

Estudo da formação de carbono orgânico assimilável e padronização da metodologia de quantificação

Study of assimilable organic carbon formation and standardization of quantification methodology

RESUMO

Gabrielle Araújo Vasconcelos
gabiavasconcelos@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal Do Paraná (UTFPR), Curitiba, Paraná, Brasil.

Lucila Adriani Coral
lucilacoral@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Curitiba, Paraná, Brasil.

O excesso de matéria orgânica natural (MON) no corpo hídrico pode potencializar o recrescimento de bactérias nos dutos de distribuição de água, caso não haja remoção efetiva no tratamento. Este trabalho teve como objetivo principal, avaliar o impacto do processo oxidativo UV/H₂O₂ na formação de carbono orgânico dissolvido (COD) e assimilável (COA) utilizando uma solução padrão de ácido húmico e diferentes dosagens de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). A água foi tratada no sistema oxidativo UV/H₂O₂ por um período de 3 horas, com adição constante de H₂O₂ nas dosagens de 20 mg L⁻¹ e 50 mg L⁻¹. Em um segundo momento, contaminou-se a água de estudo com células de *Microcystis aeruginosa* na densidade celular de 5x10⁵ cel mL⁻¹. Observou-se que para a maior dosagem de H₂O₂ o COD ficou praticamente constante e para a menor dosagem ocorreu um aumento do COD e posterior decaimento. Para a água contaminada com cianobactéria observou-se um aumento nos valores iniciais de COD e uma diminuição discreta durante o processo. Com isso, conclui-se que para maiores dosagens de H₂O₂ ocorre uma recombinação entre radicais formando um novo radical de menor poder oxidativo. Análises de COA com água sintética mostraram um aumento ao final do processo oxidativo.

PALAVRAS-CHAVE: Ácido húmico. Cianobactérias. Processo Oxidativo Avançado.

ABSTRACT

Excess natural organic matter (NOM) in the water body can potentiate the growth of bacteria in the water distribution ducts, if there is no effective removal in the treatment. The main objective of this work was to evaluate the impact of the oxidative process UV/H₂O₂ on the formation of dissolved organic carbon (DOC) and assimilable (AOC) using a standard humic acid solution and different dosages of hydrogen peroxide (H₂O₂). Water was treated in the UV/H₂O₂ oxidative system for a period of 3 hours, with constant addition of H₂O₂ at dosages of 20 mg L⁻¹ and 50 mg L⁻¹. Secondly, the study water was contaminated with *Microcystis aeruginosa* cells at a cell density of 5x10⁵ cell mL⁻¹. It was observed that for the highest dose of H₂O₂ the DOC was practically constant and for the lowest dosage there was an increase in DOC and subsequent decay. For water contaminated with cyanobacteria there was an increase in initial DOC values and a slight decrease during the process. Thus, it is concluded that for higher dosages of H₂O₂ there is a recombination between radicals forming a new radical of lower oxidative power. AOC analyzes with synthetic water showed an increase at the end of the oxidative process.

KEYWORDS: Humic acid. Cyanobacteria. Advanced Oxidative Process.

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



1. INTRODUÇÃO

As cianobactérias são microrganismos aeróbios, procariontes e fotossintetizantes que apresentam uma organização celular muito semelhante a das bactérias, mas possuem pigmentos como as algas (AZEVEDO; VASCONCELOS, 1998). Esses organismos podem colonizar diversos ambientes como solo e rochas, sendo que apresentam um melhor desenvolvimento em ambientes aquáticos principalmente em rios de água doce com temperatura entre 15-30 °C, e pH de neutro a alcalino (ARAUJO, 2009). Quando esses ambientes encontram-se ricos em nutrientes ou em processo de eutrofização, pode-se observar o fenômeno chamado de floração, que nada mais é que o crescimento excessivo das cianobactérias (AZEVEDO; BRANDÃO, 2003; MADIGAN, 2016).

O crescimento desordenado desses microrganismos pode provocar alterações organolépticas na água, problemas operacionais nas estações de tratamento e liberação de toxinas prejudiciais à saúde humana provenientes do rompimento da sua membrana celular (AZEVEDO; VASCONCELOS, 1998; AZEVEDO; BRANDÃO, 2003). Além disso, metabólitos secundários que apresentam uma baixa massa molecular e toxinas liberadas não são removidos de maneira eficiente por sistemas convencionais de tratamento, logo se faz necessário o uso de métodos complementares de tratamento como, por exemplo, os processos oxidativos avançados (POA) (CENTURIONE; DI BERNARDO, 2003).

Os POA convertem a maioria dos contaminantes orgânicos em CO₂, água e íons inorgânicos através de reações de degradação que envolve espécies oxidantes. Um dos processos que pode ser utilizado no tratamento de águas é o processo UV/H₂O₂ (TEIXEIRA; JARDIM, 2004). Esse processo pode reduzir a matéria orgânica por mineralização completa dos compostos orgânicos, ou por uma degradação parcial que converte compostos orgânicos maiores em menores e mais biodegradáveis (KOOIJ, 1992; TORR; MOHSEN, 2007). Porém, este processo não reduz com eficácia o carbono orgânico total e ainda produz o carbono orgânico assimilável (COA) (DI BERNARDI; DANTAS, 2010).

O COA é capaz de interagir com o cloro na etapa de desinfecção da água e formar os trihalometanos, que são subprodutos da desinfecção (DBPs) potencialmente cancerígenos (TORR; MOHSEN, 2007). Logo este trabalho tem como objetivo avaliar o impacto do processo oxidativo na formação do carbono orgânico dissolvido (COD) e assimilável (COA) a partir de uma solução padrão contendo ácido húmico e células de *Microcystis aeruginosa*.

2. METODOLOGIA

2.1 CULTIVOS DE CIANOACTÉRIAS

A cepa tóxica da espécie *Microcystis aeruginosa* (BCCUSP) foi cultivada em laboratório em meio inorgânico de crescimento ASM-1. Os cultivos permaneceram sob aeração constante, temperatura de 25 ± 1 °C e regime de foto-período de 16/8 (16 horas de claro e 8 horas de escuro). Para os ensaios, o cultivo foi utilizado em fase de crescimento exponencial que corresponde ao período de 20 a 23 dias.

2.2 SISTEMA DE OXIDAÇÃO

Para a oxidação da água de estudo foi utilizado um reator de vidro com capacidade de 1,1 litros apresentando um sistema de refrigeração e pontos de entrada e saída da amostra. Para a fonte de radiação UV, foi utilizada uma lâmpada de mercúrio de alta pressão inserida em um bulbo de quartzo, o qual permaneceu mergulhado no líquido amostral, permitindo a irradiação do mesmo de maneira uniforme.

2.3 ANÁLISE DE CARBONO ORGÂNICO ASSIMILÁVEL

A quantificação de COA se baseia na medição do crescimento de duas estirpes bacterianas, a *Pseudomonas fluorescens* (P-17) e a *Spirillum* sp. (NOX), até a saturação de um nutriente que seja essencial para o desenvolvimento desses microrganismos.

A quantificação de COA é obtida através da contagem de células de ambas as bactérias para uso posterior no cálculo (Equação 1), o que no presente estudo foi determinado a partir de análises por citometria de fluxo, as quais seriam realizadas no laboratório da Fiocruz (Fundação Oswaldo Cruz).

$$COA (\mu gCL^{-1}) = \frac{(Crescimento\ celular)L^{-1}}{1 \times 10^7 (células.\mu gC^{-1})} \quad (1)$$

2.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O presente estudo foi dividido em duas etapas. A primeira etapa refere-se aos ensaios oxidativos UV/H₂O₂ com o ácido húmico (10 mg L⁻¹). Nesta etapa foi determinada a concentração inicial de matéria orgânica presente na água de estudo antes e após o processo oxidativo. Após, a água era encaminhada para o reator oxidativo onde a amostra permaneceu por um período de 3 horas em contato com a luz UV com adição contínua de H₂O₂ (20 mg L⁻¹ e 50 mg L⁻¹). Esta adição era feita através de um equipo conectado a uma bureta que continha uma solução concentrada de H₂O₂, sendo este adicionado constantemente. Durante o ensaio oxidativo, alíquotas da solução em tratamento foram retiradas em 0, 30, 60, 120 e 180 minutos para verificação do residual de H₂O₂ e para determinação da concentração de COD. Para tais análises, as amostras foram filtradas em membrana de acetato de celulose 0,45 μm de porosidade, e armazenadas sob refrigeração. As análises foram realizadas no LAMAQ (Laboratório Multiusuário de Análises Químicas - UTFPR) em analisador Thermo HiperTOC, seguindo o método de combustão a 680 °C e detecção de CO₂. Já as amostras de COA foram filtradas em filtro de seringa com 0,22 μm de porosidade e pasteurizadas a 70 °C por uma hora. Inoculou-se as estirpes P-17 e NOX separadamente nos frascos, retirando-se em seguida uma alíquota de cada amostra preservando-as em paraformaldeído 1,5% (amostra inicial). As amostras eram então mantidas em estufa bacteriológica a 25 °C por 96 h. Após esse período, outra alíquota era retirada e preservada em paraformaldeído (amostra final) até o momento da análise.

Na segunda etapa foi adicionada a água de estudo contendo 4 mg L⁻¹ de ácido húmico as células da *M. aeruginosa*. Para a escolha da densidade celular optou-se por utilizar a densidade de 5x10⁵ cel mL⁻¹. Este valor está acima do

limite máximo permitido pela legislação atual RDC N°5 (BRASIL, 2017), a fim de caracterizar uma floração de cianobactérias. Assim como na primeira etapa, a solução contendo a cianobactéria foi levada para o reator oxidativo por um período de 3 horas em contato com a luz UV e adição contínua de H_2O_2 (20 mg L^{-1}). Alíquotas para COD e COA foram recolhidas antes e ao final do processo e o residual de H_2O_2 foi avaliado durante toda a duração do ensaio.

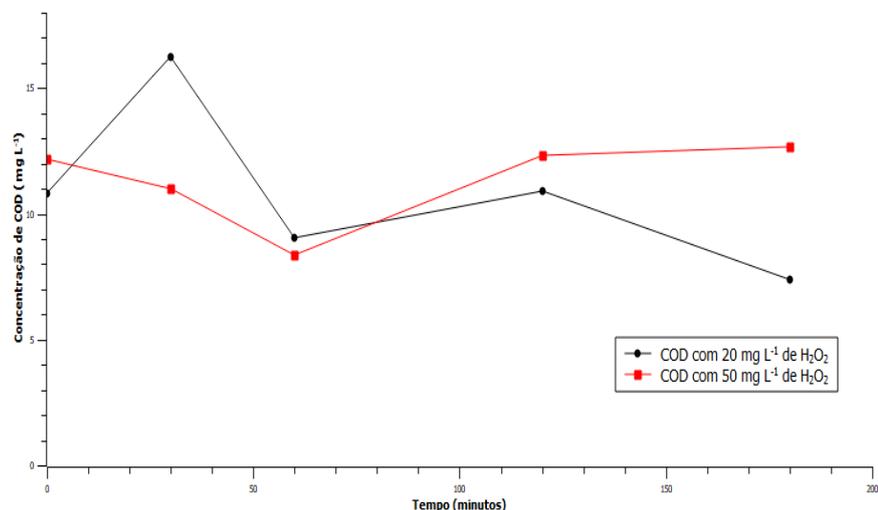
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 ANÁLISE DE CARBONO ORGÂNICO DISSOLVIDO

Pode-se observar através da Figura 1 que para a dosagem de 20 mg L^{-1} ocorreu um aumento no COD nos primeiros 30 minutos de tempo de contato. Este comportamento era esperado já que o processo oxidativo tende a quebrar moléculas maiores em menores resultando no aumento do COD. Observou-se também que a adição contínua de H_2O_2 reduziu a concentração do COD, mas que a mineralização não foi completa. Pode-se com isso sugerir que em tempos de contato mais longos e contínua adição de H_2O_2 poderia resultar em uma maior degradação.

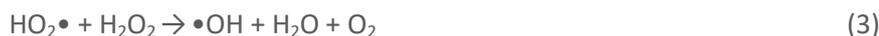
Já para a dosagem de 50 mg L^{-1} de H_2O_2 , verificou-se uma redução inicial da concentração de ácido húmico, o que pode ser considerado esperado, visto que a maior concentração de H_2O_2 favoreceria a imediata mineralização do COD. Após os primeiros 60 minutos, observa-se que a concentração de COD aumentou para próximo da concentração inicial. Pode-se sugerir que o excesso de H_2O_2 no meio tenha prejudicado a efetividade do processo oxidativo para a matriz utilizada.

Figura 1 - Concentração de COD para a dosagem de 20 mg L^{-1} e 50 mg L^{-1} de H_2O_2



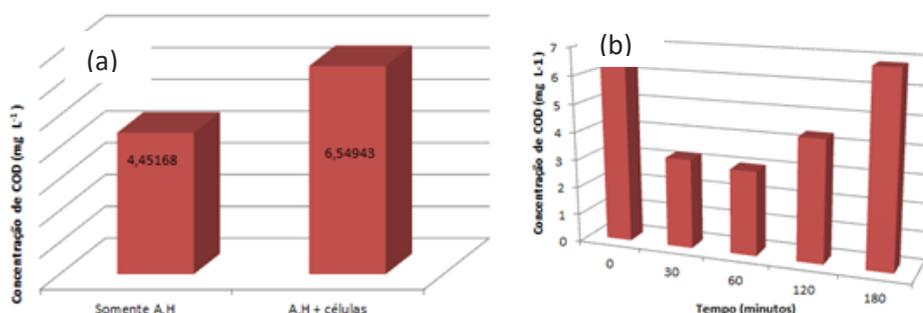
O excesso de H_2O_2 pode originar reações competitivas com os radicais $\bullet OH$, o que gera um efeito inibitório na degradação das moléculas. O excesso de H_2O_2 acaba capturando os radicais podendo recombinar-se, gerando outros radicais com menor poder oxidativo como $HO_2\bullet$ (radical peridroxil). Nas Equações 2 a 6 têm-se indicadas as possibilidades da recombinação dos radicais (HUANG; SHU, 1995).





Para a amostra contendo células de *M. aeruginosa*, nota-se um aumento na concentração de COD para os valores iniciais antes de a água de estudo passar pelo tratamento (Figura 2a).

Figura 2 – Valores de COD contendo somente ácido húmico (AH) e ácido húmico mais células de *M. aeruginosa* (a) e concentração de COD ao longo do tempo (b)



Durante o processo oxidativo, como mostrado na Figura 2b, pode-se notar que houve uma diminuição inicial na concentração de COD. Este comportamento já era esperado já que o processo oxidativo tende a mineralizar a matéria orgânica em CO₂. Porém, esta diminuição só ocorre nos primeiros 30 minutos e após, a concentração de COD ficou praticamente constante. Isto se deve provavelmente a reações conflitantes que podem ocorrer entre o material orgânico representado pelo ácido húmico e as células da *M. aeruginosa*.

3.2 ANÁLISE CARBONO ORGÂNICO ASSIMILÁVEL

As análises de COA propostas no presente não puderam ser realizadas devido à manutenção no equipamento durante o período de ensaios até o presente momento. No entanto, em ensaios realizados anteriormente com uma solução de água sintética contendo células de *M. aeruginosa* pode-se observar um aumento do COA ao final do processo oxidativo, demonstrando que a formação de COA ocorre efetivamente, e que a concentração de COA não é proporcional a concentração de H₂O₂ aplicada, conforme a tendência observada neste trabalho.

4. CONCLUSÃO

Na primeira parte do estudo os resultados mostram que ocorreu um aumento na concentração de COD para a dosagem de 20 mg L⁻¹ de H₂O₂ após este período pode-se notar uma tendência de redução de COD ao final do processo para a dosagem de 20 mg L⁻¹ de H₂O₂. Enquanto para a dosagem de 50 mg L⁻¹ de H₂O₂ houve uma redução nos primeiros 30 minutos e depois a concentração aumentou e permaneceu estável. Isto se deve ao excesso de H₂O₂ presente no meio que geram reações competitivas entre os radicais •OH gerando um efeito inibitório. Para o estudo do COD com as células de *M. aeruginosa*

observa-se um aumento de COD na água de estudo inicial, o que é esperado já que as células aumentam a quantidade de matéria orgânica. Durante o ensaio oxidativo pode-se observar uma diminuição na concentração de COD, porém, esta diminuição não é muito evidenciada. Com o passar do tempo, os radicais tendem a promover a degradação da parede celular das cianobactérias, aumentando dessa forma o conteúdo orgânico dissolvido no meio logo períodos superiores a 180 minutos devem ser avaliados para observar o aumento do COD.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, S. M. F. O.; BRANDÃO, C. C. S. Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano. **Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde. 56p, 2003.**

AZEVEDO, S. M. F. O.; VASCONCELOS, V. M. Toxinas de cianobactérias: causas e consequências para a saúde pública. **Medicina on line**, v. 3, n. 1, p. 1-19, 1998.

ARAUJO, L. M. R. et al. **Estudo das interações fitoplâncton-protozooplâncton no reservatório de Barra Bonita, SP, com ênfase na toxicidade de microcistinas.** 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação Nº 5, de 28 de Setembro de 2017. Dispõe sobre a Consolidação das normas sobre as ações e serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Diário Oficial da União Nº 190, República Federativa do Brasil, DF, 03 out. 2017. Seção 1, Suplemento – p. 360.

CENTURIONE FILHO, P. L.; DI BERNARDO, L. Procedimentos para execução de ensaios de flotação/filtração em equipamento de bancada. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 8, p. 39-44, 2003

DI BERNARDO, L.; MINILLO, A.; DANTAS, A. Di B. Florações de algas e de cianobactérias: suas influências na qualidade da água e nas tecnologias de tratamento. **São Carlos: LDiBE**, 2010.

HUANG, C.-R.; SHU, H.-Y. The reaction kinetics, decomposition pathways and intermediate formations of phenol in ozonation, UVO_3 and UVH_2O_2 processes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 41, n. 1, p. 47-64, 1995.

KOOIJ, D. van der. Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth. **Journal-American Water Works Association**, v. 84, n. 2, p. 57-65, 1992.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock-14ª Edição.** Artmed Editora, 2016., p 5-18.

TEIXEIRA, C. P. A. B.; JARDIM, W. F. Processos Oxidativos Avançados – Caderno Temático, vol. 3. **Universidade Estadual de Campinas–UNICAMP**, p. 6-13, 2004.

TOOR, R.; MOHSENI, M. $UV-H_2O_2$ based AOP and its integration with biological activated carbon treatment for DBP reduction in drinking water. **Chemosphere**, v. 66, n. 11, p. 2087-2095, 2007.