



I-370 - ESTUDO DA LISE DE *Microcystis aeruginosa*, LIBERAÇÃO E DEGRADAÇÃO DE MICROCISTINAS EM LODOS DE SEDIMENTADORES: AVALIAÇÃO EM ESCALA DE BANCADA UTILIZANDO SULFATO DE ALUMÍNIO COMO COAGULANTE

Amanda V. B. Ermel⁽¹⁾

Bióloga pela Universidade de Brasília. Mestranda em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos (UnB). (Bolsista CNPQ)

Cristina Celia Silveira Brandão

Engenheira Química pela Universidade Federal da Bahia. Mestre em Engenharia Química pela COPPE/UFRJ. Doutora em Engenharia Ambiental pelo Imperial College of Science, Technology and Medicine. Professora Adjunta do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília (UnB) – E-mail: cbrandao@unb.br.

Endereço⁽¹⁾: Rua 25 de março, nº 188, Edifício Colussi, apto. 403 - Centro - Caçador - SC - CEP: 89500-000 - Brasil - Tel: +55 (49) 3567-9716 - e-mail: amandaermel@gmail.com

RESUMO

As florações tóxicas de cianobactérias são de grande preocupação sanitária, pois a presença de toxinas na água coloca em risco a saúde da população. O tratamento de água com cianobactérias tóxicas tem sido alvo de muitos estudos, que avaliam a eficiência de remoção desses organismos, bem como de suas toxinas, por meio de diferentes processos de tratamento. De um modo geral, os estudos indicam que o tratamento convencional é capaz de remover eficientemente as células de cianobactérias, mas são pouco eficientes na remoção das cianotoxinas, necessitando de técnicas complementares para remoção dessa fração dissolvida. Nesse contexto, atenção especial deve ser dada ao lodo do sedimentador, onde as células removidas após a coagulação/floculação ficam depositadas, e, por processos naturais, sofrem lise. Dessa forma, o presente trabalho avaliou, em escala de bancada, a lise de células *Microcystis aeruginosa* ao longo do tempo de armazenamento do lodo sedimentado. Foram avaliadas também a liberação e degradação de microcistinas, quando utilizados diferentes valores de pH de coagulação, e diferentes dosagens de sulfato de alumínio. Os diagramas de coagulação mostraram que as maiores eficiências de remoção na sedimentação ocorreram com valores de pH de coagulação entre 5,0 e 5,5. Durante o armazenamento do lodo, um decaimento acentuado de células ocorreu até o 10º dia, para os dois valores de pH de coagulação estudados, 5,5 e 7,0. Os dados de microcistinas extracelulares e totais condizem com os resultados de decaimento de clorofila-a e densidade de células. A concentração máxima de microcistinas dissolvidas ocorre em torno do 5º dia de armazenamento do lodo e a degradação se completa em torno de 10 dias, dependendo da dosagem de coagulante utilizada e do pH de coagulação. Os resultados enfatizam a importância que deve ser dada ao manejo do lodo do sedimentador, pois considerando as práticas atuais de descarte de lodo, o risco de liberação de cianotoxinas para a água clarificada é elevado. Dessa forma, faz-se necessário estabelecer uma maior frequência de remoção do lodo, diminuindo a concentração de microcistinas na água clarificada.

PALAVRAS-CHAVE: Cianobactérias, cianotoxinas, *Microcystis aeruginosa*, microcistinas, lodo de sedimentador, tratamento de água

INTRODUÇÃO

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

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



As microcistinas, produzidas por espécies dos gêneros planctônicos *Anabaena*, *Microcystis*, *Oscillatoria* (*Planktothrix*), *Nostoc*, e *Anabaenopsis* (Sivonen e Jones, 1999), já foram relatadas como responsáveis por muitos casos de intoxicações ao redor do mundo, por meio de exposições agudas ou sub-crônicas a estas toxinas. No Brasil, dois casos conhecidos de intoxicação, causando perda de vidas humanas, são atribuídos à presença de microcistinas na água. Uma floração de *Anabaena* e *Microcystis* na represa de Itaparica (Bahia) foi a provável responsável por 2000 casos de gastroenterite, resultando em 88 mortes, a maioria crianças (Teixeira *et al.*, 1993). Outro caso trágico ocorreu em 1996, em Caruaru (Pernambuco – Brasil), quando dezenas de pacientes renais crônicos morreram após receberem água contaminada com microcistina durante tratamento rotineiro de hemodiálise (Jochimsen *et al.*, 1998; Azevedo *et al.*, 2002).

Existem muitos estudos que avaliam a eficiência de remoção de células de cianobactérias e cianotoxinas em diferentes processos de tratamento de água. De um modo geral, os estudos indicam que o tratamento convencional é capaz de remover eficientemente as células de cianobactérias, mas são pouco eficientes na remoção das cianotoxinas, necessitando de técnicas complementares para remoção dessa fração dissolvida (Teixeira e Rosa, 2006; Assis, 2006; Hoeger *et al.*, 2004; Hart *et al.*, 1998; Keijola, 1988). No entanto, raros trabalhos (Teixeira e Rosa, 2006; Drikas *et al.*, 2001; Chow *et al.*, 1999) abordam a questão da ocorrência de lise celular nas diferentes etapas do tratamento, e a conseqüente liberação de cianotoxinas e sua degradação ao longo do tempo. Nesse contexto, particular atenção deve ser dada ao armazenamento do lodo em sedimentadores. Os poços de armazenamento de lodo constituem ambiente naturalmente hostil para as cianobactérias (ausência de luz e nutrientes) e a ocorrência de lise celular é previsível, a depender do tempo de armazenamento do lodo nessas unidades. Portanto, a lise celular e a conseqüente liberação das toxinas para a água clarificada constituem-se em grande preocupação sanitária.

Tendo isso em vista, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar, em escala de bancada, o comportamento de *Microcystis aeruginosa* e microcistinas ao longo do tempo de armazenamento do lodo no sedimentador, em diferentes condições de coagulação (pH e dosagem) utilizando sulfato de alumínio como coagulante.

METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados em escala de bancada, utilizando o teste de jarros. A água base utilizada foi proveniente do Lago Paranoá (Brasília/DF), na qual foram inoculadas células de *Microcystis aeruginosa*, obtendo-se concentrações de, aproximadamente, 10^6 células/mL na água de estudo.

Na primeira etapa foram realizados ensaios de coagulação, floculação, e sedimentação para a construção do diagrama de coagulação, que se faz necessário para avaliar as condições ótimas de coagulação na remoção de turbidez, clorofila e células, utilizando sulfato de alumínio como coagulante e variando o pH de 5 a 8, em intervalos de 0,5 unidades. O diagrama foi realizado em duplicata.

Com base nos diagramas de coagulação obtidos, foram selecionados os valores de pH e as dosagens de coagulante a serem utilizados nos ensaios da etapa de armazenamento do lodo. Essa etapa compreendeu os ensaios de coagulação, floculação e sedimentação, com armazenamento do lodo sedimentado durante diferentes períodos (0 a 50 dias) para se avaliar a lise celular e a liberação e degradação de microcistinas ao longo do tempo. Os parâmetros analisados em cada período de armazenamento foram turbidez, clorofila-a, contagem de células e microcistinas extracelulares e totais. A quantificação de microcistinas foi realizada pela técnica de ensaio por imunoadsorvente ligado a enzimas (ELISA). Para análise de microcistinas extracelulares, a amostra foi filtrada em filtro de microfibras de vidro de 1 µm de abertura de poro, e, no dia da análise, em membrana de 0,22 µm de abertura de poro. Para a determinação das toxinas totais, a fração de amostra não filtrada foi submetida ao procedimento gelo/degelo por três vezes, para que houvesse rompimento completo das células residuais.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os diagramas de coagulação resultantes dos ensaios realizados na primeira etapa estão apresentados nas Figuras 1 e 2, em termos de eficiência de remoção de turbidez, clorofila-a e células de *Microcystis aeruginosa*. As características da água base (água do Lago Paranoá) e da água de estudo (água base inoculada com células de *Microcystis aeruginosa*) são mostradas na Tabela 1.

As maiores eficiências de remoção de turbidez (Figura 1) foram obtidas em valores de pH baixos, entre 5 e 5,5, e uma ampla faixa de dosagem de sulfato de alumínio (expresso nas Figuras como sulfato de alumínio anidro). O diagrama mostra um padrão claro de remoção, que decresce com o aumento do pH. Esse mesmo padrão pode ser visto nos diagramas de coagulação em termos de remoção de clorofila-a e de células (Figura 2).

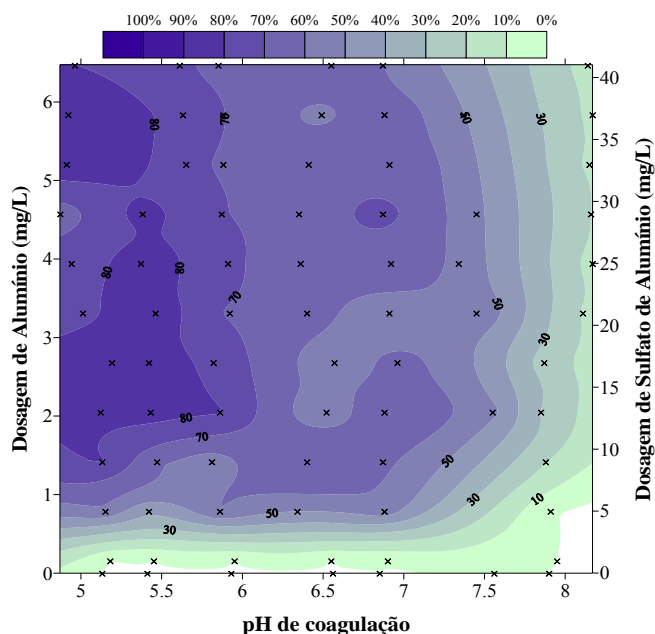


Figura 1 – Diagrama de coagulação para sedimentação em termos de remoção de turbidez.

Tabela 1 – Caracterização da água de estudo utilizada na primeira etapa

Parâmetros	Água do Lago	Água do Lago + 10^6 cel/mL de <i>M. aeruginosa</i>
Alcalinidade (mgCaCO ₃ /L)	20,8	22
Condutividade (μS/cm)	78,2	104,2
Absorbância a 254 nm	0,029	0,068
pH	6,34	6,4
Temperatura (°C)	25	25
Turbidez (UT)	4,31	22,7
Clorofila a (μg/L)	2,64	190,08
Contagem (cel/mL)	0	$0,410 \times 10^6$

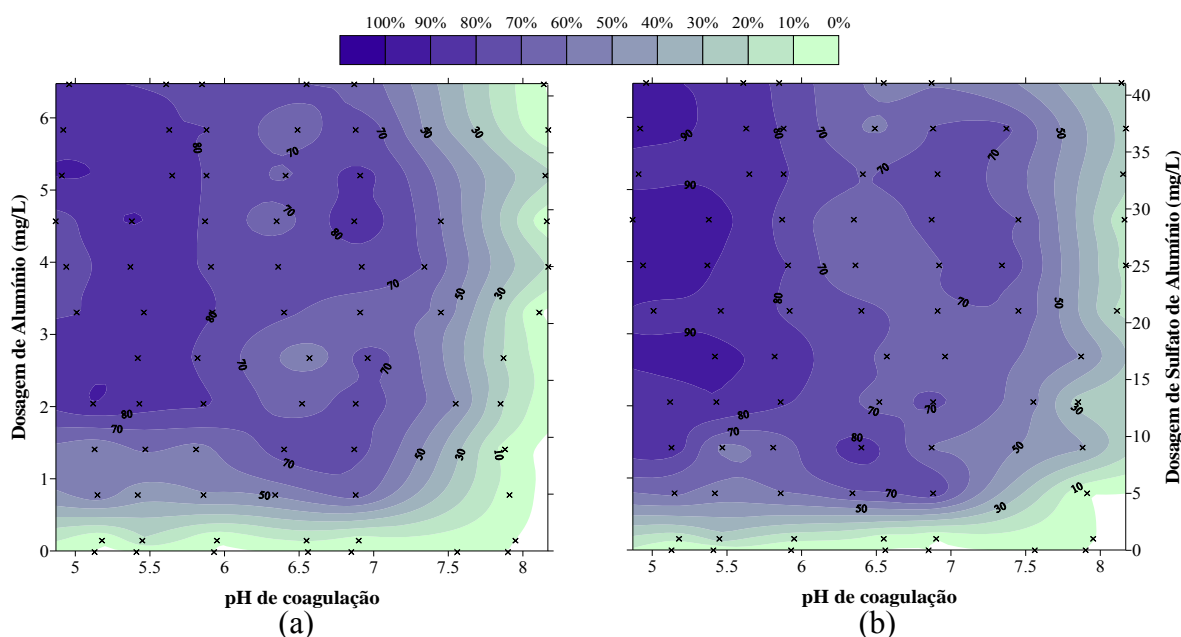


Figura 2 – Diagrama de coagulação em termos de remoção de clorofila-a (a) e de células (b)

Analisando-se a Figura 2 (a) e (b), pode-se verificar que as maiores remoções de clorofila-a coincidem com os pontos de elevada remoção de células: remoção maior que 80% nos valores de pH igual a 5,0 e 5,5, para uma faixa ampla de coagulante; remoção entre 70 e 80% nos valores de pH igual a 6,0 e 7,0, para algumas dosagens de sulfato de alumínio. A análise estatística dos dados de remoção de clorofila-a e de contagem de células revelou forte correlação entre eles (r de Pearson = 0,944, $r^2 = 0,89$, $\alpha = 5\%$).

As eficiências de remoção muito similares entre os três parâmetros analisados (turbidez, clorofila-a e contagem de células) se devem ao fato de que a turbidez da água de estudo, assim como a concentração de clorofila-a, são predominantemente causados pelas células de *Microcystis aeruginosa*.

A Figura 3 apresenta a concentração de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo, e a Figura 4, a densidade de células. A concentração de clorofila-a na água de estudo foi de cerca de 300 $\mu\text{g/L}$, e a densidade de células em torno de $1,1 \times 10^6$ cel/mL.

Na Figura 3 pode-se verificar que um decaimento acentuado de clorofila-a ocorreu até o 10º dia de armazenamento do lodo, para os dois valores de pH analisados. Nota-se também que, para o valor de pH igual a 5,5, quanto maior a dosagem de coagulante utilizada, menor foi o decaimento de clorofila-a a partir do 10º dia.

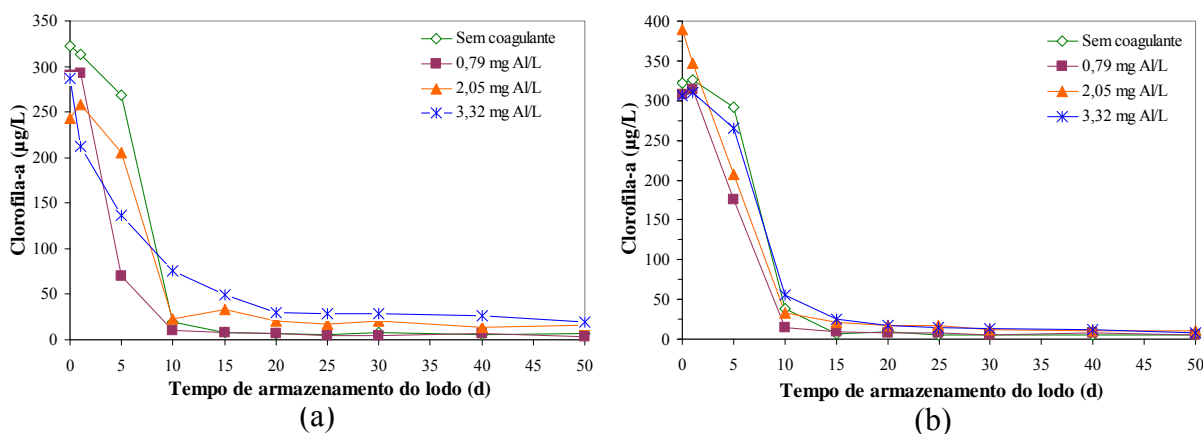


Figura 3 – Concentração de clorofila-a ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b).

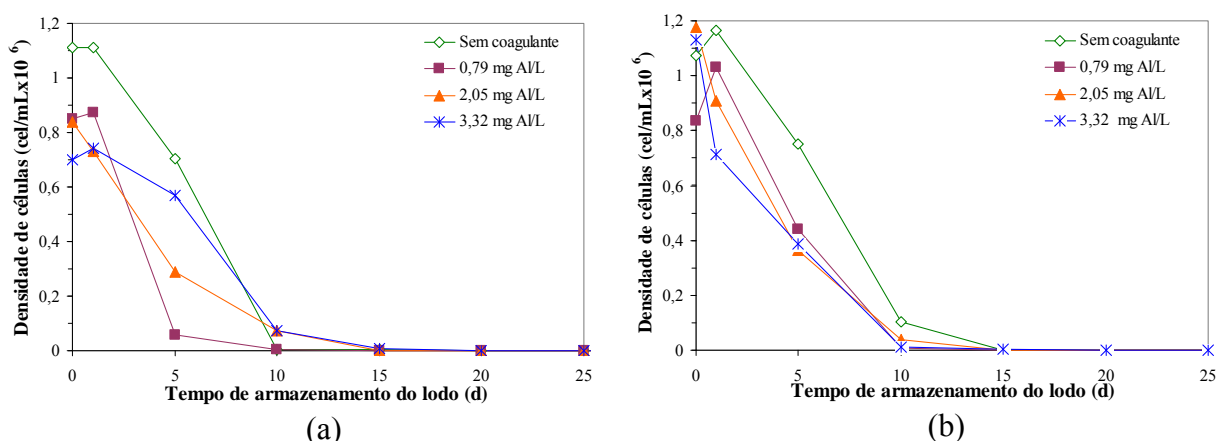


Figura 4 – Densidade de células ao longo do período de armazenamento do lodo, para os valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b).

Comparando-se as Figuras 3 e 4 percebe-se que o decaimento da concentração de clorofila-a é idêntico ao de células, já que praticamente toda clorofila-a é proveniente das células de *Microcystis aeruginosa*. No 10º dia a densidade de células caiu mais de 90% do seu valor inicial, chegando a 100% no 15º dia.



Os resultados da concentração de microcistinas extracelulares durante armazenamento do lodo são mostrados na Figura 5. Pode-se verificar que a concentração de microcistinas extracelulares atinge o seu valor máximo após cinco dias de armazenamento do lodo. Para o valor de pH de coagulação igual a 5,5, nas amostras sem adição de coagulante e com a dosagem mais baixa (0,79 mg Al/L), ainda havia considerável concentração de microcistina extracelular no 10º dia, diferentemente das dosagens mais altas, que já haviam sido quase 100% degradadas.

Com relação às microcistinas totais (Figura 6), os resultados mostram que sua concentração permanece praticamente constante até o 5º dia de armazenamento do lodo e logo depois começa a decrescer, fato que é corroborado pelos dados de microcistinas extracelulares. Analisando-se conjuntamente os dados de microcistinas extracelulares e totais pode-se concluir que do dia 0 ao dia 5 as células foram completamente lisadas: a concentração de microcistinas extracelulares chegou ao seu valor máximo, enquanto que a de microcistinas totais permaneceu praticamente constante. A partir de então começaram a decrescer. Isso indica que somente após cinco dias as microcistinas começam a ser degradadas, chegando a aproximadamente zero após 15 dias, ou seja, sua degradação quase completa.

Os resultados das concentrações de microcistinas ao longo do tempo são condizentes com o decaimento da densidade de células (Figura 4). Enquanto que para as amostras sem coagulante o decaimento de células após 5 dias de armazenamento de lodo foi de apenas 36,74% (pH 5,5) e 30,06% (pH 7,0) em relação à densidade inicial, nas amostras em que foi adicionado coagulante o decaimento após 5 dias foi maior: 74 e 66% para os respectivos valores de pH, e dosagem de coagulante de 13 mg/L. Dessa forma, a lise celular mais demorada nas amostras sem coagulante explica também a liberação e degradação mais tardias de microcistinas extracelulares, já que a concentração destas só aumenta quando ocorre a lise das células.

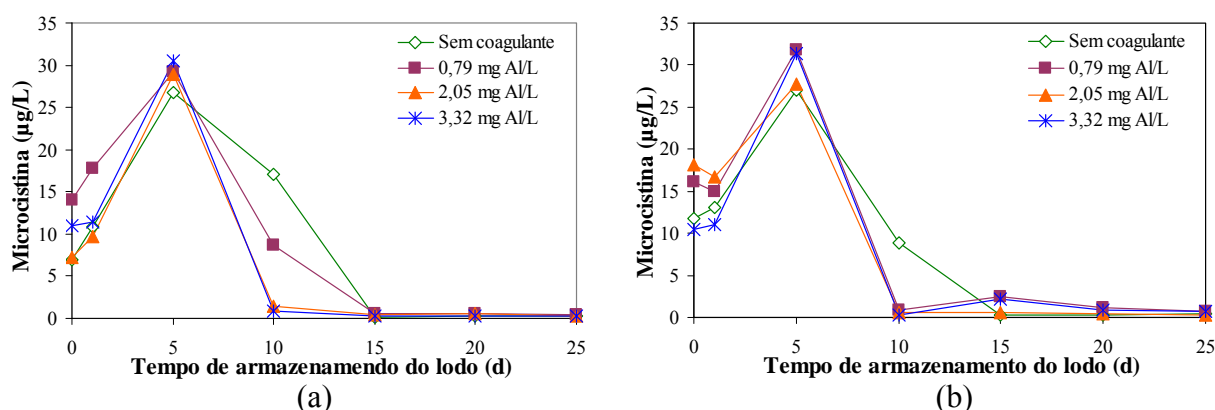


Figura 5 – Concentração de microcistina-LR extracelular no lodo sedimentado para o valores de pH de coagulação iguais a 5,5 (a) e 7,0 (b).

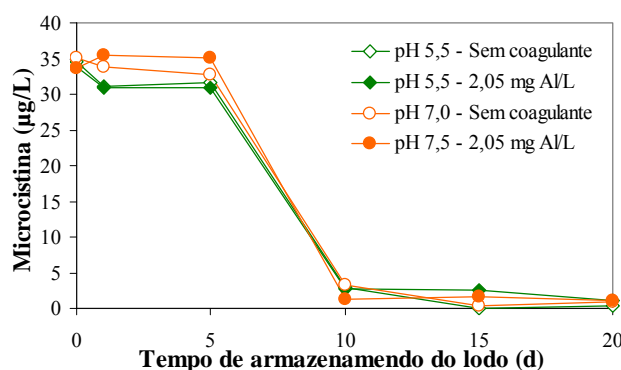


Figura 6 – Concentração de microcistina-LR total no lodo sedimentado para os dois valores de pH de coagulação estudados, sem coagulante e com dosagem de 2,05 mg Al/L.

Vale ressaltar que em um estudo em escala piloto realizado por Drikas *et al.* (2001) avaliando a lise celular de *Microcystis aeruginosa* em lodo de sedimentador e utilizando de sulfato de alumínio como coagulante, foram



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

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

CONCLUSÕES/RECOMENDAÇÕES

Os resultados de eficiência de remoção em termos de turbidez, clorofila-a e contagem de células mostram que, para água de estudo, o pH ótimo ocorre na faixa de 5 e 5,5, para uma ampla faixa de dosagem de coagulante. A análise do armazenamento do lodo sedimentado apontou que a densidade de células decaiu aproximadamente 90% em 10 dias, e que o coagulante influencia esse decaimento. Os resultados da concentração de microcistinas extracelulares revelam que, nas amostras onde foi adicionado sulfato de alumínio, a lise celular e conseqüente liberação de toxinas para o meio extracelular ocorreu em um tempo menor do que nas amostras sem adição de coagulante, o que pode indicar a influência do coagulante na lise celular. As toxinas foram quase completamente degradadas após 15 dias de armazenamento do lodo.

Com base nos resultados obtidos, no tratamento convencional de águas com floração de *Microcystis* produtoras de microcistinas, para que não haja risco de se aumentar a concentração de microcistinas na água clarificada durante armazenamento do lodo no sedimentador – o que constitui uma grande preocupação sanitária – a remoção do lodo acumulado no sedimentador deve ser freqüente, sendo à princípio, sugerido um período de 3 dias. Deve-se atentar também para a disposição final dos resíduos do tratamento de água, para garantir que eles não sejam reciclados, ou que as células de cianobactérias sejam reintroduzidas na água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APELDOORN, M. E. VAN; EGMOND, H. P. VAN; SPEIJERS, G. J. A; BAKKER, G. J. I. "Toxins of cyanobacteria." *Mol. Nutr. Food Res.* 51 (7), 7-60. 2007.
2. ASSIS, R. S. S. Remoção de *Microcystis aeruginosa* e Microcistinas por Flotação por Ar Dissolvido – Estudo em Escala de Bancada Utilizando Sulfato de Alumínio e Cloreto Férrico como Coagulantes. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos. Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 119 p. 2006.
3. AZEVEDO, S. M. F. O.; CARMICHAEL, W. W.; JOCHIMSEN, E. M.; RINEHART, K. L.; LAU, S.; SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G. K.). "Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil". *Toxicology* 181–182, p. 441–446. 2002.
4. CHOW, C. W. K., DRIKAS, M., HOUSE, J., BURCH, M. D., AND VELZEBOER, R. M. A. "The impact of conventional water treatment processes on cells of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*." *Water Research* 33 (15), 3253-3262. 1999.
5. DRIKAS, M.; CHOW, C. W. K.; HOUSE, J.; BURCH, M. D. "Using coagulation, flocculation, and settling to remove toxic cyanobacteria." *Journal American Water Works Association (AWWA)* 93 (2), 100-111. 2001.
6. HART, J.; FAWEL, J. K.; CROLL, B. "The fate of both intra and extracellular toxins during drinking water treatment." *Water Supply* 16 (1/2), 611-616. 1998.
7. HOEGER, S. J., SHAW, G., HITZFELD, B. C., DIETRICH, D. R. "Occurrence and elimination of cyanobacterial toxins in two Australian drinking water treatment plants." *Toxicon* 43, p. 639–649. 2004.
8. JOCHIMSEN, E. M.; CARMICHAEL, W. W.; AN, J. S.; CARDO, D. M.; COOKSON, S. T.; HOLMES, C. E.; ANTUNES, M. B.; MELO FILHO, D. A.; LYRA, T. M.; BARRETO, V. S.; AZEVEDO, S. M.; JARVIS, W. R.. "Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil." *N. Engl. J. Med.* 338 (13), 873-878. 1998.
9. KEIJOLA, A. M., HIMBERG, K., ESALA, A.L., SIVONEN, K. E. HIISVIRTA, L. Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: laboratory and pilot scale experiments. *Toxicity Assessment: An International Journal* 3, p. 643-656. 1988.



10. SIVONEN, K.; JONES, G. "Cyanobacterial toxins". In: Chorus, I.; Bartran, J. Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management. E & FN SPON, London, 41-111. 1999.
11. TEIXEIRA, M. G. L. C.; COSTA, M. C. N.; CARVALHO, V. L. P.; PEREIRA, M. S.; HAGE, E.. "Epidemia de gastroenterite na área da barragem de Itaparica, Bahia." Bol. of Sanit. Panam 114 (6), 502-512. 1993.
12. TEIXEIRA, M. R.; ROSA, M. J. "Comparing dissolved air flotation and conventional sedimentation to remove cyanobacterial cells of *Microcystis aeruginosa*. Part I: The key operating conditions." Separation and Purification Technology 52, 84-94. 2006.