

I-299 - REMOÇÃO DE MICROCISTINAS POR MEIO DE OXIDAÇÃO COM HIPOCLORITO DE SÓDIO: EM ESCALA DE BANCADA**Maria Martins do Nascimento⁽¹⁾**

Química Industrial pela Universidade Federal do Maranhão. Especialista em Regulação e Fiscalização de Serviços Públicos na área de Saneamento na ARSESP. Mestranda em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos pela Universidade de Brasília (UnB).

Cristina Celia Silveira Brandão

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, Brasília - DF, Brasil. cbrandao@unb.br.

Endereço⁽¹⁾: Rua Reims, 120, Bloco B Apto 138– Jardim das Laranjeiras – São Paulo - SP - CEP: 02517-010 - Brasil - Tel: (11) 2495-4147 - e-mail: mmnasciment@gmail.com.

RESUMO

As florações de cianobactérias provocadas pelo aporte de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, nos corpos de águas superficiais impactam a qualidade das águas. As cianobactérias tóxicas ao sofrerem a lise liberam toxinas para a água e o tratamento de água convencional por coagulação, floculação, sedimentação e filtração, não é eficiente na remoção dessas cianotoxinas dissolvidas. De posse de tal constatação, torna-se importante que se investigue a oxidação no tanque de contato como uma alternativa para a remoção desses compostos. Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo estudar a remoção de microcistinas provenientes da linhagem NPLJ-4 de *Microcystis aeruginosa* por meio de oxidação química com cloro. Para alcançar remoção abaixo de 1µg/L de microcistinas foi necessária dose de cloro de 2,1 mg/L para oxidar 40,1 µg/L dessas toxinas, em valor de pH 6. A avaliação da cinética da oxidação das microcistinas com o cloro indicou que a reação segue uma cinética de *pseudo*-primeira ordem em relação às microcistinas. Os resultados obtidos confirmam a efetividade da cloração para remoção de microcistinas, mesmo quando presente em concentrações mais altas do que os comumente encontrados nos mananciais, indicando que o controle da oxidação no tanque de contato é aliado importante no tratamento de águas com concentrações elevadas de microcistinas dissolvidas.

PALAVRAS-CHAVE: Oxidação, hipoclorito de sódio, microcistinas.

INTRODUÇÃO

As florações de cianobactérias representam um dos impactos negativos sobre a qualidade da água, podendo causar gosto e dor desagradáveis e liberação de cianotoxinas para os mananciais de águas superficiais. A presença dessas toxinas na água pode afetar a saúde humana e de animais.

Espécies de cianobactérias que produzem toxinas hepatotóxicas, neurotóxicas ou causadoras de irritações na pele, apresentam riscos à saúde humana por meio da ingestão oral, consumo do pescado ou pelo contato. Algumas dessas toxinas possuem ação muito rápida, outras têm sua atuação mais lenta produzindo efeitos crônicos. O tipo mais comum de intoxicação envolvendo cianobactérias é ocasionado por hepatotoxinas, particularmente microcistinas (Carmichael, 1994).

No Brasil, já foram relatadas florações de cepas tóxicas de cianobactérias em reservatórios de diversas partes do país, sendo o caso de maior impacto sobre a saúde humana o ocorrido na cidade da Caruaru (PE) em que dezenas de pacientes submetidos a sessões de hemodiálise vieram a óbito como resultado do uso de água contaminada com toxinas (Azevedo *et al.*, 2002).

É um grande desafio para as companhias de saneamento garantir de forma segura e confiável a qualidade da água nos sistemas de abastecimento público em que se verificam a presença de cianobactérias e cianotoxinas. O tratamento de água convencional - coagulação, floculação, sedimentação e filtração- elimina a maioria dos microrganismos presentes na água. Estes microrganismos geralmente estão associados ao material particulado e às micelas coloidais que são retidas nesses processos (Lenzi *et al.*, 2009). A oxidação química tem se mostrado

uma das opções mais promissoras para a remoção de microcistinas e outras toxinas dissolvidas, e a literatura revela que o cloro pode oxidar com sucesso essas toxinas.

Considerando que o cloro é o agente desinfetante mais usado nas estações de tratamento de água brasileiras, a proposta do presente trabalho foi avaliar a remoção das microcistinas por meio da cloração, avaliando o uso de dosagens compatíveis com a prática nacional. O trabalho avalia ainda a cinética de oxidação das microcistinas nessas condições.

MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho experimental foi realizado em escala de bancada, dividido em duas etapas. Na etapa preliminar, foram realizadas atividades preparatórias para obter as microcistinas e a solução do oxidante, etapa fundamental para o desenvolvimento do trabalho. Na etapa 1, foram realizados os ensaios de oxidação, assim como a avaliação da cinética entre o cloro e as microcistinas

ETAPA PRELIMINAR

Essa etapa envolveu as atividades do cultivo, extração e semipurificação de cianotoxinas produzidas pela linhagem de *Microcystis aeruginosa* NPLJ-4 cultivadas, em laboratório, para o desenvolvimento do estudo e também, a produção do oxidante, hipoclorito de sódio.

O cultivo das *Microcystis aeruginosa* (cepa NPLJ-4) foi unialgal, em meio de cultura ASM-1 em ambiente isolado mantido sob temperatura de $24^{\circ}\text{C} \pm 1$, intensidade luminosa controlada (cerca de $40 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$) e fotoperíodo de 12 horas (12:12 h). Com a finalidade de aumentar o volume do cultivo, eram realizadas repicagens dos cultivos a cada 15 dias. Para obtenção das toxinas, as células de cepas tóxicas cultivadas a partir de *Microcystis aeruginosa* eram submetidas ao processo de lise por meio de gelo/degelo por três vezes consecutivas, e em seguida submetidas a banho de ultra-som. Feito isto, o material obtido era submetido ao processo de semipurificação, com base no procedimento descrito no método ISO 20179:2005 (ISO, 2005).

Primeiramente o material lisado era filtrado em membrana de microfibras de vidro com retenção de $1 \mu\text{m}$, e em seguida em membrana de éster de celulose com retenção de $0,45 \mu\text{m}$, com o objetivo de remover os fragmentos das células lisadas.

O procedimento de semipurificação/concentração das microcistinas contidas no material lisado e filtrado consistia de fazer fluir através da fase sólida do cartucho C_{18} (octadecil-silano-ODS) 50 mL desse material. Posteriormente, o cartucho era lavado com 4 mL de solução de metanol 20% (v/v) e para eluir as microcistinas adsorvidas a fase sólida, o cartucho era alimentado com 2 mL da solução de metanol 90% (v/v) acidificada com 0,1% de ácido trifluoroacético (TFA).

A fração eluída, cerca de 2 mL, era então evaporada à temperatura de 40°C em um rotavapor (Buchi Waterbath B-480) e ressuspensa em 2 mL de água ultra pura. Essa fração era mantida à temperatura de 20°C negativos até o uso do extrato no processo de oxidação.

A solução oxidante, hipoclorito de sódio, utilizada nos ensaios de oxidação das microcistinas foi produzida por meio do gerador de solução oxidante, que fornece uma solução de hipoclorito de sódio pela reação eletroquímica a partir do cloreto de sódio. Para a produção desta solução utilizou-se cloreto de sódio grau analítico e água destilada.

PRIMEIRA ETAPA - ENSAIOS DE OXIDAÇÃO

Para realizar os ensaios de oxidação utilizou-se dispositivos de mistura do equipamento de testes de jarros. Os recipientes de vidro (béqueres) com capacidade para 500 e 1000 mL foram utilizados e a agitação de 100 rpm foi realizada apenas no primeiro minuto dos ensaios.

A água de estudo (AE) utilizada nos ensaios de oxidação foi preparada diluindo o extrato semipurificado de microcistinas produzido na etapa preliminar, em água ultrapura (milli-Q). Os ensaios de oxidação das microcistinas com o cloro foram realizados em duplicata, sob temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ e valor de pH 6.

O ajuste do valor de pH da água de estudo antes da adição da solução oxidante era realizado, de forma que, ao aplicar a dosagem do cloro livre, os valores de pH medidos, imediatamente após a aplicação, apresentavam variações de $6 \pm 0,2$. Para o ajuste usou-se soluções de ácido clorídrico 1M.

As alíquotas para análises eram coletadas nos tempos de contato de 15 e 30 minutos. Cada amostra coletada era dividida em duas alíquotas. Na primeira alíquota, de 60 mL, eram realizadas, de imediato, as determinações de cloro residual livre. Na segunda alíquota, de 10 mL, era adicionado 0,2 mL de tiosulfato de sódio na concentração de 1M para eliminar o cloro residual e em seguida era armazenada em freezer para posterior análise da concentração de microcistinas.

As medições do cloro livre foram realizadas pelo teste DPD (dietil-p-fenil-diaminina) e as concentrações iniciais e residuais de microcistinas foram determinadas utilizando o método de imunoensaio ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*).

A dose de cloro adicionada para promover a oxidação, nos ensaios, foi monitorada por meio de um controle branco. Este procedimento consistia na realização de dosagens da solução de hipoclorito de sódio adicionada à água desionizada em volume igual à adicionada a amostra. O valor da concentração de cloro medido imediatamente após a homogeneização do controle branco foi considerado a dosagem adicionada no ensaio de oxidação.

Para avaliar a cinética da reação das microcistinas provenientes da cepa tóxica NPLJ-4 com o cloro, foram realizados ensaios de oxidação similares aos descritos anteriormente, porém com coleta de amostras para análise de cloro residual e microcistinas em vários tempos de contato (0, 3, 8, 15 e 30 min). Os experimentos foram realizados em duplicata com duas doses de cloro distintas (0,5 e 1,5 mg/L), porém com água de estudo contendo a mesma concentração de microcistinas, cerca de 42 µ/L.

A determinação da reação cinética foi realizada com base no estudo realizado por Acero *et al.* (2005) cuja equação pode ser descrita da seguinte forma.

$$\frac{d[MCYST]}{dt} = k'[MCYST]^a \quad \text{Equação (1)}$$

Na qual:

MCYST = concentração de microcistinas (µg/L);

k' = constante de velocidade para cinética de *pseudo*-primeira ordem;

a = ordem da reação para microcistinas;

t = tempo de reação.

RESULTADOS

A eficiência da remoção de microcistinas, em água, foi estudada em concentrações de 40,1 e 21,4 µg/L, doses de cloro livre cerca de 1 e 2 mg/L e nos tempos de contatos de 15 e 30 minutos. Mediu-se o cloro livre e as concentrações de microcistinas iniciais e residuais. A Figura 1 apresenta os resultados obtidos nos ensaios da oxidação das microcistinas com o cloro nos tempos de contato de 15 e 30 minutos, e a Tabela 1 apresenta o residual de cloro livre e a quantidade de microcistinas removidas ao final de 30 minutos de tempo de contato.

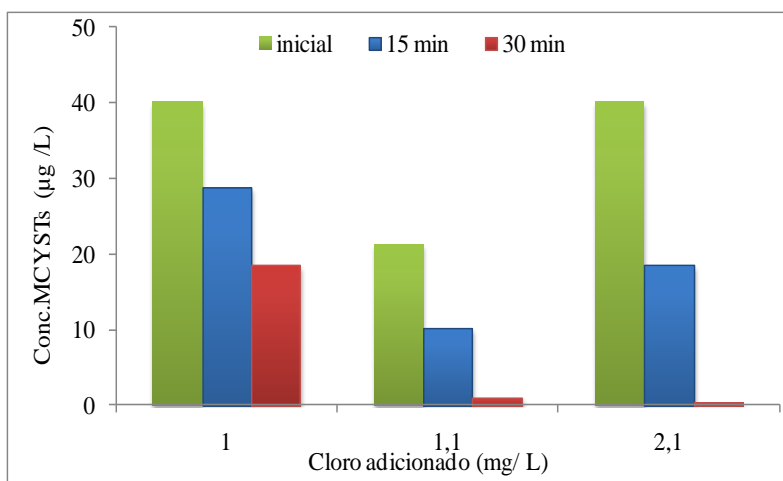


Figura 1- Concentrações iniciais e residuais de microcistinas após os tempos de contato 15 e 30 minutos com diferentes dosagens de cloro livre.

Dos resultados da Tabela 1, observa-se que ao aplicar a dosagem de 1,0 mg/L de cloro em uma água de estudo com concentração inicial de 40,1 µg/L de microcistinas, a concentração de microcistinas foi reduzida para 18,5 µg/L após 30 minutos, tendo sido, portanto, removida de 21,5 µg/L de microcistinas. Adicionando aproximadamente a mesma dosagem de cloro livre a uma água de estudo com concentração inicial de microcistinas de 21,4 µg/L, obteve-se um residual de microcistinas de 1,1 µg/L ao final de 30 minutos, ou seja, 20,3 µg/L de microcistinas foram removidos. Observa-se que a quantidade de microcistinas removidas com a adição de aproximadamente a mesma dose de cloro foi, também, aproximadamente a mesma, independentemente da concentração inicial.

Tabela 1- Resultados obtidos nos ensaios de oxidação das microcistinas com o cloro usando diferentes doses de cloro livre na presença de duas diferentes concentrações de toxina.

Conc. MCYSTs (µg/L)		Cloro livre (mg/L)		Quantidade removida de MCYSTs (µg/L)
Inicial	30 min	Inicial	30 min	30 min
40,1	18,5	1,0	0,1	21,5
21,4	1,1	1,1	0,4	20,3
40,1	0,3	2,1	0,5	39,7

Por outro lado, ao dobrar a dose de cloro livre aplicada na água de estudo com concentração inicial de 40,1 µg/L de microcistinas, de 1,0 para 2,1 mg/L, obteve-se um residual de microcistinas de 0,3 µg/L, removendo 39,7 µg/L de microcistinas ao final de 30 minutos. Ou seja, o incremento da dose de cloro livre promoveu aumento proporcional na quantidade de toxinas removidas.

Para estudar a reação cinética das microcistinas semipurificadas proveniente da cepa NPLJ-4 com o cloro, foram realizados ensaios com concentração média inicial de microcistinas de 42 µg/L e doses de cloro de 0,5 e 1,5 mg/L e diferentes tempos de contato. A Tabela 2 apresenta o resumo das condições de realização dos ensaios e a Figura 2 apresenta o decaimento da concentração de microcistinas nesse processo de oxidação nos intervalos dos tempos de contatos estudados.

Tabela 2- Condições de realização dos ensaios cinéticos.

Ensaio	[Cloro] ₀ (mg/L)	[MCYSTs] ₀ (µg/L)	Tempo de contato (min)
1	0,5	41,3	0, 3, 8, 15 e 30
2	1,5	43,3	

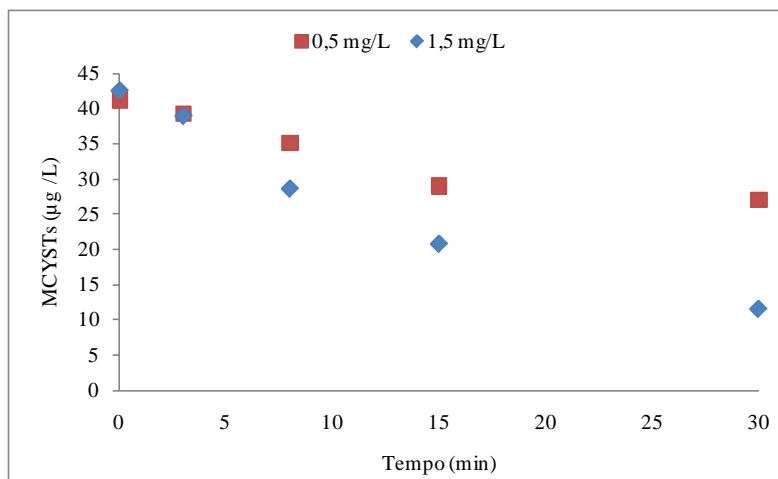


Figura 2- Curva de decaimento das microcistinas na concentração média de 42 µg/L e concentrações médias de cloro de 0,5 e 1,5 mg/L.

A Figura 3 apresenta os resultados do ajuste dos dados experimentais para determinação dos parâmetros cinéticos do decaimento das microcistinas pela ação do cloro. Da Figura 3 é possível verificar que a reação de oxidação de microcistinas pelo cloro segue, com bom ajuste, a cinética de uma reação de *pseudo-primeira ordem*, conforme proposto por Acero *et al.* (2005).

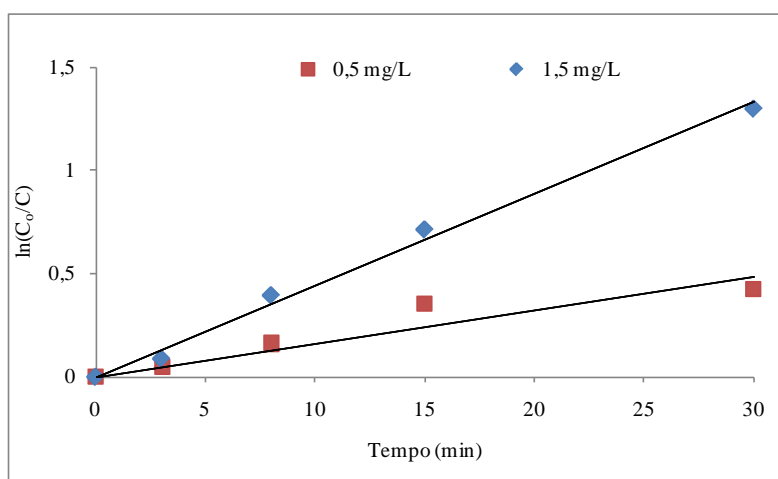


Figura 3- Ajuste dos pontos experimentais à cinética de *pseudo-primeira ordem* para a oxidação de microcistinas pelo cloro.

Os resultados apresentam coeficientes de correlação (*r*) acima de 0,9 e a constante de *pseudo-primeira ordem* do decaimento das microcistinas pela ação do cloro aumenta com incremento das doses de cloro aplicadas (Tabela 3).

Tabela 3- Parâmetros da cinética de oxidação de microcistinas com diferentes doses de cloro.

[MCYSTs] _o (µg/L)	Cloro aplicado (mg/L)	k' (µg/L.min)	r
41,3	0,5	0,0163	0,9369
42,6	1,5	0,0444	0,9968

[MCYSTs]_o = concentração inicial de microcistinas.

CONCLUSÕES

Considerando as condições experimentais avaliadas, os resultados obtidos neste trabalho permitiram confirmar que a cloração, realizada com doses usualmente adotadas na etapa de desinfecção, pode ser efetiva para remoção de microcistinas, mesmo quando valores de concentração mais elevadas de microcistinas estejam presentes nos mananciais de abastecimento público.

No valor de pH avaliado, para a quase completa remoção de cerca de 40 µg/L de microcistinas da água de estudo, foi necessária dose de cloro de 2,1 mg/L e um residual de cloro livre de 0,5 mg/L foi evidenciado ao final de 30 minutos de tempo de contato.

Os resultados confirmam ainda que a cloração de microcistinas segue uma cinética de *pseudo*-primeira ordem. Contudo é recomendada a realização de estudos detalhados para avaliar se o valor da constante de reação é proporcional à dose de cloro aplicada.

Considerando que o cloro é o composto mais utilizado na desinfecção em estações de tratamento de água brasileiras e se mostra eficiente na remoção de microcistinas, recomenda-se, controle da oxidação no tanque de contato como estratégia para remoção das microcistinas dissolvidas. Ao mesmo tempo, para minimizar risco a saúde, destaca-se a necessidade de atenção ao potencial de formação de produtos da oxidação dessas toxinas com o cloro, assim como o grau de toxicidade desses compostos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acero, J. L., Rodriguez, E., Meriluoto, J. (2005). "Kinetics of reactions between chlorine and the cyanobacterial toxins microcystins." *Water Research*, **39**, 1628-1638.
2. Azevedo, S. M. F. O., Carmichael, W.W., Jochimsen, E.M., Rinehart, K.L., Sharon L., Shaw, G. L., Eaglesham, G. K. (2002). "Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil." *Toxicology*, **181-182**, 441-446.
3. Carmichael, W. W. (1994). "The toxins of cyanobacteria." *Scientific American*, **270**(1), 64-72.
4. International Organization for Standardization – Método ISO 20179 (2005). "Water quality Determination of *microcystis*- Method using solid phase extraction (SPE) and high performance liquid chromatography (HPLC) with ultraviolet (UV) detection." First edition.
5. Lenzi, E., Favero, L. O. B., Ludhese, E. B. (2009). *Intrudução à química da água: ciência, vida e sobrevivência*. LTC, Rio de Janeiro, RJ, 604p.