



**AVALIAÇÃO DA PRÉ-OZONIZAÇÃO NO CONTROLE DE CIANOBACTÉRIAS E
DEGRADAÇÃO DE MICROCISTINAS**

TESE

Lucila Adriani Coral

Orientador: Prof. Flávio Rubens Lapolli, Dr.

Co-orientador(a): Fatima de Jesus Bassetti, Dr^a.

Comitê examinador: Prof^a. Rosângela Bergamasco, Dr^a. (UEM)

Prof. Marcio Barreto Rodrigues, Dr. (UTFPR)

Prof. William Gerson Matias, Dr. (UFSC)

Prof^a. Maria Ângeles Lobo Récio, Dr^a. (UFSC)

Prof^a. Celia Regina Monte Barardi, Dr^a. (UFSC)

Data de defesa e aprovação: 03 de dezembro de 2012

Florianópolis, Fevereiro de 2013

Sumário

| | | |
|-----|---|----|
| 1 | OBJETIVOS | 3 |
| 1.1 | OBJETIVO GERAL..... | 3 |
| 1.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 3 |
| 2 | PESQUISA BIBLIOGRÁFICA | 3 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 6 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 7 |
| 4.1 | Efeito da ozonização na liberação de COD das células | 8 |
| 4.2 | Efeito do ozônio sobre a integridade celular de <i>M. aeruginosa</i> e <i>A. flos-aquae</i> | 9 |
| 4.3 | Impacto das cianobactérias e COD sobre o decaimento do ozônio | 9 |
| 4.4 | Formação de subprodutos a partir de células de cianobactérias | 9 |
| 4.5 | Efeito da ozonização na liberação e oxidação de toxina intracelular | 10 |
| 5 | CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES | 11 |
| 6 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 12 |

Resumo

Florações de cianobactérias potencialmente tóxicas em mananciais de abastecimento tem se tornado uma preocupação em nível mundial. A pré-ozonização, embora seja um processo eficiente, tem como problemática a tendência à lise celular com a liberação dos constituintes internos à célula. Entretanto, existem ainda limitadas informações sobre o nível de comprometimento celular e a influência da pré-ozonização na formação de subprodutos a partir de cianobactérias. Este estudo investigou o mecanismo de ação do ozônio em células de *Microcystis aeruginosa* e *Anabaena flos-aquae* cultivadas em laboratório, em termos de viabilidade celular; liberação de compostos intracelulares; estudo cinético de degradação da toxina intracelular; e a potencialidade de formação de subprodutos. Diferentes doses de ozônio ($0,5$, 2 e $4 \text{ mgO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$), densidade de células ($2,5 \times 10^5$ e $1,5 \times 10^6 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$) e pH (6 e 8) foram utilizados neste estudo. Os resultados obtidos indicaram uma rápida e completa perda de viabilidade celular para ambas as espécies após exposição ao ozônio (valor CT - concentração x tempo) $\leq 0,2 \text{ mg} \cdot \text{min} / \text{L}$, embora não significativa redução no número de células tenha sido observada. O aumento da concentração de carbono orgânico dissolvido (COD) foi observado, principalmente para *A. flos-aquae*, indicando que alterações na permeabilidade celular das cianobactérias induz a liberação do conteúdo interno das células. O pH pode ser descrito como uma variável importante no processo de ozonização, onde o pH mais elevado favoreceria o aumento do COD extracelular e da formação de subprodutos da desinfecção (THM e HAA), sendo necessária, portanto, a adoção de processos de tratamento subsequentes, visando a redução de precursores. A capacidade de degradação de microcistina intracelular pelo ozônio foi verificada, tendo-se uma degradação mais lenta em pH 8 , o que sugere que a microcistina é mais reativa com o ozônio molecular, presente em maior quantidade em pH 6 . Embora a pré-ozonização de cianobactérias aumente a probabilidade de formação de subprodutos, a efetividade do oxidante na degradação de toxinas torna esse processo atrativo, considerando-se a ausência de toxinas no final do sistema de tratamento. A adoção desse processo, aplicado de forma adequada, compreende um avanço no tratamento de águas com presença de cianobactérias e seus metabólitos, uma vez que os processos convencionais de tratamento mostram-se limitados nestas condições e processos avançados podem tornar o tratamento mais oneroso.

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Este estudo teve como objetivo geral avaliar a cinética de ação do ozônio na estrutura celular de cianobactérias e a degradação de cianotoxinas por este oxidante, e avaliar a contribuição da matéria orgânica das células na formação de subprodutos da desinfecção em diferentes condições operacionais de pré-ozonização.

1.2 Objetivos específicos

Mais especificamente, teve-se como objetivos:

- Avaliar o impacto da ozonização na característica celular (morfologia e integridade celular) das cianobactérias *Microcystis aeruginosa* e *Anabaena flos-aquae*.
- Estudar o comportamento de liberação de compostos intracelulares, em termos de carbono orgânico dissolvido e toxinas, frente a crescentes exposições ao ozônio (CT - concentração do oxidante x tempo).
- Desenvolver um modelo cinético para descrever a reatividade das cianobactérias estudadas com o ozônio (O₃).
- Estimar a formação de trihalometanos (THM) e ácidos haloacéticos (HAA) a partir da pré-ozonização das células de cianobactérias como cultivos isolados.
- Determinar quantitativamente a eficiência da pré-ozonização na degradação de microcistina intracelular e a sua cinética de decomposição.

2 PESQUISA BIBLIOGRÁFICA

As cianobactérias são um componente significativo do ciclo de nitrogênio marinho e são importantes produtores primários nos oceanos (LI, 2009). Entretanto, a presença destes microrganismos tem sido reportada também em outros *habitats*, como lagos e reservatórios de água, o que causa preocupação tanto pelas alterações nas características físico-químicas e na cadeia trófica do ambiente, quanto pelas alterações operacionais nos sistemas de tratamento de água.

Eventos de floração em lagos e reservatórios de água são frequentemente relatados na literatura, inclusive no Brasil (COSTA et al., 2006; CARVALHO et al., 2008; SÁ et al., 2010). A espécie *Microcystis aeruginosa* é uma das cianobactérias formadoras de floração mais comuns em ecossistemas de água doce, sendo largamente distribuída em todos os continentes (STRAUB et al., 2011). No Brasil, as espécies *M. aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii*, são normalmente as mais encontradas nos eventos de floração.

Além de resultar em uma série de alterações no corpo d'água, limitando o seu uso recreacional e provocando perturbações em todo o ecossistema aquático, densidades elevadas de células de cianobactérias no manancial resultam em problemas operacionais nos processos de tratamento de água, com reduzidas carreiras de filtração e maior geração de lodo (BABLON et al., 1991a; BABLON et al., 1991b; DE JULIO et al., 2010).

Além dos problemas operacionais em virtude das células, a produção de toxinas (cianotoxinas) é uma das maiores preocupações associadas à presença de cianobactérias em mananciais de abastecimento de água, uma vez que estas moléculas são altamente solúveis em água e não são passíveis de remoção por processos convencionais de tratamento (BARTRAM et al., 1999). As hepatotoxinas, que compreendem as microcistinas e nodularinas, são as toxinas mais frequentemente encontradas no ambiente e normalmente associadas a eventos de intoxicação (AFSSA; AFSSET, 2006). A microcistina é altamente solúvel em água, tendo-se conhecimento da existência de mais de 80 variantes (HUMPAGE, 2008; WESTRICK et al., 2010), sendo a MC-LR a variante encontrada com maior frequência e em maior concentração em eventos de floração.

Considerando que mais de 95% da toxina é caracterizada como intracelular (NEWCOMBE, 2002), a maior preocupação reside em evitar que as mesmas sejam liberadas para a água, o que pode ocorrer naturalmente, em virtude do estado de senescência dos microrganismos ou artificialmente, através da lise celular, muitas vezes associada à aplicação de algicidas (LAVOIE et al., 2007; WESTRICK et al., 2010). Quando a liberação da toxina é inevitável ou mesmo desejável, torna-se então necessária a adoção de processos capazes de permitir a degradação ou a retenção dessas substâncias.

O ozônio é um agente com elevado poder oxidante e bastante versátil quando de seu uso no tratamento de águas. Na degradação de cianotoxinas, o ozônio apresenta elevada capacidade de degradação de MC-LR, anatoxina (ANTX) e cilindrospermopsina (CYN) (RODRÍGUEZ et al., 2007b). Em moléculas de microcistina, a reatividade do ozônio com as duplas ligações da metade Adda da molécula e da porção amina no anel (Mdha), resultam na rápida e efetiva eliminação de sua toxicidade. Vários estudos destacam a efetividade do ozônio na degradação de microcistina dissolvida (ONSTAD et al., 2007; RODRÍGUEZ et al., 2007b; MIAO; TAO, 2009; AL MOMANI; JARRAH, 2010). Na avaliação da eficiência de degradação, fatores como temperatura, dose de ozônio, pH e concentração de carbono orgânico devem ser considerados, uma vez que irão influenciar na efetividade do oxidante.

Embora avaliações quanto à degradação de toxina intracelular, assim como os efeitos do oxidante na célula da cianobactéria sejam ainda reduzidas, alguns estudos destacam como principal efeito da oxidação a liberação de compostos orgânicos intracelulares, além de toxinas, que tendem a aumentar a formação de subprodutos. Estudos de pré-ozonização de células de cianobactéria indicam alterações na morfologia de células de cianobactéria, com redução no teor de clorofila-a e liberação de compostos intracelulares (HOEGER; DIETRICH; HITZFELD, 2002; HUANG; CHENG; CHENG, 2008; MIAO; TAO, 2009; LI et al., 2011), mas são restritivos quanto a informações sobre o mecanismo de atuação.

Embora alguns estudos tenham mostrado que a pré-ozonização é eficaz na redução de células de certas espécies de cianobactéria, limitadas informações são obtidas quanto à cinética de degradação de microcistina intracelular, a demanda de ozônio por células de cianobactérias, perda de viabilidade celular, e contribuição das células de cianobactérias na formação de subprodutos da desinfecção. Assim, a avaliação destes aspectos pelo presente estudo é relevante do ponto de vista da viabilidade de aplicação do ozônio como uma etapa de pré-tratamento para águas procedentes de ambientes eutrofizados.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A parte experimental deste estudo foi desenvolvida no Departamento de Engenharia Civil, de Geologia e de Minas, da École Polytechnique de Montréal (EPM), Canadá.

Uma cepa tóxica de *Microcystis aeruginosa* (CPCC 299) e uma cepa não tóxica de *Anabaena flos-aquae* (CPCC 64), obtidas do Centro Canadense de Cultivo Ficológico (Canadian Phycological Culture Centre) foram cultivadas em laboratório, em condições controladas de luminosidade e temperatura. Para os ensaios de ozonização, os microrganismos em fase exponencial ou estacionária (aproximadamente 20 dias de crescimento) foram isolados por meio de filtração e quantificadas por microscopia óptica, utilizando uma câmara de contagem Sedgewick-Rafter. A partir desta contagem, volume equivalente ao número de células desejado era adicionado à água de estudo.

Os experimentos de pré-ozonização foram realizados considerando-se estudos cinéticos de consumo de ozônio e avaliação do efeito do oxidante sobre as células, tendo-se como variáveis a densidade celular ou turbidez, dose de ozônio e pH inicial. O tempo de contato foi sempre igual a 10 minutos. As condições avaliadas para os cultivos laboratoriais e para a água natural são indicadas na Figura 1.

A concentração da solução estoque de ozônio, assim como a concentração de ozônio residual nas amostras foram determinadas de acordo com o método colorimétrico 4500-O₃ (APHA, 2005) utilizando o reagente índigo trissulfonato ($\epsilon_{600nm}=20.000 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). A avaliação da integridade celular antes e após a exposição das cianobactérias ao processo oxidativo foi realizada empregando-se o kit colorimétrico BacLight™ (Molecular Probes, Inc.) (BOULOS et al., 1999; STOCKS, 2004; BERNEY et al., 2007), com a avaliação baseada na coloração das células: verdes (células viáveis); vermelhas (células danificadas).

A quantificação de microcistina antes e após a oxidação de *M. aeruginosa* por ozonização foi realizada utilizando-se kit ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (ABRAXIS 520011) para todas as condições avaliadas. A identificação das variantes de microcistina existentes na amostra foi realizada a partir de cromatografia líquida seguida de espectrometria de massas por meio de extração em fase sólida em modo on-line (on-line SPE e LC MS/MS).

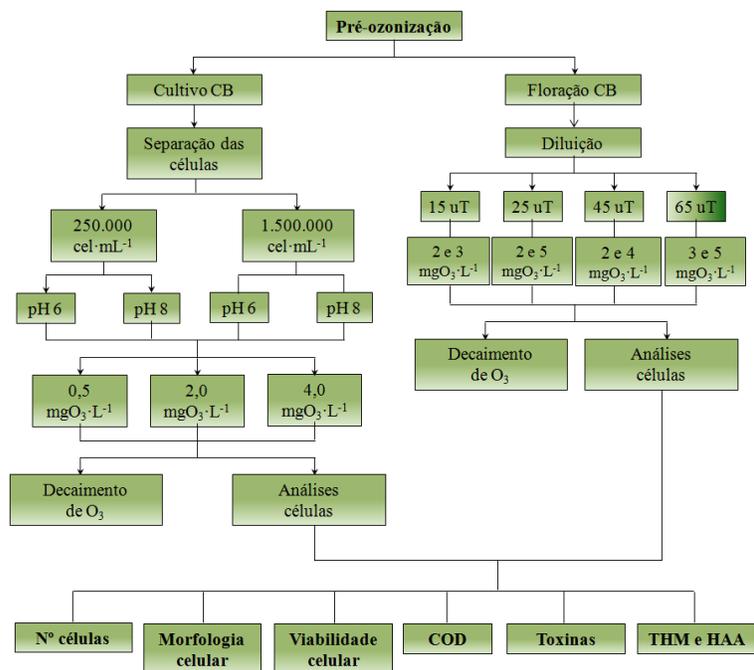


Figura 1. Fluxograma representativo dos experimentos de pré-ozonização com cultivo de células de cianobactérias e floração natural.

Para a avaliação da formação de subprodutos (trihalometanos e ácidos haloacéticos), após cloração das amostras ozonizadas ou não, alíquotas foram recolhidas para extração líquido/líquido com hexano, como descrito no Standard Methods 6232B (APHA, 1998) para THM e extração líquido/líquido com éter metil terc-butílico (MTBE) seguido por derivatização com metanol ácido, de acordo com o Método USEPA 552.2 (USEPA, 1995) para HAA. Todos os subprodutos foram analisados por cromatografia gasosa (CP-3800, Varian) com detecção por captura de elétrons (GC/ECD). Para as avaliações cinéticas foram considerados o fator CT (concentração residual de ozônio x tempo de contato) e o desenvolvimento de um modelo de predição de demanda inicial de ozônio e modelagem cinética de *n*-ésima ordem.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir dos cultivos laboratoriais e das amostras de água natural serão apresentados de forma sequencial, considerando-se os efeitos do ozônio na estrutura das células e na liberação e oxidação dos constituintes intracelulares.

4.1 Efeito da ozonização na liberação de COD das células

A ozonização das suspensões de células de cianobactérias resultou em um aumento substancial na concentração de COD no meio como indicado na Figura 2 para a densidade de $250.000 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$. Como observado, proporcionalmente, a maior quantificação de COD extracelular foi observada já no primeiro tempo de contato avaliado (0,5 min). Este comportamento pode ser atribuído a duas condições distintas: uma rápida reação entre o ozônio e a biomassa celular, com a formação direta de COD; ou uma reação indireta a partir da lise celular das cianobactérias, levando à liberação dos compostos intracelulares (MÜLLER et al., 2003; HAMMES et al., 2007; RAMSEIER et al., 2011).

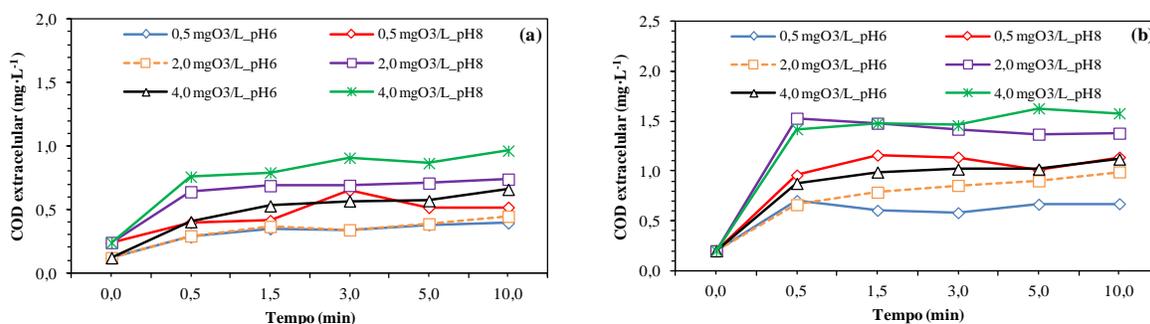


Figura 2. Liberação de COD para *M. aeruginosa* (a) e *A. flos-aquae* (b) para a densidade de $2,5 \times 10^5 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$; dose de ozônio de 0,5, 2,0 e 4,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e pH de 6 e 8.

Como mostrado na figura citada acima, doses mais elevadas de ozônio tenderam a resultar em uma maior concentração de COD extracelular. A influência do pH na reatividade do ozônio em termos de COD extracelular também foi observada. Uma maior quantidade de COD foi liberada em pH 8 se comparado a pH 6. Um aumento na concentração de COD em maiores valores de pH (5,5 a 9,0) foi também observado por Huang, Cheng e Cheng (2008). Em pH alcalino, a maior concentração de íons hidróxido (OH^-) promove a decomposição do ozônio e a formação de radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$) (WIDRIG; GRAY; MCAULIFFE, 1996; VON GUNTEN, 2003).

As mesmas considerações são atribuídas a maior densidade de células ($1.500.000 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$), tendo-se apenas uma proporcionalmente maior concentração de COD observada.

4.2 Efeito do ozônio sobre a integridade celular de *M. aeruginosa* e *A. flos-aquae*

O impacto da ozonização sobre a integridade celular foi verificado pelo método BacLight™, respectivamente. Como observado na Figura 3b e Figura 3d, uma perda imediata da integridade celular após a exposição ao ozônio para ambas as espécies de cianobactérias foi observada: todas as células apresentaram uma coloração vermelho/alaranjado mesmo para o menor tempo de contato (30 ± 5 s) e dose de ozônio de $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Esses resultados indicam danos imediatos à membrana celular em valores de $\text{CT} \leq 0,2 \text{ mg}\cdot\text{min}/\text{L}$ para todos os experimentos de ozonização, para ambas as espécies de cianobactéria, os valores de pH e as densidades de célula adotados. A redução no número de células após a ozonização foi reduzida (*M. aeruginosa* em pH 6) ou nula (demais condições).

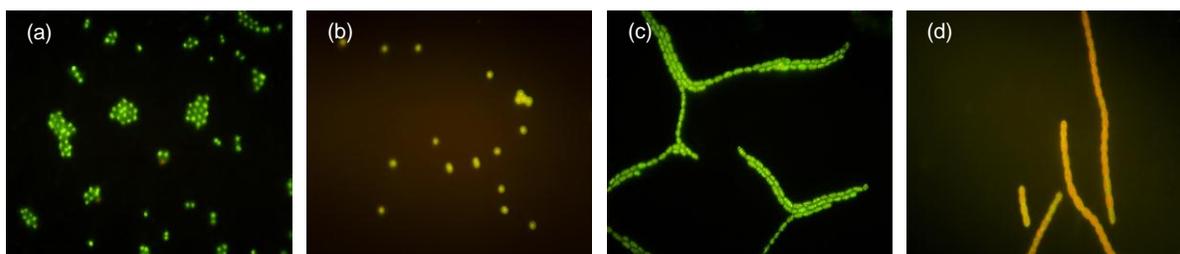


Figura 3. Impacto da ozonização sobre a viabilidade celular a partir do método BacLight™. Células de *M. aeruginosa* (a) antes e (b) após ozonização; células de *A. flos-aquae* (c) antes e (d) após ozonização (pH 6 com $0,5 \text{ mgO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ - 30 s de tempo de contato).

4.3 Impacto das cianobactérias e COD sobre o decaimento do ozônio

Para cada curva de decaimento, avaliada de forma individual, um modelo de pseudo-primeira ordem foi ajustado por regressão não-linear. O perfil de decaimento do ozônio na ausência de células foi mais lento se comparado ao perfil de decaimento quando as células estavam presentes. Em pH 6 a taxa de decaimento mostrou-se mais estável, para as três doses aplicadas, do que em pH 8. Os maiores decaimentos foram sempre observados para *A. flos-aquae* se comparado a *M. aeruginosa*, o que pode ser associado a uma maior biomassa para a espécie filamentosa.

4.4 Formação de subprodutos a partir de células de cianobactérias

Os resultados obtidos indicaram a formação predominante de clorofórmio (CHCl_3) e ácido dicloroacético (DCAA) nos ensaios com *M. aeruginosa* e de CHCl_3 , DCAA e ácido tricloroacético

(TCAA) para *A. flos-aquae*. A legislação brasileira (Portaria 2.914) (BRASIL, 2011) preconiza um valor total de $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para THM e $80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ como valor máximo permitido como padrão de potabilidade. Os mesmos valores são adotados pela legislação canadense (CANADA, 2006; 2008). Os valores obtidos para a densidade de células estudada ($250.00 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$) de até $38,4$ e $62,7 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de THM e $13,5$ e $23,9 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de HAA para *M. aeruginosa* e *A. flos-aquae*, respectivamente, indicam que a presença das cianobactérias estudadas em águas superficiais poderiam, principalmente para o THM, aumentar a concentração final de subprodutos formados, dependendo da qualidade da água.

Na Figura 4 tem-se representado o comportamento de formação de THM e HAA nas condições de pH (6 e 8) e densidade de células ($250.000 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$) para ambas as espécies estudadas.

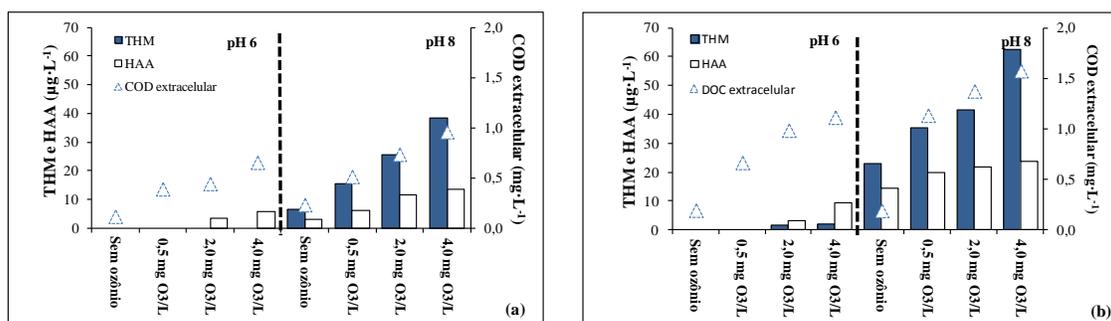


Figura 4. Formação de THM e HAA após ozonização de *M. aeruginosa* (a) e *A. flos-aquae* (b) em pH 6 e 8 e após 10 min de tempo de contato com 0,5, 2 e 4 $\text{mgO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ para $2,5\times 10^5 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$.

4.5 Efeito da ozonização na liberação e oxidação de toxina intracelular

A imediata alteração na estrutura celular de *M. aeruginosa* foi novamente verificada com o aumento da concentração de toxina extracelular após 0,5 min de tempo de contato em praticamente todas as condições. As concentrações remanescentes de toxina, total e extracelular, após 10 min de exposição ao ozônio nas condições avaliadas são apresentadas na Tabela 1. A degradação de microcistinas mostrou-se mais efetiva a pH 6. Conforme destacado por Al Momani e Jarrah (2010), a degradação mais lenta a pH alcalino sugere que a microcistina apresenta uma maior afinidade com o ozônio molecular do que com os radicais hidroxila.

A reação de oxidação de microcistina com o ozônio é descrita como uma reação de segunda ordem, sendo de primeira ordem para cada um dos reagentes, mas pode ser considerada de pseudo-primeira em relação a degradação da toxina em virtude dos curtos intervalos de tempo

utilizados nos ensaios cinéticos (Eq. 1) (Al momani e Jarrah, 2010). A constante de velocidade de liberação é maior do que a constante de velocidade de degradação da toxina, sendo a constante de degradação superior a pH 6.

$$\frac{-d[Tox]}{dt} = k_{ap} \times [Toxina]$$

onde, k_{ap} é a constante cinética de pseudo-primeira ordem para a degradação da toxina.

Tabela 1. Ozônio residual e dados de degradação de microcistina após ozonização das células de *M. aeruginosa*

| Tempo (min) | Residual de ozônio (mg·L ⁻¹) - pH 6 | | | | | | | |
|--|---|------------|------------|------------|--------------------------------|------------|------------|------------|
| | 250.000 cel·mL ⁻¹ | | | | 1.500.000 cel·mL ⁻¹ | | | |
| 0,0 | 0,0 | 0,5 | 2,0 | 4,0 | 0,0 | 0,5 | 2,0 | 4,0 |
| 0,5 | 0,0 | 0,3 | 2,1 | 3,9 | 0,0 | 0,3 | 1,6 | 3,0 |
| 1,5 | 0,0 | 0,2 | 1,6 | 3,7 | 0,0 | 0,2 | 0,8 | 2,6 |
| 3,0 | 0,0 | 0,1 | 1,4 | 3,4 | 0,0 | 0,1 | 0,6 | 2,2 |
| 5,0 | 0,0 | 0,1 | 1,3 | 3,0 | 0,0 | 0,0 | 0,3 | 1,6 |
| 10,0 | 0,0 | 0,0 | 0,9 | 2,6 | 0,0 | 0,0 | 0,2 | 1,1 |
| Concentração de toxina (µg·L ⁻¹) | | | | | | | | |
| Total | 8,1 | 0,3 (96%)* | 0 (100%) | 0 (100%) | 27,1 | 7,4 (73%) | 0 (100%) | 0 (100%) |
| Extracelular | 0,0 | 0,2 | 0,0 | 0,0 | 0,2 | 5,7 | 0,0 | 0,0 |

| Tempo (min) | Residual de ozônio (mg·L ⁻¹) - pH 8 | | | | | | | |
|--|---|------------|------------|------------|--------------------------------|------------|------------|------------|
| | 250.000 cel·mL ⁻¹ | | | | 1.500.000 cel·mL ⁻¹ | | | |
| 0,0 | 0,0 | 0,5 | 2,0 | 4,0 | 0,0 | 0,5 | 2,0 | 4,0 |
| 0,5 | 0,0 | 0,2 | 1,1 | 2,2 | 0,0 | 0,3 | 1,1 | 1,4 |
| 1,5 | 0,0 | 0,1 | 0,6 | 1,2 | 0,0 | 0,1 | 0,2 | 0,4 |
| 3,0 | 0,0 | 0,0 | 0,2 | 0,7 | 0,0 | 0,0 | 0,1 | 0,1 |
| 5,0 | 0,0 | 0,0 | 0,1 | 0,4 | 0,0 | 0,0 | 0,1 | 0,0 |
| 10,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,1 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Concentração de toxina (µg·L ⁻¹) | | | | | | | | |
| Total | 7,4 | 0,6 (92%) | 0 (100%) | 0 (100%) | 30,1 | 16,9 (44%) | 3,7 (88%) | 0 (100%) |
| Extracelular | 0,0 | 0,6 | 0,0 | 0,0 | 0,2 | 7,1 | 2,6 | 0,0 |

5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Nas condições estudadas pode-se verificar que uma reduzida dose de ozônio (0,5 mg·L⁻¹) foi suficiente para causar uma completa perda de integridade de *M. aeruginosa* e *A. flos-aquae*, para ambas as densidades de célula e valores de pH avaliados. Verificou-se que todas as variáveis avaliadas, pH, densidade de células e dose de ozônio, exerce influência no processo e que a ação do ozônio na célula, causando a liberação dos constituintes internos pode aumentar a concentração de subprodutos formados na etapa de pós-cloração. No entanto, a ozonização das células de *M. aeruginosa* foi efetiva na degradação de microcistina intracelular, tendo-se um melhor rendimento a pH 6 e 2 mgO₃·L⁻¹.

De forma geral, pode-se considerar que a aplicação do ozônio como uma etapa de pré-tratamento pode ser uma alternativa interessante para evitar que a presença de cianotoxinas e

reduzir o número de células ao final do tratamento de águas superficiais oriundas de ambientes eutrofizados e com presença de cianobactérias, desde que sejam consideradas etapas subsequentes a este processo, visando à redução dos precursores de THM e HAA. Este processo se constitui em um avanço tecnológico no que concerne ao tratamento de águas, uma vez que os processos convencionais não se mostram efetivos na remoção de cianotoxinas e a presença destes organismos e seus metabólitos é cada vez maior e mais preocupante quando se considera a saúde da população atendida.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AL MOMANI, F. A.; JARRAH, N. Treatment and kinetic study of cyanobacterial toxin by ozone. **Journal of Environmental Science and Health Part A**, v. 45, p. 719-731, 2010.
2. APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. APHA, A., WEF. Washington, D. C.: American Public Health Association 1998.
3. BERNEY, M. et al. Assessment and interpretation of bacterial viability by using the LIVE/DEAD BacLight kit in combination with flow cytometry. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 10, p. 3283-3290, 2007.
4. BRASIL. **Portaria N 2914**. Brasília: Ministry of Health 2011.
5. CANADA. **Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document - Trihalomethanes**. Ottawa: Federal-Provincial-Territorial Committee on Drinking Water of the Federal-Provincial-Territorial Committee on Health and the Environment. 2006.
6. _____. **Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: guideline technical document - Haloacetic acids**. Ottawa: Federal-Provincial-Territorial Committee on Drinking water of the Federal-Provincial-Territorial Committee on Health and the Environment 2008.
7. CARVALHO, L. R. et al. A toxic cyanobacterial bloom in an urban coastal lake, Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 761-769, 2008.
8. COSTA, I. A. S. et al. Occurrence of toxin-producing cyanobacteria blooms in a brazilian semiarid reservoir. **Braz. J. Biol.**, v. 66, n. 1B, p. 211-219, 2006.

9. HUANG, W.-J.; CHENG, Y.-L.; CHENG, B.-L. Ozonation byproducts and determination of extracellular release in freshwater algae and cyanobacteria. **Environmental Engineering Science**, v. 25, n. 2, p. 139-151, 2008.
10. LI, H. et al. Effect of pH on inactivation of *Microcystis aeruginosa* by ozonation air in sequencing batch reactor. **J Chem Technol Biotechnol**, v. 86, p. 468-471, 2011.
11. MIAO, H.; TAO, W. The mechanisms of ozonation on cyanobacteria and its toxins removal. **Separation and Purifications Technology**, v. 66, p. 187-193, 2009.
12. ONSTAD, G. D. et al. Selective oxidation of key functional groups in cyanotoxins during drinking water ozonation. **Environmental Science & Technology**, v. 41, p. 4397-4404, 2007.
13. RAMSEIER, M. K. et al. Formation of assimilable organic carbon during oxidation of natural waters with ozone, chlorine dioxide, chlorine, permanganate, and ferrate. **Water Research**, v. 45, n. 5, p. 2002-2010, 2011.
14. RODRÍGUEZ, E. et al. Oxidative elimination of cyanotoxins: Comparison of ozone, chlorine, chlorine dioxide and permanganate. **Water Research**, v. 41, n. 15, p. 3381-3393, 2007b.
15. SÁ, L. L. C. et al. Ocorrência de uma floração de cianobactérias tóxicas na margem direita do rio Tapajós, no Município e Santarém (Pará, Brasil). **Rev. Pan-Amaz. Saude**, v. 1, n. 1, p. 159-166, 2010.
16. STOCKS, S. M. Mechanism and use of the commercially available viability stain, Bac Light. **Cytometry Part A**, v. 61, p. 189-195, 2004.
17. USEPA. **Method 552.2 - Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by liquid-liquid extraction, derivatization and gas chromatography with electron capture detection**. Cincinnati, Ohio: U. S. Environmental Protection Agency: 1-32 p. 1995.
18. VON GUNTEN, U. Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. **Water Research**, v. 37, p. 1443-1467, 2003.
19. WESTRICK, J. et al. A review of cyanobacteria and cyanotoxins removal/inactivation in drinking water treatment. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 397, n. 5, p. 1705-1714, 2010.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL



ANEXO B

FICHA DE INSCRIÇÃO E DECLARAÇÃO

Categoria (Dissertação ou Tese): Tese

Título: Avaliação da Pré-Ozonização no Controle de Cianobactérias e Degradação de Microcistinas

Nome do Autor: Lucila Adriani Coral

E-mail do Autor: lucila_coral@yahoo.com.br

Nome do Orientador: Prof. Flávio Rubens Lapolli, Dr.

Data de defesa: 03/12/2012

Data da aprovação (*): 03/12/2012

Membros do Comitê Examinador: Profª. Rosângela Bergamasco, Drª. (UEM); Prof. Marcio Barreto Rodrigues, Dr. (UTFPR); Prof. William Gerson Matias, Dr. (UFSC); Profª. Maria Ângela Lobo Récio, Drª. (UFSC) e Profª. Celia Regina Monte Barardi, Drª. (UFSC).

Nome, endereço, telefone e site da Universidade: Universidade Federal de Santa Catarina. Campus Universitário Trindade - Florianópolis - SC; CEP 88040-900.
www.ufsc.br.

Nome do Departamento: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental.

Nome, telefone, e-mail do Coordenador da Comissão de Pós-Graduação: Prof.

William Gerson Matias, Dr. Telefone: 3721-9821. E-mail: william.g.matias@ufsc.br.

(*) Anexar atestado oficial emitido pela Universidade comprovando a aprovação da Dissertação ou Tese.

DECLARAÇÃO

Declaramos ter tomado conhecimento e ter concordado com o regulamento do "Prêmio Enfil de Inovação em Tecnologia Ambiental" e que a Comissão Julgadora é soberana, não cabendo quaisquer apelações sobre a escolha da Dissertação e da Tese para outorga dos prêmios correspondentes.

Local e data: Floresópolis, 22, Fevereiro, 2013

Assinatura do Autor: 

Assinatura do Coordenador: 

Programa de Pós-Graduação
em Engenharia Ambiental



ATA DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO

Ata da Septuagésima Quarta, Quinta deste ano, de Defesa de Tese de Doutorado do Curso de Pós Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, onde o (a) candidato (a) **Lucila Adriani Coral**, sob a orientação do Prof. **Flávio Rubens Lapolli** e co-orientação da Prof. **Fátima Jesus Bassetti**, apresenta a sua tese para julgamento diante da Comissão Examinadora, designada pela Portaria Nº004/PPGEA/12 e constituída pelos seguintes professores:

| | |
|---------------------------------------|------------------------------|
| Prof. William Gerson Matias, Dr. | PPGEA/UFSC – Membro Interno |
| Prof. Maria Angeles Lobo Recio, Dr. | PPGEA /UFSC – Membro Interno |
| Prof. Celia Regina Monte Barardi, Dr. | MIP/UFSC – Membro Interno |
| Prof. Rosângela Bergamasco, Dr. | UEM/PR – Membro Externo |
| Prof. Marcio Barreto Rodrigues, Dr. | UTFPR/PR – Membro Externo |

A sessão pública de defesa, realizada no dia 03/12/2012, às 09h00min, teve como local o Auditório do ENS. A abertura da sessão foi feita pelo presidente da banca que cumprimentou os presentes e após breve introdução apresentou a Comissão Examinadora, dando continuidade ao trabalho fazendo uma rápida referência à tese que tem como título: "**Avaliação da Pré-ozonização no Controle de Cianobactérias e Degradação de Microcistinas**". Na sequência, o candidato teve 50 minutos para exposição de seu trabalho. Após essa exposição cada integrante da Comissão Examinadora dispôs do tempo estipulado pelo presidente da sessão, destinado à arguição do candidato. Finalmente, foi aberta a palavra aos presentes para eventuais perguntas ou comentários sobre o trabalho apresentado. A Comissão Examinadora, reunida em caráter sigiloso, concluiu por:

Segundo a resolução número 05/CLN/2010

- aprovar – 30 (trinta) dias para entrega da versão definitiva
- aprovar com alterações – 60 (sessenta) dias para entrega da versão definitiva
- reprovado

A concessão do grau de DOUTORA EM ENGENHARIA AMBIENTAL na área de concentração Engenharia Ambiental à Tecnóloga em Química Ambiental **Lucila Adriani Coral**. Nada mais havendo a tratar a sessão foi encerrada às 12h00min, dela sendo lavrada a presente ata, que uma vez aprovada, vai assinada por todos os membros da Banca Examinadora e pelo Candidato. O aluno está ciente que disporá de até 60 dias, a partir desta data, para entregar a versão final do trabalho.

OBS.:

Assinaturas:

Florianópolis, 03 de dezembro de 2012.

| | |
|----------------|------------------------------|
| Orientador | <u>Flávio Rubens Lapolli</u> |
| Membro Interno | <u>[Assinatura]</u> |
| Membro Interno | <u>[Assinatura]</u> |
| Membro Externo | <u>[Assinatura]</u> |
| Membro Externo | <u>[Assinatura]</u> |
| Membro Externo | <u>[Assinatura]</u> |
| Candidato | <u>Lucila Adriani Coral</u> |



República Federativa do Brasil
Ministério da Educação

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

A Reitora da Universidade Federal de Santa Catarina, no uso de suas atribuições confere o Grau de **Doutora** a

Lucila Adriani Coral

de nacionalidade brasileira, natural do Estado do Mato Grosso, carteira de identidade com registro geral número 8.262.299-3/PR e nascida a 22 de setembro de 1981, pela conclusão do Curso de **Pós-Graduação em Engenharia Ambiental** e pela Defesa Pública de Tese de Doutorado, realizada em 3 de dezembro de 2012, outorgando-lhe o título de

DOCTORA em ENGENHARIA AMBIENTAL

na Área de Concentração: **Engenharia Ambiental**, para que possa gozar de todos os direitos e prerrogativas legais.


Prof. Dr. Flávio Rubens Lapolli
Coordenador

Florianópolis, 11 de dezembro de 2012.

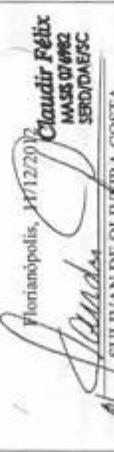

Lucila Adriani Coral
Titulada
200912720


Prof.ª Dr.ª Lúcia Helena Martins Pacheco
Reitora em exercício

Curso reconhecido pela Portaria/Federal nº. 1077
de 31/08/2012, publicada no Diário Oficial da União
de 13/09/2012.

Universidade Federal de Santa Catarina
Pró-Reitoria de Ensino de Graduação
Departamento de Administração Escolar
Divisão de Programação, Registro e Controle Acadêmico
Serviço de Expedição e Registro de Diplomas
DIPLOMA registrado sob nº. 538 livro SCTC000003
folha 180 em 11/12/2012.
Processo nº. 23080.060637/2012-50,
nos termos do artigo 48 da Lei nº. 9394, de 20 de
dezembro de 1996.

Florianópolis, 11/12/2012


Claudir Félix
MAG 07/982
SRD/DAE/EC

SULIVAN DE OLIVEIRA COSTA
Chefe da DIERD - DAE/PREG


LUIZ CARLOS PODESTA
Diretor do Departamento Administração Escolar
Delegação do Reitor - PORT.461/GR/2008

Núcleo de Processamento de Dados

060498