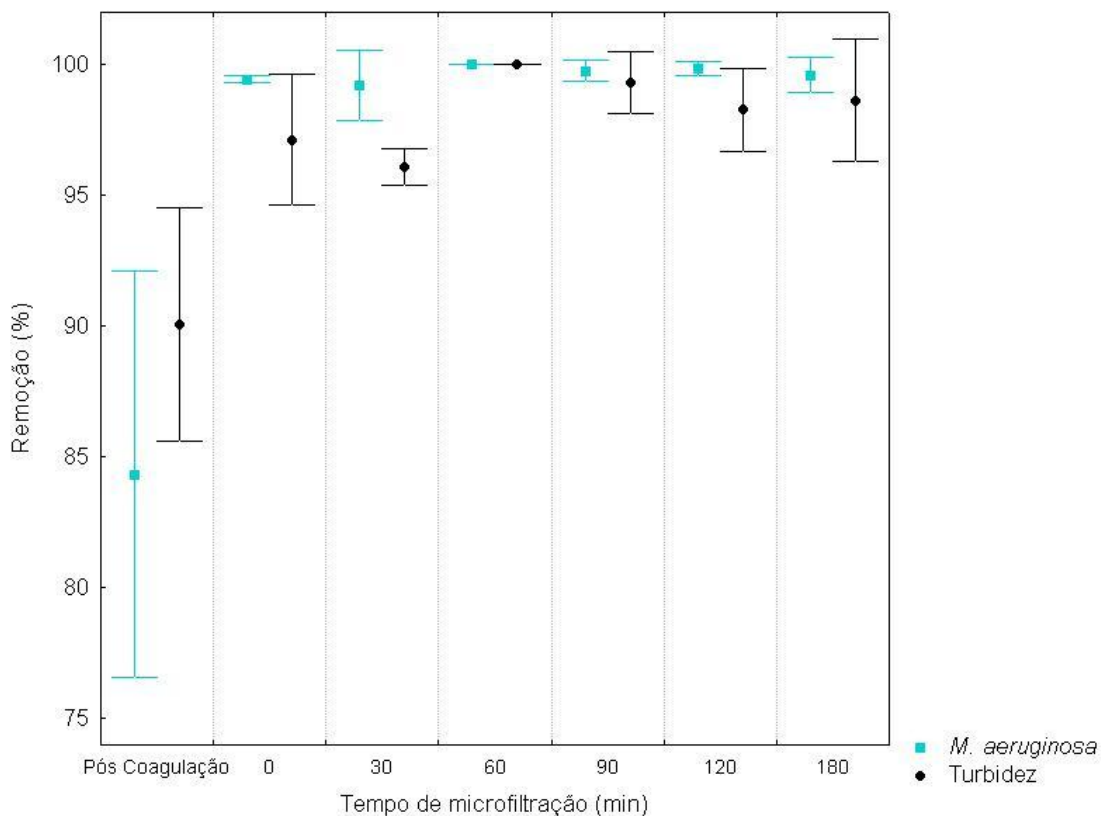


Figura 26 – Remoção de células de *M. aeruginosa* e a redução da turbidez em função do tempo de microfiltração, a pressão de 1 bar, turbidez inicial de 250 uT, 70 mg de *M. oleifera*, turbidez pós coagulação 21,3 uT – água do cultivo da *M. aeruginosa*.

De acordo com a Figura 26 consta-se que após 60 minutos de filtração com a membrana de microfiltração, ocorreu remoção de 100% das células da cianobactéria

M. aeruginosa e a turbidez chega à zero. Vale destacar que a concentração de células de *M. aeruginosa* após a coagulação era de $217.500 \text{ cél.mL}^{-1}$ e após a microfiltração chega a zero.

A remoção total da cianobactéria *M. aeruginosa* já era esperada, pois as membranas de microfiltração possuem poro de 0,1 a 10 μm , e como o diâmetro da cianobactéria medido foi de 3,5 μm , provavelmente a membrana utilizada deve ter poro inferior ao diâmetro da *M. aeruginosa*.

Durante as 5 horas de filtração, sendo 1 h de água ultrapura para promover a compactação, 3 h de amostra de água, e 1 h de água ultrapura novamente, foi verificado o fluxo do permeado. Portanto, a Figura 27 apresenta o fluxo do permeado nos três ensaios e a média do fluxo das 3 horas com a amostra nos três ensaios.

Na Figura 27 verifica-se que nos três ensaios o fluxo foi próximo ficando entre 199,3 e 243,7 $\text{kg.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$. De acordo com a Figura 27(d) observa-se que não houve grandes variações de fluxo na triplicata nas 3 horas de filtração da amostra. Portanto pode-se afirmar que o processo de limpeza das membranas entre os ensaios foi eficiente, já que as triplicatas estão semelhantes.

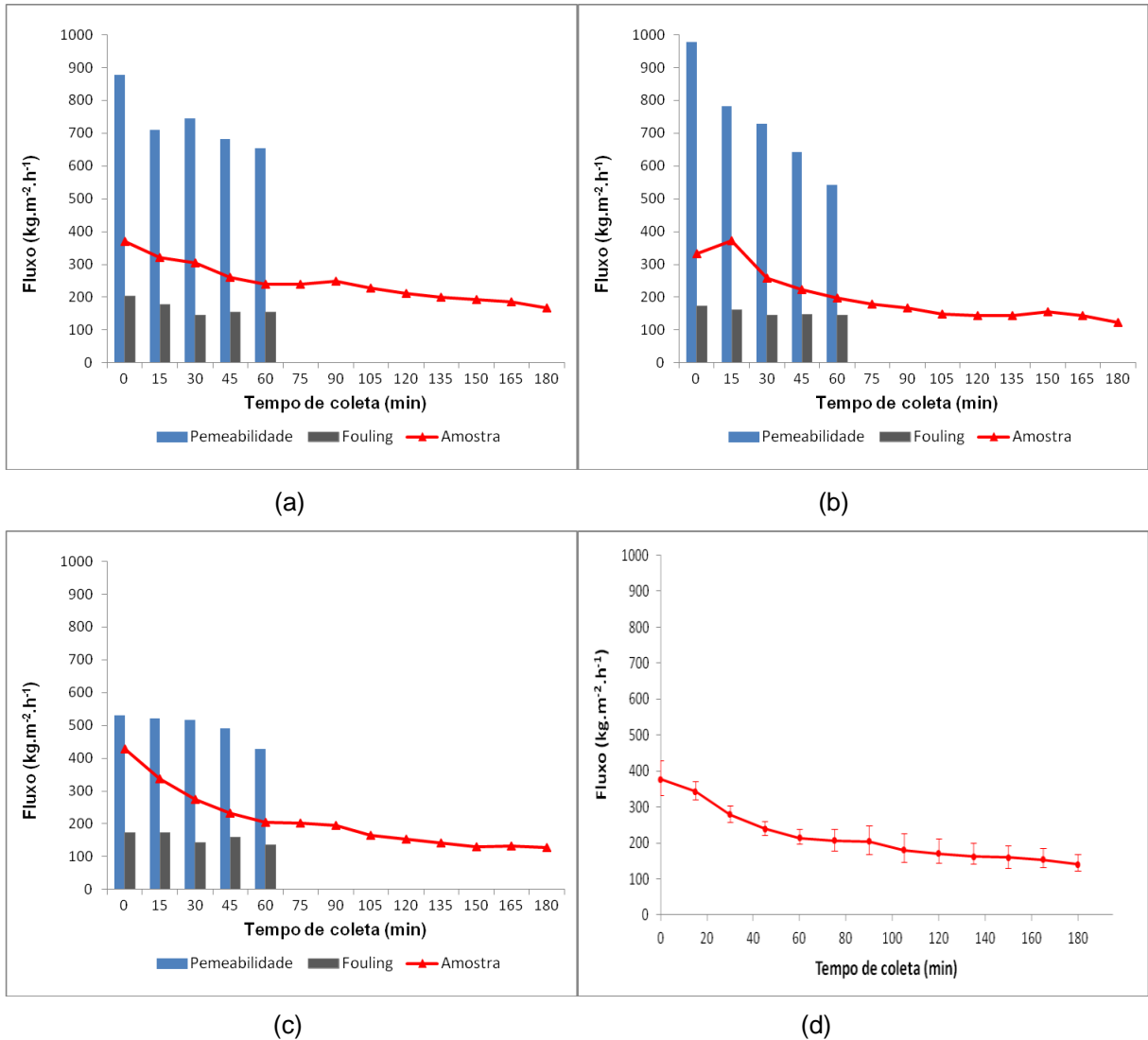


Figura 27 – Fluxo antes, durante e após a passagem da água pós coagulação (água do cultivo da *M. aeruginosa*) pela membrana de microfiltração: (a) ensaio 1; (b) ensaio 2; (c) ensaio 3; (d) fluxo médio da amostra de água pós coagulação nas 3 h de filtração a pressão de 1 Bar; temperatura média 24 °C.

4.3.3 Coagulação/floculação/sedimentação com *M. oleifera* seguida de microfiltração – água da Represa do Passaúna contaminada com *M. aeruginosa*.

Após os ensaios realizados com a água do cultivo, optou-se por repetir a mesma seqüência de tratamento coagulação/floculação/sedimentação seguida de microfiltração para a água do Passaúna contaminada com o cultivo de *M. aeruginosa*. Porém devido a uma turbidez inicial (6 uT) que esta água já tinha, foi necessário aumentar a concentração da solução coagulante de *M. oleifera* para que

a turbidez após a coagulação fosse próxima a 21,3 uT como nos ensaios com a água do cultivo da *M. aeruginosa*.

A Figura 28 apresenta a remoção de células de *M. aeruginosa* e da redução da turbidez em função concentração de *M. oleifera* da solução coagulante.

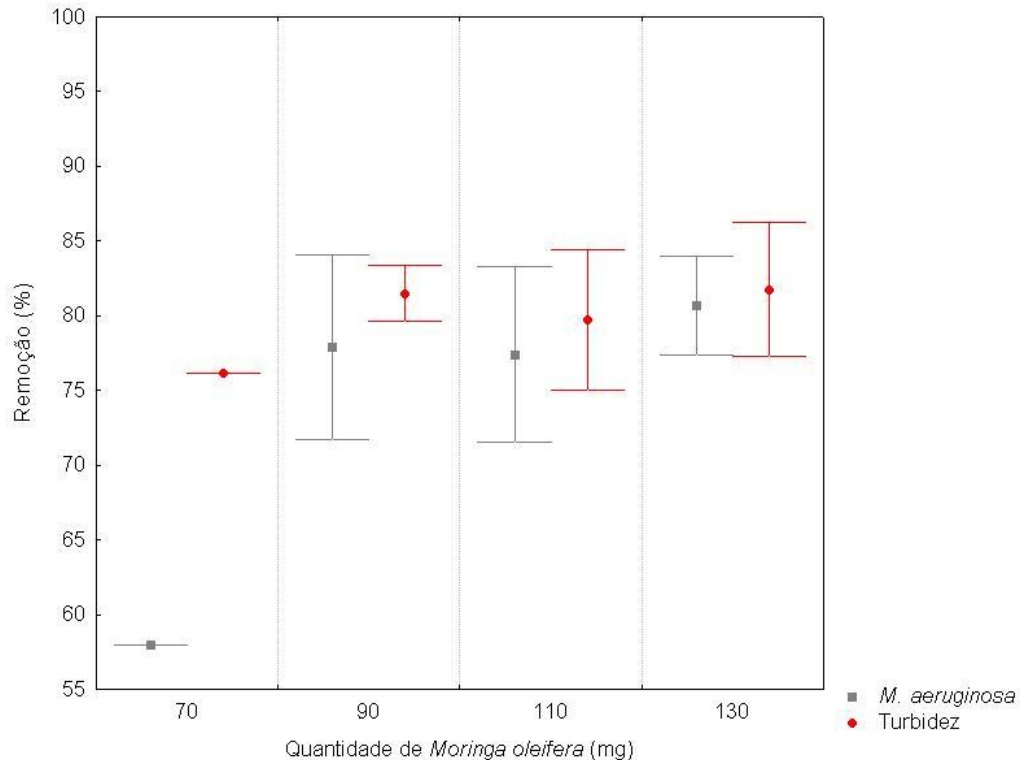


Figura 28 – Remoção de células de *M. aeruginosa* e a redução da turbidez em função da quantidade de *M. oleifera* - água do Passaúna. Condições: coagulação: Tmr: 2 min; Vmr: 80 rpm; floculação: Tml: 18 min; Vml: 13 rpm.; turbidez inicial 250 uT; tempo de sedimentação 60 min.

De acordo com a Figura 28 observa-se que o aumento na concentração da solução coagulante de *M. oleifera* aumenta a redução da turbidez principalmente, pois o objetivo foi que a turbidez no início da filtração fosse à mesma da água do cultivo próximo de 20 uT.

Assim para o processo de coagulação/floculação/sedimentação com a água do Passaúna aumentou-se a quantidade de coagulante de *M. oleifera* para 130 mg, a fim de ter uma melhor redução da turbidez para o início da microfiltração.

A Figura 29 apresenta a remoção de células da *M. aeruginosa* e a redução da turbidez após a coagulação e nos tempos de filtração com a membrana de microfiltração.

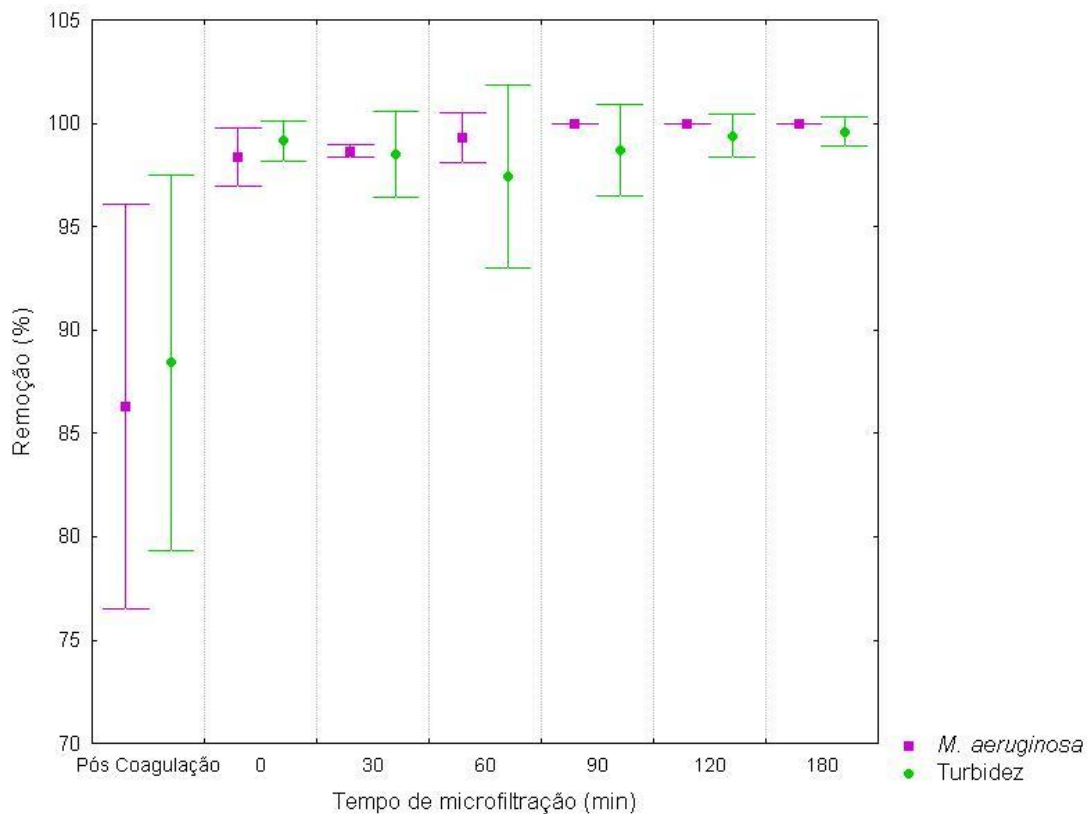


Figura 29 – Remoção de células de *M. aeruginosa* e a redução da turbidez em função do tempo (min) de microfiltração a pressão de 1 bar, turbidez inicial de 250 uT, 130 mg de *M. oleifera*, turbidez pós coagulação 23,8 uT – água do Passaúna contaminada com o cultivo de *M. aeruginosa*.

Na Figura 29 observa-se que igual aos ensaios com a água do cultivo após 60 minutos de filtração com a membrana de microfiltração tanto a remoção de células de *M. aeruginosa* como a redução da turbidez chegam a 100%. Assim comprova-se que a microfiltração foi boa para reter a concentração de $297.500 \text{ cél.mL}^{-1}$ que permaneciam após a coagulação/floculação/sedimentação.

Na figura 30 estão os gráficos com os fluxos permeados nos três ensaios e a média dos três ensaios para as três horas de filtração da amostra com a membrana de microfiltração.

A análise estatística de correlação linear dos dados de remoção da *M. aeruginosa* e redução da turbidez indicaram forte correlação entre estes parâmetros com as duas amostras de água utilizadas: $r = 0,7687$ (água do cultivo da *M. aeruginosa*) e $r = 0,7699$ (água do Passaúna contaminada com *M. aeruginosa*) (POCINHO, 2009).

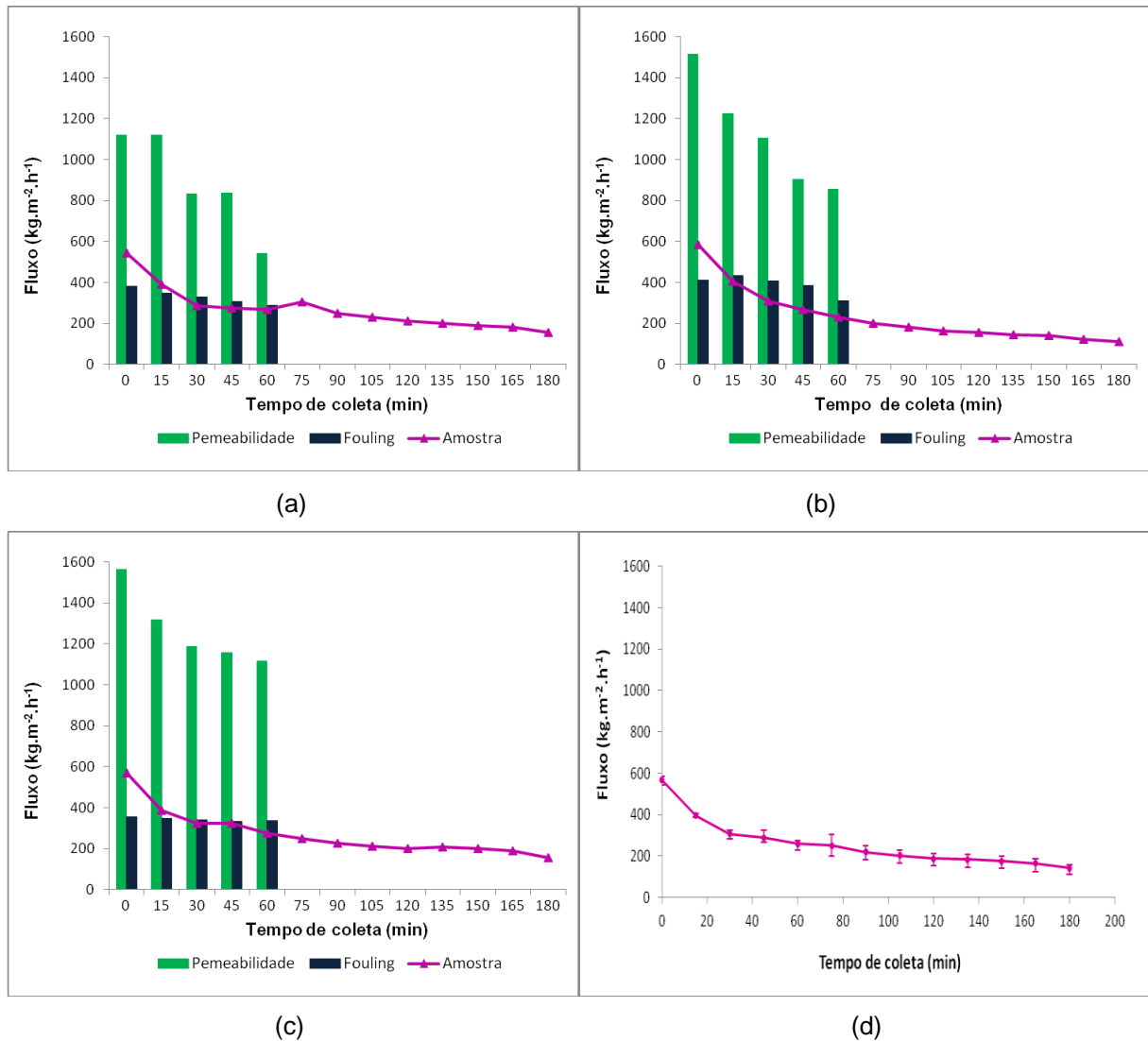


Figura 30 – Fluxo antes, durante e após a passagem da água pós coagulação (água do Passaúna) pela membrana de microfiltração: (a) ensaio 1; (b) ensaio 2; (c) ensaio 3; (d) fluxo médio da amostra pós coagulação nos três ensaios fluxo 3 h de filtração; a pressão de 1 bar, temperatura média 25°C.

De acordo com a Figura 30 verifica-se que nos três ensaios nas 3 horas de filtração da amostra não houve grandes variações de fluxo entre a triplicata. Também é possível verificar uma queda no fluxo durante o processo de filtração, segundo Bassetti (2002) isto é ocasionado por dois fenômenos que limitam o transporte dos solventes tais como, polarização por concentração, formação de uma camada de gel e a colmatagem.

O valor médio do fluxo a pressão de 1 bar para os ensaios com a água do cultivo de *M. aeruginosa* (Figura 27) ficou entre 199,3 – 243,7 $\text{kg.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$, já o fluxo médio para a água do Passaúna (Figura 30) contaminada com o cultivo ficou 232,2 –

271,1 kg.m⁻².h⁻¹. Estes valores encontram-se dentro dos apresentados por Ribeiro; De Luca (1998), para membranas de cerâmica com titânio, que com a mesma pressão que foi de 150-300 kg.m⁻².h⁻¹. Porém, estão acima do fluxo da membrana de polipropileno com 120 kg.m⁻².h⁻¹ avaliada pelos mesmos autores.

Comparando-se o fluxo permeado nos ensaios com a água do cultivo (Figura 27) e os dos ensaios com a água do Passaúna (Figura 30) verifica-se que o segundo foi maior, uma provável explicação seria o aumento na quantidade de *M. oleifera* que proporcionou este aumento no fluxo.

Analisando estatisticamente o fluxo médio das três horas da amostra dos ensaios da água do cultivo *M. aeruginosa* e da água do Passaúna contaminada com *M. aeruginosa*, pode-se considerar que não há diferenças significativas entre os fluxos médios permeados das duas águas avaliadas, pois $t_{cal} < t_{tab}$.

Procurou-se analisar estatisticamente a influência do tempo de microfiltração sobre a remoção da cianobactéria em estudo e a redução da turbidez, considerando α igual a 5%. A Tabela 12 apresenta os valores de p para o teste estatístico de *Kruskal-Wallis*, alternativa não paramétrica ao ANOVA.

Tabela 12 – Valores de p para as respostas avaliadas em função do tempo de filtração com a membrana de microfiltração.

Variável	Água do cultivo		Água do Passaúna	
	Remoção de cianobactéria <i>M. aeruginosa</i>	Redução da turbidez	Remoção de cianobactéria <i>M. aeruginosa</i>	Redução da turbidez
Tempo de microfiltração	0,483	0,1436	0,0311	0,9622

De acordo com a Tabela 12 verifica-se que a influência do tempo de microfiltração sobre a remoção da *M. aeruginosa* só ocorre na água do Passaúna, pois é o único caso onde $p < 0,05$.

Com relação à diferença entre as médias foi realizado o teste estatístico de *Kruskal-Wallis*, considerando a hipótese nula (H_0) de que não há diferença entre as médias. A Tabela 13 apresenta os valores da estatística do teste ou qui-quadrado (X^2) para a redução da *M. aeruginosa* e a redução da turbidez, em relação ao tempo de microfiltração.

Tabela 13 – Valores de qui-quadrado (X^2) para estatística de *Kruskal-Wallis*.

Variável	Água do cultivo		Água do Passaúna		Qui-quadrado tabelado X^2_{tab}
	Remoção de cianobactéria <i>M. aeruginosa</i>	Redução da turbidez	Remoção de cianobactéria <i>M. aeruginosa</i>	Redução da turbidez	
	X^2_{cal}	X^2_{cal}	X^2_{cal}	X^2_{cal}	
Tempo de microfiltração	4,4696	8,2375	12,279	1,0033	11,07

De acordo com a Tabela 13 percebe-se que somente no ensaio com a água do Passaúna pode-se descartar a hipótese de que não há diferença entre as médias para remoção de células de *M. aeruginosa*, pois $X^2_{cal} > X^2_{tab}$. Já nos demais ensaios hipótese de que as não há diferença entre as médias não pode ser descartada ($X^2_{cal} < X^2_{tab}$).

4.4 ESTUDO DA REMOÇÃO DA MICROCISTINA POR NANOFILTRAÇÃO

Após constar que a espécie de *M. aeruginosa* cultivada era produtora de microcistina, buscou-se a nanofiltração para verificar a retenção desta cianotoxina com peso molar de aproximadamente 1.000 g.mol^{-1} (LEE; WALKER, 2008).

Após a extração da microcistina conforme já descrito no capítulo 3 realizou-se a coagulação/floculação/sedimentação com a *M. oleifera* (130 mg) e na seqüência as 5 h da nanofiltração com a N-270. Amostras nos tempos 0, 30 e 180 minutos foram coletas para verificar a retenção da microcistina pela N-270.

A Figura 31 apresentação a concentração de microcistina em $\mu\text{g.L}^{-1}$ no decorrer dos tratamentos. As barras indicam o desvio padrão, já que foram realizados três ensaios.

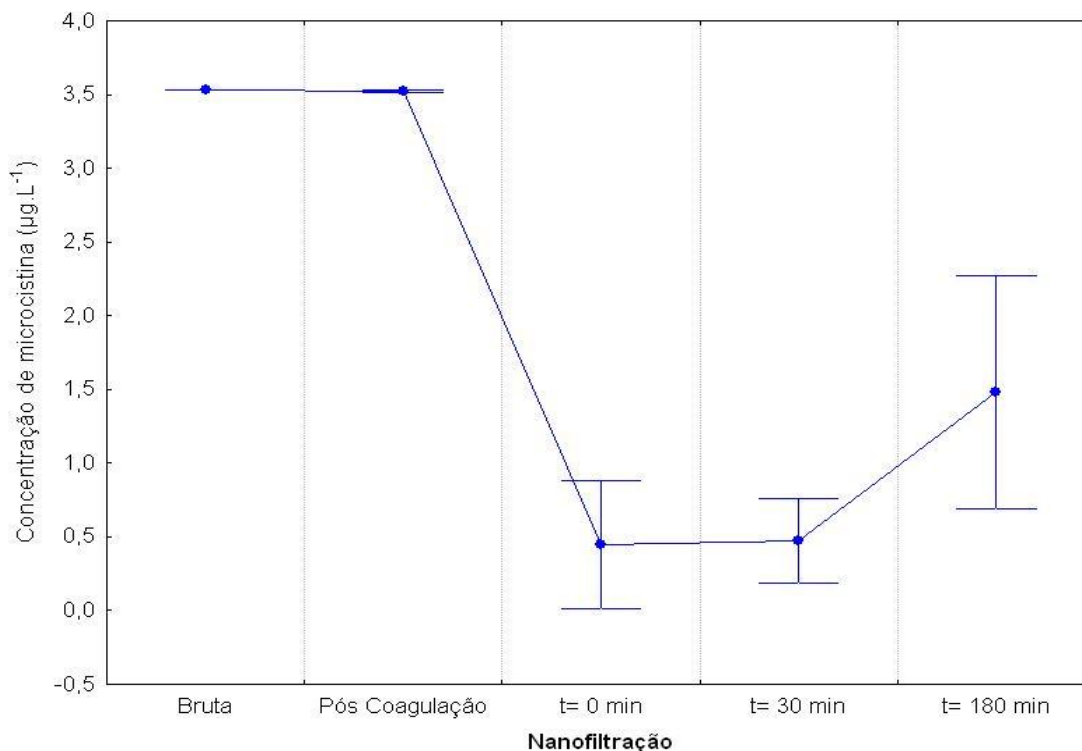


Figura 31 – Concentração de microcistina ($\mu\text{g.L}^{-1}$) no decorrer da coagulação/floculação/sedimentação e os 180 min da nanofiltração. Coagulação: Tmr: 2 min; Vmr: 80 rpm; floculação: Tml: 18 min; Vml: 13 rpm; tempo de sedimentação 60 min. Nanofiltração (N-270) por 3h, a pressão de 5 bar, temperatura média de 24 ° C.

De acordo com a Figura 31 observa-se que no processo de coagulação/floculação/sedimentação não houve nenhuma redução na concentração da microcistina. Uma provável explicação seria o fato de a microcistina apresentar um alto peso molecular e não ter uma interação com as proteínas da semente e *M. oleifera* e não formar flocos, continuando presente na água.

Até o momento os estudos de remoção de microcistinas com *M. oleifera* são escassos, limita-se ao estudo realizado por Lurling; Beekman (2010) que tiveram uma remoção de 93% a 98% da microcistina-LR com uma concentração de 10 mg.L⁻¹ de *M. oleifera*.

Já na nanofiltração com a N-270 verifica-se uma queda na concentração da microcistina nos tempos, 0 e 30, valores este que ficam abaixo da permitido pela Portaria nº. 2.914/2011 do Ministério da Saúde que é de 1,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Porém já aos 180 minutos de filtração a retenção diminui, a provável causa pode ter sido o fato de a microcistina ter adquirido uma afinidade com a membrana facilitando a passagem da toxina durante as 3 h de filtração e uma menor retenção da cianotoxina. Em

estudo semelhante com a mesma membrana (N-270) Coral (2009), não obteve uma boa eficiência na remoção de saxitoxina, a eficiência só foi conseguida com outra membrana mais fechada (N-90).

Teixeira (2005) trabalhou com a membrana de nanofiltração NTF50 de amido de polipiperazina com peso molecular de corte de 150 g.mol^{-1} para retenção de microcistina LR e obteve bons resultados tendo concentrações finais de toxina abaixo de $1,0 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$, porém destaca a importância da adição de sais por exemplo CaCl_2 , para controle do pH para um melhor desempenho da membrana.

Amorim (2008) verificou que há uma melhor retenção de saxitoxinas com membranas de nanofiltração de acetato de celulose melhor do que as de composta por poliamida e polissulfona.

Assim podemos verificar o valor da retenção média da microcistina na Figura 32, tempos de coleta 0, 30 e 180 minutos.

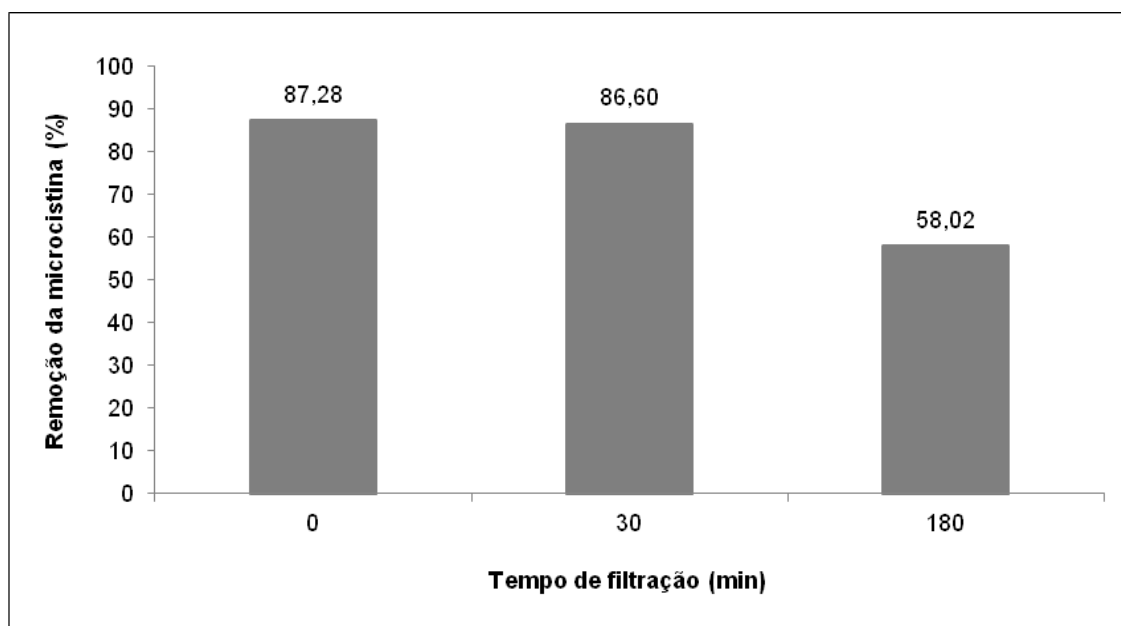


Figura 32 – Remoção (%) de microcistina no decorrer das 3 h da nanofiltração com a membrana N-270, a pressão de 5 bar, temperatura média $24 \text{ }^\circ\text{C}$.

Na Figura 32 observa-se que não ocorreu grande variação na remoção de microcistina nos tempo 0 e 30 minutos, porém aos 180 minutos já há uma queda na remoção desta toxina.

Segundo Coral (2009) no processo de nanofiltração, não é possível atribuir que a remoção das toxinas seja governada somente pelo fenômeno de exclusão por tamanho, mesmo para membranas que apresentem peso molecular de corte inferior ao peso molecular de todas as toxinas avaliadas. Para o mesmo autor este fato pode ser explicado pelo efeito de carga e hidrofobicidade, e podem estar associados ao processo de separação.

A Figura 33 apresenta o fluxo nos três ensaios realizados com a água do Passaúna contaminada com microcistina com a nanofiltração com a N-270. A permeabilidade representa a primeira hora de filtração com água ultrapura e o *fouling* a última hora de filtração com água ultrapura.

Verificou uma forte correlação ($r=0,98$) entre o tempo de nanofiltração e a remoção da microcistina (POCINHO, 2009).

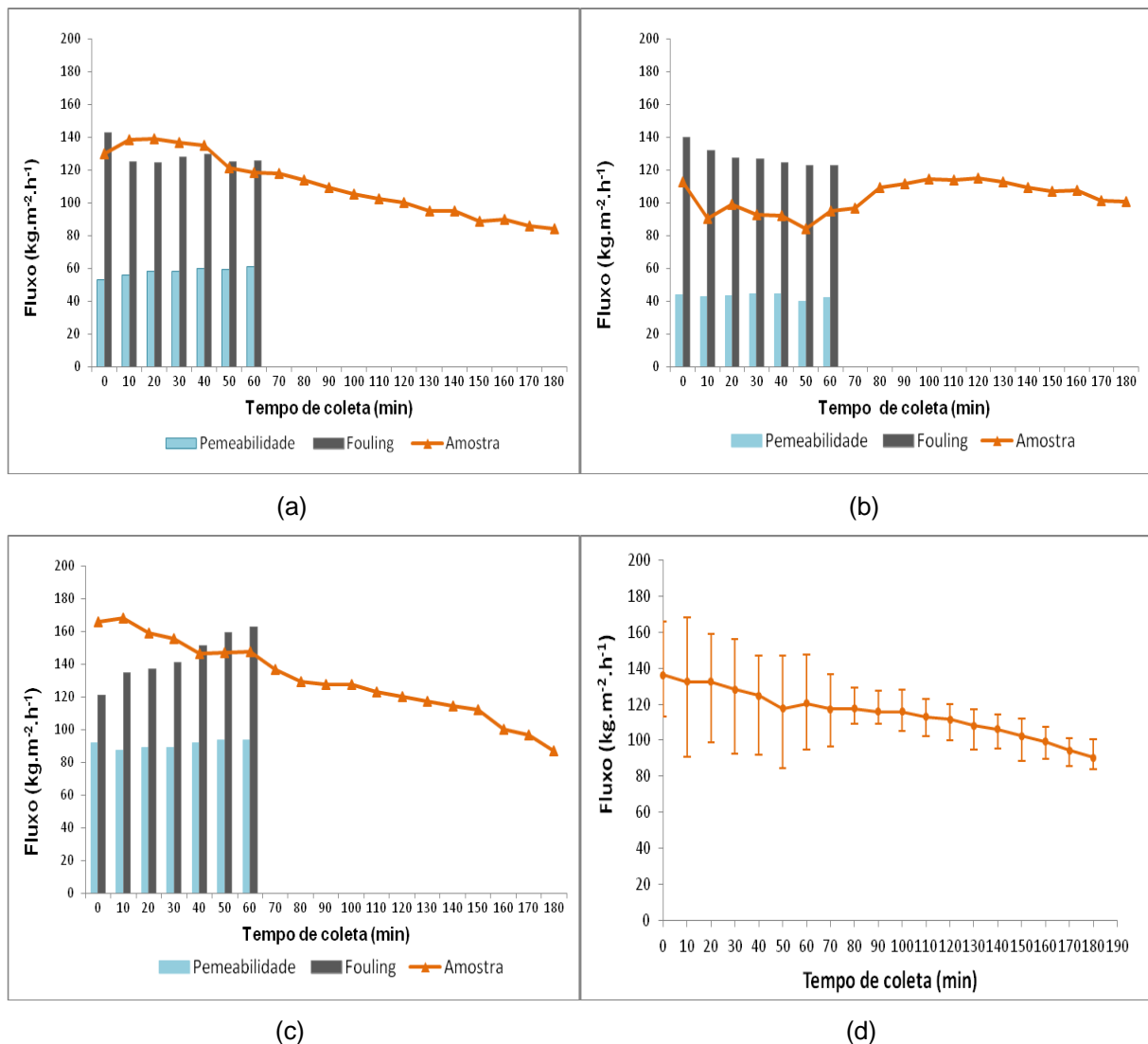


Figura 33 – Fluxo permeado nos ensaios de remoção da microcistina com a membrana de nanofiltração N-270: (a) ensaio 1; (b) ensaio 2; (c) ensaio 3; (d) fluxo médio da amostra nos três ensaios, a pressão de 5 bar, a temperatura média de 24 °C.

Segundo a Figura 33 verifica-se que o fluxo permeado médio durante a nanofiltração da amostra ficou entre 84,1 e 168,1 $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$, dentro do encontrado por Coral (2009) que trabalhou com a mesma membrana na mesma pressão e obteve um fluxo médio de 150 $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$.

Uma característica dos ensaios realizados com esta membrana foi o aumento no fluxo no *fouling* que ocorreu nos três ensaios realizados, diferentemente dos ensaios desenvolvidos por Coral (2009) com a mesma membrana onde o fluxo do *fouling* foi menor. Portanto pode-se associar este fenômeno de aumento no fluxo do *fouling* ao uso da *M. oleifera* como coagulante no pré tratamento.

No entanto, estudos já indicavam que a membrana N-270 é afetada pelo *fouling*, isto se verifica inicialmente na queda que ocorre durante as 3 horas de filtração da amostra (NGAHIEM; HAWKES, 2009).

Por fim verificou-se que a *M. oleifera* pode ser usada como coagulante em substituição aos coagulantes químicos com resultados satisfatórios para remoção de *M. aeruginosa* e redução da turbidez da água.

Os processos de separação por membranas no caso a microfiltração e nanofiltração, atingiram o objetivo de retenção total da *M. aeruginosa* e parcial das microcistinas.

Apesar dos ensaios terem sido realizados em escala de bancada verifica-se um futuro promissor das sementes de *M. oleifera* como coagulante natural para o tratamento de água para abastecimento público.

5. CONCLUSÕES

Considerando os objetivos iniciais deste trabalho tendo como princípio a avaliação dos processos de coagulação/floculação/sedimentação, microfiltração e nanofiltração, de forma individualizada e associados e os resultados obtidos, algumas conclusões podem ser destacadas:

O cultivo em laboratório da cianobactéria *M. aeruginosa* (BB005) teve sucesso apesar dos problemas operacionais ocorridos, que serviram para verificar a importância parâmetros (água, luz, temperatura) que influenciam para um bom desenvolvimento da espécie. Foi possível desenvolver curvas de crescimento com diferentes concentrações de inóculos para verificar o melhor crescimento assim como as fases exponenciais. De acordo com os resultados do crescimento também foi possível verificar a importância da aeração para cultivos de grandes volumes.

Melhores remoções médias (95,6%) de células de *M. aeruginosa* foram obtidas com tempo de mistura rápida 2 minutos, velocidade rápida de 80 rpm na coagulação e tempo de mistura lenta de 18 minutos, velocidade lenta de 13 rpm para floculação e 60 mg de *M. oleifera*. Estatisticamente verificou-se influência das variáveis (tempo e velocidade) de floculação para as respostas avaliadas.

A melhor redução média (97,7%) da turbidez foi encontrada quando o tempo de mistura rápida foi de 2 minutos e velocidade rápida de 105 rpm para coagulação e tempo de mistura lenta de 18 minutos e uma velocidade lenta de 13 rpm para floculação, com 60 mg de *M. oleifera*. Para esta resposta avaliada a estatística indica influência positiva de todas as variáveis (tempos, e velocidade) sobre a redução da turbidez.

Com relação as variáveis (tempo de sedimentação, quantidade de coagulante e turbidez) avaliadas individualmente que influenciam na eficiência do tratamento, verificou-se que apenas a quantidade de *M. oleifera* na solução coagulante influencia na remoção de *M. aeruginosa* e na redução da turbidez. Enquanto que os resultados do tempo de sedimentação e a turbidez inicial não foram significativos ($p < 0,05$). Os valores de remoção acima de 90% para cianobactéria e turbidez indicam uma boa eficiência comparado a outros coagulantes.

Assim foi possível confirmar o bom desempenho do uso da *M. oleifera* como coagulante natural frente a outros coagulantes utilizados hoje como o sulfato de alumínio.

A associação do processo de coagulação/floculação/sedimentação estudado inicialmente com a microfiltração através da membrana de microfiltração demonstrou-se satisfatória, pois as remoções variaram de 99,2-100% para remoção de *M. aeruginosa* e 96,1-100% para redução da turbidez.

A aplicação do processo desenvolvido com a água da Represa do Passaúna-PR que foi contaminada com o cultivo da *M. aeruginosa* também remoções da ordem de 98,4-100% para *M. aeruginosa* e de 97,4-100% na redução da turbidez. Porém foi necessário um aumento de 70 mg para 130 mg na quantidade de *M. oleifera* para os ensaios com água da Represa do Passaúna-PR, pois a turbidez após a sedimentação foi maior. Com relação ao fluxo permeado não houve diferenças significativas entre os ensaios com a água do cultivo da *M. aeruginosa* somente e da Represa do Passaúna-PR que foi contaminada com o cultivo da cianobactéria .

Na maioria dos ensaios tanto de coagulação/floculação/sedimentação e de microfiltração obteve-se uma forte correlação ($0,7 < r < 0,89$) entre as respostas avaliadas, provando que a redução da turbidez é comprovada pela redução do número de células de cianobactérias.

A coagulação/floculação com a solução de *M. oleifera* (130 mg) não foi eficiente na remoção das microcistinas. Já a nanofiltração com a N-270 demonstrou-se eficiente, apesar do método de quantificação ser semiquantitativo, constatou-se que a concentração de microcistina no permeado está abaixo do valor permitido pela legislação de $1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ para os tempos de 0 e 30 minutos de filtração à pressão de 5 bar. Porém, no tempo de 180 minutos houve uma redução na retenção da microcistina, pois após 30 min a concentração foi de $0,47 \mu\text{g.L}^{-1}$ e em 180 min passou para $1,48 \mu\text{g.L}^{-1}$ valor acima do permitido pela Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde, esta diminuição na retenção da toxina pode estar associado ao efeito de carga e a hidrofobabilidade da membrana.

A partir das conclusões expostas, pode-se contemplar que a coagulação/floculação/sedimentação com *M. oleifera*, a microfiltração e a nanofiltração são eficientes na remoção da cianobactéria *M. aeruginosa* e as microcistinas da água.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como proposta para trabalhos futuros sugere-se:

- ◆ Construção de um diagrama de coagulação com a *M. oleifera* para remoção de células de cianobactérias;
- ◆ Determinação da curva de proteínas da solução de *M. oleifera* utilizada para coagulação;
- ◆ Avaliação de outras membranas planas de microfiltração e de nanofiltração;
- ◆ Utilização de outra metodologia para análise das microcistinas como: HPLC ou LC-MS;
- ◆ Utilizar módulo de filtração tangencial;
- ◆ Realizar o processo de microfiltração e na sequência a nanofiltração.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Cláudia Cristina S. **Avaliação do crescimento, padrões metabólicos e capacidade fotossintética de *Microcystis panniformis* Komárek et al. (Cianobactéria) e *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov (Chloophyta) em fontes de nitrogênio inorgânicas e orgânicas.** 2007. 76p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2007.

AMORIM, Álvaro Manuel Gomes. **Acumulação e depuração de microcistinas por *Mytilus galloprovincialis* Lamarck.** 1997. 69p. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada). Faculdade de Ciências – Universidade do Porto, Porto, 1997.

ANADÃO, Priscila. **Ciência e Tecnologia de Membranas.** São Paulo: ArtLiber, 199p., 2010.

ANDREOLI, Cleverson V.; CARNEIRO, Charles. **Gestão Integrada de Mananciais de Abastecimento Eutrofizados.** Curitiba: Sanepar Finep, 2005.

ARRANTES, Camila Clementina. **Utilização de coagulantes naturais à base de sementes de *Moringa oleifera* e Tanino como auxiliares da filtração em mantas não tecidas.** 2010. 128p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura, e Urbanismo – UNICAMP, Campinas, 2010.

AZEVEDO, Sandra M. F. O. Toxinas de cianobactérias: causas e conseqüências para a saúde pública. **Medicina On line – Revista Virtual de Medicina**, v. 1, n. 3, 1998.

AZEVEDO, Sandra. M. F. O.; CHARMICHAEL, Wayne W.; JOCHIMSEN, Elise M.; RINEHART, Kenneth L.; LAU, Sharon; SHAW, Glen R.; EAGLESHAM, Geoff K. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru/Brazil. **Toxicology**, v. 181-182, p. 441-446, 2002.

AZEVEDO, M. T. P.; SANTA`NNA, C. L. Sphaerocavum brasiliense, a new planktic genus and species of Cyanobacteria from reservoirs of São Paulo State, Brazil. **Algological Studies** n. 109, p. 79-92, 2003.

BASSETTI, Fátima Jesus. **Preparação, caracterização e aplicação de membranas poliméricas microporosas assimétricas,** 2002. 180p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Materiais). – Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP, Campinas, 2002.

BERGAMASCO, Rosangela; MORAES, Leila Cristina K.; CARDOSO, Karina C.; VIERA, Angélica M. S.; MADRONA, Grasielle S.; KLEN, Márcia Regina F. **Diagramas de Coagulação utilizando a *Moringa Oleifera* Lam e o sulfato de alumínio, visando à remoção de cor e turbidez da água.** In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 25, 2009. Anais do 25º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Recife –PE, 2009. p. 1-7.

BERGAMASCO, Rosangela; BASSETTI, Fátima de Jesus; MORA, Norma D; NISHI, Letícia; MADRONA, Grasielle S.; GUILHERME, Ana Lúcia F.; VIERA, Angélica M. S.; WURZLER, Gleicielle T.; SILVA, Fernando A.; ARAÚJO, Álvaro Alberto. **Remoção de células de cianobactérias (*Microcystis protocystis*) pelo processo de coagulação/floculação com coagulante natural *Moringa Oleifera* Lam.** In: Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitária y Ambiental, 32, 2010, Punta Cana-Republica Dominicana. Anales do XXXII Congreso de Punta Cana, 2010. p. 1-5.

BERNHARDT, H.; CLASEN, J. Flocculation of microorganisms. **Jounal Water SRT – Aqua**, v. 40, p. 76-86, 1991.

BICUDO, Carlos E. M.; MENEZES, Mariângela. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil.** Chave para identificação e descrições. São Carlos: Rima. p. 508, 2005.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, Maria C.; MOLICA, Renato. Cianobactéria invasora: aspectos moleculares e toxicológicos de *Cylindrospermopsis* no Brasil. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Ed. nº 30, p. 82-90, 2003.

BRASIL. **Ministério da Saúde.** Consultas Públicas: Revisão da Portaria 518/2004. Disponível em:
<http://200.214.130.94/consultapublica/index.php?modulo=display&sub=dsp_consulta>. Acessado em 11 de abril de 2011.

BRASIL. Ministério das Cidades. **Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento.** Brasília, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral da Vigilância em Saúde Ambiental. **Portaria nº. 518**, 2004. 34 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água consumo humano.** Brasília, 2003. 56 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral da Vigilância em Saúde Ambiental. **Portaria nº. 2.914 de 12 de dezembro de 2011.** 32 p.

BONGIOVANI, Milene Carvalho; KONRADT-MORAES, Leila Cristina; BERGAMASCO, Rosângela; LOURENÇO, Beatriz Sayuri Sakaniva; TAVARES, Célia Regina Granhen. **Os benefícios da utilização de coagulantes naturais para obtenção de água potável.** Acta Scientiarum. Technology Maringá, v. 32, n. 2 p. 167-170, 2010.

BORBA, Luís Ramos. **Viabilidade do uso da *Moringa oleifera* Lam no tratamento simplificado de água para pequenas comunidades.** 2001. 93 p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2001.

BROOKES, J. D.; GANF, G. G. Variations in the buoyancy response of *Microcystis aeruginosa* to nitrogen, phosphorus and light. **Journal Plankton Research.** V. 23, 1399-1411 p. 2001.

CABEÇADAS, Leonor. Tabela de **Valores-Guia Normalizada de Biovolume (Cianobactérias).** Laboratório de Referência do Ambiente. Agencia Portuguesa do Ambiente, 2009.

CALIJURI, Maria do Carmo; ALVES, Michela Suely A.; SANTOS, André C. A. **Cianobactérias e Cianotoxinas em águas continentais.** São Carlos: Rima, 118 p. 2006.

CAMPOS, J., COLINA, G., FERNANDEZ, N., TORRES, G., SULBARÁN, B., OJEDA, O. **Caracterización Del Agente Coagulante Activo de las Semillas de *Moringa oleifera* mediante HPLC.** 2003. Disponível em: <<http://www.serbi.luz.edu.ve/scielo.phd?>>. Acesso em 15 de novembro de 2011.

CAPELETTE, Bruna C. **Emprego da quitosana como coagulante no tratamento de água contendo *Microcystis aeruginosa* – Avaliação da eficiência e formação de Trihalometanos.** 2011. 127 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

CARDOSO, Karina Cordeiro. **Estudo do processo de coagulação/floculação por meio da *Moringa oleifera* Lam para a obtenção de água potável.** 2007. 123 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2007.

CARDOSO, Karina C.; BERGAMASCO, Rosângela; COSSICH, Eneida S. MOREAES, Leila Cristina K. Otimização dos tempos de mistura e decantação no

processo de coagulação/floculação da água bruta por meio da *Moringa Oleifera* Lam. **Acta Scientiarum Technology**. Maringá, v. 30, n. 2, p. 193-198, 2008.

CARNEIRO, R. L. **Otimização de cultivo de *Microcystis aeruginosa* Kütz Emend. Elekin (Cianobactéria) e *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya & Subba Raju (Cianobactéria) para produção de padrões de microcistina-LR e cilindrospermopsina**. 2005. 113 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Vegetal) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

CARVALHO; Luciana R.; SANT'ANNA, Célia; GEMELGO, Marcina C. P.; AZEVEDO, Maria Tereza P. Cyanobacterial occurrence and detection of microcystin by planar chromatography in surface water of Billings and Guarapiranga Reservoirs, SP, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**. V. 30, n. 1, p. 141-148, 2007.

CHENG, Wen Po.; CHI, Fung-Hwa. Influence of eutrophication on the coagulation efficiency in reservoir water. **Chemosphere**, v. 53, p. 773-778, 2003.

CHORUS, Ingrid; BARTRAM, Jamie (Eds.). **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. London and New York: E & FN SPON, WHO. 1999. 416 p.

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

CORAL, Lucila Adriani. **Remoção de Cianobactérias e Cianotoxinas em águas de abastecimento pela associação de flotação por ar dissolvido e nanofiltração**. 2009. 199 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº. 357 de 17 de março de 2005**. Ministério do Meio Ambiente, 23 p. 2005.

CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº. 430 de 13 de maio de 2011**. Ministério do Meio Ambiente, 8 p. 2011.

DAHLMANN, Jens; Luckas, B. **Microcystin analysis in drinking and surface water using a highly sensitive LC/MS/MS direct injection technique**. Application note, Applied Biosystems. 2005.

DI BERNARDO, Luiz; DANTAS, Angela Di Bernardi. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. 2ª ed. Vol. 1. São Carlos: RiMa, 2005.

DI BERNARDO, Luiz; SABOGAL PAZ, Lyda Patrícia. **Seleção de Tecnologias de Tratamento de Água**. Vol. 1. São Carlos: LDiBe, 2008.

DI BERNARDO, Luiz; MINILLO, Alessandro; DANTAS, Angela Di Bernardo. **Florações de algas e de cianobactérias: suas influências na qualidade da água e nas tecnologias de tratamento**. São Carlos: LDiBe, 2010.

DOMANY, Zoltan; GALAMBOS, Ildiko; VATAI, Gyula; MOLNAR, Erika B. Humic substances removal from drinking water by membrane filtration. **Desalination**. v. 145, p. 333-337, 2002.

DAWSON, R. M. The toxicology of microcystins. **Toxicon**. v. 16, p. 953-962, 1998.

ESTEVEES, Francisco A. **Fundamentos de Limnologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

FERNANDES, L. F.; WOSIACK, A. C.; PACHECO, C. V.; DOMINGUES, L.; LAGOS, P. D. Cianobactérias e Cianotoxinas. In: ANDREOLI, Cleverson V.; CARNEIRO, Charles. **Gestão Integrada de Mananciais de Abastecimento Eutrofizados**. Curitiba: Sanepar Finep, 2005. p. 369-388.

FERNANDES Manoela L.; JANISSETTI, Tâmara C. **Uso de coagulante alternativo e membranas para potabilização da água**. 2011. 53 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Processos Ambientais) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

FERREIRA, Tanare Cambraia Ribeiro. **Macrófitas aquáticas na remoção de Microcistinas**. 2009. 98p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2009.

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

GERDES, G., 1997, **Como Limpar e Tratar Água Suja com Sementes da *Moringa oleifera***. Fortaleza, Centro de Pesquisa e Assessoria – ESPLAR.

GONÇALVES, Ricardo F. **Desinfecção de efluentes sanitários**. Rio de Janeiro: ABES, RIMA, p. 438, 2003.

GORHAM, P. R.; MILACHLAV, J. R.; HAMMER, V. T.; KIM, W. K. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) de Bréb. **Verh. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol.**, n. 15, p. 796–804, 1964.

HABERT, Alberto C.; BORGES, Cristiano P.; NÓBREGA, Ronaldo. **Processos de separação com membranas**. Rio de Janeiro: E-papers, 2006.

HARADA, K. I.; TSUJI, K.; WATANABE, M. F. Stability of microcystins from cyanobactéria. III Effect of pH and temperature. **Phycologia**. v. 35, n. 6, p. 83-88.

HILAL, N.; AL-ZOUBI, H.; DARWISH, N. A.; MOHAMMAD, A. W. Characterisation of nanofiltration membranes using atomic force microscopy. **Desalination**, v. 177, p. 187-199, 2005.

HILLIS, P.; PADLEY, M. B.; POWELL, N. I.; GALLAGHER, P. M. Effects of backwash conditions on out-to-in membrane microfiltration. **Desalination**. v. 118, p. 197-204, 1998.

ITO, Emiko; KONDO, Fumio; HARADA, Ken-Ichi. First report on the distribution of orally administered microcystin-LR in mouse tissue using an immunostaining method. **Toxicon**. v. 38, p. 37-48, 2000.

JACINAVICIUS, Fernanda Rios. **Efeitos da temperatura, irradiação e competição no crescimento e na produção de cianotoxinas da cepa SPC777 – *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing Cyanobacteria**. 2010. 92p. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) Instituto de Botânica da Secretaria de Meio Ambiente, São Paulo, 2010.

JAHN, S. A. A. Monitored Water Coagulation with *Moringa* Seeds in Village Households. **GTZ: Gate**. n. 1/89 (May), p. 40-41, 1989.

JULIO, Marcelo; FIORAVANTE, Diego; SELHORST FILHO, Osmar; JULIO, Tatiane; OROSKI, Fabiano. Avaliação da remoção de cianobactérias e saxitoxinas da água bruta afluente à ETA Pitangui de Ponta Grossa/PR, utilizando os diagramas de coagulação para o cloreto férrico e o reagente de fenton. **HOLOS Environment**, v. 9, n.2, p.254, 2009.

KAPPERS, F. I. **On population dynamics of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa***. PhD thesis, University of Amsterdam, 1984.

LAGOS, Patricia Ester Duarte. **Fitoplâncton no reservatório Iraí, PR com ênfase em cianobactérias: variação sazonal em relação às variáveis ambientais**. 2009. 104 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009

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

LEFFLAIVE, J.; TEN-HAGE, L. Algal and cyanobacterial secondary metabolites in freshwater: a comparison of allopathic compounds and toxins. **Freshwater Biology**, v. 52, p. 199-214, 2007.

LIBÂNIO, Marcelo. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água**. 3ª ed. Campinas: Átomo, 2010.

LOPES, Cristiane N.; PETRUS, José C.; RIELLA, Humberto G. Color and COD retention by nanofiltration membranes. **Desalination**, v. 172, p. 77-83, 2005.

LÓPEZ-MUÑOZ, María J.; SOTTO, A.; Arcádio; ARSUAGA, J. M.; BRUGGEN, B. V. Influence of membrana, solute and solution properties on the retention of phenolic compounds in aqueous solution by nanofiltration membranas. **Separation and Purification Technology**. v. 66, p. 194-201, 2008.

LURLING, M.; BEEKMAM, W. Anti-cyanobacterial activity of *Moringa oleifera* seeds. **Journal of Applied Phycology**. v. 22, p. 503-510, 2010.

MACHADO, Andrea Ferreira. **Ozonização no tratamento da água para remoção de microcistina-LR e validação do método de análise por LC-MS/MS**. 2008. 101 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

MADAENI S. S. The application of membrane technology for water disinfection. **Water Research**. v. 33 (2), p. 301-308, 1999.

MELO, Ana E. S. **Avaliação da filtração lenta na remoção de células de *Cylindrospermopsis raciborskii* e saxitoxinas**. 2006. 197p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

MELO FILHO, Luiz C. **Avaliação da ozonização como pré ou pós-tratamento à filtração direta descendente na remoção de cianobactérias e saxitoxinas**. 2006. 283 p. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

MERILUOTO, J. Chromatography of microcystins. **Analytica Chimica Acta**. V. 352, p. 277-298, 1997.

MIERZWA, J. C. Processos de separação por membranas para tratamento de água. In PÁDUA, VL. **Contribuição ao estudo da remoção de cianobactérias e microcontaminantes orgânicos por técnicas de tratamento de água para consumo**. Rio de Janeiro: ABES, 2006.

MINILLO, A.; FERREIRA, A. H.F.; YOGUI, G. T.; YUNES, J. S. Concentrações de Microcistinas e Toxicidade nas formas Coloniais de *Microcystis Aeruginosa* de Florações no Estuário da Lagoa dos Patos, RS. In: ESPÍNDOLA, Evaldo Luis Gaeta et al. **Ecotoxicologia: Perspectivas para o Século XXI**, São Carlos Rima, 2000. p. 521-536.

MOISANDER, Pia H.; OCHIAI, Mari; LINCOFF, Andrew. Nutrient limitation of *Microcystis aeruginosa* in northern Califórnia Klamath River reservoirs. **Harmful Algae**, v. 8, p. 889-897, 2009.

MORAES, Danielle S. L.; JORDÃO, Berenice Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, p. 470-474, 2002.

MORAES, Leila Cristina Konradt. **Estudo da coagulação-ultrafiltração com o biopolímero quitosana para produção de água potável**. 2004. 138p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, 2004.

MORAES, Leila Cristina Konradt; BERGAMASCO, Rosangela; TAVARES, Célia Regina Granhen; RIBEIRO, Rosa Maria. **Utilização do polímero natural quitosana no processo de coagulação/floculação/ultrafiltração para produção de água potável**. In: 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005, Campo Grande - Mato Grosso. Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005, p. 1-8.

NASCIMENTO, Jailton F. **Avaliação de membranas de osmose inversa no tratamento de águas de purga de torres de refrigeração de indústria petrolífera com finalidade de reuso.** 2004. 117p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.

NDABIGENGESERE, A.; NARASIAH, K. S.; TALBOT, B. G. **Active agents and mechanism of coagulation of turbid waters using *Moringa oleifera*.** Water Research, vol. 29, nº 2, pp. 703-710, 1995.

NICHOLSON, B. C.; BURCH, Michael D. **Evaluation of analytical methods for detection, and quantification of cyanotoxins in relation to australian drinking water.** NHMRC-CRC. 2001.

NISHI, L.; MADRONA, G. S.; GUILHERME, A. L. F.; VIERA, A. M. S.; ARAÚJO, A. A.; UGRI, M. C. B. A.; BERGAMASCO, R. **Cyanobacteria Removal by Coagulation/Flocculation with Seeds of the Natural Coagulant *Moringa oleifera* Lam.** *Chemical Engineering Transactions*, 24, 1129-1134, 2011.

NOBREGA, R. **Processos de separação com membranas e suas aplicações em biotecnologia.** 2º **Seminário Nacional de Tecnologia Enzimática.** Rio de Janeiro: ENZITEC, 1995.

OLIVEIRA, Jailma Marinho Bezerra. **Remoção de *Cylindrospermopsis raciborskii* por meio de sedimentação e de flotação: avaliação em escala de bancada.** 2005. 141p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos). Universidade de Brasília, Faculdade de Tecnologia, Brasília, 2005.

OLIVEIRA, Jaqueline A. **Remoção de microcistinas em águas provenientes de reservatório eutrofizado associando técnicas de clarificação, pré oxidação com permanganato de potássio, adsorção em carvão ativado e pós-cloração.** 2009. 191p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo – Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 2009.

ONU, Organização das Nações Unidas. **Relatório de Desenvolvimento Mundial da Água.** 2008.

OKUDA, T.; BAES, A. U.; NISHIJIMA, W.; OKADA, M. **Improvement of extraction method of coagulation active components from *Moringa oleifera* seed.** Water Research, v. 33, n. 15, p.3373-3378, 1999.

LOUDRA, B.; LOUDIKI, M.; SBIYYAA B.; MARTINS, R.; VASCONCELOS, V.; NAMIKOSHI, N. Isolation, characterization and qualification of microcystins (heptapeptides hepatotoxinas) in *Microcystis aeruginosa* dominated bloom of Lalla Takerkoust lake-reservoir (Morocco). **Toxicon**, v. 39, p. 1375-1381, 2001.

PARANÁ. Instituto Ambiental do Paraná: **Qualidade das águas dos reservatórios do Estado do Paraná 2005-2008**. Curitiba, 2009.

PAVANELLI, Gerson; DI BERNARDO, Luiz. Eficiência de diferentes tipos de coagulantes na coagulação, floculação e sedimentação de água com turbidez elevada e cor verdadeira baixa. In: Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 6., 2002, Vitória - ES. **Anais do VI Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. Vitória - ES: ABES, 2002.

PETRINIĆ, I.; PUSIC, T.; MIJATOVIC, I.; SIMONCIC, B.; SOSTAR-TURK, S. Characterization of polymeric nanofiltration membranes. *Kemija u Industriji*. v. 56, n. 11, p. 561-567, 2007.

PRICE, M. L., DAVIS, K. **The moringa tree**. Echo technical note. Publicado em 1985, revisado em 2000. Disponível em: < <http://www.echonet.org/>> Acesso em 29 de julho de 2011.

POCINHO, Margarida. **Estatística: Teoria e exercícios passo a passo** Volume I e II. 2009.

RABELO, Letícia. **Estudos preliminares para implantação da filtração em margem na Lagoa do Peri como Pré-Tratamento de Água para remoção de Fitoplâncton**. 2006. 152p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

RANGEL, M. R., 2005. **Um Purificador Natural de Água e Complemento Alimentar para o Nordeste do Brasil**. Disponível em: <<http://www.jardimdeflores.com.br>>. Acesso em 15 de junho de 2011.

RIBEIRO, M. L.; DE LUCA, S. J. **Tratamento de Águas por Filtração por Membranas**. **Estado da Arte**. XXVI Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria Y Ambiental, Lima, Peru, 1998.

RICARDO, Beto; CAMPANILI, Maura. **Almanaque Brasil Socioambiental**. 2. ed. São Paulo, 2007.

RITCHER, C. A.; AZEVEDO NETTO, J. M. **Tratamento de água: tecnologia atualizada**. São Paulo: Edgard Blücher, 2003.

RODRIGUES, Mauro. A escassez da água. **Época**, São Paulo, mar. 2010. Sob a lupa do economista. Disponível em: <<http://colunas.epoca.globo.com/sobalupadoeconomista/2010/03/24/a-escassez-de-agua/>>. Acesso em 26 out. 2010.

SÁ, Jazielli Carvalho. **Remoção de *Microcystis aeruginosa* e microcistina pelo processo de filtração lenta**. 2002. 190p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2002.

SANCHES, S. M.; VIEIRA, E. M.; PRADO, E. L. BENETTI, F. TAKAYANAGUI, A. M. M. Estudo da presença da toxina microcistina-LR em água utilizada em clínica de hemodiálise e validação de um método analítico. **Eclética Química**. v. 32, n. 4, p. 1-6. 2007.

SANTIAGO, Lucas M. **Remoção de células de cianobactérias por processos de sedimentação e flotação por ar dissolvido: avaliação em escala de bancada**. 2008. 183p. Dissertação (Mestrado em Saneamento Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

SANT'ANNA, Célia L.; AZEVEDO, Maria Teresa P.; WERNER, Vera R.; DOGO, Camila R. RIOS, Fernanda; CARVALHO, Luciana R.. Review of toxic species of cyanobacteria in Brazil. **Algological Studies**, v. 126, p. 251-265, 2008.

SANTOS, Paulo Vagner. **Interação entre *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Microcystis aeruginosa*: implicações no crescimento de culturas e na produção de microcistinas**. 2009. 94p. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento). Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, São Carlos, 2009.

SCHNEIDER, R. P.; TSUTIYA, M. T. **Membranas filtrantes para o tratamento de água, esgoto e água de reuso**. São Paulo: ABES, 2001, 234 p.

SILVA, Álisson B. **Avaliação do emprego da ultrafiltração em membrana na remoção de células de cianobactérias e microcistina para águas de**

abastecimento. 2008. 104p. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

SILVA, Cleuza A. **Estudos Aplicados ao Uso da *Moringa oleifera* como Coagulante Natural para Melhoria da Qualidade de Águas.** 2005. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.

SPINELLI, Viviane A. **Quitosana: Polieletrólito Natural para o Tratamento de Água Potável.** 2001. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

SUAREZ, M.; HAENNI, M.; CANARELLI, S.; CHODANOWSKI, P.; SERVIS, C.; MICHIELIN, O.; MOREILLON, P.; MERMOD, N. Structure-function characterization and optimization of a plant-derived antibacterial peptide. **Antimicrob Agents Chemother.** V. 49, p. 3847-3857, 2005.

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

TEIXEIRA, Margarida R.; ROSA, Maria J. Integration of dissolved gas flotation and nanofiltration for *M. aeruginosa* and associated microcystins removal. **Water Research**, v. 40, p. 3612-3620, 2006.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, DESA-UFMG, 2ª edição. V. 1. p. 243, 1996.

YOON, Y.; WESTERHOFT, P.; SNYDER, S. A.; WERYT, E. C. Nanofiltration and ultrafiltration of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products. **Journal of Membrane Science.** v. 270, p. 88-100, 2006.

YUAN, Moucun; CHARMICHAEL, Wayne W.; HILBORN, Elizabeth D. Microcystin analysis in human sera and liver from human fatalities em Caruaru, Brazil 1996. **Toxicon**, v. 48, p. 627-640, 2006.

YU, S. Z. Primary Prevention of Hepatocellular Carcinoma. J. **Gastroenterol Hepatol.** v. 10. n.6, p. 674-682. 1995.

WHITTON, B. A.; POTTS, M. Ecology Cyanobacteria : Their Diversity in Time and Space. **Kluwer Academic Publishers.** The Netherlands. p. 669, 2000.

APÊNDICE

APÊNDICE A – CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DA MICROCISTINA

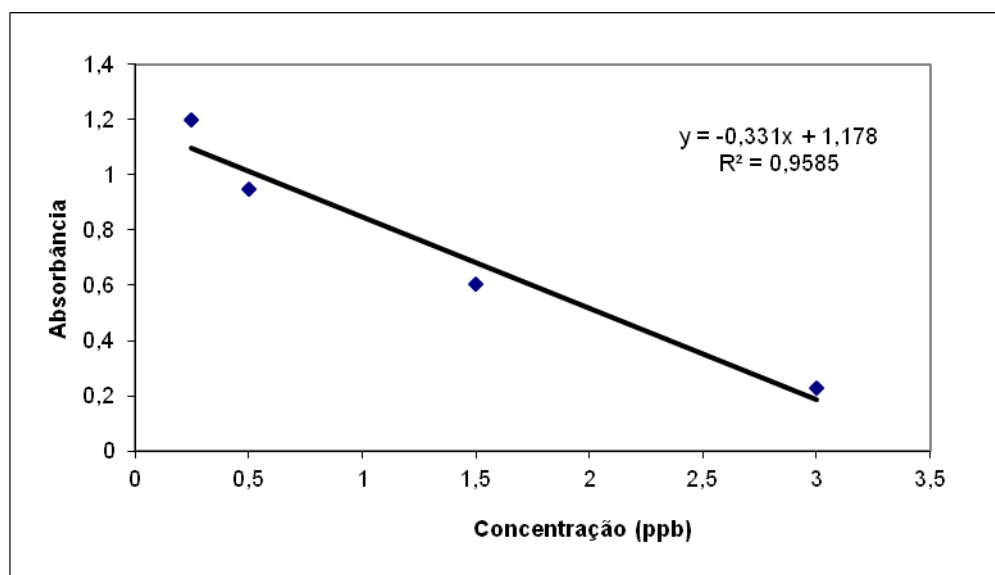


Figura A.1 – Curva de calibração para microcistina