

I-008 – AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA CINÉTICA DE OXIDAÇÃO DE SAXITOXINAS

Rogério Pinheiro Magalhães Carvalho⁽¹⁾

Engenheiro Civil pela Universidade Estadual do Maranhão. Mestre em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos pela Universidade de Brasília (UnB). Doutor em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos pela Universidade de Brasília (UnB). Analista em Ciência e Tecnologia da CAPES e Professor do Instituto de Ensino Superior Planalto (IESPLAN).

Cristina Celia Silveira Brandão

Professora Adjunta da Universidade de Brasília (PhD, ENC-UnB).

Endereço⁽¹⁾: QNL 01, Bloco D, Apto. 125 – Taguatinga Norte – Brasília – DF – CEP: 72150-114 - Brasil - Tel: (61) 9605-9277 - e-mail: rpmcarvalho@hotmail.com

RESUMO

A ocorrência de florações de cianobactérias possibilita a produção de toxinas (cianotoxinas) que podem comprometer negativamente a qualidade das águas dos mananciais destinados ao abastecimento público. Sabe-se que as cianobactérias possuem a capacidade de produzir cianotoxinas, liberadas para os mananciais como metabólitos secundários. Para as saxitoxinas, as propriedades químicas desses metabólitos permitem algumas reações de transformações, podendo resultar em compostos com maior grau de toxicidade. Assim, o objetivo deste trabalho foi pesquisar, de forma preliminar, as variáveis que podem influenciar a reação de transformação das saxitoxinas e a ordem em que essas reações podem ocorrer, sendo utilizado o mecanismo de cinética de oxidação com o cloro e focalizando três variantes de saxitoxinas (neoSTX, dcSTX e STX), cujas concentrações variaram de 16,3 µg/L a 68,3 µg/L. As doses de cloro aplicadas variaram de 3,5 a 15 mg/L, em amostras sob a condição de valores de pH de 5 a 9.

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento de água, Remoção de saxitoxinas, Oxidação com cloro, Cinética.

INTRODUÇÃO

As cianobactérias podem representar um perigo para a qualidade das águas destinadas ao abastecimento público no que tange ao seu potencial de produzir e liberar toxinas (cianotoxinas) para o meio natural.

Existem numerosos casos de intoxicação letal de animais por consumir água com a presença de floração de cianobactérias tóxicas. Quanto aos efeitos causados em seres humanos, as informações oficiais têm se limitado a pacientes submetidos a tratamento de hemodiálise; entretanto, há relatos de danos à saúde a partir de numerosos casos esporádicos de irritações de pele e/ou das membranas mucosas, e também a partir de casos documentados de enfermidades após a ingestão de água, assim como a ingestão acidental ou aspiração de espuma contendo cianobactérias.

Pesquisas sobre relatos de florações de cianobactérias têm demonstrado que cerca de 50% a 70% são tóxicas e não existe um método simples que distinga o grau de toxicidade desses seres (Chen *et al.*, 2005). Diante disso, um grande desafio para as companhias de saneamento é o tratamento de águas com a presença de cianobactérias.

As cianotoxinas podem ser classificadas em dois grupos: os peptídeos cíclicos hepatotóxicos e os alcalóides neurotóxicos. O presente trabalho foi direcionado para o estudo das neurotoxinas, particularmente as saxitoxinas, produzidas pela cepa T3 de *Cylindrospermopsis raciborskii*.

De acordo com Lagos *et al.* (1999), Molica *et al.* (2004) e Pomati *et al.* (2004), a cepa T3 é capaz de produzir STX, neoSTX, dcSTX, dcneoSTX, C1, C2, GTX-2, GTX-3 e GTX-6. Neste trabalho foram estudadas as três primeiras variantes caracterizadas por esses autores, pelo fato de apresentarem maior grau de toxicidade, sendo que a neoSTX foi produzida em maior quantidade pela cepa T3.

Os trabalhos que relatam estudos sobre a oxidação com o cloro de algumas variantes de saxitoxinas, demonstraram que a oxidação foi possível sob diferentes condições operacionais (pH e residual de cloro). Entretanto, esses estudos não se aprofundaram na avaliação da influência da dose de cloro e do valor do pH sobre a cinética do processo. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar a cinética da oxidação de algumas saxitoxinas (neoSTX, dcSTX e STX) com cloro em amostras com diferentes valores de pH.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um trabalho experimental que consistiu na oxidação de três variantes de saxitoxinas, neoSTX (68,3 µg/L), dcSTX (16,3 µg/L) e STX (33,3 µg/L), com o cloro (doses variando de 3,5 a 15 mg/L), gerado a partir do hipoclorito de sódio, sob a condição de valores de pH de 5 a 9.

As saxitoxinas utilizadas foram obtidas a partir da lise da cepa T3 de *Cylindrospermopsis raciborskii*, por meio do processo de gelo/degelo por três vezes consecutivas, conforme recomendado por Azevedo e Magalhães (2006). O processo de gelo/degelo promove o rompimento da membrana celular e, consequentemente, a liberação de toxina e de outros compostos intracelulares para o meio líquido. Em seguida, o material obtido era submetido ao processo de semipurificação, seguindo a metodologia descrita por Rositano *et al.* (1998) que, além de permitir a minimização das impurezas oriundas do processo de lise celular, gerava um extrato com elevada concentração de saxitoxinas. A Figura 1 mostra, de forma geral, os procedimentos realizados para a obtenção da água de estudo.

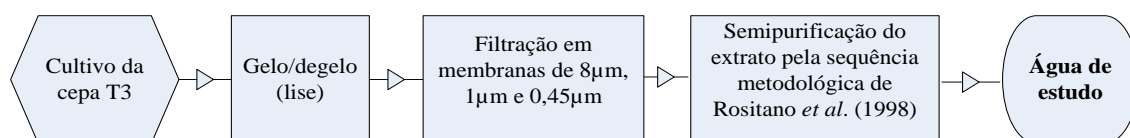


Figura 1 – Procedimento para a obtenção da água de estudo (AE)

Os experimentos de oxidação foram feitos utilizando-se os dispositivos de agitação de um equipamento para teste de jarros e recipientes de vidros (béqueres de 500 mL). Esse equipamento possui agitadores de aço inoxidável, do tipo paleta de eixo vertical, que medem 25 x 75 mm e fornece velocidade de agitação máxima de 2000 rpm.

O tempo de contato total para reação com cada dose de oxidante com as saxitoxinas foi de 90 minutos, sendo que a cada 15 minutos duas alíquotas de amostras eram retiradas: uma para análise dos residuais de cloro e a outra para detecção da presença de saxitoxinas (neoSTX, dcSTX e STX). Nas alíquotas destinadas às saxitoxinas, foi adicionado o tiossulfato de sódio após cada tempo de reação e, em seguida, elas foram identificadas e armazenadas em congelador até o momento de análise em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência com derivatização pós-coluna e detecção de fluorescência (CLAE-DFL). Na Tabela 1 são apresentadas as condições em que foram realizadas as análises de saxitoxinas.

Tabela 1 – Condições que foram adotadas para a análise de saxitoxinas

Parâmetro	Condição ou descrição
Coluna	Coluna de fase reversa C-18
Fase móvel	
Vazão	0,8 mL/min
Composição	Heptanosulfonato de sódio (2 mM) em 30 mM de fosfato de amônia, pH 7,1 e 3% de acetonitrila.
Reagente oxidante	
Vazão	0,4 mL/min
Composição	7 mM de ácido periódico (HIO ₄) em 10 mM de tampão fosfato de potássio, pH 11,0
Reação	Tubo de Teflon (10 m, 0,5 mm d.i) aquecido a 85°C
Acidificante	
Vazão	0,4 mL/min
Composição	Ácido Acético
Detecção	
Excitação	330 nm
Emissão	390 nm

No método apresentado na Tabela 1, foi utilizada a coluna C-18 no lugar da coluna C-8, conforme proposto por Oshima (1995). Isso aconteceu pelo fato da coluna C-18 ter demonstrado uma maior capacidade de separação das frações cromatográficas.

As alíquotas retiradas a cada 15 minutos para as análises dos residuais de cloro e de saxitoxinas correspondiam aos volumes de amostra de 20 mL e de 10 mL, respectivamente, totalizando, ao final dos 90 minutos, um volume retirado de amostras de 180 mL, de um total 300 mL. Em cada dose de cloro avaliada, o ensaio era realizado em duplicata, além disso, era realizado o acompanhamento de uma possível degradação das saxitoxinas por meio de dois recipientes de controle (branco) com a AE sem aplicação de cloro. A concentração inicial de saxitoxinas (somatório de STX, neoSTX e dcSTX) era cerca de 117,9 mg/L. A Figura 2 ilustra o procedimento que foi adotado nesta fase da pesquisa.

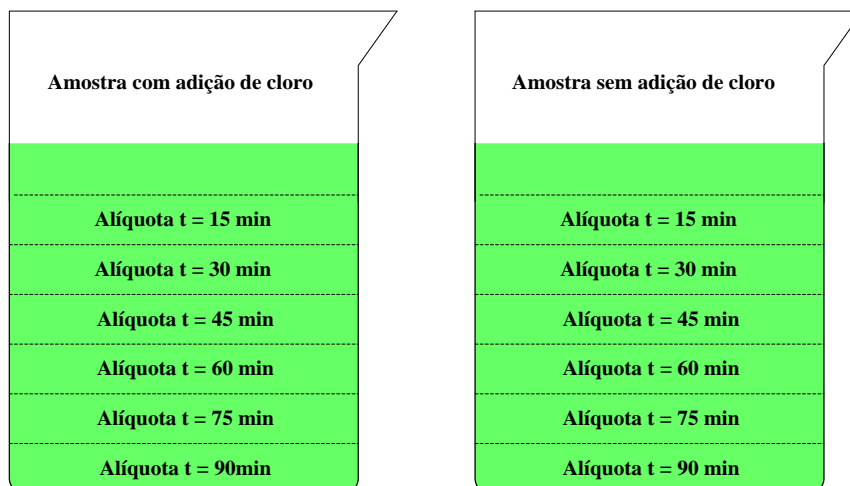


Figura 2 – Configuração dos ensaios realizados com água de estudo contendo saxitoxinas (neoSTX, dcSTC e STX)

De modo a estudar a cinética de oxidação das saxitoxinas com cloro, foram testados os ajustes dos dados experimentais com a utilização da equação de ordem “n”. O objetivo desse estudo foi verificar a cinética na qual as reações ocorreram, a influência do valor do pH e da dose de cloro aplicada.

Para a determinação da cinética de ordem “n”, foi utilizada a metodologia descrita por Levenspiel (1926), que usa o método do tempo de vida fracionária ($F = 80\%$), cuja formulação é mostrada pela Equação 1.

$$t_F = \frac{(0,8)^{1-n} - 1}{k(n-1)} C_0^{1-n} \quad \text{Equação 1}$$

onde t_F é o tempo de vida fracionária, C_0 é a concentração inicial do composto em estudo, k é a constante de cinética de n é a ordem da reação.

É importante ressaltar que durante os ensaios de oxidação, tendo como objetivo os estudos de cinética, buscou-se o controle da temperatura, que ficou em $25 \pm 1^\circ\text{C}$ para a temperatura ambiente e $25 \pm 2^\circ\text{C}$ para a temperatura da amostra, sendo medidas por meio de termômetro digital. O controle da temperatura foi importante para minimizar o efeito desse parâmetro nas reações de oxidação.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Apesar da complexidade do processo de oxidação das saxitoxinas, que parece envolver reações paralelas de oxidação e transformação, buscou-se verificar se esse processo se desenvolve numa cinética específica em cada valor de pH. A Tabela 2 mostra os valores das constantes de velocidade (k), a ordem de reação (n) e o

coeficiente de ajuste (R^2) para diferentes valores de pH e doses de cloro aplicadas ao longo do tempo de contato de 90 minutos.

Tabela 2 – Constante de velocidade (k) e coeficiente de ajuste linear (R^2) das reações de ordem “n” para as variantes de saxitoxinas e doses de cloro variando de 3,5 a 15 mg/L

Saxitoxinas ($\mu\text{g/L}$)	Valores de pH	Doses de Cloro (mg/L)	Constante de velocidade (k) ($\mu\text{g/L.min}$)	Ordem de reação (n)	Coeficiente de ajuste (R^2)
neoSTX	6	3,5	0,002	1,6	0,770
	7		0,013	1,3	0,630
dcSTX	9		0,002	2,6	0,780
STX	6		0,006	1,3	0,770
	7		0,003	1,8	0,650
	9		0,040	1,1	0,650
neoSTX	5	5	0,011	1,2	0,980
	6		0,021	1,1	0,980
	7		0,029	1,4	0,850
dcSTX	6		0,057	1,1	0,880
	8		0,017	1,3	0,930
	9		0,002	2,5	0,650
STX	5		0,001	2,4	0,600
	6		0,057	1,2	0,640
	8		0,006	1,9	0,780
neoSTX	5	6	0,016	1,3	0,950
	6		0,031	1,4	0,850
	7		0,033	1,3	0,650
dcSTX	6		0,017	1,7	0,770
	8		0,038	1,4	0,630
STX	8		0,0104	1,7	0,760
neoSTX	5	7	0,020	1,2	0,750
	6		0,007	1,5	0,650
	7		0,007	1,3	0,640
dcSTX	6		0,005	1,9	0,660
	8		0,020	1,5	0,610
STX	8		0,040	1,5	0,680
neoSTX	5	8	0,004	1,2	0,640
	6		0,004	1,7	0,710
	7		0,009	1,6	0,700
dcSTX	6		0,022	1,6	0,920
STX	5		0,001	2,7	0,660
neoSTX	5	12	0,066	1,3	0,620
	7		0,019	1,6	0,650
dcSTX	7		0,020	1,3	0,760
STX	6		0,007	1,8	0,920
neoSTX	5	14	0,043	1,4	0,620
	7		0,002	2,2	0,630
dcSTX	7	15	0,019	1,4	0,820
neoSTX	5		0,029	1,5	0,600
	7		0,006	1,9	0,600
dcSTX	6		0,001	2,8	0,690
STX	6		0,001	2,5	0,660

Os resultados da Tabela 2 indicam que, para cada valor de pH e doses de cloro aplicadas, há uma ordem de reação diferente, evidenciado pelos valores de “n”. Esse fato reforça a hipótese de que as saxitoxinas (neoSTX, dcSTX e STX) têm comportamento diferenciado para cada valor de pH. O coeficiente de ajuste linear (R^2)

ficou acima de 0,600, que, segundo Tobias (2010), para os valores de R^2 iguais ou superiores a 0,600, diz-se que o ajuste linear apresenta boa qualidade.

Interessante destacar que, das 43 condições experimentais em que foi avaliada a cinética, a maioria apresentou ordem de reação acima de 1 e menor do que 2, portanto, entre a primeira e a segunda ordem. De certa forma, esse acontecimento é semelhante aos resultados relatados para a cinética das microscistinas (toxinas mais estudada), quando diferentes trabalhos indicam alternância entre a primeira e a segunda ordem de reação (Acero *et al.*, 2005; Momani, 2007; Ying *et al.*, 2008; Zhong *et al.*, 2009), dependendo, entretanto, dos valores de pH e das doses de oxidantes aplicadas.

Diante disso, fica clara a necessidade de estudos adicionais sobre a cinética de oxidação das cianotoxinas com o objetivo de se desenvolver modelos matemáticos que possibilitem estimar, com grau de significância satisfatório, a concentração final de cianotoxinas em qualquer tempo de contato, para um determinado valor de pH e dose de cloro. Além disso, os resultados obtidos neste trabalho apontam para a necessidade para o estudo individualizado de cada variante em intervalos de tempo menores e modelos de cinética mais representativos.

CONCLUSÕES

Com base no trabalho realizado, concluiu-se que:

A cinética de oxidação das saxitoxinas indicou ser dependente da variante (neoSTX, dcSTX e STX) e condicionada pelo valor do pH e pela dose de cloro aplicada. Neste trabalho, 86% das ordens de reação calculadas foram maiores do que 1 e menores do que 2, o percentual restante ficou acima de 2. Esse resultado é semelhante aos obtidos para as microcistinas que, segundo a literatura especializada, apresentam cinética de oxidação com cloro que oscilam entre 1ª e 2ª ordem de reação.

No caso das saxitoxinas (neoSTX, dcSTX e STX), os resultados obtidos indicam que a adoção de medidas em intervalos de tempo inferior a 15 minutos é o ponto de partida para a realização de novos estudos cinéticos, pois, os primeiros 15 minutos de tempo de contato foram quando a oxidação das saxitoxinas ocorreram com mais intensidade. Outro aspecto importante é avaliar a utilização de modelos de taxa de oxidação que considere a constante de reação, para um determinado valor de pH, dependente da dose do oxidante, a exemplo da lei de Chick-Watson para inativação de microrganismos.

Considerando os conhecimentos sobre as interconversões entre variantes, é necessário realizar estudos cinéticos detalhados sobre oxidação das saxitoxinas, usando modelos de cinética mais representativos;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACERO, J. L., RODRIGUEZ, E., MERILUOTO, J. Kinetics of reaction between chlorine and the cyanobacterial toxins microcystins. *Water Research*, 39: 1628-1638p, 2005.
2. AZEVEDO, S. M. F. O E MAGALHÃES, V. F. Metodologia para Quantificação de Cianotoxinas. In: Pádua, V. L. (coord.) Contribuição ao estudo da remoção de cianobactérias e microcontaminantes orgânicos por meio de técnicas de tratamento de água para consumo humano. ABES/PROSAB, 504p, 2006.
3. CHEN, X., XIAO, B., LIU, J., FANG, T., XU, X. Kinetics of the oxidation of MCRR by potassium permanganate. *Toxicon*, 45 (7), 911-917p, Republic of China, 2005.
4. LAGOS, N., ONODERA, H., ZAGATTO, P. A., ANDRINOLO, D., AZEVEDO, S. M. F. O., OSHIMA, Y. The first evidence of paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, isolated from Brazil. *Toxicon*, 37, 1359-1373p, 1999.
5. LEVENSPIEL, O. Engenharia das Reações Químicas. Tradução: Calado, V. M. A., Tavares, F. W. (2000). Edgard Blücher, São Paulo, 1926.
6. MOLICA, R. J., OLIVEIRA, E. J. A., CARVALHO, P. V. V. C., COSTA, A. N. S. F., CUNHA, M. C. C., MELO, G. L. E AZEVEDO, S. M. F. O. Occurrence of saxitoxins and anatoxin-a (s) – like anticholinesterase in a Brazilian drinking water supply. *Harmful Algae*, 4(4), 743-753, 2004.
7. MOMANI, F. A. Degradation of cyanobacteria anotoxin-a by advanced oxidation processes. *Separation and Purification Technology*, 57: 85-93p, 2007.

8. OSHIMA, Y. "Post-column derivatization HPLC methods for paralytic shellfish poisons". In: Hallegraef GM, Anderson, D.M., Cembella, A. D. (eds), *Manual on harmful Marine Microalgae, IOC Manuals and Guides n° 33, United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization*, Paris, 81 – 94p, 1995.
9. POMATI, F., MOFFITT, M., CAVALIERE, R. E BRETT, A. A. Evidence for differences in the metabolism of saxitoxin and C1+2 toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* T3. *Biochimical et Biophysica Acta*, 1674, 60-67, 2004.
10. ROSITANO, J., NICHOLSON, B.C., HERESZTYN, T., AND VELZEBOER, R.M.A. Characterisation and determination of PSP toxins in neurotoxic cyanobacteria and methods for their removal from water. Research Report, 148, Urban Water Research Association of Australia, 1998.
11. TOBIAS, A. C. B. Métodos quantitativos aplicados a custos, análise estatística como um auxiliar valioso nas decisões. Cavalcante Consultores, Up-To-Date® - N° 257, 2010.
12. YING, J., JUAN-LI, H., JIAO, F., MING-SONG, W., CHONG-WEI, C. Degradation of microcystin-RR in water by chlorone dioxide. *Journal of China University of Mining & Technology*, 18: 623-628p, 2008.
13. ZHONG, Y., JIN, X., QIAO, R., QI, X., ZHUAN, Y. Destruction of microcystin-RR by fenton oxidation. *Journal of Hazardous Materials*, 1016(10): 16p, 2009.