UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO Desenvolvimento de processos Químicos (ACDPQ)

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CARVÃO ATIVADO PARA REMOÇÃO DE MICROCISTINAS

Autor: Engenheiro Químico Eden Cavalcanti de Albuquerque Junior, MSc.

Orientador: Profa. Dra. Telma Teixeira Franco, PhD. Co-Orientadores: Prof^o Dr. Aparecido dos Reis Coutinho, DSc.

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

> Campinas - São Paulo Novembro, 2006

BIBLIOTECA CENTRAL DESENVOLVIMENTO COLEÇÃO UNICAMP



FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

AL15p	Albuquerque Junior, Eden Cavalcanti Produção e caracterização de carvão ativado para remoção de microcistinas / Eden Cavalcanti Albuquerque JuniorCampinas, SP: [s.n.], 2006.
	Orientador: Telma Teixeira Franco e Aparecido dos Reis Coutinho. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.
	1. Carbono ativado. 2. Adsorção. 3. Biomassa. 4. Cianobactéria. 5. Toxinas. I. Franco, Telma Teixeira. II. Coutinho, Aparecido dos Reis. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III. Título.

Título em Inglês: Production and characterization of activated carbon for removing microcystins.

Palavras-chave em Inglês: Biomass, Activated carbon, Adsorption, Fixed-bed, Microcystins, Cyanobacteria.

Área de concentração: Desenvolvimento de Processos Químiços.

Titulação: Doutor em Engenharia Química

Banca examinadora: Gustavo Paim Valença, Maria Almerinda V. F. R. Alves, Edson Tomaz e Luiz Di Bernardo.

Data da defesa: 10/11/2006

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Química

Tese de Doutorado defendida por Eden Cavalcanti de Albuquerque Junior e aprovada em 10 de Novembro de 2006 pela banca examinadora constituída pelos doutores:

Profa. Dra. TELMA TEIXEIRA FRANCO (Orientadora - FEQ/UNICAMP) 762 cor Prof. Dr. GUSTAVO PAIM VALENÇA (Titular - FEQ/UNICAMP) Profa.Dra/MARIA ALMERINDA V. F. R. ALVES (Titular – FCM/UNICAMP) SON TOMAZ Prok Dr (Titula FEQ/UI (ICAMP) 6 Prof. Dr. LUIZ DI BERNARDO (Titular - EESC/USP)

UNICAMP Biblioteca Central César Lattes Desenvolvimento de Coleção

LCAN Erg

Este exemplar corresponde a versão final da tese de doutorado de Engenharia Química.

Orientadora

Prof^a. Dr^a. Telma Teixeira Franco

Dedico...

á minha filha Maria Eduarda e aos meus pais Eden e Maria José.

"A vida só pode ser compreendida olhando-se para trás, não com medo, mas com sentido de avaliação; mas só pode ser vivida, olhando-se para frente, não com arrogância, mas com coragem e determinação."

(autor desconhecido)

AGRADECIMENTOS

Há quase cinco anos eu deixei a companhia diária daqueles que eu mais amo nesta vida: meus pais, irmãos e minha querida filha. Foram dias, meses e anos muito difíceis longe deles, mas foi necessário. Hoje agradeço a Deus em nome de Jesus por todas as maravilhas que ele me proporcionou, por tudo que eu aprendi e por ter passado com cabeça erguida por tantas provações de fé por ele imposta. Senhor, muito obrigado por tudo que me deste!

Estes anos foram compartilhados por pessoas muito importantes na minha vida as quais eu gostaria de também agradece-las:

• Primeiramente aos meus pais Eden e Zéza, meus irmãos (Erick, Ericka e Elaine) e a minha filha (Maria Eduarda) por todos estes anos de apoio, sem vocês eu não teria chegado até aqui;

• À minha orientadora, Profa. Dra. Telma Teixeira franco, pelos anos de orientação, paciência e apoio. Agradeço acima de tudo pela sua amizade e pela confiança depositada na pessoa e no profissional que sou;

• À Dra Katharina E. Esteves pela co-orientação deste trabalho.

• Ao Prof. Dr. Aparecido dos Reis Coutinho pela sua co-orientação, apoio, confiança e amizade. Agradeço por ter produzido e caracterizado os carvões aplicados neste trabalho sob a sua orientação e por ter permitido juntar-me ao seu grupo de pesquisa do qual faço parte até o presente momento;

• Agradeço ao Prof. Dr. Luiz Di Bernardo pelo apoio nesta pesquisa, por ter me cedido as culturas de cianobactérias a partir das quais pude obter as microcistinas utilizadas nos ensaios de adsorção. Agradeço por ter-me permitido utilizar o seu laboratório, o Labinho, localizado na Escola de Engenharia de São Carlos, USP. Sei que a sua colaboração e apoio foram essenciais para que eu pudesse finalizar este trabalho. MUITO OBRIGADO!!!;

• Agradeço as duas bancas de qualificação de doutorado compostas pelos prof. Drs Edson Tomaz (FEQ-UNICAMP), Gustavo Paim (FEQ-UNICAMP), Maria do Carmo Calijuri (EESC-USP), Meuris Gurgel (FEQ-UNICAMP), Marli de Fátima Fiori (CENA-USP) e Katharina Esteves (Instituto de Pesca, SP), pelas sugestões e contribuição científica relevantes neste trabalho; Agradeço infinitamente pela amizade e apoio de duas pessoas, dois amigos que eu não poderia deixar de agradecê-los em especial: Aos futuros doutores, o Engenheiro Químico Manoel O. Mendez e a Engenheira Civil Emilia Kuroda. Sem a ajuda e amizade de vocês dois eu não teria realizado um trabalho tão importante quanto este;

• Aos colegas do Laboratório de Engenharia Bioquímica, UNICAMP, onde passei os anos de meu doutorado: Enio, Gicela, Kity, Paula, Luciana Igarashi, Juliana, Erica, Denise, Eduardo, Arlete, Nelisa, Joseane e Rafael Moreno pelos anos compartilhados;

Á amiga Dra Junko Tsukamoto pela paciência e amizade acima de tudo;

• A amiga Maria das Graças Henriques pela força e apoio dados no início do doutorado. Foi a partir de você que eu pude realizar esse sonho o qual esta sendo concretizado. Obrigado minha amiga por tudo!

• Aos técnicos: Lúcio Flávio do Laboratório de Cromatografia (FEQ-UNICAMP), e Andréa e Kelly Palma do Laboratório de Uso Comum (LUC-FEQ-UNICAMP) pelas grandes contribuições científicas indispensáveis neste trabalho.

• Ao professor Dr. Ronei Jesus do IQ-UNICAMP por ter permitido o uso da Central Analítica da UNICAMP para realização da espectroscopia de infravermelho nos carvões ativados;

• Ao Professor Martin G. Peter do Instituto de Química da Universidade de Potsdam (Potsdam, Alemanha) pela oportunidade de ter exercido um estágio a docência sob sua supervisão e pelas análises de espectrometria de massas do extrato bruto de microcistinas;

• A empresa Multivácuo indústria e comércio de filtros, em nome de seus diretores e funcionários, por ter me cedido suas instalações para produzir os carvões ativados;

• A empresa BRASCARBO por ter me cedido as amostras de carvões ativados da NORIT utilizados nesta tese;

• Não deixaria nunca de agradecer ao meu grande e melhor amigo Ivan Dornelas, pela sua amizade e apoio inquestionáveis. Junto com minha família, você sempre foi, é, e sempre será uma das pessoas mais importantes da minha vida. Sabemos que todos estes anos não foram fáceis para ninguém, mas juntos conseguimos chegar aonde poucos conseguem, e você sabe disso. Agradeço todos os dias a Deus pela sua amizade e seu companheirismo. Muito...! Deus te abençoe por tudo!!;

• A Faculdade de Engenharia Química da UNICAMP e seus professores pela formação acadêmica e pela oportunidade de realizar meu doutoramento;

- Á secretária do departamento de processos químicos, Sra Silvana Margaret Campos, pela sua amizade e prestação, obrigado por tudo!!
- Ao CNPq por ter-me concedido a bolsa de estudos e a Fapesp pelo apoio financeiro dado ao projeto de doutorado;

Índice de Tabelas	xix
Índice de Figuras	xx
Índice de simbolos	xxiii
Resumo	xxvi
Abstract	xxvii
APRESENTAÇÃO	1
OBJETIVOS	5
CAPÍTULO I	7
Revisão Bibliográfica	9
1. Introdução	9
1 1 Cianobactérias	0
1.1.1. Toxinas produzidas por cianobactérias	
1.1.1.1. Neurotoxinas	
1.1.1.2. Hepatotoxinas	
1.1.2. Remoção de toxinas de cianobactérias da água	15
1.2. Carvão ativado	17
2. Referências	22
CAPÍTULO II	
Processos físicos e químicos para remoção de cianobactérias e suas toxis Revisão	nas de água: 33
Resumo	
1. Introdução	35
2. Métodos para remoção de cianobactérias e cianotoxinas	
21 Tratamentos físicos	38
2.1.1. Remoção de biomassa de cianobactérias	
2.1.2. Remoção de cianotoxinas dissolvidas	
2.1.2.1. Adsorção por carvão ativado	41
2.1.2.2. Adsorção em solos argilosos	
2.1.2.3. Osmose reversa e filtração em membranas	
2.2. Tratamento químico	49
2.2.1. Ozonização	
2.2.2. Cloração	
2.2.3. UV/H_2O_2 e permanganato de potassio	
2.2.4. Degradação holteriano de MCVST	
2.5. Degradação bacteriana de IVIC I ST	
4. Referências	62

Índice

CAPÍTULO III	79
Preparation and characterization of activated carbons from Brazilian agric biomass wastes by one-step pyrolysis/activation	cultural 81
Abstract	82
1. Introduction	83
2. Experimental	
 2.1. Raw material 2.2. Thermal analysis of the agricultural by-product biomass	84 85 85 86 86 87 87
3. Results and discussion	88
 3.1. Thermal analysis 3.2. Nitrogen adsorption: Surface area and pore size distribution 3.3. Liquid-phase adsorption 3.4. Surface characterization by FTIR	
4. Conclusions	107
Acknowledgements	108
5. References	108
CAPÍTULO IV	115
Use of solid-phase extraction, high-performance liquid chromatography, and M TOF identification for [D-Leu ¹]microcystin-LR analysis in treated water: va of the analytical methodology	1ALDI- lidation 117
Abstract	118
1. Introduction	119
2. Experimental	122
 2.1. Chemicals and reagents	122 122 122 123 124
3. Results and discussion	124
3.1. Identification of the [D-Leu ¹]MCYST-LR from the culture extract by MALD	I-TOF
 3.2. Validation of analytical parameters 3.2.1. Calibration and linearity 3.2.2. Limit of detection (LOD) and Limit of quantification (LOQ) 	125 128 128 130

3.2.3. Recovery and precision	.131
3. Conclusions	. 133
Acknowledgements	. 134
4. References	. 134
CAPÍTULO V	. 141
Cinética e equilíbrio de adsorção da [D-Leucina ¹]microcistina-LR em car ativados.	vões . 143
Resumo	.144
1. Introdução	.145
2. Materiais e métodos	. 149
2.1. Carvões ativados	.149
2.1.1. Caracterização dos carvões ativados	. 149
2.1.1.1. Adsorção em fase gasosa e líquida: Area da superfície específica,	140
porosidade e indice de azul de metileno	.149
2.2. Extrato de Incrocistinas como adsorbato	150
2.9. Analise de [D-Leucina ¹]MCYST-LR por carvão ativado	152
2.4.1 Experimentos em batelada.	.152
2.4.1.1. Taxa de adsorção	.152
2.4.1.2. Equilíbrio de adsorção	.153
3. Resultados e discussões	. 153
3.1. Caracterização dos carvões ativados	. 155
3.2. Experimentos de cinética	. 159
3.3. Equilíbrio de adsorção	. 163
4. Conclusões	.171
4. Referências	. 172
CAPÍTULO VI	. 181
Propriedades texturais e de adsorção de carvões ativados usados por estaçõe	es de
tratamento de água em centros de hemodiálise	.183
Resumo	. 184
1. Introdução	. 185
2. Material e métodos	. 188
2.1. Carvões ativados	188
2.2. Caracterização dos carvões ativados	. 189
2.2.1. Adsorção em fase gasosa: Área da superfície especifica e distribuição de	
tamanho de poros	. 189
2.2.2. Adsorção em fase líquida	. 190
2.2.2.1. Experimentos em batelada: Número de iodo, Indice de azul de metilenc) e
LD-Leucina JMICrocistina-LK	190

2.2.2.2. Experimentos em colunas de leito fixo: adsorção de [D-leu ¹]MCYST-LE	2
	191
2.2.2.1. Estimativa de parâmetros de transferência de massa e capacidade de	
adsorção do leito	193
3. Resultados e discussões	196
3.1. Características texturais	196
3.2. Adsorção em fase líquida	202
3.2.1 Experimentos em batelada	202
3.2.1.1 Adsorção de [D-Leu ¹]MCYST-LR	205
3.2.2 Experimentos em coluna de leito fixo	207
3. Conclusões	214
4. Referências	216
CAPÍTULO VII	223
Conclusões gerais	223
CAPÍTULO VIII	227
Sugestões para trabalhos futuros	227

Índice de Tabelas

Capítulo I	
TABELA 1. Gênero de Cianobactérias e suas toxinas. Adaptada a partir de	
Carmichael, (2001).	10
TABELA 2. Algumas variantes de microcistinas atualmente catalogadas, partir de	
Sivoven e Jones (1999).	14
Capítulo II	
TABELA 1 Técnicas de remoção de células de cianobactérias e de suas toxinas de	
água.	48
Capítulo III	
Table 1. Carbonization and activation conditions and overall yield of the different	
experiments.	88
Table 2. Data on thermal decomposition of the ABW.	90
Table 3. Values of specific surface area and pore volume.	94
Table 4. Parameters for Langmuir and Freundlich isotherms obtained at 25°C.	97
Table 5. FTIR spectra band assignments [50].	102
Capítulo IV	
Table 1. Analytical validation parameters.	131
Capítulo V	
TABELA 1. Propriedades químicas da molécula de azul de metileno.	150
TABELA 2. Propriedades físicas e químicas da molécula da [D-	
Leucina ¹]MCYST-LR.	154
TABELA 3. Características físicas dos carvões ativados.	157
TABELA 4. Parâmetros do modelo de Langmuir e Freundlich.	167
Capítulo IV	
TABELA 1. Carvões ativados avaliados.	189
TABELA 2. Propriedades texturais dos carvões ativados.	200
TABELA 3. Parâmetros de adsorção do modelo de Freundlich.	203
TABELA 4. Condições experimentais e resultados da adsorção em regime	
contínuo.	208
TABELA 5. Propriedades dos leitos.	212
TABELA 6. Parâmetros de difusionais dos leitos.	213

Índice de Figuras

Capítulo I	
FIGURA 1. Estrutura química das microcistinas (a) e nodularinas (b).	12
FIGURA 2. Esquema apresentando os diferentes tipos de poros em um sólido	
quanto à forma: (T) poro de transporte, (A) poro aberto, (F) poro fechado e (G)	
poro tipo gaiola. Capturada a partir de Gregg e Sing (1982).	18
Capítulo III	
Figure 1. TGA (a) and DTG (b) data on agricultural biomass waste.	89
Figure 2. Nitrogen adsorption-desorption isotherms of the activated carbons. (1)	
PWW, (2) UCM, (3) SCB, (4) CS, (5) MNS and (6) CAC.	92
Figure 3. Pore size distribution for the activated carbons.	95
Figure 4. (a) Linear correlation between (Δ) primary micropore volume and	
adsorbed volume of iodine and (+) micropore volume and adsorbed volume of	
iodine. (b) Linear correlation between (0) mesopore volume and adsorbed volume	
of methylene blue and (\Box) secondary micropore+mesopore volume and adsorbed	
volume of methylene blue.	100
Figure 5. FTIR spectra of the AC from UCM (a), CS (b), CAC (c), MNS (d),	
PWW (e) and SCB (f).	103
Figure 6. Scanning electron microscopy of the AC from UCM $10,000 \times (a)$, SCB	
$10,000 \times (b)$, PWW 10,000 × (c) and CS 20,000 × (d)	106
Capítulo IV	
Figure 1. General structure of microcystins. X2 and Z4 are two L-changeable	
amino acids and R is CH_3 or H.	120
Figure 2. Chromatogram showing [D-Leu ¹]MCYST-LR separation. Mobile phase:	
ACN-water-TFA (35:65 - 0.05%, v/v), pH 2.10; flow rate 0.7 mL/min; 238 nm;	
injection volume 15 µL. Peak 1 is [D-Leu ¹]MCYST-LR.	125
Figure 3. Positive ion MALDI-TOF mass spectrum (m/z range 850 - 1250 Da) of	
Microcystis aeruginosa cell extract from culture.	126

Capítulo IV (continuação...)

Figure 4.	(a) Genera	al structure o	f three	cyclic heptapep	tide hepatotoxins:	[Asp ³ ,	
ADMAdda	a ⁵ , Dhb ⁷]N	ACYST-RR (X, Z =	Arg); [Asp ³ , AI	MAdda ⁵ , Dhb ⁷]M	CYST-	
HtyR (X =	= Htyr, Z =	Arg); and [A	DMA	ida ⁵]MCYST-Ll	R (X = Leu, Z = A)	rg); (b)	
General	structure	of [D-Leuc	ine ¹]M	CYST-LR iso	lated from Micr	ocystis	
aeruginosa	a strain (N	PLJ-4).					127
Figure 5.	(a) Linear	ity response	for pea	k area versus sp	oiking levels of M	CYST-	
LR. (b) Re	sidual ana	lysis from pr	edicted	values vs. value	s observed by the r	nodel.	130
Capítulo ' FIGURA	V 1. Cenário	o das exporta	ções (a) e importações	(b) brasileiras de	carvão	
ativado	de	1989	a	06/2006.	Disponível	em:	
<http: alio<="" td=""><td>ceweb.des</td><td>envolvimento</td><td>.gov.br</td><td>≥. Acessado em</td><td>24 de Julho d e200</td><td>)6.</td><td>148</td></http:>	ceweb.des	envolvimento	.gov.br	≥. Acessado em	24 de Julho d e200)6.	148
FIGURA	2. Isoterm	as de adsorçã	io-dess	orção de nitrogé	ènio gasoso pelos c	carvões	
ativados d	le pinus (a	a), bagaço de	cana-o	de-açúcar, endo	carpo do coco sec	o (c) e	
comercial	- NORIT	0,8 row SUPI	ER (d).				156
FIGURA	3. Variaç	ão dos volu	mes de	e microporos s	ecundários e meso	oporos.	
(Carvões a	ativados o	btidos por A	lbuquer	que Júnior et a	l. 2005 versus Pen	dleton,	
Schumann	e Wong,	2001).					158
FIGURA 4	4. (a) Evo	lução da ciné	tica de	adsorção da [D-	Leucina ¹]MCYST-	LR em	
função do	tempo e ((b) evolução	da cono	centração da [D-	Leucina ¹]MCYST	-LR na	
fase líquid	la em fun	ção do tempo).	CA bagaço de	cana-de-açúcar,	CA	
endocarpo	e CA	pinus.					161
FIGURA	5. Equilíb	rio de adsorçã	io de [I	D-Leucina ¹]MCY	YST-LR na superfí	cie dos	
carvões at	ivados: (a)) madeira de p	oinus e	(b) bagaço de ca	na-de-açúcar.		164
FIGURA	6. Ajuste o	ios dados exp	erimen	tais da adsorção	de [D-Leucina ¹]M	CYST-	
LR pelos o	carvões at	ivados da ma	deira de	e pinus (a) e bag	aço de cana-de-açú	icar (b)	
ao modelo	de Langn	nuir linearizad	10.				166
FIGURA '	7. Ajuste o	los dados exp	erimen	tais da adsorção	de [D-Leucina ¹]M	CYST-	
LR pelos o	carvões at	ivados da ma	deira de	e pinus (a) e bag	aço de cana-de-açú	icar (b)	
ao modelo	de Freun	dlich lineariza	ndo.				168

xxi

Capítulo VI

FIGURA 1. Esquema da coluna usada neste trabalho (a) oring, (b) distribuidor	
(prato perfurado), (c) tela (60 µm), (d) parafuso, (e) régua, (f) pistão (SANTOS;	
GUIRARDELLO; FRANCO, 2002).	192
FIGURA 2. Isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio a 77K. (a) CA A, (b)	
CA B, (c) CA C, (d) CA D, (e) CA E, (f) CA F, (g) CA G e (h) CA H.	198
FIGURA 3. Função distribuição HK/BJH: (\blacksquare) CA A; (\Box) CA B; (Δ) CA C; (\bigoplus)	
CA E; (*) CA F; (0) CA G; (0) CA H.	201
FIGURA 4. Correlação entre volume de mesoporos e volume adsorvido de azul de	
metileno (a). Correlação entre área de microporos e número de iodo (b).	204
FIGURA 5. Cinética de adsorção da [D-Leucina ¹]MCYST-LR sobre os carvões	
ativados: (a) (D) HC PE CA F, (a) HC CAMPINAS CA B, (b) (0) CA SCB – G e	
$(\Delta) \operatorname{CA} \operatorname{CS} - \operatorname{F}.$	206
FIGURA 6. Curvas de rupturas dos carvões ativados (C/C ₀ versus tempo): (a) CA	
H (Bagaço-Multivácuo), (b) CA B (HC-Campinas), (c) CA F (HC-Recife), (d) CA	
G (endocarpo-Multivácuo).	209-
	210

Índice de simbolos

- PSP, do inglês: Paralitical Shellfish Poisons;
- PH = potencial hidrogenionico;
- D-Ala = aminoácido D-Alanaina;
- D-MeAsp = aminoácido D-metilapartico;
- MCYST = microcistina;
- CAP = carvão ativado em pó;
- CAG = carvão ativado granulado;
- d_i = diâmetro interno dos poros do carvão ativado;
- $ZnCl_2 = cloreto de zinco;$
- $CO_2 = diódido de carbono;$
- CO = monóxido de carbono;

H₃PO₄ = ácido fosfórico;

- BET = iniciais dos nomes de Brunauer, Emmett eTeller;
- S_{BET} = área da superfície específica dos carvões ativados, calculada pelo método de BET;
- $TiO_2 = dióxido de titânio;$
- GAC/TiO₂ = carvão ativado granulado impregnado com dióxido de titânio;
- UV = luz no comprimento de onda na região do ultravioleta;
- ha = unidade métrica hectare;
- ABW = Agricultural Biomass Waste;
- AC = activated carbon;
- SEM = Scanning Electron Microscopy;
- FTIR = Fourier transforms infrared spectroscopy;
- CAC = commercial activated carbon;
- UCM = unripe coconut mesocarp;
- CS = coconut shells;
- SCB = sugarcane bagasse;
- MNS = macadamia nutshells;
- PWW = pinus wood waste;
- °C = unidade de temperatura em graus Celsius;
- $P/P_0 =$ pressão relativa;

JIS = do inglês: Japanese Industrial Standard;

t-plot = método para cálculo da área de microcporos;

HK = método para cálculo da distribuição de microporos desenvolvido por Horvath-Kawazoe;

BJH = método para cálculo da distribuição de mesoporos desenvolvido por Barrett-Joyner-

Halenda;

dW/dLo = função distribuição;

 $\lambda_{max} =$ comprimento de onda máximo;

q = quantidade de soluto em fase sólida adsorvida;

 $C_0 = concentração inicial;$

C = Concentração na fase fluida após o equilíbrio;

IAM = índice de azul de metileno;

NI = número de iodo;

 K_L = constante de adsorção do model ode Langmuir;

 K_F = constante de adsorção do modelo de Freundlich;

q_m = quantidade máxima de soluto adsorvida em monocamada;

 Θ_1 , Θ_2 , Θ_3 , Θ_4 and Θ_5 = estágios termoquícos de decomposição térmica dos materiais

precursores dos carvões ativados;

 \vec{d} = diâmetro médio de poros nos carvões ativados;

TGA = termogravimetric analysis;

DTG = differencial termogravimetric;

MALDI-TOF = matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry;

HPLC = high performance liquid chromatography;

CLAE = cromatografia líquida de alta eficiência;

MW = molecular weight;

 $Na_2S_2O_3.5H_2O = tiossulfat$ ode sódio pentahidratado;

SPE = solid phase extraction;

TFA = trifluoracetic acid;

v/v = razão volume por volume;

 $[M + H]^{+}$ = ion molecular positivo;

m/z = razão massa por carga;

Da = Dalton;

- LOD = limit of detection;
- LOQ = limit od quantification;
- RSD = relative standard deviation;

C.V. = coefficient of variation;

 $M\Omega$ = unidade de resitividade (mega ohm);

PVDF = polyvinylidene fluoride;

- R_L^2 = coeficiente de correlação dado pelo modelo de Langmuir;
- R_{F}^{2} = coeficiente de correlação dado pelo modelo de Freudlich;

STX = saxitoxinas;

MS = ministério da saúde;

AM = azul de metileno;

MTZ = zona de transferência de massa;

UBZ = zona do leito não utilizada;

 t_u = tempo útil de um leito fixo;

 t_t = tempo total ou estequiométrico de um leito fixo;

 t_b = tempo de ruptura de um leito fixo;

 t_e = tempo de exaustão de um leito fixo;

 \overline{t} = tempo médio de residência;

 σ_{θ}^2 = variância adimensional;

Q = vazão no leito;

HC = Hospital das clínicas;

ABNT = Associação brasileira de normas técnicas;

AWWA = ameriacan water works association;

ASTM = american society for testing and materials

 H_L = altura do leito fixo;

 m_z = massa de arvão no leito fixo;

 H_{LU} = altura útil do leito;

Produção e caracterização de carvão ativado para remoção de microcistinas

Resumo

As microcistinas, hepatotoxinas, são os principais agentes tóxicos produzidos pelas cianobactérias. Essas toxinas vêm despertando atenções em razão do aumento do número de registros de florações tóxicas de cianobactérias em reservatórios destinados ao abastecimento público; da descoberta de novas toxinas e dos riscos associados a elas e do aumento de intoxicação aguda e crônica, tanto em animais como em seres humanos. A eficiência na remoção destas toxinas de água por carvão ativado depende de algumas características físico-químicas deste adsorvente, além da matéria-prima utilizada na sua obtenção. Neste trabalho, materiais como casca de macadâmia, endocarpo do coco seco e mesocarpo do coco verde da baía, bagaço de cana-de-açúcar e resíduo de madeira de pinus foram selecionados para obtenção de carvões ativados com potencial aplicação na remoção de microcistina de água potável. Os carvões ativados obtidos da madeira de pinus e bagaço de cana-de-açúcar apresentaram melhores estruturas porosas com ASEBET e V_{mesoporos} de 1586 e 1222 m²/g e 0,39 e 1,05 cm³/g, respectivamente. A partir de uma investigação da cinética e equilíbrio de adsorção da [D-Leucina¹]MCYST-LR por estes dois carvões ativados pulverizados foi possível estimar uma remoção desta toxina acima de 98% em 10 minutos de contato, além de ter sido observada adsorção em monocamada desta toxina, com q_m e K_L de 161 e 200 µg/mg e 1,23 e 2,33 L/mg, respectivamente, estimados a partir do modelo linearizado de Langmuir. A adsorção daquela toxina em processo contínuo foi estudada em leitos fixos dos carvões ativados do endocarpo do coco seco e bagaço de canade-açúcar juntamente com dois carvões ativados amostrados de estações de tratamento de água de dois centros de hemodiálise brasileiros. Após a exaustão de cada leito, o que aconteceu entre 132 e 320 min, foi observado adsorção daquela toxina entre 0,05 μ g/mg e 5,43 µg/mg.

Palavras-chave: Biomassa, carvão ativado, adsorção, leito fixo, microcistinas, cianobactérias.

Production and characterization of activated carbon for removing microcystins

Abstract

Microcystins, hepatotoxins, are the main toxic agents produced by cyanobacteria. A sharp increase in the number of cyanobacteria toxic blooms in drinking water reservoirs, the discovery of news variants of microcystins and the risks associated with them, and the increase of acute and chronic poisoning in animals and humans, has drew public attention to cyanobacteria toxins. The removal efficient of these toxins from water by activated carbon depends on physical chemical characteristics of this adsorbent and on the starting material used to prepare the activated carbon. In this work, macadamia nut shell, coconut shell, unripe coconut mesocarp, sugar cane bagasse and pinus wood waste were used to prepare activated carbon with potential application for removing microcystins. The activated carbons from pinus wood and sugar cane bagasse had the porous structures with highest Surface area and volume of mesopore of 1586 and 1222 m²/g and 0.39 and 1.05 cm³/g, respectively. These activated carbons were used to remove [D-Leucine¹]MCYST-LR from water. After 10 minutes of contact time, more than 98% of toxin was removed by the activated carbons. The microcystin adsorption monolayer, q_m , in the activated carbons recovered 200 and 161 μ g/mg, with the Langmuir adsorption constant, K_L, of 2.33 and 1.23 L/mg. Adsorption of [D-Leucine¹]MCYST-LR in continuos process was studied for a fixed-bed activated carbon prepared from coconut shell and sugar cane bagasse and for two comercial activated carbons samples from treatment water plants of two Brazilian hemodialysis centers. Saturation of the beds occurred after 132 to 320 min, and the adsorption capacity for that toxin varied from 0.05 μ g/mg to 5.43 μ g/mg.

Key-words: Biomass, activated carbon, fixed-bed, microcystins, cyanobacteria.

APRESENTAÇÃO

A água é a condição essencial de vida e sem ela não poderíamos conceder como é a atmosfera, o clima, a vegetação ou a agricultura. O direito à água é um dos direitos fundamentais do ser humano: o direito à vida, tal qual é estipulado no Art. 30 da Declaração Universal dos Direitos Humanos.

Um dos tópicos essenciais da Agenda 21 brasileira (Senado Federal, 1996) sugere que suprimentos adequados de água de boa qualidade sejam mantidos, conservando-se para isto as funções hidrológicas, biológicas e químicas dos ecossistemas naturais, adaptando as atividades humanas dentro dos limites da natureza e combatendo vetores e doenças de vinculação hídrica. Como os recursos naturais de transformação da água em água potável são lentos, frágeis e muito limitados, a água deve assim ser manipulada com racionalidade, preocupação e sem desperdício.

No Brasil, apesar de uma grande disponibilidade de água por habitante (48.314 $m^3/ano - ONU$, 2003), a distribuição geográfica deste recurso é desigual, havendo, por exemplo, uma grande disponibilidade na região amazônica, de menor densidade demográfica.

O crescimento demográfico e o aumento das atividades potencialmente impactantes em todo mundo também tornaram crescente a preocupação com relação à qualidade das águas. Os lançamentos de substancias tóxicas a partir de efluentes industriais, ou resultantes da aplicação de pesticidas, podem afetar a qualidade do ambiente para os organismos aquáticos, ou mesmo a saúde humana, por meio do consumo de águas contaminadas. Além disso, outro problema diz respeito ao lançamento excessivo de nutrientes nos ambientes, mudando as características dos corpos d'água e afetando diversos usos que vão desde a preservação da vida aquática até o abastecimento público. Este fenômeno de enriquecimento das águas por nutrientes é denominado eutrofização antrópica, ou eutrofização cultural, e é causado, sobretudo devido ao aporte de nitrogênio e fósforo nos mananciais de água. Nos últimos 20 anos, o processo de eutrofização tem se acelerado em reservatórios brasileiros devido aos seguintes fatores: aumento do uso de fertilizantes nas bacias hidrográficas, aumento da população humana, elevado grau de urbanização sem tratamento de esgotos domésticos e intensificação de algumas atividades industriais que levam excessiva carga de fósforo, nitrogênio e matéria orgânica para essas represas. Ao mesmo tempo, o uso múltiplo tem se intensificado, tornando muito complexo o gerenciamento de represas e de bacias hidrográficas.

Uma das conseqüências mais preocupantes da aceleração do processo de eutrofização, além dos reflexos econômicos causados por este fenômeno no tratamento de água, é a probabilidade da ocorrência de florações de algas, principalmente de cianobactérias potencialmente tóxicas, as quais podem prejudicar a qualidade das águas, sobre tudo no que tange o abastecimento público.

As toxinas produzidas por espécies de cianobactérias do gênero *Microcystis, Anabaena, Planktonthrix/Oscillatoria, Aphanizomenon, Lyngbya, Schizothrix, Cylindrospermopsis e Umezakia* podem ser classificadas de acordo com sua estrutura química como peptídeos cíclicos (microcistinas e nodularinas), alcalóides (anatoxina-a, anatoxina-a(s), saxitoxina, cilindrospermopsinas, aplisiatoxinas, lingbiatoxina) e lipopolissacarídeos. Tais toxinas já foram responsáveis por diversos casos de envenenamento por intoxicação em animais e humanos. No Brasil, o caso mais grave de mortes por toxinas de cianobactérias presentes em água para abastecimento, ocorreu em Caruaru-PE, em fevereiro de 1996, quando mais de cinqüenta pessoas submetidas a hemodiálise morreram por intoxicação hepática causada pelas microcistinas-LR, YR e AR.

Os processos convencionais de floculação, coagulação e filtração em areia, utilizados em estações de tratamento de água para abastecimento, não removem as toxinas de cianobactérias presentes em água. Assim, diversos processos como degradação fotocatalítica, seqüência de operações como cloração, micro e ultrafiltração, ozonização e osmose reversa, têm sido desenvolvidos na tentativa de remover estas toxinas de água de abastecimento, com o objetivo de minimizar o custo e facilitar a sua manipulação. Por outro lado, a utilização de carvão ativado associado a esses processos pode ser eficiente na remoção de microcistinas. A eficiência na remoção das microcistinas por adsorção em carvão ativo depende de algumas de suas características físico-estruturais como a

distribuição de tamanho dos poros na região de mesoporos, além da matéria-prima utilizada na sua fabricação.

Os processos de adsorção têm demonstrado ser métodos eficazes em muitos setores industriais, principalmente no tratamento de efluentes industriais e no tratamento de água para abastecimento. Todavia, torna-se necessária a pesquisa de adsorventes de baixo custo para ser utilizados em tais processos. Assim, o carvão ativado tem sido grande fonte de pesquisa nestas áreas de aplicação, devido a sua grande propriedade na remoção de contaminantes presentes na água tais como corantes de efluentes têxteis, agrotóxicos e toxinas de cianobactérias.

O desenvolvimento tecnológico da produção de carvões ativados vem buscando minimizar a razão custo/benefício desses materiais; desta maneira matérias-primas de baixo custo, originadas, sobretudo de resíduos agrícolas e/ou de rejeitos industriais vêm sendo pesquisadas para obtenção de carvões ativados de baixo custo, como bagaço de cana-de-açúcar, cascas e caroços de nozes e frutas além de resíduo de madeiras em geral.

Neste contexto, resíduos agrícolas brasileiros tais como bagaço de cana-de-açúcar, casca de noz macadâmia, endocarpo de coco seco, mesocarpo de coco verde além de resíduo de madeira de pinus foram utilizados para obtenção de carvões ativados de qualidade superior os quais puderam ser aplicados em processo de batelada e contínuo de adsorção em leito fixo para remoção de uma hepatotoxina de cianobactéria, D-[Leucina¹]microcistina-LR, presente em água potável.

Esta tese de doutorado desenvolvida no Laboratório de Engenharia Bioquímica da Faculdade de Engenharia química da UNICAMP foi organizada no formato de artigos como dispostos a seguir:

Capítulo 1: Apresenta-se em português uma revisão da literatura sobre cianobactérias, suas toxinas e suas implicações na saúde humana. Também neste capitulo é abordado uma revisão sobre carvões ativados;

Capítulo 2: Apresenta-se em português o artigo provisoriamente intitulado "Processos físicos e químicos para remoção de cianobactérias e suas toxinas de água: Revisão";

3

Capítulo 3: Apresenta-se em inglês o artigo "Preparation of activated carbons by one-step pyrolysis/activation from Brazilian agricultural biomass wastes", o qual foi submetido ao periódico indexado *Biomass & bioenergy*;

Capítulo 4: Neste capítulo apresenta-se em inglês o artigo "Use of solid-phase extraction, high-performance liquid chromatography, and MALDI-TOF identification for [D-Leu¹]microcystin-LR analysis in treated water: Validation of the analitycal methodology", o qual foi aceito para publicação no periódico indexado *Canadian Journal of Analitycal Sciece and Spectroscopy*;

Capítulo 5: Neste capítulo apresenta-se em português o artigo intitulado "Cinética e equilíbrio de adsorção da [D-Leucina¹]microcistina-LR de água potável em carvões ativados" o qual foi publicado nos anais do Encontro Nacional de Materiais Particulados – ENEMP2006;

Capítulo 6: Este capítulo apresenta-se em português o artigo provisoriamente intitulado "Determinação de parâmetros de efetividade de carvões ativados usados em estações de tratamento de água de centros de hemodiálise", a ser submetido em periódico indexado.

OBJETIVOS

Esta tese de doutorado teve como principais objetivos:

• Produzir e caracterizar carvões ativados obtidos de biomassa de resíduos agrícolas com fins de aplicação para o tratamento de água potável de centros de hemodiálise;

• Avaliar a remoção da [D-Leucina¹]microcistina-LR pelos carvões ativados obtidos em batelada e em colunas de leito fixo;

CAPÍTULO I

Em contraste com outros grupos de algas, as cianobactérias são organismos indesejáveis devido a diversos efeitos nocivos que podem causar; entre eles, gosto e odor da água, ou ainda mais preocupante, produzir toxinas que afetam o ecossistema ou podem chegar a seres humanos via ingestão ou contato. Florações de algas em reservatórios e mananciais de água destinada ao consumo da população são conhecidas há algum tempo e medidas mitigadoras vêm sendo adotadas em vários países. Os danos ao ecossistema, causados por florações de algas nocivas, sejam eles diretos ou indiretos, são bastante significativos. Alguns gêneros de cianobactérias produtoras de neurotoxinas e hepatotoxinas (microcistinas) vêm sendo encontrados em muitos dos reservatórios de água brasileiros destinados ao consumo humano, o que é preocupante. Sabe-se que os processos convencionais de tratamento de água possuem baixa eficiência na remoção de toxinas de cianobactéria de água potável. No entanto, a utilização de carvões ativados, associado a estes processos tem-se mostrado muito eficazes.

Assim, para um melhor entendimento dos assuntos abordados nesta tese, neste capítulo, será apresentada uma revisão bibliográfica sobre as cianobactérias, as toxinas produzidas por esses microrganismos e suas de atuações sobre o homem, bem como de algumas técnicas de remoção destas toxinas de água em especifico àquelas que utilizam carvão ativado.

Revisão Bibliográfica

1. Introdução

1.1. Cianobactérias

Cianobactérias ou algas verde-azuladas são microorganismos procarióticos fotossintetizantes gram-negativos, sendo algumas espécies fixadoras de nitrogênio atmosférico (N₂). As cianobactérias são indivíduos muito antigos e os seus fósseis são datados de períodos muito distantes do pré-cambriano. A grande flexibilidade a adaptações bioquímicas, fisiológicas, genéticas e reprodutivas, garantiu a estes microrganismos a sua perpetuação na superfície terrestre e distribuição em diversos ambientes terrestres e aquáticos. Igualmente, esta grande flexibilidade também nos permite isolá-las e mantê-las em cultivos com certa facilidade (KAEBERNICK; NEILAN, 2001). Sua dominância sob outras espécies nos ecossistemas é um indicador que elas possuem habilidades fisiológicas específicas que as permitem competir muito eficientemente com outros gêneros de algas. De acordo com Carrapiço (2000) as cianobactérias podem ocorrer de forma unicelular, isto é, de vida resumida a uma célula solitária, como nos gêneros Synechococcus e unicelulares coloniais Aphanothece, ou como Microcystis, Gomphospheria, Merispmopedium, ou apresentarem as células organizadas em uma unidade em série ou filamentos como Oscillatoria, Planktothrix, Anabaena, Cylindrospermopsis e Nostoc.

1.1.1. Toxinas produzidas por cianobactérias

Em determinadas condições ambientais, tais como temperaturas médias diárias acima de 25° C, concentrações de nutrientes numa razão N:P (nitrogênio:fósforo) entre 20:1 e 10:1 e pH acima de 7,5, algumas populações de cianobactérias apresentam um intenso crescimento, conhecido como florações, as quais podem ser fenômenos naturais regionais de ocorrência sazonal, mas que, na maior parte das vezes, estão relacionadas à eutrofização artificial causada por excesso de nutrientes vindos de efluentes domésticos e rejeitos industriais (BITTENCOURT-OLIVEIRA; OLIVEIRA; YUNES, 2001).

As florações de cianobactérias causam gosto e odor desagradável na água, além de alterar o equilíbrio ecológico do ecossistema aquático. No entanto, o mais grave é que certos gêneros de cianobactérias em condições ainda mal esclarecidas, mas particularmente nos períodos em que ocorre o colapso das florescências (senescência), causado pelo esgotamento dos nutrientes, diminuição da temperatura ou da intensidade luminosa, produzem toxinas (AZEVEDO, 1998). Segundo Carmichael (1992), embora ainda não estejam devidamente esclarecidas as causas da produção dessas toxinas por aqueles microrganismos, têm-se assumido que esses compostos tenham função protetora contra herbivoria tal como acontece com alguns metabólitos de plantas vasculares. As toxinas produzidas pelas cianobactérias podem ser classificadas de acordo com sua estrutura química como, peptídeos cíclicos (microcistinas e nodularinas), alcalóides (anatoxina-a, anatoxina-a(s), saxitoxina, cilindrospermopsina, aplisiatoxinas, lingbiatoxina-a) e lipopolissacarídeos.

TABELA 1. Gênero de Cianobactérias e suas toxinas. Adaptada a partir de Carmichael,(2001).

Gênero de Cianobactérias	Toxinas produzidas		
Anabaena, Aphanizomenon, Oscillatoria (Planktothrix)	Neurotoxinas Anatoxina-a, Homo-anatoxina-a		
Anabaena, Oscillatoria (Planktothrix)	Anatoxina-a(s)		
Anabaena, Aphanizomenon, Oscillatoria (Planktothrix), Cilindrospermopsis, Lyngbya	Paralytic Shellfish Poisons (Saxitoxinas)		
	Hepatotoxinas		
Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Umezakia	Cilindrospermopsina		
Anabaena, Aphanocapsa, Hapalosiphon, Microcystis, Nostoc, Oscillatoria (Planktothrix)	Microcistinas		
Noaularia (agua salobra)			
	i oxinas irritantes a pele		
Lyngbya (marinha) Schizothrix	Debromoaplisiatoxina, Lingbiatoxina Aplisiatoxina		

1.1.1.1. Neurotoxinas

Classificadas como alcalóides organofosforados ou organosulfurados, as neurotoxinas são produzidas por espécies de cianobactérias dos gêneros *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria*, *Trichodesmium* e *Cylindromspermopsis* e atuam na transmissão dos impulsos nervosos provocando morte por parada respiratória (ROSET; AGUAYO; MUÑOZ, 2001). As neurotoxinas mais conhecidas produzidas a partir de espécies desses gêneros são: a anatoxina-a, homoanatoxina-a, anatoxina-a(s) e saxitoxinas (PSP, do inglês: *Paralitical Shellfish Poisons*).

De acordo com Carmichael (1994) as neurotoxinas atuam nos neurônios, onde em condições fisiológicas, a acetilcolina liga-se aos seus receptores provocando a abertura dos canais de sódio, o que leva ao movimento iônico, induzindo a contração muscular; entretanto, a acetilcolinesterase degrada a acetilcolina prevenindo uma superestimulação das células musculares. A anatoxina-a, por não ser degradada pela acetilcolinesterase, liga-se irreversivelmente aos receptores de acetilcolina, tornando-se assim um potente bloqueador neuromuscular pós-sináptico de receptores nicotínicos e colinérgicos, provocando a superestimulação muscular seguida de fadiga e paralisia que pode ser fatal, caso os músculos respiratórios sejam afetados. Outra neurotoxina, com ação semelhante a anterior é a anatoxina-a(s) que inibe a ação da acetilcolinesterase impedindo assim a degradação da acetilcolina ligada aos seus receptores e provocando também uma superestimulação muscular. As neurotoxinas da classe das toxinas PSP tais como a saxitoxina e a neo-saxitoxina atuam pela interrupção da comunicação entre os neurônios e as células musculares, através do bloqueio dos canais de sódio.

1.1.1.2. Hepatotoxinas

Em fins dos anos 50 do século passado, bioensaios realizados com células de cianobactérias coletadas de florações, principalmente da espécie *Microcystis aeruginosa*, mostravam a presença de uma toxina que causava sérios danos ao fígado dos animais testados (HUGHES; GORHAM; ZEHNDER, 1958). A confirmação de que esta hepatotoxina era um peptídeo foi apresentada por Bishop, Anet e Gorham (1959), mas somente vinte anos depois é que sua estrutura química foi caracterizada (BOTES et al., 1982).

As principais hepatotoxinas até agora caracterizadas são heptapeptídeos e pentapeptídeos cíclicos conhecidos como microcistinas e nodularinas, além de alcalóides hepatotóxicos conhecidos como cilindrospermopsinas. Segundo Carmichael (1989) a estrutura geral das microcistinas é D-Ala-X-D-MeAsp-Z-Adda-D-Glu-Mdha, onde X e Z são dois L aminoácidos variáveis; D-MeAsp é o ácido D-Eritrometilaspártico e Mdha é a N-metildeshidroalanina (Figura 1a). Nas nodularinas, Z = L-arginina e Mdhb é N-metildeshidrobutirina; Nodularina R1, R2 = CH3; D-Asp¹Nodularina R1 = H, R2 = CH3; DMAdda³ Nodularina R1 = CH3, R2 = H. A estrutura das nodularinas é o ciclo-(D-MeAsp¹-Z2-Adda3-D-Glu4-Mdhb5) (Figura 1b). ADDA é o ácido 3-amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10-fenil-deca-4,6-dienóico, que está presente nas nodularinas e microcistinas foi determinado como um dos responsáveis pela atividade biológica dessas hepatotoxinas (HARADA et al.,1990; NISHIWAKI-MATSUSHIMA et al.,1992).





FIGURA 1. Estrutura química das microcistinas (a) e nodularinas (b).

As intoxicações mais freqüentes provocadas por cianobactérias são devidas às hepatotoxinas por elas produzidas. Segundo Carmichael (1992) as hepatotoxinas promovem uma desorganização do citoesqueleto dos hepatócitos, onde chegam por meio de receptores dos ácidos biliares, o que provoca uma retração dos mesmos com conseqüente aumento dos espaços intercelulares. Também as células dos capilares sinosoidais se retraem, passando o sangue a fluir dos capilares para os espaços intercelulares formados, o que provoca lesões tecidulares e, muitas vezes, choque hipovolêmico no fígado.

Estudos desenvolvidos por Falconer (1994) demonstraram que as microcistinas, tipo comum de hepatotoxina, são potentes inibidores das fosfatases protéicas do fígado, enzimas que em conjunto com as cinases protéicas regulam o mecanismo de fosforilação e desfosforilação das proteínas, desempenhando um papel importante na divisão celular. A inibição das fosfatases desregula o equilíbrio de fosforilação-desfosforilação levando a um aumento da proliferação celular. Deste modo frente à exposição a doses não letais, as hepatoxinas podem vir a ser carcinogênicas.

Existem catalogadas atualmente cerca de 60 variantes de microcistinas (Tabela 2) e a mais conhecida é a Microcistina-LR, produzida pela espécie *Microcystis aeruginosa*. A maior parte dos episódios de envenenamento causada por cianobactérias é devida a presença desta toxina em água, motivo pela qual a mesma é tão explorada por pesquisas científicas; além de ser umas das poucas microcistinas, cerca de cinco, a ser comercialmente disponível na forma de padrão analítico.

TABELA 2. Algumas variantes de microcistinas atualmente catalogadas, partir de Sivoven e Jones (1999).

MICROCISTINAS	P. M.	LD ₅₀ ²	ORGANISMO
MCYST-LA	909	50	M. aeruginosa, M. Viridis
MCYST-LL	951	+	M. aeruginosa
MCYST-AR	952	250	Microcystis sp.
MCYST-YA	959	NR	M. aeruginosa
[D-Asp ³ , Dha ⁷]MCYST-EE(OMe)	969	+	Anabaena sp.
MCYST-VF	971	NR	M. aeruginosa
[DMAdda ⁵]MCYST-LR	980	90-100	Microcystis sp., Nostoc sp.
[Dha ⁷]MCYST-EE(OMe)	983	+	Anabaena sp.
MCYST-LF	985	+	M. aeruginosa
MCYST-LR	994	50	M. aeruginosa, A. flos-aquae.
MCYST-LY	1001	90	Microcystis aeruginosa
MCYST-HiLR	1008	100	Microcystis sp.
[D-Asp ³ , ADMAdda ⁵]MCYST-LR	1008	160	Nostoc sp.
[D-Asp ³ , ADMAdda ⁵ , Dhb ⁷] MCYST-LR	1009	+	Nostoc sp.
[L-MeSer ⁷]MCYST-LR	1012	150	Microcystis sp.
[Dha ⁷]MCYST-FR	1014	NR	Microcystis sp.
[L-Ser ⁷]MCYST-E(OMe)E(OMe)	1015	+	Anabaena sp.
[ADMAdda ⁵]MCYST-LR	1022	60	Nostoc sp.
MCYST-LW	1024	NR	M. aeruginosa
MCYST-FR	1028	250	Microcystis sp.
[D-Asp ³]MCYST-YR	1030	+	Microcystis ssp.
MCYST-RR	1037	600	M. aeruginosa, Anabaena sp
[(6Z)-Adda ⁵]MCYST-RR	1037	>1200	M. Viridis
[D-Ser ¹ , ADMAdda ⁵]MCYST-LR	1038	+	Nostoc sp.
[ADMAdda ⁵ , MeSer ⁷]MCYST-LR	1040	+	Nostoc sp.
[L-Ser ⁷]MCYST-RR	1041	+	M. aeruginosa, Anabaena sp
MCYST-YR	1044	70	M. aeruginosa, M. Viridis
[D-Asp ³ , ADMAdda ⁵ , Dhb ⁷]MCYST-RR	1052	+	Nostoc sp.
MCYST-HtyR	1058	80-100	A. flos-aquae
MCYST-WR	1067	150-200	Microcystis sp.
[D-Asp ³ , ADMAdda ⁵ , Dhb ⁷]MCYST-HtyR	1073	+-	Nostoc sp.
[L-MeLan ⁷]MCYST-LR	1115	>1000	Microcystis sp.

Sendo: Aba – Ácido Aminoisobutírico; ADMAdda – O-Acetil-O-desmetil Adda; Dha – Dehidroalanina; Dhb – Dehidrobutirina; DMAdda - O-desmetil Adda; E(Ome) – ácido glutâmico metil éster; (H₄)Y – 1,2,3,4, - tetrahidrotirosina; Har – Homoarginina; HiL – Homoisoleucina; Hph – Homofenilanina; Hty – Homotirosina; MeLan – N-metillantionina; M(O) – Óxido de Metionina S; MeSer – N-Metilserina; (6Z)-Adda – Esterioisômero do Adda.

1.1.2. Remoção de toxinas de cianobactérias da água

Existem algumas discordâncias com relação à eficácia dos tratamentos convencionais de água (isto é, coagulação, floculação, sedimentação, filtração e desinfecção) na remoção de toxinas de cianobactérias. Alguns pesquisadores relatam a eficiência de tais tratamentos na remoção destas toxinas de água para abastecimento público (HOFFMAN, 1976; KEIJOLA et al., 1988; HIMBERG et al., 1989); outros, contudo, observaram que estes processos não podiam remover aquelas toxinas de água. Todavia, trabalhos realizados por diferentes grupos de pesquisa mostraram que carvão ativado granulado (CAG) e carvão ativado em pó (CAP) associado àqueles processos mostraram-se eficientes na remoção de microcistinas (FALCONER et al., 1989; DONATI et al., 1994; DRIKAS, 1994; WARHURST; McCONNACHIE; POLLARD, 1997).

Diversos processos têm sido desenvolvidos na tentativa de remoção das microcistinas da água com o objetivo de minimizar o custo e facilitar a manipulação. Foi observada que a filtração de água contaminada com microcistina e com nodularina por solos argilosos pode acabar aumentando a mobilidade *in si*tu da toxina em regiões de águas alcalinas e de baixa salinidade, devido ao aumento da solubilidade na fase aquosa nestas condições (MILLER et al., 2001). Entretanto, Morris et al. (2000) observaram a adsorção da microcistina por partículas de argila, contendo elevadas concentrações de caolinita e de montmorilonita.

Técnicas de degradação por fotocatálise, utilizando reator com semicondutor de óxido de titânio e luz ultravioleta acoplado a um fluxo de oxigênio foi utilizada para decompor as microcistinas em condições de laboratório apenas por Shephard et al. (1998).

Seqüência de operações visando o tratamento de água contaminada por microcistinas tem sido investigada, tais como cloração, micro e ultrafiltração e ozonização.

15

Entretanto estes processos não têm sido suficientemente eficientes quando elevadas florações de algas foram produzidas nas águas eutrofizadas, ou na existência de alta concentração de material orgânico presente (HITZFELD; HOGER; DIETRICH, 2000).

Ozonização de material orgânico natural e de toxinas de algas foi estudada por Rositano et al. (2001). Foi observado que a microcistina podia ser destruída mais rapidamente do que a saxitoxina, sendo esta muito resistente a oxidação com ozônio. A susceptibilidade das toxinas ao processo de ozonização foi o seguinte: microcistina >anatoxina > saxitoxina. Entretanto, apenas testes em escala de laboratório foram realizados e a toxidade dos resíduos das toxinas oxidadas formadas não foi investigada.

O processo de remoção de toxinas de cianobactérias por osmose reversa foi estudado por Neumann e Wecksser (1998), tendo sido observada remoção de até 99,9% da microcistina utilizando água de torneira adicionada da toxina.

A eficiência na remoção das microcistinas por adsorção em carvão depende de algumas características físico-químicas deste material, além da matéria-prima utilizada na sua fabricação. Donati et al. (1994) avaliaram diferentes CAP para remoção de microcistina LR (50 μ g/L) dissolvida na água. O melhor carvão que eles estudaram removeu 98% de microcistina-LR com uma dosagem de 25 mg/L, enquanto que o pior, com uma dosagem de 50 mg/L removeu apenas 60%. Os resultados deste trabalho mostraram que quanto maior o volume de mesoporos, mais eficiente foi o carvão na remoção de microcistina-LR. Resultados semelhantes também foram obtidos por Bernazeau (1994), que obteve uma remoção de 95% (50 μ g/L) de microcistina-LR com apenas 12 mg/L de CAP. O CAG também possui uma grande capacidade de remoção de microcistinas. Bernezeau (1994) conseguiu uma remoção superior a 90% trabalhando em uma estação de tratamento piloto. Da mesma maneira que o CAP, a eficiência da remoção de microcistinas pelo CAG irá depender do tipo carvão utilizado (FALCONER et al., 1989).

Entretanto, de mais fácil solução é o problema de eliminação das cianobactérias, pois alguns processos eficientes já vêm sendo aplicados para separação das mesmas a partir de águas de reservatórios, tanques ou lagoas. O objetivo dos processos de eliminação das cianobactérias é em geral, a remoção das mesmas sem romper suas paredes nem tampouco liberar as toxinas do interior das mesmas para as águas. Processo com sulfato de alumínio foi especialmente eficiente para flocular as células intactas sem d<u>ano às paredes</u> das

BIBLIOTECA CENTRAL DESENVOLVIMENTO COLEÇÃO UNICAMP
cianobactérias (CHOW et al., 1999), sem aumento da concentração de microcistina na água tratada. Drikas et al. (2001) observaram em testes laboratoriais, a remoção entre 70 a 83% das células de microalgas, utilizando as operações de floculação com sulfato de alumínio, sedimentação e filtração. Numa planta piloto 99,9% das células de microalgas foram eliminadas com a mesma seqüência de operações.

No capitulo II desta tese, apresentado como: **Processos físicos e químicos para remoção de cianobactérias e suas toxinas de água**, serão revisados a partir da literatura, os processos de remoção de cianobactérias e de suas toxinas os quais vêm sendo desenvolvidos em laboratório ou aplicados em estações de tratamento de água.

1.2. Carvão ativado

O carvão ativado é um tipo de material carbonáceo, caracterizado por possuir uma área superficial interna e porosidade altamente desenvolvida, o que lhe permite adsorver moléculas tanto em fase líquida, quando apresentado na sua forma pulverizada, como em fase gasosa, quando apresentado na sua forma granulada (BANSAL, 1988).

A matéria-prima típica utilizada na fabricação do carvão ativado é o endocarpo do coco seco (MORTTLEY; MELOOWES; THOMAS, 1988; LAINE; CALAFAT, 1991; GERGOVA et al., 1993; PANDOLFO; AMINI-AMOLI; KILLINGLEY, 1994). Todavia, qualquer material lignocelulósico, tendo como componentes químicos fundamentais polissacarídeos e lignina e componentes acidentais (orgânicos e inorgânicos) (BENARD, 1992; SILVA, 1993, 1998; BIANCHI, 1995), pode ser usado. São exemplos destes materiais: madeiras, cascas de nozes, bagaço de cana de açúcar e resíduo têxtil. Verifica-se na prática, que a composição em celulose destes materiais é a mesma.

No que se refere à quantidade de lignina em uma planta, ela varia muito de vegetal a vegetal, bem como sua distribuição nas diversas partes da planta. Isto também é verdade no que concerne à velocidade de decomposição térmica da lignina. Em conseqüência, carvões ativados resultantes de materiais com diferentes teores de lignina apresentam características diferentes, que estão diretamente relacionadas com a qualidade do carvão ativado. Esta dependência entre a porosidade desses materiais e a composição de seus materiais precursores será discutida no capítulo III deste trabalho apresentado como:

Preparation of activated carbons from brazilian agricultural biomass wastes by onestep pyrolysis/activation.

Segundo Bradley e Rand (1995), alguns modelos têm sido propostos para explicar a estrutura dos carvões ativados. No entanto, as principais características comuns a todo o tipo de carvão ativado são as camadas de paredes planas irregulares formadas por átomos de carbonos ordenados em hexágonos regulares, similares aos anéis dos compostos orgânicos aromáticos (SMISEK; CERNY, 1970).

A porosidade do carvão ativado é regida pelo grau de desordem destas camadas e principalmente pelos espaços ou interstícios (poros) abertos durante o rearranjo ocorrido na pirólise do material precursor, e é um dos aspectos mais importantes para a avaliação de seu desempenho. A União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês: IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) estabeleceu uma classificação porosa nos materiais adsorventes assim resumida; quanto à forma: Utiliza-se a expressão poro aberto ou poro fechado para designar fendas em materiais sólidos, o primeiro correspondendo a fendas que se comunicam com a superfície externa e o segundo correspondendo a uma fenda isolada, conforme é representado na Figura 2.



FIGURA 2. Esquema apresentando os diferentes tipos de poros em um sólido quanto à forma: (T) poro de transporte, (A) poro aberto, (F) poro fechado e (G) poro tipo gaiola. Capturada a partir de Gregg e Sing (1982).

Quanto à dimensão dos poros: Baseado nas propriedades de adsorção, a IUPAC, propõe a seguinte classificação: microporos ($d_i < 2$ nm), que contribuem para a maioria da área superficial que proporciona alta capacidade de adsorção para moléculas de dimensões pequenas, tais como gases e solventes comuns. Estes tipos de poros ainda se subdividem em microporos secundários ($0,8 \text{ nm} < d_i < 2 \text{ nm}$) e microporo primário ($d_i < 0,8 \text{ nm}$). Mesoporos ($2 \text{ nm} < d_i < 50 \text{ nm}$), os quais são importantes para a adsorção de moléculas grandes tais como corantes e toxinas de cianobactérias, microcistinas (BAÇAOUI et al., 2001). Macroporos d_i > 50 nm, onde normalmente são considerados sem importância para a adsorção e sua função é servir como meio de transporte para as moléculas gasosas.

Devido às suas propriedades adsortivas, os carvões ativados (CA) são utilizados para purificar, desintoxicar, desodorizar, filtrar, descolorir, desclorificar, remover ou modificar sabor e concentração de uma infinidade de materiais líquidos e gasosos. Essas aplicações são de interesse para muitos setores econômicos em diversas áreas, como: alimentícia, farmacêutica, química, petrolífera, nuclear, automobilística, mineração e principalmente, no tratamento de água potável, água industrial e do ar atmosférico (COUTINHO; BARBIERI; PAVANI, 2000).

De acordo com Smisek e Cerny (1970), as características de adsorção dos CA dependem principalmente de sua área superficial específica, distribuição dos tamanhos e volume dos poros, além de sua estrutura química de superfície. A alta área superficial e porosidade dos CA são resultantes do seu material de origem e dos processos de pirólise e ativação, que pode ser física ou química.

O processo de produção do carvão ativado envolve duas etapas principais: a carbonização da matéria-prima e a ativação. A carbonização ou pirólise é o processo de eliminação dos produtos voláteis a partir da degradação da matéria orgânica (T < 500 °C), sob atmosfera inerte, de tal modo que mantenha, além de elementos minerais, apenas um esqueleto carbonizado, produzindo uma massa de carbono fixo com uma estrutura porosa rudimentar e uma área superficial menor que 400 m²/g (BAÇAOUI et al., 1998). O progressivo aquecimento resulta na formação do carvão via um rearranjo térmico interno, que por fim fornece camadas pseudografíticas com interstícios microporosos obstruídos por substâncias de alcatrão (MACKAY; ROBERTS, 1982). Esta estrutura pode ser mais desenvolvida na etapa seguinte denominada de ativação.

O processo de ativação pode ser físico ou químico. Na ativação física utiliza-se a propriedade oxidante de gases como o vapor d'água, gás carbônico ou uma mistura destes gases a temperaturas maiores que 800 °C, com a finalidade de desobstruir os poros preenchidos com "piche" (WARHURST; McCONNACHIE; POLLARD, 1997; AL-KHALID et al., 1998; RODRIGUEZ-REINOZO et al., 1995). Na ativação do carvão por via química utilizam-se compostos como ZnCl₂, hidróxidos de metais alcalinos, H₃PO₄ e H₂SO₄ e aquecimento moderado entre 400 °C e 600 °C (EL-HENDAWY; SAMRA; GIRGIS, 2001).

As vantagens do processo de ativação química sobre físico estão no baixo custo de energia, já que o processo químico requer temperaturas mais baixas, além de fornecer um maior rendimento (massa de carvão ativado / massa de material precursor) quando comparado com o outro processo. No entanto, a ativação física pode poluir menos, pois os subprodutos da ativação física são gases como CO_2 e CO em baixas concentrações (HU; SRINIVASAN; YAMING, 2001).

Os carvões ativos podem ser produzidos a partir de ossos, materiais lignocelulósicos como madeira e endocarpo do coco seco, turfa, polímeros sintéticos, etc (BAÇAOUI et al., 1998). Seguindo padrões econômicos adotados pelo mundo moderno, o desenvolvimento tecnológico da produção de carvão ativado busca minimizar a razão custo benefício desses materiais. Neste contexto vem-se buscando obter esses adsorventes a partir de matérias-primas de baixo custo, originadas, sobretudo de resíduos agrícolas e/ou de rejeitos industriais.

Neste contexto, diversos rejeitos agrícolas vêm sendo aplicados em pesquisas como potenciais precursores de CA de qualidade superior como aqueles utilizados por Pollard, Thompson e Mcconnachie (1995). Nesta pesquisa, os autores utilizando a casca da madeira da *Moringa oleifera* como material de partida, produziram carvão ativado a partir de vapor d'água com área superficial de BET de 734 m²/g. No ano seguinte, Warhurst, Mcconnachie e Pollard (1996), utilizaram cascas de semente daquela mesma árvore como matéria-prima na produção de carvão ativado por via física com vapor d'água. O produto obtido apresentou uma área superficial de BET de 730 m²/g.

Bernardo et al. (1997) utilizaram o bagaço de cana de açúcar para produção de carvões ativados mediante o uso de vapor d'água. Os CA produzidos apresentaram área

superficial de BET da ordem de 1394 m²/g. Poucos anos depois, Lua e Guo (1999), a partir do resíduo deixado pela extração do óleo de palma, produziram CA também por via física, contudo, utilizando como agente ativante o CO₂. Os CA obtidos nesta pesquisa apresentaram área de BET entre 356 e 1366 m²/g.

Com relação ao processo de ativação química destacam-se alguns trabalhos tal como aquele realizado por Baçaoui et al. (1998), os quais avaliaram a produção de carvão ativado a partir de resíduo da casca da azeitona utilizando H_2SO_4 como agente carbonizante e vapor d'água como ativante. Os CA produzidos apresentaram áreas superficiais de BET acima de 1000 m²/g. Por sua vez, Hu e Srinivasan (1999), produziram CA a partir do mesocarpo do coco seco e das cascas da semente da palma. Os carvões foram ativados com ZnCl₂ e o produto da ativação apresentou área superficial de BET de 2191 m²/g (mesocarpo do coco seco) e de 1291 m²/g (casca da semente da palma).

Em 2001, El-Hendawy, Samra e Girgis avaliaram um tipo comum de resíduo agrícola, sabugos de espiga de milho como potencial precursor de carvão ativado. Os seus carvões foram ativados com H_3PO_4 e o produto da ativação apresentou área superficial de BET de 960 m²/g. Neste mesmo ano, Díaz-Teran et al. (2001) produziram CA a partir de resíduo de madeira utilizando KOH como agente ativante. Seus carvões apresentaram área superficial de BET de BET de aproximadamente 1960 m²/g.

Dependendo das condições de carbonização, ativação e do material de origem, o carvão ativado possuirá diferentes características, notadamente relacionadas à sua estrutura, textura e propriedades superficiais. Estes parâmetros são considerados os fatores que mais afetam as propriedades de adsorção do carvão ativado. As diferentes variáveis que afetam o processo de carbonização e ativação podem ser controladas a fim de desenvolver CA com alta capacidade de adsorção (BAÇAOUI et al., 1998). Técnicas de otimização como superfícies de resposta vêm sendo utilizadas com êxito na produção de CA a partir de resíduos agrícola-industriais, tendo estes carvões apresentado área superficial específica acima de 1000 m²/g (BAÇAOUI et al., 1998; 2001).

Recentemente, Albuquerque Junior et al. (2002; 2003) utilizaram metodologia de superfície de resposta como técnica de otimização da produção de carvão ativado obtido do mesocarpo do coco verde. Neste trabalho pode-se constatar a importância da temperatura de ativação e tempo de ativação no desenvolvimento da porosidade daquele tipo de carvão.

Nas condições de processo otimizadas foram obtidos carvões com área de BET acima de 1000 m²/g.

Para esta tese de doutorado, resíduos agrícolas brasileiros como bagaço de cana de açúcar, casca da noz macadâmia, resíduo de madeira de pinus, mesocarpo do coco verde e endocarpo do coco seco foram utilizados como potenciais precursores de carvões ativados de qualidade superior.

2. Referências

ALBUQUERQUE JR, E. C; JAGUARIBE, E. F.; MOLICA, R. J. R.; PIMENTEL, M. F. Estudo do Carvão Ativado do Mesocarpo do Coco Verde em Função das Variáveis do Processo a Partir de Planejamentos Fatoriais In: II Congresso Nacional de Engenharia Mecânica, 2002, João Pessoa-PB. v. 1, p. 111 – 119.

ALBUQUERQUE JÚNIOR, E.C.; JAGUARIBE, E.F.; PIMENTEL, M.F.; ARAÚJO, L.P; MOLICA, R.J.R. Otimização das variáveis do processo de produção de carvões ativados do mesocarpo do coco verde. In: Saneamento ambiental: ética e responsabilidade social. Anais do 22º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2003, Joinville, SC. ISBN: 8570221436. Vol 1. pp.69-70.

AL-KHALID, T. T., HAIMOUR, N. M.; SAYED, S. A.; AKASH, B. A. Activation of olive-seed waste residue using CO₂ in a fluidized-bed reactor. **Fuel processing technology**, v. 57, p. 55-64, 1998.

AZEVEDO, S. M. F. O. Toxinas de Cianobactérias: Causas e conseqüências para a Saúde Pública. *Medicina on line* - **Revista Virtual de Medicina**. v. 1, n. 3 - Ano I, Julho/Agosto/Setembro, 1998. Disponível em: http://www.medonline.com.br. Acesso em: 5 mai. 2001. BAÇAOUI, A.; YAACOUBI, A.; DAHBI, A.; BENNOUNA, C.; AYELE, J.; MAZET, M. Activated carbon production from Morrocan olive wastes – influence of some factors. **Environmental technology**, v. 19, pp. 1203-1212, 1998.

BAÇAOUI, A.; YAACOUBI, A.; DAHBI, A.; BENNOUNA, C.; PHAN TAN LUU, R.; MALDONADO-HODAR, F. J.; RIVERA-UTIRLLA, J.; MORENO-CASTILLA, C. Optimization of conditions for the preparation of activated carbons from olive-waste cakes. **Carbon**, v. 39, p. 425-432, 2001.

BANSAL, R. C.; DONNET, J. B.; STOECKLI, F. Active Carbon, Dekker: New York, 1988. p.120.

BENARD, P. "Polpação Acetosolv de Bagaço de Cana e Madeira de Eucalipto", Dissertação de Mestrado, IQ-UNICAMP – Campinas – SP, 1992.

BERNARDO, E. C.; EGASHIRA, R.; KAWASAKI, J. Decolorization of molasses' wastewater using activated carbon prepared from cane bagasse. **Carbon**, Vol. 35, No. 9, p. 1217-1221, 1997.

BERNAZEAU, F. Can microcystin enter drinking water distribution systems In: Toxic cyanobacteria, current status of research and Management. Proceedings of International Workshop, Adelaide, Australia, p. 115-118, 1994.

BIANCHI, M. L. "Polpação de palha de Milho Utilizando-se Diferentes Processos Organolsolv", IQ-UNICAMP – Campinas – SP, 1995.

BISHOP, C. T.; ANET, E. F. L. J.; GORHAM, P. R. Isolation and identification of the past-death factor in Microcystis aeruginosa NRC-1. **Can. J. Biochem. Physiology**. v. 37, p. 453-471, 1959.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; OLIVEIRA, M. C.; YUNES, J. S. Cianobactérias tóxicas. **Revista Biotecnologia**, ano IV, n. 23, novembro/dezembro de 2001, p. 44–47. Disponível em: http://www.biotecnologia.com.br. Acesso em: 22 out. 2002.

BOTES, D. P.; VILJOEN, C. C.; KRUGER, H.; WESSELS, P. L., WILLIAMS, D. H. Configuration assignments of the amino acid residues and the presence of N-methyldehydroalanine in toxins from the blue-green algae Microcystis aeruginosa. **Toxicon**, v. 20, p. 1037-1042, 1982.

BRADLEY, R. H.; RAND, B. On the physical adsorption of vapors by microporous **Carbon**, v. 169, p. 168-176, 1995.

CARMICHAEL, W. W. Freshwater cyanobacteria (blue-green alga) toxin. In: Natural toxins: Characterization, pharmacology and therapeutic. C.A. Ownby and G.V. Odell (eds) Pergamon, Oxford, p. 3-16. 1989.

CARMICHAEL, W. W. Cyanobacteria secondary metabolites – The Cyanotoxins. Journal of Applied Bacteriology, v.72, p. 445-459, 1992.

CARMICHAEL, W. W. The toxins of cyanobacteria. Scientific American, v. 270, n. 1, p. 64-72, 1994.

CARRAPIÇO, F. Apontamentos de biologia celular. Lisboa, 2000. Disponível em: http://azolla.fc.ul.pt>. Acesso em: 10 set. 2001.

CHORUS, I.; BARTRAM, I. (Eds) Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. London: E & FN SPON, 1999, 416p.

CHOW, C. W. K; DRIKAS, M.; HOUSE, J.; BURCH, M. D.; VELZEBOUR, R. M. A. The impact of conventional water treatment process on cells of the cyanobacterium. **Water Research**. v. 33, n. 15, p. 3253-3262, 1999.

COUTINHO, A. R.; BARBIERI, F. C.; PAVANI, P. A. Preparação de carvões ativados a partir de fibras de celulose, In: 2° Encontro brasileiro de adsorção, maio de 1998, Florianópolis, Santa Catarina. Anais de trabalhos apresentados, Leonel T. Pinto (editor), p. 139-144, Universidade Federal de Santa Catarina, SC, Brasil, 2000.

DÍAZ-TERÁN, J.; NEVSKAIA, D. M.; LÓPEZ-PEINADO, A. J.; JEREZ, A. Porosity and adsorption proprerties of na activated charcoal. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering aspect. v. 187-188, p. 167-175, 2001.

DONATI, C.; DRIKAS, M.; HAYES, R.; NEWCOMBE, G. Microcystin-LR adsorption by powdered activated carbon. Water Research, v. 28, n. 8, p. 1735-1742, 1994.

DRIKAS, M. Control and removal of toxic cyanobacteria. In: Toxic cyanobacteria, current Status f research and Management. Proceedings of International Workshop, Adelaide, Australia, 1994.

DRIKAS, M; CHOW, C. W. K; HOUSE, J.; BURCH, M. D. Using coagulation, flocculation and settling to remove toxic cianobacteria. Journal American of Water Works Association. v. 93, n. 2, p. 100-111, 2001.

EL-HENDAWY, A.-N. A.; SAMRA, S. E.; GIRGIS, B. S. Adsorption characteristics of activated carbons obtained from corncobs. **Colloids an Surfaces A: Physicochemical and engineering aspects**, v. 180, p. 209-221, 2001.

FALCONER, I. R., RUNNEGAR, M. T. C., BUCKLEY, T., HUYN, V. L., BRADSHAW, P. Using activated carbon to remove toxicity from drinking water containing cyanobacteria blooms. Journal American of Water Works Association, v. 81, p. 102-105, 1989.

FALCONER, I. R.; BURCH, M. D.; STEFFENSEN, D. A.; CHOICE, M.; COVERDALE, O. R. Toxicity of the blue-green alga (Cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment. **Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal**, v. 9, p. 131-139, 1994.

GERGOVA, K.; PETROV, N.; BUTUZOVA, L.; MINKOVA, V.; ISAEVA, L. Evolution of the active surface of carbons produced from various raw materials by steam pyrolysis/activation. J. Chem. Tech. Biotechnology, v. 58, n. 4, p. 321-330, 1993.

GREG, S.J.; SING, K.S.W. Adsorption Surface Area and Porosity, 2nd. Ed., Academic Press, Inc, London 1982.

HARADA, K.; MATSUURA, K.; SUZUKIC, M.; WATANABE, M. F.; OISHI, S.; DAHLEM, A. M.; BEASLEY, V. R.; CARMICHEAL, W.W. Isolation and characterization of the minor components associated with microcystins LR and RR in the cyanobacterium (blue-green algae). **Toxicon**, v. 28, p. 55-64, 1990.

HIMBERG, K.; KEIJOLA, A. M.; HIISVIRTA, L.; PYYSALO, H.; SIVONEN, K. The effect of water treatment processes on the removal of hepatotoxins from *Microcystis* and *Oscillatoria* cyanobacteria: A laboratory study. **Water Research**, v. 23, n. 8, p.979-984, 1989.

HITZFELD, B. C.; HÖGER, S. J.; DIETRICH, D. R. Cyanobacterial toxins: removal during drinking water treatment, and human risk assessment. **Environ Health Perspect.**, v. 108, n. 1, p.113–122, MARCH 2000.

HOFFMAN, J. R. H. Removal of Microcystis toxins in water purification process. Water S. A., v. 2, p. 58-60, 1976.

HUGHES, E. O.; GORHAM, P. R.; ZEHNDER, A. Toxicity of a unialgal culture of *Microcystis aeruginosa*. Can. J. Microbiol. v. 4,p. 225-236, 1958.

KAEBERNICK, M.; NEILAN, B. A. Ecological and Molecular Investigations of Cyanotoxin Production. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 35, p. 1-9, 2001.

KEIJOLA, A. M., HIMBERG, K., ESALA, A. L., SIVONEN, K., HIISVIRTA, L. Removal of cyanobacterial toxins in water treatment process: laboratory and pilot-scale experiments. **Tox. Assess.**, v. 3, p. 643-656, 1988.

LAINE, J.; CALAFAT, A. Factors affecting the preparation of activated carbons from coconut shell catalyzed by potassium. **Carbon**. v. 29, n. 7, pp. 949-953, 1991.

LUA, A. C.; GUA, J. Preparation and characterization of chars from oil palm waste. Carbon, v. 36, n. 11, p. 1663-1670, 1998.

MAcKAY, D. N.; ROBERTS, P. V. The dependence of chars and carbon yield on lignocellulosic precursor composition. **Carbon**, v. 20, p. 87-94, 1982.

MILLER, M. J.; CRICHNEY, M. M., HUTSON, J.; FALLOWFIELD, H. J. The adsorption of cyanobacterial hepatotoxins from water onto soil. **Water Research**, v. 35, n. 6, p. 1461-1468, 2001.

MORRIS, R. J.; WILLIAMS, D. E.; LUU H. A.; HOLMES C. F. B.; ANDERSEN R. J.; CALVERT, S. E. The adsorption of microcystin-LR by natural clay particles. **Toxicon**, v. 38, p. 303–308, 2000.

MORTTLEY, Q.; MELOOWES, W. A.; THOMAS, S. Activated carbons from materials of varying morphological structure. Thermochimica Acta, v. 129, n. 2, p. 173-186, 1988.

NEUMANN, U.; WECKESSER, J. Elimination of microcystin peptide toxins from water by reverse osmosis. Environmental Toxicology Water Quality, v. 13, n. 2, p. 143-148, 1998. NISHIWAKI-MATSUSHIMA, R.; OHTA, T.; NISHIWAKI, S.; SUGUNUMA, M.; KOHYAMA, K.; ISHIKAWA, T.; CARMICHAEL, W.W.; FUJIKI, H. Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, v. 118, p. 420-424, 1992.

PANDOLFO, A. G.; AMINI-AMOLI, M.; KILLINGLEY, J. S. Activated carbons prepared from shells of different coconut varieties. **Carbon**, v. 32, n. 5, p. 1015-1019, 1994.

POLLARD, S. J. T.; THOMPSON, F. E.; McCONNACHIE, G. L. Microporous carbons from moringa oleifera husks for water purification in less developed countries. **Water research**, v. 29, n. 1, p. 337-347, 1995.

RODRIGUEZ-REINOSO, F.; MOLINA-SABIO, M.; GONZÁLEZ, M.T. The use of steam and CO₂ as activating agents in the preparation of activated carbons. **Carbon**, v. 33, n. 1, p. 15-23, 1995.

ROSET, J.; AGUAYO, S.; MUÑOZ, M. J. Detección de cianobacterias y sus toxinas. Una revisión. **Revista de Toxicología**, v. 18, p. 65-71, 2001.

ROSITANO, J.; NEWCOMBEM G.; NICHOLSON, B.; STAJNBOK. Ozonation of NOM and algal toxins. Water Research, v. 35, n. 1, p. 23-32, 2001.

SHEPHARD, G. S.; STOCKENSTROM, S.; DE VILLIERS, D.; ENGELBRECHT, W. J.; SYDENHAM, F. W.; WESSELS, G. F. S. Photocatalytic degradation of cyanobacterial microcystin toxins in water. **Toxicon**, v. 36, n. 12, p. 1895-1901, 1998.

SILVA, I. C. E., "Otimização quimiométrica de métodos de separação", Tese de Doutorado, Instituto de Química de São Carlos - São Carlos - SP, 1998.

SILVA, I. C. E., "Pirólise do bagaço da cana e seus constituintes", Dissertação de Mestrado, IQ-USP – São Carlos – SP, 1993.

SIVONEN, K.; JONES, G. 1999. Cyanobacterial toxins. - In: Chorus & Bertram, J. (eds.) Toxic Cyanobacteria in Water: a Guide to Public Health Significance, Monitoring and Management. p. 55-124.

SMÍŠEK, M.; CERNÝ, S. Active carbon: manufacture, porpeties and applications. Elsevier, New York, 1970.

WARHURST, A. M.; McCONNACHIE, G. L.; POLLARD, S. J. T. The production of activated carbon for water treatment in Malavi from the waste seed husk of Moringa oleifera. Water science and technology, v. 34, n. 11, p. 177-184, 1996.

WARHURST, A. M.; McCONNACHIE, G. L.; POLLARD, S. J. T. Characterization and aplication of activated carbons produced from Moringa Oleifera seed husk by single-step steam pyrolysis. **Water research**, v. 31, n. 4, p. 759-766, 1997.

HU, Z.; SRINIVASAN, M. P. Preparation of high-surface-area activated carbons from coconut shell. Microporous and mesoporous Materials, v. 27, p. 11-18, 1999.

HU, Z.; SRINIVASAN, M. P.; YAMING N. I. Novel activation process for preparing highly microporous and mesoporous activated carbons. **Carbon**, v. 39, p. 877-886, 2001.

CAPÍTULO II

A apresentação deste capítulo corresponde ao artigo a ser submetido:

Albuquerque Junior, E. C; Franco, T. T. Processos físicos e químicos para remoção de cianobactérias e suas toxinas de água: Revisão. *Brazilian Journal of chemical Engineering*, 2007.

Existem algumas discordâncias com relação à eficácia dos tratamentos convencionais de água envolvendo etapas de coagulação, floculação, sedimentação, filtração e desinfecção com cloro na remoção de toxinas de cianobactérias. Alguns pesquisadores relatam a eficiência de tais tratamentos na remoção destas toxinas de água para abastecimento público; outros entanto, observaram que estes mesmos processos não podiam remover aquelas toxinas de água. Todavia, trabalhos realizados por diferentes grupos de pesquisa vêm mostrando que carvão ativado granulado e carvão ativado em pó associado a estes processos mostraram-se eficientes na remoção de suas toxinas. Neste contexto, diversos processos têm sido desenvolvidos na tentativa de remover tanto células intactas de cianobactérias potencialmente tóxicas como de suas toxinas da água, buscando acima de tudo um acordo entre seus custos e a sua fácil manipulação. Assim, neste capítulo serão descritos e comentados os métodos quem vem sendo estudados em laboratório ou aplicados em estações de tratamento de água com objetivo de remover cianobactérias e de suas toxinas.

Processos físicos e químicos para remoção de cianobactérias e suas toxinas de água: Revisão

Eden C. Albuquerque Junior¹; Telma T. Franco^{1*}

^{1*}Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP. 13081-970, Caixa postal 6066. Campinas, SP, Brasil.

* Endereço para correspondência. Tel.: +55-19-3521-3966 Fax: +55-19-3521-3965 E-mail: franco@feq.unicamp.br

ł

Resumo

Os métodos de tratamento de água utilizados na remoção de cianobactérias e suas toxinas, têm suas limitações quanto às facilidades de aplicação e eficiência, principalmente. Dos métodos oxidativos discutidos, aqueles utilizando processos fotocatalíticos são bastante promissores, pois degradam rapidamente as toxinas de cianobactérias levando a uma mineralização do material orgânico sem a formação de subprodutos tóxicos. Métodos físicos não destrutivos de toxinas de cianobactérias também são relevantes, pois além de apresentarem boa eficiência de remoção daqueles compostos de água, os mesmos vêm sendo bastante utilizados em muitas das estações de tratamento de água, inclusive aquelas encontradas em centros de hemodiálise, podendo citar os filtros de carvão ativado granulado e filtração por osmose reversa. Em ambos os métodos percebem-se uma grande inquietação por parte daqueles que os utilizam, haja vista que não existem órgãos públicos que fiscalizem o uso e a qualidade dos mesmos. Um bom exemplo é a baixa qualidade dos carvões ativados utilizados em estações de tratamento de água, visto que na sua totalidade ainda são obtidos a partir de seu número de iodo e área da superfície específica, parâmetros ultrapassados que medem a efetividade destes adsorventes. É importante saber que o gerenciamento e controle de algas, cianobactérias e cianotoxinas nos sistemas de abastecimento de água envolvem ações de caráter preventivo e de caráter corretivo, que devem ser desenvolvidas segundo níveis hierárquicos. As ações de prevenção do processo de eutrofização no manancial de abastecimento devem ser prioritárias e baseia-se no manejo dos fatores que controlam o crescimento das algas e cianobactérias, particularmente do aporte de nutrientes.

Palavras-chaves: Cianobactérias, microcistinas, tratamento de água, carvão ativado.

1. Introdução

As cianobactérias, também conhecidas como algas verdes azuladas, que comumente florescem em ambientes aquáticos eutrofizados, produzem metabólitos secundários potencialmente tóxicos a animais e seres humanos, sendo muito encontradas em reservatórios de água destinados a abastecimento público (CARMICHAEL, 1994). Estas toxinas de cianobactérias podem atuar no fígado e neurônios, e por isso são classificadas como hepatotoxinas e neurotoxinas (AZEVEDO, 1998).

De acordo com Sivonen e Jones (1999), as hepatotoxinas de cianobactérias são classificadas em heptapeptídeos e pentapeptídeos cíclicos designados de microcistinas (MCYSTs) e nodularinas, respectivamente; com exceção da cilindrospermopsina que apesar de ser uma hepatotoxina, quimicamente trata-se de um alcalóide. Ao contrário deste grupo de compostos, as neurotoxinas por sua vez são classificadas como alcalóides, designados de anatoxina-a, anatoxina-a(s), saxitoxinas, aplisiatoxinas, e lingbiatoxina-a.

Gêneros de cianobactérias como *Microcystis, Anabaena, Planktothrix* (Oscillatoria), Nostoc, Hapalosiphon e Anabaenopsis são identificados como potenciais produtores de MCYSTs (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 1992). De acordo com Sant'anna e Azevedo (2000), já foi registrada a ocorrência de pelo menos 20 espécies de cianobactérias potencialmente tóxicas, incluídas em 14 gêneros, em diferentes ambientes aquáticos brasileiros. De acordo com esses mesmos autores, a espécie *Microcystis aeruginosa* apresenta uma distribuição mais ampla em todo território brasileiro e Anabaena é considerada como o gênero com o maior número de espécies potencialmente tóxicas (A. circinalis, A. flos-aquae, A. planctonica, A. solitaria e A. spiroides). Entretanto, na última década tem sido observado um grande aumento na ocorrência da espécie Cylindrospermopsis raciborskii, em diferentes regiões brasileiras (BOUVY et al., 1999; BRANCO; SENNA, 1994; CONTE et al., 2000; KOMÁRKOVÁ; LAUDARES-SILVA; SENNA, 1999; HUSZAR et al., 2000).

Um número cada vez maior de florações tóxicas de cianobactérias tem sido registrado em países como Austrália (KEMP; JOHN 2006), Inglaterra (AKCAALAN et al., 2006), China (SHI et al., 2005), África do Sul (VAN HALDEREN et al., 1995) e Brasil (CARVALHO et al., 2004; HONDA et al., 2006). Segundo FALCONER et al. (1994) intoxicações de populações humanas pelo consumo oral de água contaminada por cepas tóxicas de cianobactérias já foram descritas em vários destes países, estando estas relacionadas principalmente com as microcistinas.

No Brasil, embora existam poucos registros de intoxicação humana por toxinas de cianobactérias, estes são dramáticos. Teixeira et al. (1993) descrevem uma forte evidência de correlação entre a ocorrência de florações de cianobactérias no reservatório de Itaparica (Bahia) e a morte de 88 pessoas, entre as 200 intoxicadas, pelo consumo de água do reservatório, entre março e abril de 1988. Recentemente, no início de 1996, 123 pacientes renais crônicos, após terem sido submetidos a sessões de hemodiálise em uma clínica da cidade de Caruaru (Pernambuco), passaram a apresentar um quadro clínico compatível com grave hepatotoxicose. Destes, mais de 50 pacientes morreram devido à presença de toxinas de cianobactérias (MCYST -LR, -YR, -AR) e cilindrospermopsina na água de hemodiálise do referido centro. Este evento passou a ser o primeiro caso de morte associada a toxina de cianobactéria no Brasil e ficou conhecido como a tragédia de Caruaru (CARMICHAEL et al., 2001).

Além da intoxicação por via oral e venosa, Codd e Poon (1988) também consideram relevante a intoxicação de indivíduos pelo consumo de alimentos contendo toxinas bioacumuladas em peixes e moluscos. CHRISTOFFERSEN (1996) e VASCONCELOS (1999) ressaltam esta mesma situação, enfatizando que os peixes freqüentemente tornam-se veículos da toxina para outros animais.

De acordo com Harada et al. (1996) devido a sua estrutura peptídica cíclica, as MCYSTs são muito estáveis e resistentes a hidrólise química e oxidação, em pH próximo da neutralidade. Além disso, tanto as MCYSTs como as nodularinas mantêm sua toxicidade mesmo após a fervura. Em condições naturais, no escuro, as MCYSTs podem persistir por meses ou anos. A uma temperatura próxima dos 40°C e condições de pH alto ou baixo, foram observadas hidrólises lentas, sendo necessário aproximadamente 10 semanas em pH 1 e mais de 12 semanas em pH 9 para a degradação de cerca de 90% da concentração total das MCYSTs.

Conseqüentemente, não é de se surpreender que estas toxinas não sejam removidas prontamente da água por métodos convencionais de tratamento de água, como aqueles descritos por Falconer et al. (1989), Drikas, (1994) e Hrudey et al. (1999). Assim, a investigação por métodos apropriados para a remoção destas toxinas de água se estende por quase trinta anos, começando mesmo antes que estas toxinas tivessem sua estrutura caracterizada.

As cianotoxinas encontram-se predominantemente no interior das células viáveis (sadias) das cianobactérias tóxicas e são denominadas de toxinas intracelulares. Sob condições normais, apenas uma pequena proporção dessas toxinas é liberada pelas células viáveis para a água (toxinas extracelulares). Contudo, quando ocorre a lise da célula, seja pelo decaimento natural (senescência) ou pela ação de ruptura destas exercidas por agentes químicos como o sulfato de cobre ou oxidantes, a toxina intracelular é significativamente liberada para a coluna d'água (YOO et al., 1995). Desta maneira, os processos e seqüências de tratamento de água para abastecimento público devem ser analisados em função da sua capacidade de remover as células viáveis (biomassa algal) e de não promover a lise dessas células, assim como pela capacidade de remover a fração dissolvida das cianotoxinas (toxinas extracelulares) na água.

Uma vez que a estabilidade e a resistência aos métodos de tratamento tradicionais tinham sido estabelecidas, o uso de métodos alternativos para a remoção das MCYSTs tomaram um forte impulso de caráter prospectivo. De uma maneira geral, os estudos avançados em tratamento de água vêm sendo focados na utilização de ozônio e na remoção física das MCYSTs por tecnologia de adsorção, particularmente a aplicação de carvão ativado. Outros métodos também vêm sendo avaliados e aplicados na remoção e degradação destas toxinas em água potável e incluem a osmose reversa, filtração e ultrafiltração em membranas, processos oxidativos e fotocatalíticos tais como aqueles que empregam UV/H₂O₂, cloração e TiO₂.

Assim, como objetivo principal desta revisão, serão apresentados os métodos físicos e químicos que vêm sendo estudados e aplicados na remoção de cianobactérias e de suas toxinas de água potável tanto em escala real como aquelas desenvolvidas em laboratório, de maneira a entendê-los melhor a daí tirarmos informações pertinentes a respeito dos mesmos.

2. Métodos para remoção de cianobactérias e cianotoxinas

Existem algumas discordâncias com relação à eficácia dos tratamentos convencionais de água envolvendo etapas de coagulação, floculação, sedimentação, filtração e desinfecção com cloro na remoção de toxinas de cianobactérias. Alguns pesquisadores relatam a eficiência de tais tratamentos na remoção destas toxinas de água para abastecimento público; outros entanto, observaram que estes mesmos processos não podiam remover aquelas toxinas de água (HIMBERG et al., 1989; KEIJOLA et al., 1988; HOFFMAN, 1976). Todavia, trabalhos realizados por diferentes grupos de pesquisa vêm mostrando que carvão ativado granulado (CAG) e carvão ativado em pó (CAP) associado a estes processos mostraram-se eficientes na remoção de MCYSTs (FALCONER et al., 1989; DONATI et al., 1994; DRIKAS, 1994; WARHURST; McCONNACHIE; POLLARD, 1997).

Neste contexto, diversos processos têm sido desenvolvidos na tentativa de remover tanto células intactas de cianobactérias potencialmente tóxicas como de suas toxinas da água, buscando acima de tudo um acordo entre seus custos e a sua fácil manipulação.

2.1. Tratamentos físicos

2.1.1. Remoção de biomassa de cianobactérias

A nossa primeira discussão toma parte com a remoção de biomassa de cianobactérias daquela água que será utilizada na estação de tratamento d'água, o qual tem sido foco de estudo de muitos pesquisadores, sendo várias as linhas de abordagem do problema. Os trabalhos abordam desde o uso de filtros rápidos de pequena granulometria sem prévia coagulação, como aqueles avaliados por Nagavi e Malone (1986) até a adoção de uma etapa de pré-oxidação utilizando cloro ou ozônio (PETRUSEVSKI; VAN BREEMEN; ALAERTS, 1996; LAGE FILHO; FERREIRA FILHO, 1997).

Segundo os estudos de Benhardt e Clasen (1991), a remoção de bactérias e microalgas por coagulação, floculação e filtração é governada pelos mesmos princípios que a remoção de partículas coloidais e em suspensão, independentemente da natureza orgânica ou inorgânica de cada um desses grupos. Neste mesmo estudo, eles puderam concluir que as cianobactérias podem ser desestabilizadas e floculadas de acordo com os mesmos

mecanismos que atuam no caso de partículas inorgânicas e que a eficiência deste processo é influenciada pela forma (geometria) celular desta microalga.

O processo de flotação por ar dissolvido, seguido de filtração rápida (HYDE et al., 1977; EDZWALD; WINGLER, 1990; EDZWALD, 1993; JANSSENS; BUENKES, 1993) é uma das opções que a literatura vem indicando como a mais recomendada para a remoção de microalgas. Esse processo, pela característica do seu pré-tratamento (a coagulação-floculação), é também muito eficiente na remoção da matéria orgânica dissolvida (GEHR; SWARTZ; OFFRINGA, 1993).

Uma técnica muito promissora, não tóxica e de baixo custo que vem sendo muito estudada é a remoção de células de algas por floculação utilizando argila (ANDERSON, 1997; SENGCO; ANDERSON, 2004). Argilas tais como a montmorilonita, caolinita e as fosfáticas têm sido relatadas como floculantes eficientes, apresentando taxas de remoção de algas acima de 90% com a mais baixa carga de aplicação, cerca de 250 mg/L (AVNIMELECH; TROEGER; REED, 1982; HAN; KIM, 2001; SAMPLE, 2000; SENGCO; ANDERSON, 2004; YU; ZOU; MA, 1994a, 1994b, 1995). Contudo, segundo alguns destes pesquisadores alguns problemas com ralação ao emprego desta técnica podem ser apontados: (1) normalmente é empregada uma concentração de argila acima de 200 mg/L, o que é considerada alta e impraticável para esta técnica, fazendo-se assim necessário buscar argilas mais eficientes; (2) a eficiência de floculação das argilas diminui dramaticamente com a diminuição da salinidade, assim é necessário que novas técnicas de modificações na estrutura destes materiais sejam estudadas a fim de que as mesmas possam ser utilizadas em águas doces sem mais complicações; (3) o mecanismo de floculação utilizando argila ainda não é muito bem esclarecido e há falta de um estudo sistemático da cinética de floculação em águas doces e salgadas.

Mais recentemente, Pan et al. (2006) avaliaram a habilidade de 26 diferentes tipos de solos argilosos na remoção de algas por floculação. Os resultados obtidos por estes autores revelaram uma eficiência na remoção de células de *Microcystis aeruginosa* acima de 97% pelo solo que continha septiolita.

Um bom exemplo do estudo e aplicação do processo remoção de cianobactérias por floculação também foi desenvolvido por Chow et al. (1999), os quais indicaram que a utilização de sulfato de alumínio foi especialmente eficiente para flocular as células intactas daqueles microorganismos sem dano às sua parede celular, sem aumento da concentração de MCYSTs na água tratada. Anos depois, DRIKAS et al. (2001) observaram em testes laboratoriais, a remoção de 70 a 83% de células de microalgas, utilizando as operações de floculação com sulfato de alumínio, sedimentação e filtração. No entanto, numa planta piloto com a mesma seqüência de operações utilizadas no teste em laboratório, estes mesmos autores conseguiram uma eficiência de remoção da mesma biomassa estudada acima de 99,9%.

Recentemente, Phoochinda e White (2003) estudaram a remoção de algas por processo de flotação, utilizando dodecilssulfato de sódio e brometo de cetiltrimetilamônio como tensoativos, observando uma remoção de até 90% de algas utilizando este último agente químico. Foi observado que a diminuição do valor do pH da suspensão de algas favorecia a um aumento da remoção destas em até 80%. Os autores também observaram que não havia diferença na eficiência de remoção quando o processo operava a baixas temperaturas ou em temperaturas mais elevadas.

As seqüências de tratamento que não envolvem o uso de coagulante baseiam-se na filtração lenta em areia. De acordo com Mouchet e Bonnelye (1998), a filtração lenta em areia sozinha é capaz de remover 99% de microalgas da água afluente. Contudo, geralmente é reportado na literatura que altas concentrações de microalgas na água bruta afluente ao filtro lento pode provocar a rápida colmatação do meio filtrante exigindo freqüentes limpezas (CLEASBY, 1991). A remoção da camada biológica superficial, por sua vez, pode ter efeitos negativos sobre a capacidade de remoção de substâncias orgânicas dissolvidas, inclusive cianotoxinas. Estudos recentes sugerem que o problema da colmatação dos filtros lentos pelo excesso de microalgas e cianobactérias pode ser contornado com a adoção de pré-filtros de pedregulho (BRANDÃO et al., 1998, 1999).

Neste contexto, Grützmacher e Böttcher (2002) avaliaram filtros lentos de areia na remoção de células intactas e MCYSTs obtidas de *Planktothrix agardhii*. Seus estudos revelaram uma remoção de MCYSTs e de células daquela cianobactéria acima de 95%.

A utilização de uma pré-oxidação com permanganato de potássio, coagulação com sulfato férrico e um polímero catiônico e filtração direta pelo filtro de múltiplas camadas, em águas represadas contendo microalgas foram testados por Petrusevski, Van Breemen e Alaerts (1996). Seus resultados mostraram que a eficiência de remoção de partículas e microalgas nessa sequência de tratamento foi superior a 99%, enquanto a eficiência comumente atingida na filtração direta seria da ordem de 90%.

Experimentos semelhantes foram conduzidos por Lage Filho e Ferreira Filho (1997) em estação piloto, aonde estes estudaram os efeitos da pré-oxidação com cloro livre sobre a tratabilidade de águas eutrofizadas. Os autores concluíram que a pré-oxidação com cloro livre, ao promover a formação de flocos mais resistentes, atuou como um auxiliar de coagulação, proporcionando uma melhor remoção de cor aparente e carbono orgânico total, independentemente do tipo do meio filtrante utilizado.

2.1.2. Remoção de cianotoxinas dissolvidas

Como visto anteriormente, os processos que envolvem coagulação, quando otimizados e associados à processos de separação sólido-líquido e/ou à pré-oxidação, podem remover de forma eficaz as células de cianobactérias. Entretanto, de acordo com Hart, Fawell e Croll (1998), vários estudos têm mostrado que os processos convencionais de tratamento (coagulação/floculação, sedimentação e filtração) não são efetivos na remoção da fração dissolvida de cianotoxinas, tal como observado também por Hoffman (1976).

São muitos os trabalhos que abordam a remoção da fração extracelular das cianotoxinas de água potável. Segundo Hrudey et al. (1999), a maioria dos trabalhos publicados aborda a remoção de cianotoxinas em uma etapa (processo) do tratamento d'água e são poucos os trabalhos que avaliam as seqüências de tratamento mais comuns, que envolvem a coagulação-floculação e uma ou mais etapas de clarificação (sedimentação, flotação e filtração rápida). Além do que, a grande maioria desses trabalhos relata experimentos realizados em escala de laboratório ou instalações piloto, sendo poucos os resultados obtidos em escala real.

2.1.2.1. Adsorção por carvão ativado

Um dos trabalhos pioneiros utilizando carvão ativado como estudo na remoção de toxinas de cianobactérias foi realizado por Hoffman (1976). Neste estudo, os autores mostraram que todos aqueles processos convencionais usados no tratamento de água, compostos por floculação/sedimentação, filtração em areia e cloração, falharam na eliminação da toxicidade associada com toxinas peptídicas de cianobactérias. Contudo, neste trabalho também foi investigada a utilização de CAP associado àqueles processos na remoção de MCYSTs. Os resultados, promissores para a época, revelaram que a adsorção destas toxinas pelo CAP estava associada aos níveis de concentração deste adsorvente no processo, além da variante da MCYST estudada. A remoção de MCYSTs sob esta investigação foi garantida utilizando-se 8 kg/L de CAP o que foi uma razão de dosagem de CAP alta, quando a quantidade típica utilizada seria entre 0,01 kg/L e 1 kg/L.

Trabalhos subseqüentes confirmaram a eficácia do CAP na remoção de MCYSTs enfatizando mais uma vez a importância da razão de dosagem deste adsorvente, onde na maioria dos resultados obtidos foram necessárias altas doses de CAP.

Keijola et al. (1988), por sua vez, apresentaram a adsorção em carvão ativado granulado (CAG) como um método efetivo na remoção de hepatotoxinas e neurotoxinas (anatoxina-a), porém não relataram bons resultados com o carvão ativado em pó. A baixa eficiência do CAP verificada nesse estudo foi associada à baixa concentração deste adsorvente utilizada nos experimentos (5 mg/L), não levando em consideração outros fatores como a porosidade e materiais precursores do carvão ativado.

Nos trabalhos subseqüentes desenvolvidos por Falconer et al. (1989) e Himberg et al. (1989), por exemplo; foi avaliada também a remoção de toxinas por carvão ativado em pó e granulado. Falconer et al. (1989) relataram que muito dos carvões ativados em pó utilizados na sua investigação removeram um pequeno percentual de MCYSTs quando foi usada uma dose de CAP de 100 g/L, ao contrário de uma dose maior de CAP de 5kg/L que se mostro mais eficiente na remoção. Os resultados obtidos de ambos os trabalhos sugerem que o carvão ativado seria capaz de remover cianotoxinas sozinho ou de forma combinada com o tratamento convencional.

A partir da segunda metade da década de 1990, um avanço na pesquisa da remoção de MCYSTs por CAP e CAG pôde ser observado, aonde foram incorporados a estes estudos, a relação da porosidade do material precursor e o modo de ativação dos carvões na capacidade de adsorção dos mesmos para as toxinas de cianobactérias.

Donati et al. (1994) avaliando a capacidade de adsorção de uma série de carvões ativados obtidos de diferentes precursores; isto é da madeira, endocarpo de coco seco, turfa e carvão de origem mineral na remoção de MCYST-LR, observaram que a remoção desta toxina pelos carvões avaliados estava ligada às propriedades texturais (porosidade) e de superfície destes adsorventes, além da natureza de seus materiais precursores. Assim, uma variação da adsorção de MCYST-LR entre 20 e 280 µg/L obtidas no estudo destes autores, fôra dependente daquelas propriedades de superfície dos carvões; sendo o carvão ativado da madeira o mais efetivo e do endocarpo do coco seco o menos efetivo na remoção da MCYST-LR.

Ainda segundo estes autores, o estudo mostrou que a adsorção de MCYST-LR foi dependente do volume de mesoporos e não de microporos do CA. A área da superfície específica, número de iodo e índice de fenol, muito utilizado para medir a qualidade dos CA, permitiu apenas fornecer uma informação específica e não deveriam ser usados como um indicador geral da efetividade destes materiais na adsorção de toxinas de cianobactérias.

Donati et al. (1994) também avaliaram o teor de matéria orgânica dissolvida na água e a capacidade de adsorção daqueles adsorventes pelas MCYSTs. Foi observada uma diminuição da taxa inicial de adsorção de MCYST-LR pelos CA da madeira e do endocarpo coco seco; onde após três horas de contato com estes adsorventes foram obtidas remoções de 37% e 19% apenas da concentração inicial daquela toxina presente na água preparada com água de rio, diferentemente daquela observada quando preparada com água ultra-pura, 36 e 42%, respectivamente; concluído-se desta maneira que a matéria orgânica dissolvida na água competia com a MCYST-LR pelos sítios ativos de adsorção dos carvões ativados diminuindo assim sua capacidade de adsorção pela toxina.

Resultados semelhantes também foram obtidos por Bernazeau (1994), o qual obteve uma remoção de 95% a partir de 50 μ g/L de MCYST-LR com apenas 12 mg/L de CAP. Bernazeau (1994) utilizou CAG em uma estação piloto, o qual observou também este possuiu uma grande capacidade de remoção de MCYSTs, superior a 90%.

Da mesma forma que Donati et al. (1994), Bruchet et al. (1998), utilizando água filtrada do rio Sena, contaminada artificialmente com MCYST-LR, demonstraram que além do tipo de carvão, a presença de matéria orgânica dissolvida na água interferia negativamente na capacidade de adsorção das cianotoxinas pelo carvão ativado em pó. Segundo estes autores, embora tenha sido apresentada uma elevada remoção de toxinas pelo carvão ativado granular, a competição com a matéria orgânica dissolvida pode resultar em problemas na prática do tratamento. Se a presença de altas concentrações de

cianotoxinas na água ocorrer quando o carvão ativado já estiver parcialmente saturado por outras substâncias orgânicas, a "passagem" de concentrações significativas de toxinas poderá ocorrer.

Neste mesmo ano, Lambert, Holmes e Hrudey (1996) estudaram em escala real a remoção de MCYST-LR por carvão ativado associado a processos convencionais de tratamento de água, além da influencia da material orgânica dissolvida na capacidade de adsorção do carvão. Os resultados do primeiro estudo demonstraram que mais de 80% da toxina dissolvida em água foi removida pelo carvão associado aos outros processos. No segundo, foi observada uma diminuição da capacidade de adsorção dos carvões ativados comerciais avaliados devido a presença de matéria orgânica dissolvida, competindo com a MCYST-LR pelos sítios de adsorção dos carvões, tal como observado por Donati et al. (1994).

No ano seguinte, Warhurst, Mcconnachie e Pollard (1997) estudaram a adsorção de MCYST-LR por um carvão ativado fisicamente com vapor d'água obtido da casca da semente da árvore *Moringa oleifera*. Neste estudo, eles observaram que 10 mg/L deste carvão em contato por 24 h com uma solução 20 µg/L daquela toxina pura promoviam uma remoção acima de 98%.

Neste mesmo ano, Lawton, Cornish e Macdonald (1998) avaliaram a capacidade de adsorção de filtros domésticos de carvão ativado, empregados como tratamento de água remediativo, na remoção de MCYSTs e de células de cianobactérias; mostrando que a remoção destas ultimas estavam associada à morfologia das mesmas, pois 60% das células de cianobactérias filamentosas foram retidas pelos filtros ao contrário dos outros tipos de células que foi de 10%. Eles concluíram ainda que a eficiência de remoção de MCYSTs para todos os filtros estudados não era garantida por única passagem da solução contendo MCYST pelo filtro, necessitando de até 3 passagens por esses dispositivos.

Mais uma vez, um estudo realizado por Hart, Fawell e Croll (1998) ressaltou que a efetividade do carvão ativado em pó é altamente dependente do tipo e da dosagem aplicada. Para o tipo de carvão mais efetivo, encontraram que dosagens superiores a 20 mg/L (dosagens similares às utilizadas por Falconer et al., 1989) eram necessárias para atingir remoções maiores que 85%. Ainda segundo esses autores, nas dosagens usualmente adotadas no tratamento de água (5 mg/L a 20 mg/L), apenas o carvão ativado em pó

provavelmente contribuiria para a remoção de toxinas, contudo dificilmente promoveria a remoção completa desses compostos.

Recentemente, os estudos sobre a capacidade de adsorção de carvões ativados ganharam novos rumos, onde Pendleton, Schumann e Wong (2001) estudaram a influência das propriedades do CAP na adsorção de MCYST-LR. Em seus resultados foi observada uma maior influência do pH sobre a remoção daquela toxina com um carvão do endocarpo do coco seco e menor influência a partir de um carvão ativado da madeira. Contudo, os carvões ativados que apresentaram maior volume de microporos secundários e volume de mesoporos obtiveram maior capacidade de adsorção para aquela toxina, o que foi observado primeiramente para os carvões da madeira. É importante lembrar que neste estudo os autores utilizaram padrão puro de MCYST-LR.

Em 2002, Cook e Newcombe estudaram a remoção de variantes de MCYSTs com carvão de madeira e mineral ativados quimicamente e fisicamente com vapor d'água, respectivamente; e concluíram que para uma mistura de quatro MCYSTs análogas, MCYST-RR, -YR, -LR e -LA, foi observada que a facilidade de remoção obedeceu a seguinte ordem: MCYST-RR > MCYST-YR > MCYST-LR > MCYST-LA. Segundo os autores, a diferença na capacidade de adsorção das variantes desta toxina para os carvões estudados seria devido a uma série de fatores, tais como conformação ou tamanho da molécula da MCYST em solução e interação entre a molécula da toxina e a superfície do carvão ativado.

No que tange o estudo do uso de carvões ativados por estes autores; estes observaram que no estudo com CAG, só após três meses de uso contínuo do leito de carvão ativado granulado pôde ser observada a ruptura de ambas as toxinas encontradas na água, e que a matéria orgânica dissolvida na água influenciou nos resultados obtidos, diminuindo assim a capacidade de adsorção das toxinas pelo carvão empregado. Com relação ao carvão ativado pulverizado, eles observaram uma tendência na adsorção das MCYSTs estudadas contrária aquela já observada, pois a remoção aumentou com o aumento do tamanho e diminuição da hidrofobicidade das MCYSTs, levando a acreditar que a diferença na rede de carga destes compostos deve ser responsável pela grande diferença de adsorção.

Recentemente, um estudo sobre os efeitos do caráter iônico e de substitutos de matéria orgânica natural na adsorção de MCYSTs em CAP foi devidamente realizado por

Campinas e Rosa (2006) analisando a importância do tamanho da molécula do adsorbato e a concentração de carga na sua superfície. A eficiência de remoção de quatro variantes daquela toxina (MC-LR, MC-LY, MC-LW, MC-LF) e três substitutos de matéria orgânica natural (ácido salicílico, acido tânico e ácido húmico) em soluções de diferentes caráteres iônicos foi avaliada por um carvão ativado comercial. Seus resultados mostraram que o efeito do caráter iônico depende da concentração de superfície o adsorbato, mudança de carga (mono ou bivalente) e tamanho da molécula do adsorbato. Sob as melhores condições experimentais foi observada uma capacidade de adsorção de carvão para aquelas MCYSTs de 18,7 µg/mg.

2.1.2.2. Adsorção em solos argilosos

Foi observada que a filtração de água contaminada com MCYST e com nodularina por solos argilosos pode acabar aumentando a mobilidade *in si*tu da toxina em regiões de águas alcalinas e de baixa salinidade, devido ao aumento da solubilidade na fase aquosa nestas condições (MILLER et al., 2001). Além disso, neste estudo foi observada uma capacidade máxima de adsorção dos solos estudados (k_f) para MCYST e nodularina de 10,90 e 16,59 L/kg. Por sua vez, Morris et al. (2000) observaram a adsorção da MCYST por partículas de argila, contendo elevadas concentrações de caolinita e de montmorilonita, em mais de 81%.

2.1.2.3. Osmose reversa e filtração em membranas

A osmose reversa tem sido usada no tratamento de água para dessalinização de águas salobras ou de estuários a fim de melhorar a potabilidade destas fontes além de ser também utilizada no tratamento de efluentes para reuso de água no processo industrial (SUKSAROJ et. al., 2005; REISSMANN; SCHULZE; VOLKER, 2005). Este método físico de tratamento de água é similar ao método de filtração, aonde se quer separar um mistura líquida de componentes suspensos ou dissolvidos (RAGAINI; PIROLA; ELLI, 2004; GALAMBOS et al., 2004).

A osmose reversa vem sendo atualmente usada em um número de países para melhorar a qualidade da água para consumo, a habilidade destes processos para remover MCYSTs de água também tem sido avaliada (VUORI et al., 1997). Assim, a remoção de MCYSTS -LR e -RR em água doce e salgada foi examinada por Neumann e Weckesse (1998) utilizando osmose reversa. Nas condições experimentais pré-estabelecidas por estes autores foi conseguida uma retenção daquelas toxinas pela membrana utilizada de 96,7 a 99,9% a partir da água doce e entre 98,5 e 99,9% a partir da água salgada.

Recentemente, Horman et al. (2004) avaliaram a capacidade de purificação química e microbiológica de dispositivos filtrantes para tratamento de água em pequena escala a base de membranas utilizando nove amostras de água. Um destes dispositivos filtrantes baseados na osmose reversa foi avaliado quanto a sua eficiência na remoção de MCYST presente nas amostras. Os resultados observados mostraram que após a passagem da água contaminada com MCYST no dispositivo baseado na osmose reversa, esta apresentou uma concentração abaixo de 0,09 µg/L, o que correspondeu a mais de 99% de remoção em relação a concentração desta toxina no afluente.

No ano seguinte, Teixeira e Rosa (2005) avaliaram a remoção de variantes de MCYST (-LR, -LF, -LY) a partir de uma solução aquosa 150 μ g/L, utilizando membranas de nano filtração carregadas negativamente. Os seus resultados mostraram uma remoção destas toxinas acima de 97%.

Mais recentemente, Gijsbertsen-Abrahamse et al. (2006) avaliaram a eficiência de remoção de cianotoxinas agregadas à células de cianobactérias utilizando ultra filtração, e de cianotoxinas dissolvidas por nano filtração sob condições praticamente relevantes. No primeiro processo avaliado foi verificada uma remoção de células+toxinas acima de 98%, ao passo que no segundo foi demonstrada uma remoção acima de 96%. Conseqüentemente, estes processos de remoção por membranas de filtração, utilizados na remoção de células de cianobactérias+toxinas presentes em água bruta, mostraram-se eficazes quando comparados a outros processos físicos de remoção avaliados.

Em sua revisão, Hudrey et al. (1999) estabeleceram uma relação entre os métodos de remoção de cianobactérias e de suas toxinas encontrados na literatura com os resultados previstos (Tabela 2).

	Expectativa de remoção		
	Células	Toxina	
TÉCNICA	preservadas	extracelular	Comentários
DE TRATAMENTO			
Coagulação/sedimentação/	>80%	<10%	Remove apenas a toxina contida
flotação por ar dissolvido			na célula.
Precipitação/sedimentação	>90	<10%	Remove apenas a toxina contida
	_ _	<u> </u>	na célula.
Filtração rápida	>60	<10%	Remove apenas a toxina contida na célula.
Filtração lenta em areia	~90	Provavelmente	A eficiência para MCYST
		significante	dissolvida depende do biofilme e
			do comprimento do filtro.
Coagulação/ sedimentação/	>90	<10	Remove apenas a toxina contida
filtração combinada		·	na célula.
Flotação por ar dissolvido	>90	NA, PB	Remove apenas a toxina contida
	·		na célula.
Processos de membranas	>99	Incerto	Depende do tipo de membrana
Adsorção (PAC)	Insignificante	>85	Para doses adequadas (> 20 mg/L),
			a competição COD reduz a
		<u> </u>	capacidade.
Adsorção (GAC)	>60	>80	A competição COD reduz a
			capacidade e acelera a quebra,
		1.00	remove as celulas.
Carvão ativado granular	>60	>90	A atividade biológica aumenta a
biologico	A	<u></u>	eficiencia de remoção.
Pre-ozonização	Aumenta	Aumento	de liberen tewing
Pré aloração	Aumonto	Cauga liga a libora	Anligéval para gionghagtériag
Fie-cioração	coemileção	retabolito	tóvicas openas ce o tratemento
	coaguiação	metabolito	subsegüente remover as toxinas
			dissolvidas
Ozonização (pós-clarificação)	-	>98%	Rápido e eficiente para toxinas
0.2011-114-0 (Peo - 1111-1144-0)		5070	solúveis.
Cloro livre (pós-filtração)		>80%	Efetivo > 0.5 mg/L após 30
			minutos a pH< 8 e baixo COD.
Cloramina	-	Insignificante	Ineficiente.
Dióxido de cloro	-	Insignificante	Não efetivo com doses usadas em
			tratamento de água para
			abastecimento.
Permanganato de potássio	-	>95%	Efetivo sobre toxina solúvel, mas
			apenas na ausência de células
		<u> </u>	completas.
Peróxido de hidrogênio		Insignificante	Não efetivo.
Radiação UV	-	Insignificante	Capaz de degradar MCYST-LR e
			anatoxina-a, mas apenas em doses
			impraticavelmente altas.

2.2. Tratamento químico

O primeiro relato de tratamento químico em água contaminada por MCYSTs foi em 1976, quando Hoffman investigou o efeito de uma série de reagentes nestas toxinas. Desde então, têm sido várias as investigações neste âmbito usando uma variedade de agentes oxidantes que são comumente empregados no tratamento de água potável.

Uma característica comum destes trabalhos que envolvem a destruição de MCYSTs por um agente oxidante qualquer tal como ozônio, cloro e dióxido de cloro, peróxido de hidrogênio, permanganato de potássio, dentre outros relatados pela literatura, é a falta de uma caracterização dos produtos obtidos da decomposição daquelas toxinas.

Percebe-se que existe uma tendência nestes trabalhos por relatar a eficiência de remoção dos mesmos levando em consideração apenas a facilidade de desaparecimento das MCYSTs da água tratada e só ocasionalmente encontram-se trabalhos em que é realizado algum tipo de bioensaio para testar a toxicidade dos subprodutos de oxidação ou identificação destes por espectrometria de massas.

Segundo Harada et al. (1996) a atividade biológica ou toxicidade em comum das MCYSTs e nodularinas esta associada ao resíduo de aminoácido não tão comum denominado de ADDA. Este por sua vez é característico por possuir ligações duplas na sua estrutura as quais são clivadas em contato com algum daqueles agentes oxidantes citados. Com isso, a possível modificação nesta estrutura parece fazer com que desapareça a toxicidade destas toxinas. Conseqüentemente, o estudo da remoção ou degradação de toxinas de cianobactérias por agentes oxidantes é muito importante para avaliar o processo em particular, além de poder gerar subsídios para explicar o modo pelos quais esses compostos agem sobre estas toxinas, encontrando assim mecanismos que expliquem esta reação. Assim, a seguir são revisados alguns dos principais processos de tratamento químico utilizados em água para consumo humano contaminada com toxinas de cianobactérias.

2.2.1. Ozonização

De acordo com Gallard, Von Gunten e Kaiser (2003), a ozonização pode ser eficiente na desinfecção de água para consumo humano, pois proporciona a inativação de microorganismos nela encontrados tais como os oócitos de *Cryptosporidium parvum*,

49

esporos de *Bacillus subtilis*, cistos de *Giardia lamblia* e vírus da pólio. Além disso, estudos têm demonstrado também a eficiência do ozônio na degradação de MCYSTs e nodularinas, o qual é fortemente dependente da dose deste oxidante (HART; STOTT, 1993; CARLILE, 1994; FAWELL et al., 1993; ROSITANO, 1996). Contudo também existem algumas evidências de que a eficiência de ozonização dependerá da qualidade da água bruta.

O estudo de Hart e Stott (1993) e Carlile (1994) demonstraram que menores doses de ozônio foram necessárias para a degradação de MCYSTs na água tratada comparada com água bruta. A água tratada continha uma concentração de compostos orgânicos dissolvidos significativamente mais baixa do que aquela encontrada na água bruta, conseqüentemente necessitou de uma menor demanda de ozônio. Carlson (1993), Bose, Boiijayanta e Reckhow (1994) e Andrews e Huck (1994) ainda mostraram que a concentração e a natureza da matéria orgânica natural, o pH e a concentração de carbonato na água afetaria na demanda de ozônio. Esta demanda controlará a dose de ozônio na qual um resíduo deste pode ser detectado e é provável que este valor seja muito importante na ozonização de toxinas de cianobactérias.

Rositano (1996) encontrou que na ozonização de uma cultura de *Microcystis aeruginosa*, cuja concentração de células era equivalente àquela encontrada numa floração natural; o aumento da degradação de MCYSTs estava associado a altas doses de ozônio bem como do tempo de contato entre a toxina e este oxidante.

Destes estudos, apenas aqueles desenvolvidos por Rositano (1996) e Rositano, Nicholson e Pieronne (1998) relataram que as doses necessárias para degradação de MCYST-LR poderiam levar ao aparecimento de ozônio residual em solução. Contudo, mesmo o fato de que a destruição de MCYST-LR pudesse estar relacionada com o aparecimento de um residual de ozônio, estes estudos indicariam uma direção importante para as futuras investigações utilizando águas naturais. Neste último trabalho, os autores mostraram uma eficiência de remoção de MCYST acima de 99% utilizando uma dose de ozônio, 0,05 mg/L por 5 segundos de contato.

Quase cinco anos após a publicação do trabalho de Rositano (1996), Rositano et al. (2001), estudaram a ozonização de quatro águas tratadas com qualidades muito diferentes contaminadas artificialmente com duas MCYSTs (-LR e –LA) e anatoxina-a. Os resultados obtidos mostraram 100% de degradação de ambas MCYSTs o qual foi

relacionado pelos autores com a concentração residual de ozônio e um tempo de contato de pelo menos 5 minutos de contato. Contudo, foi observado para a anatoxina-a que esta foi muito resistente ao ozônio e que a água contaminada com esta toxina necessitaria de um tratamento a mais, tal como carvão ativado granulado.

Recentemente, Hoeger, Dietrich e Hitzfeld (2002) investigaram o efeito da ozonização na remoção de toxinas de cianobactérias durante uma seqüência de tratamento de água. Neste estudo, diferentes concentrações celulares de cianobactérias foram ozonizadas em um reator de batelada em escala de laboratório, com subseqüente etapa de filtração em areia e carvão ativado. Os autores encontraram que concentração de ozônio a pelo menos 1,5 mg/L foi necessária para proporcionar suficiente potencial de oxidação para destruir as toxinas presentes em 5×10^5 células de *Microcystis aeruginosa*/mL. Contudo, pôde-se perceber que a alta concentração de carbono orgânico total na água bruta utilizada nos ensaios, 1,56 mg/L, levou a redução da eficiência da oxidação e destruição de toxina livre. Além disso, a ozonização de águas brutas contendo alta densidade de células de cianobactérias resultou na lise das células e liberação de toxinas intracelular.

Ainda em 2002, Newcombe et al. avaliaram opções de tratamento d'água como ozonização, adsorção em carvão ativado quimicamente a base de madeira e biodegradação na remoção de MCYSTs presentes em diferentes águas brutas, considerando as similaridades e diferenças entre as variantes das toxinas estudadas. Foi observado que as MCYST-LR e -LA apresentaram o mesmo comportamento de degradação por ozonização, sendo destruídas por doses de ozônio de 0,5 e 1 mg/L deste oxidante após 5 minutos de contato e que a toxicidade avaliada por bioensaios dos produtos formados da ozonização de ambas toxinas não foram tóxicos, considerando-se os mesmos mecanismos de toxicidade das toxinas.

Embora todos estes trabalhos não se preocupem com a caracterização dos subprodutos formados durante a ozonização e dos possíveis riscos associados a estes compostos, a eficiência deste método o torna um dos mais promissores para o futuro do tratamento de água para abastecimento.

51

2.2.2. Cloração

Os primeiros trabalhos que avaliaram o cloro dentro dos processos usuais de tratamento convencional de água mostraram que essa etapa não foi eficaz na remoção de toxinas de cianobactérias (KEIJOLA et al.; 1988; HIMBERG et al., 1989). A demanda de cloro exercida por outros materiais orgânicos dissolvidos e a influência do valor do pH, associados à baixa dosagem (0,5 mg/L de cloro) pode explicar a baixa efetividade do cloro observada por esses autores.

Por sua vez, Nicholson, Rositano e Burch (1994) relataram que MCYSTs e nodularinas podem ser rapidamente destruídas por cloro, hipoclorito de cálcio e hipoclorito de sódio, sendo que esse último deve exigir uma dosagem superior à dos dois primeiros. O cloro e o hipoclorito de cálcio removeram 95% das toxinas com doses de 1 mg/L (cloro ativo) após um tempo de contato de 30 minutos, ao passo que 5 mg/L de hipoclorito de sódio foram necessários para cerca de 80% de remoção no mesmo tempo de contato. O efeito do pH sob a cloração e remoção de toxinas de cianobactérias foi estudado por estes autores, sendo observada uma significativa influência do pH na efetividade das espécies de cloro testadas. A remoção de toxinas foi bastante comprometida quando os valores de pH excediam a 8; ao passo que numa concentração de cloro ativo de 15 mg/L, a remoção de toxinas caiu de 95% para valores inferiores a 80%, quando valor do pH é superior a 8. Para o hipoclorito, a remoção chegou a atingir apenas 40%, com pH igual a 10.

Anos depois, Tsuji et al. (1997) avaliaram os efeitos da cloração com hipoclorito de sódio na decomposição das MCYST-LR e RR. Os resultados obtidos por estes autores mostraram a fácil decomposição destas toxinas, estando esta dependente da dose de cloro livre. Embora estes resultados tenham sugerido que uma adequada dose de cloro é efetiva na remoção de MCYSTs de água bruta, os autores advertem que a pré-oxidação das próprias células com cloro deve ser evitada porque freqüentemente este procedimento causa lise celular da alga e produz trialometano durante o processo de tratamento de água.

O estudo da degradação de toxinas de cianobactérias utilizando cloro foi estendido às neurotoxinas, quando Hart, Fawell e Croll (1998) relataram os resultados de testes de cloração de águas contendo MCYST-LR e anatoxina-a, em concentrações na faixa de 5 a $10 \ \mu g/L$. Assim, simulando a etapa final de desinfecção em uma seqüência de tratamento, foi utilizada em seus experimentos uma dosagem de cloro de 1,7 mg/L, o que resultou em 0,7 mg/L de cloro residual livre depois de 30 minutos. Assim como foi observado nos experimentos de Hart, Fawell e Croll (1998) e Nicholson, Rositano e Burch (1994), a eficiência do cloro na redução da concentração de MCYST-LR mostrou-se muito dependente do pH e do tempo de contato. No entanto, nenhuma remoção de anatoxina-a foi obtida com o uso do cloro.

No ano seguinte, Hrudey et al. (1999) mostraram que a cloração com valores de pH suficientemente baixos para garantir máxima eficiência de remoção de toxinas poderia não ser viável na prática. Entretanto, mesmo com os valores de pH usualmente adotados na prática, é provável que a MCYST fosse degradada, se maiores tempos de contato forem adotados e concentrações apropriadas de cloro residual livre sejam garantidas.

0 aparecimento de uma nova e potente toxina de cianobactéria, cilindrospermopsina, produzida pela raciborskii *Cylindrospermopsis* e outras cianobactérias, levaram Senogles et al. (2000) a estudar a eficácia da cloração sobre a degradação daquela toxina. Os seus resultados demonstraram que uma dose baixa de cloro (<1 mg/L) foi suficiente para degradar a cilindrospermopsina; no entanto este resultado só foi válido para águas com baixo teor de carbono orgânico dissolvido. O efeito do pH sobre o processo de cloração e conseqüente degradação daquela toxina foi avaliado mostrando que em amostras onde o pH da solução variou de 6 a 9 e uma concentração de cloro livre de 0.5 mg/L seria suficiente para promover uma eficiência de remoção de cilindrospermopsina acima de 99%. Ao passo que com a diminuição do pH para uma faixa entre 4 e 6, foi observada uma diminuição na eficiência de remoção, indicando uma possível estabilidade desta toxina a pHs baixo. Contudo, no tratamento de água convencional isso não é relevante visto que o pH é normalmente maior que 6.

Recentemente, Acero, Rodriguez e Meriluoto (2005) estudaram as cinéticas de reação entre cloro e as MCYSTs (-LR, -RR e -YR) e observaram a partir dos resultados obtidos que para a ampla faixa de pH utilizada no estudo, a taxa de degradação daquelas toxinas tinha um efeito negativo. Foi observada ainda uma reatividade similar ao cloro por ambas as toxinas e que a melhor eficiência de remoção foi alcançada a pH 6 com uma concentração residual de cloro entre 0,5 e 1,0 mg/L.

A eficiência de remoção de MCYSTs análogas (MCYSY-LA, -LR, -RR e -YR) de água para abastecimento por processo de cloração foi cuidadosamente estudada por Ho et

al. (2006). Neste estudo a oxidação das MCYSTs foi relacionada quanto a facilidade de oxidação diante a sua exposição ao cloro. Assim observou-se uma facilidade da MCYST-YR > MCYST-RR > MCYST-LR > MCYST-LA e uma demanda de cloro acima de 25 mg/L.

A utilização de outras fontes de cloro como dióxido de cloro e cloroaminas na remoção de toxinas de cianobactérias foram estudadas por diversos autores, onde os resultados mostraram que estes não se mostraram eficazes na remoção das cianotoxinas de água (NICHOLSON; ROSITANO; BURCH, 1994; HART; FAWELL; CROLL, 1998; KULL et al., 2004).

2.2.3. UV/H₂O₂ e permanganato de potássio

Pesquisas desenvolvidas por Drikas (1994) mostraram a ineficiência do processo de degradação de MCYST-LR utilizando o peróxido de hidrogênio. Seus resultados mostraram que o contato desta toxina por 60 minutos com uma solução de peróxido 20 mg/L proporcionou uma eficiência de degradação de apenas 17%. Rositano, Nicholson e Pieronne (1998) por sua vez, não observaram degradação, nos primeiros dez minutos de contato, de uma solução contendo 1 mg/L de MCYST-LR utilizando peróxido de hidrogênio a 2 mg/L. Contudo, estes últimos autores puderam observar uma extrema eficiência de degradação daquela toxina (30 min) quando este processo de oxidação foi combinado com a ozonização.

Tsuji et al. (1995) mostraram que as MCYSTs LR e RR facilmente sofreram decomposição pela exposição a luz ultravioleta num comprimento de onda próximo daquele de máxima absorção destas toxinas. Esta decomposição dependeu da intensidade de radiação.

Alguns anos depois, Hart, Fawell e Croll (1998) reportaram que a radiação ultravioleta associada ao peróxido de hidrogênio não foi efetiva na remoção de toxinas de cianobactérias; ao passo que o permanganato de potássio apresentava grande potencial na remoção de toxinas dissolvidas. Contudo, recentemente Chen et al. (2005) investigaram o uso do permanganato de potássio na degradação oxidante da MCYST-RR. Seus resultados demonstraram uma eficiência de remoção desta toxina acima de 99,5% com 10 minutos de contato e que a taxa de degradação pode ser aumentada por meio do aumento da
temperatura e concentração do oxidante. Ainda foi observada por estes autores que a taxa de degradação da MCYST-RR pelo permanganato de potássio em meio ácido foi ligeiramente mais rápida do que em meio básico.

Neste mesmo ano, Qiao et al. (2005) conduziram experimentos para investigar a degradação da MCYST-RR de maneira a avaliar a eficiência e facilidade de um sistema catalítico combinado, composto por UV/H₂O₂, para purificação de água contaminada por MCYSTs. Foram avaliados parâmetros operacionais tais como dosagem de peróxido de oxigênio, faixa de pH, concentração inicial de MCYST-RR e tempo de contato. Assim, a partir dos seus resultados, pode-se observar que a eficiência de degradação daquela toxina não aumentou linearmente com o aumento da intensidade da luz UV e dosagem do peróxido de hidrogênio, respectivamente. Comparado com o tratamento usando individualmente a radiação de UV e peróxido de hidrogênio, o sistema combinado UV/H₂O₂ pôde significantemente melhorar a eficiência de remoção daquela toxina de água devido ao efeito sinergético entre o modo de oxidação por radiação UV e peróxido de hidrogênio.

Em relação aos oxidantes de forma geral, é importante destacar que a seleção do ponto de aplicação (pré ou pós-oxidação) tem impactos sobre a efetividade de remoção de toxinas intra e extracelular. A pré-oxidação pode causar a lise celular, liberando as toxinas para água. Assim, o uso de oxidantes antes da remoção das células sadias deve ser analisado com muita precaução.

2.2.4. Degradação fotocatalítica por TiO₂

A oxidação fotocatalítica é um meio eficaz em muitas circunstâncias para descontaminação da água pela conversão de compostos orgânicos tóxicos em CO₂, água e minerais ácidos (OLLIS; PELIZZETTI; SERPONE, 1991). Tal processo tem sido aplicado exaustivamente no estudo de degradação de poluentes orgânicos contidos na água (LAWTON et al., 2003a, 2003b; LI et al., 2006a; LI et al., 2006b; SIRTORI et al., 2006).

A luz do ultravioleta próximo colide na superfície do TiO_2 fazendo com que pares de elétrons migrem para a superfície do catalisador, deixando em seus lugares, fendas ou poros que são preenchidos por moléculas d'água ou grupos hidroxilas adsorvidos em sua superfície (JAEGER; BARD, 1979; MATTHEWS, 1984). Por outro lado, os elétrons podem reagir com moléculas de oxigênio adsorvidas na superfície, produzindo assim espécies de oxigênio altamente reativo (HOFFMANN et al., 1995). Estes por sua vez oxidam compostos orgânicos adsorvidos na superfície do catalisador.

Trabalhos desenvolvidos por Robertson et al. (1997) mostraram que a MCYST-LR, purificada, em concentrações de 50 a 200 mg/L foi altamente suscetível a oxidação fotocatalítica usando TiO₂ em pó. Seus resultados mostraram que este fotocatalizador promoveu uma remoção de 100% daquela toxina após 40 minutos, não sendo mais detectada para todas as faixas de concentrações estudadas.

Shephard et al. (1998) avaliaram a remoção de MCYST-LR, -YR e -YA de águas contaminadas utilizando TiO₂/UV em um reator do tipo "falling film" em escala laboratorial. Em seus estudos preliminares usando água destilada contaminada artificialmente com extrato de algas, indicaram que as MCYSTs foram rapidamente decompostas no reator e que a taxa de reação foi fortemente dependente da dose de fotocatalizador e da qualidade da água usada.

A aplicabilidade de degradação fotocatalítica heterogênea para uma baixa concentração de MCYST-LR em uma água contendo uma matriz orgânica natural foi avaliada por Feitz et al. (1999) examinando-se o dióxido de titânio como fotocatalizador. Estes pesquisadores observaram que a taxa inicial de degradação daquela toxina é fortemente dependente do pH e que esta rápida degradação ocorreu numa faixa de pH ácido na presença de luz com um máximo de degradação a um pH de 3,5; enquanto que numa faixa de pH mais alta, uma distinta retardação é observada antes do começo da degradação da toxina.

Ainda neste mesmo ano, Lawton et al. (1999) estudaram a destruição da MCYST-LR em solução aquosa utilizando fotocatálise de TiO₂. A destruição desta toxina foi monitorada por HPLC e o desaparecimento da toxina foi acompanhado pelo aparecimento de sete compostos detectáveis no UV. A análise do espectro revelou que alguns destes compostos retinham o espectro similar do composto de partida, sugerindo que o fragmento de adda, achado ser responsável pelas características do espetro nas MCYSTs, permaneceu intacto enquanto o espectro dos outros produtos alterou radicalmente. Seis dos setes produtos de reação observados não apresentaram continuar mais degradação durante prolongada fotocatálise (100 min). A redução na toxicidade da MCYST-LR devido a oxidação fotocatalítica foi avaliada por bioensaio, o qual demonstrou que o desaparecimento da MCYST-LR foi acompanhada da redução na toxicidade.

Recentemente, Liu et al. (2005) estudaram a degradação fotocatalítica da cianotoxina nodularina, também utilizando as propriedades fotocatalíticas do TiO_2 em pó. A degradação desta toxina foi avaliada quanto a sua inibição à proteína fosfatase. Assim, os resultados obtidos por estes autores mostraram que após 100 minutos de contato entre a toxina e fotocatalizador promoveu uma total degradação da toxina estudada não apresentando toxicidade. A mistura reacional contendo subprodutos de degradação foi caracterizada pelos autores por meio de espectrometria de massas, não apresentando nenhuma atividade detectável de inibição contra proteína fosfatase.

Na prática o dióxido de titânio em pó possui algumas características que podem inviabilizá-lo quanto a sua aplicação no tratamento de água. Uma destas características é a dificuldade de separar este pó da água depois de seu uso e a outra é que eficiência do mesmo é reduzida devido ao espalhamento da luz. Assim, de maneira a otimizar o uso deste fotocatalizador fazendo uma aplicação ambiental deste o mais prático possível, alguns pesquisadores vêm buscando a imobilização do mesmo em materiais apropriados para esta finalidade. Um destes materiais é carvão ativado granulado, que pode ser um substrato bem sucedido para aquela finalidade devido a sua habilidade de adsorção de MCYSTs e a sua fácil separação da água. Assim, pela combinação dos poros obtidos da destruição fotocatalítica do TiO₂ e da adsorção, é esperado uma eficiência bem sucedida do dióxido de titânio imobilizado em carvão ativado granulado para a remoção de MCYSTs a partir de água.

Foi partindo deste principio que Lee et al. (2004b) avaliaram a capacidade do dióxido de titânio e deste fotocatalizador impregnado na superfície de um carvão ativado granulado (CAG) na remoção de 200 mg/L de MCYST-LR em água. Os seus resultados mostraram que após 30 minutos o CAG promoveu uma remoção de 50% da concentração inicial daquela toxina, enquanto que o tratamento com CAG impregnado com TiO₂ na presença de luz UV promoveu rápida remoção da MCYST-LR em 20 minutos (100%). Observaram também que tratando a toxina somente com TiO₂, este promoveu a remoção de apenas 7,6% desta toxina após 60 minutos de tratamento.

Neste mesmo ano em mais um dos seus trabalhos, Lee et al. (2004a) avaliaram um reator de leito fluidizado de carvão ativado impregnado com TiO₂ na remoção de MCYST-LR. O reator foi preenchido com CAG/TiO₂ e água contendo 50 mg/L de MCYST-LR. A concentração desta toxina na saída do reator foi continuamente monitorada. Os resultados obtidos por estes pesquisadores mostraram que as concentrações de MCYST-LR na saída do reator após 30 minutos de operação com CAG foram de 12,8, 15,8 e 20,2 mg/L para vazões de 155, 184 e 199 cm³/s, respectivamente, promovendo uma remoção de 60 a 75% da MCYST-LR da solução de alimentação. Esta concentração de toxina na saída do reator aumentou gradualmente, alcançando perto de 37 mg/L após 540 minutos de operação, o que representa mais de 95% de remoção de MCYST-LR da solução de alimentação pelo reator.

2.3. Degradação bacteriana de MCYST

Jones e Orr (1994) estudaram a liberação e degradação de MCYST seguinte ao tratamento por algicida de uma floração de Microcystis aeruginosa em um lago recreacional, concluindo que uma vez que as MCYSTs são liberadas para corpo d'água, estas podem persistir por semanas antes que possam ser degradadas, a exemplo, por bactérias do gênero Sphingomonas (JONES et al., 1994). Ishii e Abe (2000) por sua vez, observaram que diferentes variantes de MICYSTs demonstraram serem degradadas após incubação com água de um lago no Japão o qual encontra-se freqüentemente contaminado com cianobactérias. Seus resultados mostraram que a degradação mais eficiente foi observada depois da adição de sedimentos do leito ou lama daquele lago, ao contrário da incubação daquelas variantes de MCYSTs com água fervida, as quais não foi observada degradação. Christoffersen, Lyck e Winding (2002) também mencionaram que bactérias podem eficientemente degradar MCYSTs em águas naturais com prévia história de cianobactérias e que o processo de degradação pode ocorrer rapidamente e sem fase Lag. Em um outro estudo com MCYST-LR incubada com amostras de água de 14 diferentes corpos d'água; Welker, Steinberg e Jones (2001) observaram que a degradação procedeu rapidamente depois da fase Lag e foi completada em poucos dias. Percebeu-se que uma fase lag foi clara em todos os casos, isto, contudo, variou em duração de uns poucos dias a várias semanas, dependendo da água do corpo d'água em questão. Mais investigações levaram estes autores a hipótese de que compostos orgânicos induziam o crescimento de bactérias, as quais são abeis a degradar as MCYSTs, independente da presença ou não desta toxina. Assim, eles concluíram que as bactérias degradadoras de MCYSTs são comuns na superfície da água independente da forma de contaminação deste corpo d'água com cianobactéria ou MCYSTs.

Alguns anos antes destes últimos trabalhos, Lahti (1997) isolaram dezessete tipos de bactérias gram negativas com habilidade de degradar MCYST, mostrando que a *Sphingomonas spp*. não era o único gênero de bactéria capaz de degradar aquelas toxinas. No entanto, uma ligação com este último trabalho foi estabelecida por Bourne et al. (1996), aonde estes mostraram que pelo menos três enzimas hidrolíticas intracelulares estariam envolvidas na degradação de MCYST-LR pelas *Sphingomonas spp*.: a microcistinase metaloprotease (MIrA) catalisa a abertura do anel na ligação peptídica ADDA-arginina, a peptidase putativa de serina MIrB corta o peptídeo linear, tal que um tetrapeptídeo é gerado e uma putativa metalopeptidase MIrA rompe o tetrapeptídeo em peptídeos menores ou aminoácidos (BOURNE et al., 2001). Alguns anos antes da descoberta destes últimos pesquisadores, Takenaka e Watanabe (1997) já tinham mostrado que a protease alcalina das *Pseudomonas aeruginosa* era um outro exemplo de como as bactérias podiam quebrar as ligações peptídicas das MCYST.

Saitou et al. (2003) também encontraram bactérias degradadoras de MCYSTs com 98,5% de homologia a *Sphingomona stygia* na base 16s de rRNA. Estas bactérias foram hábeis a degradar MCYST-LR, MCYST-YR e MCYST-RR e segundo os autores certamente usam MCYSTs como suas únicas fontes de carbono.

Mais bactérias degradadoras de MCYSTs têm sido isoladas, especialmente de lagos Japoneses (PARK et al., 2001; ISHII; NISHIJIMA; ABE, 2004). O interessante, é que todas estas cepas de bactérias foram identificadas como sendo *Sphingomonas ssp.*, contudo, nem todas as cepas do gênero *Sphingomonas* são abeis degradadoras de MCYSTs.

Imanishi et al. (2005) isolaram do Lago Tsukui no Japão em 1997, uma cepa de uma bactéria degradante de MCYST, os quais a chamaram de B-9. Segundo os autores, a atividade degradante desta cepa estava no seu extrato celular e que o mesmo quando em contato com a MCYST levou a formação de três subprodutos, os quais foram isolados por seqüências de cromatografia e identificados usando vários dados espectrais incluindo ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas (HARADA et al., 2004). Embora o resíduo de ADDA seja essencial pela toxicidade aguda e atividade inibitória da proteína fosfatase por parte das MCYSTs e nodularinas, foi observado que o ADDA isolado por esses autores após o processo de degradação não apresentou toxicidade. Dos três produtos intermediários de degradação, dois não foram completamente confirmados. Esta mesma cepa de bactéria foi utilizada para estudos de degradação de nodularinas, obtendo-se bons resultados.

Recentemente, Bourne et al. (2006) investigaram a degradação de MCYST-LR utilizando filtros lentos de areia biologicamente ativos com uma bactéria (MJ-PV). Os seus resultados observados, a MCYST-LR foi degradada em mais de 80% em dois dias, partindo-se de um extrato celular de algas da ordem de 1×10^6 células/mL.

3. Conclusões

Os métodos de tratamento de água aqui revisados, os quais podem ser utilizados na remoção de cianobactérias e suas toxinas, têm suas limitações quanto às facilidades de aplicação e eficiência, principalmente. Apesar da discussão de vários métodos destrutivos de toxinas de cianobactérias por tratamentos oxidativos, considerando que os mesmos apresentam muitas vantagens, pois promovem de 95 a 100% de remoção daqueles compostos tóxicos presentes na água, deve-se considerar a grande limitação dos mesmos já que não existem muitos estudos com relação a toxicidade dos subprodutos de reação formados, quais os seus efeitos crônicos e agudos sobre o ser humano.

A cloração como método degradativo de remoção de toxinas de cianobactérias é um bom exemplo destas limitações. Apesar de ser uma técnica bem estabelecida, o tempo de contato e taxas de dosagem de cloro relativamente altas são exigidas para garantir a sua eficiência, o que pode deixá-la de fora dos protocolos geralmente adotados para tais fins. Essas limitações não descartariam sua aplicação; contudo, o seu uso precisaria ser cuidadosamente monitorado devido a formação de subprodutos tóxicos, como trialometanos que são substâncias cancerígenas.

Em relação a ozonização, além da sua limitação quanto a poucos estudos de caracterização e toxicidade dos subprodutos formados na sua aplicação para remoção de toxinas de cianobactérias, os custos associados a este método para tal aplicação também

devem ser considerados, pois como a contaminação de água por microcistinas é tipicamente sazonais e imprevisíveis, este pode se tornar inviável do ponto de vista prático.

Dos métodos oxidativos discutidos, aqueles utilizando processos fotocatalíticos são bastante promissores, pois degradam rapidamente as toxinas de cianobactérias levando a uma mineralização do material orgânico sem a formação de subprodutos tóxicos.

Métodos físicos não destrutivos de toxinas de cianobactérias também foram relevantes nesta revisão, pois além de apresentarem boa eficiência de remoção destes compostos de água para consumo, os mesmos vêm sendo bastante utilizados em muitas das estações de tratamento de água, inclusive aquelas encontradas em centros de hemodiálise, tais como filtros de carvão ativado granulado e filtração por osmose reversa. Em ambos os métodos percebem-se uma grande inquietação por parte daqueles que os utilizam, haja vista que não existem órgãos públicos que fiscalizem o uso e a qualidade dos mesmos. Um bom exemplo é a baixa qualidade dos carvões ativados utilizados em estações de tratamento de água, visto que na sua totalidade ainda são obtidos a partir de seu número de iodo e área da superfície específica, parâmetros ultrapassados que medem a efetividade destes adsorventes.

Na prática, a falta de um controle e de uma vigilância no uso destes métodos permitiu que mais de 50 pacientes de um centro de hemodiálise em Pernambuco, Brasil, morressem em decorrência de uma grave hepatotoxicose causada por microcistinas encontradas na água e no sistema de tratamento desta, composta de filtros de carvão e osmose reversa, daquele centro de hemodiálise.

Na literatura revisada, percebe-se a maioria dos trabalhos voltados para a remoção de toxinas de cianobactérias de água de abastecimento, utilizam a MCYST-LR em suas investigações. Contudo, sabe-se que já foram catalogadas mais de 60 variantes destas toxinas, tornando-se importante investigar a apropriabilidade de cada processo para as variantes representativas.

O gerenciamento e controle de algas, cianobactérias e cianotoxinas nos sistemas de abastecimento de água envolvem ações de caráter preventivo e de caráter corretivo, que devem ser desenvolvidas segundo níveis hierárquicos. As ações de prevenção do processo de eutrofização no manancial de abastecimento devem ser prioritárias e baseia-se no manejo dos fatores que controlam o crescimento das algas e cianobactérias, particularmente do aporte de nutrientes.

4. Referências

ACERO, J. L.; RODRIGUEZ, E.; MERILUOTO, J. Kinetics of reactions between chlorine and the cyanobacterial toxins microcystins. **Water Research**, v.39, p. 1628–1638, 2005.

ANDREWS, S.; HUCK, P. Using fractionated natural organic matter to quantitate organic by-products of ozonation. **Ozone Sci. Eng.**, v.16, p.1-12, 1994.

AKCAALAN, R.; YOUNG, F. M.; METCALF, J. S.; MORRISON, L. F.; ALBAY, M.; CODD, G. A. Microcystin analysis in single filaments of *Planktothrix spp.* in laboratory cultures and environmental blooms. **Water research**, v.40, n.8, p.1583-1590, MAY 2006.

ANDERSON, D. M. Turning back the harmful red tide. Nature, v.388, p.513-514, 1997.

AVNIMELECH, Y.; TROEGER, B. W.; REED, L. W. Mutual flocculation of algae and clay: evidence and implications. Science, v.216, p.63-65, 1982.

AZEVEDO, S. M. F. O. Toxinas de Cianobactérias: Causas e conseqüências para a Saúde Pública. **Medicina on line - Revista Virtual de Medicina.** v. 1, n. 3 - Ano I, Julho/Agosto/Setembro, 1998. Disponível em: http://www.medonline.com.br. Acesso em: 5 mai. 2005.

BERNAZEAU, F. Can microcystin enter drinking water distribution systems In: Toxic cyanobacteria, current Status of research and Management. Proceedings of International Workshop, Adelaide, Australia, p. 115-118, 1994.

BENHARDT, H.; CLASEN, J. Flocculation of microorganisms. Journal Water SRT-Aqua, v.40, n.2, p.76-86, 1991.

BOURNE, D. G.; BLAKELEY, R. L.; RIDDLES, P.; JONES, G. J. Biodegradation of the cyanobacterial toxin microcystin LR in natural water and biologically active slow sand filters. Water research, v.40, p.1294–1302, 2006.

BOUVY, M.; MOLICA, R. J. R.; OLIVEIRA, S.; MARINHO, M.; BEKER, B. Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom *Cylindrospermopsis raciborskii* in a shallow reservoir in the semi-arid region on northeast Brazil. Aqua. Micro. Ecol., v.20, p.285-297, 1999.

BRANCO, C. W. C.; SENNA, P. A. Factors influencing the development of Cylindrospermopsis raciborskii and Microcystis aeruginosa in the Paranoá Reservoir, Brasília, Brazil. Algological Studies, v.75, p.85-96, 1994.

BRANDÃO, C. C. S.; WIECHETECK, G. K.; MELLO, O. M. T.; DI BERNARDO, L., GALVIS, G.; VERAS, L. R. V. Remoção de algas por filtração em múltiplas etapas. In: Anais do VIII Simpósio Luso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental; 1998; João Pessoa, Brasil.

BRANDÃO, C.C. S.; MELLO, O. M. T.; WIECHETECK, G. K.; SOUZA JUNIOR, W. A.; NASCIMENTO, C. T. C.; DI BERNARDO, L. Pré-filtração em pedregulho aplicada ao tratamento de águas com elevados teores de algas - Influência da granulometria e da taxa de filtração. In: Anais do 20° Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental; 1999.

BOURNE, D. G.; JONES, G. J.; BLAKELEY, R. L.; JONES, A.; NEGRI, A. P.; RIDDLES, P. Enzymatic pathway for the bacterial degradation of the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR. Appl. Environ. Microbiol., v.62, n. 11, p.4086–4094, 1996.

BOURNE, D. G.; RIDDLES, P.; JONES, G. J.; SMITH, W.; BLAKELEY, R. L. Characterization of a gene cluster involved in bacterial degradation of the cyanobacterial toxin microcystin LR. Environ. Toxicol., v.16, n.6, p.523–534, 2001.

BOSE, P.; BOIIJAYANTA, B.; RECKHOW, D. Effect of ozonezation on some chemical and physical properties of aquatic natural organic matter. **Ozone Sci. Eng.**, v.16, p89-112, 1994.

BRUCHET, A.; BERNAZEAU, F.; BAUDIN, I.; PIERONNE, P. Algal toxins in surface waters: analysis and treatment. Water Supply, v.16, n.1/2, 619-623, 1998.

CAMPINAS, M.; ROSA, M. J. The ionic strength effect on microcystin and natural organic matter surrogate adsorption onto PAC. Journal of Colloid and Interface Science, v.299, p.520–529, 2006.

CARLILE, P. Further studies to investigate microcystin-LR and anatoxin-a removal from water. Report no. FR 0458. Buckinghamshire, Marlow, UK: Foundation for Water Research, 1994.

CARMICHAEL, W. W. The toxins of cyanobacteria. Scientific American, v.270, n.1, p.64-72, 1994.

CARMICHAEL, W. W.; AZEVEDO, S. M. F. O.; AN, J. S.; MOLICA, R. J. R.; JOCHIMSEN, E. M.; LAU, S.; RINEHART, K.L.; SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G. K. Human fatalities from cyanobacteria: Chemical and biological evidence for cyanotoxins. **Environmental health perspectives**, v.109, n.7, p.663-668, JUL 2001.

CARLSON, M. The effect of organic carbon on ozone demand and decay. Proceedings of the Water Quality Technology Conference, American Water Works Association, Miami, FL, November 7-11, 1993.

CHEN, X.; XIAO, B.; LIU, J.; FANG, T.; XU, X. Kinetics of the oxidation of MC-RR by potassium permanganate. **Toxicon**, v.45, p.911–917, 2005.

BIBLIOTECA CENTRAL DESENVOLVIMENTO COLEÇÃO UNICAMP CLEASBY, J. L. (1991). Source Water Quality and Pretreatment Options for Slow Sand Filters. Chapter 3 in: Task Committe on Slow Sand Filtration. New York. USA.

CHRISTOFFERSEN, K. Ecological implications of cyanobacterial toxins in aquatic food webs. **Phycologia**, v.35, p.42-50, 1996.

CHRISTOFFERSEN, K.; LYCK, S.; WINDING, A. Microbial activity and bacterial community structure during degradation of microcystins. Aquatic Microbial Ecology, v.27, p.125-136, 2002.

CHOW, C. W. K.; DRIKAS, M.; HOUSE, J. BURCH, M. D.; VELZEBOUR, R. M. A. The impact of conventional water treatment process on cells of the cyanobacterium. **Water Research**. v.33, n.15, p.3253-3262, 1999.

CODD, G. A.; POON, G. K. (1988). Cyanobacterial toxins. In: Rogers, L. J. and Gallon, J.R. (Ed.) Biochemistry of the algae and cyanobacteria. Proceedings of the PhytochemistrySociety of Europe, Oxford University Press, Oxford. v.28, p.283 - 296.

CONTE, S. M; RABELO, I. M. M.; GIORDANI, A. T.; DEWES, W. Ocorrência de *Cylindrospermopsis raciborskii* nas bacias hidrográficas dos rios dos Sinos e Caí, RS-Brasil. In: Anais do XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental; 2000; Porto Alegre, Brasil.

COOK, D.; NEWCOMBE, G. Removal of microcystin variants with powdered activated carbon. IWA 3rd World Water Congress, Melbourne April 2002.

DONATI, C.; DRIKAS, M.; HAYES, R.; NEWCOMBE, G. Mycrocystin-LR adsorption by powdered activated carbon. Water Research, v.28, n.8, p.1735-1742, 1994.

DRIKAS, M. Control and removal of toxic cyanobacteria. In: Toxic cyanobacteria, current Status of research and Management. Proceedings of International Workshop, Adelaide, Australia, 1994.

DRIKAS, M.; CHOW, C. W. K.; HOUSE, J.; BURCH, M.D. Using coagulation, flocculation and settling to remove toxic cianobacteria. Journal American of Water Works Association. v.93, n.2, p.100-111, 2001.

EDZWALD, J. K. Algae, bubbles, coagulants and dissolved air flotation. Water Science and Technology, v.27, n.10, p.67-81, 1993.

EDZWALD, J. K.; WINGLER, B. J. Chemical and physical aspects of dissolved air flotation for the removal of algae. Journal Water SRT-Aqua, v.39, n.1, p.24-35, 1990.

FALCONER, I. R.; RUNNEGAR, M. T. C.; BUCKLEY, T.; HUYN, V. L.; BRADSHAW, P. Using activated carbon to remove toxicity from drinking water containing cyanobacteria blooms. Journal American of Water Works Association, v.81, p.102-105, 1989.

FAWELL, J. K.; HART, J.; JAMES, H. A.; PARR W. Blue-green algae and their toxins analysis, treatment and environmental control. **Water Supply**, v.11, n.3/4, p.109-115, 1993.

FALCONER, I. R.; BURCH, M. D.; STEFFENSEN, D. A.; CHOICE, M.; COVERDALE, O.R. Toxicity of the blue-green alga (Cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment. **Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal**, v.9, p.131-139, 1994.

FEITZ, A. J.; WAITE, D.; JONES, G. J.; BOYDEN, B.; ORR, P. Photocatalytic Degradation of the Blue Green Algal Toxin Microcystin-LR in a Natural Organic-Aqueous Matrix. Environ. Sci. Technol., v.33, p. 243-249, 1999.

GALAMBOS, I.; MOLINA, J. M.; JÁRAY, P.; VATAI, G.; BEKÁSSY-MOLNÁR, E. High organic content industrial wastewater treatment by membrane filtration. **Desalination**, v.162, p.117-120, 10 March 2004.

GALLARD, H.; VON GUNTEN, U.; KAISER, H. P. Prediction of the disinfection and oxidation efficiency of full-scale ozone reactors. J. Water SRT – Aqua, v.52, p.277-290, 2003.

GEHR, R.; SWARTZ, C.; OFFRINGA, O. Removal of trihalomethane precursors from eutrophic water by dissolved air flotation. **Water Research**, v.27, n.1, p.41-49, 1993.

GRÜTZMACHER, G.; BÖTTCHER, G. Ingrid Chorus, Hartmut Bartel. Removal of Microcystins by Slow Sand Filtration. Environ Toxicol., v.17, p.386–394, 2002.

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.

HAN, M. Y.; KIM, W. A theoretical consideration of algae removal with clays. Microchemical Journal, v.68, p.157-161, 2001.

HARADA, K.; MURATA, H.; QIANG, Z.; SUZUKI, M.; KONDO, F. Mass spectrometric screening method for microcystins in cyanobacteria. **Toxicon**, v.34, n.6, p.701-710, JUN 1996.

HARADA, K.-I.; IMANISHI, S.; KATO, H.; MIZUNO, M.; ITO, E.; TSUJI, K. Isolation of Adda from microcystin-LR by microbial degradation. **Toxicon**, v.44, p.107-109, 2004.

HUSZAR, V. L. M; SILVA, L. H. S.; MARINHO, M.; DOMINGOS, P.; SANT'ANNA, C. L. Cyanoprokaryote assemblages in eight productive tropical Brazilian waters. **Hydrobiologia**, v.424, p.67-77, 2000.

HART, J.; STOTT, P. Microcystin-LR Removal from Water. Report No. FR 0367. Buckinghamshire, Marlow, UK: Foundation for Water Research, 1993.

HART, J.; FAWELL, J. K.; CROLL, B. The fate of both intra- and extracellular toxins during drinking water treatment. **Water Supply**, v.16, n.1/2, p.611-616, 1998.

HIMBERG, K.; KEIJOLA, A. M.; HIISVIRTA, L.; PYYSALO, H.; SIVONEN, K. The effect of water treatment processes on the removal of hepatotoxins from *Microcystis* and *Oscillatoria* cyanobacteria: A laboratory study. **Water Research**, v.23, n.8, p.979-984, 1989.

HO, L.; ONSTAD, G.; GUNTEN, U.V.; RINCK-PFEIFFER, S.; CRAIG, K., NEWCOMBE, G. Differences in the chlorine reactivity of four microcystin analogues. Water research, v.40, p.1200–1209, 2006

HOEGER, S. J., DIETRICH, D. R; HITZFELD, B. C. Effect of Ozonation on the Removal of Cyanobacterial Toxins during Drinking Water Treatment. Environ Health Perspect., v.110, p.1127–1132, 2002.

HORMAN, A.; RIMHANEN-FINNE, R.; MAUNULA, L.; VON BONSDORFF, C. H.; RAPALA, J.; LAHTI, K.; HANNINEN, M. L. Evaluation of the purification capacity of nine portable, small-scale water purification devices. *Water science and technology:* **A journal of the International Association on Water Pollution Research**, v.50, n.1, p.179-83, 2004.

HOFFMAN, J. R. Removal of Microcystins toxins in water purification process. Water SA, v.2, n.2, p.58-60, 1976.

HOFFMANN, M. R.; MARTIN, S. T.; CHOI, W; BAHNEMANN, D. W. Environmental applications of semiconductor photocatalysis. **Chem. Rev.**, v.95, p.69–96, 1995.

HRUDEY, S.; BURCH, M.; DRIKAS, M.; GREGORY, R. Remedial measures. In: Toxic cyanobacteria in Water – a guide to their public health consequences, monitoring and management. London, E & FN Spon, 1999, p. 275-312.

HYDE, R. A.; MILLER, D. G.; PACKHAM, R. F.; RICHARDS, W. N. Water clarification by flotation. Journal of the American Water Works Association, v.69, n.7, p.369-374, 1977.

IMANISHI, S.; KATO, H.; MIZUNO, M.; TSUJI, K.; HARADA, K.-I. Bacterial Degradation of Microcystins and Nodularin. Chem. Res. Toxicol., v.18, p.591-598, 2005.

ISHII, H.; NISHIJIMA, M.; ABE, T. Characterization of degradation process of cyanobacterial hepatotoxins by a gramnegative aerobic bacterium. Water Res., v.38, p.2667-2676, 2004.

ISHII, H.; ABE, T. Release and biodegradation of microcystins in blue-green algae, Microcystis PCC7820. Bull School Mar Sci Technol Tokai Univ., v.49, p.143-157, 2000.

JAEGER, C. D.; BARD, A. J. Spin trapping and electron spin resonance detection of radical intermediates in the photodecomposition of water at titanium dioxide particulate systems. J. Phys. Chem., v.83, n.24, p.3146-3152, 1979.

JANSSENS, J. G; BUEKENS A. Assessment of process selection for particle removal in surface water treatment. Journal Water SRT – Aqua, v.42, n.5, p.279-88, 1993.

JONES, G. J.; ORR, P. T. Release and degradation of microcystin following algicide treatment of a Microcystis aeruginosa bloom in a recreational lake, as determined by HPLC and protein phosphatase inhibition assay. **Water Research**, V.28, n.4, p.871–876, 1994.

JONES, G. J.; BOURNE, D. G.; BLAKELEY, R. L.; DOELLE, H. Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by aquatic bacteria. **Nat. Toxins**, v.2, n.4, p.228–235, 1994.

KEIJOLA, A. M.; HIMBERG, K.; ESALA, A. L.; SIVONEN, K., HIISVIRTA, L. Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: Laboratory and pilot scale experiments. **Toxicity Assessment International Journal**, v. 3, p.643-656, 1988.

KEMP, A.; JOHN, J. Microcystins associated with *Microcystis* dominated blooms in the southwest wetlands, Western Australia. **Environmental toxicology**, v.21, n.2, p.125-130, APR 2006.

KOMÁRKOVÁ, J.; LAUDARES-SILVA, R.; SENNA, P. A. C. Extreme morphology of Cylindrospermopsis raciborskii (Nostocales, Cyanobacteria) in the Lagoa do Peri, a freshwater coastal lagoon, Santa Catarina, Brazil. Algological Studies, v.94, p.207-222, 1999.

KULL, T. P. J.; SJÖVALL, O.; TAMMENKOSKI, M. K.; BACKLUND, P. H.; MERILUOTO, J. A. O. Oxidation of the Cyanobacterial Hepatotoxin Microcystin-LR by Chlorine Dioxide: Influence of Natural Organic Matter. Environ. Sci. Technol., v.40, p.1504-1510, 2006.

LAGE FILHO, F. A., FERREIRA FILHO, S. S. Estudo piloto de tratabilidade de águas eutrofizadas: efeitos da pré-oxidação com cloro livre no processo de filtração. In: Anais do 19° Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental; 1997.

LAHTI, K. Cyanobacterial hepatotoxins and drinking water supplies—aspects of monitoring and potential health risks. **Monogr. Boreal Environ. Res.**, v.4, p.40, 1997.

LAMBERT, T.W.; HOLMES, F.B.; HRUDEY, S.E. Adsorption of microcystin-LR by activated carbon in full scale water treatment. **Water reasearch**, v.30, p.1411-1422, 1996.

LAWTON, L. A.; CORNISH, B. J. P. A.; MACDONALD, A. W. R. Removal of cyanobacteria toxins (microcystins) and cyanobacteria cells from drinking water using domestic water filters. **Water research.**, v.32, p.633-638, 1998.

LAWTON, L. A; ROBERTSON, P. K. J; CORNISH, B. J. P. A; JASPARS, M. Detoxification of Microcystins (Cyanobacterial Hepatotoxins) Using TiO₂ Photocatalytic Oxidation. Environ. Sci. Technol., v.33, p.771-775, 1999.

LAWTON, L. A.; ROBERTSON, P. K. J.; ROBERTSON, F. R.; BRUCE, F. G. The destruction of 2-methylisoborneol and geosmin using titanium dioxide photocatalysis. Applied Catalysis B: Environmental, v.44, p.9–13, 2003a.

LAWTON, L. A.; ROBERTSON, P. K. J.; CORNISH, B. J. P. A.; MARR, I. L.; JASPARS, M. Processes influencing surface interaction and photocatalytic destruction of microcystins on titanium dioxide photocatalysts. Journal of Catalysis, v.13, p.109–113, 2003b.

LEE, D.-K.; KIM, S.-C.; CHO, I.-C.; KIM, S.-J.; KIM, S-W. Photocatalytic oxidation of microcystin-LR in a fluidized bed reactor having TiO₂-coated activated carbon. **Separation** and **Purification Technology**, v.34, p.59–66, 2004a.

LEE, D.-K., KIM, S.-C.; KIM, S.-J.; CHUNG, I.-S.; KIM, S. W. Photocatalytic oxidation of microcystin-LR with TiO₂-coated activated carbon. **Chemical Engineering Journal**, v.102, p.93–98, 2004b.

LI, Y.; LI, X.; LI, J.; YIN, J. Photocatalytic degradation of methyl orange by TiO₂-coated activated carbon and kinetic study. **Water research**, v.40, p.1119–1126, 2006a.

LI, L.; ZHU, W.; ZHANG, P.; ZHANG, Q.; ZHANG, Z. TiO₂/UV/O₃-BAC processes for removing refractory and hazardous pollutants in raw water. Journal of Hazardous Materials, v.B128, p.145–149, 2006b.

LIU, I.; LAWTON, L. A.; BAHNEMANN, D. W.; ROBERTSON, P. K. J. The photocatalytic destruction of the cyanotoxin, nodularin using TiO₂. Applied Catalysis B: Environmental, v.60, p.245–252, 2005.

MATTHEWS, R. W. Hydroxylation reactions induced by near-ultraviolet photolysis of aqueous titanium dioxide suspensions. J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1, v.80, n.2, p. 457-471, 1984.

MILLER, M. J.; CRICHNEY, M. M., HUTSON, J.; FALLOWFIELD, H. J. The adsorption of cyanoibacterial hepatoxins from water onto soil. **Water research**, v.35, n.6, p.1461-1468, 2001.

MOUCHET, P.; BONNELYE, V. Solving algae problems: French expertise and worldwide applications. Journal Water SRT – Aqua, v.47, n.3, p.125-141, 1998.

MORRIS, R. J.; WILLIAMS, D. E.; LUU, H. A, HOLMES, C. F. B.; ANDRESEN, R. J.; CALVERT, S. E. The adorption of microcystin LR by natural clay particles. **Toxicon**, v.38, p.303-308, 2000.

NAGAVI, B.; MALONE, R. F. Algae removal by fine sand/silt filtration. Water Res., v.20, n.3, p.377-383, 1986.

NICHOLSON, B.; ROSITANO, J.; BURCH, M. Destruction of cyanobacterial peptide hepatotoxins by chlorine and chloramine. Water Res., v.28, p.1297-1303, 1994.

NEUMANN, U.; WECKESSER, J. Elimination of Microcystin Peptide Toxins from Water by Reverse Osmosis. Environ Toxicol Water Qual., v.13, p.143-148, 1998.

NEWCOMBE, G. Removal of Algal Toxins from Drinking Water Using Ozone and GAC. Denver, CO: American Water Works Association Ed. 2002, 136p.

OLLIS, D. F.; PELIZZETTI, E.; SERPONE, N. In Photocatalysis: Fundamentals and Applications; Serpone, N., Pelizzetti, E., Eds.; John Wiley & Sons: New York, 1989; p 603-637.

PAN, G.; ZHANG, M.-M.; CHEN, H.; ZOU, H.; YAN, H. Removal of cyanobacterial blooms in Taihu Lake using local soils. I. Equilibrium and kinetic screening on the flocculation of Microcystis aeruginosa using commercially available clays and minerals. **Environmental Pollution**, v.141, n.2, p.195-200, May 2006.

PARK, H. D., SASAKI, Y., MARUYAMA, T., YANAGISAWA, E., HIRAISHI, A., KATO, K. Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by a new bacterium isolated from a hypertrophic lake. **Environ. Toxicol.**, v.16, p.337-343, 2001.

PENDLETON, P.; SCHUMANN, R.; WONG, S. H. Microcystin LR adsorption by activated carbon. Journal of Colloid and Interface Science, v.240, p.1-8, 2001.

PETRUSEVSKI, N. A.; VAN BREEMEN, N. A.; ALAERTS, G. J. Effect of permanganate pre-treatment and coagulation with dual coagulants on algal removal in direct filtration. **Journal Water SRT – Aqua**, v.45, n.5, p.316-326 1996.

PHOOCHINDA, W.; WHITE, D. A. Removal of algae using froth flotation. Environ Technol., v.24, n.1, p.87-96, JAN 2003.

QIAO, R. P.; LI, N.; QI, X. H.; WANG, QI-S.; ZHUANG, Y.-Y. Degradation of microcystin-RR by UV radiation in the presence of hydrogen peroxide. **Toxicon**, v.45, p.745–752, 2005.

RAGAINI, V.; PIROLA, C.; ELLI, A. Separation of some light monocarboxylic acids from water in binary solutions in a reverse osmosis pilot plant. **Desalination**, v.171, n.1, p.21-32, 2005.

REISSMANN, F. G.; SCHULZE, E.; VOLKER, A. Application of a combined UF/RO system for the reuse of filter backwash water from treated swimming pool water. **Desalination**, v.178, n.1-3, p.41-49, 2005.

ROBERTSON, P. K. J.; LAWTON, L. A.; MUNCH, B.; ROUZADE, J. Destruction of cyanobacterial toxins by semiconductor photocatalysis. **Chem. Commun.**, v.4, p.393-394, 1997.

ROSITANO, J. (1996) The destruction of cyanobacterial peptide toxins by oxidants used in water treatment. Urban Water Research Association of Australia, Research Report No. 110, Melbourne, Vic.

ROSITANO, J.; NICHOLSON, B.; PIERONNE, P. Destruction of cyanobacterial toxins by ozone. **Ozone Sci Eng.**, v.20, p.223–238, 1998.

ROSITANO, J.; NEWCOMBE, G.; NICHOLSON, B.; SZTAJNBOK, P. Ozonation of nom and algal toxins in four treated waters. **Water Res.**, v.35, n.1, p.23-32, 2001.

SAITOU, T.; SUGIURA, N.; ITAYAMA, T.; INAMORI, Y.; MATSUMURA, M. Degradation characteristics of microcystins by isolated bacteria from Lake Kasumigaura. J. Water SRT – Aqua, v.52, p.13-18, 2003.

SAMPLE, I. Clay spray could spell death for algal blooms. New Scientist., v.165, p.16, 2000.

SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P. Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria from Brazil. Nova Hedwigia, v.71, n.3-4, p.359-85, 2000.

SIRTORI, C.; ALTVATER, P. K.; FREITAS, A. M.; PERALTA-ZAMORA, P. G. Degradation of aqueous solutions of camphor by heterogeneous photocatalysis. Journal of Hazardous Materials, v.B129, p.110–115, 2006.

SIVONEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial toxins. In: Toxic cyanobacteria in Water – a guide to their public health consequences, monitoring and management. London, E & FN Spon, 1999, p. 43-44.

SENOGLES, P.; SHAWA, G.; SMITHB, M.; NORRISA, R.; CHISWELLA, R.; MUELLERA, J.; SADLERB, R.; EAGLESHAMB, G. Degradation of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin, from Cylindrospermopsis raciborskii, by chlorination. **Toxicon**, v.38, p.1203-1213, 2000.

SENGCO, M. R.; ANDERSON, D. M. Controlling harmful algal blooms through clay flocculation. Journal of Eukaryotic Microbiology, v.51, p.169-172, 2004.

SHEPHARD, G. S.; STOCKENSTRÖM, S.; DE VILLIERS, D.; ENGELBRECHT, W. J.; SYDENHAM, W.; WESSELS, G. F. S. Photocatalytic degradation of cyanobacterial microcystin toxins in water. **Toxicon**, v. 36, n.12, p.1895-1901, 1998.

SHI, H. X.; QU, J. H.; WANG, A. M.; LI, G. T.; LEI, P. J.; LIU, H. J. Primary investigation of blue-green algae and their toxins from water blooms in Guanting Reservoir of Beijing. **Chemical journal of chinese universities-chinese**, v.26, n.9, p.1653-1655, SEP 10 2005.

SUKSAROJ, C.; HERAN, M.; ALLEGRE, C.; PERSIN, F. Treatment of textile plant effluent by nanofiltration and/or reverse osmosis for water reuse. **Desalination**, v.178, n.1-3, p.333-341, 2005.

TAKENAKA, S.; WATANABE, M. F. Microcystin LR degradation by *Pseudomonas* aeruginosa alkaline protease. Chemosphere, v.34, p.749–757, 1997.

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. Sanit. Panam.**, v.114, n.6, p.502-511, 1993.

TEIXEIRA, M. R.; ROSA, M. J. Microcystins removal by nanofiltration membranes. Separation and Purification Technology, v.46, p.192–201, 2005.

TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. M. (1992). Eutrofication of lakes and reservoirs: a comparative analysis, case studies, perspectives. In: Algae and Environment - a general approach, eds.: Cordeiro-Marino, M. et al., pp. 1-33, Sociedade Brasileira de Ficologia.

TSUJI, K.; WATANUKI, T.; KONDO, F.; WATANABE, M. F.; SUZUKI, S.; NAKAZAWA, H.; SUZUKI, M.; UCHIDA, H.; HARADA, K-I. Stability of microcystins from cyanobacteria—II. Effect of UV light on decomposition and isomerization. **Toxicon**, v.33, p.1619-1631, 1995.

TSUJI, K.; WATANUKI, T.; KONDO, F.; WATANABE, M. F.; NAKAZAWA, H.; SUZUKI, M.; UCHIDA, H.; HARADA, K.I. Stability of microcystins from cyanobacteria .4. Effect of chlorination on decomposition. **Toxicon**, v.35, n.7, p.1033-1041, JUL 1997.

VAN HALDEREN, A.; HARDING, W. R.; WESSELS, J. C.; SCHNEIDER D. J.; HEINE, E. W.; VAN DER MERWE, J.; FOURIE, J. M. Cyanobacterial (blue-green algae) poisoning of livestock in the western Cape Province of South Africa. Journal of the South African Veterinary Association, v.66, n.4, p.260-264, 1995.

VASCONCELOS, V. M. Cyanobacterial toxins in Portugal: effects on aquatic animals and risk for human health. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.32, n.3, p.249-254, 1999.

VUORI, E.; PELANDER, A.; HIMBERG, K.; WARIS, M.; NIINIVAARA, K. Removal of nodularin from brackish water with reverse osmosis or vacuum distillation. **Water Res.**, v.31, n. 11, p.2922-2924, 1997.

WARHURST, A. M.; MCCONNACHIE, G. L.; POLLARD, S. J. T. Characterization and applications of activated carbon produced from *Moringa oleifera* seed husks by single-step steam pyrolysis. **Water Res.**, v.31, p.759-766, 1997.

WELKER, M.; STEINBERG, C.; JONES, G. Release and persistence of microcystins in natural waters. In: Chorus I (ed). Springer-Verlag, Berlin. Cyanotoxins – occurrence, causes, consequences. pp 83–101.

YOO, R. S.; CARMICHAEL, W. W.; HOEHN, R. C.; HRUDEY, S. E. Cyanobacterial (Blue-Green Algal) toxins: A resource guide. AWWA Research Foundation and American Water Works Association; 1995.

YU, Z. M.; ZOU, J. Z.; MA, X. N. Application of clay to removal of red tide organism. I. Coagulation of red tide organism with clays. Chinese Journal of Oceanology & Limnology, v.12, p.193-200, 1994a.

YU, Z. M.; ZOU, J. Z.; MA, X. N. Application of clay to removal of red tide organism. II. Coagulation of different species of red tide organism with montmorillonite and effect of clay pretreatment. **Chinese Journal of Oceanology & Limnology**, v.12, p.316-324, 1994b.

YU, Z. M.; ZOU, J. Z.; MA, X. N. Application of clay to removal of red tide organism. III. The coagulation of kaolin on red tide organism. **Chinese Journal of Oceanology &** Limnology, v.13, p.62-70, 1995.

CAPÍTULO III

A apresentação deste capítulo corresponde ao artigo submetido:

Albuquerque Junior, E.C; Mendez, M.O.; Capobianco, G.; Coutinho, A.R.; Franco, T.T. Preparation and characterization of activated carbons from brazilian agricultural biomass wastes by one-step pyrolysis/activation. *Biomass and bioenergy*, 2007.

Este capítulo corresponde a produção e caracterização de carvões ativados obtidos do mesocarpo do coco verde, endocarpo do coco seco, bagaço de cana-de-açúcar e casca da noz macadâmia, típicos resíduos agrícolas brasileiros, além de um resíduo da indústria de papel e polpa, resíduo de madeira de pinus. Estas matérias-primas foram pirolisadas e ativadas com vapor d'água em um único estágio a temperaturas acima dos 800°C. Os carvões ativados obtidos destes processos foram caracterizados quanto a sua capacidade de adsorção a N₂ gasoso, a partir da qual se pôde estimar a área da superfície específica (S_{BET}), bem como sua porosidade, levantando assim a distribuição de microporos primários e secundários, além de mesoporos. A Capacidade de adsorção em fase líquida a partir de soluções de iodo e azul de metileno foi utilizada para fornecer um indicativo da microporosidade e mesoporosidade dos carvões ativados.

Os carvões ativados obtidos apresentaram áreas da superficie específica (S_{BET}) acima de $1000m^2/g$ e volume de mesoporos de até $1,06g/cm^3$. Além disso, grupos funcionais oxigenados de superfície dos carvões tais como lactona, ácido carboxílico, quinona, anidrido carboxílico e fenol foram qualitativamente estimados por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier.

Preparation and characterization of activated carbons from Brazilian agricultural biomass wastes by one-step pyrolysis/activation

Eden C. Albuquerque Junior¹, Manoel O. Méndez², Aparecido R. Coutinho²; Telma T. Franco^{1*}

 ^{1*}School of Chemical Engineering, State University of Campinas, UNICAMP. 13081-970, P.O. Box 6066. Campinas, SP, Brazil.
²Laboratory of Carbon Materials, Methodist University of Piracicaba, UNIMEP. 13450-

000, Santa Bárbara d'Oeste, SP, Brazil.

^{*} Corresponding address. Tel.: +55-19-3521-3966

Fax: +55-19-3521-3965

E-mail address: franco@feq.unicamp.br

Abstract

Activated carbons were prepared from five agricultural biomass wastes by one-step steam pyrolysis/activation at activation temperatures between 800°C and 900°C, and activation times over 40 minutes. Pyrolytic behavior of each agricultural biomass waste used for activated carbon preparation was studied by thermogravimetric analysis and differential thermogravimetric analysis, indicating different cellulose, hemicellulose and lignin contents. Nitrogen adsorption at –196°C and iodine and methylene blue adsorption were used to characterize the pore structure of the activated carbons. Fourier transform infrared spectroscopy was used for determination of the surface group types. The activated carbons had specific surface areas higher than 1000m²g⁻¹, total pore volumes between 0.57cm³g⁻¹ and 1.40cm³g⁻¹ and mesopore and secondary micropore volumetric fractions from 18.4% to 75.2% and 27.8% to 74.8%, respectively. Fourier transforms infrared spectroscopy results showed that quinones, lactones, phenols and carboxylic anhydrides were the most frequently found main surface functional groups. The adsorption capacity found for iodine was higher than 1000mg⁻¹ and for methylene blue was between 145.0mgg⁻¹ and 506.2mgg⁻¹.

Keywords: Agricultural biomass waste, Carbonization, Activation, Activated carbon, Porosity, Specific surface area.

UNICAMP Biblioteca Central César Lattes Desenvolvimento de Coleção

1. Introduction

Activated carbons (CA) are widely used as adsorbents in many industrial processes including drinking water treatment, wastewater treatment, chemical and pharmaceutical industrial processing, industrial production of food and pollutant gases emission control [1]. The efficiency of these adsorbents for any given application depends on their surface chemical properties such as the presence of oxygen surface groups, an elevated specific surface area and an appropriate pore size distribution [2].

The production of AC involves two main steps: carbonization and activation of the raw material in absence of the oxygen [3]. The first step consists of thermal decomposition of raw material; elimination of noncarbonic species such as hydrogen, oxygen, nitrogen and sulphur; and production of a carbon material with a rudimentary pore structure, where extremely fine pores are obstructed and disorganized [4]. The subsequent step, referred to as activation, aims to clean these pores, aiding in the opening and enlargement of their diameters, besides the creation of new pores [5, 6]. The activation process can be developed with physical agents, such as carbon dioxide, steam, air or a mixture these gases, and is generally carried out at temperatures between 800°C and 1000°C or with chemical agents, such as concentrated solutions of phosphoric acid, zinc chloride, sulfuric acid or sodium hydroxide at 400°C to 600°C [7-12].

Usually, AC are prepared from different materials, with coconut shell and woodbased AC being the most available commercially [13-16]. Brazil imports about 2,000 tons/year activated carbon at a free on board (FOB) value of US\$ 20.00-90.00/kg; depending on the physical characteristics of this material [17]. This has caused the recent increase in research interest in developing low-cost alternatives for producing AC as well as the utilization of some Agricultural Biomass Wastes (ABW), like palm oil waste, sugarcane bagasse, pecan shells, cherries stones and apricot pits as precursors to the preparation of activated carbon [18-22].

According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations [23], it was estimated that Brazilian coconut production exceeds 1.5 billion fruits, harvested in an area larger than 280,000ha. Fifteen percent of this total are consumed still unripe by the coconut water industry; thus more than 337,500 tons/year of waste (unripe coconuts without water) is generated, and disposed of in municipal landfills, in contrast to the ripe

coconut industry, where the residue is widely used as boiler combustible and in the manufacture of ship ropes, carpets, car upholstery and door matupholstery [24].

Another abundant residue in Brazil is the sugarcane bagasse generated by the sugarcane milling industry (42,000,000tons/year). This residue is currently burned in boilers for the production of energy and is also used in cellulose pulp production. According to the Brazilian Forestry Society, currently more than 1,840,050ha of pinus are being used by the paper and pulp industry and iron works, producing more than 45,200,000m³ for the charcoal industry [25]. A substantial amount of waste is also generated by the Brazilian macadamia nut industry (more than 3,000tons/year of macadamia nutshells). As with sugarcane bagasse, all these residues are often burned to produce energy [26].

The aim of this work was to investigate the surface properties and adsorption efficiency of steam-activated carbon obtained from coconut shells, unripe coconut mesocarp, macadamia nutshells, sugarcane bagasse and pinus wood waste. Adsorption equilibrium data on the liquid and the gaseous phases were combined in a way to provide a real characterization pore structure of the activated carbons. Moreover, scanning electron microscopy (SEM) and Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy were also applied for characterization of the carbon surface.

2. Experimental

A series of AC was prepared for this work. The procedure for preparation of ABW, the carbonization and activation methodology, and the characterization of the AC are described below. A commercial activated carbon (CAC), NORIT 0.8 ROW SUPRA (Norit, Amersfoort, Netherland), often used in water treatment was used as standard.

2.1. Raw material

ABW were obtained from the following sources: unripe coconut mesocarp (UCM), coconut shells (CS), sugarcane bagasse (SCB), macadamia nutshells (MNS) and pinus wood waste (PWW). UCM was obtained in Campinas (São Paulo, Brazil) and cut into pieces smaller than 2.0mm. CS was obtained from the coconut industry in João Pessoa (Paraíba, Brazil). This residue was milled and sieved to < 2.0mm. SCB fiber, obtained from a sugarcane mill in Cosmópolis (São Paulo, Brazil), was sieved to obtain size particle larger

than 2.0mm. MNS from Companhia Dierberger in Limeira (São Paulo. Brazil) was milled and sieved to between 2.00 and 1.68mm for carbonization and activation. PWW from a São Paulo industry (São Paulo. Brazil) was cut and sieved to between 2.38 and 2.00mm and used in the experiments.

2.2. Thermal analysis of the agricultural by-product biomass

Twenty mg of finely sieved dry samples of ABW (< 0.35mm diameter), were placed in the platinum crucible of a simultaneous differential thermogravimetric analysis (DTA) and thermogravimetric analysis (TGA) 2960 instrument (TA Instruments, New Castle, DE, USA) and heated at 10°Cmin⁻¹ under nitrogen flow (100cm³min⁻¹) from 25 to 800°C. DTA and DTG data were generated with a Universal Analysis 2000 v3.0A (TA Instruments, New Castle, DE, USA).

2.3. Carbonization and activation

Carbonization and steam activation were conducted using a stainless steel fixedbed cylinder reactor, heated by an electric oven with a temperature control device linked to two thermocouples. A steam generator was placed at the entrance of the reactor. Successive loads (500-700g) on dry basis of raw material were placed in the reactor, which was then heated to 500°C and maintained for 1h under nitrogen flow ($600 \text{cm}^3 \text{min}^{-1}$). The carbonized materials were activated with steam from 850°C to 900°C (± 2°C) for 40min to 110min. This process plant is located at Multivácuo Ind. & Com. Ltda (Campinas, SP. Brazil) and the experimental conditions for each AC are described in Table 1.

2.4. Characterization of the activated carbon

At the end of the activation process, the oven was cooled to 25°C and the AC were boiled for 30min in distilled water, sieved, dried, weighed and then ground in a mortar (90% of the particles had an average diameter of about 0.075mm) and stored in sealed flasks.

2.4.1. Gas phase adsorption

All AC samples were degassed in vacuum at 150°C overnight. A gas adsorption analyzer (model NOVA-1200, Quantachrome Corp.) was used for pore size distribution, pore volume and specific surface area measurements. Equilibrium data obtained from adsorption isotherms of nitrogen gas at -196° C were used to determine the specific surface area of the carbons by applying the adsorption model of Brunauer, Emmet and Teller [27]. Micropore area was obtained by applying the *t*-plot method [28]. Total pore volume was determined by converting into liquid volume the adsorbed volume at the saturation point (P/Po ~ 0.99). Micropore and primary micropore volumes were calculated from the intercepting point of the *t*-plot linear region after micropore and primary micropore saturation, respectively. Mesopore volume was calculated by the difference between total pore and micropore volumes and the secondary micropore volumes. Micropore and mesoporesize distribution on the AC was measured using the Horvath-Kawazoe (HK) and Barrett-Joyner-Halenda (BJH) methods [29].

2.4.2. Liquid phase adsorption

Resublimed iodine (Fluka, St. Louis, MO, U.S.A.) and methylene blue (Mallinckrodt Baker, Inc., Phillipsburg, NJ, U.S.A.) were used as adsorbates in liquidphase adsorption experiments, as specified by Japanese Industrial Standard (JIS) [30]. The residual iodine and methylene blue concentrations in liquid phase were determined using sodium thiosulphate titration and the colorimetric method ($\lambda_{max} = 665$ nm), respectively. The amounts of iodine and methylene blue adsorption (mgg⁻¹) were determined using the following equation:

$$q = \frac{(C_0 - C)V}{m} \tag{01}$$

where C_o is the initial iodine or methylene blue concentration (gL⁻¹), C_e is the equilibrium concentration of the adsorbates, V is the solution volume (L) and m is the dried AC mass (g).

The Langmuir and Freundlich linearized adsorption models were used to fit the experimental data. According to the Langmuir model, a monolayer of the adsorbate is adsorbed onto the carbon surface, giving the following equation:

$$\frac{q}{q_{m}} = \frac{k_{L}C_{e}}{1 + k_{L}C_{e}}$$
(02)

where q is the amount of solute adsorbed on the adsorbent (mgg⁻¹), C_e is the equilibrium concentration of solute in mgL⁻¹, q_m is the Langmuir monolayer coverage constant in (mgg⁻¹) and K_L is the Langmuir adsorption coefficient, which can be considered a measure of adsorption energy [31]. The constants of this model are derived from a plot of l/q versus $1/C_e$. The Freundlich model is purely empirical and is expressed by the equation

$$q = K_F C_e^{1/n} \tag{03}$$

where the Freundlich constants K_F and n are derived from a plot of log q versus log C_e [32].

2.4.3. Chemical characterization by FTIR

Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) is used to qualitatively identify the surface functional groups of AC. The transmission spectra of the AC samples were recorded using KBr pellets with 0.5% carbon. The spectra were measured from 400 to 4000 cm⁻¹ and recorded on a BOMEM MB100 FTIR spectrometer (ABB, Zurich, Switzerland).

2.4.4. Scanning electron microscopy

Oven-dried carbon samples were scattered on adhesive carbon disks, which were then mounted on aluminum microtubs. The samples were gold sputter coated for 5min (Polaron SC7620, U.K.) and then examined on a LEO 440i scanning electron microscope (Carl Zeiss, England, UK).

3. Results and discussion

Activated carbons from five Brazilian agricultural biomass wastes were obtained by single-step stem pyrolysis at temperatures between 850°C and 900°C. Carbonization and activation conditions and overall yield for different experiments are described in Table 1.

Table 1. Carbonization and activation conditions and overall yield of the different experiments.

ABW	Activation Temperature (°C)	Activation Time (min)	Yield (%)
PWW	872	110	3.1 ± 0.7
UCM	900	75	5.1 ±0.2
SCB	850	60	16.8 ± 0.9
CS	900	75	23.6 ± 1.1
MNS	850	40	17.1 ± 0.6

3.1. Thermal analysis

The pyrolysis of ABW has received increasing attention because the process conditions can be optimized to produce pyrolytic liquid fuels, fuel gas, chemicals and activated carbon [32]. The study of the different fractions of lignocellulosic materials (hemicellulose, cellulose and lignin) may give information such as the pyrolytic behavior of the raw material is in accordance with the proportions of its components.

TGA and DTG data on the raw material showed a multistage thermochemical decomposition process (Fig. 1), separated into five stages: Θ_1 , corresponding to dehydration, with transitions in Θ_2 , Θ_3 , Θ_4 and Θ_5 , corresponding to the process of pyrolytic decomposition of hemicellulose, β -1,4-glycosidic bond cleavage in cellulose units, thermal depolymerization in lignin and finally the progressive heating resulting in carbon formation via internal thermal rearrangement, respectively.



(a)



Figure 1. TGA (a) and DTG (b) data on agricultural biomass waste.

For all ABW the first mass loss, between 1.67% and 5.42% (Table 2) is observed at temperatures close to 60°C, which corresponds to the first stage (Θ_1) and associated with dehydration of those materials, according to the literature [33-36]. For the second stage (Θ_2), a rapid mass loss occurs at a temperature between 160°C and 240°C, which is due to oxidative decomposition of the raw materials. In this step, hemicellulose decomposition occurs, with a large amount of flammable volatile formed. After this oxidative decomposition stage, the third stage (Θ_3) can be assigned to cellulose decomposition at a temperature close to 330 °C. At a temperature close to 400°C, a mass loss between 6.2 and 14.3% is characteristic of the fourth stage (Θ_4), which corresponds to lignin depolymerization. According to literature, for the final stage (Θ_5), at a temperature over 500°C, internal thermal rearrangement of the sugar anhydride subunit residues occurred and the progressive heating resulted in the formation of carbon [37].

ABW	Temperature	Temperature	Temperature	Temperature	Temperature
	interval / °C Θ_1	interval /°C Θ_2	interval /°C Θ_3	interval /°C Θ_4	interval /°C Θ_5
PWW	25-70 (4.5)	100-200 (0.0)	180-370 (65.7)	380-440 (14.4)	> 600 (15.4)
UCM	25-130 (86.5)	150-260 (6.2)	300-380 (0.0)	360-490 (5.8)	> 600 (1.5)
SCB	25-70 (5.9)	180-320 (24.2)	320-380 (43.1)	380-450 (10.5)	> 500 (16.3)
CS	25-60 (4.8)	170-300 (20.9)	290-360 (31.8)	360-460 (15.7)	> 600 (26.8)
MNS	25-70 (5.4)	180-290 (4.1)	360-440 (55.1)	290-360 (14.8)	> 600 (20.6)

Table 2. Data on thermal decomposition of the ABW.

*(Mass loss / %)

Although all ABW had a lignocellulosic origin, they appear to have different lignin structures with a large contribution of hemicellulose subunits, and cellulose is evident by substantial weight loss during Θ_2 and Θ_3 . The ABW have different cellulose, hemicellulose and lignin contents, and the cellulose content was larger than the lignin one, which can be seen as an advantage in the process of carbon production, since larger hemicellulose contributions would otherwise result in higher volatilization during the carbonization step, subsequently showing larger carbon losses (Table 2). Selection of carbonization and activation temperatures is always a compromise between carbon formation and structural development. Thus, based on an examination of the TGA-DTG data, the carbonization temperature was fixed at 500°C and the activation temperature at between 850 and 900°C.

3.2. Nitrogen adsorption: Surface area and pore size distribution

According to the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), the pores on activated carbons can be classified in to three different categories: macropores, which have pores larger than 50nm; micropores, with pores smaller than 2nm; and mesopores with pore dimensions between 2nm and 50nm. Micropores can also be divided into two subcategories: primary micropores with pores smaller than 0.7nm and secondary micropores with a pore size between 0.7nm and 2nm [38, 39].

Also, according to the Brunauer, Deming, Deming and Teller (BDDT) classification, the majority of adsorption-desorption isotherms may be divided into six types [27]. The reversible Type I isotherms are typical of microporous solids with relatively small external surfaces. The reversible Type II isotherms nonporous or macroporous adsorbents with unrestricted monolayer-multilayer adsorption. The reversible Type III isotherms is the hysteresis loop, which is associated with capillary condensation taking place in mesopores. The Type V isotherms are uncommon; these are related to the Type III isotherms in which the adsorbent-adsorbent interaction is weak, but are obtained with certain porous adsorbents. The Type VI isotherms, in which the sharpness of the steps depends on the system and the temperature, are typical of stepwise multilayer adsorption on a uniform nonporous surface.

Nitrogen adsorption and desorption isotherms for the AC from different raw materials are shown in Figure 2 and suggest that the steam-activated carbons had Type II and IV adsorption-desorption isotherms, indicating the presence of micropores and mesopores in the carbon matrix.


Figure 2. Nitrogen adsorption-desorption isotherms of the activated carbons. (1) PWW, (2) UCM, (3) SCB, (4) CS, (5) MNS and (6) CAC.

The isotherms may also be analyzed in terms of their adsorption-desorption hysteresis loops [12]. Hysteresis loops appear in the multilayer region of the physisorption isotherm and are considered to be associated with capillary condensation. The standard classification [12] contains four general types, H1–H4. Type H1 hysteresis loops typical of by adsorbents with a narrow distribution of uniform pores (open-ended tubular pores). Type H2 hysteresis loops are due to complex pore structures, which are characterized by interconnected networks of pores of different sizes and shapes. Type H3 hysteresis loops are usually typical of aggregates of platey particles or adsorbents having slit-shaped pores. Type H4 hysteresis loops are also formed of slit-shaped pores and are characteristic of activated carbons. Types H3 and H4 hysteresis loops often do not close until the pressure is at or very close to the saturation pressure.

The hysteresis loops found for the SCB, UCM, CS, PWW, MNS-based AC are of the H4 type, which mainly correspond to the micropore-mesopore distribution of porous materials. In addition, these hysteresis loops indicate that the pores are slit shaped or that the carbons are made up of plate-like material, perhaps graphine layers between which the pores are found (Fig. 2).

Surface area (m ² g ⁻¹)									
AC	Total	Micropore	Mesopore	Primary micropore	Secondary micropore	Micropore	Mesopore	Total	d
PWW	1550.1	807.6	342.5	0.00 (0.0)**	0.35 (100.0)**	0.35 (24.3)*	1.06 (75.7)	1.40	3.6
UCM	1269.6	1245.8	23.8	0.05 (9.1)	0.50 (90.9)	0.55 (81.1)	0.12 (17.9)	0.67	2.1
SCB	1174.3	1097.0	77.3	0.10 (22.2)	0.35 (77.8)	0.45 (48.7)	0.39 (51.3)	0.76	2.6
CS	1090.0	1032.2	57.8	0.08 (22.2)	0.28 (77.8)	0.36 (63.2)	0.21 (36.8)	0.57	2.1
MNS	1079.5	1014.2	65.3	0.07 (21.6)	0.29 (78.4)	0.37 (65.5)	0.20 (34.5)	0.58	2.1
CAC	956.0	807.4	148.6	0.00 (0.0)	0.41 (100.0)	0.41 (71.7)	0.17 (29.3)	0.58	2.4

Table 3. Values of specific surface area and pore volume.

(%) * Total volumetric fraction and ** Total micropore volume fraction. \overline{d} = Average pore diameter = 4V/S_{BET}

Table 3 shows that the five different AC from ABW had specific surface areas of up to $1000m^2g^{-1}$ with micropore and mesopore volumes in the range of $0.34cm^3g^{-1}$ to $0.54cm^3g^{-1}$ and $0.12cm^3g^{-1}$ to $1.05cm^3g^{-1}$, respectively. The excellent textural characteristics of these materials make them an excellent industrial adsorbent, much better than NORIT 0.8 RAW SUPRA, the most common commercial activated carbon.

Figure 3 shows the mesopore size distribution of the carbons determined by the HK and BJH methods. The PWW- and UCM-based activated carbon had the highest mesopore distribution function of all the samples $(dW/dr \approx 0.22 \text{ and } 0.24 \text{cm}^3 \text{g}^{-1} \text{nm}^{-1} \text{ with}$ pore diameters of 1.6 and 2.5nm and $dW/dr \approx 0.47 \text{cm}^3 \text{g}^{-1} \text{nm}^{-1}$ with a pore diameters of 1.5nm, respectively), while the CS- and SCB-based activated carbon had the lowest dW/dr value $(dW/dr \approx 0.13 \text{cm}^3 \text{g}^{-1} \text{nm}^{-1} \text{ with a pore diameter of } 1.61 \text{nm}, \text{ and } dW/dr \approx 0.17 \text{ and } 0.08 \text{cm}^3 \text{g}^{-1} \text{nm}^{-1}$ with pore diameters of approximately 1.71 and 3.00 nm, respectively). MNS-based activated carbon had a mesopore distribution function of $dW/dr \approx 0.47 \text{cm}^3 \text{g}^{-1} \text{nm}^{-1}$ with a pore diameter of 1.51 nm.



Average pore size / nm

Figure 3. Pore size distribution for the activated carbons.

3.3. Liquid-phase adsorption

Additional information about pore size distribution of AC was also studied by adsorption capacity of the two different adsorbates: methylene blue and iodine. This choice is justified by their form and polarity, and they were used to predict the capacity of AC to adsorb pollutants from effluent and to estimate the micropore and mesopore areas of these adsorbents [40]. Also, the use of iodine and methylene blue adsorption in aqueous media can have an advantage over gas adsorption as it provides an easy way to determine of the amount of dye adsorbed onto solid surfaces [27]. It is also a realistic indicator of adsorption when dealing with the problem of water pollution, since it uses aqueous media.

The experimental data were fit to the Langmuir and Freundlich adsorption models. The parameters of these models, together with the correlation coefficient (R^2) for the iodine and methylene blue adsorption onto different adsorbents are shown in Table 4.

			ACTIVATED CARBONS											
			MNS		CS		SCB		UCM		PWW		ACC	
	Model	Parameters	Iodine	MB	Iodine	MB	Iodine	MB	Iodine	MB	Iodine	MB	Iodine	MB
		R^2	0.97	0.94	0.97	0.94	0.98	0.96	0.93	0.97	0.99	0.95	0.97	0.99
umgi		$K_L(\mathrm{Lmg}^{-1})$	18.6	3.4	8.2	4.5	7.8	250.0	16.4	53.7	9.1	22.13	7.8	1.75
Lar		$q_m (mgg^{-1})$	958.8	195.4	981.3	145.0	997.7	200.0	969.6	210.9	1141.0	506.2	1040.6	176.0
Freundlich		R^2	0.98	0.99	0.97	0.94	0.98	0.99	0.98	0.95	0.98	0.98	0.99	0.99
		Q (mgg ⁻¹)	1032.9	108.4	1024.1	92.6	1023.4	217.5	1156.2	200.2	1371.2	302.1	1095.3	103.6
		K_F	883.4	180.6	831.3	104.5	818.7	271.4	918.3	248.1	1016.9	321.9	884.9	140.8
		1/n	0.17	0.36	0.22	0.085	0.25	0.16	0.25	0.15	0.33	0.082	0.23	0.220

Table 4. Parameters for Langmuir and Freundlich isotherms obtained at 25°C.

MB = Methylene blue.

Table 4 shows that the Langmuir and Freundlich models had good fits for iodine $(R^2 = 0.93-0.99)$ and methylene blue $(R^2 = 0.94-0.99)$. It was observed that AC had a larger micropore surface area and also a higher adsorption capacity for iodine. This can be attributed to the fact that iodine has a smaller molecular diameter (d < 1nm), so its diffusion through the micropores during adsorption is less restricted. The adsorption monolayer (q_m) of iodine decreases for AC as follows PWW > ACC > SCB > CS > UCM > MNS.

The methylene blue molecule has a minimum molecular cross section of about 0.8nm, and it has been estimated that the smallest pore diameter it can enter is 1.3nm Therefore, it can only enter the largest micropores, but most of it is mainly adsorbed onto mesopores [41]. Thus, the methylene blue test can be used to predict adsorption of organic compound such as microcystin and to provide a simple method for screening carbon for a specific water application.

The adsorption on monolayer (q_m) of methylene blue decreases for AC as follows: PWW > UCM > SCB > MNS > ACC > CS. We observe that the order of adsorption capacity of methylene blue on the AC was not necessarily the same as that of mesopore volume: PWW > SCB > CS > MNS > ACC > UCM, suggesting that methylene blue is adsorbed not only in the mesopores, but also in the secondary micropores, explaining why UCM-based AC had greater adsorption capacity for methylene blue than other microporous AC. The order of secondary micropore volume of the AC was UCM > ACC > PWW and SCB > MNS > CS.

The AC with the highest affinity for iodine and methylene blue adsorption had the highest values of the Freundlich constants, K_F , K_L , and n, and it was observed that the K_F and K_L values were higher for iodine than for methylene blue. This can be explained by the fact that AC have more micropores available for iodine adsorption than mesopores for methylene blue adsorption, i.e., this parameter can explain the affinity of a given AC for a given molecule.

Adsorption capacity of the AC obtained in this work for methylene blue was compared with those from coffee waste and *Moringa oleifera* seed husk, produced under similar conditions, which are described in the literature [42, 43]. The results showed that coffee waste-based activated carbon had an adsorption capacity for methylene blue of $q_m =$ 188.7mgg⁻¹ and $K_L = 0.12$ Lmg⁻¹, while *Moringa oleifera* seed husk activated carbon had one of $q_m = 344.3 \text{mgg}^{-1}$ and $K_L = 698.3 \text{Lmg}^{-1}$. It was verified that those AC produced in this work had similar ranges of values for these same parameters, such as $q_m = 506.2 \text{mgg}^{-1}$ and $K_L = 22.13 \text{Lmg}^{-1}$ for PWW-based activated carbon and $q_m = 210.9 \text{mgg}^{-1}$ and $K_L = 53.7 \text{Lmg}^{-1}$ for UCM-based activated carbon (Table 5).

At a confidence level of 95%, the linear correlation between the sum of mesopore and secondary rmicropore volumes and the methylene blue adsorbed volume ($R^2 = 0.97$ with P < 0.05) was higher than the correlation between mesopore volume and methylene blue adsorbed volume ($R^2 = 0.88$ with P < 0.05) (Fig. 4). This indicates that secondary micropore volume also contributes together with mesopore volume to increase the methylene blue adsorption on AC; moreover this confirms that the methylene blue results can be used as an estimate of mesopore plus secondary rmicropore volume in those materials. According to iodine number, it was observed that there is a stronger correlation between iodine adsorbed volume and primary micropore volume ($R^2 = 0.99$ with P < 0.05) than between iodine adsorbed volume and micropore volume ($R^2 = 0.90$ with P < 0.05). Thus, this result showed that iodine number could be used to estimate the micropore volume of an AC.



(a)



(b)

Figure 4. (a) Linear correlation between (Δ) primary micropore volume and adsorbed volume of iodine and (+) micropore volume and adsorbed volume of iodine. (b) Linear correlation between (0) mesopore volume and adsorbed volume of methylene blue and (\Box) secondary micropore+mesopore volume and adsorbed volume of methylene blue.

The Brazilian Association for Technical Standards (ABNT) specifications require an iodine number higher than 600mgg⁻¹ (calculated with the Freundlich model) for powdered activated carbon to be used in water treatment [44]. In Brazil there is no specification concerning the use of methylene blue adsorption, but in Morocco, the lower limit established for an activated carbon to be used in water treatment is 180.0mgg⁻¹ (calculated with the Freundlich model) [45]. Considering these quality parameters, AC from PWW (302.1mgg⁻¹), UCM (210.9mgg⁻¹) and SCB (200.0mgg⁻¹) had adsorption capacities for methylene blue higher than the minimum limit required in Morocco. Therefore, these As could be used for the treatment of drinking water.

3.4. Surface characterization by FTIR

The adsorption capacity of AC is determined by their pore structures, but is also strongly affected by the presence of surface functional groups. Activated carbons are known to contain a variety of heteroatoms such as oxygen and hydrogen, which become part of the chemical structure as a consequence of imperfect carbonization or are chemisorbed during the activation process. These heteroatoms are on the pseudgraphitic layers of the CA and form a surface group that affects the adsorption behavior in these adsorbents [2, 46]. The most common oxygenated groups on the AC surface are carboxylic acids, carbonyls, quinones, phenolic hydroxyls, anhydrides, ethers, lactones and lactols [47].

Information on the chemical surface of carbon materials is difficult to obtain. Consequently, the techniques that directly supply information about AC surfaces are important tools, which can be used to predict the application of an AC. In this context, Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy is a very useful tool for functional cluster analysis of the surface of carbon materials. FTIR was used in this work for characterization of the surface oxygen groups of AC.

The FTIR spectra of the AC were registered in wavelengths between 400 and 4000cm⁻¹. The experimental data were presented as a transmittance versus wavelength plot (cm⁻¹) and for spectrogram interpretation (Figure 5). The most important and characteristic bands of each functional group for the different wavelengths together with the characteristic contribution of the several other groups of which it is composed are given in Table 5.

Table 5. FTIR spectra band assignments [50].

	Band number (cm ⁻¹)					
Assignment	1000-1500	1500-2050	2050-3700			
C-O on ethers (extension)	1000-1300					
Alcols	1049-1279		3200-3640			
Phenolic groups:						
C-OH (extension)	1000-1220					
О-Н	1160-1200		2500-3620			
Carbonates; Carboxil-Carbonates	1100-1500	1590-1600				
C=C aromatic (extension)		1585-1600				
Quinones		1550-1680				
Carboxilic acids	1120-1200	1665-1760	2500-3300			
Lactones	1160-1370	1675-1790				
Carboxilic anhydrides	980-1300	1740-1880				
C-H (extension)			2600-3000			



Figure 5. FTIR spectra of the AC from UCM (a), CS (b), CAC (c), MNS (d), PWW (e) and SCB (f).

The FTIR spectrum of the UCM-based activated carbon shows absorption bands at 1135.2cm⁻¹, between 1560.2cm⁻¹ and 1654.8cm⁻¹, at 1772.4cm⁻¹, at 2920cm⁻¹ and between 3448.4cm⁻¹ and 3568.0cm⁻¹ which can be assigned to C-O of ether; OH- of alcohols or phenolic groups; C-OH of carboxylic acids; carboxylic anhydride or lactones; C-H and -OH groups of carboxylic acids or phenols and -OH of phenolic groups, respectively.

The FTIR spectrum of the CS-based AC shows absorption bands at 1168.7cm⁻¹, between 1560.2 and 1654.8cm⁻¹ and between 1685.6cm⁻¹ and 1870.8cm⁻¹, which can be assigned to the stretching vibrations of C-O of ether; OH- of alcohols, carboxylic acids, carboxylic anhydride or lactones; and OH- of phenolic groups, quinones, carboxylic acids; lactones or carboxylic anhydrides.

On MNS-based AC, FTIR spectrum absorption bands can be observed at 1166.8cm⁻¹ and between 1647.0cm⁻¹ and 1868.8cm⁻¹, which can be assigned to stretching vibrations of C-O of ether, alcohol, carboxylic acid, carboxylic anhydride and lactone or to phenolic groups, quinones and carboxylic anhydrides, respectively.

The FTIR spectrum of the PWW-based AC allowed identification of absorption bands at 1166.8cm⁻¹, at 1458cm⁻¹, at 1581.5cm⁻¹ and at 1647cm⁻¹, at 1772.4cm⁻¹ and between 1793.6cm⁻¹ and 1868.8cm⁻¹; which can be assigned to carbonates and groups of carboxyl carbonates, quinones, lactones and carboxylic anhydrides.

The FTIR spectrum of the SCB-based AC only has absorption bands at 1458cm⁻¹, which can be assigned to carbonates and carboxyl carbonate and between 1560.2cm⁻¹ and 1654.8cm⁻¹, which can be assigned to quinones.

Surface groups on the CAC were also studied and its FTIR spectrum shows adsorption bands at 1124.4cm⁻¹, which can be assigned to C-O groups of ethers, alcohols or phenols or to C-OH of carbonates, carboxyl carbonate or carboxylic acids; at 1560.8cm⁻¹ and 1654.8cm⁻¹, assigned to quinones; at 1735.8cm⁻¹, assigned to carboxylic acids and finally at 3257.5cm⁻¹ and 3448.4cm⁻¹, assigned to alcohols and -OH groups. This CAC is a steam-activated carbon such as the AC obtained in this work. Thus, it was observed that the FTIR spectrum of this commercial carbon had the same surface functional groups as those found on the AC from UCM, CS, PWW, SCB and MNS, probably due to the similar steam activation process.

Therefore, the AC from different ABW obtained in this work had acid groups on their surfaces and were postulated to be carboxylic acids, lactones, carboxylic anhydrides, quinones and phenols. These groups can become ionized in water solution producing H^+ ions, and as a result, the pore surface of the AC acquires negative charges.

3.5. Scanning electron microscopy

The scanning electron micrographs obtained for UCM-, SCB-, CS- and PWWbased AC suggest ordered macropore structures with very open pores, forming long ducts, derived in all cases from ABW structures (Fig. 7). The shape and distribution of carbon pores are very dependent upon the structural characteristics of the precursor material and tend to be unaffected by thermal processing, only really undergoing a contraction and twisting as carbonization occurs [49-51].



(a)



200 (marcane bagasse LRACIPROTUNICAMPI 3-Feb-2866



(c)



Figure 6. Scanning electron microscopy of the AC from UCM 10,000 \times (a), SCB 10,000 \times (b), PWW 10,000 \times (c) and CS 20,000 \times (d)

4. Conclusions

The thermogravimetric studies of ABW show a process of multistage thermochemical decomposition divided into five steps, corresponding to dehydration, pyrolytic decomposition in hemicellulose, β -1,4-glycosidic bond cleavage in cellulose units, thermal depolymerization in lignin and finally progressive heating resulting in char formation via internal thermal rearrangement. From the TGA and DTG data it was possible to observe that the ABW used in this work had different cellulose, hemicellulose and lignin contents, which give the AC from different ABW, very different adsorbent characteristics.

The process of single-stage steam pyrolysis for the production of AC was shown to be effective for obtaining AC with large surface areas. We have shown that the structure of the ABW is the main factor that determines the nature of the AC produced. The results indicate that the structures of AC from MNS, CS, and UCM are well suited to the production of microporous AC, with a micropore area between $1014.2m^2g^{-1}$ and $1245.8m^2g^{-1}$ and a micropore volume between $0.34cm^3g^{-1}$ and $0.55cm^3g^{-1}$, while the structures of SCB and PWW are well suited to the production of mesoporous AC with a mesopore area between $77.3m^2g^{-1}$ and $342.5m^2g^{-1}$ and a mesopore volume between of $0.39cm^3g^{-1}$ and $1.06 cm^3g^{-1}$.

The pore structure of the AC was also studied in terms of their adsorption capacity for iodine and methylene blue. The results showed maximum adsorption capacities for iodine and methylene blue above $958.8mgg^{-1}$ and between 145.0 and $506.2mgg^{-1}$, respectively. Those AC which had the highest adsorption capacity (q_m) for Methylene blue such as the UCM-based AC (210.9mgg⁻¹) and the PWW-based AC (506.2mgg⁻¹), also had the highest mesopore volumes, indicating that Methylene blue adsorption capacity can be used to predict mesopore volumes those AC.

FTIR spectra of the AC showed that the five AC produced had predominantly acid characteristics on their surfaces; wich can be assigned to alcohol, phenol, carboxylic acid, carboxylic anhydride, quinone and lactone groups.

Acknowledgements

The authors thank the Brazilian development agencies Fapesp (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, São Paulo, Brazil), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) and CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) for their financial support.

5. References

[1] Benaddi H, Bandosz TJ, Jagiello J, Schwarz JA, Rouzaud JN, Legras D, Béguin F. Surface functionality and porosity of activated carbons obtained from chemical activation of wood. Carbon 2000; 38: 669-674.

[2] Bansal RC, Donnet JP, Stoeckli F. Active carbon. Marcel Dekker Inc., New York; 1988.

[3] Jankowska H, Swiatkowski A, Choma J. Active carbon. Ellis Horwood Limited, England; 1991.

[4] Wigmans T. Industrial aspects of production and use of activated carbons. Carbon 1989; 27: 13-22.

[5] Bradley RH, Rand B. On the physical adsorption of vapors by microporous carbons. J. Colloid Interface Sci. 1995; 169: 168-176.

[6] Hu Z, Srinivasan MP, Yaming N. Novel activation process for preparing highly microporous and mesoporous activated carbons. Carbon 2001; 39: 877-886.

[7] Rodriguez-Reinoso F., Molina-Sabio M, González MT. The use of steam and CO_2 as activating agents in the preparation of activated carbons. Carbon 1995; 33: 15-23.

[8] Huang Z-H, Kang F, Yang J-B, Liang K-M, Fu R, Huang A. Effect of CO in activating gas on the pore structure of activated carbon fiber with CO₂ activation. J. Mater. Sci. Lett. 2003; 22: 293-295.

[9] Juang R-S, Wu F-C, Tseng R-L. Characterization and use of activated carbons prepared from bagasses for liquid-phase adsorption. Colloids Surf., A. 2002; 201: 191-199.

[10] El-Hendawy ANA, Samra SE, Girgis BS. Adsorption characteristics of activated carbons obtained from corncobs. Colloids Surf., A. 2001; 180: 209-221.

[11] Yang T, Lua AC. Characteristics of activated carbons prepared from pistachio-nut shells by potassium hydroxide activation. Microporous and Mesoporous Mater. 2003; 63: 113-124.

[12] Girgis BS, El-Hendawy ANA. Porosity development in activated carbons obtained from date pits under chemical activation with phosphoric acid. Microporous and Mesoporous Mater. 2002; 52: 105-117.

[13] Lozano-Castelló D, Lillo-Ródenas MA, Cazorla-Amorós D, Linares-Solano A. Preparation of activated carbons from Spanish anthracite: I. Activation by KOH. Carbon 2001; 39: 741-749.

[14] Hu Z, Srinivasan MP. CO interaction with zeolites studied by TPD and FTIR: Transition-metal ion-exchanged FAU-type zeolites. Microporous and Mesoporous Mater. 1999; 27: 11-39.

[15] Díaz-Terán J, Nevskaia DM, López-Peinado AJ, Jerez A. Porosity and adsorption properties of an activated charcoal. Colloids Surf., A. 2001; 187: 167-175.

[16] Abe I, Fukuhara T, Iwasaki S, Yasuda K, Nakagawa K, Yoshimi I, Kominami H, KeraY. Development of a high-density carbonaceous adsorbent from compressed wood. Carbon 2001; 39: 1485-1490.

[17] Importação e exportação de carvão ativado pelo Brasil. Available at http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br. Accessed on January 2005.

[18] Lua AC, Guo J. Chars pyrolyzed from oil palm wastes for activated carbon preparation. Journal of Environmental Engineering-ASCE. 1999; 125: 72-76.

[19] Bernardo EC, Egashira R, Kawasaki J. Decolorization of molasses' wastewater using activated carbon prepared from cane bagasse. Carbon 1997; 35: 1217-1221.

[20] Ng C, Marshall WE, Rao RM, Rishipal BR, Losso JN. Activated carbon from pecan shell: Process description and economic analysis. Industrial Crops and Products. 2003; 17: 209-217.

[21] Duran-Valle CJ, Gomez-Corzo M, Pastor-Villegas J, Gomez-Serrano VJ. Study of cherry stones as raw material in preparation of carbonaceous adsorbents. Journal Anal. Appl. Pyrolysis 2005; 73: 59-67.

[22] Gergova K, Petrov N, Eser S. Adsorption properties and microstructure of activated carbons produced from agricultural by-products by steam pyrolysis. Carbon 1994; 32: 693-702.

[23] Levantamento da produção agrícola no Brasil. Available at http://www.fao.org. Accessed on February 2005.

[24] Rosa MF, Santos FJS, Montenegro AAT, Abreu FAP, Correia D, Araújo FBS, Norões VER. Caracterização do pó da casca de coco verde usado como substrato agrícola Comunicado Técnico Embrapa Agroindústria Tropical. 2001; 54: 1-6.

[25] Souza A, Kreuz CL, Motta CS. Analysis on forest entrepreneurship (pinus) as an alternative income source for the rural producer in the Campos de Palmas region. Revista de Administração da UFLA. 2004; 6: 8-21.

[26] Associação dos produtores de macadâmia do estado de São Paulo, Brasil. Available at http://www.proservi.com/apromesp/macnut.htm. Accessed July 2005.

[27] Gregg SJ, Sing KSW. Adsorption, Surface Area and Porosity. Academic Press, London; 1982.

[28] Webb PA, Orr C. Analytical methods in fine particle technology. Micromeritics Instrument Corp. Atlanta; 1997.

[29] Lowell S, Shields JE. Powder Surface Area and Porosity. Chapman and Hall, London; 1991.

[30] Japanese Industrial Standard. JIS K 1474. Test methods for activated carbon. Japanese Standards Association. Tokyo, 1991.

[31] Hsieh C-T, Teng H. Influence of mesopore volume and adsorbate size on adsorption capacities of activated carbons in aqueous solutions. Carbon 2000; 38: 863-869.

[32] Bridgwater AV, Kuester JL. Research in Thermochemical Biomass Conversion. Elsevier Applied Science, London; 1988.

[32] Ng JCY, Cheung WH, McKay G. Equilibrium studies of the sorption of Cu(II) ions onto Chitosan J. Colloid Interface Sci. 2002; 255: 64-74.

[33] Şentorun-Shalaby Ç, Uçak-Astarlıoğlu MG, Artok L., Sarıc Ç. Preparation and characterization of activated carbons by one-step steam pyrolysis/activation from apricot stones. Microporous and mesoporous mater. 2006; 88: 126-134.

[34] Cao N, Darmstadta H, Soutric F, Roy C. Thermogravimetric study on the steam activation of charcoals obtained by vacuum and atmospheric pyrolysis of softwood bark residue. Carbon 2002; 40: 471-479.

[35] Orfao JJM, Antunes FJA, Figueiredo JL. Pyrolysis kinetics of lignocellulosic materials-three independent reactions model. Fuel. 1999; 78: 349-358.

[36] Fisher T, Hajaligol M, Waymack B, Kellogg DJ. Pyrolysis behavior and kinetics of biomass derived materials. Journal Anal. Appl. Pyrolysis. 2002; 62: 331-349.

[37] Mckay D.M., Roberts P.V. The dependence of char and carbon yield on lignocellulosic precursor composition. Carbon. 1982; 20: 87-94.

[38] Everett DH. Reporting data on adsorption from solution at the solid-solution interface (Recommendations 1986). Pure Appl. Chem. 1986; 58: 967-984.

[39] Everett DH. Pore Systems and Their Characteristics. In: Characterization of Porous Solids. Elsevier, Amsterdam; 1988.

[40] Ruthven DM. Principles of Adsorption and Adsorption Processes. Wiley, New York; 1984.

[41] Lussier MG, Shull JC, Miller DJ. Activated carbon from cherry stones. Carbon 1994;32: 1493-1498.

[42] Boonamnuayvitaya V, Chaiya C, Tanthapanichakoon W. The preparation and characterization of activated carbon from coffee residue. J. Chem. Eng. Jpn. 20004; 37: 1504-1512.

[43] Warhurst AM, Mcconnachie GL, Pollard SJT. Characterisation and applications of activated carbon produced from Moringa oleifera seed husks by single-step steam pyrolysis. Water Res. 1997; 31: 759-766.

[44] ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas: Powdered activated carbon, EB - 2133, 1991.

[45] Baçaoui A, Yaacoubi A, Dahbi A, Bennouna C, Phan Tan Luu R, Maldonado-Hodar FJ, Rivera-Utrilla J, Moreno-Castilla C. Optimization of conditions for the preparation of activated carbons from olive-waste cakes. Carbon 2001; 39: 425-432. [46] Boehm HP, Voll M. Basic surface oxides on carbon - 1. Adsorption of acids. Carbon 1970; 8: 227-240.

[47] Toles CA, Marshall WE, Johns MM. Surface functional groups on acid-activated nutshell carbons. Carbon 1999; 37:1207-1214.

[48] Fanning PE, Vannice MA. A DRIFTS study of the formation of surface groups on carbon by oxidation. Carbon 1993; 31: 721-730.

[49] Sing KSW. The use of gas-adsorption for the characterization of porous solids. Colloids and surfaces 1989; 38: 113-124.

[50] Watanabe F, Yamada Y, Hasatani M, Sugiyama S. Effect of pore distribution of original carbonized materials on development of pores during activation. J. Chem. Eng. Jpn. 1976; 9: 354-356.

[51] Wildman J, Derbyshire F. Origins and functions of macroporosity in activated carbons from coal and wood precursors. Fuel 1991; 70: 655-661.

CAPÍTULO IV

A apresentação deste capítulo corresponde ao artigo aceito para publicação no periódico:

Albuquerque Junior, E.C; Melo, L.F.C.; Franco, T.T. Use of solid-phase extraction, high-performance liquid chromatography, and MALDI-TOF identification for [D-Leu¹]microcystin-LR analysis in treated water: validation of the analytical methodology. *The Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy*, 2007.

Em razão da toxicidade das microcistinas, recentemente o Ministério da Saúde no Brasil, por meio da portaria MS 518/200400, que trata da qualidade da água para consumo humano e da determinação quantitativa de microcistinas, estabeleceu um limite máximo para esta toxina de 1µg/L. Devido a sua sensibilidade, a Cromatografia Liquida de Alta eficiência (CLAE) é uma técnica adequada para a análise destas toxinas. Contudo, torna-se indispensável que métodos de determinação de analitos em baixas concentrações (µg/mL) por CLAE sejam validados, ao menos intralaboratorialmente. Neste capítulo é estabelecida uma rotina para validação intralaboratorial da metodologia de análise de microcistinas em água, em virtude da ausência de método padrão brasileiro para a análise por CLAE. O método desenvolvido envolveu extração em fase sólida com cartuchos para extração de C18. A [D-Leu¹]microcistina-LR foi separada em uma coluna de C18 com uma fase móvel de acetonitrila-água (35:65, v/v) e um fluxo de 0,7ml/ min. Após a otimização das condições de extração e separação, o método foi validado, apresentando ótima linearidade numa faixa de concentração de 0,03 - 2µg/L, com limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) de 0.05 µg/mL e 0.15 µg/mL. Espectrometria de massas por MALDI-TOF foi utilizada para determinação dos pesos moleculares e conseqüente identificação das microcistinas contidas no estrato de microcistinas estudado.

Use of solid-phase extraction, high-performance liquid chromatography, and MALDI-TOF identification for [D-Leu¹]microcystin-LR analysis in treated water: validation of the analytical methodology

Eden C. Albuquerque Junior, Lúcio F. C. Melo, Telma T. Franco*

*School of Chemical Engineering, State University of Campinas, UNICAMP. 13081-970, P.O. Box 6066. Campinas, SP, Brazil.

^{*} Corresponding address. Tel.: +55-19-3521-3966

Fax: +55-19-3521-3965

E-mail address: franco@feq.unicamp.br

Abstract

A reverse-phase high-performance liquid chromatographic (RP-HPLC) method with an ultra-violet (UV) detector for analysis of microcystins (MCYSTs) from treated water was validated. The isocratic system used a C_{18} column and mobile phase containing acetonitrile:water (35:65 v/v). A MALDI-TOF spectrometry analysis of *Microcystis aeruginosa* culture extract showed [ADMAdda⁵]MCYST-LR, [D-Leu¹]MCYST-LR, [D-Asp³,ADMAdda⁵,Dhb⁷]MCYST-HtyR, and [D-Asp³,ADMAdda⁵, Dhb⁷]MCYST-RR. Linearity, calibration, accuracy, precision, and limits of detection (LOD) and of quantification (LOQ) were investigated. The following parameters were found in treated water samples: a linearity between 0.03µg/mL and 2.00µg/mL; limits of detection (LOD) and of quantification (LOQ) of 0.05 µg/mL and 0.15 µg/mL, respectively; an extraction efficiency above 81.09%; and appropriate precisions (on a single day: R.S.D. (n = 3) < 4.91% and from one day to the next: R.S.D (n = 3) > 6.79 %) at the different concentrations of [D-Leu¹]MCYST-LR. The validated method can be used for determination of MCYST in water within the international limits of 1.0 µg/L with a 500-fold preconcentration.

Keywords: Drinking water, Validation, HPLC, SPE, Microcystins, Cyanobacteria.

1. Introduction

A process of eutrofication in rivers, lakes, and water supplies throughout the world is pointed to as the main factor responsible for the increase in cyanobacteria blooms with the deterioration in aquatic life in these ecosystems (1). Beyond the ecological problems related with these blooms, an additional problem the quality of water destined for human consumption, since certain cyanobacteria genus such as *Microcystis*, *Anabaena*, and *Oscillatoria* produce toxic cyclic heptapeptides, which remain in the water after their death (2, 3).

Reports of cyanobacteria toxic blooms have increased in Brazil and other countries. In Brazil, they frequently occur in the Patos lagoon (Rio Grande do Sul), Guarapiranga Reservoir (São Paulo), Jacarepaguá lagoon (Rio de Janeiro), and some reservoirs in the states of Pernambuco and Paraná (4-10). Reports of intoxication and poisoning by cyanobacteria toxins in both domestic and wild animals are becoming more frequent. In Itaparica 1988 (Bahia, Brazil), the death of 88 of the 200 people intoxicated by consumption of water from the Itaparica reservoir can be closely associated with the presence of cyanobacteria blooms (11). An outbreak of acute liver failure occurred at a dialysis center in Caruaru, Brazil. At the clinic, 116 patients experienced vision disturbances, nausea, and vomiting after routine hemodialysis treatment in February of 1996. Subsequently, 100 patients developed acute liver failure and more than 50 of these died. These deaths were attributed to microcystin (MCYST)-LR, -YR and AR, hepatotoxins produced by cyanobacteria found in the water used by that clinic (12,13).

Another incident of human microcystin exposure during hemodialysis treatment happened recently, in November of 2001. MCYSTs were detected at a concentration of 0.4 μ g/L in the drinking water, whereas a concentration of 0.32 μ g/L was detected in activated carbon column-treated water for use at the renal dialysis center of Clementino Fraga Filho Hospital (HUCFF) at the Federal University of Rio de Janeiro. A total of 44 hemodialysis patients who received care at this center are believed to have been exposed. This incident was caused by cyanobacteria toxic bloom dominated by *Microcystis ssp.* and *Anabaena ssp.* found in the Funil Reservoir and Guadu River, both of which supply drinking water to Rio de Janeiro, Brazil (14).

MCYSTs are cyclical heptapeptides, which have a general chemical structure (Fig. 1) formed of cyclic (-D-Alanine¹- X^2 -D-MeAsp³- Z^4 -Adda⁵-D-Glutamate⁶-Mdha⁷), where X^2 and Z^4 are two L-changeable amino acids, D-MeAsp is methylaspartic acid D-erithro, and Mdha is N-methyldeidroalanin (15). Adda is the β -amino acid 3-amino-9-methoxy-2,6,8-trimethyl-10-phenyldeca-4(E),6(E)-dienoic acid, also found in the nodularins, and is one of those responsible for the biological activity of MCYSTs (16).



Figure 1. General structure of microcystins. X2 and Z4 are two L-changeable amino acids and R is CH₃ or H.

According to Carmichael et al (17), the main structural variation in MCYSTs occurs at positions 2 (X) and 4 (Z), resulting in the substitution of L-amino acids and demethylation of amino acid at positions 3 and/or 7. Thus, for example, MCYST-LR has L-Leucine (L) and L-Arginine (R) as variant amino acids at positions 2 and 4. More than sixty kinds of MCYST are known and have been catalogued. MCYST-LR is the cyanobacteria toxin that has been most frequently studied in the past ten years due to several occurences of intoxication and its animal and human poisoning properties (18-21). Ingestion of a lethal dose of microcystin causes an extensive hemorrhage in the liver and its prolonged consumption may cause a liver tumor. Besides, MCYSTs have properties of bioaccumulation in aquatic animals, including fish, mollusks, and zooplankton, in estuaries of eutroficated rivers (22-24). Because of this, a long-term exposure to MCYSTs must be

considered a serious health risk (25). Thus, in 1998, the World Health Organization (WHO) published a guideline establishing 1.0 μ g/L as the maximum acceptable concentration of MCYST-LR in drinking water. Also considering the need for better control of water quality due to MCYST-LR toxicity, the Brazilian Health Ministry in collaboration with the PAHO (Pan American Health Organization) and the World Health Organization (WHO), revised the Brazilian regulations for the quality of drinking water, and by act Nr. 518/2004 specified a maximum limit for this toxin of 1.0 μ g/L. Cyanobacteria and cyanotoxins were incorporated into this new regulation as parameters that must to be monitored to guarantee the quality of drinking water (26).

The control and monitoring of MCYSTs and other cyanobacteria toxins have been carried out mainly by means of bioassays with mice and some species of Daphnia (zooplankton), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and high-performance liquid chromatography (HPLC) (27-30).

In order to obtain the maximum limit established by WHO for MCYST-LR in drinking water, suitable analytical methods with high sensitivity, selectivity, accuracy, and precision need to be employed. HPLC could be a good option for microcystin monitoring in water and much work has been developed using this technique (31-34).

Due to the small number of analytical standards available commercially, the association of mass spectrometry with HPLC has also become a powerful tool for identification of microcystin variant traces in environmental samples. One alternative to this identification is matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF), which is now used for the identification of small peptides, especially cyanotoxins such as MCYSTs (35,36).

The purpose of the present work was to validate a high-performance liquid chromatographic analytical method for microcystin residues analysis in treated water. A C18 SPE was used to reach preconcentrations with precision and accuracy. The method was validated by establishing parameters such as calibration, linearity, limits of detection and quantification, precision (repeatability and intermediate precision), and accuracy (recovery). Associated with the HPLC technique, MALDI-TOF spectrometry was used to determine the molecular weight of MCYSTs and to help in their identification.

2. Experimental

2.1. Chemicals and reagents

Microcystin-LR (C₄₉H₇₄N₁₀O₁₈) standard (approx. 95%, FW 995.2) was purchased from Sigma-Aldrich (Lot 013K1057, St. Louis, MO, USA). Methanol, acetonitrile, and trifluoroacetic acid, all chromatographic grade, were purchased from TEDIA (Fairfield, OH, USA). Pure ultra water was obtained from Elga (Bucks, England, UK) and cartridges for solid phase extraction (SPE) Supelclean LC-18 (size 3 ml, 500 mg) were obtained from Supelco (Sigma-Aldrich, Bellefonte, PA, USA). Durapore membrane filters in polyvinylidene fluoride (PVDF) (47 mm, 0.45 μ m) and Millex filters (13 mm, 0.2 μ m) were from Millipore (Billerica, MA, USA). α -cyano-4-hydroxycinnamic acid grade HPLC obtained from FLUKA (Sigma-Aldrich, Bellefonte, PA, USA) was used on MALDI-TOF analysis.

2.2. Liquid chromatography

Analyses were performed using a Waters chromatographic system composed of a 515 pump, a 717Plus autosampler, and a 486 UV detector, operating at 238 nm. Millenium⁽³²⁾ software (version 3.05.01) was used for data acquisition and treatment. The MCYST separation was achieved in a Waters Delta-Pak C₁₈ analytical column (150 × 3.9 mm i.d., 5 μ m particle size, 30 nm pore size) at 23°C under isocratic conditions using as mobile phase acetonitrile:water (35:65, v/v and 0.05% trifluoroacetic acid) at a flow rate of 0.7 mL/min. All solutions used in the mobile phase were degassed for 15 min in an Ultrasonic Cleaner bath (THORNTON, UNIQUE-Indaiatuba, Brazil) before use.

2.3. Mass spectrometer

MCYST molecular weights were obtained by MALDI-TOF from culture extract. Mass spectra of MCYSTs from culture extract were obtained using a Reflex II (Bruker-Daltonik, Bremen, Germany) mass spectrometer in a positive module and for ionization was used nitrogen was stimulated with a laser (337 nm, 3 ns pulse width, 3 Hz). α -cyano-4hydroxycinnamic acid ionic liquid matrix (Et₃N· α -CHCA) was prepared by adding triethylamine to a solution of α -CHCA in acetonitrile, with subsequent reflux for 1 h and solvent removal under vacuum. The broth was ressuspended in one mixture of acetonitrile:water (1:1) to get a 1% solution of matrix.^[37] Each aliquot analyzed was mixed with ionic liquid (1:1, v/v).

2.4. Preparation of treated water sample

In order to simulate water contaminated with MCYSTs, an aqueous extract of *Microcystis aeruginosa* (NPLJ-4) was required. This strain was isolated from Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil) (38) and kept in ASM-1 medium (39) in the Department of Hydraulic, and Sanitation at the Engineering School of São Carlos, University of São Paulo. In the Laboratory of Biochemical Engineering at the School of Chemical Engineering, State University of Campinas (UNICAMP) was carried out the strain processment. After the exponential growth phase was reached, about 500 mL of culture sample were frozen and then thawed three times to break down the cells and to release the intracellular MCYST. The aqueous extract was centrifuged at 13,000 g and filtered with a GFC and PVDF filters. The filtrate was kept at -20 °C.

In preview works, it was verified that the strain NPLJ-4 produces four MCYST variants, one of these corresponding to [D-Leu¹]MCYST-LR, which was taken as reference toxin on our studies (40). In our studies, [D-Leu¹]MCYST-LR represented about 90% of the weight of the culture extract and was used in this validation study, considering the other MCYST to be interferential materials.

Chlorine-free treated water samples (500 mL) prepared with sodium thiosulphate solution (1 g Na₂S₂O₃.5H₂O with distilled water added to produce a total 100 mL – 0.1 mL/500mL chloride water) were fortified by addition of an established volume of MCYST aqueous extract stock solution, thus resulting in three levels of fortification: 0.15, 0.30, and 1.50 μ g/L (41). To increase microcystin retention on the C18 cartridge, the pH of these samples was adjusted to 3.10 by addition of TFA. The samples were mixed well and forced to percolate through the SPE cartridges under vacuum at a flow rate of 1 mL/min, in accordance with the Lawton et al. (42) method modified by us. Before sample application, SPE cartridges were conditioned with 20 mL of methanol and equilibrated with 20 mL of pure ultra water. Just after the samples passed through the cartridges, they were washed with 20 mL of pure water and then with 20 mL of a methanol gradient (10%, 20%, and 30%), thus improving cartridge washing and facilitating the elution of coextracted

substances from the microcystin extract, mainly pigments such as chlorophyll and phycocyanin. Eluate from this washing was discarded, and to assure the method's recovery and reproducibility, the adsorbent bed was dried under vacuum for 15 min. Then the adsorbed analyte was eluted with 20 ml of methanol:water:TFA (89.9:10:0.1 v/v) and evaporated at 45 °C under vacuum until dry. One thousand μ L of this residue, redissolved in methanol:water (75:25 v/v), was injected into the HPLC system.

2.5. Calibration

A standard solution (10 μ g/mL) of MCYST-LR was prepared and stocked at 4 °C. An analytical curve was made from injections in triplicate of 15 μ L standard solutions at the level of 0.03 to 2.00 μ g/mL. The data were processed by Millenium⁽³²⁾ software (version 3.05.01). Correlation coefficients, the slope, the intercept, a table of variance analysis and respective estimates of standard errors for the coefficients were calculated to verify that they were statistically significant (Student's *t*-test) and that the linear model would be validated (F-test).

3. Results and discussion

Under the chosen chromatographic conditions, the reverse-phase HPLC with UV detector seemed to be a good choice for MCYST determination. The identified peak [D-Leu¹]MCYST-LR showed a retention time of 7.22 min, allowing a complete separation from the other three MCYST in the culture extract and of substances identified as non-MCYST in the water and culture extract (Fig. 2).



Figure 2. Chromatogram showing [D-Leu¹]MCYST-LR separation. Mobile phase: ACN– water-TFA (35:65 - 0.05%, v/v), pH 2.10; flow rate 0.7 mL/min; 238 nm; injection volume 15 μ L. Peak 1 is [D-Leu¹]MCYST-LR.

3.1. Identification of the [D-Leu¹]MCYST-LR from the culture extract by MALDI-TOF

The identification of MCYSTs from *Microcystis aeruginosa* strain was confirmed by MALDI-TOF spectrometry. The MALDI-TOF spectrum of this material (Fig. 3) showed the molecular ions of four different (microcystins) cyclic heptapeptide peaks: the first peak with $m/z = 1023.66 [M_1 + H]^+$ was identified as [ADMAdda⁵]MCYST-LR, the second peak with $m/z = 1037.68 [M_2 + H]^+$ was identified as [D-Leucine¹]MCYST-LR, and the third peak with $m/z = 1051.69 [M_3 + H]^+$ was attributed to [D-Asp³,ADMAdda⁵, Dhb⁷]MCYST-RR.



Figure 3. Positive ion MALDI-TOF mass spectrum (m/z range 850 – 1250 Da) of *Microcystis aeruginosa* cell extract from culture.

The four cyclic heptapeptides were detected as protons $[M + H]^+$; however due to presence of sodium and potassium salts in natural samples, sodium and potassium adducts, which were detected as $[M + Na]^+$ or $[M + K]^+$ were produced. Therefore, the fourth peak, m/z = 1059.66, which could be attributed to the molecular ion $[M_1 + Na]^+$, and the sixth and seventh peaks with m/z = 1073.68 and 1075.65 were attributed to $[M_2 + Na]^+$ and $[M_1 + K]^+$, respectively. The fourth microcystin variant found in the cyanobacteria culture was identified in the fifth peak with m/z = 1071.65 $[M_4 + 2H]^+$ and attributed to $[D-Asp^3,ADMAdda^5,Dhb^7]MCYST-HtyR$. The other two peaks were observed with m/z = 1237.65 and 1253.65 which could be assigned to some secondary metabolit produced for the strain. All of these microcystin variants have been well described in the literature (4345). Chemical structures of MCYSTs found in the culture extract are presented in the Figure 4.



(a)



(b)

Figure 4. (a) General structure of three cyclic heptapeptide hepatotoxins: $[Asp^3, ADMAdda^5, Dhb^7]MCYST-RR$ (**X**, **Z** = Arg); $[Asp^3, ADMAdda^5, Dhb^7]MCYST-HtyR$ (**X** = Htyr, **Z** = Arg); and $[ADMAdda^5]MCYST-LR$ (**X** = Leu, **Z** = Arg); (b) General structure of [D-Leucine¹]MCYST-LR isolated from *Microcystis aeruginosa* strain (NPLJ-4).

By an intraperitoneal mouse bioassay MATTHIENSEN et al. (46) observed signs of poisoning and gross liver pathology (swollen, engorged with blood) typical of MCYSTs when the purified [D-Leu¹]MCYST-LR was acutely hepatotoxic. The toxicity LD₅₀ of this toxin is 100 μ g/kg body weight, indicating that [D-Leu¹]MCYST-LR is one of the most toxic MCYSTs (47,48). In 2001, this same MCYST variant collected from cyanobacteria water bloom in Pakowki Lake, Alberta, Canada, was reported (49). In Brazil it was reported for the first time at Patos Lagoon estuary, Brazil (46).

3.2. Validation of analytical parameters

The typical analytical parameters, which we adopted for validation of the HPLC method applied to MCYST determination in drinking water, are described in Table 1.

3.2.1. Calibration and linearity

To check the linearity of the detector response, a linear regression analysis of the peak area versus concentration of the MCYST-LR was used. Linearity was determined by the square correlation coefficients of the calibration curves generated by three repeated injections of standard solutions at six concentrations. Only commercial standards of MCYST -LR, -YR, -RR, -LA, -LW and -LF were available, implying that theoretically, only MCYST-LR could be quantified in this study. However, the conjugated π -bonds on the Adda fragment, common to all MCYSTs, are responsible for their UV absorption characteristics. Therefore, we assume that the UV absorbance coefficient at 238 nm is identical for all MCYSTs; however, the UV spectra of tryptophan and tyrosine containing MCYSTs can present an additional absorbance peak at about 223 and 232 nm, respectively (50). Thus, after MALDI-TOF analysis, [D-Leu¹]MCYST-LR was quantified using the MCYST-LR standard calibration curve.

Linearity is the ability of a method to produce results, directly or by a well-defined mathematical transformation, proportional to the analyte concentration in samples within a given range. The deviation in linearity is sometimes difficult to detect visually and the adequacy can be calculated by means of the difference between the measured values and the values calculated with the regression equation (51). The value of t can to be calculated with Equation 01

$$t$$
 calculated = $\frac{residue}{S_r/\sqrt{n}}$

where *residue* is $|X_{measured} - X_{calculated}|$, S_r is the standard deviation and n is the number of points.

When the $t_{calculated}$ value for a doubtful point is less that or equal to the t value from the Student's t-table, for the confidence and (n-1) degrees of freedom desired, it is assumed that the point is on the curve and the band is linear. Thus, for MCYST-LR the linearity extended from 0.03 to 2.00 µg/mL (Fig. 5a).

Thus, method linearity was assessed by analyzing pure water spiked with various amounts of MCYST-LR at a concentration in the range of 0.03 to 2.00 μ g/mL. The response was found to be directly proportional to the concentration in this concentration range. Thus, the data were subjected to linear regression analysis. Linearity was assessed by the statistical data obtained and the graph is presented in Figure 5 (correlation coefficient 0.9998; slope 38841.21±329.47; regression line, $\mathbf{y} = 1765.88$ (± 296.67) + 38841.21 (± 329.47) \mathbf{x}), where \mathbf{y} is the peak area, \mathbf{x} is the MCYST concentration (μ g/mL), and \mathbf{r} is the correlation coefficient.



_


Figure 5. (a) Linearity response for peak area versus spiking levels of MCYST-LR. (b) Residual analysis from predicted values vs. values observed by the model.

Analysis of the linear equation shows that the linear model is statistically significant, since the correlation coefficient (r) is greater than 0.99. The F-test confirmed the absence of fit lack for the model at a confidence level of 95%, also confirmed by residual analysis of predicted *vs.* observed values by the model (Fig. 5b). The Student's *t*-test also indicated that both linear and angular coefficients are statistically significant.

3.2.2. Limit of detection (LOD) and Limit of quantification (LOQ)

A method is said to be sensitive if small changes in concentration cause large changes in the response (52). The ability to detect small concentrations is expressed as the LOD or LOQ. The limit of detection (LOD) is defined as the lowest detectable analyte concentration for an analytical method and is expressed in units of concentration (μ g/mL). Limit of quantification (LOQ) is the lowest solute concentration, which can be determined with acceptable precision and accuracy under definite experimental conditions and is expressed in concentration units. All calculations for these limits were based on signal-to-noise ratios (approximately equal to 3 for LOD and equal to 10 for LOQ) (53). LOD and LOQ for the MCYST-LR method are show in the Table 1.

Table 1	l. Analy	ytical	validation	parameters
		/		1

Validation parameters	Values		
Precision (repeatability) ^a			
fortification at 0.15 μ g/L	(RSD) 4.32 %		
fortification at 1.50 µg/L	(RSD) 6.79 %		
fortification at 15.00 µg/L	(RSD) 3.13 %		
Precision (intermediate precision) ^b			
fortification at 0.15 μ g/L	(RSD) 3.30 %		
fortification at 1.50 µg/L	(RSD) 2.23 %		
fortification at 15.00 µg/L	(RSD) 4.91 %		
Accuracy ^c			
fortification at 0.15 μ g/L	5.25 %		
fortification at 1.50 µg/L	4.06 %		
fortification at 15.00 µg/L	7.13%		
Linearity	0.03-2.00 μg/mL		
LOD	0.05 μg/mL		
LOQ	0.15 μg/mL		
Recovery (fortification at 0.15 μ g/L)	92.31 %		
Recovery (fortification at 0.30 µg/L)	85.69 %		
Recovery (fortification at 1.50 µg/L)	81.09 %		

^{a,c} tests conducted on same day. ^b tests conducted on different days. Enrichment factor 500-fold.

3.2.3. Recovery and precision

The accuracy of an analytical procedure expresses the closeness of agreement between the value, which is accepted either as a conventional true value or an accepted reference value, and the value found. Accuracy should be reported as percent recovery by the assay of known amount of analyte added to the samples or as the difference between the mean and the accepted true value together with the confidence intervals (54). It is best established by comparing the replicate responses of extracted samples at matrix concentrations with those of non-extracted standards which represent 100% recovery. Recovery was calculated with Equation 02

$$recovery = \frac{mass of \ analyte \ after \ extraction}{mass of \ analyte \ added} \times 100$$
(02)

Although, it is desirable to attain recoveries as close to 100% as possible in order to maximize the sensitivity of the method, it's not probable that recoveries above 50% will jeopardize the integrity of the method. Good precision and accuracy can be obtained by methods with moderate recoveries, assuming they have adequate sensitivity. In some cases, it may be desirable to lower recoveries in order to achieve a higher selectivity with some sample extraction procedures.

Both precision and accuracy determine the error of an analytical measurement and are the primary criteria used when the quality of an analytical method is evaluated. Precision and accuracy are often expressed for a single day or for a period of several days (55). Precision (repeatability) determines the analysis deviation and is an important criterion to evaluate the performance of an analytical method. It is the degree of agreement between individual test results when the procedure is applied several times. Precision is usually expressed as the percentage coefficient of variation (%C.V.) or relative standard deviation (R.S.D.) of the replicate measurements (52,53) and was calculated with Equation 03

$$(R.S.D.) or \%C.V. = \frac{standard \ deviation}{mean} \times 100$$
(03)

Accuracy is the agreement between the true value of the analyte in the sample and the value measured by the analytical process (38) and can to be calculated with Equation 04

$$Accuracy = \frac{\text{measured value} - \text{true value}}{\text{true value}} \times 100$$
(04)

The method validated and shown here, had satisfactory recovery, precision, and accuracy for the concentrations studied, where the results show a recovery of between 80 and 90% (Table 01). We observe that the toxin recovery was below 100%, probably because the MCYST extract used here to fortify the treated water contained substances such as phycocyanins, phycocritrins, chlorophylls, and carotenoids. These substances are almost imperceptible; however even a small amount can disturb the recovery of the [Dleu¹]MCYST-LR on C18, because the molecular weight of these pigments (clorophyll-a is 893.5 g/mol and clorophyll-b is 907.5 g/mol) and dimensions are close to those of MCYSTs, which are between 909.0 g/mol (MCYST-LA) and 1115.0 [L-MeLan⁷]MCYST-LR (56). Therefore, it is possible that these molecules compete with each other for the cartridge (C18) active sites, diminishing the adsorption capacity of the cartridge for MCYST. In addition, other MCYSTs in the cell extract could also be interfering in the analysis and diminishing the capacity of the cartridge. Interferents will simulate those found in treated water, such as humic substances, in this way allowing to available well the analytical method considered for MCYST determination in treated water at concentrations below 1 μ g/L, satisfying the international limits.

3. Conclusions

The HPLC method for microcystin analysis and quantification was validated to meet the drinking water industry requirements in terms of limit of detection and quantification, linearity, repeatability, precision, accuracy, and range. LOD and LOQ were respectively 0.05 and 0.15 μ g/mL. It was verified that using an appropriate SPE preconcentration, determination of microcystins in water at a concentration of 0.15 μ g/L was possible, with recoveries between 81.09 and 92.31% and a precision of 5% on average, satisfying the international limits for drinking water established by the Word Health Organization.

Acknowledgements

The authors acknowledge the financial support and fellowships received from the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and the MALDI-TOF spectrometry of microcystins by Potsdam University.

4. References

1. I. Chorus, J. Bartram, Eds., Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management. E&FN Spon, London, 1999, p.416.

2. G.A. Codd and W.W. Carmichael, FEMS Microbiol. Lett., 4, 409 (1982).

3. G.A. Codd, *Ecol. Eng.*, **16**, 51(2000).

4. W.W. Carmichael, Sci. Am., 270, 78, (1994).

5. M. Bouvy, R.J.R. Molica, S. Oliveira, M. Marinho and B. Beker, Aqua. *Micro. Ecol.*, 20, 285 (1999).

6. R.J.R. Molica, S.M. Nascimento, F.A. Bressan and S.M.F.O Azevedo, VIII Reunião Brasileira de Ficologia. Porto de Galinhas-PE, 1999, p. 163.

7. V.F. Magalhães, R.M. Soares and S.M.F.O. Azevedo, Toxicon, 39, 1077 (2001).

8. A. Minillo, A.H. Ferreira and J.S. Yunes, Revista Atlântica, 22, 60 (2000).

Ī.

9. Z. Beyruth, Hydrobiologia, 424, 51 (2000).

10. E.Y. Hirooka, M.H.P. Pinotti, T. Tsutsumi, F. Yoshida and Y. Ueno, Nat. Toxins, 7, 103 (1999).

11. M.G.L.C. Teixeira, M.C.N. Costa, V.L.P. Carvalho, M.S. Pereira and E. Hage, Bulletin of PAHO, 27, 244 (1993).

 A.R.B Jackson, A. McInnes, I.R. Falconer and M.T.C. Runnegar, *Veterinary Pathology*, 21, 102 (1984).

13. W.W. Carmichael, S.M.F.O. Azevedo, J.S. Na, R.J.R. Molica, E.M. Jochimsen, S. Lau, K.L. Rinehart, G.R. Shaw and G.K. Eaglesham, *Environ. Health Perspect.*, **109**, 663, (2001).

14. R.M. Soares, M. Yuan, J.C. Servaites, A. Delgado, V.F. Maglhaes, E.D. Hilborn, W.W. Carmichael and S.M.F.O. Azevedo, *Environ. Toxicology*, **21**, 95 (2006).

15. P. Pendleton, R. Schumann, S.H. Wong, J. Colloid Interface Sci., 240, 1 (2001).

16. K.-l. Harada, K. Ogawa, K. Matsuura, H. Murata, M. Suzuki, M.F. Watanabe, Y. Itezono and N. Nakayamna, *Chem. Res. Toxicol.*, **5**, 473 (1990).

W.W. Carmichael, V.R. Beasley, D.L. Bunner, J.N. Eloff, I.R. Falconer, P.R. Gorham,
K.-I. Harada, M.-J. Yu, T. Krishnamurthy, R.E. Moore, K.L. Rinehart, M.T.C. Runnegar,
O.M. Skulberg and M.F. Watanabe, Toxicon, 26, 971 (1988).

18. L.A. Lawton, C. Edwards, G.A. Codd, Analyst, 119, 1525 (1994).

19. M.F. Watanabe, S. Oishi, K.-I. Harada, K. Matsuura, H. Kawai and M. Suzuki, *Toxicon*, 26, 1017 (1988).

20. W.W. Carmichael, J. Appl. Bacteriol., 72, 445 (1992).

21. K.L. Rinehart, M. Namikoshi and B.W. Choi, J. Appl. Phycol., 6,:159 (1994).

22. R. Nishiwaki-Matsushima, T. Ohta, S. Nishiwaki, M. Suganuma, K. Kohyama, T. Ishikawa, W.W. Carmichael and H. Fujiki, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **118**,420 (1992).

23. I.R. Falconer, A. Choice and W. Hosja, J. Environ. Toxicol. Water Qual., 7, 119 (1992).

24. V.M. Vasconcelos, K. Sivonen, W.R. Evans, W.W. Carmichael and M. Namikoshi, *Arch. Hydrobiol.*, **134**, 295 (1995).

25. T.W. Lambert, M.P. Boland, C.F.B. Holmes and S.E. Hrudey, *Environ. Sci. Tecnol.*, 28, 753 (1994).

26. S.M.F.O. Azevedo, W.W. Carmichael, E.M. Jochimsen, K.L. Rinehart, S. Lau, G.R. Shaw and G.K. Eaglesham, *Toxicology*, **181**, 441 (2002).

27. A. Ballot, S. Pflugmacher, C. Wiegand, K. Kotut and L. Krienitz, Limnologica, **33**, 2 (2003).

28. J.S. Metcalf and G.A. Codd, Chem. Res. Toxicol., 16, 103 (2003).

29. R.W. Mollan, B. Rae and A Verbeek, Analyst, 121, 233 (1996).

30. T.Rohrlack, K. Christoffersen, E. Dittmann, I. Nogueira, V. Vasconcelos and T. Börner, *Limnology and Oceanography.*, **50**, 440 (2005).

31. P.P. Shen, Q. Shi, Z.C. Hua, F.X. Kong, Z.G. Wang, S.X. Zhuang and D.C. Chen, *China. Environ. International*, 5, 541 (2003).

32. M.L. Cuvin-Aralar, J. Fastner, U. Focken, K. Becker and E.V. Aralar, *Systematic and Applied Microbiology*, **25**, 179 (2002).

33. C.A.P. Frank, Environ. Toxicol., 17, 361 (2002).

34. S. Ramanan, J. Tang and A. Velayudhan, J. Chromatogr. A, 1, 103 (2000).

35. M. Welker, J. Fastner, M. Erhard and H. von Dohren, Environ Toxicol., 17, 367 (2002).

36. M. Erhard, H. von Dohren and P. Jungblut, Nat. Biotechnol., 15, 906 (1997).

37. L.S. Santos, R. Haddad, N.F. Höehr, R.A. Pilli and M.N. Eberlin, Anal. Chem., 76, 2144 (2004).

38. A.C.P. Oliveira, V.F. Magalhães, R.M. Soares and S.M.F.O Azevedo, *Environ*. *Toxicol.*, **20**, 126 (2005).

39. P.R. Gorham, J.R. Mclachlan, U.T. Hammer and W.K. Kim, Bréb. Verh. Int. Verein. Limnol., 15, 796 (1964).

40. R.M. Soares, V.F. Magalhães and S.M.F.O. Azevedo, Aquat. Toxicol., 70, 1 (2004).

41. R. Causon, J. Chromatogr. B, 689, 175 (1997).

42. L.A. Lawton, C. Edwards and G.A. Codd, Analyst, 119, 525 (1994).

43. J. Laub, P. Henriksen, S.M. Brittain, J. Wang, W.W. Carmichael, K.L. Rinehart and O. Moestrup, *Environ. Toxicol.*, **17**, 351 (2002).

44. T. Sano, K.A. Beattie, G.A. Codd and K. Kaya, J. Nat. Prod., 61, 851 (1998).

45. K.A. Beattie, K Kaya, T. Sano and G.A. Codd, Phytochemistry, 47, 1289 (1998).

46. A. Matthiensen, K.A. Beattie, J.S. Yunes, K. Kaya and G.A. Codd, *Phytochemistry*, 55, 383 (2000).

47. K.L. Rinehart, M. Namikoshi, and B.W. Choi, J. Appl. Phycol., 6, 159 (1994).

48. K. Sivonen and G. Jones, Cyanobacterial toxins. In: I. Chorus, and J. Bartram, Eds., Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management. E&FN Spon, London, 1999. pp. 41-111.

ı

49. H. Park, M. Namikoshi, S.M. Brittain, W.W. Carmichael and T. Murphy, *Toxicon*, **39**, 855 (2001).

50. C. Robillot, J. Vinh, S. Puiseux-Dao and M.-C. Hennion, *Environ. Sci. Technol.*, 34, 3372 (2000).

51. F. Leite, Validação em Análise Química. 4a Ed. Campinas, SP. Editora Átomo, 2002. p.278

52. R. Zanella, E.G. Primel, F.F. Gonçalves and A.F.J. Martins, *J. Chromatogr. A*, **904**, 257 (2000).

53. J. Lambropoulos, G.A. Spanos and N.V. Lazaridis, J. Pharm. Biomed. Anal., 23, 421 (2000).

54. Center for Drug Evaluation and Research (CDER) - FDA. Reviewer Guidance: Validation of Chromatographic Methods. (1984). Available on: <http://www.fda.gov/CDER>. Accessed on Jul 2003.

55. F. Bressolle, M. Bromet-Petit and M. Audran, J. Chromatogr. B, 686, 3 (1996).

56. N.M. Streit, L.P. Canterle, M.W. Canto and L.H.H. Hecktheuer, *Ciência Rural*, **35**, 748 (2005).

CAPÍTULO V

A apresentação deste capítulo corresponde ao artigo publicado:

Albuquerque Junior, E.C; Mendez, M.O.; Coutinho, A.R.; Franco, T.T. Cinética e equilíbrio de adsorção da [D-Leucina¹]microcistina-LR em carvões ativados. *Anais do XXXII Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados. Maringá-PR*, 2006.

Em trabalhos prévios, carvões ativados pulverizados de endocarpo do coco seco da baía, bagaço de cana-de-açúcar e resíduo de madeira de pinus foram produzidos em um único estágio de pirólise e ativação com vapor d'água. Estes carvões apresentaram áreas superficiais especificas de BET acima de $1000m^2/g$ e volume de mesoporos de 0,21, 0,39 e 1,06cm³/g, respectivamente. Tais propriedades estruturais quando comparadas àquelas obtidas a partir de carvões ativados comerciais fazem daqueles carvões ativados potenciais adsorventes para utilização em diversos processos de adsorção em especial no tratamento de água para remoção de toxinas de cianobactérias. Assim, estes carvões foram utilizados em um estudo de cinética e equilíbrio de adsorção de uma hepatotoxina de cianobactéria, [D-Leucina¹]MCYST-LR. A taxa de adsorção desta toxina sob a superfície dos carvões estudados variou de acordo com as características físicas destes adsorventes, onde o carvão ativado do endocarpo do coco seco com uma distribuição de poros mais centrada na região de microporos exibiu uma eficiência de remoção da [D-Leucina¹]MCYST-LR de 67%, ao passo que os outros dois carvões de características mesoporosa apresentaram eficiência de adsorção acima de 98% em tempos de equilíbrio de até 30min. No que concerne os estudos de equilíbrio de adsorção, os carvões ativados a base de bagaço de cana-de-açúcar e resíduo de madeira de pinus apresentaram adsorção em monocamada estimados em 161,3 e 200,0 μg/mg.

Cinética e equilíbrio de adsorção da [D-Leucina¹]microcistina-LR em carvões ativados.

Eden C. Albuquerque Júnior¹; Manoel O. Mendez²; Aparecido R. Coutinho²; Telma T. Franco¹*

^{*1}Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Departamento de Processos Químicos, Laboratório de Engenharia Bioquímica. Caixa postal 6066, 13081-970.

²Universidade Metodista de Piracicaba, Laboratório de Materiais Carbonosos. 13450-000.

*Endereço para correspondência. Tel.: +55-19-3521-3966. fax: +55-19-3521-3965. E-mail: franco@feq.unicamp.br

Resumo

As cianobactérias são organismos encontrados em corpos d'água destinados a produção de água potável. As microcistinas, hepatotoxinas, é um dos principais agentes tóxicos produzidos por estes organismos. Essas toxinas vêm despertando atenções crescentes em razão do aumento do número de registros de florações tóxicas de cianobactérias em reservatórios destinados ao abastecimento público, da descoberta de novas toxinas e dos riscos associados a elas e do aumento de intoxicação aguda e crônica, tanto em animais como em seres humanos. A adsorção em carvão ativado pode ser eficiente na remoção de microcistinas de água potável, dependendo de algumas características físico-químicas deste adsorvente além da matéria-prima utilizada na sua produção. Carvões ativados obtidos a partir do bagaço de cana-de-açúcar e resíduo de madeira de pinus com S_{BET} de 1174 e 1550 m²/g, respectivamente, e com 0,39 e 1,06 cm³/g respectivamente, de volume total de poros, foram testados quanto a sua capacidade de adsorção as microcistinas. Foi observada adsorção da toxina em monocamada para ambos os carvões, com q_m e k_L de 161 e 200 μ g/mg c 1,33 e 2,23 L/mg, respectivamente, obtidos a partir do ajuste dos dados experimentais ao modelo de Langmuir.

Palavras-chaves: Cianobactéria, microcistinas, adsorção, carvão ativado.

1. Introdução

As cianobactérias ou algas verde-azuladas são organismos procarióticos encontrados em superficies aquáticas utilizadas como fontes de água potável e de recreação em todo o mundo; sendo descrita as suas presenças em países como Alemanha (FASTNER et al., 1999), Itália (FUNARI et al., 2000), Portugal (VASCONCELOS, 1999), China (FENG et al., 2006), Japão (MATSUNAGA et al., 1999), Marrocos (OUDRA et al., 2001), Argentina (CONTI et al., 2005) e Brasil (SANT'ANNA; AZEVEDO, 2000). Espécies de cianobactérias tais como *Microcystis, Nodularia, Cylindrospermopsis, Anabaena e Aphanizomenon* são conhecidas por produzirem toxinas como as microcistinas (MCYSTs), nodularinas, cilindrospermopsinas, anatoxinas e veneno paralítico de crustáceos - do inglês PSP (Paralytic Shellfish Poisons) (LANDSBERG, 2002).

Relatos de intoxicações humanas resultantes da exposição a estas toxinas, principalmente às microcistinas, embora menos comum do que envenenamento de animais selvagens e domésticos já foram descritas em vários países (BEASLEY et al., 1989; FRAZIER et al., 1998; JACKSON et al., 1984; YOO et al., 1995). No Brasil, dois casos de intoxicação humana por toxinas de cianobactérias já foram descritos, sendo o primeiro deles ocorrido como parte de um surto de gastrenterite, cujas pessoas apresentaram sintomas de hepatotoxicose após consumir a água contaminada por uma floração tóxica de *Microcystis* e *Anabaena* ocorrida do reservatório de Itaparica, BA. Este surto afetou mais de 2000 pessoas e resultou na morte de 88 delas (TEIXEIRA et al., 1993). O segundo ocorreu em Caruaru-PE, aonde mais de 50 pacientes renais morreram também decorrente de uma grave hepatotoxicose causada por microcistinas presentes na água tratada de um centro de hemodiálise daquela cidade (CARMICHAEL et al., 2001).

Segundo Hoeger, Hitzfeld e Dietrich (2005), a crescente preocupação mundial a respeito dos efeitos tóxicos agudos e crônicos associados a estas toxinas levou alguns países como Brasil, Nova Zelândia, Austrália, Canadá, EUA e União Européia a estabelecer valores de orientação para concentração máxima de microcistinas presentes em água potável entre 1,0 μ g/L a 1,5 μ g/L, de 3 μ g/L a 15 μ g/L para as cilindrospermopsinas, de 1,0 μ g/L a 3,0 μ g/L para as PSP e de 3,0 μ g/L para a anatoxina-a (FITZGERALD; CUNLIFFE; BURCH, 1999; AZEVEDO, 2001; HEALTH CANADA, 2003; SCHMIDT et

al., 2002; WHO, 1998). Estes índices foram estabelecidos levando-se em consideração os efeitos crônicos e agudos destas toxinas sobre humanos.

Técnicas convencionais de tratamento de água como coagulação, filtração e sedimentação têm se mostrado parcialmente eficientes na remoção de toxinas de cianobactérias da água No entanto, a utilização de carvão ativado em pó (CAP) ou granulado (CAG) associados a esses processos tem-se mostrado eficiente na remoção daquelas toxinas de água (HOFFMAN, 1976; KEIJOLA et al., 1988; FALCONER et al., 1989; HIMBERG et al., 1989).

Um dos primeiros trabalhos descritos na literatura sobre a utilização de carvões ativados na remoção de MCYST-LR foi descrito por Donati et al. (1994). Neste trabalho, os autores avaliaram a taxa e o equilíbrio de adsorção de MCYST-LR por oito carvões ativados comerciais em pó de diferentes procedências e materiais precursores tais como madeira, endocarpo do coco seco, turfa e carvão mineral, aonde puderam concluir que a adsorção de MCYST-LR pelos carvões estava diretamente associada ao volume de mesoporos destes adsorventes. Dentre os carvões estudados, aqueles provenientes da madeira os quais continham um maior volume de mesoporos (0,27-0,49 cm³/g), exibiram adsorção da MCYST-LR em monocamada entre 220 µg/mg e 280 µg/mg. Estes experimentos foram realizados tomando-se água desionizada e de rio, contaminadas artificialmente com padrão de referencia de MCYST-LR.

Alguns anos depois desta última publicação, Mohamed et al. (1998) avaliaram a capacidade de adsorção de carvões ativados comerciais em pó e granulados, provenientes de diferentes materiais precursores como madeira, carvão mineral e endocarpo do coco seco. Em seus experimentos foram utilizados extratos de microcistinas obtidos de duas diferentes cepas de cianobactérias, contendo as MCYST-RR, -YR, -WR, -LR e LHarg. A partir das condições experimentais pré-estabelecidas pelos autores, foi possível observar uma capacidade de adsorção de até 6,309 L/mg de microcistinas contidas naqueles extratos por parte dos carvões avaliados. Neste trabalho não houve nenhuma preocupação por parte dos autores com referência as características texturais dos carvões estudados.

Em 2001, Pendleton, Schumann e Wong, a partir da contaminação de água desionizada por padrão de referência de MCYST-LR, avaliaram a remoção desta toxina por carvões pulverizados de madeira e endocarpo do coco seco ativados quimicamente com

ácido fosfórico e vapor d'água, respectivamente. Neste trabalho os autores, levaram em consideração o volume de poros além de grupos funcionais oxigenados de superfície dos CA. Em seus resultados foi observado que a capacidade de adsorção daquela toxina nos carvões ativados estava associada a porosidade destes adsorventes, principalmente aos mesoporos e microporos secundários, além do pH do meio. Os carvões ativados da madeira e do endocarpo do coco seco que exibiram volumes de microporos secundários e mesoporos de 0,50 cm³/g e 0,38 cm³/g, e 0,13 cm³/g e 0,05 cm³/g, promoveram uma adsorção de MCYST-LR de 200 μ g/mg e 22 μ g/mg, respectivamente. Foi observado também que a diminuição do pH de 6,5 para 2,5 favoreceu em 100% e 400% a capacidade de adsorção dos carvões ativados do endocarpo do coco seco e de madeira.

Recentemente, Pyo e Moon (2005) estudaram a adsorção das MCYST-LR e –RR por fibras de carbono ativado em batelada e coluna de leito fixo. Estes autores observaram que as fibras de carbono ativado, cerca de 30mg, cujas áreas da superfície específica (S_{BET}) variaram de 750 a 1557 m²/g, quando aplicadas a soluções de 1 mg/L de MCYST promoviam uma eficiência de remoção de MCYST-LR de 39,1 a 99,5% enquanto para a MCYST-RR foi de 42,3 a 99,4%. No que tange aos experimentos de dinâmica de adsorção, os autores observaram uma retenção da MCYST-LR no leito de cerca de 0,7µg, após 14 minutos de corrida a uma vazão de 0,05 mL/min. Na exaustão do leito que aconteceu após 300 minutos de corrida observou-se uma capacidade de adsorção de 17 µg/mg.

No ano seguinte, em 2006, Yan et al. avaliaram a remoção de MCYST-LR e –RR por nano tubos de carvões ativados e argilas como sepiolita, caolinita e talco. Os resultados observados mostraram que os nano tubos de carbono ativado com dimensões de 2 a 10 nm apresentaram uma capacidade de adsorção de 14,8 e 5,9 μ g/mg, respectivamente, o que correspondeu a quatro vezes mais àquela observada pelas argilas.

Apesar de ser um adsorvente amplamente utilizado no tratamento de água e em outras aplicações industriais, os carvões ativados não são materiais relativamente baratos. Segundo a Secretária de Comércio do Ministério do Desenvolvimento Indústria e Comércio Exterior, anualmente o Brasil exporta uma média de 1908,507 ton de carvão ativado a um custo médio de US\$ FOB 69,63/ton (livre de custos com transporte) (Figura 1). Contudo, os custos com a importação de 2377,198 ton/ano destes materiais pelo Brasil são em média de US\$ FOB 143,15/ton, duas vezes mais (ALICEWEB, 2006). Neste contexto, identifica-

se a necessidade de desenvolver tecnologias de produção de carvões ativados de qualidade, obtidos, sobretudo de matérias-primas de baixo custo, a fim de substituir estas importações. Sabe-se que mais de um milhão de toneladas de resíduos do setor agro-industrial Brasileiro são gerados anualmente, podendo-se destacar o bagaço de cana de açúcar, casca de coco verde, casca da noz macadâmia e resíduo de madeira de pinus. Recentemente estes resíduos foram explorados como potenciais precursores de carvões ativados, obtendo-se adsorventes de qualidade superior com ASE_{BET} acima de 1000 m²/g (ALBUQUERQUE JUNIOR et al, 2005).



FIGURA 1. Cenário das exportações (a) e importações (b) brasileiras de carvão ativado de 1989 a 06/2006. Disponível em: http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br. Acessado em 24 de Julho d e2006.

Assim, este trabalho teve por objetivo, estudar a cinética e o equilíbrio de adsorção da [D-Leucina¹]MCYST-LR na superfície de carvões ativados produzidos a partir de endocarpo de coco seco, bagaço de cana-de-açúcar e resíduo de madeira de pinus.

2. Materiais e métodos

2.1. Carvões ativados

Três carvões ativados obtidos do resíduo da madeira de pinus (CAPW), bagaço de cana-de-açúcar (CASCB) e endocarpo do coco seco (CACNS) foram produzidos especialmente para este trabalho. Estes carvões foram ativados com vapor d'água a temperaturas próximas à 900 °C. Albuquerque Junior et al. (2005) detalham as condições de preparo destas matérias-primas, de carbonização e ativação, além de suas caracterizações em fase líquida e gasosa. Todos os carvões foram macerados em almofariz de porcelana e passados em peneiras de abertura nominal da malha de 0,075mm. O material passante nesta peneira foi lavado com água desionizada em uma coluna até que a resistividade da água de lavagem igualasse a de entrada (\approx 18,2 MΩ). Estes então foram secos em estufa a 150 °C por no mínimo 3 horas e resfriados em dessecador com sílica gel até temperatura ambiente para posteriores utilizações. Um carvão ativado comercial foi tomado como referência (NORIT 0.8 row SUPRA).

2.1.1. Caracterização dos carvões ativados

2.1.1.1. Adsorção em fase gasosa e líquida: Área da superfície específica, porosidade e índice de azul de metileno.

Todas as amostras de CAP foram desgaseificadas em vácuo a 150 °C até completamente secura. Um analisador de adsorção a gás (modelo NOVA-1200, Quantachrome Corp.) foi usado para medidas de distribuição de poros, volume de poros e área da superfície específica. Assim, dados de isotermas de adsorção de nitrogênio gasoso a –196 °C foram usados para determinar a área da superfície específica utilizando-se o método proposto por Brunauer, Emmet e Teller (S_{BET}). Área de microporos (di $\leq 2,0$ nm) foi obtida pela aplicação do método *t*-plot. O volume total de poros foi determinado convertendo-se em volume líquido o volume adsorvido no ponto de saturação P/P₀ ~ 0,99, enquanto que os volumes de microporos (di < 2,0 nm) e microporos primários (d_i < 0,8 nm) foram calculados no ponto de intercepto da região linear do *t*-plot após a saturação dos microporos e microporos primários, respectivamente. O volume de mesoporos (2,0 nm $< d_i$ 50 nm) foi calculado pela diferença entre o volume total de poros e o volume de microporos, assim como o volume de microporos secundários (0,8 nm $< d_i < 2,0$ nm) foi

calculado pela diferença entre o volume de microporos e o volume de microporos primários (WEBB; ORR, 1997).

Capacidades de adsorção dos carvões ativados em fase líquida foram realizadas tomando-se uma solução padrão 1200 mg/L de azul de metileno tri hidratado (Tabela 1) de acordo com a norma Japanese Industrial Standard (JIS) (JIS-1474, 1991).

Fórmula estrutural	Propriedades	Azul metileno	de
N	Massa molar (g/mol)	284,4ª	
	Volume molar (cm ³ /mol)	241,9	
н,с-и	Comprimento (nm)	1,43	
i cr i CH3 CH3	Profundidade (nm)	0,61	
	Espessura (nm)	~0,4	

TABELA 1. Propriedades químicas da molécula de azul de metileno.

^a Não incluiu o íon cloro associado. (PELEKANI; SNOEYINK, 2000).

2.2. Extrato de microcistinas como adsorbato

Para o estudo da cinética e equilíbrio de adsorção da [D-Leucina¹]MCYST-LR pelos CAP foi preparado um extrato bruto de microcistinas obtidas a partir de uma cepa tóxica de *Microcystis spp.*, o qual continha uma mistura de quatro microcistinas, sendo cerca de 90% foi composto por aquela toxina (ALBUQUERQUE JUNIOR; MELO; FRANCO, 2005). A [D-Leucina¹]MCYST-LR já foi isolada e identificada em duas regiões brasileira: Lagoa dos Patos, RS (MATTHIENSEN et al., 2000) e Lagoa de Jacarepaguá, RJ (OLIVEIRA, 2005). Um inóculo de uma cepa desta cianobactéria (NPLJ-4), isolada da Lagoa de Jacarépaguá foi fornecido pelo Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho - Universidade Federal do Rio de Janeiro (LECT-UFRJ) e cultivado no Laboratório de Hidráulica e Saneamento da Escola de engenharia de São Carlos, USP. Estes cultivos foram realizados em meio ASM-1, sob aeração, temperatura de 22 ± 1 °C, foto-período de 12h e intensidade luminosa da ordem de 55 (µE. m⁻².s⁻¹). Após atingir a fase estacionária com 15 a 20 dias de crescimento e densidade celular da ordem de 10⁷ cel/mL, as culturas foram submetidas ao processo de gelo e degelo (três vezes) para promover a lise celular e liberação das microcistinas intracelulares para o meio (KURODA et al., 2005). No Laboratório de Engenharia Bioquímica da Faculdade de Engenharia Química da UNICAMP, após o processo de gelo/degelo, o extrato celular foi centrifugado a 9000 g por 10 minutos a 0 °C. O material sobrenadante da etapa de centrifugação foi filtrado em membrana PVDF de abertura 0,2 μ m (millex, millipore, EUA) para separação de material suspenso que ainda pudesse estar no meio. Após homogeneização dos extratos, estes foram divididos em alíquotas de 1L (E1) e mantidos a -20 °C.

A solução de adsorbato, o extrato de microcistinas com concentrações próximas a 10000 μ g/L, foi preparado concentrando-se em evaporador rotativo à vácuo e temperatura de 45 °C o concentrado (E1). O resíduo foi re-suspendido em tampão fosfato (pH 7,0) preparado com água livre de cloro, passados em membrana 0,2 μ m e então utilizado nos experimentos de cinética e equilíbrio de adsorção (E2). De acordo com Lawton, Edwards e Codd (1994), para preparar a água potável livre de cloro, 100 μ L de uma solução (0,1 g/L) de sulfito de sódio preparada com água desionizada, foi adicionado a cada 500 mL de água clorada (água de torneira). Esta mistura foi agitada e descansada por 24 h para então ser utilizada no preparo da solução de adsorbato.

2.3. Análise de [D-Leucina¹]MCYST-LR em água

Um determinação prévia dos pesos moleculares das MCYSTs por MALDI-TOF e de suas composições no extrato utilizado nos experimentos de adsorção por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de fase reversa (CLAE), confirmou a presença de [D-Leucina¹]MCYST-LR numa proporção de 90% (p/p) em relação as outras toxinas (ALBUQUERQUE JUNIOR; MELO; FRANCO, 2005). Pela sua predominância, nos experimentos de adsorção, apenas esta toxina foi tomada para a medição da sua concentração nos experimentos de cinética e equilíbrio de adsorção dos carvões. Assim, a análise desta toxina foi realizada por CLAE, cujo sistema (Waters, EUA) consistiu de uma bomba modelo 515, injetor automático modelo 717 plus, detector de absorbância/UV modelo 486. Para aquisição dos dados foi utilizado software Millenium32 v. 3.05.01. A fase estacionária foi composta de uma coluna analítica de C18 (3,9 x 150,0 mm, 5,0 μm, 3,0 nm) também da Waters. Enquanto isso, a fase móvel foi constituída por ACN + TFA

0,05% (v/v) e água + TFA 0,05% (v/v) (35:65 v/v), percolada pela coluna a um fluxo de 0,7 mL/min e a uma temperatura média de 22 °C. As concentrações de [D-Leucina¹]MCYST-LR em cada alíquota retirada nos experimentos de cinética e subseqüentemente de equilíbrio de adsorção foi determinada por comparação da área do pico com aquele do padrão de referência de MCYST-LR.

2.4. Remoção de [D-Leucina¹]MCYST-LR por carvão ativado

2.4.1 Experimentos em batelada

2.4.1.1. Taxa de adsorção

Prevendo-se a quantificação da evolução cinética do processo de adsorção da [D-Leucina¹IMCYST-LR pelos carvões ativados pulverizados da madeira de pinus, bagaço de cana de acúcar, endocarpo do coco seco, empregou-se o método da imersão em banho finito (RUTHVEN; GODDARD, 1986; AZEVEDO, 1993). Assim, em cada experimento foram pesados de $2,0 \pm 0,1$ mg a 5 mg dos CAP da madeira de pinus, bagaço de cana de açúcar e endocarpo do coco seco, perfazendo-se uma concentração final destes adsorventes em solução de 200 mg/L, 500 mg/L e 1000 mg/L, respectivamente. A estes frascos foram adicionados o extrato E2, de concentração inicial de [D-Leucina¹]MCYST-LR de 6300 µg/L, e 11090 µg/L, dependendo do carvão estudado. Os frascos foram então lacrados e agitados em "shaker" orbital a 25 ± 1 °C numa velocidade de agitação de 260 órbitas por minuto. Destes frascos, alíquotas de 1mL foram retiradas em tempos de 5 segaté 60 min para o referido estudo. Estas amostras foram passadas em filtros para seringa (millex, 0,45 um, millipore, EUA) para remoção de material particulado, e a concentração residual de toxina em solução para cada tempo, foi determinada por CLAE usando detector de UV a 238 nm. Os ensaios foram realizados em triplicata e a quantidade da toxina adsorvida sobre a superfície dos carvões (q) foi calculada a partir de $q = \frac{(C - C_o)V}{m}$, cujo q foi dado em (µg de toxina adsorvida/mg de CAP), C_{θ} e C são as concentrações iniciais e residuais da toxina

na fase líquida, V é o volume da solução e m a massa de adsorvente.

2.4.1.2. Equilíbrio de adsorção

Partindo-se dos resultados do estudo da evolução cinética para os carvões ativados pulverizados de pinus e bagaço de cana de açúcar, por serem mais mesoporosos do que o carvão ativado do endocarpo do coco seco, foi possível estimar a capacidade de adsorção destes carvões para a [D-Leucina¹]MCYST-LR. Assim, os experimentos de equilíbrio de adsorção foram realizados em frascos âmbares de 15,0 mL com tampa de rosca, aos quais foram adicionados um volume do extrato (E2) de até 10 mL com uma concentração inicial daquela toxina de 6500 μ g/L e 10000 μ g/L, para os carvões de pinus e bagaço, respectivamente. A concentração de carvão nos experimentos variou de 0,5 mg/L a 700 mg/L, sendo obtidas a partir de uma suspensão do mesmo de concentração inicial 1000 mg/L. O sistema carvão/toxina foi agitado numa velocidade de 260 órbitas por minuto a 25 \pm 1 °C até o tempo necessário para que o equilíbrio fosse atingido, quando então uma alíquota de 1mL de cada amostra foi retirada, passada em filtro millex 0,45 μ m e reservada para determinação da concentração residual da toxina no equilíbrio por CLAE. Os experimentos foram realizados em triplicata e os dados experimentais foram ajustados aos modelos linearizados de Freundlich e Langmuir.

3. Resultados e discussões

Devido a sua popularidade e relativa eficiência, o carvão ativado é um dos adsorventes mais utilizados na maioria dos processos de separação por adsorção. Contudo, a escolha de carvão para um determinado processo é um problema considerado, haja vista que em muitos casos este adsorvente é adquirido levando-se em consideração a área de sua superfície específica (S_{BET}), índice de iodo ou número de fenol. Com relação a carvões ativados para adsorção de microcistinas, Donati et al. (1994) mostraram que estes parâmetros de efetividade não tinham correlação com a capacidade de adsorção de um carvão em adsorver contaminantes de água para consumo como as microcistinas, devendo assim outros parâmetros ser levados em consideração, tais como volume de mesoporos.

De acordo com suas estruturas, as microcistinas são moléculas relativamente grandes, possuem massa molar entre 800 e 1100 Da, além de serem constituídas por aminoácidos o que confere a estas moléculas um caráter hidrofóbico quando em meio aquoso. Neste sentido, a seleção correta de um carvão ativado para remoção de microcistinas em água devem ser levadas em consideração as características físicoquímicas daquelas toxinas e as propriedades físicas e químicas daquele adsorvente.

Fórmula estrutural MCYST-LR	Fórmula estrutural [D-Leucina ¹]MCYST-LR			
a NG NG NG NG NG NG NG NG NG NG	$\begin{array}{c} b \\ Adda^4 \\ H \\ OCH_1 \\ H \\ OH_2 \\ CH_3 \\ CH_3 \\ H \\ $	$\begin{array}{c} & Mdha^2 \\ & CH_3 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ $		
LD ₅₀	50µg/kg	200µg/kg		
Massamolar (g/mol)	994,56 ^b	1037,252 ^b		
Volume molar (cm ³ /mol), 20°C	729,3±5,0 ^b	813,1±7,0 ^b		
Massa especifica (d ²⁰ cm ³ /g)	1,29±0,1 ^b	1,27±0,1 ^b		
Comprimento (nm)	1,9°			
Altura (nm)	1,5 [°]			
Espessura (nm)	1,1 ^c			
Volume solvatado (cm ³)	2,63 ^c			
Área solvatada (nm ²)	1,8°			
Carga a pH 6,5-8,0	$-1(\& +)^d$	$-1(&+)^{d}$		

TABELA 2. Propriedades físicas e químicas da molécula da [D-Leucina¹]MCYST-LR.

^a Fórmula estrutural da [D-Leucina¹]MCYST-LR (MATTHIENSEN et al., 2001). ^b Calculado a partir do programa ACD/ChemSketch, V5.2. ^c (LANARAS et al., 1991). ^d (COOK; NEWCOMBE, 2002). A estrutura química da [D-Leucina¹]MCYST-LR assemelha-se muito a da MCYST-LR, se não fosse observada a substituição do resíduo de aminoácido D-Alanina na posição l pelo resíduo de aminoácido D-Leucina nesta mesma posição, o que confere a [D-Leucina¹]MCYST-LR um peso molecular de 1037,25 g/mol, 4,22% a mais do que a sua variante a MCYST-LR que possui massamolar de 995,17 g/mol. Assim, mesmo com propriedades físicas e estruturas tão próximas, as mesmas apresentam propriedades químicas distintas tal como coeficientes de partição (k_{ow}) e hidrofobicidade. Percebe-se pela sua estrutura que a [D-Leucina¹]MCYST-LR é mais hidrofóbica do que a MCYST-LR (NAMIKOSHI et al., 2001).

3.1. Caracterização dos carvões ativados

Uma estimativa da porosidade de um carvão ativado pode ser feita a partir de um levantamento de isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio gasoso. Nelas é possível predizer a micro ou mesoporosidade deste adsorvente pela sua forma e tipo, segundo a classificação de Brunauer, Deming, Deming e Teller (BDDT) (GREGG; SING, 1982).

Todos os carvões exibiram um aumento clássico da afinidade de adsorção por nitrogênio a pressões relativas (P/P₀) bem abaixo de 0,01, indicando a presença de microporos nestes materiais (Figura 2). Todavia, a contribuição dos mesoporos nestes materiais fez com que todas as isotermas fossem classificadas como sendo do tipo IV, pois a típica exibição do fenômeno de histerese de dessorção em toda a faixa de pressão relativa $0,4 < P/P_0 < 1,0$ confirma a presença dos mesmos na superfície dos carvões.



FIGURA 2. Isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio gasoso pelos carvões ativados de pinus (a), bagaço de cana-de-açúcar, endocarpo do coco seco (c) e comercial - NORIT 0,8 row SUPER (d).

A partir de uma análise mais detalhada dos dados obtidos da adsorção de nitrogênio gasoso foi possível estimar a área da superfície específica (S_{BET}) dos carvões, além da contribuição de microporos primários, microporos secundários e mesoporos na porosidade total dos carvões (Tabela 3).

3000Disector

			Volume de poros / cm ³ /g			
Carvão	\mathbf{S}_{BET}	IAM	Microporo	Microporo		
ativado	(m^2/g)	(cm^3/g)	primário	secundário	Microporo	Mesoporo
PWW	1550,1	0,252	0 (0,0)	0,35 (24,3)	0,35 (24,3)*	1,06 (75,7)
SCB	1174,3	0,181	0,10 (22,2)	0,35 (77,8)	0,45 (48,7)	0,39 (51,3)
CS	1090	0,077	0,08 (22,2)	0,28 (77,8)	0,36 (63,2)	0,21 (36,8)
NORIT	956,0	0,086	0,00 (0,0)	0,41 (100.0)	0,41 (71,7)	0,17 (29,3)

TABELA 3. Características físicas dos carvões ativados.

*fração volumétrica. S_{BET} = Área da superfície específica a partir do método de BET, IAM = Índice de azul de metileno.

Uma primeira discussão a partir dos resultados da tabela 3 com relação as propriedades físicas dos carvões é dada em relação a adsorção de azul de metileno. Em trabalhos prévios desenvolvidos por Albuquerque Junior et al (2005) foi identificada a existência de uma estreita correlação entre a mesoporosidade + microporosidade secundária nos carvões ativados e a capacidade de adsorção ao azul de metileno, ou seja, quanto maior o volume de poros nestas faixas de poros maior a adsorção de azul de metileno pelo carvão, podendo-se então tomar estes resultados como medida preditiva da efetividade de carvões ativados.

De acordo com Donati et al. (1994) e Pendleton, Schumann e Wong (2001) a remoção de microcistina por um carvão ativado é favorecida pelas propriedades físicas destes materiais tais como volume de microporos secundários e mesoporos. Os carvões ativados provenientes da madeira e do endocarpo do coco seco, os quais estes últimos autores pesquisaram, possuíam volume de microporos secundários na faixa de 0,29-0,33 cm³/g e 0,10-0,13 cm³/g e de mesoporos na faixa de 0,05-0,07 cm³/g e 0,26-0,40 cm³/g, respectivamente (Figura 3).



FIGURA 3. Variação dos volumes de microporos secundários e mesoporos. (Carvões ativados obtidos por Albuquerque Júnior et al. 2005 versus Pendleton, Schumann e Wong, 2001).

Tomando estes resultados como referência, nós observamos que o carvão da madeira de pinus obtido para este trabalho exibiu volume de microporos secundário de 0,35 cm³/g e volume de mesoporos de 1,06 cm³/g, o que representa uma melhora conjunta de poros disponíveis para adsorção de moléculas complexas como as microcistinas em tono de 93,15%. Com relação ao carvão ativado proveniente do endocarpo do coco seco, o qual exibiu volume de microporos secundários de 0,28 cm3/g e volume de mesoporos de 0,21 cm³/g, representando um aumento de 172,22% na quantidade destes poros disponíveis para a adsorção daquelas mesmas moléculas. Como todos os carvões deste trtabalho foram produzidos nas mesmas condições e ativados com vapor d'água tal como dos carvões obtidos por Donati et al. (1994), os resultados encontrados mostraram a dependência do material precursor dos carvões ativados sobre a porosidade dos mesmos. Percebe-se também que em relação as propriedades texturais do carvão comercial, os carvões ativados de madeira de pinus, bagaço de cana-de-açúcar e endocarpo do coco seco estão dentro de uma conformidade podendo ser tomados como potenciais adsorventes para diversas aplicações industriais inclusive o tratamento de água potável visando a remoção de toxinas de cianobactérias como as microcistinas.

3.2. Experimentos de cinética

Para observar a taxa de adsorção da [D-Leucina¹]MCYST-LR sobre os carvões ativados da madeira de pinus, bagaço de cana de açúcar e endocarpo do coco seco, foi utilizado um extrato de microcistinas contendo quatro variantes desta toxina, aonde cerca de 90% em massa deste extrato foi composto pela variante da microcistina, [D-Leucina¹]MCYST-LR. A utilização de um extrato contendo quatro variantes daquela toxina e o preparo deste com água potável permitiram simular as condições encontradas em águas naturais, onde há um ambiente de competição das microcistinas e de outras substâncias pelos sítios ativos do carvão ativado. A concentração inicial da microcistina em estudo no extrato foi de até 11 mg/L, o que faz dela uma concentração muito alta de toxina comparada àquelas encontradas normalmente em florações naturais que é de 50 µg/L (DONATI et al., 1994). As mais altas concentrações de microcistinas dissolvidas em água encontradas em florações naturais de cianobactéria aconteceram em Wisconsin (EUA) (200 μg/L) e na Austrália (1800 μg/L) (McDERMOTT et al, 1995; UENO et al., 1996). No entanto, segundo Sivonen e Jones (1999), concentrações de microcistinas em água bruta de até 25.000 µg/L já foram registradas numa floração natural na Alemanha em 1997. Essas concentrações tão altas de microcistinas também justificam os níveis de microcistina utilizados nos experimentos de cinética e equilíbrio de adsorção deste trabalho, entre 6.000 $\mu g/L e 10.000 \mu g/L$. Além disso, trabalhar em concentrações mais altas nos permitiu medir concentrações no equilíbrio na fase líquida acima do limite de detecção do sistema de CLAE, que no nosso caso foi de 50 µg/L, evitando etapas de concentração de amostra por cartuchos de C18.

Sabe-se que existem poucos padrões de referência de microcistinas comercialmente disponíveis (MCYST -LR, -YR, -RR, -LA, -LW e –LF), implicando que teoricamente apenas a MCYST-LR poderia ser quantificada neste estudo. Contudo, segundo Robillot et al. (2000), as ligações π conjugadas no fragmento de ADDA comum a todas as microcistinas, são responsáveis por suas características de absorção no UV. Assim assumiu-se que o coeficiente de absorbância no UV a 238 nm é idêntico a todas as MCYSTs, com exceção de MCYSTs que contem triptofano e tirosina que podem apresentar picos sobre absorbâncias de 223 e 232 nm, respectivamente, podendo assim a [D-Leucina¹]MCYST-LR ser quantificada pelo padrão de referência de MCYST-LR. É

importante explicar que tal técnica apenas é valida na quantificação de microcistinas análogas, descartando a possibilidade de utilização da mesma na identificação destas toxinas, necessitando de técnicas de espectrometria de massas para tal finalidade.

A evolução da cinética de adsorção da [D-Leucina¹]MCYST-LR sobre a superfície de todos os carvões ativados (CAPW, CASCB e CACNS) mostrou uma rápida taxa de adsorção para todos estes adsorventes no sentido de estabelecer o equilíbrio (Figura 4).





FIGURA 4. (a) Evolução da cinética de adsorção da [D-Leucina¹]MCYST-LR em função do tempo e (b) evolução da concentração da [D-Leucina¹]MCYST-LR na fase líquida em função do tempo. CA bagaço de cana-de-açúcar, CA endocarpo e CA pinus.

Foi observado que após 15 segundos de contato entre a [D-Leucina¹]MCYST-LR c 200mg/L dos carvões foram promovidas eficiências de remoção de 7,40% (CACS endocarpo), 26,47% (CASCB – bagaço) e de 67,04% (CAPW - pinus). A concentração de toxina no equilibrio declinou gradualmente com o tempo até que o equilíbrio de adsorção fosse atingido depois de aproximadamente 15, 15 e 40 minutos para os carvões CAPW, CASCB e CACS, respectivamente, com eficiência de remoção nestes tempos de 62,31% (CACNS), 98,73% (CASCB) e 99,27% (CAPW). Nessas condições, quando o equilíbrio foi estabelecido, pôde-se observar uma adsorção daquela toxina pelos carvões próxima de 30 μg/mg (CACS), 32 μg/mg (CASCB), 55 μg/mg (CAPW).

A eficiência de remoção da [D-Leucina¹]MCYST-LR pelos carvões ativados obtidos de resíduos agrícolas (CAPW, CASCB e CACNS) obtida a partir dos estudos da taxa de adsorção mostraram-se superiores àquela obtida por Donati et al. (1994), quando

estes observaram num carvão ativado de madeira (10.000 μ g/L) uma eficiência de remoção a partir do estudo cinético (taxa de adsorção) de MCYST-LR (padrão, C₀ = 2.800 μ g/L) próxima de 95,53% (água pura) e 82,14% (água de rio)em três horas de contato, atingindo somente após 72h o equilíbrio de adsorção. Nessas condições, quando o equilíbrio foi estabelecido, pôde-se observar uma adsorção daquela toxina pelo carvão estudado pelos autores, próximas a 230 μ g/mg e 215 μ g/mg, dependendo do tipo de água utilizado nos estudos.

Recentemente, duas pesquisas foram publicadas aonde a taxa de adsorção de MYCST-LR (padrão) em materiais carbonosos ativados foi estudada. No primeiro destes trabalhos, Pyu e Moon (2005) estudaram a utilização de fibras sintéticas de carbono ativado na remoção de MCYST-LR, e observaram que uma solução de concentração inicial desta toxina a 1 mg/L após 5 minutos de contato, com cerca de 31 g/L daquelas fibras, promovia uma remoção de até 97% da toxina em solução. Este tempo foi considerado pelos autores como sendo o tempo de equilíbrio de adsorção, sendo observado neste tempo, uma adsorção de 0,0321µg/mg daquela toxina pela melhor fibra, o que foi o mais baixo já descrito pela literatura. No segundo estudo e mais recente, Yan et al. (2006) mostraram que uma solução de C₀ = 9.600 µg/L desta toxina quando tratada com nano tubos de carbono ativado (1 g/L) de diâmetro entre 2 e 10 nm diminuía sua concentração para 3.700 µg/L após ter atingido o equilíbrio em 24 horas de contato, promovendo assim uma remoção de 61,46%. Nesse tempo de equilíbrio os autores observaram uma adsorção da toxina pelos nano tubo de carbono ativado entre 4,5 µg/mg e 5,9 µg/mg.

Um outro estudo relevante sobre a adsorção de microcistinas em carvão ativado foi publicado por Kuroda et al. (2005). Neste trabalho os autores estudaram o equilíbrio de adsorção de um extrato de microcistinas contendo [D-Leucina¹]MCYST-LR sobre a superfície de dois carvões ativados comerciais comumente utilizados em estações de tratamento de água. Sob as condições experimentais estabelecidas pelos autores, foi observada uma adsorção daquela toxina nos carvões de até 10,7 µg/mg.

Todos estes resultados descritos na literatura sobre a remoção de MCYST em água a partir de carvões ativados comerciais fornecem resultados de eficiência de remoção desta toxina inferiores ou próximos daqueles obtidos pelos carvões ativados do bagaço de canade-açúcar, endocarpo do coco seco e resíduo de madeira de pinus produzidos para este trabalho; o que faz destes carvões potenciais adsorventes para utilização em tratamento de água potável visando a remoção de MCYSTs e de outros compostos prejudiciais a saúde humana.

3.3. Equilíbrio de adsorção

A distribuição do adsorbato, [D-Leucina¹]MCYSR-LR, entre a fase fluida e a adsorvida envolve um equilíbrio de fases, que é governado pelos princípios da termodinâmica. Dados de equilíbrio são geralmente descritos na forma de isotermas, que são diagramas mostrando a variação da concentração de equilíbrio no sólido adsorvente com a pressão parcial ou concentração da fase fluida, em uma temperatura específica. A determinação experimental das isotermas é o primeiro passo no estudo de um novo sistema adsorbato/adsorvente. A informação daí retirada é importante na estimativa da quantidade total de adsorvente necessária para um dado processo e conseqüentemente no dimensionamento dos equipamentos a serem utilizados nos mesmos (RUTHVEN, 1984).

O levantamento das isotermas de equilíbrio de adsorção de [D-Leucina¹]MCYST-LR na superfície dos carvões ativados da madeira de pinus (Figura 5a) e do bagaço de canade-açúcar (Figura 5b) mostraram uma variação de suas capacidades de adsorção dependente sobretudo das suas características físicas (Tabela3).



FIGURA 5. Equilíbrio de adsorção de [D-Leucina¹]MCYST-LR na superfície dos carvões ativados: (a) madeira de pinus e (b) bagaço de cana-de-açúcar.

Tal como observado por Donati et al. (1994) e Pendleton, Schumann e Wong (2001) a capacidade de carvões ativados em adsorver microcistinas foi dependente do volume de microporos secundários e mesoporos nos adsorventes estudados. Observamos que o comportamento de adsorção nos carvões CAPW (pinus) e CASCB (bagaço) seguiram a mesma tendência descrita por aqueles autores, quanto maior fosse o volume de microporos secundários e mesoporos num carvão maior seria sua capacidade em adsorver microcistinas. Realmente, ao somarmos os volumes de microporos secundários e mesoporos nos CAPW e CASCB estes são de 1,40 cm³/g e 0,74 cm³/g, o que explica o porquê que primeiro carvão mostrou mais afinidade de adsorção por aquela toxina do que o outro carvão.

Não podemos desconsiderar as interações dos grupos funcionais de superfície destes adsorventes sobre a adsorção daquela toxina. Para a faixa de pH próxima da qual trabalhamos em nossos experimentos (\approx 6-8.5) é esperado que a [D-Leucina¹]MCYST-LR em solução, apresente uma diferença de carga "-1" (- - & +) resultante da dissociação dos grupamentos carboxílicos (COO⁻) no D-glutamato e ácido D-eritro- β -metilaspartico. A carga positiva é devido à protonização do grupamento aminoácido básico NH⁺ na arginina. Estas diferenças podem resultar em diferentes características de adsorção. Uma investigação prévia da superfície destes dois carvões estudados por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourrier (FTIR) mostrou que a superfície dos mesmos apresentou grupos funcionais de caráter ácido (ALBUQUERQUE JUNIOR et al., 2005). Na mesma faixa de pH acima, os grupamentos de superfície dos carvões também se dissociariam fazendo com que os mesmos tivessem afinidade por aqueles grupamentos positivos da microcistina. Tal prerrogativa faria pensar que a adsorção de tal toxina na superfície dos carvões seria por interações eletrostáticas.

Os dados experimentais foram ajustados aos modelos linearizados de Langmuir (Figura 6a e 6b) e Freundlich (Figura 7a e7b).



(a)



(b)

FIGURA 6. Ajuste dos dados experimentais da adsorção de [D-Leucina¹]MCYST-LR pelos carvões ativados da madeira de pinus (a) e bagaço de cana-de-açúcar (b) ao modelo de Langmuir linearizado.

Segundo Webb e Orr (1997), o modelo de Langmuir na forma linearizada é freqüentemente o mais utilizado e pode ser expresso como

$$\frac{\mathbf{C}_{c}}{\mathbf{q}} = \frac{1}{\mathbf{q}_{m}\mathbf{k}_{L}} + \frac{\mathbf{C}_{c}}{\mathbf{q}_{m}} \tag{01}$$

sendo q é a quantidade adsorvida de [D-Leucina¹]MCYST-LR por massa de adsorvente, C_e a concentração de toxina na solução após o equilíbrio, q_m e k_L são constantes, sendo k_L a constante de equilíbrio e q_m a quantidade máxima de toxina adsorvida em monocamada.

TABELA 4. Parâmetros do modelo de Langmuir e Freundlich.

	Model	o de Langmuir		Mode	Modelo de Freundlich	
Carvão ativado	R_{L}^{2}	<i>k</i> _{<i>L</i>} (L/mg)	q_m (µg/mg)	R_{F}^{2}	<i>k_F</i> (L/mg)	1/n / n
CAPW	0,98	2,23	200,0	0,92	1,73	2,07 / 0,48
CASCB	0,97	1,33	161,3	0,90	1,55	1,79 / 0,55

Os valores das constantes do modelo de Langmuir, $q_m e k_L$, foram estimados a partir da inclinação e intercepto do gráfico C_e/q versus C_e. Os coeficientes de correlação, $R_L^2>0,97$, observados para ambos os carvões (CAPW e CASCB) demonstraram um bom ajuste dos dados experimentais com o modelo de Langmuir (Tabela 4). De acordo com Özcan e Özcan (2004) isto é indicativo de que as moléculas da [D-Leucina¹]MCYST-LR estão sendo adsorvidas e aderindo-se à superfície do adsorvente em sítios definidos e localizados, com adsorção em monocamada numa superfície homogênea; observando-se que em cada sítio pode acomodar uma, e somente uma, molécula de [D-Leucina¹]MCYST-LR, e a energia desta é a mesma em todos os sítios da superfície, não dependendo da presença ou ausência de outras destas moléculas adsorvidas nos sítios vizinhos.




(b)

FIGURA 7. Ajuste dos dados experimentais da adsorção de [D-Leucina¹]MCYST-LR pelos carvões ativados da madeira de pinus (a) e bagaço de cana-de-açúcar (b) ao modelo de Freundlich linearizado.

Os dados experimentais também foram ajustados ao modelo de Freundlich (Figura 7), puramente empírico, que corresponde a uma superfície heterogênea do adsorvente. A equação de Freundlich é empregada para descrever adsorção reversível e não é restrita a formação de monocamada (WEBB; ORR JR, 1997). O referido modelo na sua forma linearizada é dado pela equação

$$Log(Q) = Log(\mathbf{k}_{F}) + 1/n Log(\mathbf{C}_{c})$$
(02)

sendo k_F e n_F são as constantes deste modelo e mostram a capacidade relativa e a intensidade da adsorção, respectivamente. A constante n_F também é considerada uma medida de linearidade, haja vista que valores de n muito maior que 1 reflete adsorção favorável, ao contrário de n menor que 1 que indica que as forças de adsorção são fracas tornando-se não favorável (TSAI; LAI; HSIEN, 2003; JIANG; COOPER; OUKI, 2002; ÖZCAN; ERDEM; ÖZCAN, 2004).

Um gráfico de Log(Q) versus $Log(C_e)$ fornece uma linha reta de inclinação (1/n) e intercepto $Log(k_F)$. Apesar de ter sido observado coeficientes de correlação (\mathbb{R}^2) não tão bons quanto àqueles obtidos do ajuste dos dados experimentais ao modelo de Langmuir, os dados quando ajustados ao modelo de Freundlich apresentaram um coeficiente de correlação (\mathbb{R}^2) acima de 0,90.

Donati et al. (1994) avaliaram carvões ativados de madeira para adsorção de MCYST-LR em água pura e água de rio. Seus dados experimentais foram ajustados ao modelo de Langmuir, cuja capacidade máxima de adsorção na monocamada destes carvões de madeira foi de 220 µg/mg (água pura) e 280 µg/mg (água de rio). Nestes dois carvões o volume de mesoporos foi de 0,27 cm³/g e 0,40 cm³/g, respectivamente. Neste trabalho, pela primeira vez, esta faixa de poros num carvão ativado é associada a efetividade de adsorção de um carvão ativado para remoção de MCYST-LR. A mesma conclusão a respeito da mesoporosidade dos carvões ativados foi obtida por Pendleton, Schumann e Wong (2001) quando avaliaram a remoção de MCYST-LR por carvões ativados de madeira e endocarpo de coco seco. Em seus resultados puderam ser observados que aqueles carvões que obtiveram maior volume de mesoporos proporcionalmente promoveram uma maior

remoção daquela toxina em água. Além disso, estes autores incluíram uma pequena faixa de poros existentes na superfície dos carvões ativados que juntamente com os mesoporos contribuíam para adsorção daquela toxina em água, os denominados microporos secundários.

Nos trabalhos desenvolvidos por Pendleton, Schumann e Wong (2001) os carvões ativados de madeira, quimicamente ativados, apresentaram adsorção em monocamada entre 172 µg/mg e 204 µg/mg. Neste estudo, os autores variaram a concentração inicial de MCYST-LR nos experimentos utilizando CAP da madeira entre 0,07 mg/L e 3,03 mg/L. A concentração de carvão ativado em todos os seus experimentos foi de aproximadamente 8mg/L. Os autores não fizeram um estudo de cinética para determinar o tempo de equilíbrio, simplesmente deixaram os frascos contendo MCYST-LR e carvão por um período de 72 h, quando então determinaram a concentração de toxina no equilíbrio e a capacidade de adsorção dos carvões.

Em nossos experimentos foi utilizado um extrato de microcistinas, contendo quatro variantes desta toxina, aonde em sua maioria era composta pela [D-Leucina¹]MCYST-LR, diferentemente do autores anteriores que utilizaram uma solução de MCYST-LR preparada a partir de um padrão puro de referência. Também em nossos experimentos foi adotada uma concentração de carvão ativado mais baixa, abaixo de 1 mg/L.

Alguns anos antes, Mohamed et al. (1998) também tinham avaliado carvões ativados em pó e granulados comerciais de madeira como potenciais adsorventes para remoção de MCYSTs de água. Os seus dados experimentais após terem sido ajustados ao modelo de Freundlich revelaram uma capacidade relativa de adsorção (K_F) entre 0,5012 L/mg e 6,309 L/mg (PAC, MCYSTs RR, YR e WR) e entre 0,015 L/mg e 1,259 L/mg (CAG, MCYSTs, LR e LHarg). A massa de carvão utilizada pelos autores variou entre 100 mg e 500 mg por litro de solução contendo uma concentração inicial daquelas toxinas de 2 mg/L. O tempo de contato utilizado por eles foi de 7 dias.

Quando os dados experimentais da adsorção da [D-Leucina¹]MCYST-LR pelos carvões ativados do bagaço de cana-de-açúcar e madeira de pinus foram ajustados ao modelo de linearizado de Freundlich (Tabela 5), percebemos a boa afinidade destes carvões

pela toxina em estudo quando comparado aos resultados obtidos por Mohamed et al. (1998) o qual utilizou um extrato contendo até 3 variantes de MCYSTs.

A partir dos parâmetros do modelo de Freundlich (Tabela 5) é possível estimar a concentração de carvão ativado de pinus e bagaço necessárias para remover microcistina dissolvida em água até o limite estabelecido pela portaria MS 518 do Ministério da Saúde no Brasil que é de 1 µg/L. Assim, numa simulação, se a fonte de água utilizada para obtenção de água potável a concentração de microcistinas for de 10 µg/L; para remover esta quantidade de toxina até aquele limite de 1 µg/L (remoção de 90%.) seriam necessárias aplicações daqueles carvões em concentrações de 5,2 mg/L e 5,8 mg/L ($K_f = 1,73$ L/mg e 1/n = 2,74 (CAPW), $K_f = 1,73$ L/mg e 1/n = 2,74 (CASCB)).

4. Conclusões

Neste estudo, carvões ativados pulverizados obtidos de biomassa de resíduos de endocarpo do coco seco, bagaço de cana de açúcar e madeira de pinus, além de um carvão ativado comercial foram avaliados quanto a sua porosidade a partir de estudos de adsorção em fase gasosa com N2 gasoso. Os resultados mostraram que os carvões de pinus e bagaço exibiram maiores volumes de microporos secundários e mesoporos, enquanto o carvão de endocarpo do coco exibiu características microporosas. Estes três carvões foram avaliados quanto a sua eficiência na remoção de uma hepatotoxina de cianobactéria, [D-Leucina¹]MCYST-LR, contida num extrato de *Microcystis sp.* Os estudos de cinética de adsorção desta toxina pelos respectivos carvões revelaram eficiências de remoção de 62,31% (CACS), 98,73% (CASCB) e 99,27% (CAPW) num tempo de contato de aproximadamente 10, 10 e 40 minutos para os carvões CAPW (pinus), CASCB (bagaço) e CACS (endocarpo). Destes três carvões, apenas os dois carvões mais mesoporosos foram tomados para o estudo do equilíbrio de adsorção. Assim, os carvões do bagaço de cana de açúcar e pinus apresentaram adsorção em monocamada de 161,3 µg/mg e 200,0 µg/mg. Estes resultados quando comparados com aqueles obtidos na literatura nos dão uma idéia do perfil de carvão que deve ser utilizado em estações de tratamento de água para remoção de contaminantes tais como as microcistinas, que deve ter um volume de microporos secundários acima de $0,35 \text{ cm}^3/\text{g}$ e volume de mesoporos acima $0,40 \text{ cm}^3/\text{g}$.

4. Referências

ALBUQUERQUE JUNIOR, E C.; MENDEZ, M. O.; COUTINHO, A. R.; FRANCO, T. T. Production and characterization of physically activated carbon from Brazilian agricultural and industrial residues. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CARBONO, 3., 2005, Rio de Janeiro. Anais do III Congresso Brasileiro de Carbono. Rio de Janeiro: Centro tecnológico do exército (CTEx), PETROBRAS, 2005, p. 401-410.

ALBUQUERQUE JUNIOR, E. C; MELO, L. F. C.; FRANCO, T. T. Extração e purificação analítica de um heptapeptídeo cíclico hepatotóxico ([D-Leucina¹] microcistina-LR) produzida pela cianobactéria *microcystis sp.* utilizando colunas de C4 e C18. In: Simpósio Nacional de Bioprocessos, 15, 2005, Recife. Anais do XV Simpósio Nacional de Bioprocessos. Recife: UFPE, 2005. TAG Multimídia e Sistemas, 1 CD ROM.

AZEVEDO, D. C. S. Estudo cinético e termodinâmico de adsorção para o sistema etanolágua sobre zeolita 3A. Dissertação de Mestrado, UFScar / PPG-EQ, São Carlos-SP, 195p., 1993.

AZEVEDO, S. M. F. O. New Brazilian regulation for cyanobacteria and cyanotoxins in drinking water. In: International Conference on Toxic Cyanobacteria, 5, 2001, Noosa, Australia. Proceedings of the Fifth International Conference on Toxic Cyanobacteria, Noosa, Australia.

BEASLEY, V. R.; COOK, W. O.; DAHLEM, A. M.; HOOSER, S. B.; LOVELL, R. A.; VALENTINE, W. M. Intoxication in livestock and water fowl. Clinical Toxicology - Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice, v. 5, p. 345-361, 1989.

CARMICHAEL, W.W.; AZEVEDO, S.M.F.O.; AN, J.S.; MOLICA, R.J.R.; JOCHIMSEN, E.M.; LAU, S.; RINEHART, K.L.; SHAW, G.R.; EAGLESHAM, G.K. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. Environ Health Perspect, v. 109, p. 663-668, 2001

CONTI, A. L. R.; GUERRERO, J. M.; REGUEIRA, J. M. Levels of microcystins in two Argentinean reservoirs used for water supply and recreation: Differences in the implementation of safe levels. **Environmental Toxicology**, v. 20, n. 3, p. 263-269, JUN 2005.

COOK, D.; NEWCOMBE, G. Removal of Microcystin Variants with Powdered Activated Carbon. In: IWA World Water Congress, 3, 2002, Melbourne. Proceedings of the IWA 3rd World Water Congress. Melbourne: April 2002.

DONATI, C.; DRIKAS, M.; HAYES, R.; NEWCOMBE, G. Mycrocystin-LR adsorption by powdered activated carbon. Water Research, v. 28, n. 8, p. 1735-1742, 1994.

FALCONER, I. R.; RUNNEGAR, M. T. C.; BUCKLEY, T.; HUYN, V. L.; BRADSHAW, P. Using activated carbon to remove toxicity from drinking water containing cyanobacteria blooms. Journal American of Water Works Association, v. 81, p. 102-105, 1989.

FASTNER, J.; NEUMANN, U.; WIRSING, B.; WECKESSER, J.; WIEDNER, C.; NIXDORF, B.; CHORUS, I. Environmental Toxicology, v. 14, n. 1, p. 13–22, 1999.

FENG, X.G.; DING, Z.; WEI, T.; YUAN, C.W.; FU, D.G. Identification and determination of microcystins in source water and water bloom sample from Meiliang Bay, Taihu Lake, China. **Biomedical and environmental sciences**, v. 19, n. 3, p. 225-231, JUN 2006.

FITZGERALD, D. J.; CUNLIFFE, D.; BURCH, M. Development of health alerts for cyanobacteria and related toxins in drinking water in South Australia. Environmental Toxicology, v. 14, p. 203-209, 1999.

FRAZIER, K.; COLVIN, B.; STYER, E.; HULLINGER, G.; GARCIA, R. Microcystin toxicosis in cattle due to overgrowth of blue-green algae. Vet. Hum. Toxicol., v. 40, n. 1, p. 23-24, 1998.

FUNARI, E.; CAVALIERI, M.; ADE, P.; BARONE, R.; GARIBALDI, L.; POMATI, F.; ROSSETTI, C.; SANANGELANTONI, A.M.; SECHI, N.; TARTARI, G.; VENTURA, S. Environmental and health problems of cyanobacteria blooms in surface waters in reference to the Italian situation. Annali di igiene: medicina preventiva e di comunità, v. 12, n. 5, p. 381-400, SEP-OCT 2000.

GREGG, S. J.; SING, K. S. W. Adsorption, Surface Area and Porosity. Academic Press, London; 1982. 371p.

HEALTH CANADA, 2003. Summary of Guidelines for Canadian Drinking Water Quality. Prepared by the Federal-Provincial-Territorial Committee on Drinking Water of the Federal-Provincial-Territorial Committee on Environmental and Occupational Health. Disponível em: http://www.hc-sc.gc.ca/waterquality. Acessado em Julho de 2006.

HIMBERG, K.; KELJOLA, A. M.; HIISVIRTA, L.; PYYSALO, H.; SIVONEN, K. The effect of water treatment processes on the removal of hepatotoxins from *Microcystis* and *Oscillatoria* cyanobacteria: A laboratory study. **Water Research**, v. 23, n. 8, p. 979-984, 1989.

HOEGER, S. J.; HITZFELD, B. C.; DIETRICH, D. R. Occurrence and elimination of cyanobacterial toxins in drinking water treatment plants. Toxicology and applied pharmacology, v. 203, p. 231–242, 2005.

HOFFMAN, J. R. H. Removal of Microcystins toxins in water purification process. Water S.A., v. 2, n. 2, p. 58-60, 1976.

IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO DE CARVÃO VEGETAL PELO BRASIL. Disponível em: http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br>. Accessado em January 2005.

JACKSON, A., MCINNES, A., FALCONER, I. RUNNEGAR, M. Clinical and pathological changes in sheep experimentally poisoned by the blue-green algae Microcystis aeruginosa. Vet. Pathol., 21, 102-113, 1984.

JAPANESE INDUSTRIAL STANDARD, Tokyo. JIS K 1474; Test methods for activated carbon. Japanese Standards Association. Japão, 1992.

JIANG, J.Q.; COOPER, C.; OUKI, S. Comparison of modified montmorillonite adsorbents: Part I: preparation, characterization and phenol adsorption. **Chemosphere**, v. 47, .n. 7, p. 711–716, MAY 2002.

KEIJOLA, A. M.; HIMBERG, K.; ESALA, A. L.; SIVONEN, K., HIISVIRTA, L. Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: Laboratory and pilot scale experiments. **Toxicity assessment international journal**, v. 3, p. 643-656, 1988.

KURODA, E. K.; ALBUQUERQUE JÚNIOR, E. C.; DI BERNARDO, L.; TROFINO, J.
C. Caracterização e escolha do tipo de carvão ativado a ser empregado no tratamento de águas contendo microcistinas. Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 23, 2005, Campo Grande. Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Campo Grande: 1 CD ROM.

LANARAS, T.; COOK, C. M.; ERIKSSON, J. E.; MERILUOTO, J. A. O.; HOTOKKA, M. Computer modelling of the 3-dimensional structures of the cyanobacterial hepatotoxins microcystin-LR and nodularin. **Toxicon**, v. 29, n. 7, p.901-906, 1991.

LANDSBERG, J. H. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. **Reviews in Fisheries Science.** v. 10, n. 2, p. 113-390, APRIL-JUNE 2002.

LAWTON, L. A.; EDWARDS, C.; CODD, G. A. Extraction and high-performance liquid chromatographic method for the determination of microcystins in raw and treated waters. **The analyst,** v. 119, p.1525-1530, 1994.

MATSUNAGA, H.; HARADA, K-I.; SENMA, M.; ITO, Y.; YASUDA, N.; USHIDA, S.; KIMURA, Y. Possible cause of unnatural mass death of wild birds in a pond in Nishinomiya, Japan: Sudden appearance of toxic cyanobacteria. Natural toxins, v. 7, n. 2, p. 81-84, 1999.

MATTHIENSEN, A.; BEATTIE, K. A.; YUNES, J. S.; KAYA, K.; CODD, G. A. [D-Leu¹]Microcystin-LR, from the cyanobacterium Microcystis RST 9501 and from a Microcystis bloom in the Patos Lagoon estuary, Brazil. **Phytochemistry**, v. 55, n. 5, p. 383-387, NOVEMBER 2000.

McDERMOTT, C. M.; FEOLA, R.; PLUDE, J. Detection of cyanobacterial toxins (microcystins) in waters of northeastern Wisconsin by a new immunoassay technique. **Toxicon**, v. 33, n. 11, p. 1433-1442, NOVEMBER 1995.

MOHAMED, Z. A.; CARMICHAEL, W. W.; AN, J.; EL-SHAROUNY, H. M. Activated carbon removal efficiency of microcystins in an aqueous cell extract of *Microcystis* aeruginosa and Oscillatoria tenuis strains isolated from Egyptian freshwaters. Environmental toxicology. v. 14, n. 1, p. 197-201, FEB 1999.

OLIVEIRA, A. C. P.; MAGALHÃES, V. F.; SOARES, R. M.; AZEVEDO, S. M. F. O. Influence of drinking water composition on quantitation and biological activity of dissolved microcystin (cyanotoxin). **Environmental toxicology**, v. 20, n. 2, p. 126-130, MARCH 2005. OUDRA, B.; LOUDIKI, M.; SBIYYAA, B.; MARTINS, R.; VASCONCELOS, V.; NAMIKOSHI, N. Isolation, characterization and quantification of microcystins (heptapeptides hepatotoxins) in Microcytis aeruginosa dominated bloom of Lalla Takerkoust lake-reservoir (Morocco). **Toxicon**, v. 39, n. 9, p. 1375-1381 SEP 2001.

ÖZCAN, A. S.; ERDEM, B.; ÖZCAN, A. Adsorption of Acid Blue 193 from aqueous solutions onto Na-bentonite and DTMA-bentonite. Journal of colloid and interface science, v. 280, n. 1, p. 44–54, 1 DEZEMBER 2004.

ÖZCAN, A. S.; OZCAN, A. Adsorption of acid dyes from aqueous solutions onto acidactivated bentonite. Journal of Colloid and Interface Science, v. 276, n. 1, p. 39-46, 2004 Aug 1.

PARK, H.; NAMIKOSHI, M.; BRITTAIN, S. M.; CARMICHAEL, W. W.; MURPHY, T. [D-Leu¹]microcystin-LR, a new microcystin isolated from waterbloom in a Canadian prairie lake. **Toxicon**, v. 39, n. 6, p. 855-862, JUNE 2001.

PELEKANI, C.; SNOEYINK, V. L. Competitive adsorption between atrazine and methylene blue on activated carbon: the importance of pore size distribution. **Carbon**, v. 38, n. 10, p. 1423-1436, 2000.

PENDLETON, P.; SCHUMANN, R.; WONG, S. H. Microcystin LR adsorption by activated carbon. Journal of colloid and interface science, v. 240, n. 1, p. 1-8, AUGUST 2001.

PORTARIA Nº 518, DE 25 de MARÇO DE 2004 - Procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Disponível em:< http://www.cvs.saude.sp.gov.br/>. Acesso em 18 de março de 2005.

PYO, D.; MOON, D. Adsorption of Microcystin LR by Activated Carbon Fibers. Bulletin of the Korean Chemical Society, v. 26, n. 12, p. 2089-2092, 2005

ROBILLOT, C.; VINH, J.; PUISEUX-DAO, S.; HENNION, M.-C. Hepatotoxin Production Kinetics of the Cyanobacterium Microcystis aeruginosa PCC 7820, as Determined by HPLC-Mass Spectrometry and Protein Phosphatase Bioassay. Environmental Science Technology, v. 34, n. 16, p. 3372-3378, AUGUST 15, 2000.

RUTHVEN, D. M. Principles of Adsorption and Adsorption Processes, John Wiley & Sons: New York, 1984.

RUTHVEN, D. M.; GODDARD, G. Sorption and diffusion of C_8 aromatic hidrocarbons in faujasite type zeolites: Equilibrium isotherms and separation factors. **Zeolites**, Vol. 6, p. 275-282, 1986.

SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. D. Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria from Brazil. **Nova Hedwigia**, v. 71, n. 3-4, p. 359-385, 2000.

SCHMIDT, W.; WILLMITZER, H.; BORNMANN, K.; PIETSCH, J. Production of drinking water from raw water containing cyanobacteria-pilot plant studies for assessing the risk of microcystin breakthrough. **Environmental Toxicology**, v. 17, n. 4, p. 375–385, JULE 2002.

SIVONEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial toxins. In: Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. Edited by Ingrid Chorus and Jamie Bartram. 1999. p.55-124.

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. v.114, n.6, p.502-511, 1993.

TSAI, W. T.; LAI, C. W.; HSIEN, K. J. Effect of particle size of activated clay on the adsorption of paraquat from aqueous solution. Journal of colloid and interface science, v. 263, n. 1, p. 29-34, JULY 2003.

UENO, Y.; NAGATA, S.; TSUTSUMI, T.; HASEGAWA, A.; YOSHIDA, F.; SUTTAJIT, M.; PUTSCH, M.; VASCONCELOS, V. Survey of microcystins in environmental water by a highly sensitive immunoassay based on monoclonal antibody. **Natural toxins**, v. 4, n. 2, p. 271-276, MAY 2006.

VASCONCELOS, V. M. Cyanobacterial toxins in Portugal: effects on aquatic animals and risk for human health. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 32, n. 3, p. 249–254, MARCH 1999.

WEBB, P. A.; ORR JR, C. Analytical methods in fine particle technology. Micromeritics Instrument Corp., Norcross, 1997.

World Health Organization. Guidelines for Drinking water Quality, Second Edition, Addendum to Volume 2, Health Criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva. 1998.

YAN, H.; GONG, A.; HE, H.; ZHOU, J.; WEI, Y.; V., L. Adsorption of microcystins by carbon nanotubes. **Chemosphere**, v. 62, n. 1, p. 142–148, JANUARY 2006.

YOO, S.; CARMICHAEL, W. W.; HOEHN, R. C.; HUDEY, S. E. Cyanobacterial (blue green algal) Toxins: A resource guide. American Water Works Association Research Foundation, Denver, Colorado. 1995, 100p.

CAPÍTULO VI

A apresentação deste capítulo corresponde ao artigo a ser submetido ao periódico:

Albuquerque Junior, E.C; Mendez, M.O.; Coutinho, A.R.; Franco, T.T. Propriedades texturais e de adsorção de carvões ativados usados por estações de tratamento de água em centros de hemodiálise. *Dialysis & Transplantation*.

Os incidentes relacionados a contaminação de água por microcistinas no Brasil levou a Agência Nacional de Vigilância Sanitária sob forma resolutiva, regulamentar o funcionamento dos centros de hemodiálise, considerando a necessidade da redução dos riscos os quais pacientes portadores de insuficiência renal crônica ficam exposto aquelas toxinas. Conseqüentemente, os centros de hemodiálise deverão ter a qualidade da água utilizada no preparo de dialisato em conformidade com a portaria GM/MS Nº 518 DE 25 DE MARÇO DE 2004. Assim, para garantir a qualidade de sua água, muitos destes centros de hemodiálise no Brasil vem dispondo dentre outras tecnologias, de filtros de carvões ativados em suas estações de tratamento de água.

Preocupados com a qualidade destes adsorventes, carvões ativados utilizados por duas estações de tratamento de água de dois centros de hemodiálise Brasileiros foram amostrados com objetivo de investigar suas propriedades texturais e de adsorção. Alguns parâmetros comumente utilizados como medidas de efetividades destes adsorventes foram estimadas, tais como número de iodo, área da superfície especifica, índice de azul de metileno, além de sua predição em adsorver microcistinas. Os resultados encontrados foram comparados com aqueles obtidos por carvões ativados de bagaço de cana-de-açúcar e endocarpo do coco seco, especialmente produzidos e caracterizados no capítulo III desta tese.

Propriedades texturais e de adsorção de carvões ativados usados por estações de tratamento de água em centros de hemodiálise

Eden C. Albuquerque Júnior¹; Manoel O. Mendez²; Aparecido R. Coutinho²; Telma T. Franco¹*

^{*1}Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Departamento de Processos Químicos, Laboratório de Engenharia Bioquímica. Caixa postal 6066, 13081-970.

²Universidade Metodista de Piracicaba, Laboratório de Energia e Meio Ambiente. Santa Bárbara D'Oeste - SP. 13450-000.

^{*}Endereço para correspondência. Tel.: +55-19-3521-3966. fax: +55-19-3521-3965. E-mail: franco@feq.unicamp.br

Resumo

Mais de 58.000 brasileiros que recorrem aos serviços especializados em centros de hemodiálise estão expostos anualmente a um volume d'água de até 36.000 litros. Conseqüentemente, se a água usada durante o tratamento de hemodiálise nestes centros não for devidamente tratada, muitos contaminantes químicos, tóxicos e bacteriológicos podem ser transferido aos pacientes, levando ao aparecimento de efeitos adversos, algumas vezes letais. Assim, para garantir a qualidade da água utilizada, filtros de carvão ativado são comumente encontrados em estações de tratamento de água em centros de hemodiálise. Amostras de carvões ativados utilizados por duas estações de tratamento de água em centros de hemodiálise foram tomadas com o objetivo de estudar as propriedades texturais e suas capacidades de adsorção a microcistinas. Os carvões ativados utilizados na estação de tratamento de água do centro de hemodiálise localizado em Recife-PE apresentou área da superfície especifica (S_{BET}) entre 632,8 e 789,5 m^2/g , e volume de mesoporos entre 0,02 e 0,04 cm3/g, ao passo que aqueles carvões ativados amostrados da estação de tratamento d'água do centro de hemodiálise localizado em Campinas-SP apresentou área da superfície específica (S_{BET}) entre 764,9 e 1017,4 m^2/g , e volume de mesoporos entre 0,01 a 0,09 cm³/g. A partir de um estudo da taxa de adsorção da [D-Leucina¹]Microcistina-LR por estes carvões foi observada uma eficiência de remoção desta toxina de até 4,3%, o correspondente a uma quantidade adsorvida de até 1,7µg/mg. Em condições dinâmicas de adsorção em leito fixo dos carvões ativados amostrados, foi observada uma capacidade de adsorção dos mesmos para a [D-Leucina¹]microcistina-LR de 2,07 e 5,43 µg/mg, respectivamente. Dois carvões ativados (provenientes do bagaço de cana-de-açúcar e endocarpo do coco seco) produzidos para este trabalho, tiveram suas características físicas e eficiências de remoção para a mesma toxina de cianobactéria comparadas com aquelas obtidas pelos carvões ativados amostrados. Os resultados permitiram observar a baixa qualidade dos carvões ativados utilizados pelas estações de tratamento de água em centros de hemodiálise brasileiros.

Palavras-chaves: Água para hemodiálise, leito fixo, adsorção, cianobactéria, microcistinas.

1. Introdução

De acordo com o censo da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), em 2004 o Brasil dispunha de 578 centros de hemodiálise, dos quais 289 estavam localizados na região sudeste. Atualmente, mais 58.000 brasileiros recorrem aos serviços destes centros, estando os mesmos expostos a um volume d'água de 18.000 a 36.000 litros por ano (SILVA et al., 1996). Conseqüentemente, se a água usada durante o tratamento de hemodiálise nestes centros não for devidamente tratada, muitos contaminantes químicos, tóxicos e bacteriológicos podem ser transferido aos pacientes, levando ao aparecimento de efeitos adversos, algumas vezes letais (IHLE et al., 1982; ARVANITIDOU, et al., 2000).

A água usada nestes centros de hemodiálise é obtida principalmente da rede pública de abastecimento, e sabe-se que em muitos reservatórios de água brasileiros destinados ao consumo humano, como aqueles localizados nos estados de São Paulo, Paraná e Pernambuco apresentam ou estão propensos a florações tóxicas de cianobactérias (MENDONÇA et al., 1999). O primeiro relato de mortes humanas decorrentes de hepatotoxinas de cianobactérias, mais especificamente as microcistinas-LR, -YR e -AR, ocorreu por exposição intravenosa em uma clínica de hemodiálise na cidade de Caruaru, Pernambuco, em 1996 (CARMICHAEL et al., 2001).

Recentemente, em 2001, um outro incidente envolvendo contaminação de água para hemodiálise por subprodutos de cianobactérias (microcistinas) foi relatado. Uma floração tóxica de cianobactérias com dominância dos gêneros *Microcystis sp. e Anabaena sp.* foi identificada no reservatório do Funil e no rio Guandu, ambos utilizados como fontes de água para abastecimento público na cidade do Rio de Janeiro, RJ. Conseqüentemente, a partir deste episódio, foram detectados na água e no filtro de carvão ativado usados pela estação de tratamento de água do centro de hemodiálise do Hospital Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro, o qual é abastecido pela água do reservatório do Funil e do rio Guandu, concentrações de microcistinas da ordem de 0,4 µg/L e 0,32 µg/L, respectivamente. Em conseqüência deste incidente, um total de 44 pacientes urêmicos que receberam cuidados neste centro de hemodiálise, foram preparo de dialisato, estando até o presente momento sendo monitorados a fim de avaliar uma possível exposição crônica a estas toxinas (SOARES et al., 2006).

Considerando então a necessidade de redefinir os critérios mínimos para o funcionamento e avaliação dos serviços públicos e privados que realizam diálise em pacientes ambulatoriais, portadores de insuficiência renal crônica, bem como os mecanismos de seu monitoramento; além da necessidade de redução dos riscos aos quais ficam expostos os pacientes que se submetem à diálise, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) estabeleceu sob forma resolutiva (RESOLUÇÃO-RDC Nº 154, DE 15 DE JUNHO DE 2004, republicada em 31 de maio de 2006) o regulamento técnico para o funcionamento destes serviços. Assim, sob a qual, ficou estabelecido que a água utilizada na preparação da solução para diálise, dialisato, deve ter a sua qualidade garantida em todas as etapas do seu tratamento, armazenamento e distribuição mediante o monitoramento dos parâmetros microbiológicos e físico-químicos, assim como dos próprios procedimentos de seu tratamento. Por sua vez, a água de abastecimento dos serviços de diálise proveniente da rede pública, de poços artesianos ou de outros mananciais deve ter o seu padrão de potabilidade em conformidade com o disposto na Portaria GM/MS Nº 518 DE 25 DE MARÇO DE 2004, ou de instrumento legal que venha a substituí-la.

Desta maneira, com relação as cianotoxinas, segundo o Art. 14 desta ultima portaria, ficou estabelecido que o limite máximo permitido de microcistinas em água para abastecimento público seja de 1 μ g/L, recomendando-se ainda que as análises para cianotoxinas incluíssem a determinação de cilindrospermopsina e saxitoxinas (STX), observando, respectivamente, os valores limites de 15,0 μ g/L e 3,0 μ g/L de equivalentes STX/L, respectivamente.

Um bom exemplo do monitoramento de cianotoxinas vem sendo realizado nos sistemas de capitação de água que atendem a cidade de São Paulo (sistemas Rio Grande, Alto Tiête e Guarapiranga) por parte da companhia paulista de abastecimento e tratamento de água, SABESP. Verifica-se que embora muitas vezes os níveis de microcistinas estarem abaixo do padrão estabelecido pela portaria MS 518/04, observa-se que as clínicas de hemodiálise que usam água destes sistemas estariam em alerta, visto que a água usada para os fins destes centros precisaria estar com concentrações de microcistinas iguais a zero.

Em um estudo recente, a água utilizada por centros de hemodiálise do estado de São Paulo foi monitorada com relação a microcistinas. O resultado deste estudo mostrou que não havia microcistinas nas amostras analisadas a níveis detectáveis (RUVIERI et al., 2004). Isto é muito positivo para um primeiro monitoramento no estado de São Paulo, o que nos permite concluir que as ações adotadas para o controle de cianobactérias e suas toxinas estão em conformidade com a MS 518/04, que juntamente com a manutenção correta das estações de tratamento de água destes centros constituem medidas preventivas eficientes, garantindo a qualidade da água usada nestas unidades, evitando assim a contaminação de pacientes renais crônicos por microcistinas.

No Brasil, para garantir a qualidade da água usada por pacientes renais, mais de 80% dos quase 600 centros de hemodiálise dispõem de osmose reversa no seu tratamento de água, cerca de 7,5% usam sistemas de desionização, 8,7% usam sistemas integrado de osmose reversa+desionização e 2,1% dispõem de outros sistemas (SBN, 2004).

O carvão ativado granulado (GAC) é usado nos processos de adsorção em leito fixo para remover micropoluentes presentes na água destinada ao consumo humano, tais como pesticidas, agentes químicos industriais, metabólitos secundários de cianobactérias tais como geosmim e 2-metil isoborneol (MIB) que dão gosto e odor à água e de toxinas como as hepatotoxinas (microcistinas) e neurotoxinas (NEWCOMBE, 1999). Conseqüentemente, este adsorvente é muito usado por estações de tratamento de água em centros de hemodiálise associado às outras tecnologias com o objetivo de assegurar a qualidade da água usada nos mesmos.

A capacidade de adsorção de carvões ativados (CA) por compostos presentes na água é influenciada principalmente pela estrutura física e características químicas de superfície destes adsorventes, do seu material precursor e das condições de seu preparo (NEWCOMBE, 1999; KARANFIL et al., 1999). Diferentes grupos de pesquisa têm mostrado que CA com volume de poros desenvolvidos nas regiões de mesoporos e microporos secundários podem ser muito eficientes na remoção de microcistinas (FALCONER et al., 1989; DONATI et al., 1994; BERNAZEAU, 1994; PENDLETON; SCHUMANN; WONG, 2001). Desta maneira, torna-se indispensável estimar a distribuição de poros nestas regiões, seja por meio de adsorção em fase líquida pela utilização de solução de azul de metileno ou em fase gasosa utilizando-se N₂.

O azul de metileno (AM) tem sido muito usado como adsorbato para estimar a capacidade de adsorção de CA a partir de experimentos em batelada ou contínuo em leito fixo (KUMAR; SIVANESAN, 2006; MACEDO et al., 2006; ZHANG; WANG; YAN, 2006). Estudos de equilíbrio de adsorção de AM em carvão ativado podem fornecem informações importantes sobre a seletividade destes adsorventes com relação a esta molécula, haja vista que o AM é acessível aos poros do carvão com diâmetro interno maior que 1,5 nm, sendo importante para caracterização de microporos secundários (0.8 < di < 2.0 nm) e mesoporos ($2 \text{ nm} < d_i < 50 \text{ nm}$) principalmente, além de ser um composto modelo usado para predição da adsorção de contaminantes orgânicos encontrados em efluentes industriais tais como corantes têxteis e microcistinas (BARTON, 1987; BAÇAOUI et al., 2001).

Existe uma preocupação por parte dos centros de hemodiálise com relação a encontrar parâmetros corretos de qualidade que indique a partir destes qual o melhor carvão para utilização em seu processo de tratamento de água. Assim, neste trabalho, técnicas de adsorção em fase líquida e gasosa foram utilizadas com a finalidade de avaliar a capacidade de adsorção de CAG comumente utilizados por estações de tratamento de água de dois centros de hemodiálise Brasileiros, fornecendo indicadores que possam ser utilizados para aquisição destes adsorventes.

2. Material e métodos

2.1. Carvões ativados

Carvões ativados utilizados por dois centros de hemodiálise brasileiros localizados em Recife/PE (Centro de hemodiálise do Hospital das Clínicas de Recife) e Campinas/SP (Centro de hemodiálise do Hospital das Clínicas de Campinas) foram amostrados (Tabela 01) para este estudo. Além disto, dois CA obtidos do bagaço de cana-de-açúcar (CASCB) e endocarpo do coco seco (CACNS) foram produzidos especialmente para este trabalho (capítulo III) e utilizados como carvões de referência. Estes carvões foram ativados com vapor d'água a temperaturas próximas à 900 °C. As condições de preparo das matériasprimas, de carbonização e ativação, além das caracterizações destes carvões em fase líquida e gasosa são descritas em detalhes por Albuquerque Junior et al. (2005).

Os carvões utilizados nos experimentos em batelada foram macerados em almofariz e pistilo de porcelana e passados em peneiras de abertura nominal da malha de 0,075 mm. Ao passo que aqueles que foram utilizados nos experimentos em coluna de leito

fixo foram passados entre as peneiras de abertura nominal da malha de 0,50 mm e 0,35 mm, tomando-se o material retido nesta ultima peneira, recolhendo-o para o referido experimento. Os carvões foram lavados com água desionizada fervente até que a resistividade da água de lavagem se encontrasse próxima a 18,2 MΩ. Esta lavagem é necessária para que o material inorgânico contido na superfície dos carvões (cinzas) seja solubilizado. A presença destes materiais pode interferir na capacidade de adsorção dos carvões. Os carvões foram então secos em estufa a 150 °C por no mínimo 3 horas e resfriados em dessecador com sílica gel até temperatura ambiente para posteriores utilizações.

Centro de				
hemodiálise Referência		Procedência	Precursor	
A-Campinas/SP	A	Desconhecida	Madeira de coqueiro	
A-Campinas/SP	В	Calgon	Endocarpo do coco seco	
A-Campinas	С	Calgon	Endocarpo do coco seco	
A-Campinas/SP	D	Carbonífera Criciúma	Carvão mineral	
B-Recife/PE	E	Carboleste	Endocarpo coco Babaçu	
B-Recife/PE	F	Bahia Carbon	Endocarpo do coco seco	
Padrão 1	G	MV/UNICAMP-FEQ	Endocarpo do coco seco	
Padrão 2	Н	MV/UNICAMP-FEQ	Bagaço de cana-de-açúcar	

TABELA 1. Carvões ativados avaliados.

MV = Multivácuo Indústria e Comércio de filtros Ltda. (ALBUQUERQUE JUNIOR et al., 2005).

2.2. Caracterização dos carvões ativados

2.2.1. Adsorção em fase gasosa: Área da superfície especifica e distribuição de tamanho de poros

Como procedimento desta análise, todos os CA foram desgaseificados em vácuo a 150 °C por 24 h. Um software em interface com um analisador de gás (model NOVA-1200, Quantachrome Corp.) foi usado nas medidas de área de superfície específica e distribuição de tamanho de poros. Dados de equilíbrio obtidos a partir de isotermas de adsorção/desorção de nitrogênio gasoso a –196 °C foram usados para determinar a área da superfície específica por meio da aplicação do método desenvolvido por Brunauer, Emmet

e Teller (BET). Área de microporos foi obtida pelo método "*t*-plot". Volume total de poros foi determinado convertendo-se em volume líquido o volume adsorvido de nitrogênio no ponto de saturação ($P/P_0 \sim 0.99$). Os volumes de microporos e microporos primários foram calculados a partir do ponto de intercepto da região linear do *t*-plot após a saturação de microporos e microporos primários, respectivamente. O volume de mesoporos foi calculado a partir da diferença entre o volume total de poros e o volume de microporos, bem como o volume de microporos secundários foi calculado pela diferença entre o volume de mesoporos e o volume de microporos nos CA foi obtida a partir dos métodos desenvolvidos por Horvath-Kawazoe (HK) e Barrett-Joyner-Halenda (BJH), respectivamente (WEBB; ORR, 1998).

2.2.2. Adsorção em fase líquida

2.2.2.1. Experimentos em batelada: Número de iodo, Índice de azul de metileno e [D-Leucina¹]Microcistina-LR

Um estudo de isotermas de equilíbrio de adsorção é importante para descrever uma interação entre adsorbato e adsorventes e é critico na otimização destes materiais para ambos estudos em processo contínuo ou em batelada. Informações quanto à distribuição dos tamanhos de poros dos CA foram obtidas comparando-se as características de adsorção para três diferentes adsorbatos: azul de metileno, iodo e [D-Leucina¹]Microcistina-LR ([D-Leu¹]MCYST-LR). A escolha destas moléculas é justificada por suas propriedades, forma e polaridade, sendo as duas primeiras comumente utilizadas para predizer a capacidade do carvão ativado em adsorver micropoluentes em efluentes industriais (HSIEH; TENG, 2000; LUSSIER; SHULL; MILLER, 1994), além de fornecerem uma estimativa dos volumes de microporos primários e microporos secundários+mesoporos respectivamente, tal como previsto em trabalhos prévios por Albuquerque Junior et al. (2005).

Azul de metileno tri-hidratado (99.95%, Merck, EUA) e iodo resublimado (99,9%, Merck, EUA) grau analítico foram utilizados no preparo das soluções para determinação do índice de azul de metileno (IAM) e número de iodo (NI). Os experimentos de adsorção foram realizados de acordo com a norma JIS (Japanese Industrial Standard)-K 1474 (1991). As concentrações de iodo e azul de metileno na fase líquida após o equilíbrio foram

encontradas por titulometria com tiosulfato de sódio e espectrofotometria de absorção molecular (espectrofotômetro GBC UV/VIS – 911 A) no comprimento de onda de 665 nm, respectivamente. Os dados experimentais foram ajustados ao modelo de Freundlich e a quantidade de azul de metileno e iodo adsorvidos pelos carvões (q) foi calculada de acordo com a equação

$$q = \frac{\left(C_0 - C\right)}{m} V \tag{1}$$

sendo q é a quantidade adsorvida de azul de metileno em mg/g de carvão, C_{θ} e C são as concentrações iniciais e no equilíbrio de azul de metileno e iodo em mg/L e g/L, V é o volume da solução em L, e *m* é a massa de carvão em g.

Para predição da capacidade de remoção de microcistina de água potável por carvão ativado, um extrato aquoso de [D-Leu¹]MCYST-LR (E2) de concentração próxima a 6000 µg/L, preparado com água potável isenta de cloro, foi utilizado como adsorbato. Esta toxina já foi identificada em florações na Lagoa dos Patos no Rio Grande do Sul por Matthiensen et al. (2001) e na Lagoa de Jacarépaguá no Rio de Janeiro por Oliveira et al. (2004). O preparo do respectivo extrato, assim como o método de quantificação da referida toxina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foi discutido em detalhes por Kuroda et al. (2005). Os dados experimentais foram ajustados ao modelo de Langmuir e a quantidade de toxina adsorvida pelos carvões ativados foi medida a partir da equação 1.

2.2.2.2. Experimentos em colunas de leito fixo: adsorção de [D-leu¹]MCYST-LR

Para avaliar a adsorção dinâmica de microcistina em coluna de leito fixo foi utilizada uma coluna de acrílico de 2,5 cm de d_i e altura de até 25 cm, ajustada por meio de um pistão. Uma placa distribuidora com cinco orifícios de 1 mm de abertura, confeccionada em aço inox, foi inserida na base desta coluna. Uma tela de 60 μ m foi utilizada abaixo do distribuidor e na entrada da superfície do pistão por onde saia o fluido que atravessava a coluna evitando assim uma possível perda de adsorvente por refluxo (Figura 01).



FIGURA 1. Esquema da coluna usada neste trabalho (a) oring, (b) distribuidor (prato perfurado), (c) tela (60 µm), (d) parafuso, (e) régua, (f) pistão (SANTOS; GUIRARDELLO; FRANCO, 2002).

O leito de carvão foi continuamente percolado por uma solução contendo [D-Leu¹]MCYST-LR (E2) de concentração variada, onde amostras do efluente foram intermitentemente coletadas até a saturação do leito. A concentração de toxina na fase fluida foi determinada por CLAE e a avaliação do processo contínuo de adsorção foi realizada por meio do levantamento de curvas de ruptura, que é a relação entre a razão da concentração inicial pela concentração de toxina no efluente da coluna (C/C₀) versus o tempo (t).

2.2.2.1. Estimativa de parâmetros de transferência de massa e capacidade de adsorção do leito

O projeto de uma coluna de leito fixo de carvão ativado é baseado entre outros, no comprimento da zona de transferência de massa (ZTM). O comprimento da ZTM é um parâmetro importante para tal finalidade, pois é um indicativo da porção do leito que não é utilizada efetivamente para a adsorção. Em casos extremos, a ZTM consegue ser maior do que a própria altura da coluna, inviabilizando o projeto.

Operações de adsorção em uma coluna ocorrem em uma porção particular do leito, chamada de zona de transferência de massa (MTZ). O comprimento do leito, sob condições estáveis, é assumido ser dividido em três partes: (1) a zona de equilíbrio do leito (EBZ), onde o leito, tendo praticamente exaurido sua capacidade de adsorção, está em equilíbrio com a solução influente; (2) o MTZ onde a adsorção está ocorrendo; e (3) a zona de leito não utilizada (UBZ) onde o leito não foi efetivamente utilizado na adsorção. Ao longo do comprimento do leito a concentração de toxina a ser removida varia de acordo com um típico perfil de concentração o qual não varia em forma, mas somente em posição, deslocando-se ao longo do comprimento do leito.

A forma da curva de ruptura delineia uma região do leito na qual está ocorrendo a adsorção. Em casos extremos, a ZTM consegue ser maior do que a própria altura da coluna, inviabilizando o projeto. Segundo Geankoplis (1993), a capacidade total da coluna, se todo o leito atingisse a concentração C_o , pode ser apresentada como proporcional à área abaixo da curva (1-C/C_o). Em contrapartida, a capacidade utilizável da coluna refere-se à área abaixo da curva até o ponto de ruptura, que corresponde ao tempo de operação (t_u) da coluna em que a concentração na saída alcança um valor limite C_b . Dessa forma, o tempo relativo à capacidade total ou estequiométrica da coluna (t_i) é dado pela equação

$$t_{t} = \int_{0}^{t_{\infty}} \left(1 - \frac{C}{C_{0}}\right) dt \tag{2}$$

Para efeitos práticos, o limite superior da integral de t_t corresponde ao tempo para o qual o valor da razão $C/C_o \cong 1$, chamado tempo de saturação (t_s). Analogamente a t_t , o tempo utilizável da coluna (t_u) refere-se ao tempo em que a concentração de saída atinge o ponto de ruptura; ou seja, até o tempo (t_b) para o qual o valor da razão $C/C_o \cong 0,05$, e pode ser calculado pela equação

$$t_u = \int_0^{t_B} \left(1 - \frac{C}{C_0}\right) dt \tag{3}$$

A razão t_u/t_t é a fração da capacidade útil do leito. Dessa forma, o comprimento útil do leito (H_u) é dado por:

$$H_U = \frac{t_u}{t_t} H_t \tag{4}$$

sendo H_t é a altura total do leito. Finalmente, a largura da ZTM (H_{LNU}) pode ser calculada como sendo a diferença entre H_t e H_u .

O projeto de uma coluna de adsorção também envolve, além do conceito de ZTM, a estimativa de outros dois parâmetros: o tempo médio de residência (t) e variância adimensional (σ_{θ}^2) . Segundo Hill (1977), a partir dos princípios da probabilidade, o tempo médio de residência de um elemento fluido é dado como sendo

$$\bar{t} = \int_{0}^{\infty} t dF(t)$$
⁽⁵⁾

sendo F(t) a fração mássica do efluente com idade menor que t. Para as curvas de ruptura, F(t) é equivalente a C/C₀. De acordo com SANTOS et al. (2001), uma medida indireta de

como próxima das condições ótimas uma coluna de adsorção opera pode ser descrita a partir da relação operacional (R):

$$R = \left| \frac{\bar{t} - t_u}{t_u} \right| \tag{6}$$

Com o tempo médio de residência também é possível avaliar a variância da curva de ruptura (HILL, 1977), a qual é dada por

$$\boldsymbol{\sigma}^{2} = \int_{0}^{\infty} \boldsymbol{t}^{2} \left(\frac{dF(t)}{dt}\right) dt - \frac{t^{2}}{t}$$
(7)

A partir dos resultados obtidos da equação 7, a variância adimensional pode ser calculada como sendo

$$\sigma_{\theta}^{2} = \begin{pmatrix} \sigma^{2} \\ \frac{\sigma^{2}}{t} \end{pmatrix}$$
(8)

sendo q_{eq} a quantidade adsorvida de [D-Leu¹]MCYST-LR pelo leito de carvão ativado no equilíbrio (µg/mg), Q a vazão de bombeamento da solução pela coluna, C e C_o as concentrações da toxina na entrada e saída da coluna (µg/L), m_z a massa seca de CA (mg) e t o tempo de corrida (min).

3. Resultados e discussões

3.1. Características texturais

Os carvões ativados são formados por uma rede interconectada de poros, que de acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada, podem ser classificados conforme os seus diâmetros em diferentes categorias: macroporos (di > 50 nm), mesoporos (2 nm < di < 50 nm), microporos primários (di < 0,8 nm) e microporos secundários (0,8 nm < di < 2nm). (EVERETT, 1988).

A porosidade nos carvões ativados pode ser estimada a partir da forma da isoterma de adsorção de nitrogênio de acordo com a classificação de Brunauer, Deming, Deming e Teller (BDDT) (GREGG; SING, 1982). Assim, a partir desta classificação, foi observado que o CA F apresentou uma isoterma característica do tipo I, típica de materiais microporosos, com área superficial externa relativamente pequena. Contudo, foram percebidos loops característicos de histerese a pressões parciais acima de 0,4 nos outros CA, o que indica que estes carvões devem apresentar uma pequena faixa de poros na região de microporos secundários e mesoporos. Desta maneira, estes outros carvões apresentaram uma combinação entre as isotermas do tipo I e II, o mesmo observado para os carvões tomados como referência (Figura 2).

As isotermas de adsorção também puderam ser analisadas a partir do formato do loop de histerese de acordo com a classificação padrão, a qual contém quatro tipos: H1–H4 (GIRGIS; HENDAWY, 2002). Os loops de histerese aparecem em regiões de multicamadas de isotermas de fisiosorção e são considerados estar associados a condensação capilar. O estilo do loop de histerese encontrado para os carvões analisados foi do tipo H-4, que foi originado a partir da influência, mesmo que pouca, dos microporos secundários e mesoporos existentes naqueles materiais.

A amostra de carvão "D" apresentou um comportamento não usual partindo-se dos dados obtidos da isoterma de adsorção/dessorção de N_2 , pois apresentou um volume adsorvido de nitrogênio muito baixo, próximo de 0,27 cm³/g, quando comparado com aqueles obtidos pelos outros carvões amostrados, cujos volumes de nitrogênio adsorvidos ficaram acima de 248 cm³/g (Figura 2d). Pelo comportamento da adsorção daquele carvão pressupõe-se que o mesmo não seja um material ativado e, portanto não poderia ser

utilizado na estação de tratamento de água do centro de hemodiálise A (HC Campinas) para remoção de contaminantes.



(g) CA G e (h) CA H.

Os CA utilizados na estação de tratamento de água do centro de hemodiálise A (Campinas, SP) apresentaram área de BET (S_{BET}) entre 764,9 m²/g e 1017,4 m²/g, ao passo que aqueles utilizados pelo centro de hemodiálise B (Recife, PE) apresentaram área de BET variando entre 632,8 m²/g e 789,5 m²/g (Tabela 2). Uma primeira observação destes resultados implicaria na escolha dos carvões de qualquer um dos dois centros; contudo de acordo com Quinlivan, Li e Knappe (2005), a área de BET é um pobre indicador da capacidade de adsorção de carvões ativados, conseqüentemente não podemos avaliar a qualidade dos carvões amostrados apenas por seus dados de área de BET, devendo-se tomar outros parâmetros de efetividade para escolher um carvão para uma determinada finalidade.

Desta maneira, além deste parâmetro, as frações volumétricas de mesoporos e microporos secundários também devem ser consideradas na escolha de um carvão ativado para uso em tratamento de água, pois é significativa a importância destes poros na adsorção de micropoluentes orgânicos como as microcistinas pelos carvões ativados segundo Donati et al. (1994) e Pendleton, Schumann e Wong (2001). De acordo com Donati et al. (1994), não existe correlação entre a capacidade de adsorção de carvões ativados por microcistinas e a área de BET, o volume de microporos e o número de iodo. Contudo, a presença de mesoporos nestes adsorventes pode favorecer a adsorção daquela toxina de cianobactéria. Por sua vez, Pendleton, Schumann e Wong (2001), mostraram que além do volume de mesoporos, a capacidade de adsorção de carvões ativados comerciais avaliados por eles para a adsorção daquela toxina, era também influenciada pela fração volumétricas de microporos secundários e mesoporos excederam 37% e 28%, respectivamente, favorecendo a adsorção de microcistina em 200,0 µg/mg.

Os carvões ativados amostrados das estações de tratamento de água dos dois centros de hemodiálise apresentaram porções volumétricas de microporos secundários e mesoporos de 0,15 a 0,38 cm³/g (44,1 a 69,1%) e de 0,01 a 0,09 cm³/g (2,6 a 16,4%), respectivamente. Os carvões de ambos os centros (A e B) apresentaram porções de microporos secundários acima daqueles encontrados por Pendleton, Schumann e Wong (2001), contudo os mesmos apresentaram frações volumétricas de mesoporos muito baixas, cerca de 8% em média; o que caracterizam carvões microporos. Contudo, aquele carvão ativado comercial obtido como padrão da MULTIVÁCUO (Campinas, SP), apresentou frações volumétricas de microporos secundários e mesoporos de 59,2 a 63,6% e de 34,5 a

41,8%, respectivamente, o que pode ser caracterizado como bom indicativo para CA para uso em tratamento de água.

	Área da	a superfic	ie / m ² /g		Volume de poro / cm ³ /g				
Ref.	BET	Microp.	Mesop.	*0,8 <di< td=""><td>*0,8<di<2,0nm< td=""><td>*di<2,0nm</td><td>*2,0<di<50nm< td=""><td>Total</td></di<50nm<></td></di<2,0nm<></td></di<>	*0,8 <di<2,0nm< td=""><td>*di<2,0nm</td><td>*2,0<di<50nm< td=""><td>Total</td></di<50nm<></td></di<2,0nm<>	*di<2,0nm	*2,0 <di<50nm< td=""><td>Total</td></di<50nm<>	Total	
А	764,9	756,2	8,7	0,16 (44,7)	0,21 (55,3)	0,37 (97,4)	0,01 (2,6)	0,38	
В	871,2	857,6	13,6	0,12 (31,9)	0,32 (68,1)	0,44 (93,6)	0,03 (6,4)	0,47	
С	1017,4	967,9	49,5	0,08 (31,9)	0,38 (69,1)	0,46 (83,6)	0,09 (16,4)	0,55	
D	4,56	4,5	0,015	-	-	-	-	0,003	
E	632,8	610,2	22,6	0,17 (55,9)	0,15 (44,1)	0,32 (94,1)	0,02 (5,9)	0,34	
F	789,5	772	17,5	0,14 (37,5)	0,30 (62,5)	0,44 (91,7)	0,04 (8,3)	0,48	
G	1079,5	1014,2	65,3	0,08 (50,0)	0,29 (50,0)	0,37 (63,6)	0,20 (34,5)	0,58	
Н	1174,3	1097,3	77,3	0,10 (22,3)	0,35 (77,7)	0,45 (59,2)	0,39 (41,8)	0,76	

TABELA 2. Propriedades texturais dos carvões ativados.

* fração volumétrica a partir do volume total de poros (%). ** A baixissima capacidade de adsorção não permitiu o cálculo destes parâmetros.

Uma visualização da distribuição de tamanho de poros pode ser obtida a partir da função distribuição calculada pelos métodos HK e BJH (Figura 3). Os carvões (A), (B) e (C) mostraram uma função distribuição HK/BJH, com dW/dLo de 0,04; 0,07 e 0,06 cm³/nm/g constituídas de diâmetros médios de poros de 3,81, 3,80 e 3,28 nm, respectivamente. Devido a baixa capacidade de adsorção do carvão D, não foi possível obter a sua distribuição de tamanho de poros. Para o carvão E, a função distribuição dW/dLo apresentou dois picos com 0,02 e 0,01 cm³/nm/g a 2,53 e 4,15 nm de diâmetro médio de poros; enquanto o carvão (F) apresentou dW/dLo \approx 0,06 cm³/nm/g a um diâmetro médio de poro de 2,7 nm. Em contraste com estes resultados, os CA padrões (G) e (H) mostraram uma função distribuição um pouco mais alta: (G) dW/dLo \approx 0,13 cm³/nm/g com 1,61 nm de diâmetros médios de poros de aproximadamente 1,71 e 3,00 nm, respectivamente.



(a)



(b)

FIGURA 3. Função distribuição HK/BJH: (**a**) CA A; (**b**) CA B; (Δ) CA C; (**•**) CA E; (*****) CA F; (**•**) CA G; (**0**) CA H.

Segundo Lanaras et al. (1991) a MCYST-LR quando dissolvida em água, possui um volume solvatado de 2,63 nm³, comprimento de 1,9 nm, altura de 1,5 nm, espessura 1,1 nm e área solvatada de 1,8 nm². A [D-Leu¹]MCYST-LR possui na posição 1, um resíduo de aminoácido, D-Leucina, o qual substitui o resíduo de aminoácido, D-Alanina, da MCYST-LR, o que confere a [D-Leu¹]MCYST-LR mais hidrofobicidade do que a MCYST-LR. No entanto, estas diferenças entre suas estruturas químicas não são tão expressivas com relação a altura, volume solvatado e área de secção transversal, fazendo com que possamos tomar as dimensões daquela primeira MCYST como referencial das dimensões desta ultima. Assim tomando-se as dimensões aproximadas da MCYST-LR presume-se que a [D-Leu¹]MCYST-LR seja adsorvida nos poros do carvão ativado com diâmetro interno próximo a 2-3 nm.

A distribuição de tamanho de poros (Figura 3) estimada a partir dos métodos HK/BJH permitiu observar que os carvões amostrados possuem diâmetro médio de poros entre 2,5-4 nm, o que faria destes carvões potenciais adsorventes para utilização na remoção de microcistina de água, contudo o baixo volume de poros observados naquela faixa de 2,5-4 nm é menor que 0,07 cm³/g, o que faz destes carvões, adsorventes de baixa capacidade de adsorção para tal finalidade.

3.2. Adsorção em fase líquida3.2.1 Experimentos em batelada

O conhecimento do equilíbrio de adsorção representa o primeiro passo para investigar as possibilidades de uso de um adsorvente em um determinado processo de separação. Além disso, informações adicionais quanto à distribuição dos tamanhos de poros dos carvões ativados podem ser obtidas comparando-se as características de adsorção do adsorbato tomado com aquelas obtidas a partir de dados de adsorção em fase gasosa.

Segundo a norma JIS, o número de iodo e o índice de azul de metileno são definidos operacionalmente como a quantidade adsorvida destas moléculas quando a concentração residual dos mesmos é de 2,5g/L e 0,24 mg/L, respectivamente. Estas capacidades de adsorção foram obtidas a partir de uma isoterma de equilíbrio aonde os dados experimentais foram ajustados ao modelo de adsorção de Freundlich. Os coeficientes de correlação da regressão linear a partir do ajuste dos dados experimentais ao modelo

linearizado de Freundlich juntamente com os parâmetros empíricos do mesmo, K_f e 1/n, além do número de iodo (NI) e do índice de azul de metileno dos carvões (IAM) estão mostrados na tabela 3.

	Parâmetros do modelo de Freundlich							
Ref.	Índice de azul de metileno				Número de iodo			
	K_f (L/mg) ^{1/n}	1/n	r^2	IAM (mg/g)	$K_f (L/mg)^{1/n}$	1/n	r^2	NI (mg/g)
A	9,2	0,13	0,91	7,6	425,6	0,20	0,99	513,2
В	40,7	0,07	0,98	36,6	201,8	0,17	0,99	235,9
С	43,4	0,02	0,95	42,1	286,4	0,12	0,92	320,5
*D	-	-	-	-	-	-	-	-
E	35,4	0,1	0,97	32,5	596,26	0,17	0,98	727,96
F	85,6	0,05	0,99	79,2	693,3	0,22	0,98	844,7
G	104,5	0,08	0,94	92,6	831,3	0,22	0,94	1024,1
Н	271,4	0,16	0,99	217,5	818,7	0,25	0,98	1023,4

TABELA 3. Parâmetros de adsorção do modelo de Freundlich.

*Este carvão possuiu uma capacidade de adsorção muito baixa (próxima de zero) para ambos azul de metileno e iodo, não podendo ser calculados os NI e IAM.

Os dados gerados a partir das isotermas de adsorção de azul de metileno permitiram-nos observar que houve uma correlação entre o numero de iodo e índice de azul de metileno e seus respectivos parâmetro K_f , concluindo-se que este pode ser um indicativo da intensidade de adsorção dos carvões.

Tomando-se os resultados de número de iodo e volume de azul de metileno adsorvido, juntamente com a área de microporos e volume de mesoporos, respectivamente, verificamos que existe uma correlação entre estes parâmetros (Figura 4). Este resultado pode servir como um indicativo de escolha de carvões mesoporos para aplicação em tratamento de água, utilizando-se como parâmetro de efetividade, a análise de azul de metileno.



FIGURA 4. Correlação entre volume de mesoporos e volume adsorvido de azul de metileno(a). Correlação entre área de microporos e número de iodo (b).

Normas padrões nacionais e internacionais de qualidade para carvões ativados destinados ao tratamento de água trazem especificações principalmente ao limite mínimo de adsorção ao iodo (número de iodo), 600 mg/g (ABNT - EB-2133, 1991 e AWWA – B600-05) e 900 mg/g (ASTM - D 4607-96), não fazendo referência a limites mínimos de adsorção ao azul de metileno. Sabe-se que o iodo é uma molécula pequena de aproximadamente 0,8 nm e sendo assim está associada a adsorção em microporos. Portanto, o número de iodo não deve ser a única especificação de padrão de qualidade tomada para um carvão ativado destinado ao tratamento de água, pois é um parâmetro bem aplicado para carvões microporosos.

No Marrocos, os carvões ativados destinados ao tratamento de água têm nas suas especificações o limite mínimo estabelecido para capacidade de adsorção ao azul de metileno de 180,0mg/g (BAÇAOUI et al., 2001). Assim, se considerássemos este limite mínimo como especificação para os carvões ativados amostrados em ambos os centros de hemodiálise, veríamos que nenhum destes carvões poderia ser utilizado no tratamento de água, pois os mesmos são especificamente carvões ativados microporosos.

3.2.1.1 Adsorção de [D-Leu¹]MCYST-LR

Partindo-se dos resultados obtidos da caracterização textural dos CA amostrados dos dois centros de hemodiálise com relação ao volume de poros e adsorção de azul de metileno, foi possível escolher o melhor CA de cada centro. A cinética de adsorção da [D-Leu¹]MCYST-LR sobre os carvões foi estudada, a partir da qual pôde-se estimar a eficiência de remoção desta toxina de cianobactéria por aqueles adsorventes. Outros dois carvões ativados produzidos por Albuquerque et al. (2006) (CA G e H, provenientes do bagaço de cana-de-açúcar e endocarpo do coco seco) também foram estudados quanto a suas eficiências de remoção daquela toxina presente em água.

Após 15 segundos de contato entre a [D-Leu¹]MCYST-LR e os carvões foram observadas eficiências de remoção de 7,40% (CA G) e 26,47% (CA H) comparados aos baixíssimos resultados obtidos pelos CA B e F com eficiência de remoção de 1,96 e 2,26%, respectivamente. A cinética de adsorção evoluiu gradualmente com o tempo até que o equilíbrio de adsorção fosse atingido em aproximadamente 30 minutos para os CA G e H, e de 60 minutos para os CA B e F (Figura 5). A eficiência de remoção da toxina por esses CA nos respectivos tempos de equilíbrio foi de 62,31% (CA G), 98,73% (CA H), 4,3% (CA F) e 3,7% (CA B). Ainda no equilíbrio foi observada uma adsorção da toxina nos carvões de 30 µg/mg (CA G), 32 µg/mg (CA H), 1,4 µg/mg (CA B) e 1,7 µg/mg (CA F). A baixa eficiência de remoção dos dois últimos carvões (carvões dos centros de hemodiálise) pode ser explicada pelos seus baixos volumes de mesoporos, cerca de 0,04 cm³/g em média, quando comparados ao dos outros carvões tomados como padrões, CACS e CASCB (0,20-0,39 cm³/g).


FIGURA 5. Cinética de adsorção da [D-Leucina¹]MCYST-LR sobre os carvões ativados: (a) \Box HC PE CA F, \blacksquare HC CAMPINAS CA B, e (b) \circ CA SCB – G e \triangle CA CS – F.

3.2.2 Experimentos em coluna de leito fixo

Na investigação da dinâmica de adsorção da [D-Leu¹]MCYST-LR em leito fixo de carvão ativado, este removeu aquela toxina a partir de uma solução até a saturação do leito, aonde o desempenho deste processo contínuo de adsorção é afetado dentre outros parâmetros pela concentração da solução de entrada (GOMES; ALMEIDA; LOUREIRO, 2001) e pelas condições operacionais tais como o tamanho de partícula e vazão do fluido na coluna (INGLEZAKIS; LOIZIDOU; GRIGOROPOULOU, 2002). Segundo Sag e Aktay (2001) e Barros et al. (2001), soluções mais concentradas saturam mais rápido o leito e pequenas partículas diminuem a resistência a transferência de massa. Sabe-se também que um aumento da vazão da solução no leito diminui a capacidade de adsorção no mesmo, aumentando o comprimento da zona de transferência de massa, pois o fenômeno de transferência de massa necessário para adsorção da [D-Leu¹]MCYST-LR pode não estar hábil a prosseguir em taxas de transferência de massa maiores, ocasionadas pelo aumento da vazão do fluido (WATSON, 1999). Além disso, o fluxo no leito pode sofrer desvio da idealidade por causa da canalização do fluxo devido a molhabilidade insuficiente do material. Estes problemas podem reduzir a eficiência do processo de adsorção (WATSON, 1999), pois é importante que a coluna opere tão próximo possível das condições de escoamento como aquele observado para um reator do tipo tubular empistonado "plug flow".

Assim, para planejar e operar corretamente o processo contínuo de adsorção daquela toxina em leito fixo de CA, como aquele encontrado em muitas estações de tratamento de água dos centros de hemodiálise, é necessário estudar a cinética e o equilíbrio de adsorção para aquela toxina, além do conhecimento da dinâmica de adsorção da mesma em leito fixo por meio do levantamento de curvas de ruptura.

A primeira etapa num projeto de adsorção de [D-Leu¹]MCYST-LR em coluna de leito fixo é o estabelecimento das condições ótimas de operação do processo, ou seja, aquelas que minimizem as resistências difusionais tanto no filme como no interior das partículas do adsorvente, favorecendo assim uma maior interação entre os sítios ativos do carvão, acessíveis a adsorção, e o adsorbato.

Neste experimento, os estudos prévios de adsorção de azul de metileno no leito fixo de carvão ativado mostraram que vazões entre 8 e 12 mL/min aproximadamente e

tamanho médio de partícula de 0,425 mm seriam condições que poderiam minimizar aquelas resistências de transferência de massa sem significante aumento da perda de carga no leito e assim serem tomadas como ponto de partida para o planejamento de um processo de adsorção contínua daquela toxina. Sob estas condições, deve-se esperar que as curvas de ruptura apresentem-se mais próximas de um degrau perfeito, o que é desejável (McCABE; SMITH; HARRIOT, 2001).

Assim, tomando-se tais condições como tamanho de partícula, vazão e altura do leito, novos experimentos com soluções [D-Leu¹]MCYST-LR foram realizados com o objetivo de avaliar a remoção desta toxina de água tratada utilizando colunas de leito fixo dos carvões B (HC-Campinas) e F (HC-Recife), além dos CA tomados como padrões G (CA CS) e H (CASCB) (Tabela 4).

TABELA 4. Condições experimentais e resultados da adsorção em regime contínuo.

REF.	$C_0 (\mu g/L)$	Vazão (mL/min)	H _L (cm)	$m_Z(g)$
В	12779,6	11,1	2,4	8,3
F	12460,6	8,5	2,3	8,1
G	13496,4	10,5	2,4	9,2
Н	19153,5	12,2	2,3	7,0

Desejando-se recuperar a solução contendo inicialmente [D-Leu¹]MCYST-LR mantida em contato de modo contínuo com um leito de carvão ativado inicialmente livre da mesma, a concentração desta toxina na saída do leito foi monitorada, em função do tempo, obtendo-se curvas da forma mostrada na Figura 6 denominada de curva de ruptura.







(b)



(c)



FIGURA 6. Curvas de rupturas dos carvões ativados (C/C₀ versus tempo): (a) CA H (Bagaço-Multivácuo), (b) CA B (HC-Campinas), (c) CA F (HC-Recife), (d) CA G (endocarpo-Multivácuo).

Inicialmente a camada de adsorvente situada na parte inferior do leito, adsorve a solução rápida e efetivamente reduzindo assim a concentração daquela toxina na saída da coluna. O efluente no topo do leito está praticamente livre de soluto. Nessa situação, a camada inferior do leito está praticamente saturada e a adsorção ocorre em uma zona de adsorção (Zad) relativamente estreita e a concentração muda rapidamente. Continuando com o fluxo da solução, a zona de adsorção (Zad) move-se ascendentemente como uma onda, a uma taxa ordinariamente muito mais lenta que a velocidade linear do fluido através do leito.

Num certo tempo, praticamente metade do leito está saturado com o soluto, porém a concentração no efluente é ainda substancialmente zero. Quando a zona de adsorção (Zad) estiver alcançada a parte superior do leito, e a concentração do soluto no efluente aumentar sensivelmente, o sistema é dito iniciar a ruptura, então a concentração do soluto no efluente aumenta rapidamente quando a zona de adsorção (Zad) passa através do fundo do leito e a concentração do soluto iguala-se substancialmente ao valor da concentração na solução inicial (C₀).

A partir dos dados obtidos das curvas de ruptura foi possível estimar o tempo necessário para que a razão C/C₀ = 0,05 fosse alcançada na saída da coluna, o qual é denominado de tempo de ruptura (t_b). Assim, para os leitos fixos de CA compostos pela amostra do centro de hemodiálise de Recife (CA F) e do centro de hemodiálise de Campinas (CA B), este tempo foi de 24 e 3 min. Estes resultados indicaram que cada leito de carvão compostos por 8,12g (CA F) e 8,26g (CA B) de carvão ativado apresentou uma massa adsorvida de [D-Leu¹]MCYST-LR da ordem de 2541,9 µg (24 min × 0,0085 L/min = 0,204 L; 0,240 L × 12460,6 µg/L = 2541,9 µg) e 424,8 µg (3 min × 0,01108 L/min = 0,03324 L; 0,03324 L × 12779,6 µg/L = 424,8 µg), o correspondente a 0,31 µg/mg e 0,05 µg/mg, respectivamente.

Com o contínuo processo de adsorção até a exaustão de cada leito em 282 min (CA F) e 310 min (CA B), onde foi alcançada a razão $C/C_0 = 1$ na saída da coluna, foi possível estimar a massa adsorvida de [D-Leu¹]MCYST-LR pelos leitos nestes tempos. Nestas condições cada leito apresentou uma massa adsorvida de [D-Leu¹]MCYST-LR de 29868,05 µg (282 min × 0,0085 L/min = 2,237 L; 2,237 L× 12460,6 µg/L) (CA F) e

43895,37 µg (310 min × 0,01108 L/min = 3,435 L; 3,435 L × 12779,6 µg/L) (CA B), isto correspondeu a cerca 3,678µg/mg e 5,314µg/mg, respectivamente.

Comparando o desempenho dos leitos acima com aqueles compostos pelos carvões ativados G e F, foram observadas massas adsorvidas de [D-Leu¹]MCYST-LR de μ g 1017,29 μ g (7,5 min × 0,01005 L/min = 0,0754L; 0,0754L × 13496,4 μ g/L) e 2072,02 μ g (9 min × 0,01202 L/min = 0,1082 L; 0,0754 L × 19153,5 μ g/L), o que correspondeu a 0,113 μ g/mg e 0,296 μ g/mg, respectivamente. Estes leitos apresentaram um tempo de exaustão 132 e 165 min. Nestes tempos, os leitos apresentaram massas adsorvidas de 18706,01 μ g (132 min × 0,01005 L/min = 1,326 L; 1,326 L × 13496,4 μ g/L) e 37987,13 μ g (165 min × 0,01202 L/min = 1,9833 L;1,9833 L × 19153,5 μ g/L), o que correspondeu a 2,07 e 5,43 μ g/mg, respectivamente.

TABELA 5. Propriedades dos leitos.

REF.	t_{b} (min)	t _e (min)	t _u (min)	t _t (min)
В	7,0	320	45,7	593,2
F	24	282	153,5	615,6
G	7,5	132	59,2	276,1
Η	9,0	165	56,6	384,9

* t_b é o tempo de ruptura, t_e tempo de exaustão, t_u é o tempo útil e t_t é o tempo estequiométrico.

Comparando os resultados obtidos dos carvões ativados G e H com os dados de Bernezeau (1994) (50 µg microcistina-LR/12 mg CAP), o carvão ativado do bagaço de cana-de-açúcar apresentou uma capacidade de adsorção 1,3 vezes maior do que o carvão ativado pulverizado estudado pelo referido autor, lembrando que em nossos trabalhos foi utilizado um extrato com quatro microcistinas.

Segundo Zambon (2002), informação qualitativa com relação à resistência a transferência de massa pode ser obtida pela forma da curva de ruptura. Se a zona de transferência de massa é estreita, a curva de ruptura será mais inclinada, enquanto que, se a zona de transferência de massa for mais ampla, a curva de ruptura será mais alongada. A partir da Figura 6, percebe-se que tal zona diferiu de carvão para carvão e de acordo com os

parâmetros operacionais estabelecidos em cada experimento tais como concentração inicial, vazão e altura do leito. Assim, no caso das curvas de rupturas obtidas para os leitos CS, B e SCB, um formato da curva em *S* mais estreito indicando uma zona de transferência de massa mais estreita e, portanto com resistência a transferência de massa a ser considerada. No entanto, a curva de ruptura obtida a partir do leito empacotado com o carvão F (centro de hemodiálise B) apresentou um formato da curva S mais alongado, como se observa pela Figura 6, indicando uma zona de transferência de massa mais ampla e, portanto, pouca resistência à transferência de massa.

A suposição desta zona de adsorção fornece a base de um método para um projeto muito simples que permite realizar aumento de escala (scale-up) de experimentos a partir de pequena escala em laboratório. Contudo, além do conceito de ZTM, a estimativa de parâmetros tais como o tempo médio de residência (t) e a variância adimensional (σ_{θ}^2) podem auxiliar no projeto de uma coluna de adsorção. A partir dos dados obtidos das curvas de ruptura para cada leito foi possível estimar tais parâmetros (Tabela 6).

REF.	\overline{t} (min)	$\sigma_{\scriptscriptstyle heta}^{\scriptscriptstyle 2}$	R	HLU	H _{LNU}
В	53,0	1,82	0,1	0,25	2,15
F	59,9	0,38	0,61	0,58	1,71
G	20,9	0,70	0,65	0,54	1,86
H	46,1	0,60	0,31	0,58	1,89

TABELA 6. Parâmetros de difusionais dos leitos.

A altura útil do leito foi bem menor do que aquela encontrada para a altura do leito não utilizada. Este comportamento não é desejável, contudo tal fenômeno é explicado pela baixa altura do leito aplicado nos estudos, entre 2,3 e 2,4 cm. A variância adimensional σ_{θ}^2 é um parâmetro útil para estimar a dispersão no leito empacotado. Valores de $\sigma_{\theta}^2 \approx 0$ parecem que o leito comporta-se próximo das condições ideais como a de um reator do tipo "plug-flow" com desprezível dispersão axial. Com relação ao parâmetro R, também se sabe que quanto mais próximo de zero estiver este parâmetro mais o processo dinâmico de adsorção se aproxima das condições ideais (BARROS; ARROYO, 2001). Neste caso, pode-se considerar que as resistências difusionais estejam minimizadas. Os leitos apresentaram valores próximos de zero com relação a estes dois parâmetros, contudo as condições de processo parecem ainda não estarem próximas da idealidade. Em relação ao tempo de residência, pode-se dizer que quanto mais próximo o t estiver do tempo útil da coluna (t_u), mais o processo de adsorção se aproxima das condições ótimas de operação. A partir dos resultados obtidos das tabelas 5 e 6 observa-se que tal prerrogativa se aplica aos carvões do bagaço e do CA F, os quais apresentaram valores mais próximos entre o t o tempo útil da coluna (t_u), fazendo acreditar que tais processos devem esta operando bem próximo das condições ótimas esperadas.

3. Conclusões

Carvões ativados granulados são amplamente utilizados em processos contínuos de adsorção em leito fixo para tratamento de água em centros de hemodiálise. A qualidade da água utilizada nestes centros é algo intrinsecamente associada a qualidade destes carvões. Como no Brasil não existem normas, e tão pouco, órgãos que fiscalizem a qualidade destes adsorventes, torna-se cada vez mais necessários encontrar parâmetros corretos indicativos de qualidade.

Carvões ativados utilizados por duas estações de tratamento de água de centros de hemodiálise foram amostrados para avaliar as suas qualidades. A área da superficie específica (S_{BET}) dos carvões amostrados das estações de tratamento de água dos dois centros de hemodiálises apresentou valores entre 600 e 1000 m²/g aproximadamente. Valores de S_{BET} próximas de 800 m²/g são geralmente tomados como valores de referência para quem adquire tais adsorventes, principalmente aqueles destinados ao tratamento de água. Partindo-se deste principio verifica-se que os carvões amostrados de ambos os centros de hemodiálise estão em conformidade com este parâmetro, no entanto foi observado que os mesmos carvões possuíam volumes de mesoporos (0,01-0,09 cm³/g) muitos abaixo daqueles especificados pela literatura (0,40 cm³/g), devendo assim os carvões de ambos os centros serem rejeitados para tal finalidade ou utilizados com precaução.

A adsorção de azul de metileno foi proposta como medida da capacidade de adsorção de carvões ativados, haja vista que tal molécula vem sendo utilizada para estimar o volume de mesoporos em carvões. Foi observado que os carvões ativados que apresentaram maior volume de mesoporos+microporos secundários possuíram maior capacidade de adsorção àquela molécula e conseqüentemente podendo ser tomada como modelo para estimar a referida região de poros, o que é importante para carvões utilizados para tratamento de água, ao contrário da capacidade de adsorção de iodo que esta mais associado a adsorção em microporos.

Quanto a uma primeira estimativa da capacidade de adsorção em batelada dos carvões ativados de ambos os centro de hemodiálises para uma toxina de cianobactéria ([D-Leu¹]MCYST-LR, observou-se baixas eficiências de remoção desta toxina (próximas a 4%) comparada ao carvão ativado do bagaço (próxima a 99%). O comportamento na adsorção dos carvões ativados amostrados dos centros de hemodiálise está associado aos seus baixos volumes de mesoporos, menor que 0,04 cm³/g, ao contrário do carvão ativado do bagaço de cana-de-açúcar cujo volume de mesoporos é próximo as 0,40cm³/g.

Estudos prévios sobre a adsorção dinâmica da $[D-Leu^1]MCYST-LR$ em leitos fixos dos carvões ativados dos centros de hemodiálise mostraram capacidades de adsorção baixas, entre 3,67 e 5,31 µg/mg. Com relação aos carvões ativados obtidos do endocarpo do coco seco e do bagaço de cana-de-açúcar, foram observados 2,07 e 5,43 µg/mg de capacidade de adsorção dos respectivos leitos.

Os processos em leito fixo de carvão ativado foram operados próximos de condições ideais de acordo com os parâmetros levantados a partir das curvas de ruptura $(\bar{t}, \sigma_{\theta}^2 \in \mathbb{R})$ com desprezível dispersão axial e resistência à transferência de massa.

4. Referências

ALBUQUERQUE JUNIOR, E C.; MENDEZ, M. O.; COUTINHO, A. R.; FRANCO, T. T. Production and characterization of physically activated carbon from Brazilian agricultural and industrial residues. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CARBONO, 3., 2005, Rio de Janeiro. Anais do III Congresso Brasileiro de Carbono. Rio de Janeiro: Centro tecnológico do exército (CTEx), PETROBRAS, 2005, p. 401-410.

ALBUQUERQUE JÚNIOR, E. C.; MENDEZ, M. O.; A. R. COUTINHO; FRANCO, T. T. Equilíbrio termodinâmico e cinético de adsorção da [D-leucina¹]microcistina-LR por carvão ativado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS PARTICULADOS, Maringá-PR, 2006. v. 1. p. 1-10.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. PA, EUA. ASTM, D 4607-96; Standard Test Method for Determination of Iodine Number of Activated Carbon. PA, EUA, 1999. 2p.

AMERICAN WATER WORKS ASSOSIATION STANDARDS, Denver, CO. AWWA B600-05; Powdered Activated Carbon. Denver, CO, EUA, 2005. 24p.

ARVANITIDOU, M.; SPAIA, S.; TSOUBARIS, P.; KATSINAS, C.; ASKEPIDIS, N.; PAGIDIS, P.; KANETIDIS, D.; PAZARLOGLOU, M.; BERSOS, G.; DIGENIS, P.; KATSOUYANNOPOULOS, V.; VAYONAS, G. Chemical Quality of Hemodialysis Water in Greece: A Multicenter Study. **Dialysis & transplantation**, v.29, n.9, p.519-525, 2000.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Rio de Janeiro. EB 2133; Carvão ativado pulverizado: especificação. Rio de Janeiro, 1991. 54p.

BAÇAOUI, A.; YAACOUBI, A.; DAHBI, A.; BENNOUNA, C.; PHAN TAN LUU, R.; MALDONADO-HODAR, F. J.; RIVERA-UTRILLA, J.; MORENO-CASTILLA, C. Optimization of conditions for the preparation of activated carbons olive-waste cakes. **Carbon**, v.39, p.425-432, 2001. BARROS, M. A. S. D.; ARROYO, P. A. Métodos de remoção de cromo de águas residuais - troca iônica. IN: MARIA ANGÉLICA SIMÒES D. DE BARROS; PEDRO AUGUSTO ARROYO; EDUARDO FALABELLA SOUSA-AGUIAR; PEDRO AVILA GARCÍA. (Org.). Problemas Ambientais com soluções analíticas. I. O Cromo no processamento de peles. Madri: CYTED, 2001, v., p. 84-98.

BARTON, S. S. The adsorption of methylene blue by active carbon. **Carbon**, v.25, p.343-350, 1987.

BERNAZEAU, F., Can microcystin enter drinking water distribution systems In: Toxic cyanobacteria, current Status of research and Management. Proceedings of International Workshop, Adelaide, Australia, p.115-118, 1994.

CARMICHAEL, W. W.; AZEVEDO, S. M. F. O., A. N. J.; MOLICA, R. J. R.; JOCHIMSEN, E. M.; LAU, S.; RINEHART, K. L.; SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G.K. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. **Environ Health Perspect.**, v.109, p.663 - 668, 2001.

Censo 2004. SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. Disponível em: http://www.sbn.org.br. Acesso em fevereiro de 2005).

DONATI, C., DRIKAS, M., HAYES, R., NEWCOMBE, G. Microcystin-LR adsorption by powdered activated carbon. Water Research, v.28, n.8, p.1735-1742, 1994.

EVERETT, D. H. Pore Systems and Their Characteristics. In: Characterization of Porous Solids. Elsevier, Amsterdam; 1988.

FALCONER, I. R., RUNNEGAR, M. T. C., BUCKLEY, T., HUYN, V. L., BRADSHAW, P. Using activated carbon to remove toxicity from drinking water containing cyanobacteria blooms. Journal American of Water Works Association, v.81, p.102-105, 1989.

GEANKOPLIS, C. J. Transport Processes and Unit Operations. USA: PTR Prentice Hall, 3rd ed., 1993.

GIRGIS, B. S.; EL-HENDAWY, A. N. A. Porosity development in activated carbons obtained from date pits under chemical activation with phosphoric acid. *Microporous and mesoporous materials*, v.52, n.2, p.105-117, APR 2002

GREGG, S. J.; SING, K. S. W. Adsorption, Surface Area and Porosity, Academic Press, London 1982.

GOMES, C.; ALMEIDA, M.; LOUREIRO, J. Gold recovery with ion exchange used resins. Sep. and Purif. Technol., v.24, p.35-57, 2001.

HSIEH, C.; TENG, H. Influence of mesopore volume and adsorbate size on adsorption capacities of activated carbons in aqueous solutions. **Carbon**, v.38, p.863-69, 2000.

Hill, C.G. An Introduction to Chemical Engineering Kinetics & Reactor Design. New York: John Wiley & Sons, 1977.

IHLE, B.; BUCHANAN, M.; STESENS, B.; MARSHAL, A.; KINCAID-SMITH, P. Aluminium associated bone disease: clinic-pathologic correlations. **Am. J. Kidney Dis.**, v.11, p.255-263, 1982.

INGLEZAKIS, V. J.; LOIZIDOU, M. D.; GRIGOROPOULOU, H. P. Equilibrium and kinetic ion exchange studies of Pb^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} and Cu^{2+} on natural clinoptilolite. Water **Res.**, v.36, p.2784-2792, 2002.

JAPANESE INDUSTRIAL STANDARD. JIS K 1474 – Test methods for activated carbon. Japanese Standards Association, Tokyo, 1991.

KUMAR, K. V.; SIVANESAN, S. Equilibrium data, isotherm parameters and process design for partial and complete isotherm of methylene blue onto activated carbon. Journal of Hazardous Materials, v.B134, p.237–244, 2006.

KURODA, E. K.; ALBUQUERQUE JÚNIOR, E. C.; DI BERNARDO, L.; TROFINO, J.
C. Caracterização e escolha do tipo de carvão ativado a ser empregado no tratamento de águas contendo microcistinas. Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 23, 2005, Campo Grande. Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Campo Grande: 1 CD ROM.

LANARAS, T.; COOK, C.M.; ERIKSOON, J.E.; MERILUOTO, J.A.O.; HOTOKKA, M. Computer modeling of the 3-dimensional structures of the cyanobacterial hepatotoxins microcystin-LR and nodularin. **Toxicon**, v.29, p.901–907, 1991.

LUSSIER, M. G.; SHULL, J. C.; MILLER, D. J. Activated carbon from cherry stones. Carbon, v.29, p.613-619, 1991.

MCCABE, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOT, P. Unit Operations of Chemical Engineering. New York, USA: McGraw-Hill International Ed., 6th ed., 2001.

MACEDO, J. S.; COSTA JÚNIOR, N. B.; ALMEIDA, L. E.; VIEIRA, E. F. S.; CESTARI, A. R.; GIMENEZ, I. F.; CARREÑO, N. L. V.; BARRETO, L. S. Kinetic and calorimetric study of the adsorption of dyes on mesoporous activated carbon prepared from coconut coir dust. Journal of Colloid and Interface Science, v.298, p.515–522, 2006.

MATTHIENSEN, A.; BEATTIE, K. A.; YUNES, J. S.; KAYA, K.; CODD, G. A. [D-Leu¹]Microcystin-LR, from the cyanobacterium *Microcystis* RST 9501 and from a *Microcystis* bloom in the Patos Lagoon estuary, Brazil. **Phytochemistry**, v.55, p.383–387, 2000.

MENDONÇA, D. F. P.; BOUVY, M.; MARINHO, M. E.; MOURA, A. N. Microfitoplâncton e condições limnológicas em reservatórios de cinco bacias hidrográficas do Estado de Pernambuco: ênfase ao gênero *Cylindrospermopsis*. In: VIII Reunião Brasileira de Ficologia. Porto de Galinhas-PE, 1999, p. 120.

NEWCOMBE, G. Charge vs. porosity - some influences on the adsorption of natural organic matter (NOM) by activated carbon. **Water Sci. Technol.**, v.40, p.191–198, 1999.

OLIVEIRA, A. C. R.; MAGALHAE, S V. F.; SOARES, R. M.; AZEVEDO, S. M. F. O. Influence of drinking water composition on quantitation and biological activity of dissolved microcystin (cyanotoxin). Environmental toxicology, v.20, n.2, p.126-130, APR 2005.

PORTARIA GM/MS N° 518 DE 25 DE MARÇO DE 2004. Disponível em: http://www.saude.ba.gov.br/divisa/arquivos/legislacao/Portaria_MS_518-04.pd. Acessado em 30 de Agosto. 2005.

PENDLETON, P.; SCHUMANN, R.; WONG, S. H. Microcystin LR adsorption by activated carbon. Journal of Colloid and Interface Science, v.240, p.1-8, 2001.

QUINLIVAN, P. A.; LI, L.; KNAPPE, D. R. U. Effects of activated carbon characteristics on the simultaneous adsorption of aqueous organic micropollutants and natural organic matter. Water Research, v.39, p.1663–1673, 2005.

RESOLUÇÃO-RDC Nº 154, DE 15 DE JUNHO DE 2004. Disponível em: http://www.sbn.org.br/portarias/RDC154.doc. Acessado em 10 jul. 2006.

RUVIERI, V.; SHUNDO, L.; ALABURDA, J.; SABINO, M. Microcystins in water samples from hemodialysis clinics of Sao Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto Adolfo** Lutz, v.63, n.2, p.220-223, 2004.

SAĞ, Y.; AKTAY, Y. Application of Equilibrium and mass transfer models to dynamic removal of Cr (VI) ions by Chitin in packed column reactor. **Process Biochem.**, v. 36, p.1187-1197, 2001.

SANTOS, E. S.; GUIRARDELLO, R; FRANCO, T. T. Preparative chromatography of xylanase using expanded bed adsorption. Journal of Chromatography A, v.944, n.1-2, p.217-224, JAN 25 2002.

SILVA, A. M. M.; MARTINS, C. T. B.; RABOLI, R. F.; GETTI, V. J.; ROMÃO JUNIOR, J. E. Revisão/Atualização em Diálise: Água para hemodiálise. **J. Bras. Nefrol.**, v.18, n.2, p.180-188, 1996.

SOARES, R. M.; YUAN, M.; SERVAITES, J. C.; DELGADO, A.; MAGALHÃES, V. F.; HILBORN, E. D.; CARMICHAEL, W. W; AZEVEDO, S. M. F. O. Sublethal Exposure from Microcystins to Renal Insufficiency Patients in Rio de Janeiro. **Brazil. Environ. Toxicol.**, v.21, p.95–103, 2006.

SRIDHAR, P.; SASTRI, N. V. S.; MODAK, J. M.; MUKHERJEE, A. K. Mathematical simulation of bioseparation in an affinity packed column. Chemical and Engineering Technology, v.17, n.6, p.422-429, 1994.

WATSON J. S. Separation methods for waste and environmental applications. New York: Marcel Dekker Inc., 1999.

WEBB, P. A.; ORR JR, C. Analytical methods in fine particle technology. Micromeritics Instrument Corp., Norcross, 1997.

ZAMBON, G. A.: Remoção de Chumbo (Pb²⁺) Utilizando Zeólita Natural Clinopti-Iolita. Universidade Estadual de Campinas, 2002. 102p. Dissertação (mestrado).

ZHANG, C.; WANG, Y.; YAN, X. Liquid-phase adsorption: Characterization and use of activated carbon prepared from diosgenin production residue. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects, v. 280, p. 9–16, 2006.

CAPÍTULO VII

CONCLUSÕES GERAIS

Este trabalho teve como objetivo principal obter carvões ativados de bagaço de cana-de-açúcar, mesocarpo do coco verde, endocarpo do coco seco, casca da noz macadâmia e resíduo de madeira de pinus para utilização em processos de remoção de uma hepatotoxina de cianobactéria, [D-Leucina¹]microcistina-LR. Assim, podemos concluir dos resultados obtidos:

Anterior ao processo de carbonização e ativação com fins de obtenção de carvão ativado, os materiais precursores foram caracterizados mediante análise termogravimétrica. A partir dos resultados desta análise foi possível observar uma decomposição termoquímica dos materiais precursores em cinco estágios correspontes a deshidratação do material, decomposição pirolítica da hemicelulose, clivagem nas ligações de unidades de celulose, despolimerização térmica da lignina e por fim, o progressivo aquecimento resultou na formação de uma massa composta de carbono via rearranjo térmico conforme descrito na literatura. Ainda sob esta análise pôde-se observar que aqueles resíduos de biomassa utilizados como materiais precursores de carvão ativado tiveram diferentes teores de celulose, hemicelulose e lignina o que proporcionou a obtenção de carvões ativados com diferentes características físicas e químicas de superfície principalente no que tange a porosidade dos mesmos, levando a propriedades adsortivas diferentes.

O processo de carbonização e ativação em um único estágio de pirólise e ativação com vapor d'água a temperaturas próximas dos 900 °C proporcionaram a obtenção de carvões ativados com áreas superficiais específicas acima de 1000 m²/g, porém pôde-se observar que a origem dos materiais precursores foi um fator determinante para obtenção de carvões com diferenças distintas quanto a sua porosidade. O resultado da caracterização

física dos carvões mostrou que a casca de macadâmia, o endocarpo do coco seco e o mesocarpo do coco verde foram mais suceptíveis a fornecerem carvões ativados com características microporosas, resultando em CA com uma área de microporo entre 1014,2 m²/g e 1245,8 m²/g e volume de microporo entre 0,34 cm³/g e 0,55cm³/g, enquanto a estrutura do bagaço de cana de açúcar e do resíduo de madeira de pinus forneceu carvões ativados com características mesoporosas, com área de mesoporo entre 77,3 m²/g e 342,5 m²/g e volumede mesoporo entre 0,39 cm³/g e 1,06 cm³/g.

A estrutura porosa dos carvões também foi caracterizada mediante ensaios de adsorção em fase líquida com iodo e azul de metileno. Os resultados mostraram que os mesmos carvões que apresentaram os maiores volumes de microporos e volume de microporos secundários+volume de mesoporos também apresentaram capacidades máximas de adsorção a iodo e azul de metileno, indicando que a estimativa do número de iodo e do índice de azul de metileno pode ser utilizada como medida indicativa da microporosidade e mesoporosidade em carvões ativados.

Além da estrutura porosa, a superfice dos carvões ativados foi analizada quanto a existência de possíveis grupos oxigados utilizando espectroscopia de infravermelho por tranformada de Fourrier-FTIR, onde foi possível observar em todas as superfícies dos carvões estudados, grupamentos álcools, fenóis, ácidos carboxílicos, anidridos carboxílicos, quinonas e lactonas, fazendo com que estes carvões tenham um caráter predominatemente ácido.

Após a produção e caracterização dos carvões ativados foi necessário obter e caraterizar um extrato de microcistinas de *Microcystis sp.* o qual pudesse ser utilizado nos ensaios de adsorção com os carvões mais mesoporos obtidos: carvão ativado do bagaço de cana-de-açúcar e de resíduo de madeira.

Primeiramente, o extrato de microcistinas, utilizado nos ensaios de adsorção, foi caracterizado para identificação das microcistinas contidas no mesmo além de suas quantificações. Esta identificação foi realizada por meio de espectrometria de massas por MALDI-TOF, onde foi observado íon molecular de quatro diferentes microcistinas os quais puderam ser atribuídos a [ADMAdda⁵]MCYST-LR, [D-Leucina¹]MCYST-LR, [D-Asp³,ADMAdda⁵, Dhb⁷]MCYST-RR e [D-Asp³,ADMAdda⁵,Dhb⁷]MCYST-HtyR. A partir da quantificação das microcistinas do extrato por CLAE, utilizando-se padrão dereferência

de MCYST-LR, foi possível observar que a [D-Leucina¹]MCYST-LR apresentava uma composição de cerca de 90% em relação as outras microcistina do extrato. Conseqüentemente, apenas esta microcistina foi tomada como referência nos ensaios de adsorção.

Para fornecer resultados confiáveis com relação a quantificação da concentração de [D-Leucina¹]microcistina-LR em fase líquida e sólida nos ensaios de adosrção, uma metodologia de análide de microcistinas por cromatografia líquida de alta eficiência foi validada. Os resultados obtidos mostraram que concentrações de microcistinas a níveis de $50\mu g/L$ em água de torneira livre de cloro poderiam ser quanticadas e detectadas pelo sitema de cromatografia empregado nas análises numa exatidão e precisão expressa pelo método de aproximadamente 5 e 6,5%, respectivamente.

Com a caracterização do extrato de microcistinas e dos carvões ativados, pôde-se iniciar os ensaios de adsorção da [D-Leucina¹]microcistina-LR.

Assim, os carvões ativados considerados mais mesoporosos: CA do bagaço de cana-de-açucar (CASCB)e resíduo de madeira de pinus (CAPW), além do o carvão ativado de endocarpo de coco seco (CACS), caracterizado por ser mais microporo, foram utilizados nos ensaios de cinética de adsorção. Os estudos de cinética de adsorção do extrato de microcistina contendo a [D-Leucina¹]microcistina-LR pelos respectivos carvões revelaram eficiências de remoção de 62,31% (CACS), 98,73% (CASCB) e 99,27% (CAPW) num tempo de contato de aproximadamente 10, 10 e 40 minutos para os carvões CAPW, CASCB e CACS. Destes três carvões, apenas os dois carvões mais mesoporosos foram tomados para o estudo do equilíbrio de adsorção. Assim, os carvões do bagaço de cana de açúcar e pinus apresentaram adsorção em monocamada de 161,3 µg/mg e 200,0 µg/mg. Estes resultados quando comparados com aqueles obtidos na literatura nos dão uma idéia do perfil de carvão que deve ser utilizado em estações de tratamento de água para remoção de contaminantes tais como as microcistinas, que deve ter um volume de microporos secundários acima de 0,35 cm³/g e volume de mesoporos acima 0,40 cm³/g.

Carvões ativados utilizados por duas estações de tratamento de água de centros de hemodiálise foram amostrados para avaliar as suas propriedades texturais e capacidade de adsorção em fase líquida para iodo, azul de metileno e [D-Leucina¹]microcistina-LR. Sabese que carvões ativados comerciais apresentam área da superfice específica acima de 600

 m^2/g , o que é tomado como referência para compra deste adsorvente. Apesar dos carvões ativados amostrados estarem dentro das especificações comerciais, pois apresentaram área da superfície específica entre 600 e 1000 m²/g aproximadamente, foi observado que os mesmos carvões possuíam volumes de mesoporos (0,01-0,09 cm³/g) muitos abaixo daqueles especificados pela literatura (0,40 cm³/g), devendo estes carvões, de ambos os centros, ser rejeitados para tal finalidade ou utilizados com precaução.

Quanto a adsorção da [D-Leucina¹]microcistina-LR pelos melhores carvões amostrados de ambos os centros de hemodiálise, foi observada uma eficiência de remoção para aquela toxina próxima a 4%, que quando comparada efciência de remoção áquela mesma toxina pelo carvão ativado do bagaço (próxima a 99%), dar-nos uma visão de qual baixa capacidade de adsorçao são os carvões utilizados pelos dois centros de hemodiálise. Esta baixa eficiência de remoção destes carvões está relacionada principalmente aos seus volumes de mesoporos, que são menores que 0.09 cm³/g.

Estudos prévios sobre a adsorção dinâmica da [D-Leucina¹]MCYST-LR em leitos fixos dos carvões ativados dos centros de hemodiálise mostram capacidades de adsorção entre 3,67 e 5,31 μ g/mg, bem próximas daquelas observadas para os carvões ativados obtidos apartir do endocarpo do coco seco e bagaço de cana-de-açúcar: 2,07 e 5,43 μ g/mg repectivamente. Este comportamento de adsorção tão próximo deve-se em parte principalmente as condições de operação dos leitos.

Os processos de adsorção em leito fixo de carvão ativado foram operados próximos de condições ideais de acordo com os parâmetros levantados a partir das curvas de ruptura $(\bar{t}, \sigma_{\theta}^2 \in \mathbb{R})$ com desprezível dispersão axial e resistência à transferência de massa.

CAPÍTULO VIII

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Neste capítulo, de forma a complementar os trabalhos iniciados e relatados nesta tese de doutorado, são sugeridos alguns trabalhos futuros.

Weed with the start is the man

1. Neste trabalho, avaliamos a potencialidade de carvões ativados obtidos de resíduos agrícolas tais como endocarpo do coco seco, mesocarpo do coco verde, bagaço de cana-de-açúcar, casca da noz macadâmia e resíduo de madeira de pinus para possível aplicação em tratamento de água potável contendo microcistinas. O Brasil gera anualmente mais de 500.000 toneladas de resíduos agrícolas, assim para trabalhos futuros outros resíduos podem ser estudados quanto a sua potencialidade em fornecer carvões ativados de qualidade superior tais como aqueles do endocarpo do coco babaçu e da casca de arroz, além de resíduos industriais como os das indústrias têxteis;

2. Partindo-se de um extrato que possua uma mistura de igual concentração de 3 ou 4 microcistinas, um estudo sobre a competição de adsorção entre estas toxinas na superfície do carvão ativado torna-se necessário, pois mais de 60 variantes de microcistinas já foram catalogadas, as quais possuem conformação e peso molecular muito próximo umas das outras, porém de características físico-químicas bem particulares tais como, por exemplo, os seus pontos isoelétricos, pH onde a molécula possui uma rede de carga igual a zero. Tal característica pode ser usada para otimizar a remoção daquelas toxinas de água por carvões ativados;

227

3. Colunas de leito fixo de carvão ativado são muito utilizadas em estações de tratamento d'água para remoção de possíveis níveis de microcistinas contidas na água além de outras substâncias indesejáveis. A escolha de carvões adequados para tal finalidade está vinculada a exigência de parâmetros de efetividades como S_{BET} , número de iodo e índice de azul de metileno principalmente. No entanto, esta não é a única preocupação por parte das estações de tratamento de água de centros de hemodiálise, o número de ciclos de adsorção destes leitos pode comprometer a qualidade da água destes centros. Assim, para estudos futuros sugerimos a avaliação do número de ciclos comportados por leitos fixos dos carvões utilizados nestes centros sem o comprometimento da qualidade da água usada pelos mesmos;

4. A reativação destes carvões ativados é na prática uma saída para a solução do problema de disposição final destes materiais, haja vista que depois de um certo número ciclos de adsorção os mesmos perdem sua eficiência de remoção e precisam ser trocados. Neste estágio substâncias antes indesejáveis encontradas na superfície da água, encontram-se concentradas na superfície dos carvões muitas vezes em níveis indesejáveis do ponto de vista sanitário, não podendo simplesmente tais adsorventes ser descartados em locais abertos tais como aterros sanitários. Sugere-se então avaliar por meio de estudos futuros, o produto da reativação destes carvões impregnados com microcistinas, utilizando vapor d'água sob temperatura controlada, considerando o rendimento e porosidade do carvão obtido;

5. Além das hepatotoxinas (microcistinas), as cianobactérias produzem outros metabólictos secundários como as neurotoxinas. As saxitoxinas são um grupo de neurotoxinas produzidas por alguns gêneros de cianobactérias que vem despertando a atenção por parte das autoridades públicas devido ao número de relatos destas toxinas em reservatórios para abastecimento público, principalmente na região nordeste do Brasil, e dos riscos associados a esta toxina. A remoção deste grupo de toxinas de cianobactérias por carvão ativado é um processo ainda com poucos estudos, assim sugerimos para trabalhos futuros a avaliação da remoção destas toxinas de água por carvões ativados comerciais e daqueles obtidos de resíduos agrícolas como aqueles utilizados neste trabalho;

6. Neste trabalho avaliamos uma dentre dezenas de técnicas disponíveis para remoção de toxinas de cianobactérias de água potável. A utilização de processos fotocatalíticos, ozonização e radiação ultravioleta associados à adsorção em carvão ativado para remoção de toxinas de cianobactérias de água é uma alternativa já bem descrita na literatura. Alguns hemocentros, como aquele descrito neste trabalho (Hospital das Clínicas – PE) já dispõe de reator de ultravioleta como etapa de polimento da água utilizada neste centro. A ozonização como técnica de polimento de água tratada é uma técnica atrativa principalmente em pequenas estações de tratamento de água como aquelas encontradas em centros de hemodiálise. Assim, como trabalhos futuros, sugerimos a avaliação da ozonização associada ao processo de adsorção em carvão ativado para remoção de cianotoxinas de água potável;

7. Para um melhor entendimento do comportamento da taxa de adsorção das microscistinas sobre os carvões ativados, torna-se necessário uma modelagem da cinética do referido processo. A partir deste estudo informações sobre a quantidade de carvão ativado para uma determinada aplicação poderá ser prevista bem como o tempo de contato de um determinado carvão ativado para uma certa concentração de microcistina também poderá ser estimado.

8. Da mesma forma que a modelagem cinética do processo de remoção de microcistina por carvão ativado em batelada é importante para o projeto deste processo, a modelagem do processo contínuo de adsorção para trabalhos futuros também é importante considerando os mesmos objetivos aplicados aquele estudo, ou seja, fornecer subsidios para aplicação em projetos de colunas de adsoção tais como altura do leito, concentração inicial de toxina, vazão, temperatura, etc.

229