

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA**  
**QUÍMICA**

**LIVIA DE OLIVEIRA RUIZ MORETI**

**ESTUDO DO PROCESSO DE REMOÇÃO DE MICROALGAS PARA**  
**OBTENÇÃO DE ÁGUA POTÁVEL**

**MARINGÁ – PR**

**2014**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA**  
**QUÍMICA**

**ESTUDO DO PROCESSO DE REMOÇÃO DE MICROALGAS PARA**  
**OBTENÇÃO DE ÁGUA POTÁVEL**

Aluna: Livia de Oliveira Ruiz Moreti

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Rosângela Bergamasco

Dissertação de mestrado submetida à Universidade Estadual de Maringá, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química, área de desenvolvimento de processos.

**MARINGÁ – PR**

**2014**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Esta é a versão final da Dissertação de Mestrado apresentada por Livia de Oliveira Ruiz Moreti perante a Comissão Julgadora do Curso de Mestrado em Engenharia Química em 25 de junho de 2014.

COMISSÃO JULGADORA

  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rosângela Bergamasco  
Orientadora / Presidente

  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Fátima de Jesus Bassetti  
Membro

  
Dr<sup>a</sup> Leticia Nishi  
Membro

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

M844e Moreti, Livia de Oliveira Ruiz  
Estudo do processo de remoção de microalgas para  
obtenção de água potável / Livia de Oliveira Ruiz  
Moreti . -- Maringá, 2014.  
101 f. : il., figs., tabs.

Orientador : Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosângela Bergamasco.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de  
Maringá, Centro de Tecnologia, Departamento de  
Engenharia Química, Pós Graduação em Engenharia  
Química, 2014.

1. Água - Cianobactéria. 2. Água - Moringa  
oleifera - Flotação por ar dissolvido. 3. Água -  
Ácidos graxos - Chlorella vulgaris. 4.  
Cianobactéria. I. Bergamasco, Rosângela, orient. II.  
Universidade Estadual de Maringá, Centro de  
Tecnologia. Departamento de Engenharia Química, Pós  
Graduação em Engenharia Química. III. Título.

CDD 21.ed.579.3916

Zss-2092

*Ao meus pais, Odilon e Cássia e à  
minha irmã Ellen, pelo incentivo,  
amor e compreensão pela minha  
ausência. Obrigada por  
entenderem a importância dessa  
jornada em minha vida e por  
serem parte dela.*

## AGRADECIMENTOS

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Rosângela Bergamasco, pela orientação, amizade e confiança em mim depositada durante o desenvolvimento deste trabalho.

Às doutorandas Priscila Ferri e Franciele Camacho, que foram fundamental para realização deste trabalho, pela atenção, paciência e por estarem sempre prontas a ajudar todas as vezes que precisei.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Aos funcionários do DEQ e PEQ.

Ao Prof. Dr<sup>º</sup>. Makoto Matsushita por ceder o laboratório para que análises de cromatografia gasosa pudessem ser realizadas e pelo apoio de seus alunos de doutorado Aloísio e Aline.

Às alunas de pós-graduação em Engenharia Química, Lidiane e Camila, pela parceria nos estudos, pela amizade e incentivo.

Agradecimento em especial aos meus novos amigos, Flávia, Tássia, Simone, Karina, Aline, Quelen Letícia, Mariana, Carole, Driano, Letícia, Marcela e muitos outros que estiveram presentes durante este período, dividindo as dúvidas e incertezas em seus trabalhos e as conquistas alcançadas. A vocês, o meu mais profundo agradecimento pela amizade e companheirismo. Sentirei saudades dos que partem e alegria pelos que ficarão.

Ao Prof. Gabriel F. da Silva (UFS) por fornecer as sementes de *Moringa oleifera*.

À Prof. Dr<sup>ª</sup> Maria do Carmo Bittencourt (USP) por ceder as cepas das espécies de microalgas, tornando possível a realização deste estudo.

Ao CNPq pelo apoio financeiro e incentivo à pesquisa.

Aos membros da banca pela atenção e pelas contribuições para a melhoria deste trabalho.

Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho e para o crescimento pessoal e profissional.

# ESTUDO DO PROCESSO DE REMOÇÃO DE MICROALGAS PARA A OBTENÇÃO DE ÁGUA POTÁVEL

**AUTORA: LIVIA DE OLIVEIRA RUIZ MORETI**

**ORIENTADORA: PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. ROSÂNGELA BERGAMASCO**

Dissertação de Mestrado; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química; Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, BL E46 – 09; CEP: 87020-900 – Maringá – PR, Brasil, defendida em 25 de junho de 2014. p.

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência dos processos de coagulação/floculação/flotação por ar dissolvido (C/F/FAD) utilizando pó integral de sementes de *Moringa oleifera* Lam, como coagulante natural para remoção das células de cianobactéria e posterior caracterização lipídica do lodo gerado. Para os ensaios, foi utilizada “água sintética”, preparada a partir do meio de cultura ASM-1 contendo células de cianobactérias e diluído em água deionizada, contaminada artificialmente com células da espécie *Anabaena flos-aquae*, para obter densidade celular na ordem de  $10^4$  células.mL<sup>-1</sup>, simulando uma floração. O estudo também foi realizado, utilizando como inóculo precursor, células de *Chlorella vulgaris* em meio de cultura BG-11, no qual foi obtida uma densidade celular na ordem de  $10^{-6}$  células.mL<sup>-1</sup>. Este trabalho foi realizado em três etapas: 1) Otimização das condições de operação na etapa de C/F/FAD, em relação aos parâmetros de mistura e de flotação do processo, com base na redução percentual dos parâmetros cor aparente, turbidez e clorofila-a; 2) Determinação da dosagem ótima do coagulante *Moringa oleifera* Lam, com base na redução percentual dos parâmetros cor aparente, turbidez e clorofila-a e compostos com absorção em UV<sub>254nm</sub>; 3) Caracterização do teor de lipídeos produzido pela espécie de cianobactéria (*Anabaena flos-aquae*) em comparação com uma espécie de alga verde (*Chlorella vulgaris*). Verificou-se que os parâmetros de mistura e flotação afetam a eficiência de remoção dos parâmetros analisados e as condições de operação ótimas foram: gradiente de mistura rápida (GMR) de 850 s<sup>-1</sup> tempo de mistura rápida (TMR) de 20 s, gradiente de mistura lenta (GML) de 15 s<sup>-1</sup> e tempo de mistura lenta (TML) de 20 min para C/F e pressão de 600 kPa, tempo de saturação de 4 minutos, taxa de recirculação de 30% e velocidade de flotação de 10 cm.min<sup>-1</sup> para FAD. A dosagem ótima do coagulante testado foi de 0,1 g.L<sup>-1</sup>, atingindo porcentagens de remoção de cor, turbidez, clorofila-a e compostos com absorção em UV<sub>254nm</sub> na ordem de 80,5; 78,1;

96,4 e 39,1%, respectivamente. Em relação ao perfil de ácidos graxos presentes em *Anabaena flos-aquae* e *Chlorella vulgaris* sem o tratamento com *Moringa*, constatou-se que os ácidos graxos saturados corresponderam à 40,4% e 35,58%, respectivamente. Para *A. flos-aquae* observou-se que a maior porcentagem de sua composição foi atribuída ao C16:0 (ácido palmítico) com 30,55%, em seguida o C18:2n6 (ácido linoleico) que apresentou 17% e por fim o C18:1n9 (ácido oleico) apresentou 7,4% da sua composição. Já para a amostra de *C. vulgaris* a maior porcentagem de sua composição foi atribuída ao C20:0 (ácido araquídico) com 21,15%, C18:1n9 (ácido oleico) com 18,85% seguidos do C16:0 (ácido palmítico) e do C18:2n6 (ácido linoléico) com cerca de 15% cada. Após o tratamento com *Moringa* pode-se observar que ambas as espécies apresentaram a maioria dos compostos formados por ácidos graxos insaturados com 66,9% presente em *Anabaena* e 71,1% presente em *Chlorella*, sendo que dentre estes, destacou-se o ácido oleico para ambas as espécies com 61,7 e 69,5%, respectivamente. Desta forma, pode-se concluir o processo de tratamento de água, C/F/FAD, associado com pó integral de semente de *Moringa* apresenta-se eficiente na remoção de células de cianobactérias, cor e turbidez além de produzir um lodo rico em ácido oleico que pode ser uma fonte alternativa para a produção de biodiesel.

**Palavras-chave:** Cianobactérias, *Moringa oleifera*, flotação por ar dissolvido, ácidos graxos, *Chlorella vulgaris*.



# PROCESS STUDY OF MICROALGAE REMOVAL OBTAINING DRINKING WATER

## ABSTRACT

This study aims to evaluate the efficiency of coagulation/flocculation/dissolved air flotation (C/F/DAF) using *Moringa oleifera* powder seeds as natural coagulant for cyanobacterial cells removal and subsequent lipid characterization of sludge generated. For the test, it was used "synthetic water", using culture médium ASM-1 containing cyanobacterial cells and diluted in deionized water, artificially contaminated with *Anabaena flos-aquae* cells, for cell density in the order of  $10^4$  cells.mL<sup>-1</sup>, simulating a bloom. Another culture was also performed, this time using as inoculum precursor, *Chlorella vulgaris* cells, was used culture medium BG-11, in which was obtained a cell density on the order of  $10^6$  células.mL<sup>-1</sup>. This work was realized in three steps: 1) Optimization the operating conditions in the C/F/FAD step, related to mixing flotation parameters process, based on the percentage reduction of the parameters apparent color, turbidity and chlorophyll-a; 2) Evaluation of *Moringa oleifera* Lam coagulant optimal dosage, based on the percentage reduction in parameters apparent color, turbidity and chlorophyll-a and absorption compounds at UV<sub>254nm</sub>; 3) Characterization of lipid produced by specie of cyanobacteria (*Anabaena flos-aquae*) compared to a specie of green algae (*Chlorella vulgaris*). It was found that mixing and flotation parameters affect the removal efficiency of the evaluated parameters and the optimal operating conditions were: fast mixing gradient (FMG) 850 s<sup>-1</sup>, fast mixing time (FMT) of 20 s, slow mixing gradient (SMG) at 15 s<sup>-1</sup>, slow mixing time (SMT) of 20 min and pressure of 600 kPa, saturation time of 4 minutes, flotation velocity of 10 cm.min<sup>-1</sup> and recirculation rate of 30% for FAD. The optimum dosage of coagulant was 0.1 g.L<sup>-1</sup>, reaching removal percentages of color, turbidity, chlorophyll-a and absorption compounds at UV<sub>254nm</sub> in the order of 80.5; 78.1; 96.4 and 39.1%, respectively. Regarding the fatty acids profile present in *Anabaena flos-aquae* profile and *Chlorella vulgaris* without treatment with *Moringa*, it was found that the saturated fatty acids corresponding to 40.4% and 35.58%, respectively. For *A. flos-aquae* it was observed that the highest composition percentage was assigned to palmitic acid (C16:0), with a value of 30.55%, followed by linoleic acid (C18:2n6), with 17% and oleic acid (C18:1n9), with 7.4%. Already for *C. vulgaris*, the highest composition percentage was assigned to araquidic acid (C20:0), with a value of 21.15%, oleic acid (C18:1n9:0) with 18.85% and followed by palmitic acid (C16:0) and oleic acid (C18:1n9) about 15% each. After *Moringa* treatment, it can be observed that both species showed most compounds composed by unsaturated fatty acids, 66.9% to *Anabaena* and 71.1% to *Chlorella*, and among these, stood out oleic acid with 61.7 and 69.5%, respectively. Thus, it can conclude that the water treatment process, C/F/FAD using *Moringa* powder seeds, was efficient in removing cyanobacteria cells, apparent color and turbidity beyond to produce a rich sludge with oleic acid, that can be an alternative source for biodiesel production.

Keywords: Cyanobacteria; *Moringa oleifera*; dissolved air flotation, fatty acids, *Chlorella vulgaris*.

## Sumário

<b>1. Introdução</b> .....	1
<b>2. Objetivos</b> .....	4
2.1. Objetivo geral .....	4
2.2. Objetivos específicos .....	4
<b>3. Revisão Bibliográfica</b> .....	5
3.1. Importância da Água .....	5
3.2. Eutrofização .....	6
3.3. Microalgas .....	8
3.3.1 Teor lipídico das microalgas.....	10
3.3.2. Cianobactérias .....	14
3.3.2.1. Cianotoxinas .....	18
3.4. Coagulação/floculação.....	21
3.4.1. Mecanismos de coagulação/floculação .....	24
3.4.1.1 Adsorção e Formação de Pontes.....	24
3.4.1.2. Adsorção e Neutralização das Cargas .....	25
3.4.1.3 Compressão da Camada Difusa.....	25
3.4.1.4 Varredura .....	26
3.4.2. Coagulantes.....	26
3.4.2.1. <i>Moringa oleifera</i> Lam .....	27
3.5. Flotação .....	30
3.5.2. Flotação por ar dissolvido.....	31
3.5.1.1 Características do processo FAD.....	34
3.5.3. Destinação do lodo gerado.....	36
<b>4. Materiais e Métodos</b> .....	38
4.1 Cultivo de <i>Anabaena flos-aquae</i> e <i>Chlorella vulgaris</i> .....	39

4.1.1 Caracterização da água sintética.....	41
4.3 Ensaio preliminares para a otimização das condições de operação na etapa de coagulação/floculação e flotação por ar dissolvido.....	43
4.3.1 Otimização de ensaios de coagulação/floculação.....	43
4.3.1 Otimização de ensaios de flotação por ar dissolvido.....	45
4.4 Avaliação da dosagem ótima do pó integral de <i>Moringa oleifera</i> Lam .....	46
4.5 Análise estatística.....	47
4.6 Definição das condições ótimas de coagulação/floculação e FAD a partir da análise estatística .....	48
4.7 Avaliação do lodo Gerado no Processo de Coagulação/Floculação/FAD .....	48
4.7.1 Extração lipídica.....	48
4.7.2 Análise por cromatografia em fase gasosa dos ésteres metílicos de ácidos graxos .....	50
<b>5. Resultados e discussões .....</b>	<b>52</b>
5.1 Curva de crescimento das espécies <i>Anabaena flos-aquae</i> e <i>Chlorella vulgaris</i> .....	52
5.2 Caracterização da água de estudo.....	55
5.3 Otimização do processo de coagulação/floculação .....	56
5.4 Otimização do processo de flotação por ar dissolvido .....	60
5.5 Determinação da dosagem ótima do coagulante .....	65
5.6 Determinação do perfil de ácidos graxos do lodo gerado .....	69
<b>6. Conclusões.....</b>	<b>754</b>
<b>7. Referências Bibliográficas .....</b>	<b>765</b>
<b>APÊNDICES A e B.....</b>	<b>94</b>
<b>APÊNDICE C.....</b>	<b>95</b>
<b>APÊNDICE D.....</b>	<b>96</b>
<b>APÊNDICE E.....</b>	<b>97</b>
<b>APÊNDICE F.....</b>	<b>98</b>
<b>APÊNDICE G.....</b>	<b>99</b>



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - <i>CHLORELLA VULGARIS</i> (A) FORMA UNICELULAR ISOLADA (B) FORMAÇÃO DE COLÔNIAS.....	10
FIGURA 2 - FILAMENTOS DE <i>ANABAENA FLOS-AQUAE</i> , (A) HETEROCITO (B) ACINETO.....	18
FIGURA 3- ESTRUTURA QUÍMICA DAS NEUROTOXINAS (1) ANATOXINA-A (2) ANATOXINA-A(S) .....	21
FIGURA 4 - ESQUEMA DE UMA UNIDADE DE COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO/SEDIMENTAÇÃO .....	24
FIGURA 5 - ASPECTOS DA <i>M. OLEIFERA</i> (A) ÁRVORE; (B) FLORES; (C) VAGENS E (D) SEMENTES .....	30
FIGURA 6 - ARRANJOS DA FLOTAÇÃO POR AR DISSOLVIDO SOB PRESSÃO.....	33
FIGURA 7 - ETAPAS DO TRABALHO .....	38
FIGURA 8 - VISÃO GERAL DAS CULTURAS DE <i>A. FLOS AQUAE</i> E <i>C. VULGARIS</i> EM CEPA COM INÓCULO (A), ERLERMAYERS (2L) (B) E TANQUES (200L) (C) APÓS INOCULAÇÃO EM MEIO ASM-1 E BG-11, RESPECTIVAMENTE.....	40
FIGURA 9 - FLUXOGRAMA DE PREPARAÇÃO DO COAGULANTE NATURAL <i>MORINGA OLEIFERA</i> LAM NA FORMA DE PÓ INTEGRAL.....	42
FIGURA 10 - <i>MORINGA OLEIFERA</i> LAM (COM CASCA, DESCASCADA E EM PÓ INTEGRAL)...	43
FIGURA 11 - EQUIPAMENTO JAR TEST .....	44
FIGURA 12 - REPRESENTAÇÃO DO EQUIPAMENTO FLOTTEST UTILIZADOS NOS ENSAIOS DE C/F/FAD.....	46
FIGURA 13 - EXTRAÇÃO LIPÍDICA DAS MICROALGAS POR BLIGH AND DYER (1959) .....	49
FIGURA 14 - CURVA DE CRESCIMENTO DO CULTIVO DE <i>A. FLOS AQUAE</i> EM LABORATÓRIO .....	53
FIGURA 15 - CURVA DE CRESCIMENTO DO CULTIVO DE <i>C. VULGARIS</i> EM LABORATÓRIO ...	54
FIGURA 16 - CULTIVO EM ERLLENMEYERS SOB À AGITAÇÃO MANUAL DIÁRIA (A); CULTIVO EM TANQUES SOB AERAÇÃO CONSTANTE (B); FOTOS DE CÉLULAS DE <i>C. VULGARIS</i> (AUMENTO 400 X) (C); FOTO DAS CÉLULAS DE <i>A. FLOS-AQUAE</i> (AUMENTO 400 X) (D). AS FOTOS FAZEM PARTE DO MATERIAL DE ESTUDADO.....	55
FIGURA 17 - EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO (%) OBTIDAS PARA O PARÂMETRO COR .....	63
FIGURA 18 - EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO (%) OBTIDAS PARA O PARÂMETRO TURBIDEZ ....	63
FIGURA 19 - EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO (%) OBTIDAS PARA O PARÂMETRO CLOROFILA-A63	
FIGURA 20 - INDICAÇÃO DA FORMAÇÃO DA MANTA DE MATERIAL FLOTADO (A), VISÃO DO MATERIAL FLOTADO (B). .....	64
FIGURA 21 - PORCENTAGEM DE REMOÇÃO DE COR, TURBIDEZ, COMPOSTOS COM ABSORÇÃO EM UV <sub>254NM</sub> E CLOROFILA-A EM RELAÇÃO À DOSAGEM DO PÓ DE MORINGA.....	65
FIGURA 22 - PORCENTAGEM DE REMOÇÃO DE COR, TURBIDEZ, COMPOSTOS COM ABSORÇÃO EM UV <sub>254NM</sub> E CLOROFILA-A EM RELAÇÃO À DOSAGEM DO PÓ DE MORINGA.....	67
FIGURA 23 - PERFIL CROMATOGRÁFICO DO PADRÃO ANALÍTICO DE ÁCIDOS GRAXOS .....	69

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CONTEÚDO LIPÍDICO E SUAS RESPECTIVAS PRODUTIVIDADES PARA DIFERENTES ESPÉCIES DE MICROALGAS .....	12
TABELA 2 - PRINCIPAIS GRUPOS DE CIANOTOXINAS, GÊNEROS PRODUTORES E RESPECTIVOS ÓRGÃOS-ALVO.....	20
TABELA 3 - CONDIÇÕES DE PROCESSO UTILIZADAS EM C/F .....	44
TABELA 4 - VARIAÇÃO DA DOSAGEM DE PÓ INTEGRAL DE SEMENTE DE <i>MORINGA OLEIFERA</i> LAM .....	47
TABELA 5 - CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA DE ESTUDO UTILIZADA PARA OS ENSAIOS EM ESCALA DE BANCADA .....	56
TABELA 6 - EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO DOS PARÂMETROS AVALIADOS NA CONCENTRAÇÃO DE 0.5 G.L-1 DE COAGULANTE NATURAL.....	57
TABELA 7 - VALORES RESIDUAIS OBTIDOS PARA AS CONDIÇÕES DE OPERAÇÕES ESTUDADAS .....	58
TABELA 8 - VALORES RESIDUAIS APÓS ANÁLISES COMA DOSAGEM ÓTIMA DE 0.1 G.L-1 DE MO PARA <i>A. FLOS AQUAE</i> E 0.4 G.L-1 DE MO PARA <i>C. VULGARIS</i> .....	67
TABELA 9 - ÁCIDOS GRAXOS PADRÃO E SEUS RESPECTIVOS TEMPOS DE RETENÇÃO .....	70
TABELA 10 - PERFIL CROMATOGRÁFICO DAS MICROALGAS SEM TRATAMENTO COM MORINGA.....	71
TABELA 11 - PERFIL CORMATOGRÁFICO DAS MICROALGAS PÓS TRATAMENTO COM MORINGA.....	73

## 1. Introdução

O desenvolvimento industrial, a expansão agrícola e a intensa ocupação urbana ao redor dos corpos d'água, são os principais fatores causadores da degradação de mananciais de abastecimento. Desta forma, o aumento na concentração de nutrientes, que se dá principalmente por compostos fosfatados e nitrogenados, devido à disposição inadequada dos efluentes ao redor dos corpos d'água, gera o processo de eutrofização. Este processo induz ao desequilíbrio do ecossistema aquático que pode ser observado através do crescimento desordenado da comunidade fitoplanctônica local, especialmente de cianobactérias (AMARAL, 2011). A presença de cianobactérias em mananciais de abastecimento é uma realidade presente em muitos países, mas no Brasil, especificamente, onde a maior parte de seu território encontra-se localizado na região tropical, o desenvolvimento dessas algas é ainda mais favorecido.

A problemática associada à intensa ocorrência de floração de cianobactérias, em mananciais hídricos, está relacionada tanto com os aspectos estéticos, de sabor e de odor na água, quanto com problemas operacionais dos sistemas de tratamento de água. Entretanto, a principal preocupação com aumento da ocorrência de florações de cianobactérias está relacionada à capacidade que essas microalgas tem em produzir substâncias tóxicas, as cianotoxinas, que prejudica a saúde de homens e animais (LAPOLLI et al., 2011).

A intoxicação por cianotoxinas ocorre principalmente por via oral, pelo consumo de água e de pescados contaminados, e via cutânea, durante atividades recreacionais em corpos d'água. Entretanto, há casos de exposição às cianotoxinas pela inalação, por via intravenosa (hemodiálise) e pela alimentação direta de cianobactérias (FALCONER et al., 1999).

No Brasil, os processos convencionais de tratamento envolvem normalmente as etapas de coagulação, floculação, sedimentação e filtração e estes processos se mostram eficientes no tratamento de águas com presença de cianobactérias, porém apresentam dificuldades operacionais quando são verificados elevados valores de densidades destas microalgas. Estas dificuldades operacionais são descritas com relação à baixa eficiência das etapas de coagulação e floculação, devido a necessidade de condições de operação adequadas e controle de pH relacionado ao tipo de coagulante utilizado, na etapa de sedimentação a baixa eficiência está relacionada com a flutuabilidade das células, e a

redução da eficiência do sistema de filtração ocorre pela obstrução dos filtros, uma vez que a etapa de sedimentação não é eficiente (AMARAL, 2011). Neste contexto, a busca por tecnologias que possibilitem uma maior eficácia na retenção de células de cianobactérias, sem que se verifique o rompimento das mesmas, torna-se importante.

O uso de coagulantes naturais alternativos aos coagulantes químicos buscam melhorar a etapa de coagulação/floculação por não alterar o pH da água, produzir flocos menores e portanto mais leves, sendo mais fáceis de serem removidos nas etapas subsequentes (flotação), além da ausência de metais no lodo gerado (CAMACHO, 2012).

Com base em vários coagulantes naturais que são estudados para purificação de água, recentemente a *Moringa oleifera* Lam vem se destacando, pois apresenta boa remoção de cor e turbidez, além de promover grandes remoções de bactérias, acima de 90% (GHEBREMICHAEL, 2005; NKURUNZIZA et al., 2009; NWAIWU e LINGMU, 2011). Atualmente há poucos estudos sobre a aplicação desse coagulante em águas eutrofizadas, porém em alguns trabalhos pode-se observar uma excelente eficiência de remoção de células (NISHI, et al., 2011; CAMACHO, et al., 2013).

A flotação por ar dissolvido tem sido considerada uma alternativa viável à etapa de sedimentação quando aplicada ao tratamento de águas com presença de cianobactérias. Estudos desenvolvidos por Oliveira (2005), Santiago (2008), Coral (2009), Amaral (2011) e Camacho (2012), comprovam que a FAD vem se mostrando mais eficiente na remoção de células intactas de cianobactérias, quando comparada ao processo de sedimentação, além de diminuir o tempo de contato entre o lodo gerado e a água em tratamento. A remoção do resíduo gerado nesse processo é realizada por equipamentos mecânicos que são instalados sobre a água e possuem manutenção mais fácil do que os raspadores de fundo de decantadores.

A destinação adequada do lodo gerado por estações de tratamento de água é essencial, visto que este de acordo com a ABNT NBR 10004 (2004) é considerado um resíduo sólido, que se lançado sem devido tratamento nos cursos d'água, pode causar efeitos diretos ao ambiente aquático, prejudicando a fauna e a flora do corpo receptor.

Porém, sabe-se que no Brasil, das aproximadamente 7500 Estações de Tratamento de Água (ETAs) existentes no país, 70% lançam diretamente o lodo produzido nos corpos d'água mais próximos (DI BERNARDO, 1999).



Essa despreocupação para com o resíduo gerado, causa impactos como, aumento na quantidade de sólidos nos corpos d'água, assoreamento dos corpos d'água, aumento da cor, turbidez e concentração de alumínio na água, redução do pH da água, liberação de odores, redução da quantidade de oxigênio dissolvido no corpo d'água, toxicidade crônica nos organismos aquáticos e impacto visual (RICHTER, 2001).

Particularmente, em estações de tratamento de água com problemas de florações de cianobactérias, o lodo gerado compõem-se basicamente de biomassa de microalgas. Desta forma, este estudo busca alternativas ambientalmente viáveis de reaproveitamento dessa biomassa, como por exemplo, avaliar o teor lipídico produzido por essas algas a fim de destiná-los a uma futura produção de biodiesel.

## 2. Objetivos

Esse tópico apresenta os objetivos, tanto geral quanto específicos, propostos para a realização do trabalho.

### 2.1. Objetivo geral

O objetivo geral desta pesquisa foi avaliar a remoção de células de *Anabaena flos-aquae* no tratamento de água por meio de coagulação/floculação/flotação por ar dissolvido, utilizando *Moringa oleifera* Lam como coagulante natural, e realizar a caracterização lipídica do lodo produzido.

### 2.2. Objetivos específicos

- Otimizar as condições de operação na etapa de coagulação/floculação/flotação por ar dissolvido associado ao coagulante utilizado (pó integral da semente de *Moringa oleifera* Lam), em relação aos parâmetros de mistura e de flotação do processo;
- Avaliar a eficiência do coagulante natural utilizado, *Moringa oleifera* Lam, em diferentes dosagens, por meio dos parâmetros cor, turbidez, compostos com absorção em UV<sub>254nm</sub> e clorofila-a;
- Caracterizar o teor de lipídeos produzido pela espécie de cianobactéria (*Anabaena flos-aquae*) em comparação com uma espécie de alga verde (*Chlorella vulgaris*) com e sem tratamento de Moringa.

### 3. Revisão Bibliográfica

Esse tópico apresenta os temas pertinentes à revisão bibliográfica, referente aos principais itens abordados no desenvolvimento do trabalho.

#### 3.1. Importância da Água

A água, recurso natural renovável por meio de ciclo, encontra-se disponível na natureza sob várias formas, tais como líquida, sólida ou gasosa e é uma das substâncias mais comuns, cobrindo cerca de 70,8% da superfície do planeta, porém 97% da água do planeta Terra está nos oceanos e não pode ser utilizada para irrigação, uso doméstico e dessedentação, sem um tratamento adequado. Os 3% restantes têm, aproximadamente, um volume de 35 milhões de quilômetros cúbicos, onde parte deste volume está sob forma de gelo na Antártida ou na Groelândia e 100 mil km<sup>3</sup>, ou seja, 0,3 % do total de recursos de água doce está disponível e pode ser utilizado pelo homem (TUNDISI, 2003a).

No Brasil, existem cerca de 12% da reserva hídrica mundial de água doce, o que causa à população uma falsa sensação de recurso inesgotável (ANA, 2012). A ideia de que o Brasil pode afogar sua população com uma média anual de 36000 m<sup>3</sup> de água por habitante, é uma falsa impressão. A começar pelo fato de que 80% dessa água está na Amazônia, onde vivem apenas 5% da população brasileira, já o Nordeste, por exemplo, com quase 1/3 da população, tem apenas 3,3% das disponibilidades hídricas do país (MACÊDO, 2004).

Desta forma, a disponibilidade de água deve estar presente, não somente em quantidade adequada em uma dada região, mas também que sua qualidade seja satisfatória para suprir as necessidades de um determinado conjunto de seres vivos (BRAGA et al., 2006). Dados do Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF/WHO) (2013), mostram que no mundo morrem cerca de 1,6 milhão de pessoas todos os anos em razão de problemas de saúde decorrentes da falta de água potável.

É necessário, portanto, que a água de abastecimento atenda aos padrões de potabilidade, que estabelece os valores máximos tolerados para diversos compostos. Esse padrão de potabilidade da água, definido pela Portaria n°. 2914 do Ministério da

Saúde (BRASIL, 2011), determina as Normas de Qualidade de Água para Consumo Humano, sendo um conjunto de valores máximos permissíveis das características físico-químicas, microbiológicas e organolépticas das águas destinadas ao abastecimento da população.

A atividade de vigilância da qualidade da água para consumo humano envolve uma série de cuidados, desde a avaliação do grau de risco que os sistemas representam à saúde pública em função da origem da água, do tratamento empregado e dos procedimentos adotados em todo o processo, até a verificação de queixas e denúncias realizadas por consumidores em relação à qualidade da água fornecida. Os responsáveis pela vigilância da qualidade da água devem avaliar criteriosamente o potencial de risco apresentado pela água consumida pela população e desencadear medidas corretivas e preventivas para que o sistema recupere ou mantenha as condições de segurança (CORAL, 2009).

Conforme a Organização Mundial da Saúde (ONU) (2010), a qualidade da água em todo o mundo é cada vez mais ameaçada à medida que as populações humanas crescem, atividades agrícolas e industriais se expandem e as mudanças climáticas ameaçam alterar o ciclo hidrológico global. A cada dia, milhões de toneladas de esgoto tratado inadequadamente e resíduos agrícolas e industriais são despejados nos corpos d'água de todo o mundo. No Brasil, em 2008, apenas 29,94% do esgoto produzido no país era tratado, sendo que do volume de esgoto tratado por dia (8,5 milhões de m<sup>3</sup>), apenas 10% passava pelo tratamento terciário (ANA, 2013). Este tratamento se caracteriza pela remoção do nutriente fósforo, um dos principais responsáveis pelo processo de eutrofização das águas doces. Assim, a crescente introdução de matéria orgânica e nutriente como nitrogênio e fósforo, torna os corpos d'água cada vez mais eutrofizados no Brasil (CETESB, 2013).

### **3.2. Eutrofização**

De acordo com Wetzel (1993), eutrofização é um dos estados da sucessão dos lagos, devido ao acúmulo de nutrientes, responsáveis pelo desenvolvimento das populações de fitoplâncton, podendo, muitas vezes, ocorrer florações dessas algas. Quando ocorre naturalmente, este é um processo gradual e lento, que pode levar muitos anos a estabelecer-se (ESTEVEZ, 1998). O problema é que nos últimos anos, o uso inadequado dos recursos hídricos, relacionado ao crescimento das atividades agrícolas e industriais, juntamente com o crescimento populacional, têm provocado de forma

abrangente, a poluição dos mananciais superficiais (TUNDISI & TUNDISI, 1992). Essas atividades contribuem para o enriquecimento artificial do ecossistema aquático, por introduzirem nutrientes na água, principalmente compostos fosfatados e nitrogenados que favorecem uma desordem na produção de biomassa, impossibilitando que sua incorporação pelo sistema aquático seja compatível com o tempo da produção, causando um desequilíbrio ecológico, ao que se denomina eutrofização artificial ou cultural (SOUZA, 1993).

A eutrofização artificial consiste numa forma prejudicial de degradação das águas (AZEVEDO 1998; BRANDÃO e DOMINGOS, 2006), este processo é responsável por ocasionar mudanças negativas aos ecossistemas aquáticos, tais como redução da taxa oxigênio dissolvido, mortalidade de peixes, perda da biodiversidade (TUNDISI & TUNDISI, 1992), diminuição da transparência da água, alteração das concentrações iônicas, aumento da condutividade elétrica e acúmulo de fósforo nos sedimentos e na coluna d'água (TUNDISI, 2003). Todas estas alterações favorecem o desenvolvimento de elevadas taxas de macrófitas aquáticas e da comunidade fitoplanctônica, dando destaque ao grupo fitoplanctônico mais danoso à saúde humana, que são as cianobactérias tóxicas (AZEVEDO et al., 1994). Desta forma, ocorre um aumento do custo de tratamento da água para consumo, como por exemplo, nos custos associados ao uso de produtos sintéticos. Nos municípios brasileiros que possuem mananciais de abastecimento protegidos, os custos de tratamento de água variam de R\$0,50 a R\$0,80 para cada 1000 m<sup>3</sup> de água tratada. Em municípios que possuem mananciais pouco preservados os custos podem atingir de R\$35,00 a R\$40,00 para cada 1000 m<sup>3</sup> de água tratada (TUNDISI & TUNDISI, 2011).

Em razão da eutrofização artificial, inúmeros reservatórios no mundo já perderam sua capacidade de abastecimento de populações, de manutenção da vida aquática e de recreação. Alguns estudos comprovam tal problema (VOLLENWEIDER, 1976; PINTO-COELHO, 2005).

Sob condições naturais, sem alterações antrópicas, as cianobactérias vivem em constante equilíbrio com os demais grupos de algas. Porém algumas alterações nas variáveis naturais podem favorecer a sua proliferação, como, temperaturas entre 15-30°C, pH neutro alcalino e baixa incidência de ventos (BRASIL, 2003). Em casos de reservatórios, o elevado tempo de residência da água é também um fator relevante, pois favorece o acúmulo desses micro-organismos (CALIJURI et al., 2006). Desta forma, é

nos mananciais eutrofizados onde ocorrem as florações de importância à saúde pública (VASCONCELOS,1995).

### 3.3. Microalgas

Filogeneticamente, as microalgas são organismos procariotos ou eucariotos, conforme o período em que surgiram no planeta, pertencente à um grupo de micro-organismos muito heterogêneo. Segundo Raven et al. (2005) são seres microscópicos predominantemente aquáticos, coloniais ou unicelulares e apresentam pouca ou nenhuma diferenciação celular. Possuem coloração variada, relacionada à presença de pigmentos e mecanismo fotoautotrófico.

Andrade et al. (2008) caracterizam as microalgas como micro-organismos fotossintéticos, que combinam água e dióxido de carbono atmosférico com luz solar para produzirem várias formas de energia para produzirem biomassa (polissacarídeos, proteínas, lipídios e hidrocarbonetos), que pode ser utilizada na produção de biocombustíveis, suplementos alimentares e, também, podem ser empregados na captura de dióxido de carbono da atmosfera. As microalgas produzem mais oxigênio do que todas as plantas existentes no mundo, sendo responsáveis por pelo menos 60% da produção primária da Terra (CHISTI, 2004).

A biomassa das microalgas apresenta cerca de 50% de carbono na sua composição, assim o fornecimento deste nutriente aos cultivos desses micro-organismos, representa um importante componente dos custos de produção, seja gasoso na forma de dióxido de carbono, ou sólido, principalmente na forma de bicarbonato (VONSAHK, 1997). No entanto, é necessário cuidados nos sistemas de cultivo das microalgas, considerando as peculiaridades de cada espécie, adaptação ao ambiente, bem como a disponibilidade de nutrientes associado a viabilidade econômica (SCHIMITZ et al., 2012).

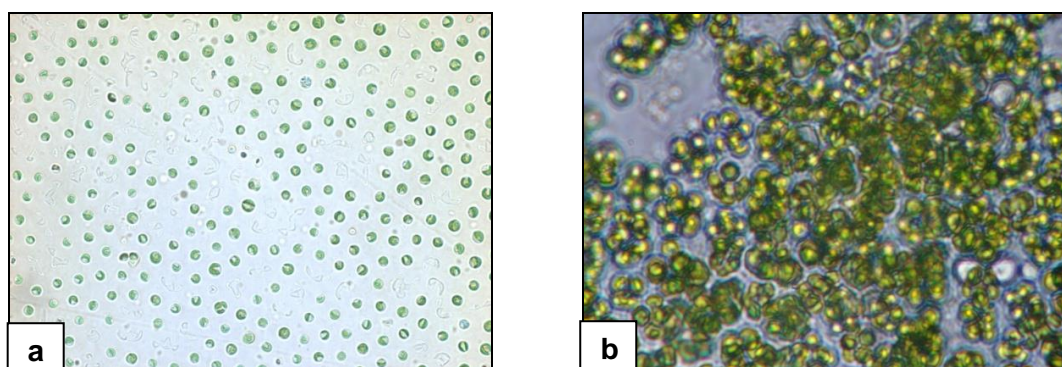
O número exato de espécies de microalgas ainda não é conhecido, mas muitas espécies já podem crescer em sistemas de cultivo. A tarefa mais difícil, no entanto está em cultivar espécies específicas para a produção de óleo (SCHIMITZ et al., 2012).

As microalgas existem em um variado número de classes e são distinguidas, principalmente, pela sua pigmentação, ciclo de vida e estrutura celular. As principais linhagens de microalgas em termos de abundância são descritas por Raven et al. (2005):

a) Diatomáceas (Bacillariophyceae), da qual existem aproximadamente 100.000 espécies, sendo considerada a espécie que domina o fitoplâncton dos oceanos, podendo ser encontrada em ambientes de água doce. Apresenta sílica como constituinte da parede celular e a reserva de carboidratos se dá mediante óleo ou polímeros de carboidrato, conhecido como crisolaminarina; b) Algas Douradas (Chrysophyceae) que possuem cerca de 1.000 espécies, com habitat predominantemente doce, são semelhantes às diatomáceas; c) Algas azuis (Cyanophyceae), conhecidas por desempenharem papel importante na atmosfera: a fixação de nitrogênio. Compreende cerca de 2.000 espécies, podendo ser encontrados em diversos ambientes; d) Algas Verdes (Chlorophyceae) representadas por cerca de 17.000 espécies, são encontradas em sua grande maioria, em meio marinho ou em água doce, sua produção energética dá principalmente, em forma de lipídeo e amido.

A espécie *Chlorella vulgaris*, pertencente a classe das algas verdes, é uma microalga unicelular que habita água doce ou meios estuarinos. Pode formar colônias ou viver isoladas, acumulam pigmentos como clorofila a e b,  $\beta$ -caroteno e xantofilas. Apresentam células jovens elipsóides e as adultas, esféricas, com dimensões que variam de 2,3-4,0 x 2,4-2,8  $\mu\text{m}$ . O cloroplasto único, parietal ocupando  $\frac{3}{4}$  ou  $\frac{1}{2}$  da célula, com presença de pirenóide. Reprodução por 2-4-8 autósporos, sendo estes de forma elíptica (MENDES et al., 2012) (Figura 1). A sua forma de reserva de carbono intracelular é constituído por amido. Algumas espécies de microalgas sob condições ambientais adversas, como stress nutritivo (falta de nitrogênio ou fósforo), podem acumular lipídeos (KLOK, 2010). Esta espécie é bastante utilizada em pesquisas sobre a produção de biocombustíveis a partir de microalgas (SCRAGG et al., 2003; CONVERTI et al., 2009; WIDJAJA et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2012) e foi a escolhida para a comparação do teor lipídico com a cianobactéria *Anabaena flos-aquae*, no presente estudo.

Figura 1 - *Chlorella vulgaris* (a) forma unicelular isolada (b) formação de colônias



Fonte (AUTOR)

### 3.3.1 Teor lipídico das microalgas

A biomassa de microalgas contém três componentes principais: carboidratos, proteínas e lipídios (GRESSLER et al, 2010). Nos sistemas biológicos, os lipídios funcionam como componentes de membrana, produtos de reserva, metabólitos e como fonte de energia, sendo grande parte deles constituída de ácidos graxos. Sendo assim, os lipídios se classificam em: lipídios de armazenamento (lipídios neutros), triacilgliceróis (TAG) e lipídios de membrana (lipídios polares), fosfolipídios, glicolipídios e esteróis (NELSON e COX, 2011). Uma subcategoria importante dos lipídios polares também é constituída pelos glicolipídios (por exemplo, monogalactosil diglicerídeo, MGDG), ésteres de ácidos graxos e glicerol, em que um dos grupos hidroxilo do glicerol é combinado com uma molécula de açúcar (neste caso galactose) para formar ligações éster com ácidos graxos (GREENWELL et al., 2009; FERREIRA et al., 2013).

Os triacilgliceróis podem ser considerados a principal fonte energética da maioria dos organismos (NELSON e COX, 2011).

Os ácidos graxos são unidades fundamentais da maioria dos lipídios. São ácidos orgânicos de cadeia curta e longa, possuindo de 4 a 24 átomos de carbono, sendo que os ácidos graxos de cadeia curta são ideais para a produção de biodiesel (CHRISTI, 2007). Alguns ácidos graxos sintetizados por microalgas, tais como o ômega 3 e 6 ( $\omega$ -3 e  $\omega$ -6), que são os principais precursores de alguns hormônios como, prostaglandinas, prostaciclina, leucotrienos e tromboxanos, têm um alto valor econômico nas indústrias alimentícia e farmacêutica, e são fundamentais para o desenvolvimento e reguladores fisiológicos (PYLE et al., 2008; PEREIRA et al., 2012).



Os ácidos graxos nas microalgas correspondem à maior fração lipídica e, em algumas espécies, os poliinsaturados representam entre 25 e 60% dos lipídios totais (RICHMOND, 2004).

Os ácidos graxos poliinsaturados de microalgas, têm um mercado muito promissor na biotecnologia, em especial na indústria de alimentos funcionais (BERTOLDI et al. 2008). Estudos apresentados por Favaro-Trindade et al., (2008) mostram que lipídios, especialmente ácidos graxos insaturados, têm sido encapsulados para diminuir a susceptibilidade à oxidação.

Segundo Nelson e Cox (2011) os ácidos graxos possuem um grupo carboxila único e uma cauda hidrocarbonada não-polar, que confere à maioria dos lipídios a sua natureza oleosa e gordurosa, insolúvel em água. Ocorrem nas células ou tecidos em formas covalentemente ligadas a diferentes classes de lipídios. Diferentes ácidos graxos têm sido isolados de lipídios de várias espécies. Eles diferem entre si pela extensão da cadeia e sua presença, número e posição de duplas ligações, sendo que alguns ácidos graxos possuem também grupos metil ramificados. Os glicolípidos que são constituídos de glicerol têm sido encontrados em muitos organismos, sendo observados como componente lipídico principal das membranas fotossintéticas de algas, incluindo as cianobactérias (algas azuis). A sua estrutura é análoga a dos glicerofosfolipídios com uma molécula de açúcar ligada glicosidicamente à posição três do glicerol e ácidos graxos esterificados nas outras duas posições. Dentre os principais glicosilgliceróis das membranas fotossintéticas de algas e plantas está o Monogalactosil-diacilglicerol (MGDG), que ocorre abundantemente em plantas e algas, principalmente nos cloroplastos. Contém elevadas proporções de ácidos graxos poli-insaturados. Para *Chlorella vulgaris*, o MGDG apresenta principalmente ácido oléico (C18:1) e ácido linoléico (C18:2) quando cultivada no escuro, e 20% de ácido linolénico (C18:3) quando cultivada na luz (GURR et al. 2002).

Comparadas aos vegetais superiores, as microalgas apresentam maior eficiência fotossintética em relação à produção de lipídios, elas podem produzir, pelo menos, quinze vezes mais que a palma (*Elaeis guineensis*), um dos vegetais de maior rendimento e produtividade. A estimativa de produção de lipídios por microalgas varia de 15.000 a 30.000 L.km<sup>-2</sup> e, sua extração é simples, podendo ser aplicados os métodos tradicionais usados na indústria química, incluindo a extração por solventes (RADMANN e COSTA, 2008). Sabe-se que dentre os nutrientes que podem influenciar

a produção de lipídios e ácidos graxos, estão as fontes de nitrogênio e de enxofre, as quais são utilizadas pelas microalgas na síntese de aminoácidos e ácidos graxos (RICHMOND, 1990; RADMANN e COSTA, 2008).

As principais aplicações dos ácidos graxos de microalgas ocorrem no enriquecimento de rações para peixes, produção de biodiesel e fonte de ácidos graxos insaturados essenciais na dieta humana (MORAIS e COSTA, 2008). Uma relação da produtividade de diferentes espécies de microalgas e seu conteúdo em lipídios está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Conteúdo lipídico e suas respectivas produtividades para diferentes espécies de microalgas

Espécies de Microalgas	Conteúdo lipídico (% de biomassa seca)	Produtividade lipídica (mg/L/dia)
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	24,0-31,0	-
<i>Botryococcus braunii</i>	25,0-75,0	-
<i>Chaetoceros muelleri</i>	33,6	21,8
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	14,6-16,4/39,8	17,6
<i>Chlorella emersonii</i>	25,0-63,0	10,3-50,0
<i>Chlorella protothecoides</i>	14,6-57,8	1214
<i>Chlorella sorokiniana</i>	19,0-22,0	44,7
<i>Chlorella vulgaris</i>	5,0-58,0	11,2-40,0
<i>Chlorella</i>	18,0-57,0	-
<i>Chlorella</i> sp.	10,0 - 48,0	18,7
<i>Chlorococcum</i> sp.	19,3	53,7
<i>Dunaliella salina</i>	6,0-25,0	116,0
<i>Dunaliella primolecta</i>	23,1	-
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	16,7-71,0	-
<i>Dunaliella</i> sp.	17,5-67,0	33,5
<i>Ellipsoidion</i> sp.	27,4	47,3
<i>Euglena gracilis</i>	14,0-20,0	-
<i>Haematococcus pluvialis</i>	25,0	-
<i>Isochrysis galbana</i>	7,0-40,0	-
<i>Isochrysis</i> sp.	7,1-33	37,8
<i>Monallanthus salina</i>	20,0-22,0	-
<i>Nannochloris</i> sp.	20,0-56,0	60,9-76,5
<i>Nannochloropsis oculata</i>	22,7-29,7	84,0-142,0
<i>Nannochloropsis</i> sp.	12,0-53,0	37,6-90,0
<i>Neochloris oleoabundans</i>	29,0-65,0	90,0-134,0
<i>Nitzschia</i> sp.	16,0-47,0	-
<i>Oocystis pusilla</i>	10,5	49,4
<i>Pavlova salina</i>	30,9	40,2
<i>Pavlova lutheri</i>	35,5	44,8
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	18,0-57,0	34,8
<i>Porphyridium cruentum</i>	9,0-18,8/60,7	-
<i>Scenedesmus obliquus</i>	11,0-55,0	35,1
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	1,9-18,4	40,8-53,9
<i>Scenedesmus</i> sp.	19,6-21,1	26,3
<i>Skeletonema</i> sp.	13,3-31,8	17,4
<i>Skeletonema costatum</i>	13,5-51,3	-
<i>Spirulina platensis</i>	4,0-16,6	-
<i>Spirulina maxima</i>	4,0-9,0	17,4
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	20,6	27,0-36,4
<i>Tetraselmis</i> sp.	12,6-14,7	43,4

Fonte: (MATA, et al., 2010)

Vadusevan e Fu (2010), afirmam que com o intenso consumo atual de óleo e gás natural, as reservas mundiais estarão esgotadas em 40 e 60 anos respectivamente. Este fato associado ao aumento do efeito estufa e da temperatura global torna necessário o desenvolvimento de tecnologias para a produção de biocombustíveis.

Segundo Varfolomeev e Wasserman (2011), a crise energética de 1970 catalisou o início dos estudos relacionados à produção de biocombustíveis a partir de microalgas. Estas podem ser utilizadas para a produção de biometano, biodiesel, biohidrogênio e bioetanol. O uso de microalgas para a produção de biocombustíveis é, desta forma, uma alternativa aos combustíveis fósseis (SCHIMITZ et al., 2012).

Segundo Monteiro et al. (2011), a produção de biocombustíveis e biodiesel a partir de microalgas fundamenta-se primeiramente na necessidade de uma elevada produtividade de biomassa seguida de elevados percentuais de lipídios

Desta forma, Gong e Jiang (2010); Wijffels e Barbosa (2010), as microalgas apresentam algumas vantagens na produção de biocombustíveis, que são: a) rápido crescimento (por exemplo, duplicações 1-3 por dia) e elevada concentração de lipídios; b) sem requerimento por terras aráveis, sem conflito com a produção de alimentos; c) mecanismo fotossintético similar ao das plantas superiores convertendo CO<sub>2</sub> em carboidratos e lipídios; d) remoção de grandes quantidades de CO<sub>2</sub> do meio ambiente; e) podem ser produzidas a partir de resíduos ou efluentes; f) pode-se manipular geneticamente a fim de aumentar a fotossíntese e a concentração de triacilgliceróis, a fim de direcionar a biomassa para a produção de biodiesel; g) emissão menor de dióxido de enxofre, óxido nítrico e outros contaminantes em comparação com diesel.

No entanto, para que o custo do biodiesel produzido a partir de microalgas seja viável a competir com o mercado, a tecnologia de produção destes microrganismos deve ser escalonada em três vezes com custos cerca de 10 vezes menores (SCHMITZ et al., 2012).

Segundo Gong e Jiong (2010), 1 barril de petróleo tem um custo aproximado de 100 dólares. Para que a biomassa das microalgas, rica em óleo possa ser competitiva no mercado, deveria custar 340 dólares.ton<sup>-1</sup>. Entretanto, a biomassa das microalgas cultivadas em fotobiorreatores, apresentam um custo atual de 3000 a 3800 dólares/ton. Estima-se que, caso a produção seja aumentada, estes valores possam chegar em torno de 500 dólares/ton. Se a biomassa contiver 30% de lipídios, o preço de 1 tonelada de óleo será de aproximadamente 1500 dólares, havendo um custo de 2,8 dólares por litro.

Para que o biodiesel seja competitivo o preço do óleo derivado de biomassa de microalga precisa ser de 0,48 dólares por litro. Assim, implementando reatores, utilizando fontes de nitrogênio e fósforo de baixo custo, com o desenvolvimento de conhecimento acerca das rotas metabólicas de acúmulo de lipídios baseados na biologia molecular, otimização da etapa de extração de lipídeos, com menor uso de solventes que possam encarecer o processo juntamente com uma diminuição da extração de impurezas como a clorofila, podem favorecer a potencialidade da produção de biodiesel a partir das microalgas à custos viáveis (WIJFFELS e BARBOSA, 2010; SCOTT et al., 2010).

Apesar de existirem inúmeros tipos de micro-organismos capazes de acumular lipídeos, nem todos possuem características favoráveis à aplicação na produção de biodiesel. As microalgas destacam-se por apresentarem, em alguns casos, compatibilidade na relação de seu óleo produzido ao óleo vegetal utilizado no processo de transesterificação (MENG et al., 2009; HUANG et al., 2009).

Segundo Pérez (2007) a presença de compostos poliinsaturados produzidos pelas microalgas causa a diminuição da estabilidade do biodiesel produzido, entretanto, devido à presença desses ácidos graxos, o biodiesel das microalgas apresenta um alto rendimento em temperaturas baixas, característica que não é apresentada pelo biodiesel de oleaginosas convencionais, as quais apresentam pouco rendimento em temperaturas relativamente baixas (SCHIMITZ et al., 2012).

### **3.3.2. Cianobactérias**

As cianobactérias, também conhecidas como cianofíceas ou algas azuis, estão entre os organismos pioneiros na Terra. É estimado que estas algas foram os primeiros produtores primários de matéria orgânica a liberar oxigênio elementar na atmosfera primitiva, baseada na descoberta de fósseis em rochas sedimentares do noroeste da Austrália (BRASIL, 2003). Cianobactérias são micro-organismos aeróbicos fotoautotróficos, cujos processos vitais requerem somente água, dióxido de carbono, substâncias inorgânicas e luz. A fotossíntese é seu principal modo de obtenção de energia para o metabolismo, entretanto, sua organização celular demonstra que esses micro-organismos são procariontes e, portanto, muito semelhantes bioquimicamente e estruturalmente às bactérias (BRASIL, 2003). Sua morfologia é diversificada, podendo ser encontradas na forma unicelular (ex: *Chroococcus* sp., *Synechococcus* sp.),

filamentosa (ex: *Anabaena* sp., *Oscillatoria* sp., *Planktothrix* sp., *Nostoc* sp., *Cylindrospermopsis* sp.) ou colonial (ex: *Microcystis* sp., *Gomphosphaeria* sp. e *Merismopedia* sp.), sendo a maior parte delas envolvidas em mucilagem (CHORUS, BARTRAM, 1999).

Uma das características mais marcantes das cianobactérias se deve à capacidade de crescimento nos mais diferentes meios. Sabe-se que estes organismos apresentam características ecológicas que lhes permitem colonizar a maior parte dos habitats do planeta. Algumas espécies são capazes de sobreviver por longos períodos na ausência de luz, em solos e rochas, em altas ou baixas temperaturas e em ecossistemas marinhos ou de água doce. Ambientes de água doce, no entanto, são considerados os mais favoráveis para o seu desenvolvimento (BRASIL, 2003).

A utilização de baixas intensidades de luz solar, a capacidade de deslocamento na coluna d'água e a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico por meio de células denominadas heterocitos, são habilidades que as cianobactérias apresentam, que auxiliam no seu sucesso adaptativo (HOEK, MANN e JAHNS, 1997).

A capacidade de utilizar eficientemente baixas intensidades de luz solar se deve à presença de outros pigmentos, além da clorofila-a, denominados ficobilinas. Segundo Yoo et al. (1995), uma classe da ficobilina, a ficocianina absorve o comprimento de onda de luz na banda vermelha do espectro (625 – 630 nm) e atua como pigmento auxiliar durante a fotossíntese pela fixação da energia luminosa. Como a clorofila-a fixa luz principalmente no comprimento de onda azul, as cianobactérias teriam uma vantagem ecológica no ambiente aquático, devido a sua capacidade de utilizar luz em ambos os extremos do espectro visível: no comprimento de onda vermelha, que penetra até a região mais profunda da coluna d'água, e no comprimento de onda azul, que geralmente se extingue em menor profundidade, por este motivo, independentemente da sua posição na coluna d'água, as cianobactérias conseguem capturar luz suficiente para a realização da fotossíntese (AMARAL, 2011).

A capacidade de flutuação na coluna d'água se dá pela presença de vesículas de gás na estrutura das células. Estas vesículas, cujo gás é proveniente da fotossíntese funcionam como organelas de flutuação, fazendo com que as células de cianobactérias fiquem com densidade menor que a da água e assim, poder ajustar a sua profundidade, de acordo com sua necessidade de obtenção de luz e nutrientes em quantidade suficiente para o seu crescimento (HOEK, MANN e JAHNS, 1997; MUR et al., 1999).

A presença de heterocitos permite o desenvolvimento de cianobactérias mesmo em ambientes em que a concentração de nitrato e amônia são baixas em relação a concentração de fosfato. Segundo Hoek, Mann e Jahns (1997), os heterocitos são células sem pigmentos e com paredes mais finas especializadas em fixar o nitrogênio atmosférico quando da ausência de nitrogênio dissolvido. Entretanto, o inverso não é necessariamente observado, ou seja, em condições de disponibilidade de nitrogênio, a dominância dessas cianobactérias é condicionada, provavelmente pela baixa disponibilidade de luz, pois a fixação de nitrogênio requer elevada quantidade de energia luminosa, que pode ser insuficiente em ambientes de elevada turbidez (MUR et al., 1999; AMARAL, 2011). Dessa forma, as espécies de cianobactérias que são fixadoras de nitrogênio, frequentemente dominam ecossistemas sob condições limitantes de nitrogênio.

Outra importante ferramenta adaptativa das cianobactérias são os acinetos. Estes se caracterizam como esporos de resistência, normalmente presentes quando há ocorrência de desequilíbrio nas condições ambientais, além de serem capazes de estocar substâncias de reserva (LEE, 1999).

Quando as condições de temperatura, luz e concentração de nutrientes são favoráveis a superfície de corpos d'água, pode hospedar um crescimento excessivo de algas e cianobactérias. Quando esta proliferação é dominada por uma ou poucas espécies este evento é denominado "floração" (CHORUS E BARTRAM, 1999). Yunnis et al. (2003) citam as espécies *Anabaena flos-aquae*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Planktothrix agardhii*, *Microcystis aeruginosa*, *Nodularia spumigena*, *Planktothrix agardhii* e *Cylindrospermopsis raciborskii* como nocivas e formadoras de florações. As florações podem ser causadoras de vários problemas nos mananciais de abastecimento de água, tais como a alteração do equilíbrio ecológico, alteração do sabor e odor da água e, principalmente, à presença de toxinas, denominadas cianotoxinas, produzidas por algumas espécies de cianobactérias (AMARAL, 2011).

No Brasil, já foi encontrado um total de 460 espécies de cianobactérias das 2800 pertencentes ao grupo (SANT'ANNA et al., 2011). Já foram identificadas pelo menos 20 espécies, pertencentes a 14 diferentes gêneros, de cianobactérias potencialmente tóxicas em distintos estados brasileiros (SANT'ANNA e AZEVEDO, 2000).

*Anabaena flos-aquae*, alga do presente estudo, é uma espécie filamentosa pertencente ao gênero *Anabaena*, ordem Nostocales, classe Cyanophyceae e filo

Cyanobacteria. Morfologicamente, *A. flos-aquae* (BRÉBISSON ex BORNET & FLAHAULT, 1886), apresenta tricomas moniliformes, irregularmente espiralados a frouxamente curvos, bainha mucilaginosa estreita, difluente ou ausente. Células esféricas até em forma de barril, 4-10 µm de comprimento, 4,0-8,8 µm de diâmetro e aerótopos presentes. Os heterócitos podem ser esféricos a elipsóides, 13-20 µm de comprimento e 6-13 µm de diâmetro. Os acinetos lisos, oblongos a elípticos, isolados, geralmente apresentam 13-21 µm de comprimento e 5,7-12,5 µm de diâmetro (KOMÁRKOVÁ-LEGNEROVÁ & ELORANTA, 1992) (Figura 2). A espécie de *Anabaena flos-aquae*, geralmente eutrófica, não requer de água particularmente rica em nitratos ou matéria orgânica. Esta espécie é capaz de capturar nitrogênio atmosférico, por isso depende muito da disponibilidade de fósforo. As condições favoráveis para as florações são: temperatura entre 20 e 25 °C, luz alta e estratificação da coluna de água. É capaz de produzir toxinas, tais como hepatotoxinas: microcistina (SIVONEN et al., 1992; CARMICHAEL et al., 1988) e neurotoxinas: anatoxina-a, anatoxina-a (s) (HARADA et al., 1989).

Sabe-se que o gênero *Anabaena* aparece em diversos mananciais do Brasil, dando destaque ao aparecimento em lagoas e reservatórios da região sul do país. (BECKER et al. 2010).

Fernandes e Lagos (2003), comprovam a dominância de *Anabaena* sp. no Reservatório do Rio Iraí-PR, comprometendo seriamente a qualidade de água e resultando em elevados custos de tratamento por parte da Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR), empresa responsável pelo abastecimento público na Região Metropolitana de Curitiba.

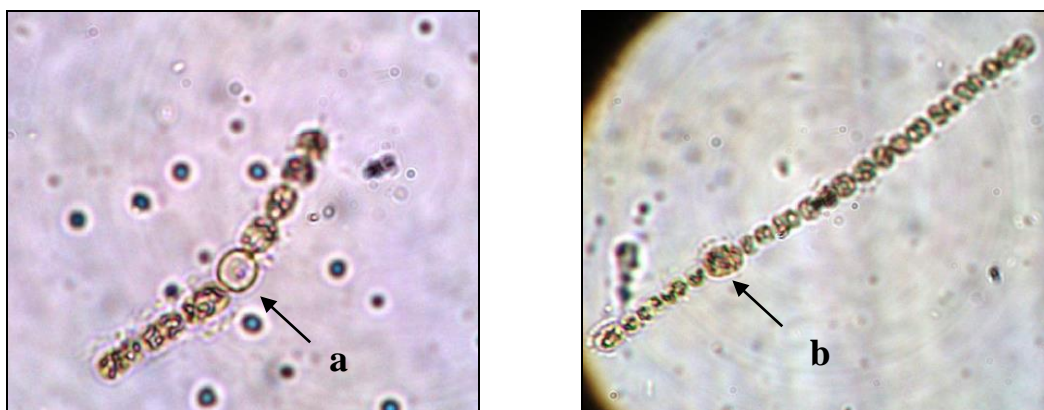
Becker et al. (2010) relatam uma floração de *Anabaena crassa* no reservatório de Faxinal, responsável por abastecer a cidade de Caxias do Sul - RS (400.000 habitantes) em que puderam observar a presença de anatoxina-(a)s na água.

Ferreira et al. (2004) verificaram a formação de floração de *Anabaena spiroides* no manancial de Santa Barbara (Represa de abastecimento da cidade de Pelotas, RS), no lago paisagístico do Campus da Fundação Universidade Federal do Rio Grande, em Rio Grande, RS, e no nordeste do Brasil, no complexo lagunar Mundaú/Manguaba, em Alagoas.

Dados obtidos por Cordeiro-Araújo et al. (2010) relatam a ocorrência de *Anabaena* sp1. e *Anabaena* sp2. em reservatórios do Oeste Paulista, potencialmente tóxicas.

Foi encontrado em amostras coletadas por Sa et al. (2010), a presença de *Anabaena* no Rio Tapajós, município de Santarém, Pará, Brasil, em que através de análises de HPLC registrou concentrações de microscistina-LR na água bruta.

Figura 2 - Filamentos de *Anabaena flos-aquae*, (a) heterocito (b) acineto



Fonte (AUTOR)

### 3.3.2.1. Cianotoxinas

As toxinas de cianobactérias são conhecidas como cianotoxinas e constituem uma grande fonte de produtos naturais tóxicos produzidos por esses microrganismos (AMARAL, 2011). Segundo Brandão (2008), embora não seja conhecida a função exata das cianotoxinas, acredita-se que esses compostos tenham função protetora contra a herbivoria (YUNES, 2002) dos seus predadores primários (zooplâncton), tal qual ocorre com algumas plantas vasculares ao produzirem determinados metabólitos como esteróides, alcalóides, taninos ou fenóis (CARMICHAEL, 1992; CALIJORI et al., 2006). As cianotoxinas são geralmente agrupadas de acordo com o mecanismo de toxicidade (CARMICHAEL 1992; CHORUS e BARTRAM, 1999), com a origem e a forma de dispersão no ambiente e, ainda, de acordo com a estrutura química (CALIJORI et al., 2006).

Conforme a sua estrutura química, as cianotoxinas podem ser classificadas em três grandes grupos: lipopolissacarídeos, peptídeos cíclicos e alcalóides (HITZFELD,



HOGER, DIETRICH, 2000). Os alcalóides ou (organofosforados neurotóxicos) são caracterizados por sua rápida ação, capazes de causar a morte de mamíferos por parada respiratória poucos minutos após a exposição; já um outro grupo de alcalóides, os chamados, peptídeos alcalóides hepatotóxicos, atuam mais lentamente (BRASIL, 2003).

Baseando-se nos efeitos de toxicidade, as cianotoxinas são classificadas em neurotoxinas, hepatotoxinas e dermatotoxinas.

As hepatotoxinas, responsáveis por causar a morte por hemorragia no fígado, são as cianotoxinas mais frequentemente encontradas em florações do mundo todo, sendo a causa mais comum de intoxicação humana e de animais. As hepatotoxinas mais conhecidas são as microcistinas e a nodularinas, produzidas respectivamente pelos gêneros *Microcystis* e *Nodularia* (peptídeos cíclicos) e a cilindropermopsina, sendo seu principal produtor a espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* (alcalóide hepatotóxico) (SIVONEN e JONES, 1999).

As dermatotoxinas, ou toxinas irritantes ao contato, são classificadas como alcalóides cujo mecanismo de intoxicação se dá pelo contato direto com as espécies (BRASIL, 2003; CORAL, 2009). Segundo Sivonen e Jones (1999) as dermatotoxinas podem ser produzidas por todos os gêneros de cianobactérias.

As neurotoxinas têm uma ação rápida, podendo causar a morte por parada respiratória (AZEVEDO, 1998). As mais conhecidas são a anatoxina-a, anatoxina-a(s) e a saxitoxinas, tendo como principais gêneros produtores a *Anabaena*, *Aphanizomenon* e *Cylindrospermopsis*.

Segundo Rodriguez et al. (2006), as saxitoxinas, pertencentes às chamadas "paralytic shellfish poisoning" (PSP) que provocam bloqueio nos canais de sódio na membrana dos neurônios; Anatoxina-a (s) ("s" de salivação), um organofosforado natural que age como inibidor irreversível da acetilcolinesterase (MAHMOOD e CARMICHAEL, 1987) e Anatoxina-a, um potente agonista nicotínico da acetilcolina, cuja estrutura foi a primeira a ser elucidada dentro desta classe.

Na Tabela 2 são apresentados os principais grupos de cianotoxinas, gêneros de cianobactérias produtores e principais órgãos afetados por estas toxinas em mamíferos.

Segundo Pereira (2011), estudos experimentais tem demonstrado que em apenas alguns minutos após o consumo de água contaminada, animais apresentam sintomas típicos de intoxicação por anatoxina-a, como fasciculação ofegante, convulsões violentas que levam à morte através de parada respiratória. A dose estimada como

necessária para produzir a morte de 50% dos ratos expostos (LD50) após administração interperitoneal é de apenas 200 µg/kg. A anatoxina-a foi pela primeira vez detectada no Canadá (nos anos 1960) e desde então tem sido responsável por uma série de mortes de animais e humanos, em diferentes partes do mundo.

Tabela 2 - Principais grupos de cianotoxinas, gêneros produtores e respectivos órgãos-alvo.

<b>Grupo de toxinas</b>	<b>Órgão afetados</b>	<b>Gêneros da cianobactérias</b>
<b>Peptídeos cíclicos</b>		
<b>Microcistinas</b>	Fígado	<i>Microcystis, Anabaena, Panktothrix (=Oscillatoria), Nostoc, Hapalasiphon, Anabaenopsis</i>
<b>Nodularinas</b>	Fígado	<i>Nodularia</i>
<b>Alcalóides</b>		
Anatoxina-a	Sinapse nervosa	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Panktothrix (=Oscillatoria)</i>
Anatoxina-a (s)	Sinapse nervosa	<i>Anabaena</i>
Aplisiatoxina	Pele	<i>Lyngbya, Schizothrix, Panktothrix (=Oscillatoria),</i>
Cilindrospermopsina	Fígado	<i>Cylindrospermopsis, Aphanizomenon, Umezakia</i>
Lingbiatoxina	Pele, trato gastro-intestinal	<i>Lyngbya</i>
Saxitoxinas	Axônio da célula nervosa	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Lyngbya, Cylindrospermopsis,</i>
<b>Lipopolissacarídeos (LPS)</b>		
Irritantes potencial; afeta alguns tecidos expostos		Todas

Fonte: Adaptado de WHO (1998).

Com relação as neurotoxinas, linhagens de *Anabaena flos-aquae* são capazes de produzir anatoxina-a e anatoxina-a(s) (HARADA, 1989) (**Figura 3**).

Figura 3- Estrutura química das neurotoxinas (1) anatoxina-a (2) anatoxina-a(s)



Fonte: (RODRIGUES et al., 2006)

Embora haja um conhecimento sobre a toxicidade destas cianotoxinas, colocando em perigo a saúde do homem e de animais, a Portaria 2914/2011 do Ministério da saúde, não estabelece valores máximos permitidos às concentrações de anatoxinas na água potável.

### 3.4. Coagulação/floculação

Nas ETAs, o fenômeno da coagulação/floculação, começa a ocorrer de maneira simultânea na mistura rápida e se consolida durante a mistura lenta (floculação). Sabendo-se que as partículas coloidais presentes na água apresentam baixa velocidade de sedimentação, torna-se imprescindível a coagulação química nas ETAs, visando à redução da quantidade de material suspenso e dissolvido antes da filtração (DI BERNARDO e DANTAS, 2005).

Campos e Povinelli (1976), afirmam que coagulação/floculação é a transformação das impurezas invisíveis, que estão na água em suas diversas formas, em partículas maiores, mais densas e, conseqüentemente, mais pesadas, chamadas flocos, capazes de serem retirados do meio, através da sedimentação, filtração ou flotação.

O processo de coagulação resulta de dois fenômenos: o primeiro, essencialmente químico, consiste nas reações do coagulante com a água e na formação de espécies hidrolisadas com carga positiva; o segundo, fundamentalmente físico, consiste no transporte das espécies hidrolisadas para que haja contato com as impurezas presentes na água. O processo é muito rápido e depende fundamentalmente da concentração do coagulante, do pH final da mistura, da temperatura e concentração de impurezas.

(MHAISALKAR, PARAMASIVAM e BHOLE, 1991). Desta forma, a coagulação começa geralmente com a rápida dispersão de um coagulante na água bruta devido a intensa agitação, conhecido como gradiente de mistura rápida. Pritchard et al. (2010) afirmam que, uma mistura rápida de poucos segundos é importante após a adição de um coagulante para assegurar uma dispersão uniforme e aumentar a oportunidade de contato entre as partículas.

Desta forma, para que o processo de coagulação seja eficiente, é necessário que ocorra uma mistura intensa e uniforme do coagulante na água, de modo que a probabilidade de contato do coagulante com as partículas antes do final das reações seja a maior possível (VALVERDE, 2014).

Já o processo de floculação é uma das operações unitárias da clarificação baseada em fenômenos físicos, que visa reduzir o número de partículas presentes na massa líquida (VALVERDE, 2014). Para tal, fornecem-se condições, em termos de tempo e agitação para que ocorram os choques entre as partículas anteriormente desestabilizadas pela ação do coagulante, objetivando a formação dos flocos (LIBÂNIO, 2005).

Entretanto, os dois principais fatores que afetam a floculação são o tempo de floculação (TF) e o gradiente de velocidade de floculação (GF). As colisões entre as partículas são induzidas pelo gradiente de velocidade que, com valores mais elevados, aumenta a frequência de choques por unidade de volume. E, a floculação é mais rápida, respeitando um limite até onde os flocos formados suportam as forças de cisalhamento hidromecânico sem que se quebrem. Este limite deve ser cuidadosamente observado, pois após a ruptura do floco, há uma tendência de que os segmentos dos polímeros envolvam completamente a mesma partícula, reestabilizando-a e evitando a reagregação. Deste modo, vale destacar que o tempo de mistura lenta auxilia na formação dos flocos (VALVERDE, 2014).

Os parâmetros GML e TML dependem de vários fatores, destacando-se, os mecanismos de coagulação, tipo de coagulante, qualidade da água bruta e uso de auxiliares de coagulação. Em geral, o valor de GML varia de 10 a 60 s<sup>-1</sup>, enquanto TML pode variar entre 10 e 40 minutos (CENTURIONE FILHO, DI BERNARDO, 2003; LIBÂNIO, 2005; SANTIAGO, 2008).

Libânio (2005) afirma que, o movimento aleatório das partículas coloidais de dimensão inferior a 1 µm permite que ocorram os primeiros choques. Os contatos

iniciais entre as partículas desestabilizadas iniciam-se já na unidade de mistura rápida, decorrentes da ação da gravidade. Os flocos adquirem diferentes velocidades de sedimentação, concorrendo para que, no movimento descendente, ocorram mais choques e a conseqüente formação de flocos mais pesados (LIBÂNIO, 2005).

O mecanismo de formação dos flocos ocorre através da neutralização entre a acidez do coagulante e a alcalinidade da água que, por atração eletrostática entre as cargas positivas resultantes da ionização do coagulante e as cargas negativas das partículas, formam os flocos. Esses são maiores, mais pesados, dotados de ligações iônicas e têm tendência de precipitarem quando há uma diminuição da velocidade de fluxo da água (BORBA, 2001).

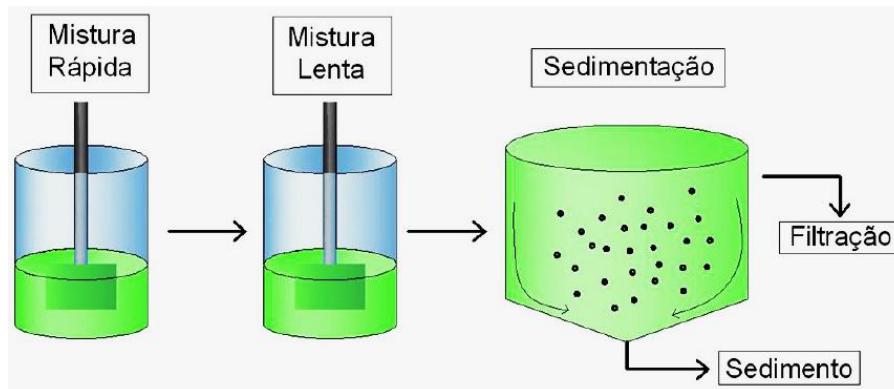
Com a associação dos processos de coagulação e floculação espera-se remover, principalmente, substâncias tóxicas de origem orgânica e inorgânica e outras passíveis de conferir odor e sabor à água, turbidez, matéria orgânica coloidal microorganismos em geral e os precursores da formação de trihalometanos (TAMs). O desempenho das unidades de coagulação-floculação influi na qualidade da água tratada. O funcionamento inadequado destas etapas poderá acarretar em uma menor eficiência das unidades filtrantes, devido ao excesso de partículas remanescentes do pré-tratamento, favorecendo a deterioração da água filtrada e reduzindo o intervalo entre lavagens, podendo tornar o processo de potabilização da água mais dispendioso (CENTURIONE FILHO, DI BERNARDO, 2003; LIBÂNIO, 2005). Em resumo, as reações químicas que se iniciam na unidade de mistura rápida possibilitam que as impurezas presentes na água possam se aglomerar, formando flocos na unidade de floculação (HELLER e PÁDUA, 2006).

A Figura 4 apresenta um esquema de coagulação/floculação e sedimentação, realizada por meio da adição do coagulante.

Borba (2001) e Silva (2005) sugerem que, quando a coagulação/floculação é realizada por polieletrólitos, o processo pode acontecer sem a ocorrência do fenômeno químico, não havendo reações de neutralização entre o coagulante e a água para formar complexos gelatinosos, como ocorre com os coagulantes derivados de sais de alumínio e ferro. Esse acontecimento é devido ao fato deles já serem constituídos de complexos dotados de grandes cadeias moleculares, que apresentam sítios com cargas positivas ou negativas, que têm grande capacidade de adsorção de partículas ao seu redor. Por esse

motivo, a coagulação/floculação com polieletrólitos, praticamente independe da alcalinidade da água, podendo ocorrer numa grande faixa de valores de pH entre 4 e 12.

Figura 4 - Esquema de uma unidade de coagulação/floculação/sedimentação



Fonte (CAMACHO, 2012)

### 3.4.1. Mecanismos de coagulação/floculação

A desestabilização das partículas, que consiste em minimizar ou eliminar as forças de repulsão entre elas pode ocorrer de diversas formas. Segundo Di Bernardo e Dantas (2005), quando as condições propícias à coagulação são preenchidas a atuação de quatro mecanismos, de forma distinta ou em associação, desencadeia o mecanismo de coagulação. Estes mecanismos são: adsorção e formação de pontes, adsorção e neutralização das cargas, compressão da camada difusa e varredura.

#### 3.4.1.1 Adsorção e Formação de Pontes

Atrações eletrostáticas entre as partículas das impurezas e os sítios desequilibrados eletricamente formam flocos, por meio de ligações químicas do tipo pontes de hidrogênio ou similar, provocando a estabilidade de todas as partículas que estão dispersas na água (BORBA, 2001). A desestabilização ocasionada nesse mecanismo ocorre quando um ponto de adsorção disponível na superfície do colóide é coberto, deixando outros pontos disponíveis. Um polímero pode ser adsorvido, deixando segmentos livres para serem adsorvidos por outras partículas, fazendo então a ligação entre elas, formando as pontes (ASSIS, 2006). Esse tipo de mecanismo ocorre

quando polímeros de cadeias longas e sítios ionizáveis são utilizados como auxiliares de floculação (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

Os polímeros orgânicos e sintéticos, com cadeia molecular grande, apresentam regiões ionizáveis, tornando-os polares. Esse fenômeno faz com que sejam capazes de desestabilizar as partículas coloidais (VALVERDE, 2014).

Proteínas catiônicas de alto peso molecular têm sua atividade floculante explicada pelo modelo de formação de pontes (GASSENSCHMIDT et al., 1995).

#### **3.4.1.2. Adsorção e Neutralização das Cargas**

Nesse mecanismo, o íon positivo adicionado tem maior afinidade pela superfície da partícula do que pela água, sendo adsorvido na superfície do colóide, reduzindo sua carga e as forças de repulsão, podendo neutralizar a carga da partícula ou promover a reversão de cargas, se houver disponibilidade de coagulante e superfície livre no colóide. Assim, qualquer energia no sistema provocará a agregação das partículas (ASSIS, 2006).

As interações entre coagulante, colóide e solvente são responsáveis pela desestabilização do colóide. Tal desestabilização é promovida em uma faixa específica de pH, com a formação de espécies hidrolisadas de carga positiva que podem ser absorvidas nas superfícies das partículas (LIBÂNIO, 2005).

Segundo Di Bernardo e Dantas (2005), o mecanismo de adsorção e neutralização das cargas é muito importante quando se aplicam tecnologias de filtração direta, pois não há necessidade de produção de flocos para posterior sedimentação, mas de partículas desestabilizadas que serão retidas no meio granular dos filtros.

#### **3.4.1.3 Compressão da Camada Difusa**

De acordo com Franco (2009), esse mecanismo é caracterizado pela eliminação da estabilidade estática por conta da predominância das forças de Van der Waals, maximizadas pela adição de íons de carga contrária a das partículas coloidais em suspensão na água de estudo.

Quando se introduz sais simples em um sistema coloidal ocorre o aumento da densidade de cargas na camada difusa e a diminuição da esfera de influência das

partículas, ocasionando o que se chama de coagulação por compressão da camada difusa. O aumento de íons positivos e negativos na água acarreta o acréscimo do número de íons na camada difusa que, para manter-se eletricamente neutra, tem seu volume reduzido, de modo que as forças de Van der Waals sejam dominantes, eliminando a estabilização eletrostática (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

#### **3.4.1.4 Varredura**

Borba (2001) destaca que, o mecanismo conhecido como varredura é típico dos coagulantes convencionais de origem inorgânica, tais como sais de alumínio e ferro. Esse ocorre pela reação de neutralização entre a acidez do coagulante e a alcalinidade natural ou adicionada à água, formando espécies hidrolisadas com cargas positivas que por atração eletrostática adsorve ao redor de si as partículas negativas das impurezas que estão na água. Devido à agitação térmica, as partículas vão se aproximando e formando flocos dotados de ligações químicas iônicas. Esses flocos são entidades maiores, mais pesadas, que tendem a precipitar quando há uma diminuição da velocidade do fluxo de água.

Assim, esse mecanismo de remoção é capaz de produzir flocos maiores e de melhor decantabilidade, sem envolver a neutralização de cargas (FRANCO, 2009).

Para Di Bernardo e Dantas (2005), dependendo da quantidade do coagulante adicionado, do pH da mistura e da concentração de alguns tipos de íons na água, poderá ocorrer a formação de precipitados, tais como o hidróxido de alumínio ou o hidróxido de ferro, que são capazes de envolver as partículas coloidais.

De acordo com Assis (2006), o mecanismo de varredura ocorre quando a dosagem do coagulante é alta, que excede o limite de solubilidade do mesmo na água.

Esse mecanismo é muito usado nas ETAs em que se têm floculação e sedimentação antecedendo a filtração (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

#### **3.4.2. Coagulantes**

As impurezas presentes na água apresentam grande variação de tamanho e muitas vezes não são removidas por sedimentação comum. Normalmente, isto é obtido pela adição de coagulantes, dentro de uma sequência de tratamento controlado. Desta



forma, a utilização de coagulantes para a remoção de cor, turbidez, matéria orgânica e demais impurezas presentes na água, têm sido utilizada com sucesso no tratamento para a produção de água potável (VALVERDE, 2014).

Muitos coagulantes são amplamente utilizados em processos de tratamento de água convencionais, com base em suas características químicas. Podem-se citar os coagulantes sintéticos e naturais (MADRONA, et al., 2010).

Dentre os vários coagulantes sintéticos utilizados no tratamento de água, destacam-se os sais de alumínio, os quais apresentam baixo custo. Dentre estes, incluem o sulfato de alumínio, aluminato de sódio, e vários produtos preparados comercialmente, tais como cloridrato de alumínio e policloreto de alumínio (PAC), sendo este último mais comum e de maior disponibilidade no mercado que, na maioria dos casos, tem se mostrado como coagulante superior ao sulfato de alumínio, que é amplamente utilizado em estações de tratamento de água (PAVANELLI, 2001).

Embora os sais à base de alumínio, sejam atualmente, os coagulantes mais utilizados no tratamento de água potável, estudos relataram que o alumínio, principal componente destes, pode induzir a doença de Alzheimer (JOSHUA e VASU, 2013). No entanto, além dos problemas de saúde causados por esses coagulantes, pesquisas têm apontado outras desvantagens, tais como, a produção de grande volume de lodo, que pode ser explicado pela produção de hidróxido de alumínio como precipitado quando se utiliza sulfato de alumínio (NDABIGENGESERE & NARASIAH, 1998), sendo este não biodegradável e consumo da alcalinidade do meio, acarretando custos adicionais com produtos químicos utilizados na correção do pH (SILVA et al., 2003).

Particularmente nos países em desenvolvimento, onde os altos custos de produtos químicos para tratamento de água de abastecimento pode limitar sua aplicação, o desenvolvimento de medidas de mitigação de baixo custo e ambientalmente aceitáveis é desejável (LURLING E BEEKMAN, 2010). Nesse contexto, a clarificação e desinfecção da água com produtos naturais, tais como as sementes da árvore de *Moringa oleifera* Lam é de particular interesse.

Recentemente, pesquisas têm sido voltadas para o uso de sementes de *Moringa oleifera* Lam como coagulante natural (GARCÍA-FAYOS et al., 2010; ALI, et al., 2009; BINA et al., 2010).

#### **3.4.2.1. *Moringa oleifera* Lam**

A *Moringa oleifera* Lam é uma árvore tropical que cresce naturalmente na Índia, região Sul-Saariana e América do Sul (JAHN, 1988), folhas, flores, sementes, raízes e cascas, (Figura 5) podem ser utilizadas como alimento ou com fins medicinais e terapêuticos (ANWAR et al., 2007), especialmente nos países em desenvolvimento (JAHN, 1988; NDABIGENGESERE e NARASIAH, 1998). Além disso, outras aplicações foram apontadas como a preparação de cosméticos, lubrificantes mecânicos e, ultimamente, para elaboração potencial de biodiesel (YONGABI et al., 2011).

Segundo Ndabigengesere, Narasiah e Talbot (1995), as sementes de *M. oleifera* contêm aproximadamente 37% de proteínas, 35% de lipídios e 5% de carboidratos (oligossacarídeos). O conteúdo de carboidratos é muito baixo enquanto que o elevado teor de lipídios explica porque as sementes podem ser utilizadas como fonte de óleo vegetal.

Sementes de *M. oleifera* contêm entre 30-35% (m/m) de óleo vegetal (SENGUPTA e GUPTA, 1970). Este óleo assemelha-se ao azeite de oliva na sua composição, sendo rica em ácido oleico, o que o torna adequado para fins comestíveis (DUBEY et al., 2013).

As sementes de *M. oleifera* também estão sendo muito utilizadas como coagulante na clarificação de água potável e tratamento de efluentes desde 1979, devido à presença de uma proteína coagulante catiônica solúvel em água capaz de reduzir a turbidez da água tratada. As sementes podem ser utilizadas na forma de pó ou como um extrato aquoso (JAHN e DIRAR, 1979; BERGER et al., 1984; JAHN, 1988; BINA et al., 2010; GARCÍA-FAYOS et al., 2010; YIN, 2010).

Embora não haja uma clareza com relação a natureza exata do principal componente responsável pelo princípio ativo coagulante encontrado nas sementes de *Moringa oleifera* Lam, segundo Cardoso (2007), muitos estudos ainda ocorrem no sentido de isolar e caracterizar tal composto.

Madrona (2010) afirma que, os resultados encontrados na literatura apresentam diferentes massas moleculares para proteína da semente de *Moringa oleifera* Lam, sendo que essas variam desde 6,5 kDa até 30 kDa.

Jahn (1989) isolou o produto coagulante presente nas sementes de *Moringa oleifera* Lam e, dessa forma, identificou seis polipeptídeos, que são formados por várias

unidades de aminoácidos. A fração ativa desse coagulante se deve à presença de uma proteína de alto peso molecular, que desestabiliza as partículas contidas na água, geralmente partículas coloidais de carga negativa, e flocculam os colóides.

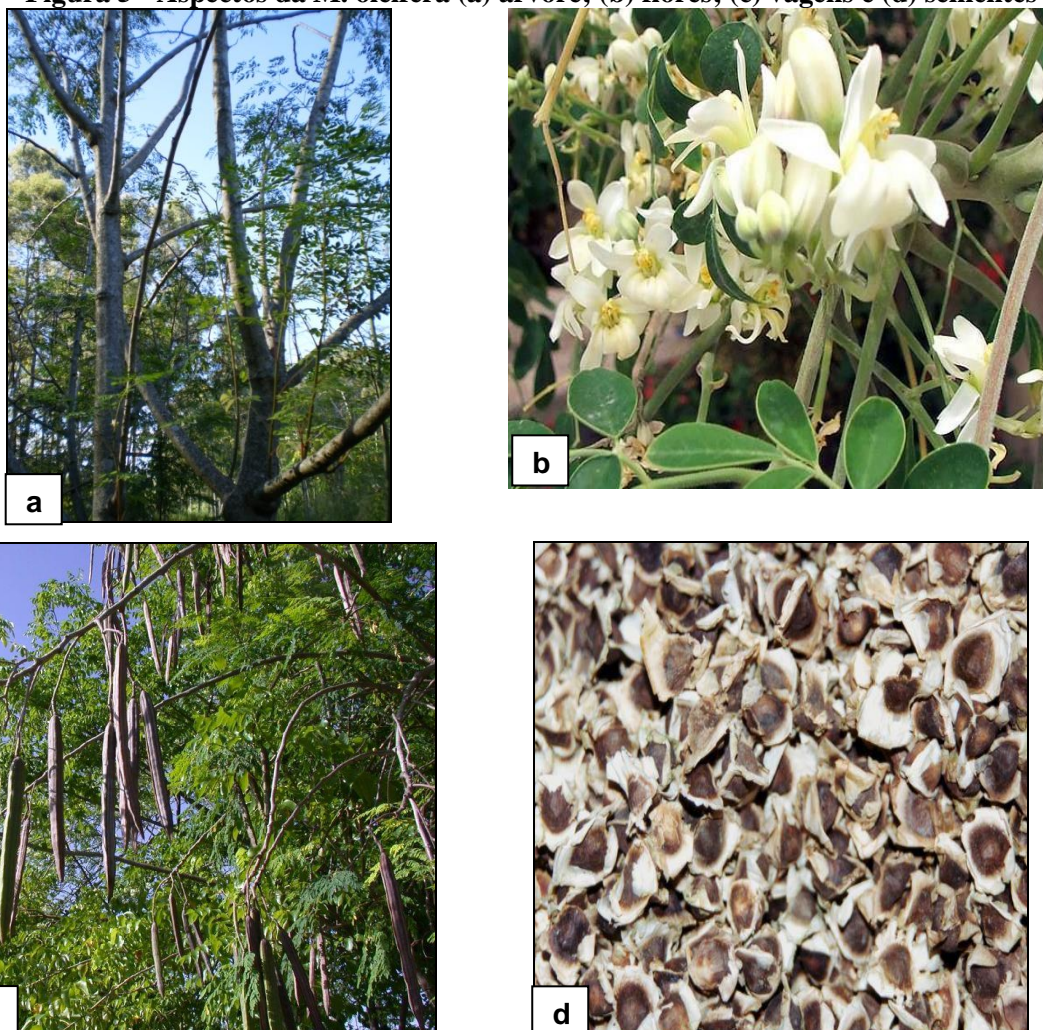
A análise de aminoácidos apresentou teores elevados de glutamina, arginina e prolina, além de outros compostos (GASSENSCHMIDT et al., 1995). Mangale Sapana, Chonde e Raut (2012) também observaram a presença de ácido glutâmico e metionina.

Gebremichael et al. (2005) demonstraram a heterogeneidade das proteínas coagulantes por cromatografia em coluna de trocador catiônico, e detectaram que o composto ativo não é uma proteína única, mas sim uma mistura de proteínas com características físicas similares. Adicionalmente, confirmaram que as proteínas são os principais componentes ativos em extratos de sementes (MADRONA, 2010).

Já Okuda et al. (2001a) encontraram um composto coagulante em extrato salino de sementes de *Moringa oleifera* Lam que não era proteína, polissacarídeo ou lipídeo, e sim um polieletrólito orgânico com peso molecular em torno de 3 kDa.

Ao avaliar a presença de matéria orgânica na água tratada com *Moringa oleifera*, Ndabigengesere & Narasiah (1998), verificaram que quando se utiliza este coagulante, a presença de matéria orgânica na água aumenta à medida que a dose de coagulante é elevada, o mesmo não ocorrendo para o sulfato de alumínio. Isto indica que após o processo de tratamento com *Moringa oleifera* a água pode conter matéria orgânica remanescente, podendo causar problemas de cor, sabor e odor se armazenada por longos períodos.

**Figura 5 - Aspectos da *M. oleifera* (a) árvore; (b) flores; (c) vagens e (d) sementes**



Fonte: (BONGIOVANI, 2014)

### 3.5. Flotação

A flotação é o processo usado para separar partículas sólidas de uma fase líquida. A separação é feita por meio da introdução de microbolhas de gás (geralmente o ar) na água. Essas microbolhas, ao aderirem às partículas, formam um aglomerado de densidade menor que a água, levando-o a flutuar até a superfície, formando uma espuma que posteriormente é removida (METCALF & EDDY, 1999).

Esse processo foi primeiramente utilizado no setor industrial. A partir da década de 50, começou a ser utilizado no tratamento de águas residuárias domésticas e de algumas indústrias, como a petroquímica. Somente na década de 60, surgiram as pesquisas e aplicações de flotação para o tratamento de águas para abastecimento na

África do Sul e Escandinávia (GREGORY E ZABEL, 1990). No Brasil, apenas em meados da década de 80, deu-se início ao estudo desse processo, sendo a ETA-Meaípe, em 1994, no estado do Espírito Santo, a primeira estação de tratamento no Brasil a utilizar a FAD como processo de clarificação de água (LOBATO et al, 1995).

Em águas que apresentam partículas de baixa densidade, com tendência natural para flutuar, águas ricas em nutrientes, com altas concentrações de algas, cor elevada, baixa turbidez e alcalinidade e águas turvas com baixo conteúdo orgânico, que ao serem submetidas ao tratamento químico, utilizando produtos normalmente utilizados para a coagulação, produzem flocos com baixa velocidade de sedimentação, apresentam dificuldades no processo de sedimentação, do tratamento de água. Desta forma, surge o processo de flotação como uma alternativa para o tratamento de águas que apresentam dificuldades de serem tratadas pelo processo de sedimentação, (HYDE et al., 1977; GREGORY e ZABEL, 1990; REALI e CAMPOS, 1995).

Os sistemas de flotação podem ser classificados em três tipos, que são diferenciados de acordo com a forma de geração de bolhas, sendo eles, flotação por ar disperso, flotação eletrolítica e flotação por ar dissolvido. No entanto, sabe-se que a última opção é a mais aconselhada para o tratamento de água, pois esta não necessita de agentes tensoativos e escumantes, que causam contaminação no afluente por adição de produtos químicos na água (GREGORY e ZABEL, 1990) e também não necessita de elevado custo operacional, referente a energia elétrica, como é requerido pela flotação eletrolítica, por exemplo, que necessita de muita energia para a reposição dos eletrodos (PINTO FILHO, 1999). Assim, a FAD foi a opção escolhida para o presente estudo.

### **3.5.2. Flotação por ar dissolvido**

As bolhas de pequeno diâmetro (10 a 100 $\mu$ m) são formadas devido a redução da pressão de um fluxo de água previamente saturada com ar (ZABEL e MELBOURNE, 1980) com pouca agitação e em processo quiescente. (HYDE et al., 1977).

A FAD pode ser classificada de acordo com a forma como é realizada a redução de pressão em: flotação à vácuo, que é um processo intermitente, em que o ar dissolvido na água à pressão atmosférica é liberado sob a forma de microbolhas devido a redução de pressão em uma câmara de pressão negativa (HYDE et al., 1977; REALI E

CAMPOS, 1985); flotação sob pressão, onde a massa líquida é saturada com ar em uma câmara de pressurização e conduzida a outra câmara submetida à pressão atmosférica, onde se formam as microbolhas (HYDE et al., 1977), e, microflotação, que de acordo com Zabel e Melbourn (1980), é um processo em que a saturação de ar é realizada pelo aumento da pressão hidrostática, entretanto alguns autores como Reali e Campos (1985) consideram a microflotação como um processo de flotação por ar disperso.

O processo de FAD sob pressão é o mais vantajoso para o tratamento de água por não promover forte agitação, permitir um melhor controle na produção de bolhas de ar, que está relacionada com a diferença entre pressão de saturação e a atmosférica, não necessitar de produtos escumantes que podem inferir na qualidade de água tratada; empregar altas taxas de aplicação superficial que levam a tempos de detenção reduzidos, tornando o processo de FAD o mais econômico em termos de custo de investimento, já que os gastos de construção civil são menores; removendo com facilidade o lodo produzido, evitando desperdícios de água, já que o mesmo apresenta elevado teor de sólidos (HYDE et al., 1977; CAMPOS e REALI, 1985; PINTO FILHO, 1999).

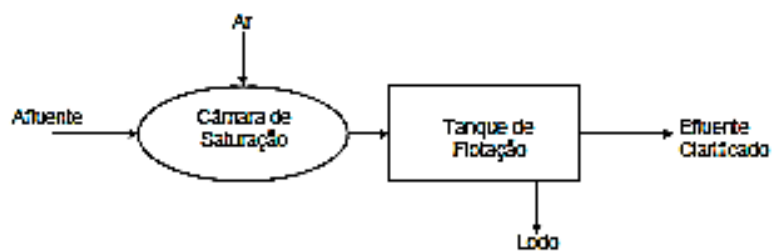
A flotação por ar dissolvido sob pressão pode ser realizada com pressurização parcial ou total do afluente, ou ainda com pressurização do efluente recirculado (

Figura 6).

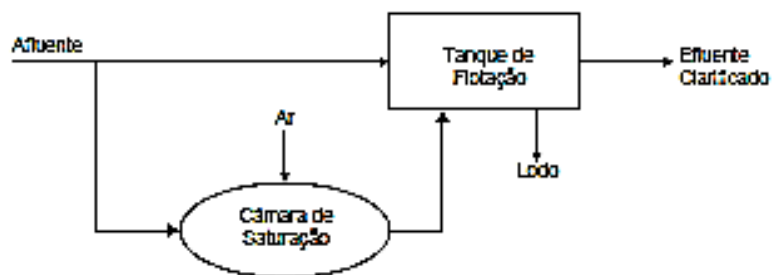
Dentre essas opções, o aconselhado no tratamento de água é a FAD com pressurização do afluente recirculado, pois nas demais opções os flocos, ao passarem pelo sistema de saturação, podem vir a ser rompidos. Essa opção também possibilita o uso de equipamentos de menor porte para saturar a água (EDZWALD, 1995).

O controle da quantidade de ar que entra no tanque de flotação pode ser realizado alterando a pressão de saturação ou a taxa de reciclo ou ambos. A qualidade da água tratada depende somente da quantidade de ar fornecido (GREGORY e ZABEL, 1990).

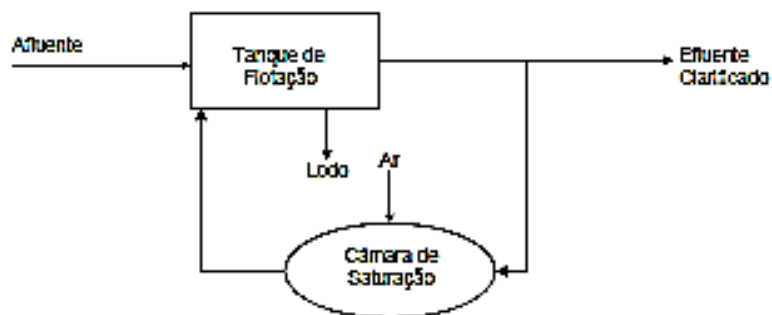
Figura 6 - Arranjos da flotação por ar dissolvido sob pressão



a) Pressurização total do afluente



b) Pressurização parcial do afluente



c) Pressurização de parte do afluente recirculado

Fonte: (LACERDA, 1997).

Longhurst e Graham (1987), confirmaram melhora na clarificação da água tratada com o aumento da quantidade de ar disponível. Entretanto, pode ocorrer aumento da turbulência no ponto de introdução de ar com o aumento do percentual recirculado, de forma que se esse valor for muito elevado, pode resultar na quebra dos flocos formados e na deteriorização da qualidade da água tratada.

Segundo Jansens e Buekens (1993), a única desvantagem da FAD é o elevado custo operacional de energia se comparado à sedimentação, em função, principalmente

da saturação do reciclo. Entretanto o custo de implantação da FAD pode ser menor do que outros processos de clarificação.

### **3.5.1.1 Características do processo FAD**

Os aspectos mais importantes a serem observados na flotação são: qualidade da água bruta (carga e concentração das partículas), condições de coagulação e floculação, unidades de flotação, taxa de recirculação e sistema de saturação, remoção do lodo e o custo.

A realização dos processos de coagulação/floculação adequadamente, é um requisito essencial para atingir a eficiência na clarificação da água por flotação. (COELHO et al., 1991). As condições ótimas da coagulação, como tipo de coagulante, dosagem do coagulante e pH de coagulação, alteram a eficiência da FAD (GREGORY e ZABEL, 1990), sendo que a dosagem do coagulante deve ser menor que a utilizada na sedimentação para a formação de flocos menores e mais leves (EDZWALD e WINGLER, 1990). Di Bernardo (1993), indica para a sedimentação, flocos com 3 a 4 mm de diâmetro, já Longurst e Gaham (1987), indicam flocos de 0,5 a 1mm de diâmetro para serem removidos por FAD.

Para a formação de flocos pequenos, é necessário a agitação superior à empregada na formação de flocos a serem sedimentados, aplicando-se alta energia ( $G$  de 30 a  $120 \text{ s}^{-1}$ ) em um tempo de detenção menor (15 à 20 min) de floculação (KAWAMURA, 2000).

O mecanismo de coagulação mais apropriado para a FAD é objeto de divergência entre autores. Gochin e Solari (1983), Vlaski et al. (1996a) e Janssens e Buekens (1993) recomendam que a coagulação ocorra sob o mecanismo de adsorção e neutralização de cargas, uma vez que os flocos formados apresentam características ideais para a remoção por FAD, como a hidrofobicidade e a neutralização de cargas, que facilitam a formação do aglomerado floco-bolha.

Em relação à influência do tamanho das bolhas na eficiência da FAD, as bolhas menores são mais vantajosas que bolhas de maiores tamanhos, apresentando como vantagem, maior número de bolhas produzidas para um determinado volume de ar dissolvido, maior facilidade de penetração nos espaços vazios dos flocos, menor velocidade ascensional, que proporciona um aumento do tempo de detenção da bolha no



tanque de flotação e das chances de contato com os flocos. Entretanto, se as bolhas forem muito pequenas, a velocidade ascensional também será, necessitando de um tanque de flotação de maior área para permitir que as bolhas cheguem à superfície (GREGORY e ZABEL, 1990; De RIJK et al., 1994).

Segundo Longhurst e Graham (1987), as bolhas de ar devem ter diâmetro menor que os flocos para permitir sua aderência na superfície das partículas. Bolhas grandes criam distúrbios hidráulicos que quebram os flocos formados e, conseqüentemente, alteram a camada de lodo. Segundo Edzwald (1995), o diâmetro médio das bolhas produzidas no sistema de FAD é de 40  $\mu\text{m}$ , podendo estar dentro da faixa de 10 a 100  $\mu\text{m}$ . Para a produção de bolhas com diâmetro pequeno, o autor recomenda que a diferença de pressão de saturação esteja entre 4 e 6 atm.

Para que a flotação ocorra eficientemente, deve estar presente um volume mínimo de ar. Para o tratamento de águas superficiais, esse volume depende apenas do volume total de água a ser tratada e independe dos sólidos suspensos presentes, exceto quando a concentração desses for muito elevada (maior que 1000 mg/L) (LONGHURST e GRAHAM, 1987). Gregory e Zabel (1990), afirmaram que o volume de bolhas deve ser muito maior que o de partículas para garantir boas oportunidades de colisão e redução da densidade dos flocos.

A forma do tanque de flotação também interfere na eficiência do processo de flotação. Longhurst e Graham (1987) concluíram que os tanques de flotação retangulares são os mais adequados por minimizarem a quebra dos flocos formados, por maximizarem a eficiência hidráulica e pela simplicidade na construção.

Kawamura (2000) destaca que a largura do tanque de flotação é limitada pelo equipamento de remoção do lodo, e o comprimento do tanque está associado à distância necessária para que o aglomerado floco-bolha atinja a superfície. Em geral, o tanque deve ter comprimento máximo de 12 m e sua máxima profundidade deve ser de 2,6 m.

No geral, o sistema de FAD, possui custos de investimento (capital) menores do que os processos de sedimentação, entretanto a adição dos 24 equipamentos mecânicos na FAD pode tornar os custos de capital dos dois processos equivalentes (KAWMURA, 2000). Os custos de operação de uma unidade de FAD são superiores aos custos de sistema de sedimentação convencional, devido ao sistema de saturação de ar, às bombas de recirculação e à instalação, manutenção e operação dos equipamentos mecânicos do sistema de remoção de lodo. O sistema de saturação de ar custa

aproximadamente 50% do custo total da unidade de flotação, sendo necessário que os custos de operação sejam minimizados, otimizando o projeto do sistema de recirculação (GREGORY e ZABEL, 1990).

O lodo formado na superfície da unidade de flotação pode ser removido tanto continuamente como intermitentemente por meio de equipamentos mecânicos ou por transbordamento (COELHO et al., 1991). A remoção por transbordamento (hidráulico) apresenta a vantagem de necessitar de pouco investimento com equipamentos e de não causar efeitos à qualidade da água tratada, entretanto leva a um grande desperdício de água clarificada (acima de 2%) ao remover o lodo e à formação de um lodo com baixa concentração de sólidos (0,2% a 0,5%). A remoção por equipamentos mecânicos produz um lodo com teor de sólidos entre 1 e 3%, que é desidratado com maior facilidade. Os dispositivos mecânicos são instalados sobre a água, tendo manutenção mais fácil do que os raspadores de fundo de decantadores. (GREGORY e ZABEL, 1990; KAWMURA, 2000).

### **3.5.3. Destinação do lodo gerado**

De acordo com ABNT NBR 10.004 (2004) o lodo gerado no tratamento de água é classificado como “resíduo sólido”, portanto deve ser tratado e disposto conforme exigência dos órgãos reguladores.

O lançamento nos cursos d'água sem devido tratamento, é considerado crime ambiental, por causar efeitos diretos ao ambiente aquático do corpo receptor, provocando danos à flora e fauna aquática (FADANELLI e WIECHETECK, 2010) além de alterações nas características físico-químicas da água.

No entanto, esses danos podem ser relatados como: aumento na quantidade de sólidos nos corpos d'água; assoreamento dos corpos d'água; aumento da cor, turbidez e concentração de alumínio na água; redução do pH da água; liberação de odores; redução da quantidade de oxigênio dissolvido no corpo d'água; toxicidade crônica nos organismos aquáticos e impacto visual (RICHTER, 2001). Desta forma, torna-se necessário o estudo da disposição final adequada do mesmo, a fim de contribuir para diminuir os impactos ambientais.

Em países desenvolvidos, tais como, Holanda, EUA, Inglaterra, Alemanha, Japão e Espanha, já utilizam o resíduo tanto na área industrial (siderúrgicas, cimenteiras

e revestimento cerâmico) quanto para cobertura de aterros sanitários. Nos EUA apenas 11% do lodo gerado em ETAs é lançado nos corpos de água (CORNWELL et al., 2000). Já na França, 52% do lodo gerado é utilizado em diques, construção civil e compostagem (ADLER, 2002).

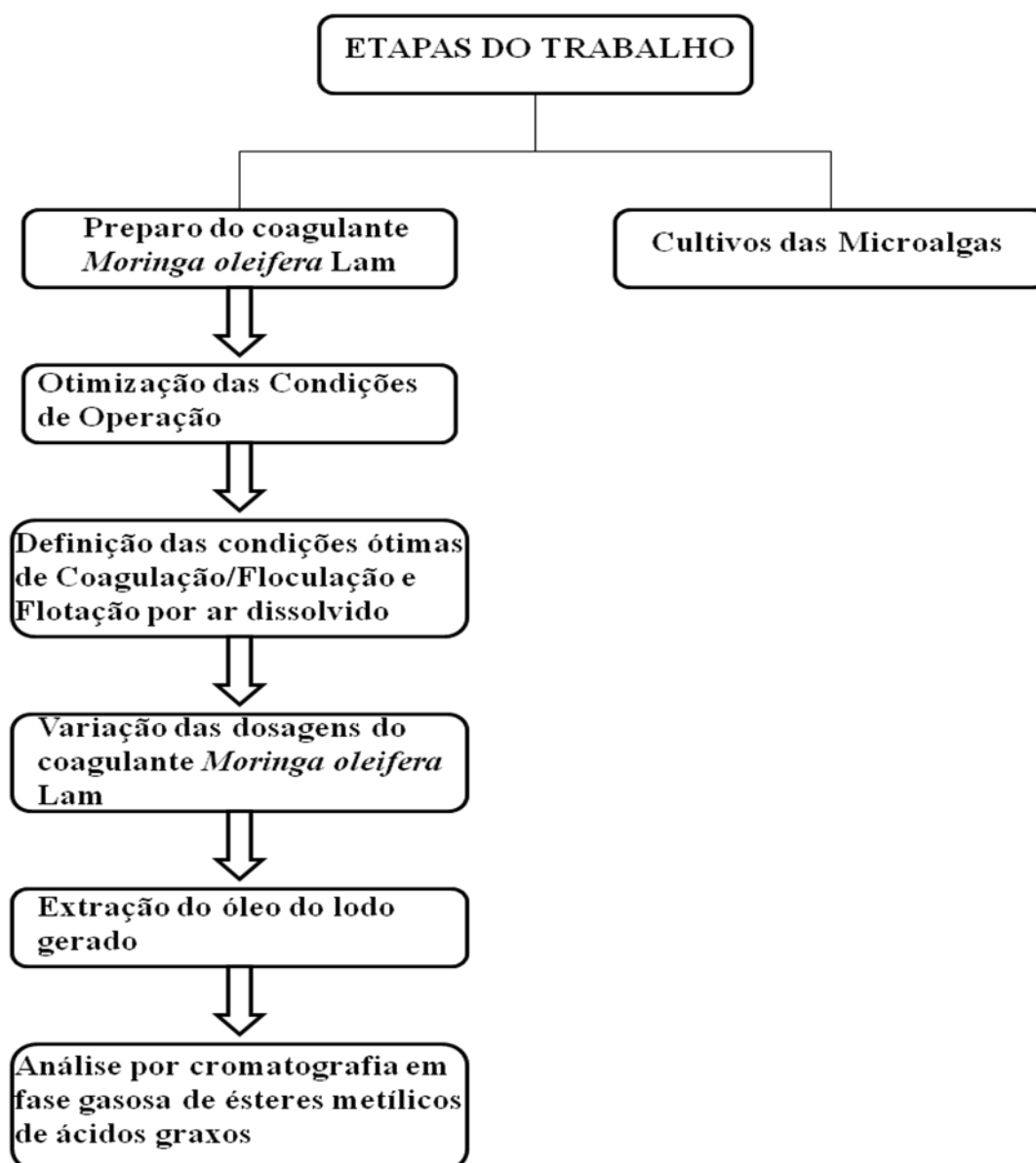
No Brasil, este quadro é bem diferente, sabe-se que das 7500 ETAs existentes no país, 70% lança diretamente o lodo produzido nos corpos d'água mais próximos. (DI BERNARDO et al, 1999). Entretanto, em ETAs com problemas de floração de cianobactérias busca-se alternativas de reaproveitamento dessa biomassa.

#### 4. Materiais e Métodos

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Gestão, Controle e Preservação Ambiental (LGCPA), do Departamento de Engenharia Química (DEQ), da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

A pesquisa foi dividida basicamente em 7 etapas, conforme apresentado no fluxograma abaixo (Figura 7).

Figura 7 - Etapas do trabalho



Primeiramente, foi realizado o cultivo das duas espécies de microalgas estudadas neste trabalho, conforme procedimentos verificados na literatura.

Por seguinte foi preparada o coagulante em pó integral de MO, visto que esta já demonstrou o seu poder floculante para diversos micro-organismos, também aparece como uma possibilidade interessante para a floculação de microalgas.

Na terceira etapa do trabalho foram realizados ensaios para avaliar a remoção de cor aparente, turbidez e células representadas pela remoção de clorofila-a, utilizando coagulante natural, visando otimizar as condições de operação na etapa de coagulação/floculação e flotação por ar dissolvido para serem utilizadas nas próximas etapas do trabalho, tais como: gradiente de mistura rápida e lenta (GMR e GML), tempos de mistura rápida e lenta (TMR, TML), pressão de saturação ( $P_{sat}$ ), tempo de saturação ( $T_{sat}$ ), taxa de recirculação (R) e velocidade de flotação (v). Após os ensaios, a quarta etapa deu-se pela definição das condições ótimas de operação, e na sequência deu-se início a quinta etapa pela variação da dosagem do coagulante, a fim de avaliar a influência da concentração de Moringa no efeito de floculação das células.

A partir do lodo gerado pelo processo de coagulação/floculação/flotação por ar dissolvido foi realizada a sexta etapa do trabalho, em que foi extraído o óleo contido nessas células de microalgas. A sétima e última etapa foi realizada em cromatógrafo gasoso a fim de analisar o perfil de ácidos graxos presentes.

#### **4.1 Cultivo de *Anabaena flos-aquae* e *Chlorella vulgaris***

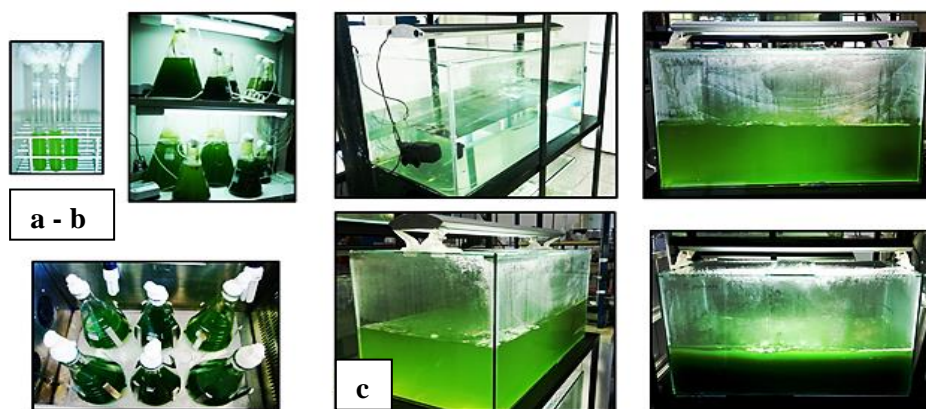
As cepas de *Anabaena flos-aquae*, produtora de toxinas paralisantes, e de *Chlorella vulgaris*, foram gentilmente cedidas pela prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria do Carmo Bittencourt, do Brazilian Cyanobacterial Collection of University of Sao Paulo (BCCUSP), de forma a permitir a realização do presente estudo.

Essas espécies foram cultivadas em estrutura construída no Laboratório de Gestão, Controle e Preservação Ambiental. Para a realização dos cultivos procurou-se manter o máximo de assepsia possível, não tendo sido verificado a contaminação do cultivo durante o período de estudo. A cepa de *Anabaena flos-aquae* foi mantida em meio de cultivo ASM-1 (GORHAM et al., 1964), composto apenas por substâncias inorgânicas, já a cepa de *Chlorella vulgaris* foi mantida em meio de cultivo BG-11 (RIPPKA, 1979), ambos preparados no dia anterior a cada repicagem.

A estrutura utilizada para os cultivos constituía-se de uma calha (15 cm x 1,45 cm) com duas lâmpadas fluorescentes (Phillips TLT 20 W/75 S), localizadas a uma altura de 45 cm da base, mantido o regime de foto-período de 12h (claro/escuro) (CASTRILLO et al., 2013). Durante todo o período de cultivo, a temperatura foi monitorada, tendo-se verificado variação entre 25 e 30°C. Foi mantida uma aeração contínua, visando à conservação das células em suspensão e o fornecimento de CO<sub>2</sub> em quantidade suficiente para a manutenção das condições ideais de crescimento. A inoculação das culturas de *A. flos-aquae* foram realizadas a cada 20 dias e para *C. vulgaris* foram realizadas a cada 7 dias, seguindo a proporção de inoculo : meio (1 : 9). Foram mantidas em erlenmeyers de 2 L, até atingir uma concentração nas ordens de 10<sup>4</sup> e 10<sup>6</sup> céls.mL<sup>-1</sup>, respectivamente, que são consideradas representativas de uma floração. Essa concentração foi escolhida também com base desse valor ser empregado comumente em trabalhos que visam avaliar a remoção de microalgas (NISHI, et al., 2011; CAMACHO, et al., 2013; CORAL, et al., 2013). Devido aos grandes volumes de cultivo utilizados nessa pesquisa, os cultivos também foram realizados em tanques com capacidade de 200 L com bombeamento contínuo, utilizando bombas submersas de aquários (Atman, 4000).

A estrutura utilizada para o cultivo das células de *Anabaena flos-aquae* e *Chlorella vulgaris* é apresentada na Figura 8.

Figura 8 - Visão geral das culturas de *A. flos-aquae* e *C. vulgaris* em cepa com inóculo (a), erlenmeyers (2L) (b) e tanques (200L) (c) após inoculação em meio ASM-1 e BG-11, respectivamente.



Fonte (AUTOR)

#### 4.1.1 Caracterização da água sintética

A caracterização foi realizada por meio dos seguintes parâmetros de qualidade: cor aparente, turbidez, compostos com absorção em UV<sub>254nm</sub>, pH, COD, clorofila-a, contagem de células. Diversos métodos analíticos foram utilizados, conforme especificados na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros de qualidade avaliados, seus respectivos métodos de análise e equipamentos

Parâmetro de qualidade	Método de análise	Equipamento
Cor Aparente (uH)	Espectrofotométrico <sup>(1)</sup>	Espectrofotômetro DR 5000 Hach
Turbidez (NTU)	Nefelométrico <sup>(1)</sup>	Turbidímetro 2100P Hach
Compostos com absorção em UV <sub>254nm</sub> (cm <sup>-1</sup> )	Espectrofotométrico <sup>(1)</sup>	Espectrofotômetro DR 5000 Hach
pH	Potenciométrico <sup>(2)</sup>	Medidor Thermo Scientific Orion VSTAR92 Versastar
COD	Combustão a 680°C e detecção do CO <sub>2</sub> em infravermelho <sup>(2)</sup>	Analizador de carbono orgânico total TOC-L CPH Shimadzu
Clorofila-a (µg.L-1)	Extração com acetona 90% e medição de absorbância em $\lambda = 750$ e $\lambda = 663$ <sup>(3)</sup>	Espectrofotômetro DR 5000 Hach
Contagem de células (cél.mL <sup>-1</sup> )	Contagem microscópica utilizando câmara	Microscópio óptico/Olympus

(1) Procedimento recomendado pelo Standard methods for the examination for water and wastewater (APHA, 1995);

(2) Procedimento recomendado pelo manual do equipamento;

(3) Methods for Physical and Chemical Analysis of Fresh Water – GOLTERMAN, 1978;

(4) Método de Utermöhl (1958), discutido por Lund et al. (1958);

(5) Procedimento realizado em pH neutro, que utiliza uma dispersão de luz eletroforética (DLE), que determina o movimento eletroforético das partículas carregadas sob um campo elétrico aplicado a partir do deslocamento de Doppler da luz dispersa. Este parâmetro é medido em mV (milivolt).

Optou-se por trabalhar com água de estudo com valores de turbidez inicial na faixa de  $30 \pm 10$  uT, já que segundo o monitoramento por contagem de células, esta turbidez equivale à uma concentração de  $10^4$  cél.mL<sup>-1</sup> para a espécie de *A. flos-aquae* e  $10^6$  cél.mL<sup>-1</sup> para *C. vulgaris*.

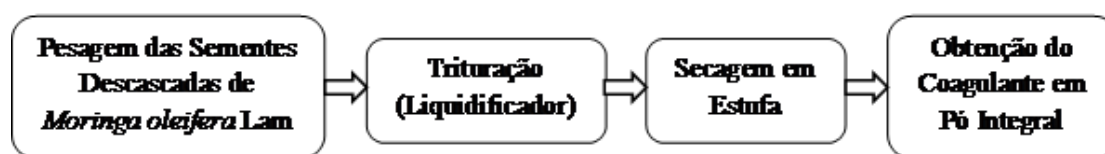
## 4.2 Preparo do coagulante natural a partir do pó integral de sementes de *Moringa oleifera* Lam

Nwaiwu, Zalkiful e Talbot (2012) destacam que, as sementes apresentam o melhor potencial de coagulação/floculação, quando comparadas às folhas, vagens e cascas da *Moringa oleifera* Lam. Avaliando os resultados obtidos experimentalmente, Ndabigengesere e Narasiah (1998) sugerem que as proteínas ativas estão contidas apenas nas sementes. Assim, optou-se por trabalhar somente com as sementes descascadas desse coagulante natural.

As sementes de *Moringa oleifera* Lam foram gentilmente cedidas pela Universidade Federal de Sergipe – UFS, provenientes de Aracajú.

A Figura 9, apresenta o fluxograma de preparação do coagulante natural *Moringa oleifera* Lam.

Figura 9 - Fluxograma de preparação do coagulante natural *Moringa oleifera* Lam na forma de pó integral



Para a obtenção do coagulante em pó integral ( $PO_{int}$ ): Secou-se 15 g de sementes em estufa com circulação e renovação de ar (SX CR/42 Digital Timer) a 40°C até peso constante (AMAGLOH e BENANG, 2009). Triturou-se essa amostra em liquidificador doméstico (NL-41 Mondial) durante 3 min, a fim de se obter o coagulante em pó integral ( $PO_{int}$ ). Não houve distinção da granulometria do pó (Figura 10).



Figura 10 – Fotografia da *Moringa oleifera* Lam (com casca, descascada e em pó integral)



Fonte (AUTOR)

### **4.3 Ensaios preliminares para a otimização das condições de operação na etapa de coagulação/floculação e flotação por ar dissolvido**

Estudos realizados por Cardoso et al. (2008), demonstraram que o tempo para propiciar a mistura rápida, mistura lenta, influenciam na remoção de cor e turbidez, durante o processo de coagulação/floculação. Heller e Pádua (2006) comentam que, o tempo e o gradiente de velocidade médio de mistura rápida devem, preferencialmente, ser determinados com base em investigações experimentais. Da mesma forma os parâmetros pressão e tempo de saturação, taxa de recirculação e velocidade de flotação, também podem influenciar o processo da flotação por ar dissolvido (CENTURINE FILHO e DI BERNARDO, 2003; TEIXEIRA, 2005).

Baseado nessas afirmações, optou-se por estudar as condições de operação na etapa de coagulação/floculação e flotação por ar dissolvido para a combinação com a dosagem ótima do coagulante natural, a fim de otimizá-las e utilizá-las no decorrer do trabalho.

#### **4.3.1 Otimização de ensaios de coagulação/floculação**

Os ensaios de coagulação/floculação foram realizados em *Jar Test* simples Nova Ética, Modelo 218/LDB06 de seis provas, com regulador de rotação das hastes misturadoras (Figura 11).

Figura 11 - Equipamento Jar Test



Fonte (AUTOR)

A agitação foi proporcionada por agitadores situados na parte superior do equipamento e controlada por um seletor de rotações (0 a  $850\text{ s}^{-1}$ ).

Nesse estudo, foi realizado a variação dos gradientes (GMR e GML) e tempo de mistura lenta (TML) com o propósito de se obter as condições de operação adequadas para a água sintética produzida, em termos de eficiência de remoção de cor aparente, turbidez e clorofila-a. Para isso, foi fixada a dosagem padrão de  $0.5\text{ g.L}^{-1}$  de pó integral de *Moringa oleifera* Lam, com base em estudos realizados experimentalmente previamente, e o volume de 2 L para cada jarro.

A Tabela 3, apresenta as condições utilizadas neste trabalho baseadas em experimentos de Centurione Filho e Di Bernardo (2003).

Tabela 3 - Condições de processo utilizadas em C/F

Parâmetros	Valores		
GMR	$315\text{ s}^{-1}$	$850\text{ s}^{-1}$	
TMR	20s		
GML	$5\text{ s}^{-1}$	$10\text{ s}^{-1}$	$15\text{ s}^{-1}$
TML	10 min	15 min	20 min

Nesta etapa, a flotação por ar dissolvido foi associada ao processo de coagulação/floculação, e as condições experimentais fixadas foram: pressão de 400 kPa, tempo de saturação de 8 minutos, velocidade de flotação de  $10\text{ cm.min}^{-1}$  e taxa de

recirculação de 20% de acordo com Centurione Filho e Di Bernardo (2003). A temperatura da água foi mantida na faixa de  $25 \pm 30^{\circ}\text{C}$  para a realização dos ensaios.

Um fator ambiental que coordena o desenvolvimento das cianobactérias é o pH. Seu crescimento máximo ocorre em hábitat com pH variando de 7,5 a 10 (GIRALDEZ-RUIZ et al., 1999), sendo inibido em valores de pH abaixo de 5 (BROCK, 1973). Além disso, em pH ácido pode ocasionar a lise celular (TEIXEIRA e ROSA, 2006). Sendo assim, optou-se por não variar o pH da água, utilizando o pH neutro (7,0-7,7).

#### **4.3.1 Otimização de ensaios de flotação por ar dissolvido**

Os ensaios de flotação por ar dissolvido foram realizados no equipamento “*flotest*” Nova Ética (modelo - 218/3), que é composto por uma câmara de saturação, conjunto motor-agitador do *Jar Test*, três jarros confeccionados em acrílico transparente com dimensões de 115 x 11 x 11 mm, cada um com capacidade para 2 L.

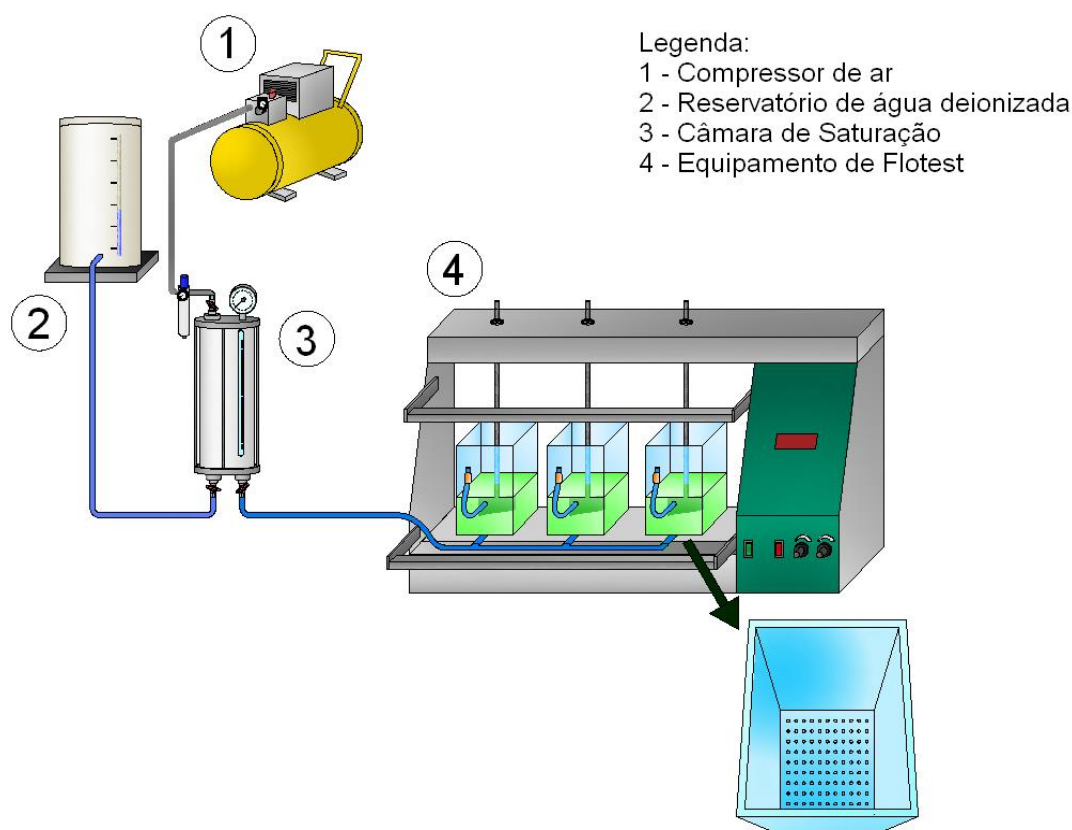
A flotação por ar dissolvido foi avaliada nesse trabalho como método de separação, por se mostrar efetivo no tratamento de águas com elevada concentração de cianobactérias (JANSSENS e BUEKENS, 1993). Os trabalhos desenvolvidos por Oliveira (2005), Assis (2006), Santiago (2008), Coral (2009), Amaral (2011) e Camacho (2012) confirmaram essa tendência.

A diferença entre estes jarros e os utilizados no *Jar Test* convencional é a base, que foi alterada para permitir a introdução e a distribuição uniforme de água saturada com ar, que consiste de uma placa contendo 121 orifícios de 2 mm de diâmetro, uniformemente distribuídos, assentada a 5 mm acima da placa de fundo do jarro, a qual apresenta 4 canais com largura de 6 mm. O ponto para coleta da amostra nos jarros fica situado a 12 cm de altura acima da base do jarro.

A câmara de pressurização funciona como unidade de saturação e os jarros como unidades de coagulação, floculação e flotação. A câmara de pressurização é dotada de uma válvula reguladora de pressão com filtro de ar, manômetro, para medir a pressão interna, dispositivo de segurança e registro de agulha, para controlar a pressão. A saturação da água ocorre por meio da injeção de ar comprimido fornecido por um compressor. A Figura 12 mostra um esquema do equipamento floteste, o jarro específico para flotação e a câmara de saturação.

Nesta fase, procurou-se avaliar, de forma inter-relacionada, os parâmetros pressão e tempo de saturação, taxa de recirculação e velocidade de flotação, objetivando-se verificar a influência destes sobre os resultados do processo de flotação. Foram atribuídos os seguintes valores a serem avaliados: pressão de saturação: 400, 500 e 600 kPa; tempo de saturação: 4, 8 e 12 minutos; taxa de recirculação: 10, 20 e 30%; e velocidades de flotação: 10 e 20  $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$ .

**Figura 12 - Representação do equipamento Flotest utilizados nos ensaios de C/F/FAD**



(Fonte: CAMACHO, 2012)

Os parâmetros de mistura rápida e lenta foram mantidos iguais aos encontrados nos ensaios de coagulação/floculação, aplicando-se os melhores resultados de velocidade de coagulação, floculação e tempo de floculação. Todos os ensaios foram igualmente realizados em duplicata e o procedimento realizado como indicado no item anterior.

#### **4.4 Avaliação da dosagem ótima do pó integral de *Moringa oleifera* Lam**

Após a padronização das condições de operação de coagulação/floculação e flotação por ar dissolvido, variou-se a dosagem de coagulante a fim de obter a sua dosagem ótima em termos de eficiência de remoção de cor aparente, turbidez, clorofila-a e compostos de absorção em UV<sub>254nm</sub>.

As dosagens estudadas foram escolhidas com base no trabalho de Teixeira et al. (2012), conforme mostra a Tabela 4.

Tabela 4 - Variação da dosagem de pó integral de semente de *Moringa oleifera* Lam

<b>Dosagem (g.L<sup>-1</sup>)</b> <b><i>Moringa oleifera</i></b>	0.05	0.1	0.2	0.4	0.5	0.6	0.8	1
---	------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	---

#### 4.5 Análise estatística

Para a comparação dos resultados foram realizados a análise de variância (ANOVA) e o teste de comparação de médias, teste Tukey, com 95% de confiança, sendo significativo um p-valor < 0,05. Para verificar as diferenças significativas, foi utilizado o programa STATISTICA versão 8.0.

Considerando-se os ensaios preliminares para a otimização das condições de operação na etapa de coagulação/floculação e flotação por ar dissolvido, utilizou-se primeiramente um delineamento fatorial para o processo de coagulação/floculação 3x3x2, sendo os fatores: ensaios (2 variações quanto à GMR, 3 variações quanto à GML e 3 variações quanto ao TML) em duas repetições, totalizando 36 ensaios. Posteriormente, foi utilizado um delineamento fatorial para o processo de FAD 3x3x3x2, sendo os fatores: ensaios (3 variações quanto à P<sub>sat</sub>, 3 variações quanto ao T<sub>sat</sub>, 3 variações quanto à R% e 2 variações quanto V<sub>flot</sub>), em duas repetições, totalizando 108 ensaios. Em ambos delineamentos avaliou-se a remoção dos parâmetros de qualidade cor aparente, turbidez e clorofila-a.

Para avaliação da dosagem do coagulante *Moringa oleifera* Lam, utilizou-se delineamento fatorial 8x2, sendo os fatores: dosagens (oito dosagens de *Moringa oleifera* Lam), 2 espécies de microalgas (*Anabaena flos-aquae* e *Chlorella vulgaris*), com duas repetições em cada, totalizando 32 ensaios. Nestes ensaios foram analisados a eficiência de remoção dos parâmetros cor aparente, turbidez, clorofila-a e compostos com absorção em UV<sub>254nm</sub>.

#### **4.6 Definição das condições ótimas de coagulação/floculação e FAD a partir da análise estatística**

A partir da análise dos resultados obtidos por meio da análise estatística, diversos pontos de estudo foram definidos, levando-se em consideração as eficiências de remoção dos parâmetros de qualidade cor aparente, turbidez, compostos com absorção em UV<sub>254nm</sub>, clorofila-a, COD e contagem de células, assim como a dosagem do coagulante natural *Moringa oleifera* Lam utilizada no processo de coagulação/floculação e FAD. Dessa forma, obteve-se as condições ótimas do processo.

#### **4.7 Avaliação do lodo Gerado no Processo de Coagulação/Floculação/FAD**

Após o processo de Coagulação/Floculação/Flotação por ar dissolvido, o lodo flotado foi avaliado de acordo com sua caracterização lipídica. Para isso foi realizado o processo de extração de lípidios totais e foi avaliado o perfil de ácidos graxos. O procedimento será descrito a seguir.

Primeiramente as amostras foram conservadas em congelador a -5 °C em recipientes protegidos da luz. A biomassa (denominado de lodo) foi previamente seca em estufas à 60°C até atingir 80% de umidade. A extração dos lípidios da biomassa seca foi realizada conforme Bligh e Dyer (1959), com adaptações. Este método consiste na obtenção de um sistema imiscível através três solventes, água, clorofórmio e metanol.

##### **4.7.1 Extração lipídica**

Após a secagem das amostras, estas foram colocadas em um béquer e a este foi adicionada uma mistura final de clorofórmio:metanol:água 2:2:1,8 (v/v). Em seguida, foi feita uma filtração à vácuo, onde os resíduos celulares ficaram no papel de filtro e o meio líquido foi recolhido e colocado para decantar por 10 minutos. Realizada a separação das fases (superior e inferior), a fase superior aquosa contendo metanol foi descartada, e a fase inferior com clorofórmio e a fração lipídica foram colocadas em um aparelho de rota-evaporação Fisatom modelo 802 à 33-34°C (Figura 14) para recuperar o

solvente. Desta forma, o solvente presente na mistura foi retirado e o concentrado teve sua massa aferida e armazenada em frasco âmbar em ambiente refrigerado. A Figura 13 apresenta o fluxograma da extração lipídica das microalgas.

Figura 13 - Extração lipídica das microalgas por Bligh e Dyer (1959)

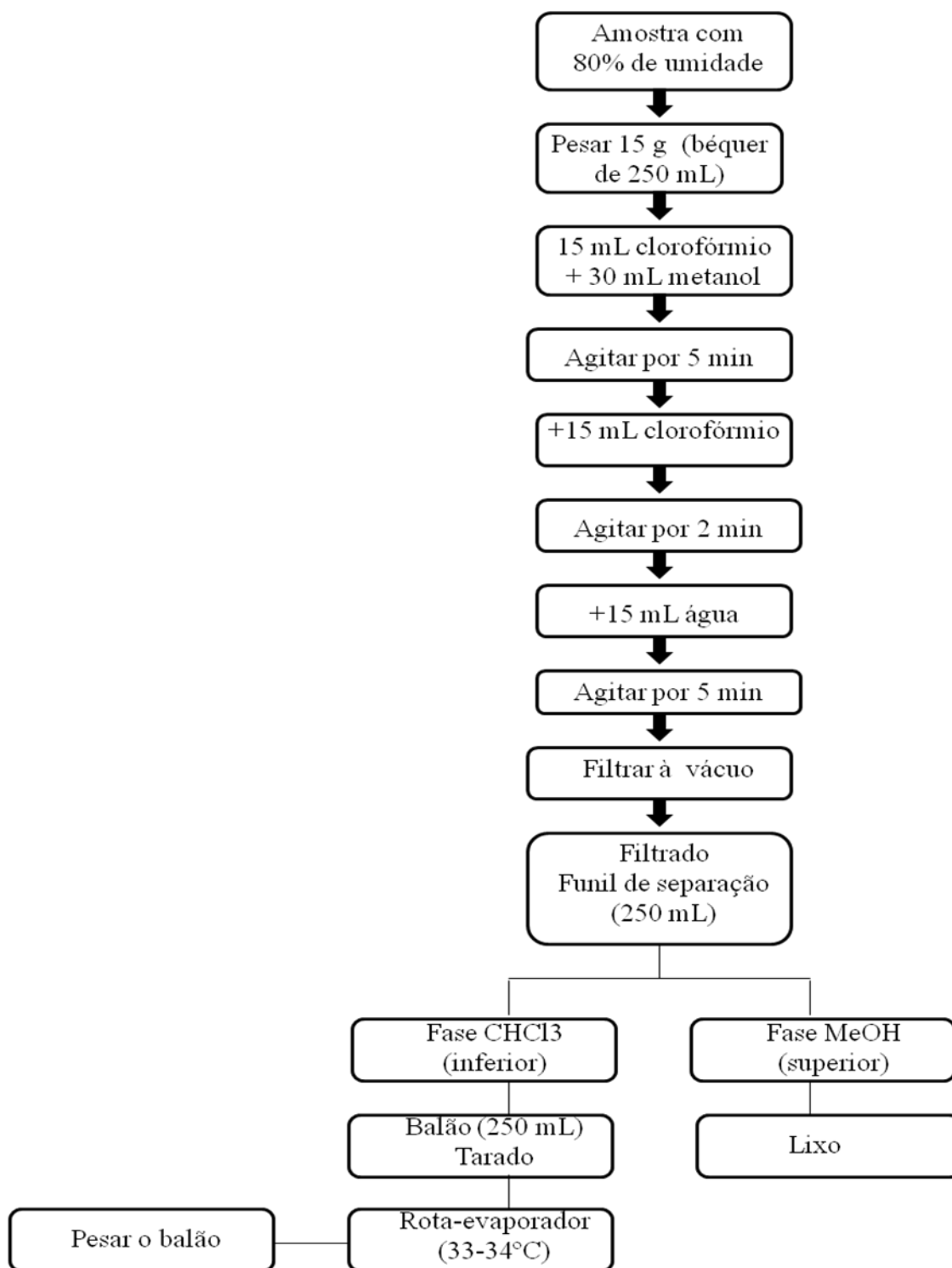


Figura 14 – Fotografia da extração lipídica em rota-evaporador



Fonte (AUTOR)

#### 4.7.2 Análise por cromatografia em fase gasosa dos ésteres metílicos de ácidos graxos

Para determinação do perfil de ácidos graxos presentes no óleo, de acordo com Visentainer e Franco (2006), é necessário primeiramente, realizar a derivatização deste, já que os óleos a serem analisados precisam ser convertidos em componente de maior volatilidade, tais como os ésteres metílicos. Para isto utilizou-se a metodologia de esterificação de lipídios (HARTMANN e LAGO, 1973).

Aproximadamente 100 mg da matéria lipídica extraída das amostras foram transferidas para tubos de 25 mL com tampa rosqueável e foram adicionados 4 mL de solução  $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$  de NaOH em Metanol. Os tubos foram hermeticamente fechados e imergidos em banho-maria com água fervente, durante 5 min, até obtenção de uma solução transparente. Em seguida os tubos foram rapidamente resfriados em água corrente.

Foram adicionados 5 mL do reagente esterificante, os frascos foram hermeticamente fechados e a mistura submetida à agitação vigorosa, durante 5 min. Os tubos foram novamente imergidos em banho-maria com água fervente durante 2 min e resfriados em água corrente. Em seguida foram adicionados aos tubos 4 mL de solução



saturada de cloreto de sódio e foram submetidos à agitação vigorosa durante 30 s. Logo após foram adicionados 5 mL de n-heptano e os tubos foram novamente submetidos à agitação vigorosa por 30 s. Os frascos foram fechados hermeticamente e deixados em repouso por aproximadamente uma hora na geladeira, em seguida foi coletado e transferido o sobrenadante para um frasco Eppendorf e armazenados em congelador (-24°C), para posterior análise cromatográfica.

Após a reação de derivatização foi realizada a cromatografia em fase gasosa. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados através do cromatógrafo a gás CP-3380 (Varian, EUA), equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida Select FAME (CP-7420, Varian), com comprimento de 100 metros (0,25 mm DI e filme de 0,25 micrômetro). A temperatura da coluna foi programada, sendo a temperatura inicial de 165° C mantida por 18 min, elevada até 180° C a uma razão de 30° C .min<sup>-1</sup> e mantida durante 22 min, e finalmente elevada a 240° C a uma razão de 15° C.min<sup>-1</sup> sendo esta temperatura mantida por 20 min. As temperaturas do injetor e detector foram mantidas a 225° C e 245° C, respectivamente. Os fluxos dos gases (White Martins), foram de 1,2 mL.min<sup>-1</sup> para o gás de arraste (H<sub>2</sub>) com pressão de 40 psi na entrada da coluna; 30 mL.min<sup>-1</sup> para o gás auxiliar (N<sub>2</sub>) e 30 mL.min<sup>-1</sup> e 300 mL.min<sup>-1</sup> para o H<sub>2</sub> e para o ar sintético da chama, respectivamente. A razão de divisão da amostra (split) foi de 1/100. A identificação de ácidos graxos foram efetuadas através de *Software Varian* utilizando padrões da Sigma e como padrão interno tricosanoato de metila (23:0). A identificação dos ácidos graxos foi efetuada através da comparação dos tempos de retenção com padrões Sigma (EUA), e o cálculo das áreas dos picos determinadas através do *Software Clarity Lite* versão 2.4.1.91.

## 5. Resultados e discussões

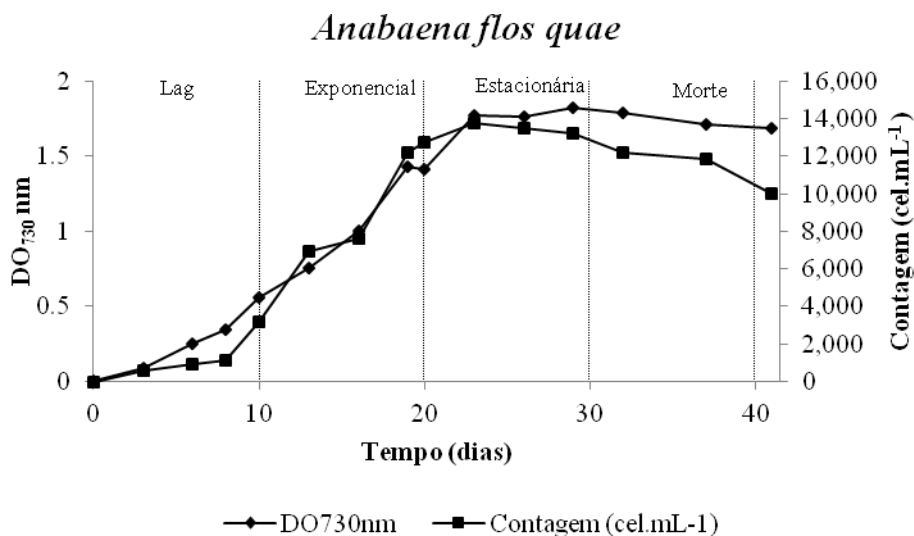
Esse tópico apresenta e discute os resultados obtidos no trabalho experimental desenvolvido. Primeiramente, serão discutidos os dados relativos à remoção de células de *A. flos-aquae* empregando-se o tratamento de coagulação/floculação/flotação por ar dissolvido (C/F/FAD), utilizando pó integral da semente de *Moringa oleifera* Lam. Em seguida, serão abordados os resultados obtidos em relação ao teor lipídico de *A. flos aquae* em comparação à espécie *C. vulgaris*.

### 5.1 Curva de crescimento das espécies *Anabaena flos-aquae* e *Chlorella vulgaris*

A seguir é apresentada a avaliação da curva de crescimento das espécies cultivadas para este estudo. O crescimento desses micro-organismos pode ser influenciado por fatores ambientais como idade do cultivo, temperatura, luz, salinidade, pH e concentração de nutrientes.

Com relação à *A. flos-aquae*, conforme mencionado no item 4.1, as inoculações das suas culturas em novo meio de cultivo eram realizadas a cada 20 dias, considerando a estabilização do crescimento. Já para *C. vulgaris* as inoculações eram realizadas por volta do sétimo dia de cultivo, o qual foi obtido a maior densidade celular. Para tanto, construiu-se uma curva de crescimento para observações do comportamento dos cultivos, correlacionando a densidade ótica em 730 nm ( $DO_{730nm}$ ) com a contagem de células, conforme indicado na Figura 15.

Nguyen et al. (2005) avaliando o crescimento de *Anabaena* e *Microcystis* apresenta uma relação linear entre clorofila-a e  $DO_{730nm}$ ,  $R^2 = 0,97$  e  $0,98$ , respectivamente. Desta forma,  $DO_{730nm}$  também pode ser utilizado como parâmetro indicativo de crescimento para microalgas.

Figura 15 - Curva de crescimento do cultivo de *A. flos-aquae* em laboratório

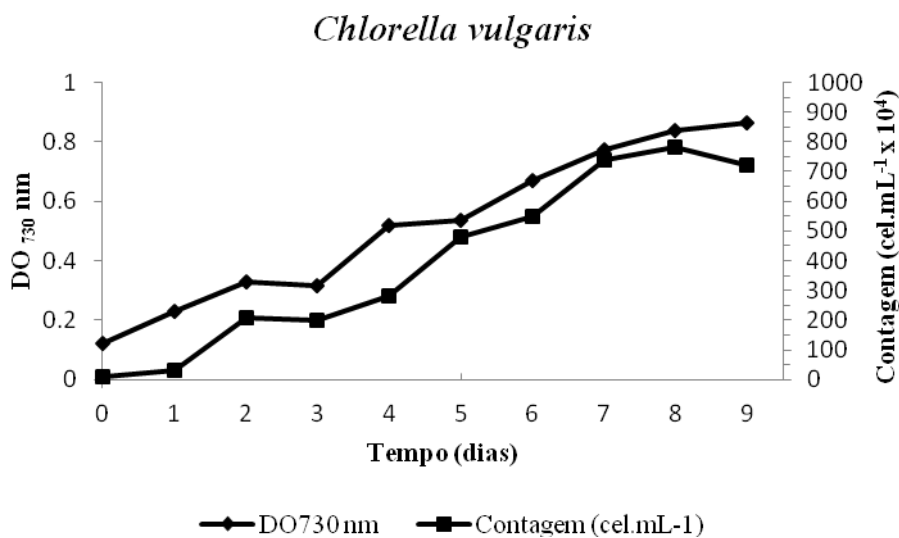
A figura 15 mostra que as quatro fases de crescimento, ou seja, lag, exponencial, fase estacionária e a morte de células, podem ser distinguidas durante o cultivo. A fase lag durou cerca de 10 dias, para ambos os parâmetros analisados. O aumento abrupto de células ocorreu após o 13º dia de cultivo, indicando o início da fase exponencial. A partir do 23º dia foi observada uma estagnação do crescimento, denominada fase estacionária, a qual se manteve até o 30º dia. Após 30 dias ocorreu uma diminuição no número de células, evidenciando a fase de morte celular.

Estudo de Huang et al. (2009), avaliou o crescimento de *A. flos-aquae* com relação à clorofila-a e DO<sub>730nm</sub> e apresentou resultados similares aos obtidos no presente estudo. A fase lag durou cerca de 15 dias, já a fase exponencial foi evidenciada do dia 25 ao 29, devido ao grande aumento de células nessa época, visto que esses resultados ocorrem para ambos os parâmetros analisados. A biomassa representada pela clorofila-a, demonstrou um decréscimo a partir do 35º dia de cultivo, demonstrando assim, a sua fase de morte celular.

Em relação ao cultivo de *C. vulgaris* a divisão de fases não ficou tão evidente, no qual pôde ser observado um crescimento exponencial das células. A concentração máxima de células foi atingida no sétimo dia, com cerca de  $7,8 \times 10^6$  células.mL<sup>-1</sup> (Figura 16). O mesmo comportamento de crescimento dessa espécie foi obtido no trabalho de Sostaric et al. (2009). Neste, o crescimento de *C. vulgaris* foi monitorado

por 29 dias, porém, foi observado um retardo no crescimento a partir do sétimo dia de cultivo, em que obteve a maior concentração de células.

Figura 16 - Curva de crescimento do cultivo de *C. vulgaris* em laboratório

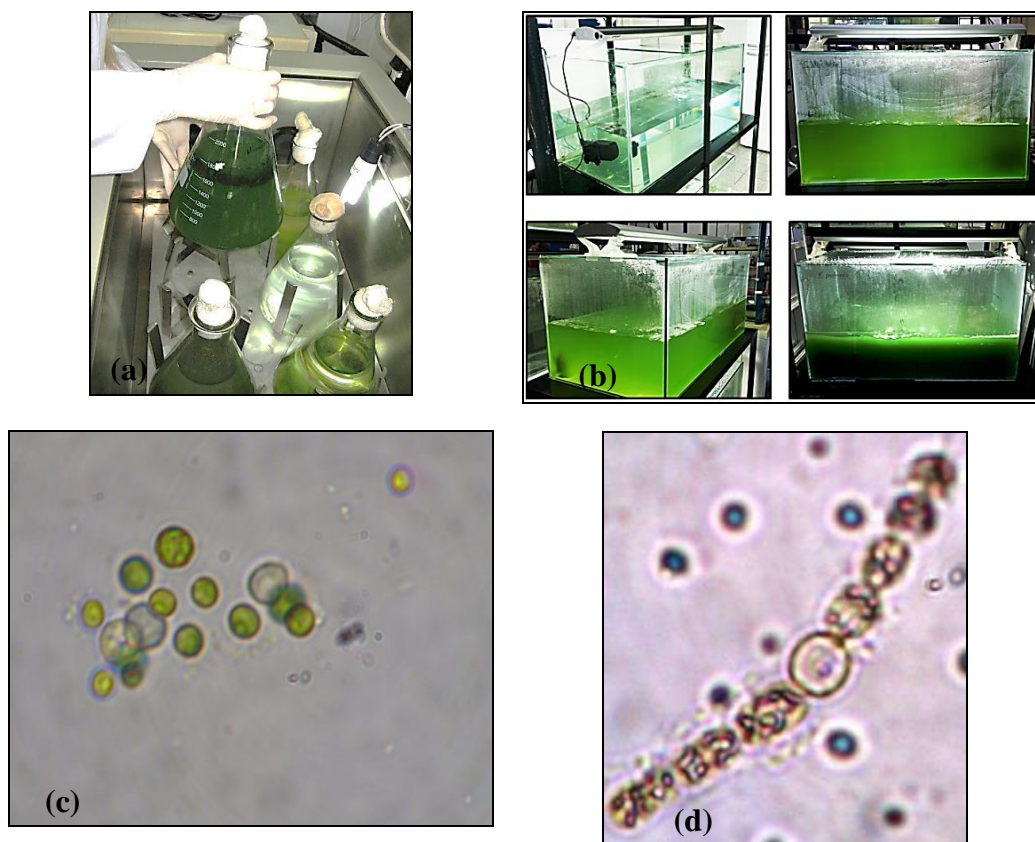


Pode-se observar na Figura 15 que o tempo de crescimento de *A. flos-aquae* foi superior ao tempo requerido por *C. vulgaris* (Figura 16), atingir sua maior densidade, entretanto, isto pode ser justificado pela primeira ser uma alga filamentosa, de longo comprimento e a segunda ser uma alga unicelular, menor e por isso de rápido desenvolvimento.

Em ambos os cultivos não houve queda nos valores de DO<sub>730nm</sub>, na fase de esperada morte celular, este fato pode ser explicado pela precipitação das células mortas, no meio de cultivo.

A concentração e o aspecto das células foram monitorados através de microscópio e também por meio de observações feitas visualmente, durante todo o cultivo. A Figura 177 mostra as características da superfície das células de *A. flos-aquae* (d) e *C. vulgaris* (c), com suas formas filamentosa e unicelular, respectivamente.

Figura 17 - Cultivo em erlenmeyers sob à agitação manual diária (a); Cultivo em tanques sob aeração constante (b); Fotos de células de *C. vulgaris* (aumento 400 x) (c); Foto das células de *A. flos-aquae* (aumento 400 x) (d). As fotos fazem parte do material estudado.



Fonte (AUTOR)

## 5.2 Caracterização da água de estudo

A vantagem de se utilizar uma “água sintética”, preparada a partir de água deionizada e cultura de microalgas, é que permite-se, de forma mais clara, avaliar as eficiências dos processos de tratamento, pois diminui as variações encontradas nos mananciais naturais. A caracterização da “água sintética” utilizada no presente estudo está apresentada na Tabela 5.

Após a caracterização da “água sintética”, as amostras foram submetidas à otimização do processo de coagulação/floculação (C/F) utilizando a dosagem de 0,5 g.L<sup>-1</sup> de pó integral da semente *Moringa oleifera* Lam. Para a avaliação desse processo a FAD foi associada em condições estabelecidas por Centurione Filho e Di Bernardo (2003), conforme descrito no item 4.3.1.

Tabela 5 - Caracterização da água de estudo utilizada para os ensaios em escala de bancada

<b>Parâmetros</b>	<b><i>Chlorella vulgaris</i></b>	<b><i>Anabaena flos-aquae</i></b>
<b>Concentração de células (céls.mL<sup>-1</sup>)</b>	1 x 10 <sup>6</sup>	1 x 10 <sup>4</sup>
<b>Temperatura (°C)</b>	25 ± 2°C	30 ± 2°C
<b>pH</b>	7,30 - 7,77	7,68 - 7,77
<b>Cor aparente (uH)</b>	549±34	224±35
<b>Turbidez (NTU)</b>	30±4	30±0,5
<b>COD (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	13,34±0.6	8,39±0.3
<b>UV<sub>254nm</sub></b>	0,206±0.03	0,170±0.04
<b>Clorofila-a (µg.L<sup>-1</sup>)</b>	444,19±5	149,5±5.4
<b>Potencial Zeta (mV)</b>	-9,4±0,2	-2,3±0,3

### 5.3. Otimização do processo de coagulação/floculação

A média das eficiências de remoção dos parâmetros cor aparente, turbidez e clorofila-a, considerando-se todos os ensaios de otimização das condições de operação na etapa de coagulação/floculação, utilizando como coagulante pó integral de *Moringa oleifera* Lam, estão demonstrados na Tabela 6.

A partir do delineamento experimental proposto (item 4.5), realizou-se a análise de variância (ANOVA) com 95% de nível de confiança, onde os resultados obtiveram um p-valor < 0,001, para os parâmetros cor aparente, turbidez e clorofila-a, demonstrando haver diferenças significativas em relação aos tipos de tratamento. Diante disto, tornou-se necessário utilizar um teste de comparação de médias tipo Tukey para verificar quais as diferenças encontradas (Apêndices a, b, c).

No que diz respeito à remoção de cianobactérias por coagulação, bons resultados têm sido relatados na literatura, dependendo das características da matéria orgânica presente na água, a espécie predominante de cianobactérias e o tipo e concentração de coagulante (HENG et al., 2009; HENDERSON et al., 2010.; SHEN et al., 2011). Além disso, segundo Baghvand et al. (2009), os parâmetros de mistura rápida e lenta, incluindo o tempo e intensidade da mistura, podem afetar a eficiência de remoção de turbidez no processo de coagulação.

Tabela 6 - Eficiência de remoção dos parâmetros avaliados na concentração de 0.5 g.L<sup>-1</sup> de coagulante natural

ENSAIO	GMR (s <sup>-1</sup> )	TMR (s)	GML (s <sup>-1</sup> )	TML (min)	FLOTAÇÃO POR AR DISSOLVIDO		
					P=400 KPa T <sub>sat</sub> =8 min		
					V=10 cm.s <sup>-1</sup>		
R=20%							
EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO (%) <sup>1</sup>							
					COR (uH)	TURBIDEZ (NTU)	CLOROFILA-a (ug.L <sup>-1</sup> )
1	315	20	5	10	15,70	0	14,88
2	315	20	10	10	18,86	0	26,12
3	315	20	15	10	46,00*	16,45*	93,90*
4	315	20	5	15	5,55	0	44,02
5	315	20	10	15	20,58	0	27,50
6	315	20	15	15	12,69	0	43,50
7	315	20	5	20	7,79	0	46,67
8	315	20	10	20	5,53	0	36,96
9	315	20	15	20	6,61	0	48,18
10	850	20	5	10	11,49	0	20,09
11	850	20	10	10	12,99	0	37,94
12	850	20	15	10	58,58*	39,70*	90,07*
13	850	20	5	15	10,17	0	74,36
14	850	20	10	15	12,05	0	36,97
15	850	20	15	15	60,51*	47,66*	92,96*
16	850	20	5	20	13,61	0	40,60
17	850	20	10	20	5,78	0	33,83
18	850	20	15	20	71,70*	62,38*	93,37*

(1) Resultados expressos em valores médios. Dentro de uma mesma coluna as médias seguidas por \* não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey à 5% de nível de significância.

Conforme mostrado na Resultados expressos em valores médios. Dentro de uma mesma coluna as médias seguidas por \* não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey à 5% de nível de significância.

, pode-se observar que houveram diferenças estatisticamente significativas com relação aos diferentes tipos de condições operadas. Dentre os tratamentos representados pelos ensaios 3, 12, 15 e 18 não foi apresentado tal diferença, com relação à eficiência de remoção de cor, turbidez e clorofila-a, por isso, dentre estes, foi escolhido o ensaio que atingiu as maiores porcentagens de remoções, sendo o ensaio 18 o responsável por atingir remoções de 71,7% para cor, 62,4% para turbidez e 93,4% para clorofila-a, e teve suas condições de operação de GMR (850 s<sup>-1</sup>), TMR (20 s), GML (15 s<sup>-1</sup>) e TML (20 min), ditas como ótimas para o processo de coagulação/floculação utilizando pó integral da semente de *Moringa*.

O resultado do alto valor de gradiente de mistura rápida (850 s<sup>-1</sup>) obtido neste estudo, referindo-se a etapa de coagulação, possivelmente está relacionado com o

coagulante em pó de Moringa, que necessita de maior agitação para interação com as células de *A. flos-aquae* durante o processo.

Conforme destacam, Centurione Filho e Di Bernardo (2003), em unidades de tratamento de água, o valor de GMR que otimiza o processo pode variar de 200 a 2.000  $s^{-1}$ , enquanto TMR pode apresentar valores inferiores a 1 s para unidades hidráulicas e até 30 s para unidades mecanizadas. Da mesma forma, o gradiente de mistura lenta (GML) pode variar entre 10 e 60  $s^{-1}$  e o tempo de mistura lenta (TML) entre 10 e 40 min. Sendo assim, os resultados considerados ótimos no processo de coagulação/floculação obtidos neste estudo, vão de encontro com as condições recomendadas e se mostram eficientes principalmente na remoção de células de microalgas, obtendo um valor residual de 9,87  $\mu g.L^{-1}$ , 11,29 uT para turbidez e 63,39 uH para cor, conforme mostrado na Tabela .

Tabela 7 - Valores residuais dos ensaios de C/F obtidos para as condições de operações estudadas

ENSAIO	GMR (rpm)	TMR (s)	GML (rpm)	TML (min)	FLOTAÇÃO POR AR DISSOLVIDO P=400 Kpa T=8 min V=10 cm/min R=20%		
					RESIDUAIS		
					COR (uH)	TURBIDEZ (NTU)	CLOROFILA- A ( $\mu g.L^{-1}$ )
1	310	20	20	10	188,83	35,60	126,83
2	310	20	30	10	181,74	43,24	110,09
3	310	20	40	10	120,96	25,06	9,09
4	310	20	20	15	211,58	52,26	83,41
5	310	20	30	15	177,89	45,10	108,03
6	310	20	40	15	195,58	48,66	84,19
7	310	20	20	20	206,55	39,93	79,47
8	310	20	30	20	211,62	15,10	93,92
9	310	20	40	20	209,19	37,47	77,21
10	600	20	20	10	198,26	41,23	119,07
11	600	20	30	10	194,91	39,27	92,47
12	600	20	40	10	92,78	18,09	14,80
13	600	20	20	15	201,22	38,93	38,20
14	600	20	30	15	197,01	37,52	93,91
15	600	20	40	15	88,45	15,70	10,48
16	600	20	20	20	193,50	40,11	88,50
17	600	20	30	20	211,06	48,29	98,59
18	600	20	40	20	63,39	11,29	9,87

Moruzzi e Reali (2008), visando obter as melhores condições de coagulação e floculação para a FAD no tratamento de água contendo cor moderada e baixa turbidez,



sem presença de algas, obtiveram como condições adequadas de floculação, gradiente médio de 50 e 90  $s^{-1}$  e tempo de floculação de 8 minutos.

Valade et al. (1996) concluíram em seus estudos que as condições de operação adotadas para a floculação (GML de 30 e 70  $s^{-1}$  e TML de 5 e 20 minutos) tiveram apenas um leve efeito sobre o desempenho da FAD, e que menores valores de turbidez e contagem de partículas podem ser obtidas para tempos de floculação tão baixos quanto 5 minutos e gradientes de velocidade elevados.

Lacerda, Marques e Brandão (1997) avaliaram a influência do pH e do tempo de floculação sobre a FAD para o tratamento de águas com baixa turbidez e presença de algas e obtiveram diferentes valores ótimos de GML e TML, dados em função do pH testado, em que o aumento do pH induziu a um aumento no tempo de floculação.

Jiang et al. (1993) visando remover *Anabaena flos-aquae* numa densidade de  $2 \times 10^5$  cel.mL<sup>-1</sup>, utilizou como coagulante 11,2 mg.L<sup>-1</sup> de Fe ( $Fe_2(SO_4)_3$ ) nas seguintes condições de operação: GMR (300  $s^{-1}$ ) durante TMR (2 min), GML (12  $s^{-1}$ ) durante TML (25 min) e atingiu uma remoção de 74% de células. No presente trabalho, embora tenham sido utilizadas condições de operações diferentes, as remoções de células, representadas pelo parâmetro de chlorofila-a foram mais eficientes, em torno de 90%, provavelmente relacionadas à *Moringa oleifera* como coagulante.

Nishi et al. (2011), utilizando 250 mg.L<sup>-1</sup> de solução de *Moringa oleifera* 1% para a remoção de *Mycrocystis protocystis* numa turbidez inicial de 250 NTU equivalente a uma densidade de  $1 \times 10^6$  céls.mL<sup>-1</sup>, durante o processo de coagulação/floculação nas condições de operação de 170  $s^{-1}$  para gradiente de mistura rápida durante 3 min, para gradiente de mistura lenta utilizando-se 6  $s^{-1}$  durante 15 min, e atingiu resultados satisfatórios com cerca de 90% de remoção de células. Pode-se observar que este trabalho também utilizou *Moringa oleifera* como coagulante de microalgas em condições de operações diferentes das utilizadas no presente estudo, porém deve-se considerar, a utilização do processo de FAD como etapa subsequente, que certamente também influenciou as condições ideais na coagulação/floculação. No entanto, conforme citado por Teixeira e Rosa (2006), alguns autores discordam sobre a eficiência de remoção de flocos muito pequenos no processo de coagulação/floculação/FAD. A obtenção de diferentes valores de GML e TML nos estudos mencionados e em outros encontrados na literatura, leva em consideração, como fator determinante, a eficiência da unidade de mistura rápida, influenciada por uma série

de fatores como a qualidade da água bruta, tipo e concentração de coagulante utilizado, pH de coagulação, gradiente e tempo de mistura rápida adotados, entre outros fatores.

Deve-se considerar também que diferentes performances no processo de coagulação/floculação para remoção de cianobactérias pode ser explicado além da utilização de diferentes tipos de coagulantes, também pela escolha da espécie e densidade das células, assim como sua morfologia (BERNHARDT e CLASEN, 1991).

#### **5.4 Otimização do processo de flotação por ar dissolvido**

Apesar do coagulante *Moringa oleifera* proporcionar uma boa clarificação da água bruta, os flocos formados são leves e de difícil sedimentação, necessitando de um tempo de uma hora, que é considerado muito longo para uma estação de tratamento (ALO, ANYIM e ELOM, 2012), além dos flocos das microalgas também apresentarem tal tendência (CAMACHO, 2012). Desta forma, a FAD associada à *Moringa oleifera*, torna-se um processo viável para a remoção de microalgas da água.

Nesta etapa pode-se observar que assim como no item anterior (5.2), após a análise de variância (ANOVA) com 95% de nível de confiança, os resultados obtiveram um p-valor  $< 0,001$ , para os parâmetros cor aparente, turbidez e clorofila-a, demonstrando haver diferenças significativas em relação às condições de operação do processo de flotação por ar dissolvido, tornando-se necessário utilizar um teste de comparação de médias, tipo Tukey, para verificar quais as diferenças encontradas (Apêncices d, e, f)

Utilizou-se as condições de operação ótimas encontradas na etapa anterior de coagulação/floculação e variou-se os parâmetros de flotação por ar dissolvido, tais como, pressão e tempo de saturação, taxa de recirculação e velocidade de flotação. A média das eficiências de remoção dos parâmetros cor aparente, turbidez e clorofila-a, considerando-se todos os ensaios de otimização das condições de operação na etapa de flotação por ar dissolvido, estão demonstrados na Tabela 8.

As figuras 18, 19, 20 também permitem avaliar os ensaios de FAD realizados na etapa de otimização das condições de operação dos parâmetros do processo. Assim, foram observados resultados satisfatórios na remoção dos parâmetros cor, turbidez e clorofila-a, conforme aponta o ensaio 24, em que foram atingidas as melhores porcentagens de remoção, com valores em torno de 80, 77 e 95% para cor, turbidez e

clorofila-a, respectivamente. As condições de operação ótimas foram: pressão de 600 kPa, tempo de saturação de 4 minutos, taxa de recirculação de 30% e velocidade de flotação de 10 cm.min<sup>-1</sup>.

Tabela 8. Eficiência de remoção dos parâmetros avaliados, utilizando 0,5 g.L<sup>-1</sup> de *Moringa oleifera*

ENSAIO	P (kPa)	T (min)	V (cm.min <sup>-1</sup> )	R (%)	COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO		
					GMR=850 s <sup>-1</sup> TMR= 20 s		
					GML= 15 s <sup>-1</sup> TML= 20 min		
					RESIDUAIS		
					COR (uH)	TURBIDEZ (NTU)	CLOROFILA -A (ug.L <sup>-1</sup> )
1	400	8	10	10	31.52	-5.48	83.27
2	500	8	10	10	37.27	9.59	83.45
3	600	8	10	10	34.04	3.97	88.91
4	400	4	10	10	31.21	-9.45	77.03
5	500	4	10	10	35.93	-21.74	79.73
6	600	4	10	10	31.80	-7.53	84.32
7	400	12	10	10	23.80	-26.92	81.67
8	500	12	10	10	23.66	-12.98	81.90
9	600	12	10	10	34.49	-7.05	84.39
10	400	8	10	20	-0.49	-48.21	73.60
11	500	8	10	20	-1.58	-60.71	69.10
12	600	8	10	20	0.12	-51.79	53.37
13	400	4	10	20	40.23	24.14	81.86
14	500	4	10	20	38.48	28.00	82.09
15	600	4	10	20	43.63	34.14	85.35
16	400	12	10	20	44.97	32.67	82.00
17	500	12	10	20	48.59	39.91	82.73
18	600	12	10	20	47.97	38.64	88.00
19	400	8	10	30	55.15	47.92	78.34
20	500	8	10	30	57.38	51.04	86.18
21	600	8	10	30	54.85	52.52	92.86
22	400	4	10	30	64.93	62.04	83.52
23	500	4	10	30	68.92	64.97	84.52
24	600	4	10	30	79.94	76.36	95.81
25	400	12	10	30	60.75	58.00	81.35
26	500	12	10	30	62.97	61.00	83.68
27	600	12	10	30	65.10	63.29	80.83
28	400	8	20	10	45.62	37.91	57.94
29	500	8	20	10	50.30	44.43	70.29
30	600	8	20	10	51.13	48.91	81.47
31	400	4	20	10	34.56	11.89	64.88
32	500	4	20	10	44.80	34.69	80.00
33	600	4	20	10	42.45	31.27	81.22
34	400	12	20	10	42.59	21.26	72.69

35	500	12	20	10	46.80	41.35	76.68
----	-----	----	----	----	-------	-------	-------

Tabela 8. Eficiência de remoção dos parâmetros avaliados, utilizando 0,5 g.L<sup>-1</sup> de *Moringa oleifera*

Ensaio	P (kPa)	T (min)	V (cm.min <sup>-1</sup> )	R (%)	COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO		
					GMR=850 s <sup>-1</sup> TMR= 20 s GML= 15 s <sup>-1</sup> TML= 20 min		
					RESIDUAIS		
					TURBIDEZ (NTU)	CLOROFILA- A (ug.L <sup>-1</sup> )	
					COR (uH)		
37	400	8	20	10	53.71	40.77	83.58
38	500	8	20	10	55.16	59.67	81.19
39	600	8	20	20	55.40	48.81	90.00
40	400	4	20	20	48.46	13.46	75.45
41	500	4	20	20	39.21	0.96	80.87
42	600	4	20	20	44.86	19.23	81.23
43	400	12	20	20	13.44	-70.82	64.08
44	500	12	20	20	25.09	-52.90	68.10
45	600	12	20	20	43.73	-0.68	86.21
46	400	8	20	30	43.27	21.77	79.82
47	500	8	20	30	47.76	23.97	81.25
48	600	8	20	30	48.16	28.08	83.93
49	400	4	20	30	40.19	9.85	77.50
50	500	4	20	30	45.28	25.38	83.93
51	600	4	20	30	51.13	43.38	76.43
52	400	12	20	30	46.06	43.99	70.94
53	500	12	20	30	44.80	42.88	90.61
54	600	12	20	30	46.95	42.09	92.24

Figura 18 - Eficiências de remoção (%) obtidas para o parâmetro cor para o processo de FAD

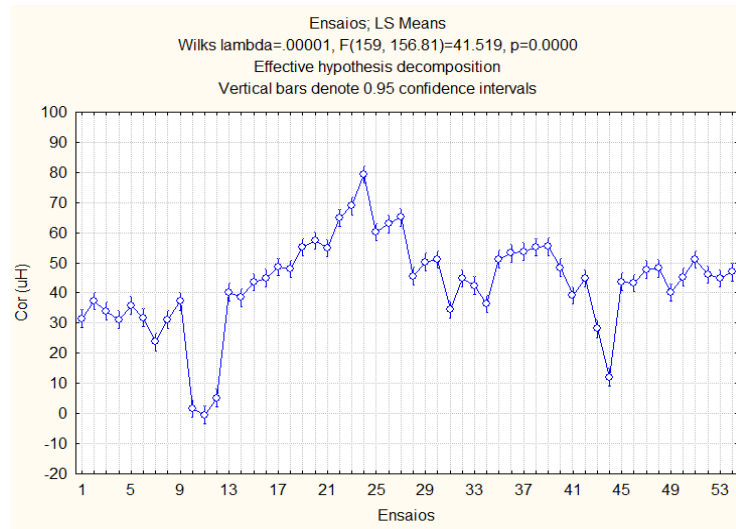


Figura 19 - Eficiências de remoção (%) obtidas para o parâmetro turbidez para o processo de FAD

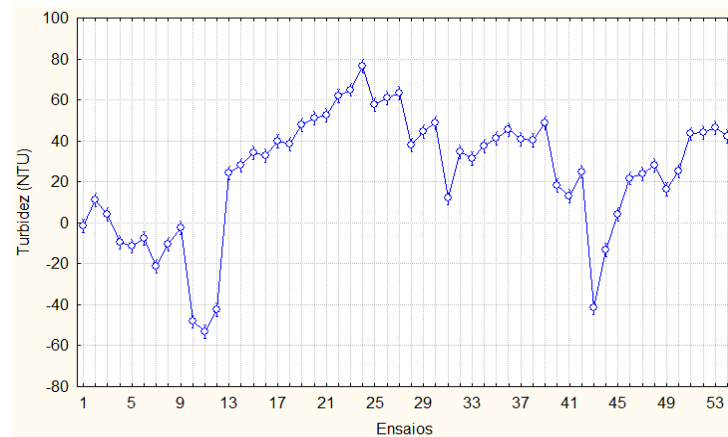
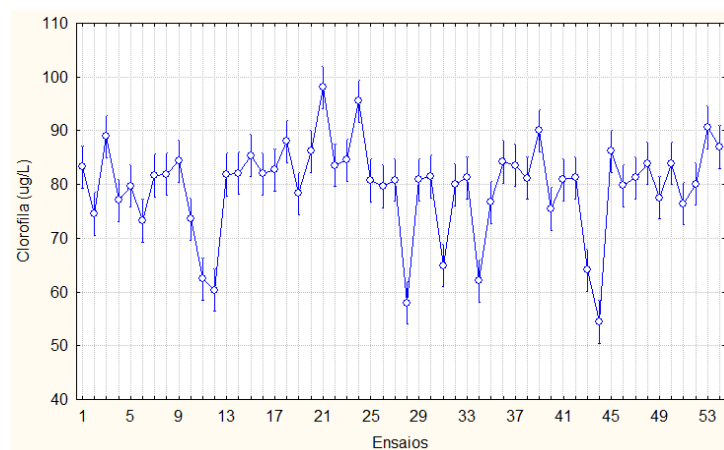


Figura 20 - Eficiências de remoção (%) obtidas para o parâmetro clorofila-a para o processo de FAD



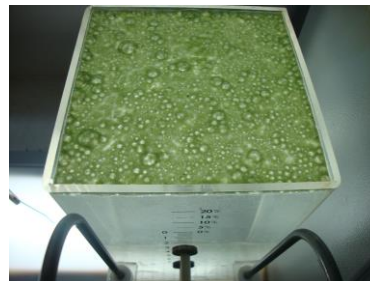
Coral (2009), utilizando uma cianobactéria filamentosa com a FAD nas condições adotadas de pressão de saturação de 400 kPa, tempo de saturação de 8 minutos, taxa de recirculação igual a 10% e velocidade de flotação de 5 cm.min<sup>-1</sup>, obteve resultados satisfatório com o coagulante policloreto de alumínio (PAC) para a remoção de células da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii*, com uma remoção de 97,5% das células e uma redução da turbidez de 74%. Porém, as concentrações de alumínio residual na água ficaram acima do permitido pela legislação. Dessa forma ressalta-se o uso de coagulante naturais, mais especificamente, a *Moringa oleífera*.

A injeção de ar no sistema de FAD tem como objetivo, promover a formação de uma espécie de “rede” que permite a ascensão dos flocos para a superfície. Durante a realização dos ensaios experimentais, verificou-se uma estabilidade neste “suporte”, tendo-se, a presença de bolhas visíveis na manta de material flotado. Na Figura 21, pode ser visualizada a manta de flotado formado após o processo de C/F/FAD.

Figura 21 - Indicação da formação da manta de material flotado (a), visão do material flotado (b).



(a)



(b)

Fonte (AUTOR)

Segundo Férís e Rubio (1999), as pressões de saturação operacional variam normalmente de 300 a 600 kPa e esta condição é responsável, no entanto, por aproximadamente 50% do total dos custos de energia operacional. Com isso a pressão

de saturação estabelecida neste estudo que foi de 600 kPa, por apenas 4 min, se encontra favorável para um menor gasto de energia pela ETA.

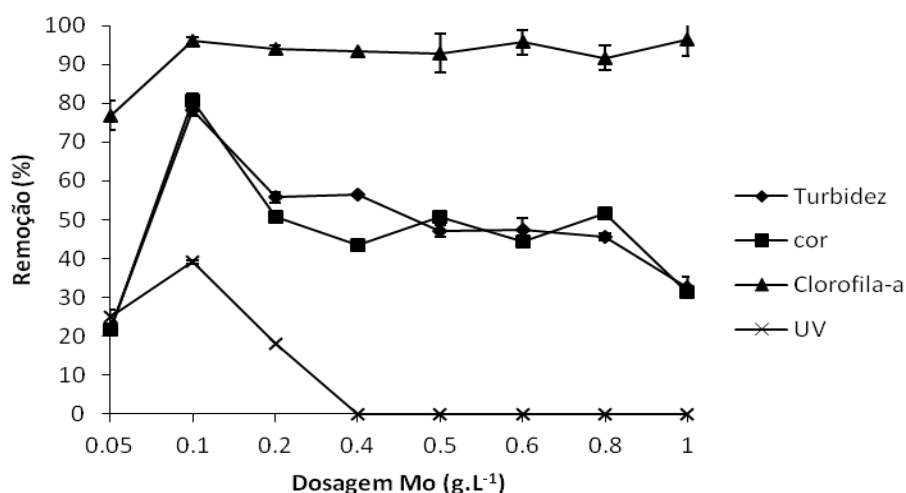
Centurione Filho e Di Bernardo (2003), avaliando parâmetros de projeto para a remoção de algas numa densidade  $1 \times 10^5$  indivíduos por litro, por flotação por ar dissolvido, tiveram excelentes resultados de remoção de partículas menores que  $8 \mu\text{m}$  compostas principalmente por espécies de *Aulacoseira* (99,3%), cor (96%) e turbidez (90%), utilizando  $50 \text{ mg.L}^{-1}$  de alumínio, nas condições de operação de  $\text{TMR} = 10 \text{ s}$ ,  $\text{GMR} = 1200 \text{ s}^{-1}$ ,  $\text{GF} = 20 \text{ s}^{-1}$ ,  $\text{TF} = 10 \text{ minutos}$ ,  $\text{T}_{\text{sat}} = 8 \text{ min}$ ,  $\text{P} = 400 \text{ kPa}$ ,  $\text{R} = 15 \%$  e  $v = 15 \text{ cm.min}^{-1}$ , que foram próximas das condições ótimas obtidas no presente estudo. Dessa forma, pode-se enfatizar a eficiência do coagulante em pó de *Moringa oleifera* em comparação ao sulfato de alumínio.

### 5.5 Determinação da dosagem ótima do coagulante

Estabelecidas as condições de operações ótimas do processo de C/F/FAD variou-se as dosagens de pó integral de *Moringa oleifera* para determinar a dosagem ideal para ambas as espécies estudadas.

Avaliando-se os resultados obtidos (Figura 22), pode-se observar através das porcentagens de remoções dos parâmetros cor, turbidez, clorofila-a e compostos com absorção em  $\text{UV}_{254\text{nm}}$ , a dosagem ótima do coagulante utilizado para a espécie *A. flos-aquae*.

Figura 22 - Porcentagem de remoção de Cor, Turbidez, Compostos com absorção em  $\text{UV}_{254\text{nm}}$  e Clorofila-a em relação à dosagem do pó de Moringa.



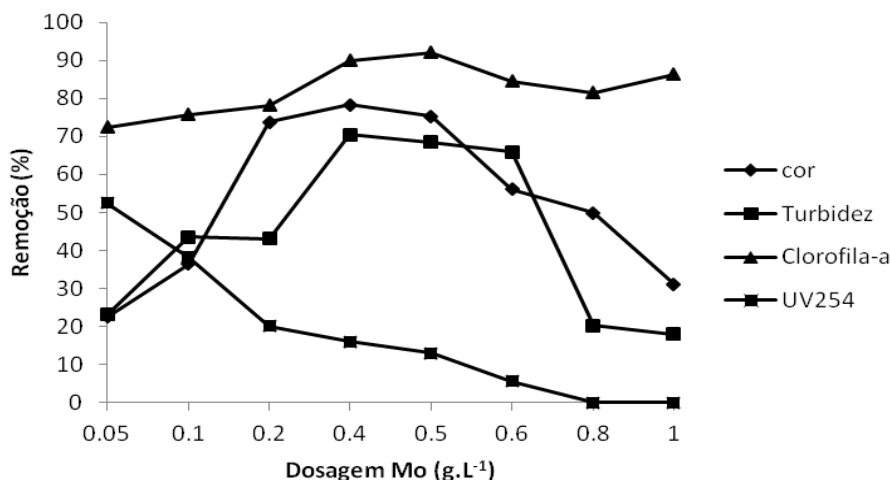
Os resultados apontam que o pó da semente da *Moringa* adicionada diretamente às suspensões celulares apresenta-se eficiente na remoção de células, cor e turbidez, chegando a atingir remoções de até 96,4, 80,5 e 78,1%, respectivamente para a dosagem de 0,1 g.L<sup>-1</sup> de pó de Moringa, a qual após análise estatística foi considerada ideal para este estudo.

Com relação à remoção de UV<sub>254nm</sub> nota-se que a *Moringa oleifera* não obteve resultados muito satisfatórios, atingindo um máximo de 39,1% de remoção na dosagem de 0,1 g.L<sup>-1</sup>. Houve uma queda na eficiência de remoção conforme aumentou-se a dosagem deste coagulante. Este resultado pode estar atribuído pelo fato da *Moringa oleifera* ser um coagulante orgânico, composto basicamente de proteínas, lipídeos e carboidratos, responsáveis pelo residual orgânico na água tratada. Este fato pode ser comprovado baseando-se em resultados de análise de COD realizados para a dosagem ótima de coagulante de 0,1 g.L<sup>-1</sup>. Para a amostra bruta da espécie de *A. flos-aquae* na densidade de 10<sup>-4</sup> foi obtido valor de 13,34 mg.L<sup>-1</sup> e após tratamento com Moringa esse valor alterou-se para 30,63 mg.L<sup>-1</sup> comprovando um aumento da carga orgânica, conforme mostrado pela Tabela 7.

Através das condições ótimas de operação obtidas com *A. flos-aquae*, avaliou-se também a dosagem ótima de *Moringa* para a espécie de *C. vulgaris* com a finalidade de verificar se a morfologia das algas interfere na eficiência de remoção dos parâmetros. Assim, os resultados demonstraram divergência com relação à dosagem ótima do coagulante. *Chlorella vulgaris*, por ser uma alga unicelular, apresentou como dosagem ótima de Moringa o valor de 0,4 g.L<sup>-1</sup>, verificado através das porcentagens de remoções dos parâmetros cor (78,34%), turbidez (70%), clorofila-a (90,5%) e compostos com absorção em UV<sub>254nm</sub> (16%) ilustrados pela Figura 23.



Figura 23 - Porcentagem de remoção de Cor, Turbidez, Compostos com absorção em UV<sub>254nm</sub> e Clorofila-a em relação à dosagem do pó de Moringa.



Bongiovani (2014) apresentou remoções de compostos de absorção em UV<sub>254nm</sub> de até 60%, à uma dosagem de *Moringa oleifera* de 50 mg.L<sup>-1</sup>. Porém, no atual trabalho, não foram obtidos resultados satisfatórios de remoção para cor, turbidez e UV<sub>254nm</sub> nesta concentração de 50 mg.L<sup>-1</sup>, este fato pode estar relacionado ao mecanismo de remoção predominante. Segundo dados de Wang et al. (2010), em uma água bruta com MON de alto peso molecular (ácidos húmicos e fúlvicos), a dosagem ótima do coagulante é esperada ser baixa, pois o mecanismo de remoção predominante é a neutralização de cargas, no entanto, se a MON consiste de substâncias de baixo peso molecular (substâncias não húmicas), o mecanismo de remoção predominante é a adsorção, em que a dosagem ótima de coagulante é bem maior.

Tabela 7 - Valores residuais após análises com a dosagem ótima de 0,1 g.L<sup>-1</sup> de *Moringa oleifera* para *A. flos-aquae* e 0,4 g.L<sup>-1</sup> de *Moringa oleifera* para *C. vulgaris*

Espécies	Cor (uH)	Turbidez (NTU)	COD		Clorofila-a (µg.L <sup>-1</sup> )	Potencial Zeta (mV)
			(mg.L <sup>-1</sup> )	UV254nm		
<i>Anabaela flos-aquae</i>	48,75	6,57	13,74	0,103	5,38	+0,7
<i>Chlorella vulgaris</i>	120,78	9,6	30,63	0,173	44,41	+0,06

Sementes de *Moringa oleifera* têm demonstrado ser um agente floculante adequado para biomassa de microalgas, atingindo uma atividade floculante comparável ao sulfato de alumínio, já que experimentos com sulfato de alumínio tiveram uma eficiência de 72% para a floculação de *Chlorella vulgaris* em 2 mg.L<sup>-1</sup>, com um tempo

de repouso de 10 min (OH et al., 2001), e com *Chlorella* sp., foi de 80% numa concentração de 8 mg.L<sup>-1</sup> em um tempo de repouso de 30 min (LIU et al. 1999). Entretanto, além da boa eficiência, as sementes de *Moringa oleifera* em comparação com o sulfato de alumínio, apresentam baixa toxicidade, não apresentam problemas de corrosão e produzem menor volume de lodo, e associado à FAD resultam em um menor tempo gasto durante o processo.

Yan e Jameson (2004) observaram que a máxima eficiência de remoção de algas ocorreu num ponto em que a carga de superfície das células de cianobactérias (*M. aeruginosa* e *Anabaena circinalis*) foi quase totalmente neutralizada, indicando que a neutralização da carga era um fator muito importante para ligação da cadeia de polímeros nas células de algas. Além disso, as células do gênero *Anabaena* (algas filamentosas) apresentam tamanhos grandes (geralmente com 4 a 8,8 um de diâmetro), o que implica alta eficiência de colisão entre a bolha de ar com as partículas obtidas na coagulação/floculação.

Ives (1959) realizou algumas pesquisas originais sobre a significância da carga na superfície das algas em relação a eficiência do processo de coagulação. Foi sugerido que o mecanismo de coagulação é uma atração mútua e neutralização de cargas das algas com o coagulante de hidróxido utilizado, carregado positivamente.

Entretanto, estudos mais recentes como o de Henderson et al. (2008), investigaram o mecanismo de floculação de *Synechocystis minuscula* (diâmetro de 6 µm), utilizando como coagulante o alumínio. E desta forma, foi determinado que em uma dosagem de 7 mg.L<sup>-1</sup> de Al em pH 5, as células começaram a se agregar em flocos. Sugeriu-se que esta agregação ocorreu devido a interação do íon catiônico de hidróxido de alumínio com a superfície da alga de acordo com o mecanismo de coagulação por adsorção com neutralização de cargas.

Amagloh e Benang (2009) afirmam que, quando o pó das sementes de *Moringa* é adicionado à água turva, as proteínas liberam cargas positivas atraindo as partículas carregadas negativamente presentes na água. E segundo dados obtidos por Bongiovani (2014) a proteína da *M. oleifera* é catiônica, pois determinando o potencial zeta da solução coagulante desta, para avaliar sua carga, foi obtido o valor de + 9,73 mV indo de encontro com alguns estudos da literatura (GHEBREMICHAEL et al., 2005; MAIKOKERA e KWAAMBWA, 2007).

Desta forma, possivelmente o mesmo mecanismo ocorreu para o presente estudo, verificado pelos valores de potencial zeta de - 2,30 mV para a amostra de *Anabaena flos-aquae* sem tratamento e +0,7 mV após o tratamento com a dosagem ótima de 0,1 g.mL<sup>-1</sup> de *Moringa oleifera*. Do mesmo modo ocorreu para *Chlorella vulgaris* que apresentou valores de potencial zeta de -9,4 mV e após tratamento com dosagem ótima de *Moringa oleifera* de 0,4 mg.L<sup>-1</sup>, apresentou valores de potencial zeta de +0.06 mV .

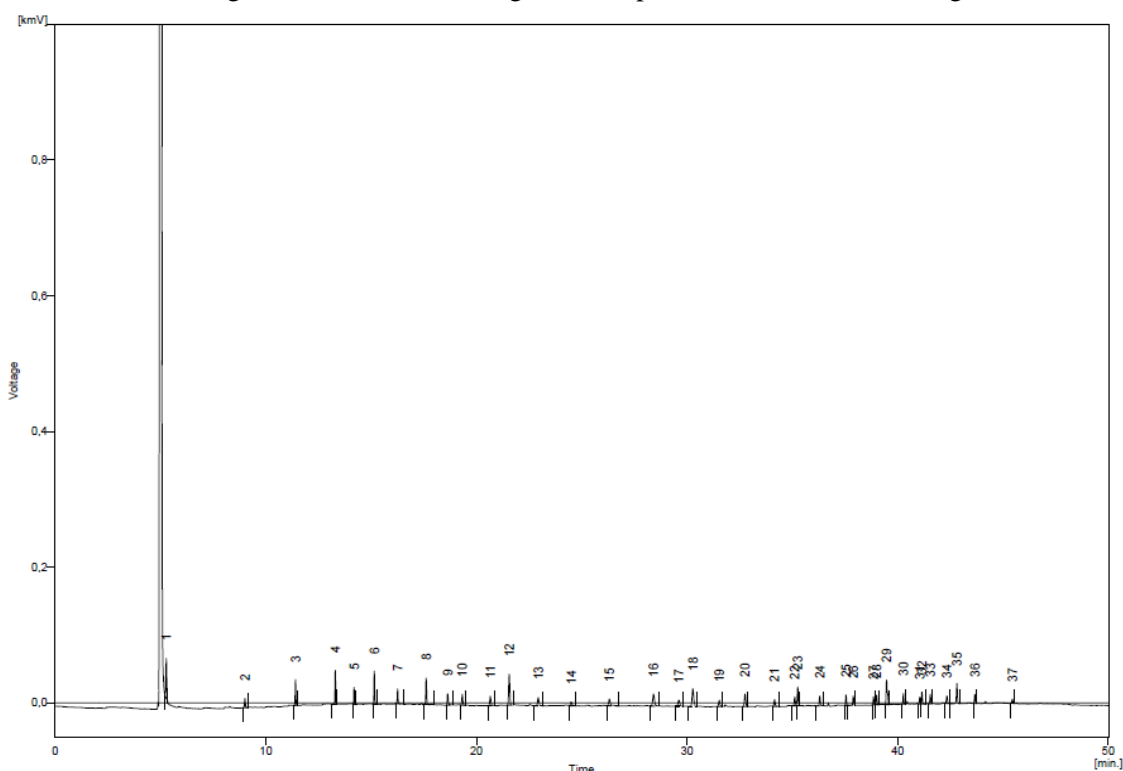
## 5.6 Determinação do perfil de ácidos graxos do lodo gerado

A análise qualitativa dos ácidos graxos presentes no lodo gerado foi feita por meio de cromatografia gasosa e onde foi determinado quais os tipos de ácidos graxos encontrados nos óleos extraídos das microalgas com e sem tratamento de *Moringa oleifera*.

A cromatografia gasosa detectou os principais ácidos graxos: C10:0, C12:0, C14:0, C15:0, C15:1n5, C16:0, C16:1, C17:0, C18:0, C18:1n9, 18:2n6, C18:3n6, C20:0, C20:1, C20:3n3, C20:3n6, C20:5n3 C21:0, C22:0, C22:2, C24:0, C24:1 sendo que estes foram identificados por comparação com os padrões cromatográfico (

Figura 24).

Figura 24 - Perfil cromatográfico do padrão analítico de ácidos graxos



O padrão interno (PI) utilizado foi o éster metílico tricosanóico 99%, C23, adquirido da Sigma-Aldrich. Este éster foi escolhido como PI por não ter sido identificado como componente da amostra de ésteres produzidos. Além disso, é um composto estável e permite a adição de uma quantidade precisa na amostra (VISENTAINER e FRANCO, 2006).

A

Figura 24, mostra o cromatograma padrão utilizado, de acordo com o tempo de retenção (minutos). Desta forma, por meio da Tabela 8, constata-se a presença dos ácidos e seus respectivos tempos de retenção:

Tabela 8 - Ácidos graxos padrão e seus respectivos tempos de retenção

Picos	Ácidos graxos	Tempo de retenção (minutos)	Picos	Ácidos graxos	Tempo de retenção (minutos)
1	C4:0	5,272			
2	C6:0	9,004	20	C18:2n6c	32,752
3	C8:0	11,404	21	C18:3n6	34,152
4	C10:0	13,296	22	C18:3n3	35,112
5	C11:0	14,188	23	C20:0	35,252
6	C12:0	15,148	24	C20:1	36,296
7	C13:0	16,256	25	C20:2	37,544
8	C14:0	17,608	26	C20:3n6	37,884
9	C14:1n5	18,632	27	C20:3n3	38,848
10	C15:0	19,324	28	C20:4n6	38,992
11	C15:1n5	20,656	29	C21:0	39,468
12	C16:0	21,552	30	C22:0	40,268
13	C16:1	22,932	31	C22:1n9	41,048
14	C17:0	24,492	32	C20:5n3	41,144
15	C17:1	26,308	33	C23:0	41,544
16	C18:0	28,404	34	C22:2	42,332
17	C18:1n9t	29,608	35	C24:0	42,806
18	C18:1n9	30,272	36	C24:01	43,656
19	C18:2n6t	31,524	37	C22:6n3	45,44

Primeiramente, foram identificados os ésteres de ácidos graxos das microalgas sem o tratamento com *Moringa oleifera*. Pode-se verificar que os ácidos graxos saturados corresponderam a 40,4% da composição de *C. vulgaris* e 35,85% de *A. flos aquae* enquanto que os insaturados apresentaram valores de 39,58% e 40,1% respectivamente. Dentre os ácidos que apresentaram maiores valores em *C. vulgaris*

destacam-se o C20:0 (ácido araquídico) com 21,15%, C18:1n9 (ácido oleico) com 18,85% seguidos do C16:0 (ácido palmítico) e do C18:2n6 (ácido linoléico) com cerca de 15% cada. Já para *A. flos aquae* as maiores porcentagens deve-se primeiramente ao C16:0 (ácido palmítico) com 30,55%, em seguida o C18:2n6 (ácido linoleico) apresentou 17% e, por fim, o C18:1n9 (ácido oleico) apresentou 7,4% da sua composição (Tabela 9).

Tabela 9 - Perfil cromatográfico das microalgas sem tratamento com *Moringa oleifera*

		% da média de Ácidos Graxos presente nas microalgas sem tratamento	
Ácidos graxos		<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Anabaena flos- aquae</i>
Saturados	<b>10:00</b>	0,2	0,25
	<b>12:00</b>	0,35	0,35
	<b>14:00</b>	0,55	0,6
	<b>15:00</b>	0,55	-
	<b>16:00</b>	15,35	30,55
	<b>17:00</b>	0,2	-
	<b>18:00</b>	1,1	2,3
	<b>20:00</b>	21,15	0,1
	<b>21:00</b>	0,2	0,25
	<b>22:00</b>	0,6	1,45
	<b>24:0</b>	0,15	-
Subtotal		40,4	35,85
Monoinsaturados	<b>16:01</b>	0,8	1,2
	<b>20:01</b>	1,45	2,15
	<b>24:1</b>	0,3	0,55
Subtotal		2,55	3,9
poli-insaturados	<b>15:1n5</b>	1	0,95
	<b>18:1n9</b>	18,85	7,4
	<b>18:2n6</b>	15,13	17
	<b>18:3n6</b>	0,95	2,35
	<b>20:3n3</b>	0,8	1,9
	<b>20:3n6</b>	0,3	-
	<b>20:5n3</b>	0,2	4
	<b>22:02</b>	-	2,6
Subtotal		37,23	36,2
Não identificados		19,8	23,95
<b>total</b>		100	100
Lipídeos totais		5%	3,05%

A *Chlorella vulgaris* apresentou teor lipídico de 5% do seu peso seco, valor superior à espécie de cianobactéria estudada (*Anabaena flos-aquae*), que foi de 3,05%, porém este resultado pode ser revertido, visto que o meio e as condições de cultivo otimizados podem potencializar as produções de lipídeo pela alga, como luz (FERNANDEZ et al., 2000), concentração de dióxido de carbono (ARAUJO e GARCIA, 2005), temperatura (RENAUD et al., 2002; COLLA et al., 2004), concentração da fonte de nitrogênio (COLLA et al., 2004), entre outros nutrientes. O valor obtido para *C. vulgaris* vai de encontro com os resultados obtidos por Radman e Costa (2008), que apresentaram concentrações de aproximadamente 5,97% de teor lipídico para a mesma alga e sob as mesmas condições de cultivo e meio BG-11.

Embora haja poucos trabalhos relatando o perfil lipídico de *Anabaena flos-aquae*, os resultados obtidos neste estudo apresentam valores próximos aos apresentados por Nichols e Wood (1967) em que apresentam C16:0 (39,5%), C16:1 (5,5%), C18:1 (5,2%) C18:2 (36,5%) como os principais ácidos graxos pertencentes da maioria da composição desta alga. Da mesma forma, Sallal e Radman (1990) analisaram a composição lipídica de *Anabaena cylindrica* sendo observado 47% de C16:0 1,7% de C16:1, 10,1% de C16:2, 8,4% de C18:1, 17,5% de C18:2 e 13,7% de C18:3, sob iluminação contínua em meio BG-11. Evidenciando que esta espécie, também pertencente ao gênero *Anabaena*, apresentou resultados próximos aos encontrados no presente estudo, quando cultivada no meio de cultivo BG-11.

Após tratamento com as dosagens ótimas de *Moringa oleifera* fez-se novamente a análise e observou-se que resultados apresentados na Tabela 11, demonstram que após o tratamento com as dosagens ótimas de coagulante, as porcentagens de lipídeos totais de cada amostra sofreu um aumento, visto pelos valores de 16,4% dos lipídeos totais para *C. vulgaris* e 6,2% para *A. flos-aquae*. Este aumento provavelmente está relacionado ao residual de coagulante no lodo, pois segundo a caracterização físico-química realizada nas sementes de *Moringa oleifera* vindas de Aracaju – SE, estas apresentam aproximadamente 37% de lipídeos na sua composição (SILVA, 2013). Sendo assim, a maioria dos ácidos graxos presentes nas amostras de ambas as espécies de microalgas foram dos ácidos graxos insaturados conforme mostra a Tabela 10.

Tabela 10 - Perfil cromatográfico das microalgas pós tratamento com *Moringa oleifera*

		% da média de Ácidos Graxos presente nas microalgas tratadas com Moringa	
Ácidos graxos		<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Anabaena flos- aquae</i>
Saturados	<b>10:00</b>	0,02	0,15
	<b>12:00</b>	0,03	0,4
	<b>14:00</b>	0,11	0,2
	<b>15:00</b>	0,03	-
	<b>16:00</b>	5,83	10,8
	<b>17:00</b>	0,1	-
	<b>18:00</b>	1,2	5,9
	<b>20:00</b>	5,4	0,2
	<b>21:00</b>	0,2	3,85
	<b>22:00</b>	0,1	0,2
	<b>24:0</b>	0,8	0,95
Subtotal		13,82	22,65
Monoinsaturados	<b>16:01</b>	0,1	1,4
	<b>20:01</b>	0,05	1,75
	<b>24:1</b>	0,03	0,1
Subtotal		0,18	1,85
poli-insaturados	<b>15:1n5</b>	1,01	1
	<b>18:1n9</b>	69,5	61,7
	<b>18:2n6</b>	0,04	0,2
	<b>18:3n6</b>	0,1	0,2
	<b>20:3n3</b>	0,1	0,25
	<b>20:3n6</b>	0,1	-
	<b>20:5n3</b>	0,25	3,4
	<b>22:02</b>	-	0,15
Subtotal		71,1	66,9
Não identificados		14,4	8,6
<b>total</b>		100	100
Lipídeos totais		16,4%	6,20%

O responsável por tal aumento foi C18:1n9 (ácido oléico) apresentando 69.5% na amostra de *C. vulgaris* contra 61.7% na amostra de *A. flos-aquae*. Estes resultados vão de encontro com os reportados por Silva et al. (2010) em que caracteriza-se o óleo extraído de *Moringa oleifera* e observa-se a presença de 78% de ácido oléico. Rashid et al (2008) também apresentou mais que 70% de ácido oléico em suas amostras de *Moringa*. Segundo ele, algumas oscilações nos valores dos ácidos graxos podem ocorrer

relacionadas com as variações das condições utilizadas pelo agricultor, tais como adubo, solo e a variedade da semente.

Segundo Qu et al. (2012), óleos com elevados valores de ácido oléico (>70%) melhoram as propriedades do biodiesel, tais como, fluxo a frio, ponto de nuvem e ponto de fluidez, desta forma, o lodo produzido após tratamento com a dosagem ótima de *Moringa oleifera*, apresentou elevados valores de ácido oléico em sua composição, dados que tornam interessante a utilização desse resíduo à uma futura produção de biodiesel.



## 6. Conclusões

Considerando os objetivos iniciais deste estudo, tendo-se como princípio a avaliação dos processos de coagulação/floculação/ flotação por ar dissolvido, utilizando a semente triturada de *Moringa oleifera* como coagulante natural, visando a remoção de *Anabaena flos-aquae* da água e realizar a caracterização lipídica do lodo produzido, algumas conclusões podem ser destacadas:

- A variação das condições operacionais da coagulação/floculação/flotação por ar dissolvido mostraram interferir na eficiência do processo como um todo, sendo que necessitou-se de um alto GMR por um pequeno período de tempo e baixo GML por um longo período de tempo, utilizando *Moringa oleifera* em pó, para a remoção das microalgas no processo de coagulação/floculação.

- As condições operacionais ideais para a flotação por ar dissolvido foram de pressão de 600 kPa, tempo de saturação de 4 minutos, taxa de recirculação de 30% e velocidade de flotação de 10 cm.min<sup>-1</sup> para obter excelentes eficiências de remoção de cor (80%), turbidez (77%) e clorofila-a (95%).

- Verificou-se que a morfologia das microalgas altera a dosagem de *Moringa* requerida para a remoção dos parâmetros cor, turbidez, clorofila-a e compostos de absorção em UV<sub>254nm</sub>, sendo que para a espécie filamentosa de *Anabaena flos-aquae* foi necessário 0,1 g.L<sup>-1</sup>, e para a espécie unicelular de *Chlorella vulgaris* foi necessário a concentração de 0,4 g.L<sup>-1</sup>.

- Pode-se concluir também que a *Moringa oleifera* apresenta uma tendência de aumentar a quantidade de matéria orgânica na água tratada, visualizada através de análises de COD e UV<sub>254nm</sub> pré e pós tratamento, porém esse fato pode ser solucionado pela integração de um tratamento terciário, por exemplo filtração por membranas, que possui capacidade de remover este residual de MON.

- Com relação a caracterização lipídica do lodo gerado pelo processo, observou-se que as microalgas apresentaram uma baixa produção de lipídeos totais por peso seco nos meios de cultura utilizados. Entretanto, verificou-se que após o tratamento com *Moringa* houve um aumento na quantidade desses lipídeos em ambas as amostras, evidenciando altos valores de ácido oléico, que é um precursor favorável para a obtenção de um biodiesel de qualidade, além de se mostrar vantajosa para o tratamento de águas com florações.

## 7. Referências Bibliográficas

ABNT NBR 10004. Associação Brasileira de Normas Técnicas. *Resíduos sólidos – Classificação* 2ª Ed. 2004.

ADLER, E., 2002, “Drinking water sludges: overview in France in 2002. In: Management of wastes from drinking water treatment”, International Conference, Organised by The Chartered Institution of Water and Environmental Management, London, September.

ALI, E. N.; MUYIBI, S. A.; SALLEH, H. M.; ALAM, M. Z.; SALLEH, M. R., 2010, “Production of natural coagulant from *Moringa oleifera* seed for application in treatment of low turbidity water”. *Journal Water Resource and Protection*, v. 2, n. 3, pp. 259-266.

ALO, M. N.; ANYIM, C.; ELOM, M., 2012, “Coagulation and antimicrobial activities of *Moringa oleifera* seed storage at 3°C temperature in turbid water”. *Advances in Applied Science Research*, v. 3, n. 2, pp. 887-894.

AMARAL, P. A. P., 2011, *Utilização da flotação por ar dissolvido associada a microfiltração para remoção de cianobactérias em água de abastecimento*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFSC, 137 p.

AMAGLOH, F. K.; BENANG, A., 2009, “Effectiveness of *Moringa oleifera* seed as coagulant for water purification”. *African Journal of Agricultural Research*, v. 4, n. 1, pp. 119-123.

ANA. Agência Nacional de Águas. *Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil: 2013*. Brasília, 2013.

ANA. Agência Nacional de Águas. *Panorama da qualidade das águas superficiais do Brasil: 2012*. Brasília, 2012.

ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V., 2008, “Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes”. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 32, n. 5, pp. 1551-1556.

ANWAR, F.; LATIF, S.; ASHRAF, M.; GILANI, A. H., 2007, “*Moringa oleifera*: a food plant with multiple bio-chemical and medicinal uses- a review”. *Phytother. Res.*, v. 21, pp. 17-25.

ARAÚJO, S.C. e GARCIA, V.M.T., 2005, “Growth and biochemical composition of the diatom *Chaetoceros* cf. *wighami* brightwell under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. Protein, carbohydrates and lipids”, *Aquaculture*, v. 246, pp. 405-412.

ASSIS, R. S. S., 2006, *Remoção de Microcystis aeruginosa e microcistinas por flotação por ar dissolvido – Estudo em escala de bancada utilizando sulfato de alumínio e cloreto férrico como coagulantes*. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, 119 p.

AZEVEDO S. M. F. O.; EVANS, W. R.; CARMICHAEL, W. W.; NAMIKOSHI, M., 1994, “First Report of Microcistins From a Brazilian Isolate of the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*”. *Journal of Applied Phycology*, n.6, pp. 261-5.

AZEVEDO S. M. F. O., 1998, “Toxinas de Cianobactérias: Causas e consequências para a Saúde Pública”. *Medicina On line*, v. 1, Ano I n. 3.

BECKER, V. YAHARA, P. YUNES, J. S. HUSZAR, V. L. M., 2010, “Ocurrence of anatoxina-a(s) during a bloom of *Anabaena crassa* in water-supply reservoir in southern Brazil”. In: *Journal of Applied Phycology*, n.22, pp. 235-241.

BERNHARDT, H. and CLASEN, J., 1991, “Flocculation of micro-organisms”, *Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua*, v. 40, pp. 76-81.

BERTOLDI, F. C.; SANT’ANNA, E.; OLIVEIRA, J. L. B., 2008, “Revisão: Biotecnologia de microalgas”. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v. 26, pp.9-20.

BINA, B.; MEHDINEJAD, M. H.; DALHAMMER, G.; RAJARAO, G.; NIKAEEN, M.; ATTAR, H. M., 2010, “Effectiveness of *Moringa oleifera* coagulant protein as natural coagulant aid in removal of turbidity and bacteria from turbid waters”. *World Academy of Science Engineering and Technology*, v. 43, pp. 618-620.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J., 1959, “A rapid method for total lipid extraction and purification”. *Can.J.Biochem.Physiol*, v. 37, pp. 911-917.

BONGIOVANI, M. C., 2014, *Estudo da minimização da formação de trihalometanos em presença de matéria orgânica natural (MON) utilizando processos alternativos de tratamento*, Tese (Doutorado em Engenharia Química), Maringá: Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, 192 p.

BORBA, L. R., 2001, *Viabilidade do uso da Moringa oleifera Lam no tratamento simplificado de água para pequenas comunidades*. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente), João Pessoa: Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, 84 p.

BOURNET E. & FLAHAULT C., 1886–1888, “Révision des Nostocacées hétérocystées”, *Ann. Sci. Not. Bot.*, 7 Ser. 3: 323–281, 4: 343–373, 5: 51–129, 7: 177–262.

BRAGA et al., 2006, “Introdução à engenharia ambiental: o desafio do desenvolvimento sustentável. 2ª ed. São Paulo: Earson.

BRANDÃO L. H. e DOMINGOS P., 2006, “Fatores Ambientais para Floração de Cianobactérias Tóxicas”. *Saúde e Ambiente em Revista*, Duque de Caxias, v.1, n. 2, pp. 40-50.

BRANDÃO, E. T. P., 2008, *Cianobactérias e saúde pública no Brasil*, Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente), Lisboa: Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Departamento de Biologia Animal, 76 p.

BRASIL, 2003, Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano. Brasília: FUNASA, 56 p.

BRASIL, 2011, Ministério da Saúde. Portaria n°. 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial, Brasília, DF, Seção 1, 39 p.

BROCK, T.D., 1973, “Lower pH limit for the existence of blue green algae: evolutionary and ecological implications”. *Science*, v. 197, pp. 480-483.

CALIJURI M. C.; ALAVES, M. S. A.; SANTOS A. A., 2006, Cianobactérias e Cianotoxinas em Águas Continentais, São Carlos, Ed. Rima, 2006, 109 p.

CAMACHO, F. P., 2012, *Processos avançados de remoção de cianobactéria e cianotoxinas no tratamento de água de abastecimento*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Maringá: Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química – UEM, PR, 145 p.

CAMACHO, F. P.; BONGIOVANI, M. C.; ARAKAWA, F. S.; SHIMABUKU, Q. L.; VIEIRA, A. M. S.; BERGAMASCO, R., 2013, “Advanced Processes of

Cyanobacteria and Cyanotoxins Removal in Supply Water Treatment”, *Chemical Engineering Transactions*, v. 32, pp. 421-426.

CAMPOS, J. R.; POVINELLI, J., 1976, Coagulação e floculação. In: AZEVEDO NETO, José Martiniano et al., Técnicas de abastecimento e tratamento de água. 2ª ed., v. 2, cap. 19, São Paulo: CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, pp. 91-97.

CARDOSO, K. C., 2007, Estudo do processo de coagulação/floculação por meio da *Moringa oleifera* Lam para obtenção de água potável. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Maringá: Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, p.

CARDOSO, K. C.; BERGAMASCO, R.; COSSICH, E. S.; MORAES, L. C. K., 2008, “Otimização dos tempos de mistura e decantação no processo de coagulação/floculação da água bruta por meio da *Moringa oleifera* Lam”. *Acta Scientiarum Technology*, v. 3, n. 2, pp. 193-198.

CARMICHAEL, W. W.; RINEHART, K. L., 1992, “Two methyl ester derivatives of microcystins, cyclic heptapeptide hepatotoxins, isolated from *Anabaena flos-aquae* strain CYA 83/1”. *Toxicon*, v.30, n. 11, pp. 1465-71.

CARMICHAEL, W. W.; BEASLEY, V. R.; BUNNER, D. L.; ELOFF, J. N.; FALCONER, I.; GORHAN, P.; HARADA, K.; KRISHNAMURTY, T.; YU, M. J.; MOORE, R. E., 1988, “Naming of cyclic heptapeptide toxins from cyanobacteria (blue-green algae)”, *Toxicon*, v. 26, pp. 971-973.

CASTRILLO, M.; LUCAS-SALAS, L. M.; RODRIGUES-GIL, C.; MARTÍNEZ, D., 2013, “High pH-induced flocculation–sedimentation and effect of supernatant reuse on growth rate and lipid productivity of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris*”, *Bioresource Technology*, v.128, pp. 324–329.

CENTURIONE FILHO, P. L.; DI BERNARDO, L., 2003, “Procedimento para execução de ensaios de flotação/filtração em equipamento de bancada,” *Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 8, n. 1, pp. 39-44.

CETESB, 2013, Manual de Cianobactérias Planctônicas: Legislações, Orientações para o Monitoramento e Aspectos Ambientais. Maria do Carmo Carvalho et al., São Paulo.

CHISTI, Y., 2004, Microalgae: our marine forests. Book reviews. IN: RICHMOND, A. (Ed). Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Oxford: Blackwell Science, 566 p.

CHISTI, Y., 2007, Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, v. 25, pp. 294-306.

CHORUS, I.; BARTRAM, J., 1999, "Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management". *London and New York: E & FN SPON*, 416 p.

COELHO, E. R. C.; REALI, M. A. P.; CAMPOS, J. R., 1991, "Emprego da flotação por ar dissolvido na clarificação de águas para abastecimento: influencia da taxa de aplicação superficial". 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, ABES, Goiânia-GO, Brasil, v. 2, pp. 215-231.

COLLA, L. M.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V., 2004, "Fatty acids profile of *Spirulina platensis* grown under different temperatures and nitrogen concentrations". *Zeitschrift für Naturforschung*, v. 59, pp. 55-59.

CONVERTI, A.; CASAZZA, A.; ORTIZ, E.; PEREGO, P.; DEL BORGHI, M., 2009, "Effect of Temperature and Nitrogen Concentration of the Growth and Lipid Content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for Biodiesel Production", *Chemical Engineering and Processing*, v. 48, pp. 1146-1151.

CORAL, L. A., 2009, *Remoção de cianobactérias e cianotoxinas em águas de abastecimento pela associação de flotação por ar dissolvido e nanofiltração*, Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 210 p.

CORAL, L. A.; ZAMYADI, A.; BARBEAU, B.; BASSETTI, F.; LAPOLLI, F. R.; PRE´VOST, M., 2013, "Oxidation of *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena flos-aquae* by ozone: Impacts on cell integrity and chlorination by-product formation", *Water Research*, v. 47, pp. 2983-2994.

CORDEIRO-ARAÚJO, M. K.; OGAVA, L. E.; MOURA, A. N.; PICCIN-SANTOS, V.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C., 2010, "Cianobactérias planctônicas de reservatórios do oeste paulista, Brasil: Condições naturais versus controladas". *Rev. Bras. Eng. Pesca*, v. 5, n. 3, pp. 74-88.

CORNWELL, D.A.; MUTTER, R.N.; VANDERMEYDEN, C., 2000, “Commercial Application and Marketing of Water Plant Residuals”, Denver: American Water Works Association.

DA SILVA, F. J. A.; DE SOUZA, L. M. M.; MAGALHÃES, S. N., 2003, “Uso potencial de biopolímeros de origem vegetal na descolorização de efluente têxtil indigo”, In: 22º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Joinville, SC.

DA SILVA, J. P.; SERRA, T. M.; GOSSMANN, M.; WOLF, C. R.; MENEGHETTI, M. R.; MENEGHETTI, S. M., 2010, “Moringa oleifera oil: Studies of characterization and biodiesel production”, *Biomass and bioenergy*, v. 34, n. 10, pp. 1527-1530.

DE RIJK, S. E.; VAN DER GRAFF, J. H. J. M.; DEN BLANKEN, J. G., 1994, “Bubble size in flotation thickening.” *Water Research*, v. 28, n. 2, pp. 465-473.

DI BERNARDO, L., 1993, Métodos e Técnica de Tratamento de água, v., ABES, Rio de Janeiro, Brasil, 481 p.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B., 2005, Métodos e técnicas de tratamento de água. 2ª ed., v. 1. São Carlos: RiMa.

DI BERNARDO, L.; SCALIZE, P. S.; SOUZA, F. A. G., 1999, Água de lavagem de filtros rápidos. In: Reali, M. P. coord. Noções gerais de tratamento e disposição final de lodos de estações de tratamento de água. ABES, Rio de Janeiro, Cap. 7, pp. 143-168.

DUBEY, D. K.; JYOTSNA, D.; KUMAR, A.; GULSAN, R. K., 2013, A multipurpose tree - *Moringa oleifera*. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*, v. 2, n. 1, pp. 415-423.

EDZWALD, J. L.; WINGLER, B. J., 1990, “Chemical and physical aspects of dissolved-air f-flotation for the removal of algae”, *Journal Water Supply: Research and Technology – Aqua*, v. 39, n.1, pp. 24-35.

EDZWALD, J. K., 1995, “Principles and Applications of Dissolved air Flotation”. *Water Science and Technology*, v. 31, n. 3-4, pp. 1-23.

ESTEVEZ, F. A., 1998, Fundamentos de limnologia. Rio de Janeiro: Interciência, 575 p.

FALCONER, I., BARTRAM, J., CHORUS, I., KUIPER-GOODMAN, T., UTKILEN, H., BURCH, M. e COOD, G. A., 1999, “Safe Levels and Safe Practices.”

In: Chorus, I. e Bartram, J. (eds.) *Toxic Cyanobacteria in Water*. E&FN Spon, Londres, pp. 155-178.

FADANELLI, L. E. A.; WIECKTECH, G. K., 2010, “Estudo da utilização do lodo de estação de tratamento da água em solo cimento para pavimentação de rodoviária.” *Revista de Engenharia e Tecnologia*, v. 2, n. 2, pp. 31-37.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A., 2008, “Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios”. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v. 11, n. 2, pp. 103-112.

FÉRIS, L.A.; RUBIO, J., 1999, “Dissolved air flotation (DAF) performance at low saturation pressures”, *Filtration & Separation*, v. 36, n. 9, pp. 61-65.

FERNANDES, L. F.; LAGOS, P. E. D., 2003, *Florações de cianobactérias e eutrofização no reservatório do Irai, Curitiba, PR. I: Sucessão sazonal do fitoplâncton*. In: Seminário do projeto interdisciplinar de pesquisa em eutrofização de águas de abastecimento público, 4, Curitiba. Livro de Resumos. Curitiba: Companhia de Saneamento do Paraná, 2003a. pp. 47-52.

FERNANDEZ, F. G. A.; PEREZ, J. A. S.; SEVILLA, J. M. F.; CAMACHO, F. G.; GRIMA, E. M., 2000, “Modeling of eicosapentaenoic acid (EPA) production from *Phaeodactylum tricornutum* cultures in tubular photobioreactors: Effects of dilution rate, tube diameter, and solar irradiance”, *Biotechnology and Bioengineering*, v. 68, pp. 173-183.

FERREIRA, A. H. F.; MINILLO, A.; SILVA, L. M.; YUNES, J. S., 2004, “Ocorrência de *Anabaena spiroides* (cianobactéria) no estuário da lagoa dos Patos (RS, Brasil) no verão”. *Atlântica, Rio Grande*, v. 26, n. único, pp. 17-26.

FERREIRA, S. P.; SOUZA-SOARES, L.; COSTA, J. A. V., 2013, “Revisão: microalgas: uma fonte alternativa na obtenção de ácidos gordos essenciais”. *Rev. de Ciências Agrárias*, Lisboa, v. 36, n. 3, pp. 275-287.

FRANCO, E. S., 2009, *Avaliação da influência dos coagulantes sulfato de alumínio e cloreto férrico na remoção de turbidez e cor da água bruta e sua relação com sólidos na geração de lodo em estações de tratamento de água*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Ouro Preto: Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, 187 p.

GARCÍA-FAYOS, B.; ARNAL, J. M., VERDÚ, G., RODRIGO, I., 2010, “Purification of a natural coagulant extracted from *Moringa oleifera* seeds: isolation and



characterisation of the active compound”. Paper presented at international conference on food innovation. Spain: Universidad Politecnica de Valencia.

GASSENSCHMIDT, U.; JANY, K. D.; TAUSCHER, B.; NIEBERGALL, H., 1995, Isolation and characterization of a flocculating protein from *Moringa oleifera* Lam. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1243, n. 3, pp. 477-481,

GEIDER, R. J.; OSBORNE, B. A., 1989, “Respiration and microalgal growth: a review of the quantitative relationship between dark respiration and growth”. *New Phytologist*, vol.112, pp. 327-341.

GHEBREMICHAEL, K. A., GUNARATNA, K. R., HENRIKSSON, H., BRUMER, H., DALHAMMAR, G., 2005, “A simple purification and activity assay of the coagulant protein from *Moringa oleifera* seed”, *Water Research*, v. 39, pp. 2338-2344.

GIRALDEZ-RUIZ, N.; BONILLA, I. & FERNANDEZ-PIÑAS, F. 1999. “Role of external calcium in homeostasis of intracellular pH in the cyanobacterium *Anabaena* sp. Strain PCC7120 exposed to low pH”. *New Phytologist*, v. 141, pp. 225-230.

GONG, Y.; JIANG, M., 2011, “Biodiesel Production with Microalgae as Feedstock: from Strains to Biodiesel”, *Biotechnology Letters*, v. 33, pp. 1269-1284.

GOCHIN, R. J.; SOLARI, J., 1983, “The role of hydrophobicity in dissolved air flotation.” *Water Research*, v. 17, n. 6, pp. 651-657.

GORHAM, P. R.; MACLAHLAN, J. R.; HAMMER, V. T.; KIM, W. K., 1964, “Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos aquae* (Lyngb.) Breb. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie*, Stuttgart, v. 15, pp. 796-804.

GOLTERMAN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAND, M. A., 1978, “Methods for physical and chemical analysis of fresh water”. *Oxford: Blackwell*, 213 p.

GREENWELL, H. C.; LAURENS, L. M. L.; SHIELDS, R. J.; LOVITT, R. W.; FLYNN, K. J., 2010, “Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges”. *Journal of the Royal Society Interface*, vol.7, pp.703-726.

GREGORY, R. e ZABEL, T. F. Sedimentation and flotation, 1990, In: Pontius, F. W. (ed) *Water Quality and Treatment: A Handbook of Community Water Supplies*. 4a. edição. American Water Works Association. MacGraw-Hill, Inc., E. U. A. pp. 367-454.

GURR, M. I.; HARWOOD, J. L. e FRAYN, K. N., 2002, *Lipid Biochemistry: An introduction*. 5<sup>a</sup> ed. Wiley-Blackwell, 340 p.

HARADA, K.; KIMURA, Y.; OGAWA, K.; SUZUKI, M.; DAHLEM, A. ; BEASLEY, V. R.; CARMICHAEL, W. W., 1989, "A new procedure for the analysis and purification of naturally occurring anatoxin-a from the blue-green alga *Anabaena flos-aquae*". *Toxicon*, v.27, n.12, pp. 1289-96.

HARTMANN, L; LAGO, R. C., 1973, "A Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids". *Lab. Practice*, v. 22, n.8, p. 475-476.

HENDERSON, R. K.; PARSONS, S. A.; JEFFERSON, B., 2008, "Surfactant as bubble surface modifiers in the flotation of algae: dissolved air flotation that utilizes a chemically modified bubble surface", *Environmental Science Technology*, pp. 4883–4888.

HELLER, L; PÁDUA, V. L., 2006, *Abastecimento de água para o consumo humano*. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2006.

HIMBERG, K., 1989, "Determination of anatoxin-a, the neurotoxin of *Anabaena flos-aquae* cyanobacterium, in algae and water by gas chromatography-mass spectrometry", *J Chromatog A*, n. 481, pp. 358-62.

HITZFELD, B. C.; HOGER, S. J.; DIETRICH, D. R., 2000, "Cyanobacterial toxin: removal during drinking water treatment, and human risk assessment". *Environmental Health Perspectives*, v. 108, pp. 113-122.

HOEK, C.; MANN, D. G.; JAHNS, H. M., 1997, "Algae - An introduction to phycology". *Cambridge: Cambridge University Press*, 627 p.

HUANG, J.; GRAHAM, J.; TEMPLETON, M. R.; ZHANG, Y.; COLLINS, C.; NIEUWENHUIJSEN, M., 2009, "A comparison of the role of two blue-green algae in THM and HAA formation", *Water Research*, v. 43, pp. 3009 – 3018.

HUANG, G.; CHEN, F.; WEI, D.; ZHANG, X.; CHEN, G., 2010, "Biodiesel production by microalgal biotechnology". *Applied Energy*, v. 87, n. 1, pp. 38-46.

HYDE, R. A.; MILLER, D. G.; PACKMAN, R. F.; RICHARDS, W. N., 1977, "Water clarification by flotation." *Journal Water Supply: Research and Technology – Aqua*, v. 69, n. 7, pp. 369-374.

IVES, K. J., 1959, "The significance of surface electric charge on algae in water purification", *J. Biochem. Microbiol. Technol. Eng.*, v. 1, n. 1, pp. 37–47.

JAHN, S.A.A., DIRAR, H., 1979, "Studies on natural water coagulants in the Sudan, with special reference to *Moringa oleifera* seeds", *Water SA*, v. 5, n. 2, pp. 90–97.

JAHN S. A. A., 1988, "Using *Moringa* seeds as coagulants in developing countries", *Journal of American Water Works Association*, v. 80, pp. 43–50.

JAHN, S. A. A., 1989, Monitored water coagulation with *Moringa* seeds in village households. GTZ: Gate, Germany, v. 1, n. 89, pp. 40-41.

JANSSENS, J. G.; BUEKENS, A. 1993, "Assessment of process selection for particle removal in surface water treatment." *Journal Water Supply: Research and Technology – Aqua*, v. 42, n. 5, pp. 279-288.

JIANG, J.; GRAHAM, N. J.; HARWARD, C., 1993, "Comparison of Polyferric sulphate with other coagulants for the removal of algae and algae-derived organic matter". *Water Science and Technology*, v. 27, n. 11, pp. 221-230.

JOSHUA, R.; VASU, V., 2013, "Characteristics of stored rain water and its treatment technology using *Moringa* seeds". *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, India, v. 2, n. 1, pp. 154-175.

KAWAMURA, S., 2000, "Design of basic treatment process units". In: John Wiley e Sons, Inc. (eds.) *Integrated design and Operation of Water treatment Facilities*. 2<sup>a</sup> ed., E. U. A., pp. 59-342.

KLOK, A., 2010, Optimization of lipid production in microalgae, Wageningen University.

KOMÁRKOVÁ-LEGNEROVÁ, J. & ELORANTA, P., 1992, "Planktic blue-green algae (Cyanophyta) from Central Finland (Jyväskylä region) with special reference to the genus *Anabaena*". *Algological Studies*, v. 67, pp. 103-133.

LACERDA, M.; MARQUES, S. F. S.; BRANDÃO, C. C. S., 1997, "A influência do Ph de coagulação e do tempo de floculação na flotação por ar dissolvido de águas de baixa turbidez e com presença de algas. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Foz do Iguaçu - PR. Anais do XIX Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Foz do Iguaçu - PR: ABES.

LAPOLLI, F. R.; CORAL, L. A.; RECIA, M. A. L., 2011, "Cianobactérias em Mananciais de Abastecimento – Problemática e Métodos de Remoção", *Revista DAE*, n. 185, pp. 10-17.

LEE, R. E., 1999, *Phycology*. Inglaterra: Cambridge University Press, 614 p.

LIBÂNIO, M., 2005, Fundamentos de qualidade e tratamento de água. Campinas: Editora Átomo.

LIU, J. C.; CHEN, Y. M.; JU, Y-H., 1999, “Separation of algal cells from water by column flotation”, *Separ Sci Technol*, v. 34, pp. 2259–2272.

LOBATO, S. J. M., REALI, M. A. P., FAITANIN, I., 1995, O sucesso do emprego da flotação por ar dissolvido no pré-tratamento da água bruta da ETA Meaípe-ES. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, Salvador. Anais. Disco 5/9. Salvador, ABES.

LONGHURST, S. J.; GRAHAM, N. J. D., 1989, “Dissolved air flotation for potable water treatment: a survey of operational units in Great Britain.” *The public health Engineer*, v. 14, n. 6, pp. 71-76.

LUND, J. W. G., KIPLING, C., LE-CREN, E. D., 1958, “The inverted microscope method of estimating algal number and the statistical basis of estimations by counting”. *Hydrobiolog.*, v. 11, n. 2, pp. 143-170.

LÜRLING, M., & BEEKMAN W., 2010, “Anti-cyanobacterial activity of *Moringa oleifera* seeds”. *J Appl Phycol.*, v.22, n. 4, pp. 503-510.

MACÊDO, J. A. B., 2004, Águas e Águas. Belo Horizonte: CRQ-MG. 977 p.

MADRONA, G. S.; SERPELLONI, G. B.; SALCEDO, A. M.; NISHI, L.; CARDOSO, K. C.; BERGAMASCO, R., 2010, “Study of the effect of saline solution on the extraction of the *Moringa oleifera* seeds active component for water treatment”. *Water, Air & Soil Pollution*, v. 211, n. 1-4, pp. 409-415.

MADRONA, G. S., 2010, *Extração/purificação do composto ativo da semente da Moringa oleifera Lam e sua utilização no tratamento de água para consumo humano*. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Maringá: Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, 176 p.

MAHMOOD, N. A.; CARMICHAEL, W. W., 1987, “Anatoxin-a(s), an anticholinesterase from the cyanobacterium *Anabaena flos-aquae* NRC-525-17”, *Toxicon*, v. 25, n. 11, pp.1221-7.

MAIKOKERA, R.; KWAAMBWA, H. M., 2007, “Interfacial properties and fluorescence of a coagulating protein extracted from *Moringa oleifera* seeds and its interaction with sodium dodecyl sulphate”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 55, pp. 173-178.

MANGALE SAPANA M., CHONDE SONAL G. and RAUT P.D., 2012, "Use of *Moringa oleifera* (Drumstick) seed as natural absorbent and an antimicrobial agent for ground water treatment", *Research Journal of Recent Sciences*, v. 1, n. 3, pp. 31-40.

MATA, T. M.; Martins, A. A.; CAETANO, N. S., 2010, "Microalgae for biodiesel production and other applications: A review", *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.14, pp. 217-232.

MENDES, M. C. Q.; GONZALEZ, A. A. C.; MENEZEZ, M.; NUNES, J. M. C.; PEREIRA, S.; NASCIMENTO, I., 2012, "A. Coleção de microalgas de ambientes ulciaquícolas naturais da Bahia, Brasil, como potencial fonte para a produção de biocombustíveis: uma abordagem taxonômica", *Acta Botanica Brasilica*, v. 26, n. 3, pp. 691-696.

MENG, X.; YANG, J.; XU, X.; ZHANG, L.; NIE, Q.; XIAN, M., 2009, "Biodiesel production from oleaginous microorganisms". *Renewable Energy*, v. 34, n. 1, pp. 1-5.

METCALF & EDDY, 1991, *Wastewater Engineering; Treatment, Reuse and Disposal*. McGraw-Hill Book Co, Singapura, 1333 p.

MHAISALKAR, V. A.; PARAMASIVAM, R.; BHOLE, A. G., 1991, "Optimizing physical parameters of rapid mix desing for coagulation-floculation of turbid waters". *War. Res.* v. 25, n. I, pp. 43-52.

MONTERO, M. F.; ARISTIZÁBAL, M.; REINA, G.G., 2011, "Isolation of High-Lipid Content Strains of the Marine Microalgae *Tetraselmis suecica* for Biodiesel production by Flow Cytometry and Single-Cell Sorting", *Journal of Applied Phycology*, v. 23, pp. 1053-1057.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V., 2008, "Perfil de ácidos graxos de microalgas cultivadas com dióxido de carbono", *Ciência e Agrotecnologia*, v. 32, n.4, pp. 1245-1251.

MORUZZI, R. B.; REALI, M. A. P., 2008, "Investigação da coagulação e floculação adequadas para a FAD no tratamento de água com cor aparente moderada e baixa turbidez destinada ao abastecimento público", *Teoria e Prática na Engenharia Civil*, n. 11, pp. 55-66.

MUR, L. R.; SKULBERG, O. M.; UTKILEN, H., 1999, "Cyanobacteria in the Environment." In: Chorus, I. e Bartram, J. (eds.) *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. London and New York: E & FN SPON, 416 p.

NDABIGENGESERE, A., NARASIAH, K. S., 1998, "Quality of water treated by coagulation using *Moringa oleifera* seeds", *Water Research*, v. 32, n. 3, pp. 781-791.

NDABIGENGESERE, A., NARASIAH, K. S., TALBOT, B. G., 1995, "Active agents and mechanism of coagulation of turbid waters using *Moringa oleifera*", *Water Research*, v. 29, n. 2, pp. 703-710.

NELSON, D. L. e COX, M. M., 2011, *Princípios de bioquímica de Lehninger*. 5.<sup>a</sup> ed. Porto Alegre, Editora Artmed, 1304 p.

NGUYEN, M. L.; WESTERHOFF, P.; BAKER, L.; HU, Q.; ESPARZA-SOTO, M.; SOMMERFELD, M., 2005, "Characteristics and reactivity of algae-produced dissolved organic carbon". *Journal of Environmental Engineering-Asce*, v. 131, n. 11, pp. 1574–1582.

NICHOLS, B. W.; WOOD, B. J. 1968, "The occurrence and biosynthesis of gamma-linolenic acid in a blue-green alga, *Spirulina platensis*". *Lipids*, v. 3, n. 1, pp. 46-50.

NISHI, L., GUILHERME, A. L. F., VIEIRA, A. M. S., de ARAUJO, A. A., AMBROSIO-UGRÍ, M. C. B., BERGAMASCO, R., 2011, "Cyanobacteria removal by coagulation/flocculation with seeds of the natural coagulant *Moringa oleifera* Lam", *Chemical Engineering Transactions*, v. 24, pp. 1129-1134.

NKURUNZIZA, T.; NDUWAYEZU, J.B., BANADDA, E.N.; NHAPI, I., 2009, "The effect of turbidity levels and *Moringa oleifera* concentration on the effectiveness of coagulation in water treatment", *Water Science and Technology*, v. 58, n.8, pp. 1551-1558.

NWAIWU N. E.; LINGMU, B., 2011, "Studies on the effect of settling time on coliform reduction using *Moringa oleifera* seed powder". *Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation*, v. 6, n. 3, pp. 279-286.

OH, H. M.; LEE, S. J.; PARK, M. H.; KIM, H. S.; KIM, H. C.; YOON, J. H.; KWON, G.; YOON, B. D., 2001, "Arvesting of *Chlorella vulgaris* using a bioflocculant from *Paenibacillus* sp. AM49". *Biotechnol Lett.*, v. 23, pp. 1229–1234.

OKUDA, T.; BAES, A. U.; NISHIJIMA, W.; OKADA, M., 2001, "Isolation and characterization of coagulant extracted from *Moringa oleifera* seed by salt solution, *Water Research*, v. 35, n 2, pp. 405-410.

OLIVEIRA, J. M. B., 2005, *Remoção de *Cylindrospermopsis raciborskii* por meio de sedimentação e flotação: avaliação em escala de bancada*. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos), Brasília: Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília, 141 p.

ONU. Organização das Nações Unidas. Declaração “ONU Água”, dia mundial da água, 2010.

PAVANELLI, G., 2001, *Eficiência de diferentes tipos de coagulantes na coagulação, floculação e sedimentação de água com cor ou turbidez elevada*, Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento), São Carlos: Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 216 p.

PEREIRA, P. A. M., 2011, *Determinação da anatoxina-a em amostras de água por SPME-GC/MS*. Dissertação (Mestrado em Química), Braga: Área de especialização em Técnicas de Caracterização e Análise Química, Universidade do Minho, Portugal.

PEREIRA, C. M. P.; HOBUSS, C. B., MACIEL, J. V., FERREIRA, L. R., DEL PINO, FRANCISCO, B.; MESKO, M. F., JACOB-LOPES, E.; COLEPICCOLO, N., P., 2012, “Biodiesel renovável derivado de microalgas: avanços e perspectivas tecnológicas”, *Quím. Nova*, São Paulo, v. 35, n. 10, pp. 2013-2018.

PINTO-COELHO, R. M., 2005, “The Nutricional Status of Zooplankton in a Tropical Reservoir: Food Quality and Community Structure”, *Brazilian journal of biology*, São Carlos-SP. v. 65, nº 2, pp 1-13.

PINTO FILHO, A. C. T., 1999, *Avaliação do potencial da flotação por ar dissolvido como pós-tratamento para efluentes do processo de lodos ativados, de reatores UASB e de lagoas de alta taxa*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Brasília: Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília.

PRITCHARD, M.; CRAVEN, T.; MKANDAWIRE, T.; EDMONDSON, A. S.; O’NEILL, J. G., 2010, “A comparison between *Moringa oleifera* and chemical coagulants in the purification of drinking water – An alternative sustainable solution for developing countries”. *Physics and Chemistry of the Earth*, v. 35, n. 13-14, pp. 798-805.

PYLE, D. J.; GARCIA, R. A.; WEN, Z., 2008, *J. Agric. Food Chem.* v. 56, 3933 p.

QU, J.; MAO, H.; CHEN, W.; GAO, S.; BAI, Y.; SUN, Y.; GENG, Y.; YE, J., 2012, “Development of marker-free transgenic *Jatropha* plants with increased levels of seed oleic acid”, *Biotechnology for Biofuels*, v. 5, n. 10, pp. 1-10.

RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V., 2008, “Conteúdo lipídico e composição de ácidos graxos de microalgas expostas aos gases CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub> e NO”. *Química Nova*, v.31, n.7, pp. 1609-1612.

RASHID, U.; ANWAR, F.; MOSER, B. R.; KNOTHE, G., 2008, “Moringa oleifera oil: A possible source of biodiesel”, *Bioresource technology*, v. 99, n.17, pp. 8175-8179.

RAVEN et al., 2005, Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide. The Royal Society Policy Document 12/05, London.

REALI, M. A. P.; CAMPOS, J. R., 1985, “Emprego de flotação por ar dissolvido na clarificação de água para abastecimento: parte II.” *Boletim de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos – USP*, São Carlos, Brasil.

RENAUD, S. M.; THINH, L. V.; LAMBRINIDIS, G.; PARRY, D. L., 2002, “Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures”. *Aquaculture*, v. 211, pp. 195-214.

RICHMOND, A., 1990, Handbook of microalgal mass culture, Boston: CRC Press.

RICHMOND, A. (Ed.), 2003, *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Publishing, 566 p.

RICHTER, C. A., 2001, Tratamento de Lodo de Estação de Tratamento de Água. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, 101 p.

RIPPKA, R., DERUELLES, J., WATERBURY, J. W., HERDMAN, M. & STANIER, R. G., 1979, “Genetic assignments, strain histories and properties of pure cultures of Cyanobacteria”. *J. Gen. Microbiol.*, v. 111, pp. 1-61.

RODRIGUEZ, V.; MOURA, S.; PINTO, E.; PEREIRA, C. M. P.; BRAGA, R. C., 2006, “Aspectos toxicológicos e químicos da Anatoxina-ae seus análogos”, *Quím. Nova*, v. 29, n. 6, pp. 1365-1371.

SA, L. L. C.; VIEIRA, J. M. S.; MENDES, R. A.; PINHEIRO, S. C. C.; VALE, E. R.; ALVES, F. A. S.; JESUS, I. M.; SANTOS, E. C. O.; COSTA, V. B. “Ocorrência de uma floração de cianobactérias tóxicas na margem direita do Rio Tapajós, no Município de Santarém (Pará, Brasil)”, *Rev Pan-Amaz Saúde*, Ananindeua, v. 1, n. 1, pp. 159-166.



SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T., 2000, "Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria from Brazil", *Nova Hedwigia*, v. 71, pp. 359-385.

SANT'ANNA, C. L.; BRANCO, L. H. Z.; JUNIOR, W. A. G.; WERENER, V. R., 2011, "Lista de Cyanobacteria do Estado de São Paulo", *Biota Neotrop.*, Campinas, v. 11, s. 1, pp. 455-495.

SANTIAGO, L. M., 2008, *Remoção de células de cianobactérias por processos de sedimentação e flotação por ar dissolvido: avaliação em escala de bancada*. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos), Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 183 p.

SARAVANAN, A.; BRINDHA, V.; MANIMEKALAI, R.; KRISHNAN, S., 2009, "An evaluation of chromium and zinc biosorption by a sea weed (*Sargassum sp.*) under optimized conditions", *Indian Journal of Science and Technology*, v. 2, n. 1, pp. 53-56.

SCHIMITZ, R.; MAGRO, C. D.; COLLA, L. M., 2012, "Aplicações ambientais das microalgas", *Revista CIATEC*, v.4, n. 1, pp.48-60.

SIVONEN, K.; SKULBERG, O. M.; NAMIKOSHI, M.; EVANS, W. R.; HARADA, K.; OGAWA, K.; KIMURA, Y.; MURATA, H.; SUZUKI, M.; THOM, P. M.; EVANS, W. R.; CARMICHAEL, W. W., 1991, "Microcystins from *Anabaena flos-aquae* NRC 525-17", *Chem Res Toxicol*, v. 4, n. 5, pp. 535-40. Catterall, W.; *Ann. Ver. Pharmacol. Toxicol.* 1980, 20, 15.

SCRAGG, A., MORRISON, J.; SHALES, S., 2003, "The Use of a Fuel Containing *Chlorella vulgaris* in a Diesel Engine", *Enzyme and Microbial Technology*, v.33, pp. 884-889.

SCOTT, S. A.; DAVEY, M. P.; DENNIS, J. S.; HORST, I.; HOWE, C. J.; LEA-SMITH, D. J.; SMITH, A. G., 2010, "Biodiesel from algae: challenges and prospects", *Current Opinion in Biotechnology*, v. 21, n. 3, pp. 277-286.

SENGUPTA A.; GUPTA M.P., 1970, "Studies on the seed fat composition of Moringaceae family", *Fette, Seifen, Anstrichm*, v. 72, pp. 6-10.

SILVA, C. A., 2005, *Estudos aplicados ao uso da Moringa oleifera como coagulante natural para melhoria da qualidade de águas*. Dissertação (Mestrado em Química), Uberlândia: Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 84 p.

SILVA, J. P. V.; SERRA, T. M.; GOSMANN, M.; WOLF, C. R.; MENEGHETTI, M. R.; MENEGHETTI, S. M. P., 2010, Moringa oleífera oil: studies of characterization and biodiesel production. *Biomass and Bioenergy*. v. 34, p. 1527-1530.

SILVA, M. O., 2013, “Caracterização física e química da semente de *Moringa oleífera* e estudo do processo de obtenção do óleo”. Dissertação. (Mestrado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR.

SOSTARIC, M.; GOLOB, J.; BRICELJ, M.; KLINAR, D.; PIVEC, A., 2009, “Studies on the Growth of *Chlorella vulgaris* Culture Media with Different Carbon Sources”, *Chem. Biochem. Eng. Q.*, v. 23, n. 4, pp. 471–477.

SOUZA D. A., 1993, *Bacia do Ribeirão e Represa do Lobo: Bases ecológicas para o planejamento regional, manejo e conservação*. São Carlos, Tese de doutorado em Engenharia Civil, Universidade de São Paulo, 158 p.

TEXEIRA, M. M. C. G. R., 2005, *Development of flotation and nanofiltration and technologies to remove cyanobacteria and cyanotoxins in drinking water treatment*, Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologias do Ambiente, especialidade de Tecnologias do Ambiente) Faro: Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente, Universidade do Algarve, 254 p.

TEIXEIRA, M. R.; ROSA, M. J., 2006, “Neurotoxic and hepatotoxic cyanotoxins removal by nanofiltration”, *Water Research*, v. 40, pp. 2837-2846.

TEIXEIRA, C. M. L. L., KIRSTEN, F. V., TEIXEIRA, P. C. N., 2012, “Evaluation of *Moringa oleífera* seed flour as a flocculating agent for potential biodiesel producer microalgae”, *J Appl Phycol.*, n. 24, pp. 557–563.

TUNDISI, J. G., 2003a, Recursos Hídricos. Instituto Nacional de Ecologia. São Carlos-SP.

TUNDISI, J. G. 2003b, “Ciclo hidrológico e gerenciamento integrado”. *Cienc. Cult.*, v.55 n. 4, São Paulo-SP.

TUNDISI, J. G. & TUNDISI, T. M., 1992, Eutrofização de reservatórios e rios: perspectivas, estudos de casos, comparação de análises. Ficologia. Sociedade Brasileira.

TUNDISI, J. G. & TUNDISI, T. M., 2011, Recursos Hídricos do séc. XXI. São Paulo: Oficina de Textos.

UNICEF/WHO. Progress on sanitation and drinking water: 2013 update. New York, USA, 2013.

VALADE, M. T. et al., 1996, "Particle removal by flotation and filtration: pretreatment effects", *Journal Am. Water Works Assoc.*, v. 88, n. 12, pp.35-47.

VALVERDE, K. C., 2014, "Avaliação do processo de tratamento de água utilizando a associação do coagulante natural *Moringa oleifera* Lam e coagulante químicos", Tese (Doutorado em Engenharia Química), Maringá: Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química - UEM, Maringá-PR, 188 p.

VARFOLOMEEV, S. D.; WASSERMAN, L. A., 2011, "Microalgae as Source of Biofuel, Food, Fodder and Medicines". *Applied Biochemistry and Microbiology*, v. 47, n.9, pp. 789-807.

VASUDEVAN, P. T.; FU, B., 2010, "Environmentally Sustainable Biofuels: Advances in Biodiesel Research". *Waste Biomass Valor*, v.1, pp. 47-63.

VASCONCELOS V. M. O., 1995, *Toxicologia de Cianobactérias, Distribuição de Cianobactérias Tóxicas e Suas Toxinas em Águas Doces Portuguesas. Bioacumulação em Bivalves*. Tese de doutorado. Universidade do Porto.

VISENTAINER, J. V.; FRANCO, M. R. B., 2006, "Ácidos graxos em óleos e gorduras: Identificação e quantificação". São Paulo: Varela.

VLASKI, A.; VAN BREEMEN, A. N.; ALAERTS, G. J., 1996a, "Optimization of coagulation conditions for the removal of cyanobacteria by dissolved air flotation or sedimentation." *Jour Water Supply: Research and Technology-Aqua*, v. 45, n. 5, pp. 253-261.

VOLLENWEIDER R. A., 1976, "Advances in defining Critical loading levels for phosphorus in lake eutrophication". *Memorie dell'istituto Italiano di Idrobiologia, Milano*, v. 33, pp.53-83.

VONSHAK, A., 1997, "Spirulina platensis (Arthrospira) Physiology, cell-biology and biotechnology". London: Taylor & Francis, 252 p.

ZABEL, T. F.; MELBOURNE, J. D., 1980, "Flotation". In: Lewis, W. M. (ed.) *Developments in Water Treatment*, v. 1, Applied Science, Inglaterra, pp. 139-191.

WETZEL, R. G., 1993, *Limnologia*. Lisboa: Fundação Calouste Goulbekian, 919 p.

WHO., 1998, *Guidelines for safe recreational-water environments: coastal and fresh-waters*. Geneva: World Health Organization. 209 p.

WIDJAJA, A.; CHIEN, C.; JU, Y., 2009, “Study of Increasing Lipid Production from Fresh Water *Chlorella vulgaris*”, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 40, pp.13-20

WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M. J., 2010, “An Outlook on Microalgal Biofuels”, *Science*, v. 329, n. 5993, pp. 796-799.

YAN Y.; JAMESON, G. J., 2004, “Application of the Jameson Cell technology for algae and phosphorus removal in maturation ponds”, *International Journal Mineral Processing*, v. 73, pp. 23-28.

YIN, C. Y., 2010, “Emerging usage of plant-based coagulants for water and wastewater treatment”, *Process Biochemistry*, v. 45, n. 9, pp. 1437–1444.

YONGABI, K. A., LEWIS, D. M., HARRIS, P. L., 2011, “A *Moringa oleifera* disinfectant-sand filter integration: a review of an alternative sustainable technology for household treatment”, *Journal of Environmental Science and Engineering*, v. 5, pp. 1100 – 1108

YOO, R. S.; CARMICHAEL, W. W.; HOEHN, R.C; HRUDEY, S. E., 1995, “Cyanobacterial (Blue-Green Algal) Toxins: A Resource Guide”. *American Water Works Association – Research Foundation*, U.S.A., 229 p.

YUNES J. S., 2002, “Florações De Algas (Cianobactérias) Nocivas: Homem Vítima ou Culpado?”, *Ciano News*,

YUNES, J. S.; CUNHA, N. T.; BARROS, L. P.; PROENÇA, L. A. O.; MONSERRAT, J. M., 2003, “Cyanobacterial neurotoxins from southern brazilian freshwaters”, *Comments on Toxicology*, v. 9, pp. 103-115.

## APÊNDICES

**APÊNDICE A e B** - Eficiências de remoção de cor e turbidez, respectivamente, para as condições de operação estudadas na etapa de coagulação/floculação utilizando *Moringa oleifera* Lam.

Esse apêndice apresenta as médias dos valores das eficiências de remoção obtidos para os parâmetros cor e turbidez, assim como os resultados da análise estatística realizada, para todas as condições de operação estudadas na etapa de coagulação/floculação com *Moringa oleifera* Lam.

Ensaio	Cor (uH) Mean	1	2	3
8	5.52536	****		
4	5.54511	****		
17	5.77558	****		
9	6.61232	****		
7	7.78986	****		
13	10.17094	****		
10	11.49254	****		
14	12.05128	****		
6	12.68797	****		
11	12.98507	****		
16	13.61386	****		
1	15.70000	****		
2	18.86455	****		
5	20.58271	****		
3	46.00000		****	
12	58.58209		****	****
15	60.51282		****	****
18	71.69967			****

Ensaio	Turbidez (NTU) Mean	1	2	3	4	5
4	-71.2140	****				
6	-55.2074	****				
17	-52.9718	****				
5	-42.3344	****				
8	-25.6587	****				
2	-24.1458	****				
10	-27.4242	****	****			
16	-30.6991	****	****			
7	-27.1058	****	****			
11	-21.9091	****	****			
13	-29.7508	****	****			
14	-22.0779	****	****	****		
9	-21.9147	****	****	****		
1	-18.6641	****	****	****	****	
3	16.4558		****	****	****	****
12	39.6985			****	****	****
15	47.6618				****	****
18	62.3812					****



**APÊNDICE D** - Eficiências de remoção de cor para as condições de operação estudadas na etapa de coagulação/floculação/flotação por ar dissolvido (*Moringa oleifera* Lam). Esse apêndice apresenta as médias dos valores das eficiências de remoção obtidos para o parâmetro cor, assim como o resultado da análise estatística realizada, para todas as condições de operação estudadas na etapa de coagulação/floculação/FAD com *Moringa oleifera* Lam.

Tukey HSD test: variable Cor (uH) (otimização C/F/F)																														
Homogenous Groups, alpha = .05000 (Non-Exhaustive Search)																														
Error: Between MS = 4.2290, df = 54.000																														
Cell No.	Ensaio	Cor (uH) Mean	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
11	11	-0.48331	****																											
10	10	1.70158	****																											
12	12	5.17640	****	****																										
44	44	12.09319	****	****																										
7	7	23.79679			****																									
43	43	28.15771			****	****																								
8	8	31.14171			****	****	****																							
4	4	31.20567			****	****	****	****																						
1	1	31.51515			****	****	****	****	****																					
6	6	31.79669			****	****	****	****	****	****																				
3	3	34.04040				****	****	****	****	****																				
31	31	34.56376				****	****	****	****	****	****																			
5	5	35.93381				****	****	****	****	****	****	****																		
34	34	36.43434				****	****	****	****	****	****	****	****																	
9	9	37.21658					****	****	****	****	****	****	****	****																
2	2	37.27273					****	****	****	****	****	****	****	****	****															
14	14	38.48168					****	****	****	****	****	****	****	****	****	****														
41	41	39.21233					****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****													
49	49	40.18868						****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****												
13	13	40.22688						****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****											
33	33	42.44966							****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****										
46	46	43.26531								****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****									
15	15	43.63002									****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****								
45	45	43.72760									****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****							
32	32	44.79866										****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****						
53	53	44.80287										****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****					
42	42	44.86301										****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****				
16	16	44.97354											****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****			
50	50	45.28302												****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****		
28	28	45.61934													****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	
52	52	46.05735														****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	
54	54	46.95341															****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	
47	47	47.75510																****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	
18	18	47.97178																	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	
48	48	48.16327																		****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	
40	40	48.45890																			****	****	****	****	****	****	****	****	****	
17	17	48.58907																				****	****	****	****	****	****	****	****	
29	29	50.30211																					****	****	****	****	****	****	****	
51	51	51.13208																						****	****	****	****	****	****	
30	30	51.13293																							****	****	****	****	****	
35	35	51.25758																								****	****	****	****	
36	36	53.19865																									****	****	****	
37	37	53.70968																										****	****	
21	21	54.85437																											****	
19	19	55.14563																											****	
38	38	55.16129																											****	
39	39	55.40323																											****	
20	20	57.37864																											****	
25	25	60.21314																											****	****
26	26	62.96625																											****	****
22	22	64.92843																											****	****
27	27	65.09769																											****	****
23	23	68.91616																											****	****
24	24	79.32515																											****	****









