

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANEAMENTO,**

**MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS**

**AVALIAÇÃO DE TÉCNICAS DE TRATAMENTO  
NA REMOÇÃO DE SAXITOXINAS EM ÁGUAS  
DE CONSUMO HUMANO**

**Mônica Viana**

**Belo Horizonte**

**2006**

**AVALIAÇÃO DE TÉCNICAS DE TRATAMENTO NA  
REMOÇÃO DE SAXITOXINAS EM ÁGUAS DE  
CONSUMO HUMANO**

**Mônica Viana**

**Mônica Viana**

**AVALIAÇÃO DE TÉCNICAS DE TRATAMENTO NA  
REMOÇÃO DE SAXITOXINAS EM ÁGUAS DE CONSUMO  
HUMANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de concentração: Saneamento

Linha de pesquisa: Avaliação, modelagem e controle do tratamento de águas de abastecimento.

Orientador: Marcelo Libânio

Co-orientadora: Alessandra Giani

Belo Horizonte

Escola de Engenharia da UFMG

2006

Página com as assinaturas dos membros da banca examinadora, fornecida pelo Colegiado do Programa

*Ao Maurício e meus pais*

*José Viana e Helenita Viana*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, José e Helenita, as minhas irmãs, Denise e Daniela, e a minha sobrinha Ana Clara, pelo carinho, amor e incentivo por esta conquista. Ao Maurício, pelo amor, companheirismo e compreensão, em todos os momentos.

Ao professor Marcelo Libânio, pela amizade e ensinamentos. À professora Alessandra Giani pela co-orientação, incentivo, por se mostrar sempre acessível e pela ajuda nos momentos difíceis. Ao professor Valter Lúcio, pelo carinho e apoio durante a pesquisa.

Aos amigos da Sanag Engenharia, pela amizade e apoio. As minhas pupilas Alice, Erica, e Marilane e meu amigo Wudu que me valeram para encarar a vida de uma forma para melhor vencer as dificuldades. Aos amigos Hosmanny, Guilherme, Lidiane e Carla pela força e incentivo sempre.

Aos colegas do Prosab, os quais tive a oportunidade de conviver durante o mestrado. Obrigado pelo carinho de todos vocês. Às amigas Lenora e Silvia pelo carisma e ensinamentos durante a pesquisa.

A minha amiga Cristiane, bolsista de iniciação científica do Prosab e companheira de pesquisa, a qual tive o prazer de conhecer. Obrigada pela colaboração nas atividades de análise, além dos bons momentos de convívio.

A todo o pessoal do laboratório de Ficologia da UFMG (Elenice, Gabriela, Cleber, Bruna, Camila e Mirian), pela acolhida e carinhosa convivência.

Ao professor Dagoberto pelo auxílio nas análises de microscopia de varredura e a equipe do laboratório de caracterização de materiais da UFMG pelo apoio nas análises de caracterização dos carvões. Ao Guilherme, representante da *Ridascreen*, obrigada pela confiança e doação dos kits Elisa.

Ao Prosab/Finep pelo financiamento da pesquisa.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação que contribuíram para elaboração deste trabalho.

## RESUMO

Apresenta-se neste trabalho uma avaliação do desempenho em escala de bancada de duas técnicas de tratamento de água, adsorção e oxidação, na remoção de saxitoxinas, produzidas por meio da extração de células viáveis de cianobactérias da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii*.

Foram selecionados cinco tipos de carvão ativado em pó (CAP), de marcas comercializadas do Brasil, sendo três efetivamente empregados nos ensaios de adsorção. Após a seleção, os carvões, foram caracterizados individualmente por microscopia de varredura, seguida da determinação da distribuição do volume de poros, da área superficial, da distribuição granulométrica e do número de iodo.

Durante os experimentos foi cultivada uma cepa da espécie *C. raciborskii*, proveniente de um corpo d'água na região central de Lagoa Santa. As saxitoxinas eram produzidas a partir da lise celular. A água de estudo foi preparada pela adição de água destilada ao extrato de saxitoxinas, com concentrações calculadas por meio do teste imunocompetitivo (Elisa).

Os testes de adsorção e oxidação foram realizados em equipamento de *Jar Test* e empregando-se, respectivamente, carvões de madeira, osso e mineral, e hipoclorito de cálcio. Os tempos de detenção aplicados foram de duas horas para adsorção e 30 e 60 min para oxidação.

Os resultados apontaram que a eficiência de remoção, para a adsorção, está intrinsecamente relacionada ao tipo de carvão e à dosagem empregada, obtendo a máxima eficiência de remoção de 68% para os carvões de osso e madeira. Nestes ensaios, a concentração de saxitoxinas obtida após o emprego das técnicas de remoção foi superior ao limite recomendado pela Portaria MS nº 518/2004 (3,0 µg/L). Quanto à caracterização dos carvões, verificou-se que os dados fornecidos pelos fabricantes se apresentaram distintos em relação aos analisados, e que tais parâmetros não atenderam às premissas da ABNT (EB-2133).

Em relação à oxidação, para os dois tempos de contato e as dosagens avaliadas, a eficiência de remoção, da ordem de 80%, manteve-se praticamente constante, atendendo ao estabelecido pela Portaria 518.

## ABSTRACT

This work conducted in batch scale, evaluated the saxitoxin removal by mean of two water treatment processes, namely, adsorption and oxidation. The toxins were produced through extraction of viable cells of cyanobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii*.

Five powdered activated carbons (PAC) made available by three Brazilian manufacturers were selected, and three of them were actually used adsorption tests. The characterization of each carbon was done by sweep microscopic in terms of volume of pores, surface area, grain size distribution, and iodine number.

The cyanobacteria species cultivated during the study period were collected in a water source in Lagoa Santa. The synthetic water was prepared by means of distilled water and equivalent concentration of saxitoxin set up by Elisa test.

The oxidation and adsorption tests were carried out in jar test equipment, using mineral, bond and wood activated carbons and calcium hypochlorite. The detention times were two hours for adsorption, and 30 and 60 min for oxidation tests.

The results pointed out that the type and the dosage of PAC are strongly related. For all tests, the final saxitoxin concentration was higher than the limit established by The Brazilian drinking water legislation 518 (3,0 µg/L). The information concerning the characterization the activated carbons provided by the manufacturers differed from that obtained in the tests, and these parameters were not in agreement with the standards set differed by ABNT (EB-2133).

The oxidation efficiency was approximately 80 % for both detention times and distinct dosages, keeping practically constant for all tests according to the limit established by The Brazilian drinking water legislation 518.



# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVO</b> .....	<b>3</b>
2.1. Objetivo Geral .....	3
2.2. Objetivos Específicos .....	3
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>4</b>
3.1. Florações de Cianobactérias Tóxicas .....	4
3.2. Ocorrência de Florações de Cianobactérias no Brasil.....	5
3.3. Ocorrência de Florações de Cianobactérias em Minas Gerais .....	6
3.4. Cianobactérias: Definições e Características Gerais .....	7
3.5. Cianotoxinas .....	8
3.5.1. Classificação das cianotoxinas .....	8
3.6. Métodos para Detecção e Quantificação de Saxitoxinas.....	14
3.6.1. Armazenamento, preservação e extração das amostras.....	14
3.6.2. Métodos de detecção .....	15
3.7. Padrões e Limites de Cianotoxinas na Água .....	19
3.8. Evidências de Intoxicação Humana por Cianobactérias.....	20
3.9. Remoção de Cianotoxinas no Tratamento de Água para Abastecimento .....	21
3.9.1. Adsorção.....	22
3.9.2. Oxidação.....	31
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>36</b>
4.1. Considerações Gerais .....	36
4.2. Seleção dos Tipos de Carvão Ativado em Pó.....	37
4.3. Caracterização dos Carvões.....	38
4.3.1. Caracterização granulométrica .....	38
4.3.2. Determinação do número de iodo.....	40
4.3.3. Determinação da área superficial e da distribuição de tamanho dos poros .....	42
4.3.4. Fotografias em microscópio eletrônico de varredura - MEV .....	43
4.4. Cultivo de Cianobactérias.....	44
4.5. Produção de Saxitoxinas.....	46
4.5.1. Extração de células de <i>C.raciborskii</i> .....	46
4.5.2. Análise de saxitoxinas no extrato .....	48
4.6. Preparo da Água Sintética .....	53
4.7. Métodos para Determinação dos Parâmetros Analisados.....	53
4.8. Determinação da Capacidade Adsorptiva dos Carvões.....	54
4.9. Determinação da Eficiência de Remoção de Saxitoxinas Utilizando a Cloração ....	56
4.10. Análise Estatística dos Dados de Remoção de Saxitoxinas .....	57
4.10.1. Estatística descritiva dos dados .....	57
4.10.2. Análise de Variância.....	57
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>60</b>
5.1. Caracterização dos Carvões.....	60
5.1.1. Determinação granulométrica.....	60

5.1.2.	Número de iodo .....	62
5.1.3.	Área superficial BET e distribuição do tamanho dos poros .....	63
5.1.4.	Fotografias em microscópio eletrônico de varredura- MEV .....	64
5.2.	Preparo da Água Sintética .....	67
5.2.1.	Análise de saxitoxinas no extrato de células de <i>C.raciborskii</i> .....	67
5.3.	Avaliação da Capacidade Adsorptiva dos Carvões .....	75
5.4.	Avaliação da Cloração na Remoção de Saxitoxinas .....	81
5.5.	Análise Estatística dos Dados de Remoção de Saxitoxinas .....	83
5.5.1.	Estatística descritiva dos dados .....	83
5.5.2.	Análises de regressão .....	85
5.5.3.	Análise de variância .....	85
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>88</b>
<b>7.</b>	<b>RECOMENDAÇÕES .....</b>	<b>90</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>91</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>96</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Estrutura geral das saxitoxinas.....	12
Figura 3.2 - Placa Elisa para análises de saxitoxinas .....	17
Figura 3.3 – Sistema de CLAE com reator pós-coluna para análise de saxitoxina.....	19
Figura 4.1- Difratorômetro a laser modelo 1064, marca Cilas.....	39
Figura 4.2- Moinho de panela utilizado para moer o CAP.....	40
Figura 4.3- Equipamento Autosorb (Quantachrome Corporation).....	43
Figura 4.4- Microscópio Eletrônico de Varredura .....	44
Figura 4.5- Câmara fria de cultivo de cianobactérias.....	45
Figura 4.6- Filamento da cepa 124 de <i>C. raciborskii</i> .....	46
Figuras 4.7 e 4.8 – Cultivo de <i>C.raciborskii</i> e filtração a vácuo das células de <i>C.raciborskii</i> , respectivamente .....	47
Figuras 4.9 e 4.10 – Material seco de células de <i>C.raciborskii</i> liofilizadas e procedimento de extração da toxina, respectivamente.....	47
Figura 4.11 e 4.12 – Agitação e centrifugação da amostra, respectivamente.....	48
Figura 4.13 – Extrato de saxitoxinas.....	48
Figura 4.14- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência do Laboratório Metropolitano de Cromatografia da Copasa .....	49
Figura 4.15 e 4.16-Camundongos <i>Swiss ssp.</i> utilizados no teste toxicológico e dosagens injetadas nos camundongos,respectivamente .....	50
Figura 4.17 - Teste imunoenensaio competitivo ( <i>Kit Elisa</i> ) da <i>Ridascreen®Fast Saxitoxin</i> .....	53
Figura 4.18- Experimento de <i>Jar Test</i> , com jarros de 1000 mL utilizado no experimento.....	56
Figura 5.1 – Porcentagem de massa passante na peneira nº 100 (150 µm).....	60
Figura 5.2 – Porcentagem de massa passante na peneira nº 200 (75 µm).....	61
Figura 5.3 – Porcentagem de massa passante na peneira nº 325 (45 µm).....	61
Figura 5.4- Número de iodo (mg/g) para cada CAP avaliado .....	62
Figura 5.5 – Percentual de distribuição do tamanho dos poros nos CAPs.....	64
Figura 5.6 – Fotografia da amostra de CAP de osso com aumento de 5.000 vezes.....	65

Figura 5.7 - Fotografia da amostra de CAP mineral com aumento de 200 vezes .....	65
Figura 5.8- Fotografia da amostra de MAD 1 com aumento de 200 vezes.....	66
Figura 5.9 - Fotografia da amostra de MAD 2 com aumento de 2.000 vezes.....	66
Figura 5.10 - Fotografia da amostra de MAD 3 com aumento de 1.500 vezes.....	67
Figura 5.11 - Perfil cromatográfico dos padrões de saxitoxina (STX) e neosaxitoxina (neoSTX).....	69
Figura 5.12 – Perfil cromatográfico do extrato proveniente do cultivo de <i>C.raciborskii</i> lisado .....	69
Figura 5.13 – Perfis cromatográficos do extrato proveniente do cultivo de <i>C. Raciborskii</i> apresentado no trabalho de Lagos et al (2004).....	70
Figura 5.14 – Curva de Calibração para neoSTX.....	71
Figura 5.15 – Curva de Calibração para STX .....	72
Figura 5.16 – Gráfico comparativo entre valores de concentração de saxitoxinas obtidos pelo CLAE e Elisa.....	73
Figura 5.17 – Concentrações de NeoSTX e STX obtidos pelo kit Elisa.....	74
Figura 5.18 – Residuais de saxitoxinas para doses de CAP de madeira .....	76
Figura 5.19 – Residuais de saxitoxinas para doses de CAP Osso .....	76
Figura 5.20 – Residuais de saxitoxinas para dosagens de CAP Mineral.....	77
Figura 5.21 - Percentual médio de remoção de saxitoxinas para cada dosagem analisada.....	78
Figuras 5.22 e 5.23 –Resultados dos ajustes ao modelo de isoterma de Freundlich.....	79
Figuras 5.25 e 5.26 - Resultados dos ajustes ao modelo de isoterma de Languimir .....	80
Figura 5.27 – Residuais de saxitoxinas para dosagens de hipoclorito de cálcio com tempo de contato de 30 minutos.....	81
Figura 5.28 – Residuais de saxitoxinas para dosagens de hipoclorito de cálcio com tempo de contato de 60 minutos.....	82
Figura 5.30 – Percentual médio de remoção de saxitoxinas para cada dosagem analisada. ....	83

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Aspectos gerais das cianotoxinas.....	9
Tabela 3.2 - Tipos de saxitoxinas caracterizadas a partir de diferentes cepas de cianobactérias .....	13
Tabela 3.3 - Condições adotadas para análises de saxitoxinas.....	18
Tabela 3.4 - Potencial de eletrodo-padrão de oxidantes químicos. ....	32
Tabela 4.1: Tipos de Carvões fabricados no Brasil e utilizados nos experimentos.....	37
Tabela 4.2 - Volumes de amostras e massas de carvão para níveis de concentração de adsorvato.....	55
Tabela 5.1- Resumo da caracterização dos CAPs .....	63
Tabela 5.2- Estatística Descritiva da análise dos dados experimentais para adsorção de saxitoxinas utilizando a técnica de adsorção por carvão mineral.....	83
Tabela 5.3- Estatística Descritiva da análise dos dados experimentais para adsorção de saxitoxinas utilizando a técnica de adsorção por carvão de osso .....	84
Tabela 5.4- Estatística Descritiva da análise dos dados experimentais para adsorção de saxitoxinas utilizando a técnica de adsorção por carvão de madeira .....	84
Tabela 5.5- Estatística Decritiva da análise dos dados experimentais para oxidação de saxitoxinas utilizando a técnica de cloração por meio de hipoclorito de cálcio para os tempos de detenção de 30 e 60 minutos.....	85
Tabela 5.6- Teste de Kruskal-Wallis para variáveis intra-grupos referente as dosagens de CAP .....	86
Tabela 5.7- Teste de Kruskal-Wallis para variáveis intra-grupos referente as dosagens de hipoclorito de cálcio .....	86
Tabela 5.8- Teste de Kruskal-Wallis para variáveis entre-grupos referente aos tipos de CAP	87
Tabela 5.9- Teste de Kruskal-Wallis para variáveis entre-grupos referente aos dois tempos de contato dos hipoclorito de cálcio .....	87

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AB	Água Bruta
AF	Água Filtrada
CAG	Carvão Ativado Granular
CAP	Carvão Ativado em Pó
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
Cel/ml	Células de cianobactérias por mililitro
Copasa	Companhia de Saneamento de Minas Gerais
DL <sub>50</sub>	Dose letal em cinquenta por cento dos camundongos
ETA	Estação de Tratamento de Água
GTX	Goniautoxina
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
LETC	Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias do Instituto de Biofísica Carlos Chagas da UFRJ
Ind/cel	Indivíduos por mililitro
(i.p)	Intraperitoneal
mg/L	Miligrama por Litro
µg/L	Micrograma por Litro
MAD	Madeira
ppb	Parte por bilhão
Prosab	Programa de Pesquisa em Saneamento Básico
N	Nitrogênio
NeoSTX	Neosaxitoxina
STX	Saxitoxina
VMP	Valor Máximo Permissível

# 1. INTRODUÇÃO

O grande aporte de esgoto sem tratamento em mananciais, principalmente de regime lântico, proporciona a eutrofização nos ecossistemas aquáticos, desencadeando uma série de outros efeitos indesejáveis, e resultam em mudanças na qualidade da água.

Uma das graves conseqüências da eutrofização artificial dos ecossistemas consiste na floração de cianobactérias, pelo fato desse grupo incluir, em seus representantes, espécies produtoras de toxinas.

As cianobactérias tóxicas são responsáveis pela maioria dos casos de intoxicações envolvendo ficotoxinas de águas doces ou marinhas (CARMICHAEL, 1992). As intoxicações em humanos podem ocorrer pelo contato com a água contendo células tóxicas, pelo consumo de peixes de locais contaminados e/ou pelo consumo de água contaminada de reservatórios de abastecimento público.

Segundo o seu modo de ação as toxinas produzidas por cianobactérias podem ser divididas nos seguintes grupos: hepatótoxinas, neurotoxinas, citotoxinas e toxinas irritantes à pele (endotoxinas). Sabe-se que muitas espécies de cianobactérias produzem toxinas extremamente potentes (principalmente, as hepato e as neurotoxinas) e podem causar sérios problemas de saúde também aos animais por ingestão por águas contendo cianobactérias tóxicas e/ou toxinas.

As saxitoxinas, foco desta pesquisa, são, na realidade, um grupo de alcalóides neurotóxicos também conhecidos como “toxinas paralisantes de mariscos” (toxinas do tipo PSP - *Parallytic Shellfish Poisoning*), tendo sido primeiramente isoladas em dinoflagelados marinhos, responsáveis pela ocorrência de marés vermelhas. Estas toxinas são produzidas também por cianobactérias dos gêneros *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Lyngbya* e *Cylindrospermopsis* (SIVONEN e JONES, 1999).

Nas últimas décadas tem sido observado um grande aumento na ocorrência da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii*, em diferentes regiões brasileiras (SANT’ANNA & AZEVEDO, 2000; BITTENCOURT-OLIVEIRA, 2003).

Na Portaria nº 518 do Ministério da Saúde (2004) recomenda-se em seu capítulo 4, artigo 14, parágrafo 1º que “as análises para cianotoxinas incluam a determinação de cilindrospermopsina e saxitoxina observando, respectivamente, os valores de 15,0 µg/l e 3µg/l de equivalentes STX/L”.

Dois processos são considerados efetivos na remoção das cianotoxinas: (i) a adsorção em carvão ativado em pó (CAP) e (ii) a pós-oxidação, ou seja, a oxidação realizada após a remoção das células viáveis de cianobactérias evitando a liberação da toxina na água.

Em relação ao CAP, faz-se necessário identificar por meio de testes em unidades-piloto ou de laboratório o tipo de carvão mais efetivo para adsorção da cianotoxina presente na água, assim como a dosagem apropriada. Essa dosagem pode ser significativamente superior às usualmente adotadas para remoção de sabor e odor, e deve ser determinada levando-se em conta a presença de outros compostos orgânicos.

Em relação aos oxidantes, é importante destacar, além da dosagem, os efeitos do pH e o tempo de contato e a seleção do ponto de aplicação (pré ou pós-oxidação) sobre a remoção efetiva das cianotoxinas.

Há evidências de que os processos que envolvam a coagulação química não sejam capazes de efetivamente remover as cianotoxinas dissolvidas na água. Isto provavelmente ocorre porque os coagulantes usualmente empregados são ineficazes na desestabilização e precipitação desses compostos, não sendo possível a separação das cianotoxinas nas etapas seguintes da potabilização (CHORUS & BARTRAM, 1999).

É nesse contexto que a presente pesquisa se enquadra, buscando avaliar a eficiência de técnicas de tratamento de água na remoção de saxitoxinas, dentre elas a adsorção em carvão ativado em pó, e oxidação empregando o hipoclorito de cálcio, como alternativas de mais fácil aplicabilidade nas estações brasileiras.



## **2. OBJETIVO**

### **2.1. *Objetivo Geral***

Avaliar a eficiência de duas técnicas de tratamento (adsorção e oxidação) na remoção de saxitoxinas produzida por *C. raciborkii*, em escala da bancada.

### **2.2. *Objetivos Específicos***

- Avaliar a aplicabilidade e eficiência de três tipos de carvão ativado em pó na remoção de saxitoxinas;
- Avaliar a aplicabilidade e a eficiência da pós-oxidação utilizando o hipoclorito de cálcio na remoção de saxitoxinas.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1. *Florações de Cianobactérias Tóxicas*

A ocorrência de florações de cianobactérias em reservatórios utilizados para abastecimento público tem sido atribuída à eutrofização das águas. Em diversos mananciais ocorrem florações de cianobactérias, sazonais ou como consequência de atividades antrópicas isoladas que podem acarretar problemas relacionados à saúde pública.

Esta eutrofização artificial produz mudanças na qualidade da água incluindo: a redução de oxigênio dissolvido, a perda das qualidades cênicas, ou seja, as características estéticas do ambiente e seu potencial para lazer, a mortalidade de peixes e o aumento da incidência de florações de microalgas e cianobactérias. Apresentam também consequências negativas sobre a eficiência e o custo de tratamento da água. Estas florações ou “blooms” caracterizam-se pelo intenso crescimento desses microrganismos na superfície da água, formando uma densa camada de células com vários centímetros de profundidade (AZEVEDO & BRANDÃO, 2003).

As florações de cianobactérias são geralmente precedidas por enriquecimento de nutrientes no meio, que coincidem com alterações ambientais favoráveis tais como, estratificação na coluna d'água, aumento da temperatura d'água (25 a 30°C), baixa relação nitrogênio/fósforo, vento fraco, pH neutro a alcalino e ausência de predadores (PAERL, 1988; REYNOLDS, 1998; MUR *et al.*, 1999).

Entre os diversos impactos das cianobactérias sobre a qualidade da água, destacam-se a produção de odores e sabores, bem como a sua interferência em certos processos de tratamento de água. Entretanto, a principal preocupação com o aumento da ocorrência de florações de cianobactérias em mananciais de abastecimento de água refere-se à capacidade desses microrganismos de produzir e liberar para o meio líquido toxinas (cianotoxinas) que podem afetar a saúde humana, tanto pela ingestão como por contato em atividades de recreação na ambiente, ou ainda pelo consumo de pescado contaminado (AZEVEDO & BRANDÃO, 2003).

As florações de cianobactérias nem sempre são compostas de espécies tóxicas (YOO *et al.*, 1995), contudo, estudos têm demonstrado que 50 a 70% das florações de cianobactérias são constituídos por espécies com tal toxicidade (SIVONEN *et al.*, 1990; VASCONCELOS, 1994; YOO *et al.*, 1995). A ocorrência de florações de cianobactérias tóxicas não é um fenômeno local, regional ou específico de um só país, mas de proporções globais. A maioria dos corpos hídricos eutróficos ou hipertróficos, normalmente, favorece o desenvolvimento destes organismos (CHORUS & BARTRAM, 1999).

### **3.2. Ocorrência de Florações de Cianobactérias no Brasil**

O Brasil possui um grande número de reservatórios, a maioria localizados na Região Sudeste. Estes reservatórios contribuíram acentuadamente para a geração de energia hidrelétrica, visto que é grande a quantidade de rios com elevado potencial para este aproveitamento. Contudo, outros usos de importância econômica e social vêm sendo aplicados a estas construções, destacando-se o fornecimento de água para abastecimento, irrigação de culturas, lazer, recreação, piscicultura, transporte entre outros.

Nas últimas décadas, muitos reservatórios do Brasil vêm sofrendo descargas de despejos domésticos e industriais, bem como o carreamento de solos para o interior dos corpos d' água juntamente com uma série de subprodutos de atividades agropecuárias, provocados pelo intenso desmatamento, associado à prática de monoculturas. Em decorrência destas atividades, tem sido verificado o aumento da poluição orgânica, implicando no aumento da eutrofização e na toxicidade das águas.

Estudos realizados em reservatórios brasileiros têm demonstrado a ocorrência de ambientes em condições de eutrofia e hipertrofia. Ambientes com concentrações de P-total entre 50-660µg/L, pH levemente alcalino (7,0 a 9,0); baixa profundidade (2,8 a 14 metros), temperatura da água relativamente alta (acima de 20 °C) e razão N/P total entre 2 e 19 são ambientes adequados para proliferação e manutenção dos florescimentos de cianobactérias (SANT'ANNA & AZEVEDO, 2000)

De acordo com Sant'Ana e Azevedo (2000) existem no Brasil, cerca de 20 espécies de 14 gêneros de cianobactérias tóxicas, porém, em vários estados brasileiros, principalmente

aqueles situados nas regiões Norte, Nordeste e Centro Oeste, os dados continuam subestimados.

Padisak (1997), em um trabalho de revisão, alerta que a espécie *C. raciborskii* vem se tornando a mais notória cianobactéria no mundo, devido a sua capacidade de formar florações e aos seus elevados potenciais hepatotóxico e neurotóxico. Amand (2002) reporta a proliferação e o domínio do gênero *Cylindrospermopsis* nos últimos 15 anos no continente norte-americano, principalmente em lagos e reservatórios nas regiões Norte e Oeste dos EUA.

No Brasil, na última década, uma série de estudos tem reforçado esta tendência de grande aumento na ocorrência da espécie *C. raciborskii* em diferentes regiões do país (AZEVEDO & BRANDÃO, 2003).

### **3.3. Ocorrência de Florações de Cianobactérias em Minas Gerais**

Em Minas Gerais, Jardim *et al.* (1999) verificaram a ocorrência de cianobactérias tóxicas nas represas de Vargem das Flores, localizada na região metropolitana de Belo Horizonte, de Furnas, na cidade de Alfenas, na Lagoa de Confins localizada na cidade de Confins, e nos mananciais das cidades de Medina e Pedra Azul na Região Norte do Estado. Neste estudo mereceu destaque o ocorrido na cidade de Confins. Esta cidade possui aproximadamente 5.000 habitantes e está situada na região metropolitana de Belo Horizonte, próxima ao aeroporto internacional. Localiza-se geologicamente no Maciço de Bambuí, uma região de rochas calcárias, formando um terreno cárstico. Possui duas lagoas urbanas, intituladas Lagoa de Cima e Lagoa de Baixo, com área aproximadamente de 2 e 4 hectares, respectivamente. Por serem cársticas, comunicam-se por meio do subsolo. Em setembro de 1998, ocorreu uma mortandade de tilápias na Lagoa de Baixo provavelmente decorrente de toxinas de *Cylindrospermopsis raciborskii*. Diante do ocorrido, a Copasa (Companhia Saneamento de Minas Gerais) recomendou a interdição provisória das lagoas para evitar a contaminação da população ribeirinha e dos poços da região.

Na cidade de Alfenas, localizada na região Sul do Estado, cujo abastecimento de água é realizado por meio do tratamento convencional, a água da represa de Furnas ocorreu, segundo Jardim *et al.* (1999), a partir de agosto de 1998 o predomínio de três espécies de cianobactérias potencialmente tóxicas – *Radiocystis fernandoi*, *Microcystis viridis* e

*Cylindrospermopsis raciborskii*, sendo necessário o monitoramento semanal de cianobactérias e substituição do fornecimento de água potável para as clínicas de hemodiálise.

### **3.4. Cianobactérias: Definições e Características Gerais**

As cianobactérias, anteriormente designadas como cianofíceas ou algas azuis, são organismos procariontes fototróficos pertencentes à classe *Cyanophyceae*, ao filo *Cyanophyta* e reino Monera. São organismos microscópicos, podendo ser unicelulares, filamentosas ou coloniais, que apresentam características de algas, pois contêm clorofila-a e realizam fotossíntese e de bactérias, pois são procariotes e possuem parede celular semelhante à das bactérias.

Em termos de pigmentos fotossintéticos, além da clorofila-a (pigmento verde), as cianobactérias também apresentam carotenóides e pigmentos acessórios como ficocianina, aloficocianina e ficoeritrina (ficobiliproteínas).

Algumas espécies podem apresentar uma vantagem ecológica no que diz respeito à regulação do seu posicionamento na coluna d'água, por serem dotadas de vacúolos de ar que lhe possibilitam a migração vertical para a superfície, a fim de otimizar a captação da luz para a fotossíntese (PAERL *et al.*, 1983)

Uma das características marcantes das cianobactérias é sua capacidade de crescimento nos mais diferentes meios, embora ambientes de água doce (pH variando entre 6 e 9), com temperatura na faixa de 15 a 30°C, e alta concentração de nutrientes (principalmente fósforo e nitrogênio) favoreçam ao seu crescimento.

As cianobactérias apresentam uma considerável diversidade morfológica, variando em tamanho e forma, desde indivíduos pequenos (0,5 a 100 µm) a grandes agregações de mais de 100 células. Sua morfologia básica pode variar de uma constituição unicelular colonial ou multicelular a uma forma filamentosa.

As formas unicelulares possuem células esféricas, cilíndricas ou ovóides. A forma filamentosa é típica de um grande número de espécie de cianobactérias e, dependendo da espécie, pode crescer aderida, com filamentos livres (denominados tricoma) ou formando uma camada com aspecto de uma malha entrelaçada, com filamentos variando de retilíneos a espirais (YOO *et al.*, 1995).

Em algumas espécies de cianobactérias, entre as quais *C. raciborskii*, podem existir formas especializadas de células no tricoma, conhecidas como heterocitos, diferenciadas e que permitem ao organismo fixar nitrogênio atmosférico, peculiar característica que sobrepõe uma vantagem evolutiva sobre outras espécies não fixadoras. Estas espécies convertem o nitrogênio diretamente em amônio e depois o utilizam nos processos metabólicos como fonte de energia. Outra estrutura morfológica presente em algumas espécies e que confere uma vantagem evolutiva é o acineto, que se caracteriza como estrutura reprodutiva e de resistência quando o organismo permanece no estado latente, permitindo a sobrevivência da cianobactéria em condições desfavoráveis (YOO *et al.*, 1995).

### **3.5. Cianotoxinas**

As cianotoxinas são produtos do metabolismo secundário de cianobactérias, constituindo um grande grupo de toxinas naturais, podendo apresentar estrutura química e propriedades toxicológicas diversas (SIVONEN & JONES, 1999).

Algumas dúvidas ainda persistem em relação à possível vantagem adaptativa na produção de cianotoxinas pelas cianobactérias. A hipótese mais aceita é a de que estes compostos tóxicos tenham função de defesa, como a dos anti-herbivoros produzidos por algumas plantas, que inibem a ação de predadores, ou de algas competidoras (CARMICHAEL, 1992)

As cianotoxinas podem ser incluídas em três grandes grupos, relacionados às suas estruturas químicas: os peptídeos cíclicos, os alcalóides e os lipopolissacarídeos. Entretanto, também podem ser classificadas levando-se em consideração sua ação farmacológica. Nesse sentido, as principais classes de cianotoxinas até agora identificadas são as hepatotoxinas e as neurotoxinas.

#### **3.5.1. Classificação das cianotoxinas**

Na Tabela 3.1 apresenta-se um resumo das substâncias tóxicas específicas produzidas pelas cianobactérias, identificando os diferentes gêneros de cianobactérias produtoras e os principais órgãos humanos afetados.

Tabela 3.1 – Aspectos gerais das cianotoxinas

Grupo de Toxinas	Órgãos Afetados	Gêneros de cianobactérias
	<b>Peptídeos Cíclicos</b>	
Microcistinas	Fígado	<i>Microcystis, Anabena, Planktothrix (Oscillatoria), Nostoc, Hapalosiphon, Anabaenopsis, Nodularia</i>
Nodulárias	Fígado	
	<b>Alcalóides</b>	
Anatoxina-a	Sinapse nervosa	<i>Anabaena, Planktothrix (Oscillatoria), Aphanizomenon, Anabaena</i>
Anatoxina-a (S)	Sinapse nervosa	
Aplisiatoxina	Pele	<i>Lyngbya, Schizothrix, Planktothrix (Oscillatoria)</i>
Cilindrospermopsina	Fígado	<i>Cylindrospermopsis, Aphanizomenon, Umezakia, Lyngbya</i>
Ligbiatoxina	Pele, trato-gastro-intestinal	
Saxitoxina	Axônio da célula nervosa	<i>Anabaena, Cylindrospermopsis, Aphanizomenon, Lyngbya</i>
	<b>Lipopolissacarídeos (LPS)</b>	
Lipopolissacarídeos	Irritante potencial, afeta alguns tecidos expostos	Todos

Fonte: SIVONEN & JONES, 1999

### 3.5.1.1. Hepatotoxinas

- Microcistinas e Nodulárias

A maioria dos envenenamentos por cianobactérias envolve hepatotoxicoses agudas. A intoxicação apresenta-se lenta, podendo levar a morte.

As hepatotoxinas peptídicas já caracterizadas são heptopeptídeos cíclicos conhecidos como microcistinas e pentapeptídeos designados como nodularinas.

A estrutura geral das microcistinas é D-Ala<sup>1</sup>-X<sup>2</sup>-D-MeAsp<sup>3</sup>-Z<sup>4</sup>-Adda<sup>5</sup>-D-Glu<sup>6</sup>-Mdha<sup>7</sup>, onde X e Z são L-aminoácidos variáveis, D-MeAsp é D-eritro ácido metilaspártico e Mdha é N-metildeidroalanina (CARMICHAEL, 1988). Adda é o ácido 3-amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10-fenil-deca-4,6-dienóico. Esta substância também está presente nas nodularinas e foi determinado como um dos responsáveis pela atividade biológica dessas hepatotoxinas (HARADA *et al.*, 1990).

Variações estruturais foram encontradas em todos os sete aminoácidos, sendo mais frequentes a substituição nas posições 2 e 4, e a demetilação de aminoácidos na posição 3 e/ou 7. No Brasil, foi identificada a presença de microcistina com substituição na posição 1 (D-Leu<sup>1</sup> no

lugar de D-Ala<sup>1</sup>) (MATTHIENSEN *et al.*, 2000). A nomenclatura das microcistinas foi proposta por Carmichael. (1988), e baseia-se nas variações qualitativas observadas nos dois L-aminoácidos da toxina, como por exemplo, microcistina-LR (leucina-arginina); microcistina-RR (arginina-arginina). Atualmente, já se tem cerca de 60 análogos de microcistina caracterizados.

A hepatotoxina foi primeiramente isolada da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* e suas toxinas denominadas microcistinas (HARADA *et al.*, 1988). As microcistinas são solúveis em água e incapazes de penetrar diretamente nas membranas lipídicas das células, exceto aquelas poucas hidrofóbicas. Essas hepatotoxinas são internalizadas nos hepatócitos por meio dos receptores dos ácidos biliares (FALCONER, 1991). Uma vez dentro das células, promovem uma desorganização dos filamentos intermediários e microfilamentos de actina, ocasionando a desestruturação do citoesqueleto dos hepatócitos. Como consequência, o fígado perde sua arquitetura e desenvolve graves lesões internas. A perda de contato entre as células cria espaços internos preenchidos pelo sangue que passa a fluir dos capilares para esses locais, provocando uma hemorragia intra-hepática (CARMICHAEL, 1994).

A toxicidade da microcistina em animais de laboratório apresenta DL<sub>50</sub>(i.p) – Dose letal intraperitoneal em 50% dos camundongos - entre 25 e 150 mg/kg de peso corpóreo e entre 5.000 e 10.900 µg/kg de peso corpóreo por administração oral (CHORUS & BARTRAM, 1999).

As nodularinas foram primeiramente identificadas na espécie *Nodularia spumigena* (SIVONEN *et al.*, 1989). A estrutura química dessa toxina é D-MeAsp<sup>1</sup>-L-arginina<sup>2</sup>-Adda<sup>3</sup>-D-glutamato<sup>4</sup>-Mdhb<sup>5</sup>, onde Mdhb é o ácido 2-metilamino-2- deidrobutírico. Atualmente são conhecidas oito nodularinas distintas, classificadas de acordo com as variações no grau de metilação, composição e isomerização de seus aminoácidos. A DL<sub>50</sub> (i.p.) varia entre 50 a 200 µg/kg de peso corpóreo (RINEHART *et al.*, 1994).

Em humanos, os efeitos da intoxicação por hepatotoxinas incluem distúrbios gastrointestinais, pneumonia atípica, dor de cabeça elevação da concentração de determinadas enzimas no fígado. Devido à similaridade entre os efeitos promovidos pelas microcistinas e nodularinas, assume-se que ambas conferem o mesmo risco à saúde humana (FITZGERALD *et al.*, 1991).



- Cilindropermopsina

A cilindropermopsina é constituída por um alcalóide hepatotóxico, cujo mecanismo de ação se dá por inibição da síntese protéica. Têm sido observados também danos severos em células renais, pulmonares e cardíacas (HAWKINS *et al.*, 1985 HAWKINS *et al.*, 1997)

A DL<sub>50</sub> (i.p) após 24 horas é de 2 mg/kg de peso corpóreo, enquanto que após cinco dias a DL<sub>50</sub> (i.p) passa a ser de 0,2 mg/kg (TERAO, 1994).

### 3.5.1.2. Neurotoxinas

- Anatoxina-a e Homonoanatoxina-a

Anatoxina-a e homonoanatoxina-a são alcalóides com potente efeito despolarizador neuromuscular, o qual causa excitação e fadiga dos músculos envolvidos com a respiração. A anatoxina-a apresenta um alcalóide como forma estrutural, constituído pela amina secundária 2-acetil-9-azabicyclo (4-2-1)-no-2-eno (DEVLIN *et al.*, 1977 apud SIVONEN & JONES, 1999). O mecanismo de ação da anatoxina-a é o de minimizar o neurotransmissor acetilcolina. Este mecanismo é letal porque esta toxina não pode ser degradada pela acetilcolinesterase, nem por outra enzima de células eucarióticas e, conseqüentemente, permanece disponível e promove uma intensa excitação das células musculares. Normalmente, as moléculas de acetilcolina ligam-se aos seus receptores, localizados nas células musculares, induzindo, dessa forma, a contração dessas células. A seguir, a enzima acetilcolinesterase degrada a acetilcolina, possibilitando que os receptores e, conseqüentemente, as células musculares, retornem ao estado de repouso. A anatoxina-a é capaz de se ligar aos receptores de acetilcolina e, assim, promover a contração, porém, conforme mencionado, não pode ser degradada pela acetilcolinesterase. Assim, a contração das células musculares, torna-se permanente, levando à sua disfunção (CARMICHAEL, 1994)

As homoanatoxinas-a são homólogos às anatoxinas-a. Sua ação é de se ligar irreversivelmente aos receptores de acetilcolina, pois não são degradadas pela acetilcolinesterase.

A DL<sub>50</sub> de ambas varia de 200-250 µg/kg de peso corpóreo, com tempo de sobrevivência de minutos. Os sinais clínicos de envenenamento por injeção dessas toxinas são: desequilíbrio,

fasciculação muscular, respiração ofegante e convulsões. A morte ocorre devido à parada respiratória (CHARMICHAEL, 1992; FALCONER, 1991).

- Anatoxina-a (S)

É um organofosforado natural e tem mecanismos de ação semelhante à anatoxina-a. A DL50 (i.p) é de 20 µg/kg de peso corpóreo (CHARMICHAEL *et al*, 1990)

- Saxitoxinas

Saxitoxinas é a denominação atribuída a um grupo de neurotoxinas conhecidas como toxinas paralisantes, originárias de moluscos (*Paralytic Shellfish Poisons- PSP*), tendo sido primeiramente isoladas de dinoflagelados marinhos, repensáveis pela ocorrência de marés vermelhas.

São constituídas por um grupo de alcalóides carbamatos (Figura 3.1) que podem ser não sulfatados (saxitoxina, neosaxitoxina), como um único grupamento sulfatado (goniautoxina), ou por dois sulfatos (C-toxina). Além dessas, estruturas como grupamento de decarbamoil (dcSTX ou dcGTX) e novas toxinas relacionadas têm sido recentemente isoladas (SIVONEN e JONES, 1999).

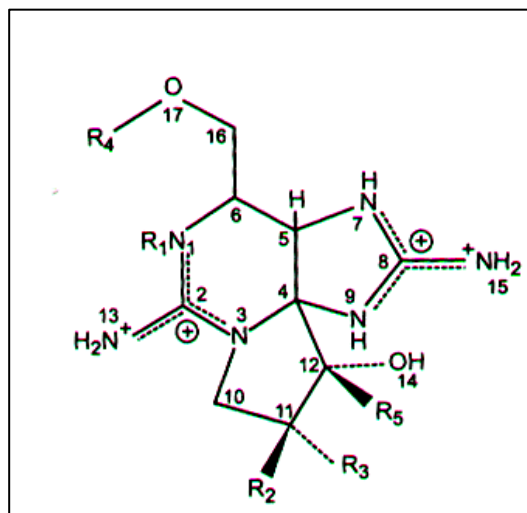


Figura 3.1 – Estrutura geral das saxitoxinas

Fonte: SIVONEN & JONES, 1999

Na Figura 3.1 as letras R1 a R5 correspondem a grupos químicos variáveis na molécula. Na Tabela 3.2 apresentam-se os tipos de saxitoxinas já caracterizadas em diferentes cepas de cianobactérias.

Tabela 3.2 - Tipos de saxitoxinas caracterizadas a partir de diferentes cepas de cianobactérias

Nome da toxina	Grupos químicos variáveis nas toxinas					Toxicidade relativa*
	R1	R2	R3	R4	R5	
STX	H	H	H	CONH <sub>2</sub>	OH	1
GTX2	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CONH <sub>2</sub>	OH	0,359
GTX3	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	CONH <sub>2</sub>	OH	0,638
GTX5	H	H	H	CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	OH	0,064
C1	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	OH	0,006
C2	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	OH	0,096
neoSTX	OH	H	H	CONH <sub>2</sub>	OH	0,924
GTX1	OH	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CONH <sub>2</sub>	OH	0,994
GTX4	OH	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	CONH <sub>2</sub>	OH	0,726
GTX6	OH	H	H	CONHSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	OH	-
dcSTX	H	H	H	H	OH	0,513
dcGTX2	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	OH	0,651
dcGTX3	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	H	OH	0,754
LWTX1	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	COCH <sub>3</sub>	H	-
LWTX2	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	COCH <sub>3</sub>	OH	-
LWTX3	H	H	OSO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	COCH <sub>3</sub>	OH	-
LWTX4	H	H	H	H	H	-
LWTX5	H	H	H	COCH <sub>3</sub>	OH	-
LWTX6	H	H	H	COCH <sub>3</sub>	H	-

Fonte: SIVONEN & JONES, 1999

STX – saxitoxina dcSTX – decarbamoilsaxitoxinas GTX – goniatoxinas

C – C-toxinas LWTX – toxinas de *Lyngbya wollei* neoSTX - neosaxitoxina

\* dados de toxicidade relativa baseados em OSHIMA (1995).

As toxinas paralisantes interferem na comunicação entre os neurônios e as células musculares. As PSP inibem a condução nervosa por bloqueio dos canais de sódio, afetando a permeabilidade ao potássio ou a resistência das membranas. A toxicidade desse grupo é bastante variável, sendo a saxitoxina a mais potente. A DL<sub>50</sub> (i.p) para saxitoxinas purificada é de 10 µg/kg de peso corpóreo, enquanto que por consumo oral a DL<sub>50</sub> é de aproximadamente de 263 µg/kg de peso corpóreo (CHORUS & BARTRAM, 1999).

Não há, até o momento, nenhum registro confirmado de mortes humanas causadas por toxinas paralisantes produzidas por cianobactérias. Entretanto, alguns gêneros de dinoflagelados marinhos, que também produzem estas toxinas, já foram responsáveis por mortes de seres humanos, os quais consumiram moluscos que haviam acumulado toxinas paralisantes durante eventos de marés vermelhas (ANDERSON, 1994; CHORUS & FASTNER, 2001).

A Portaria 518 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2004) recomenda a expressão do valor máximo permitido (VMP) desses alcalóides em equivalentes da saxitoxinas para um valor que representa a toxicidade total da amostra, na forma da variante mais tóxica, ou seja, em saxitoxina. Portanto, por meio da equação 3.1 adaptada por Oshima (1995), pode-se converter o valor quantificado em cada uma das variantes do grupo das saxitoxinas detectadas, na forma de equivalentes de saxitoxinas (eq. STX), de acordo com a Equação 3.1.

$$\boxed{\text{eqSTX} = \sum [(C_i * T_i)]} \quad (3.1)$$

Na qual:

$C_i$  = concentração de toxina ( $\mu\text{g/L}$ );

$T_i$  = toxicidade relativa da toxina.

### **3.6. Métodos para Detecção e Quantificação de Saxitoxinas**

#### **3.6.1. Armazenamento, preservação e extração das amostras**

As amostras para análise de cianotoxinas devem ser armazenadas sob refrigeração em local escuro pelo menor tempo possível, para evitar a degradação da toxina. Quando um tempo maior de armazenamento é necessário, as amostras devem ser congeladas (HARADA *et al.*, 1999).

Com o armazenamento, as cianotoxinas podem sofrer degradação, levando a uma subestimação da concentração da toxina, porém no caso das saxitoxinas, existe uma outra preocupação, que é a questão da transformação de uma variante em outra. Devido as diferentes toxicidades das variantes de saxitoxinas, pode-se até aumentar ou diminuir a toxicidade de uma amostra durante o armazenamento (SHIMIZU & YOSHIOKA, 1981; GARCIA *et al.*, 2004; JONES e NEGRI, 1997).

Afonso *et al.*, (1994) verificaram que a saxitoxina é mais estável que a neosaxitoxina, pois manteve-se por 18 meses sem perder sua toxicidade, diluída em solução ácida. Enquanto que a neosaxitoxina em solução ácida a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  quase desapareceu em 1 ano. Esses autores atribuem à instabilidade da neosaxitoxina a transformação em outras toxinas.

As saxitoxinas (STX, neoSTX, GTX-1, GTX-2, GTX-3, GTX-4, GTX-5, C1, C2) mostraram-se mais estáveis em pH de 3 a 4 e em temperaturas abaixo de  $-35^{\circ}\text{C}$ , sendo as mais estáveis a STX seguida pela neoSTX (INDRASENA e GILL, 2000). Essas toxinas mantêm sua toxicidade quando aquecidas a baixo pH, por 4 a 12 meses a temperatura de  $5^{\circ}\text{C}$ . Entretanto, para pH 7 e temperatura ambiente, a toxicidade decresce rapidamente (INDRASENA & GILL, 1999).

A extração de saxitoxinas é executada em meio ácido fraco: ácido acético, ácido clorídrico e metanol acidificado. Após a extração de saxitoxinas, essas passam por processos de purificação que visa remover impurezas que possam interferir no momento da análise. Quando não é realizada a purificação da amostra, o cromatograma pode apresentar picos que mascaram o resultado, devido à presença de outras substâncias que eluem simultaneamente com a toxina, provocando uma superestimação (HARADA *et al.*, 1999).

### **3.6.2. Métodos de detecção**

Os métodos mais utilizados na detecção, quantificação e identificação de toxinas em florações de cianobactérias compreendem bioensaios, testes imunoensaios competitivos (Elisa) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

#### **3.6.2.1. Bioensaios**

Em relação aos bioensaios, a toxicidade é testada pela injeção intraperitoneal (i.p) em camundongos de uma amostra com material obtido da lise de cianobactérias. A desvantagem dos bioensaios em camundongos é que eles não detectam pequenas quantidades de toxinas não permitem quantificar com precisão a concentração de toxinas em uma amostra e são incapazes de distinguir as toxinas análogas. Além disso, deseja-se minimizar o uso de mamíferos em testes de laboratórios (CARMICHAEL, 1992)

A toxicidade é expressa como  $DL_{50}$  (dose letal em 50% dos camundongos) na unidade de mg de peso seco de células de cianobactéria por kg de peso corpóreo do camundongo. Os valores são classificados da seguinte forma (LAWTON *et al.*, 1994b):

- > 1.000: - não tóxica
- 500 – 1.000 - toxicidade baixa
- 100- 500 - toxicidade mediana
- < 100- toxicidade alta

Os sintomas apresentados por camundongos, após intoxicação por saxitoxinas são: sinal de contração muscular, taquicardia, respiração ofegante e parada respiratória, levando à morte em poucos minutos.

### 3.6.2.2. Testes de Imunoensaios Competitivos

A detecção de cianotoxinas, mais precisamente de microcistinas, por testes imunoensaios competitivos (Elisa) foi desenvolvida a partir de anticorpos monoclonais e policlonais (CHORUS & BARTRAM, 1999). O uso deste método responde a uma variedade de microcistinas, mas não distingue as microcistinas de acordo com a sua toxicidade relativa.

O teste Elisa (*Enzyme Linked Sorbent Assay*) é uma técnica de detecção imunológica de fácil operação, rápido resultado e de grande sensibilidade, sendo inclusive mais sensível do que o cromatográfico para determinar traços de microcistinas na água. Entretanto, algumas variantes de microcistinas não apresentam reatividade com os anticorpos usados em Elisa, não sendo, portanto, detectadas (CARMICHAEL, 1994). Em razão disto, o recomendado para programas de monitoramento de cianotoxinas na água, principalmente de microcistinas, é que o teste imunoensaio competitivo seja suplementado com análise qualitativa por métodos cromatográficos (HENRIKSEN & MOESTRUP, 1997).

A interpretação dos resultados apresentados pelo Elisa é feita fotometricamente a 450 nm. A absorbância é proporcionalmente inversa à concentração de cianotoxina na amostra. Os valores de absorbância obtidos pelos padrões são inseridos em um sistema de coordenadas semi-logarítmica versus concentração da cianotoxina, obtendo desta forma a curva de calibração. Por meio desta determina-se a concentração de cianotoxina na amostra.

O desenvolvimento de um sistema de imunodiagnóstico para detecção de saxitoxinas teve como objetivo inicial a substituição do bioensaio com camundongos no monitoramento de mariscos (CEMBELLA *et al.*, 1995).

O método Elisa para saxitoxinas baseia-se na identificação do antígeno (saxitoxinas), por meio de anticorpos específicos fixos na placa de quarenta e oito cavidades. Em cada cavidade é adicionada a amostra, e em seguida o anticorpo e o conjugado. Este conjugado é composto de antígeno (saxitoxina padrão) ligado a uma enzima. A saxitoxina livre (amostra) e a enzima conjugada competem para se ligar ao anticorpo. Após a reação, toda a enzima conjugada não ligada é removida em uma etapa de lavagem. O substrato da enzima (peróxido de uréia) e o cromogênio (tetrametilbenzidine) são adicionados aos poços e incubados. A enzima conjugada ligada ao anticorpo da placa converte o cromogênio incolor em um produto azul. A adição da solução finalizante conduz a uma mudança da cor de azul ao amarelo.

A medida espectrofotométrica é feita em 450 nm. A absorção é inversamente proporcional à concentração da saxitoxina na amostra. Na Figura 3.2 apresenta-se a placa do kit Elisa para saxitoxinas.

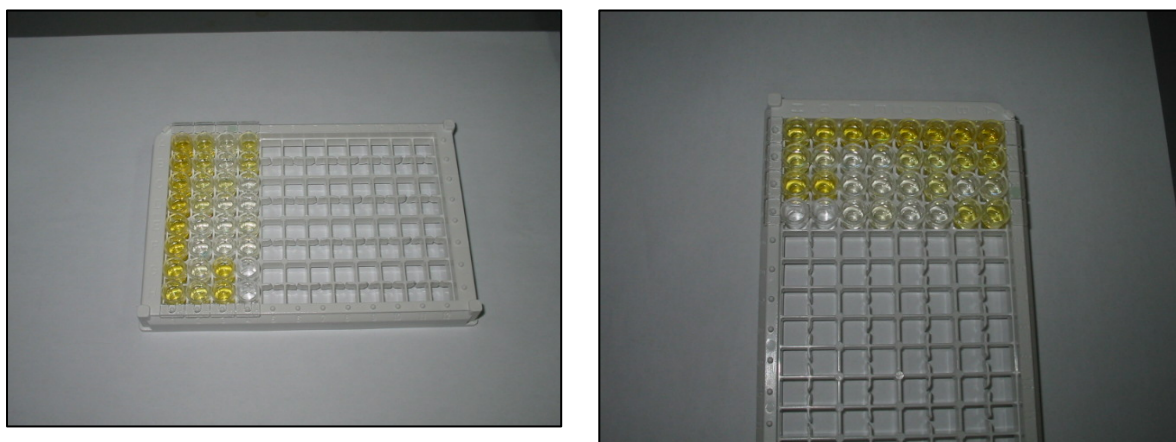


Figura 3.2 - Placa Elisa para análises de saxitoxinas

O método do teste imunoensaio competitivo para análise quantitativa de saxitoxinas equivalentes em mexilhões desenvolvido pela *Ridascreen®Fast Saxitoxin* apresenta reatividade de 100% para saxitoxina (STX), 20% para saxitoxina decarmobil (dcSTX), 70% para goniautoxinas II e III (GTX2 e GTX3) e 12% para neosaxitoxinas. Vale ressaltar que este *kit* foi desenvolvido para detectar saxitoxinas em carne de mexilhão com limite de

detecção de 50 ppb. Portanto, verifica-se a necessidade de estudos de eficiência do uso destes *kits* para detecção de saxitoxinas em águas contaminadas por estas toxinas.

### 3.6.2.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A metodologia usada na separação, quantificação e identificação de cianotoxinas consiste na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para detecção de saxitoxina o método utilizado é a derivatização pós coluna e detecção de fluorescência (OSHIMA, 1995). Embora este método seja o mais satisfatório, requer a utilização de três fases móveis diferentes para que se possa analisar as saxitoxinas.

De acordo com Oshima, 1995 as condições para análises de saxitoxinas são apresentadas na Tabela 3.3

Tabela 3.3 - Condições adotadas para análises de saxitoxinas

Parâmetro	Condição ou descrição
Coluna	Coluna de fase reversa C8 ligada a sílica gel
Fase móvel ( para STX, neoSTX e dcSTX)	
Vazão	0,8 ml/min
Composição	heptanosulfonato de sódio (2mM) em 30mM de fosfato de amônia, pH 7,1 e concentração de 10:5 de acetonitrila
Reagente oxidante	
Vazão	0,4 ml/min
Composição	7mM de ácido periódico em 50mM de tampão fosfato de potássio, pH 9,0
Reação	Tubo de Teflon ( 10m, 0,5 mm id) aquecido a 85°C
Acidificante	
Vazão	0,4 ml/min
Composição	ácido acético (500mM)
Detecção	
Excitação	330 nm
Emissão	390 nm

Fonte: Oshima, 1995

O sistema constitui-se de uma bomba para a fase móvel, um sistema injetor de amostra *loop* de 20 µl, uma coluna de fase reversa C8 (150 x 4,6 mm ou 4,6 x 250 mm d.i), duas bombas peristálticas sendo uma para injeção do ácido periódico e outra para o tampão fosfato de potássio, um reator pós coluna de um tubo de Teflon (10 m de comprimento e 0,5 mm de diâmetro interno) aquecido a 85 °C, uma terceira bomba peristáltica para injeção de ácido e o



detector de fluorescência. Na Figura 3.3 apresenta-se de forma esquemática o sistema descrito acima.

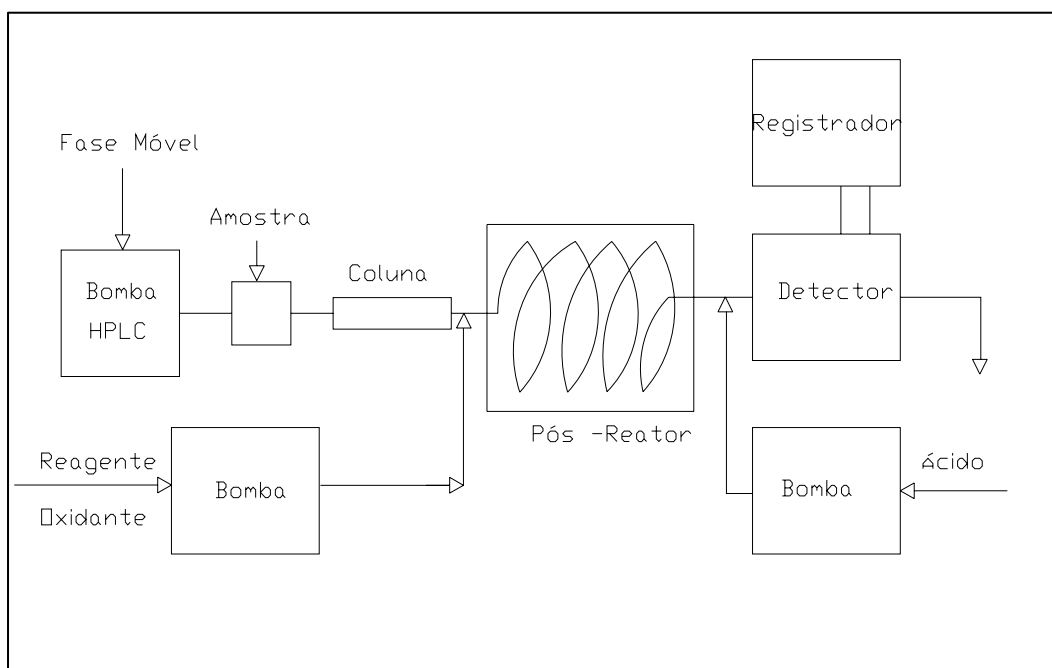


Figura 3.3 – Sistema de CLAE com reator pós-coluna para análise de saxitoxina

As moléculas de saxitoxinas são oxidadas no tubo de Teflon a 85°C, tornando-se fluorescentes. O ácido acético é responsável por frear a reação de oxidação após sua passagem pelo reator e antes da leitura no detector de fluorescência. Isto não se aplica às neo-saxitoxinas, que são naturalmente fluorescentes e não precisam passar pelo processo de derivatização para quantificação em CLAE.

Outro procedimento para análise de saxitoxinas por CLAE seria a derivatização pré-coluna (JANECEK *et al.*, 1993; LAWRENCE *et al.*, 1995; VALE E SAMPAIO, 2001). A principal desvantagem deste método seria que certas saxitoxinas produzem o mesmo derivativo com a oxidação pré-coluna. Assim, para algumas situações, apenas a concentração total de toxina pode ser determinada por esse método e não a composição e quantidade absoluta de cada toxina.

### 3.7. Padrões e Limites de Cianotoxinas na Água

A magnitude do problema de cianotoxinas para a saúde no Brasil é ainda relativamente pouco conhecida, contudo, a legislação brasileira – Portaria 518, 25 de março de 2004 do Ministério da Saúde, que é o essencialmente o mesmo conteúdo da Portaria 1469/2000, estabelece a

obrigatoriedade do monitoramento da microcistinas e recomendações das cianotoxinas como saxitoxinas e cilindropermopsinas na água potável (BRASIL, 2004). O limite de concentração máximo aceitável é de 1 µg/L de equivalentes de microcistina e recomenda 3 µg/l de equivalente de saxitoxina e 15 µg/L para cilindropermopsinas.

De acordo com a Portaria 518/2004, o monitoramento de cianobactérias na água do manancial, no ponto de captação, deve obedecer a uma frequência mensal, quando o número de cianobactérias não exceder 10.000 células/ml (ou 1mm<sup>3</sup>/L de biovolume), e semanal, quando exceder este valor. Exige-se também, quando o número de cianobactérias no ponto de captação do manancial exceder 20.000 células/ml (ou 2 mm<sup>3</sup>/L de biovolume), análise semanal de cianotoxinas, na água de saída do tratamento, nas entradas das clínicas de hemodiálise e nas indústrias de injetáveis.

Também é vetado o uso de algicidas para o controle de crescimento de cianobactérias ou qualquer intervenção no monitoramento que provoque a lise das células destes microrganismos, quando a concentração de cianobactérias exceder 20.000 células/ml (ou 2 mm<sup>3</sup>/L de biovolume), sob pena do comprometimento da avaliação de riscos à saúde associados às cianotoxinas.

### **3.8. Evidências de Intoxicação Humana por Cianobactérias**

As intoxicações de seres humanos por cianotoxinas podem ocorrer pelo contato com a água contendo células tóxicas, pelo consumo de peixes de locais contaminados ou pelo consumo de água. O maior problema para a saúde pública resulta da toxina liberada pelas células na água, fazendo-se com que o ser humano encontre-se regularmente exposto a doses subletais da cianotoxinas, que podem promover a formação de tumores.

No Brasil, foi demonstrada a associação entre florações de cianobactérias no reservatório de Itamaracá (BA) e a morte de 88 pessoas, entre 2.000 intoxicados pelo consumo de água contaminada. Na água bruta deste reservatório foram encontradas espécies dos gêneros *Anabaena* e *Microcystis* em quantidades variando entre 1.104 e 9.755 colônias/ml (TEIXEIRA *et al.*, 1993)

Entretanto, o caso ocorrido em um centro de hemodiálise de Caruaru (PE), em 1996, pode ser considerado um marco na ocorrência de danos à saúde humana devido à ação de cianotoxinas. Neste episódio, 110 pacientes renais crônicos, após terem sido submetidos a sessões de hemodiálise, passaram a apresentar quadro clínico compatível com hepatotoxicose que, no entanto, não era correlacionada com nenhum dos fatores usualmente tidos como causadores desse tipo de intoxicação (JOCHIMSEN *et al.*, 1998; POURIA *et al.*, 1998). Posteriormente, 54 pacientes vieram a falecer, no decorrer de cinco meses após o início dos sintomas. As análises laboratoriais possibilitaram o isolamento e detecção da microcistina-LR nos filtros de carvão ativado usados no sistema de purificação de água do centro de hemodiálise, bem como amostras de sangue e fígado dos pacientes intoxicados (JOCHIMSEN *et al.*, 1998; POURIA *et al.*, 1998). As contagens de fitoplâncton realizados nos anos anteriores demonstraram a presença dos gêneros *Microcystis ssp.*, *Anabaena ssp* e *Anabaenopsis ssp* no reservatório de água, segundo informações confirmadas pelas análises realizadas na época. Esse episódio enfatiza a importância da água utilizada para hemodíálises como rota de exposição para as microcistinas (CARMICHAEL *et al.*, 2001; AZEVEDO *et al.*, 2002).

### **3.9. Remoção de Cianotoxinas no Tratamento de Água para Abastecimento**

A presença de elevadas concentrações de cianobactérias tóxicas em mananciais de abastecimento público torna necessário o desenvolvimento de técnicas de tratamento de água que contemplem tanto a remoção das células viáveis destes organismos quanto das toxinas dissolvidas.

O tratamento convencional, muito utilizado no Brasil e na maioria dos países, apresenta-se pouco eficiente na remoção da fração dissolvida das cianotoxinas. A remoção desses compostos em águas de consumo humano tem tornado cada vez mais onerosa a operação das estações de tratamento, uma vez que exigem maiores dosagens de produtos químicos e análises sofisticadas capazes de identificar determinados compostos responsáveis por problemas desta natureza em corpos d'água com elevado grau de eutrofização.

A presença de cianotoxinas decorrentes dos mecanismos metabólicos das cianobactérias em águas de consumo humano é, atualmente, um grande desafio para os serviços de saneamento, uma vez que implicam elevados custos no tratamento da água e problemas de saúde pública.

A seguir são apresentadas as técnicas de remoção de cianotoxinas que foram avaliadas no trabalho para remoção de saxitoxinas: adsorção e oxidação.

### **3.9.1. Adsorção**

#### **3.9.1.1. Aspectos Gerais**

O Carvão ativado é capaz de adsorver compostos orgânicos na água que causam sabor e odor, cor, mutagenicidade e toxicidade, incluindo agroquímicos, geosmina, MIB e cianotoxinas em geral. Entretanto, não se pode generalizar que qualquer tipo de carvão (em pó ou granular) irá adsorver qualquer substância orgânica indesejável na água, pois a massa molecular desta está diretamente relacionada ao tamanho dos poros dos grãos do carvão.

O carvão ativado pode ser adquirido em pó ou granulado. O carvão ativado em pó (CAP) é aplicado em forma de suspensão em local que antecede as unidades de filtração, enquanto o carvão ativado granular (CAG) é utilizado em colunas por meio das quais escoar a água filtrada.

No Brasil, são mais comuns os usos do CAP do que do CAG. Geralmente, a suspensão de CAP é adicionada na água bruta, tendo em seguida uma unidade de pré-decantação na qual o carvão é removido após o tempo de contato necessário para adsorver os compostos desejados.

As principais vantagens do CAP em relação ao CAG são o menor investimento inicial e a maior flexibilidade com relação à dosagem aplicada em função de variações na qualidade da água. O CAP apresenta como desvantagens a remoção relativamente baixa de compostos orgânicos voláteis e maior problema para disposição do lodo, já que o CAP contribuirá para aumentar o volume de lodo gerado na estação de tratamento de água (ETA). Em relação ao CAG, o mesmo pode ser reaproveitado após passar por um processo de regeneração em equipamentos especiais.

#### **3.9.1.2. Produção de Carvão Ativado**

A maior parte de materiais compostos essencialmente de carbono podem ser ativados. No Brasil, predominantemente emprega-se madeira, carvão betuminoso, osso, casca de coco, turfa, lignita, etc, que são carbonizados e ativados para criar uma estrutura altamente porosa e de grande área superficial. Acredita-se que as propriedades adsorventes do carvão sejam

devidas à sua grande superfície específica, assim como à distribuição dos poros, e à natureza dos óxidos de superfície.

Os processos mais comuns empregados na produção de carvão são: processo químico e processo físico ou térmico. Quimicamente, a porosidade é obtida pela degradação ou desidratação da estrutura ou pela ação dos gases oxidantes gerados. O produto final é muito macio, o que limita suas aplicações. Termicamente, a porosidade é obtida por meio da remoção de compostos voláteis e dos átomos de carbonos como óxidos gasosos.

Segundo Ladeira (1990), o processo térmico consiste inicialmente na carbonização promovida por meio do aquecimento de matéria-prima, até aproximadamente 700°C, em atmosfera inerte, para desidratar o material e remover os voláteis. Um conteúdo de carbono fixo acima de 80% é necessário na alimentação da etapa seguinte: a ativação. O carvão é ativado por meio do aquecimento a 800 – 1100°C, na presença de agentes levemente oxidantes, tais como vapor d'água, ar ou dióxido de carbono. Durante a ativação, os agentes oxidantes transformam as partes reativas de estrutura de carvão em CO e CO<sub>2</sub>, criando desta forma novos poros.

Existem pelo menos cinco variáveis na ativação do material carbonáceo que podem afetar diretamente a distribuição de tamanhos dos poros, a área superficial, e conseqüentemente, as propriedades adsorventes do carvão:

- A natureza da matéria-prima;
- A composição da atmosfera de ativação;
- A taxa de alimentação na ativação;
- A temperatura de ativação;
- A duração do período de queima do carvão.

O sucesso da produção de carvão depende de se conduzir bem o processo de ativação, fazendo com que a combustão da matéria-prima carbonizada ocorra internamente e não no exterior dos grânulos.

### 3.9.1.3. Características físicas e adsorptivas do carvão ativado

As principais características do carvão dependem da origem do material empregado (vegetal, animal e mineral) e da ativação (física ou térmica e química). Os vários carvões podem ser diferenciados por suas características físicas e adsorptivas. Dentre as características físicas estão a quantidade e a distribuição de tamanhos dos poros, o volume dos poros, o tamanho dos grãos, a massa específica aparente e a massa específica dos grãos.

Segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), os poros podem ser classificados em função do diâmetro como:

- Macroporos: maiores que 50 nm;
- Mesoporos: entre 2 a 50 nm;
- Microporos: menores que 2 nm.

Em relação aos tamanhos dos grãos, o carvão ativado em pó possui grãos compreendidos entre 0,01 e 0,10mm, apresentando, geralmente, 90% inferiores a 0,044 mm.

A massa específica aparente do CAP varia entre 350 a 750 kg/m<sup>3</sup> e depende do material utilizado para a produção do carvão. A massa específica dos grãos molhados varia de 1.300 a 1.500 kg/m<sup>3</sup>.

Os parâmetros mais importantes para avaliar a capacidade adsorptiva de um determinado tipo de carvão são (DI BERNADO, 2005):

- Número de iodo: expressa a quantidade de iodo adsorvida pelo carvão sob condições específicas. Relaciona-se com a adsorção de pequena massa molecular, e é expresso em mg de iodo por grama de carvão ativado;
- Índice de azul de metileno: parâmetro que fornece a mesoporosidade do carvão é expresso em mg de azul de metileno por grama de carvão ativado;
- Distribuição de tamanho dos poros e área superficial dos poros: superfície específica dos poros, geralmente expressa em m<sup>2</sup>/g (área dos poros por grama de carvão), é usualmente determinada pela medida da isoterma de adsorção de moléculas de nitrogênio; este parâmetro foi proposto por Brunauer, Emmett e Teller, razão pela qual é mencionado o

termo BET-  $N_2$ . Os carvões usados no tratamento de água têm superfície interna entre 500 e 1.500  $m^2/g$ .

#### 3.9.1.4. Teoria de Adsorção

Adsorção é um processo de concentração por difusão de espécies químicas na região interfacial que separa um sólido e uma fase fluida. A reação de adsorção de moléculas no grão de carvão pode ser representada pela Equação 3.2



Na qual

A: substância adsorvida ( adsorvato);

B: adsorvente;

AB: compostos adsorvidos.

Os compostos permanecem adsorvidos na superfície do adsorvente pela ação de diversos tipos de forças químicas, como ligações de hidrogênio, interações dipolo-dipolo e forças de Van de Waals. Se a reação é reversível, como ocorre com muitos compostos adsorvidos em carvão, as moléculas continuam acumulando-se na superfície do carvão até que a taxa de reação direta (adsorção) seja igual à taxa de reação reversa (dessorção). No momento em que se estabelecem essas condições, o equilíbrio é alcançado e não ocorrerá acumulação futura. (SNOEYINK, 1990)

#### 3.9.1.5. Isotermas de Adsorção

A quantidade de adsorvato que o adsorvente pode acumular é uma das suas mais importantes características. Há muitos modelos matemáticos que procuram descrever a relação entre quantidade de adsorvato por unidade de adsorvente e a concentração de adsorvato na água, sendo os mais comuns o de Freundlich e o de Langmuir.

A equação de Freundlich é empírica e descreve com muita precisão os dados de ensaios de adsorção, e apresenta na Equação 3.3 e na forma linearizada na equação 3.4:

$$q_e = K.C_e^{1/n} \quad (3.3)$$

$$\log q_e = \frac{1}{n} \log C_e + \log K \quad (3.4)$$

Na qual:

$q_e$ : quantidade de adsorvato por unidade de adsorvente (mg do adsorvato por g do adsorvente ou moles do adsorvato por g do adsorvente);

$C_e$ : concentração do adsorvato no equilíbrio (mg/L ou mol/L);

$K, n$ : coeficientes a serem determinados empiricamente.

A constante  $K$  está relacionada principalmente com a capacidade de adsorção do adsorvato pelo adsorvente, enquanto que o coeficiente  $n$  está em função da força de ligação da adsorção.

A isoterma de Lagmuir é expressa pelas Equações 3.5 e 3.6.

$$q_e = \frac{q_{m\acute{a}x} \cdot b \cdot C_e}{1 + b \cdot C_e} \quad (3.5)$$

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_{m\acute{a}x} \cdot b \cdot C_e} + \frac{1}{q_{m\acute{a}x}} \quad (3.6)$$

Na qual:

$B, q_{m\acute{a}x}$ : coeficientes a serem determinados experimentalmente.

A constante  $q_{m\acute{a}x}$  corresponde à concentração de uma camada única de recobrimento do adsorvente pelo adsorvato e representa o valor máximo de  $q_e$ , enquanto  $b$  é a constante relacionada à energia de adsorção.

A equação de Langmuir muitas vezes não descreve os dados de adsorção tão precisamente quanto a equação de Freundlich. Os valores de  $q_{m\acute{a}x}$  e  $b$  determinados experimentalmente muitas vezes não são constantes, possivelmente por causa da natureza heterogênea da superfície adsorvente (o modelo assume que o adsorvente apresenta uma superfície homogênea), interações entre moléculas adsorvidas (todas as interações foram negligenciadas no desenvolvimento do modelo) e outros fatores (SNOEYINK, 1990).

Embora empírica, a equação que geralmente melhor se ajusta aos dados experimentais no tratamento de água é a isoterma de Freundlich (MASSCHELEIN, 1992).



### 3.9.1.6. Principais fatores que afetam as isotermas de adsorção

O estudo dos fatores que afetam a adsorção em carvão ativado é importante a fim de que se tenha conhecimento dos parâmetros que requerem atenção do controle do processo. A seguir serão descritos alguns fatores relevantes:

- Distribuição dos tamanhos dos poros e área superficial

Segundo Ladeira (1990), a capacidade máxima de adsorção é proporcional à área superficial dos poros acessíveis ao adsorvato. Um carvão que apresenta grande volume de microporos deve ser utilizado na adsorção de moléculas pequenas. O carvão que apresenta grande quantidade de mesoporos é ideal para adsorção de moléculas de alto peso molecular. Os macroporos servem como vias de transporte das espécies a serem adsorvidas para o interior do grão.

- pH

Segundo Masschelein (1992), o pH muitas vezes tem um efeito significativo nas características da adsorção, pois para muitos compostos poluentes na água, a capacidade adsorvativa aumenta com o decréscimo do valor do pH (WEBER, 1972; RANDTKE e SNOEYINK, 1983). No caso de bases e ácidos orgânicos fracos, a afinidade pelo carvão ativado é função principalmente do pH. Quando o pH está em uma faixa na qual as moléculas estão sob a forma neutra, a capacidade de adsorção é relativamente alta. Entretanto, quando o pH está em uma faixa na qual as espécies estão ionizadas, a afinidade pela água é muito maior e a capacidade de adsorção do carvão ativado é muito baixa (SNOEYINK, 1990).

- Temperatura

A temperatura tem efeito na taxa de adsorção e na concentração de equilíbrio. Normalmente, as reações são exotérmicas, portanto a adsorção aumenta com o decréscimo da temperatura (WEBER, 1972). Entretanto para curtos períodos de tempo, há uma maior adsorção dos compostos para temperatura maior.

### 3.9.1.7. Adsorção em Carvão Ativado em Pó

No tratamento de água, o local de aplicação do CAP deve ser definido levando-se em consideração a eficiência da sua mistura com a água, o tempo de contato necessário para adsorção dos contaminantes e o grau de interferência com os demais produtos químicos aplicados na estação.

A adição de CAP na tomada d'água tem a vantagem de fornecer maior tempo de contato com boa mistura, porém algumas substâncias que seriam removidas por coagulação, floculação, sedimentação (ou flotação) e filtração podem ser adsorvidas, aumentando o consumo de CAP. A aplicação do CAP na unidade de mistura rápida favorece uma excelente mistura e um tempo de contato razoável, no tratamento convencional, porém provoca a redução da taxa de adsorção pela interferência de coagulantes. Quando o CAP é adicionado antes do filtro pode haver passagem do carvão por meio do meio filtrante.

Portanto, é recomendada a realização de ensaios em laboratório para determinar a dosagem de CAP, bem como o tempo de contato necessário para remover as substâncias orgânicas consideradas.

Com base na isoterma de Freundlich a dosagem mínima de CAP pode ser calculada pela Equação 3.7.

$$\boxed{\text{dosagem(CAP)}_{\min} (g/L) = \frac{(C_0 - C_e) (mg/L)}{q_e} (mg/g)} \quad (3.7)$$

Na qual  $C_0$  é a concentração inicial da substância a ser adsorvida e os demais parâmetros já foram definidos.

### 3.9.1.8. Remoção de cianotoxinas por meio de carvão ativado em pó

A capacidade de adsorção de oito tipos de carvão ativado em pó foi avaliada por Donati *et al.*, (1994). A concentração inicial de microcistina-LR para todas as isothermas de adsorção apresentadas foi de 2,5 mg/L. Os resultados mostraram que os dois carvões de madeira foram

os mais efetivos na remoção de microcistina-LR, adsorvendo 280 e 220  $\mu\text{g}/(\text{mg de carvão})$ . Os carvões menos efetivos foram derivados do coco, adsorvendo 40 e 20  $\mu\text{g}/\text{mg}$  e o carvão feito de turfa, que também adsorveu 20  $\mu\text{g}/\text{mg}$ . Para os carvões de madeira, os volumes de mesoporos foram de 0,49 e 0,27  $\text{cm}^3/\text{g}$  enquanto para os carvões menos efetivos variaram de 0,19 a 0,02  $\text{cm}^3/\text{g}$ . Portanto, os autores destacaram que o volume de mesoporos era um indicador da remoção de microcistina-LR, concluindo que a área superficial, o índice de iodo e o índice de fenol permitiram apenas uma informação específica e não devem ser usados como indicador geral de efetividade do material na adsorção de toxinas.

No trabalho comparativo de Donati *et al.*, (1994) entre adsorção de microcistinas dissolvidas em água pura e água do rio Murray na Austrália, observou-se claramente que a eficiência de adsorção dos carvões ativados reduzia-se quando se utilizava água do rio. O decréscimo na taxa de adsorção de microcistina-LR na água do rio comparada a água pura deve-se à competição com os orgânicos naturais pelos sítios de adsorção.

Kuroda *et al.*, (2005) avaliaram a remoção de microcistinas por dez carvões ativados (4 granulares e 6 pulverizados) destinados ao uso em sistemas de tratamento de águas e disponíveis comercialmente por quatro fabricantes do Brasil. Para a realização dos experimentos de adsorção foi preparado um extrato bruto de microcistinas a partir de cultivos de cepa tóxica de *Microcystis ssp.* O efeito da adsorção competitiva entre as microcistinas e os orgânicos naturais presentes no extrato reduziram a capacidade adsortiva dos carvões nacionais selecionados, registrando-se como valores de capacidade máxima de adsorção de microcistinas da ordem de 3,0  $\text{mg}/\text{mg}$  de carvão ativado granular e da ordem de 10  $\text{mg}/\text{mg}$  para carvão ativado pulverizado.

Com relação às saxitoxinas, Newcombe e Nicholson (2002) relatam que tanto o carvão ativado em pó quanto o granular mostraram-se efetivos na remoção dessas toxinas. Os autores avaliaram cinco carvões ativados em pó, para tempo de contato de 1 hora e uma dosagem de 30  $\text{mg}/\text{L}$ . A adsorção dos compostos foi maior para STX, seguindo das GTXs e das C-toxinas. A saxitoxina é a menor molécula seguindo das GTXs e das C-toxinas. Os autores concluíram que a relação entre o tamanho do composto, o volume e distribuição dos poros no carvão são os principais fatores que influenciam a adsorção.

Em experimentos em escala de laboratório, Orr *et al.*, (2004) avaliaram a remoção de saxitoxinas por meio de ozônio, CAG e peróxido de hidrogênio. Células viáveis de *Anabaena circinalis* foram extraídas e adicionadas em água bruta, proveniente de um reservatório, proporcionando uma toxicidade de 30 µg/L (STX equivalente). O CAG removeu 100% das toxinas STX, dc-STX e GTXs, mas removeu parcialmente a C-toxina de 56% a 74%, sendo mais efetiva a remoção com ausência de ozônio (74%). Entretanto o residual de STX (equivalente) apresentou-se de acordo com o padrão de potabilidade da Austrália, cuja concentração máxima permitida para água tratada é de 3 µg/L.

Silva (2005) avaliou a capacidade de remoção de saxitoxinas por cinco tipos de CAP produzidos no Brasil. Os carvões selecionados foram de origem animal (osso), vegetal (madeira), coco (casca de coco) e mineral. Os carvões que apresentaram maior capacidade de remoção de saxitoxinas (neoSTX e STX) foram derivados de casca de coco, seguido do carvão derivado de osso. A faixa de dosagens de CAP foi de 3 a 15 mg/L. De modo geral, os carvões avaliados não apresentaram elevada eficiência de remoção. O maior percentual de remoção de saxitoxinas, 33%, foi obtido com a adição do CAP de coco a uma dosagem de 12 mg/L. Na seqüência aparece o CAP de madeira (Mad-1) removendo 26% das saxitoxinas quando a dosagem adicionada de carvão foi de 15 mg/L, sendo que os outros três carvões não ultrapassaram 21% de remoção das saxitoxinas originalmente presentes.

Dentre os parâmetros de caracterização avaliados para os cinco carvões estudados por Silva (2005), tais como número de iodo, índice de azul de metileno, área superficial BET, volume total de poros e volume de microporos, mesoporos e macroporos, aquele que, para maioria dos carvões, parece melhor representar a capacidade do carvão em remover saxitoxinas é o volume de mesoporos. A conformação dos grãos e a homogeneidade dos mesmos parecem também influenciar na capacidade de adsorção de saxitoxinas. Entretanto, a adsorção de saxitoxinas no carvão mineral parece ser independente de qualquer das características avaliadas.

Silva (2005) realizou um trabalho a respeito do tempo necessário para alcançar o equilíbrio da adsorção, para cinco tipos de carvão ativado em pó, em adsorver as saxitoxinas. A dosagem utilizada foi de 3 mg/L de CAP e o tempo de detenção de 12 horas. Para o tempo de detenção de 12 horas, os percentuais de remoção variaram entre 15% a 50%, sendo a maior remoção para o CAP mineral e a menor para o CAP de coco. Porém apesar dos carvões de osso e

mineral apresentarem um percentual de remoção de 40% e 50%, respectivamente, em termos de saxitoxinas adsorvidas, esses carvões removeram menores quantidades do que os carvões a base de madeira. Enquanto os carvões de madeira (Mad-1 e Mad-2) removeram em torno de 17 µg/L de saxitoxinas (neoSTX e STX), os carvões de osso e mineral removeram cerca de 15 µg/L.

### **3.9.2. Oxidação**

#### **3.9.2.1. Aspectos Gerais**

O processo de oxidação envolve a troca de elétrons entre espécies químicas com mudanças do estado de oxidação (valência) das espécies envolvidas. Como uma espécie perde elétrons ou é oxidada e outra ganha elétrons ou é reduzida, o processo é comumente denominado oxirredução.

Segundo Di Bernado, (2005), o poder de um oxidante ou de um redutor pode ser medido pelo potencial de eletrodo da substância. Os potenciais de eletrodo são dados para a meia-reação e podem ser adicionados para obtenção da reação completa. Por convenção, os potenciais de eletrodo são tabulados para as reações de redução, ocorrendo sob “condições padrão”, para as quais as atividades termodinâmicas são unitárias. Nas condições padrão, o potencial de eletrodo é denominado  $E^0$  (potencial eletrodo padrão). Na Tabela 3.4 apresentam-se os valores do potencial de eletrodo de oxidantes químicos.

Tabela 3.4 - Potencial de eletrodo-padrão de oxidantes químicos.

Oxidante	Meia-reação de redução	E <sup>0</sup> (V)
Cloro	$\text{Cl}_2(\text{g}) + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{Cl}^-$	<b>1,36</b>
Ácido hipocloroso	$\text{HClO} + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Cl}^- + \text{H}_2\text{O}$	1,49
Hipoclorito	$\text{ClO}^- + \text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Cl}^- + 2\text{OH}^-$	0,90
Monocloramina (meio básico)	$\text{NH}_2\text{Cl} + \text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Cl}^- + \text{NH}_3 + \text{OH}^-$	0,75
Dicloramina (meio básico)	$\text{NHCl}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{Cl}^- + \text{NH}_3 + 2\text{OH}^-$	0,79
Tricloramina $\text{NH}_3\text{Cl}$ (meio ácido)	$\text{NH}_3\text{Cl} + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Cl}^- + \text{NH}_4^+$	1,40
Dicloramina (meio ácido)	$\text{NHCl}_2 + 3\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{Cl}^- + \text{NH}_4^+$	1,34
Ozônio (meio ácido)	$\text{O}_3 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$	2,07
Ozônio (meio básico)	$\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{OH}^-$	1,24
Peróxido de hidrogênio (meio ácido)	$\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	1,78
Peróxido de hidrogênio (meio básico)	$\text{HO}_2^- + \text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow 3\text{OH}^-$	0,85
Dióxido de cloro	$\text{ClO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 5\text{e}^- \rightarrow \text{Cl}^- + 4\text{OH}^-$	1,71
Permanganato (meio ácido)	$\text{MnO}_4^- + 4\text{H}^+ + 3\text{e}^- \rightarrow \text{MnO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	1,68
	$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightarrow \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$	1,49
Permanganato (meio básico)	$\text{MnO}_4^- + 2\text{H}_2\text{O} + 3\text{e}^- \rightarrow \text{MnO}_2 + 4\text{OH}^-$	0,58
Oxigênio (meio ácido)	$\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	1,23
Oxigênio (meio básico)	$\text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{e}^- \rightarrow 4\text{OH}^-$	0,40

Fonte: DI BERNADO, 2005

O tipo de oxidante químico, sua dosagem e o tempo de contato devem ser estabelecidos em laboratório em função da qualidade da água bruta, tomando-se cuidado especial com os subprodutos gerados na oxidação, que podem ser prejudiciais à saúde humana e por isso necessitam ser reduzidos a concentrações aceitáveis pelo padrão de potabilidade vigente.

Em função do trabalho de pesquisa, será abordado o uso do hipoclorito de cálcio como agente oxidante e desinfetante, aplicado diretamente na água bruta (pré-oxidação) ou na fase final do tratamento, e as suas vantagens e desvantagens em relação à oxidação de cianotoxinas.

### 3.9.2.2. Cloro

Historicamente, o agente oxidante mais empregado em processos de tratamento de água tem sido o cloro, na forma de cloro gasoso ( $\text{Cl}_2$ ), hipoclorito de sódio ( $\text{NaOCl}$ ) e hipoclorito de cálcio [ $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ].

A aplicação do cloro como agente oxidante e desinfetante no tratamento de águas de abastecimento pode ser efetuado na forma de pré-oxidação e pós-oxidação, agindo de duas maneiras:

- Como oxidante de compostos orgânicos e inorgânicos (pré-oxidação);
- Como desinfetante, para destruir ou inativar microrganismos patogênicos, algas e bactérias de vida livre (pós-oxidação).

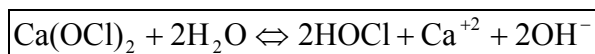
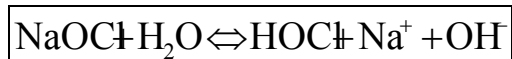
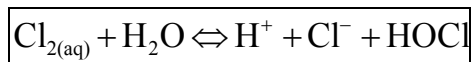
A aplicação do cloro como agente pré-oxidante pode, em muitos casos, ocasionar um aumento nos problemas de gosto e odor em função da sua reação com compostos orgânicos sintéticos ou pela liberação de compostos orgânicos subprodutos metabólicos de algas (lise celular).

Adicionalmente, em função da qualidade da água bruta e da dosagem de cloro aplicado, pode haver a formação de trihalometanos e ácidos haloacéticos em concentração superior ao padrão de potabilidade vigente no território nacional, o que pode ser evitado mediante a eliminação da pré-cloração e operação do processo de coagulação em uma faixa de pH que maximize a remoção de compostos orgânicos precursores de subprodutos da desinfecção.

A adoção da pós-cloração está muitas vezes associada ao seu uso como agente desinfetante, não apresentando função como agente oxidante.

A aplicação do cloro como agente oxidante e desinfetante pode ser uma solução técnica razoável, mas, para tanto, é importante que sejam conhecidos os seus principais aspectos químicos em meio aquoso.

Uma vez adicionado na fase líquida, têm-se as seguintes reações químicas:



Abaixo de pH 6,5 não ocorre dissociação de HOCl (ácido hipocloroso) e acima de pH 8,5 todo o ácido se dissocia ao íon hipocloroso (OCl<sup>-</sup>). Considerando que o efeito germicida de HOCl é maior do que (OCl<sup>-</sup>), preferem-se baixos valores de pH para desinfecção com esse agente.

Como o cloro é o desinfetante mais utilizado em todo o mundo, vários autores, conforme citado a seguir, dedicaram-se a avaliar a capacidade do cloro, sob diferentes formas, de oxidar as cianotoxinas.

### 3.9.2.3. Remoção de cianotoxinas por meio de cloração

Nicholson *et al.*,(2003) realizaram um trabalho verificando a eficiência da degradação de saxitoxina por meio de cloração. A eficiência depende do pH e da toxina em questão. A eficiência na degradação de saxitoxinas foi à ordem de GTX5~dcSTX > dcSTX > STX > GTX3 ~C2 > C1 > GTX2. A remoção de STX ocorre com pH em torno de 7,4 entretanto pH na ordem de 8,8 é requerido na remoção de GTX2 . A degradação de saxitoxina não é linear com o aumento do pH, sendo mais eficiente em pH em torno de 7,5.

Os autores observaram que mais de 90% de remoção das toxinas foi obtida com pH 9 e com residual de cloro livre de 0,5 mg/L após 30 minutos de tempo de contato, concluindo que o cloro para remoção de saxitoxinas durante o tratamento da água não é uma solução viável.

De acordo com os autores, foi surpreendente a alta eficiência na degradação de saxitoxinas com valores de pH elevados. A eficiência do cloro como agente oxidante é maior para pH mais baixo. Isto ocorre, uma vez que o ácido hipocloroso é predominante em pH mais baixo e apresenta um potencial de oxidação maior do que os íons de hipoclorito. Assim a baixa eficiência na oxidação era esperada para valores de pH mais elevados. Entretanto, as saxitoxinas são moléculas com núcleos de alcalóides purinas que contêm átomos de nitrogênio. Dependendo dos valores de pH, estes átomos de nitrogênio são enormemente protonados. Portanto, quando o valor do pH é elevado esses átomos são desprotonados e as moléculas de saxitoxinas ficam mais susceptíveis à oxidação.

Nicholson *et al.*(2002) reportaram que microcistinas e nodularias foram rapidamente destruídas pelo cloro, hipoclorito de cálcio e hipoclorito de sódio, sendo que esse último exigiu dosagem superior à dos dois primeiros. O cloro e o hipoclorito de cálcio removeram



95% das toxinas com doses de 1 mg/L (cloro ativo) após um tempo de 30 minutos, ao passo que 5 mg/L de hipoclorito de sódio foram necessários para cerca de 80% de remoção no mesmo tempo de contato. A remoção de toxinas foi bastante comprometida quanto os valores de pH excediam a 8. Para concentrações de cloro ativo de 15 mg/L, a remoção de toxinas reduz de 95% para valores inferiores a 80%, quando o valor do pH é superior a 8, sendo que, para o hipoclorito, a remoção chegou a atingir apenas 40%, com pH igual a 10.

Hart *et al.* (1998) observaram que a cloração foi mais eficiente na remoção de microcistina-LR em baixos valores de pH (menores que 7). Seria necessário um tempo de contato mais longo para pH maiores.

Diversos pesquisadores, Bruchet *et al.*(1998); Hart *et al.*(1998); Rositano *et al.*(1998); Nicholson *et al.*(2002) reportaram que doses apropriadas de agentes oxidantes como ozônio, permanganato de potássio e cloro são eficientes na remoção das cianotoxinas intra e extracelular. Entretanto Bruchet *et al.*(1998) observaram que as doses de cloro requeridas para remoção das cianotoxinas era acima da tolerância para os consumidores.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Considerações Gerais

O presente trabalho foi desenvolvido em escala de bancada. Os experimentos foram realizados nos laboratórios de Análise de Água do Departamento de Engenharia Sanitária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), de Ficologia do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, de Caracterização de Sólidos Particulados do Departamento de Engenharia Metalúrgica da UFMG, e no Laboratório Metropolitano de Cromatografia Líquida da Companhia de Saneamento de Minas Gerais (Copasa).

As etapas para desenvolvimento do trabalho consistiram em:

Etapa 1: Seleção das marcas comerciais de CAP a serem avaliados nos ensaios de adsorção;

Etapa 2: Caracterização dos CAP com determinação granulométrica por meio de difração a laser, número de iodo, densidade e área superficial BET, distribuição de tamanho dos poros e fotografias em microscópio eletrônico de varredura - MEV;

Etapa 3: Cultivo de quatro cepas de *C. raciborskii*, isoladas da lagoa central de Lagoa Santa, as quais foram cedidas pelo banco de cultura do laboratório de Ficologia da UFMG, para determinação da cepa mais tóxica;

Etapa 4: Determinação e quantificação de saxitoxinas produzidas pelas células viáveis de *C. raciborskii*, por meio de bioensaios, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e testes Imunoensaio Competitivo (Elisa);

Etapa 5: Preparo da água sintética adicionando 3 mL de extrato de saxitoxinas em 500 mL de água destilada, determinando desta forma a concentração inicial de saxitoxinas equivalente na amostra;

Etapa 6: Execução dos ensaios de *Jar Test* para avaliar a adsorção de saxitoxinas para diferentes carvões selecionados;

Etapa 7: Execução dos ensaios de *Jar Test* visando à oxidação de saxitoxinas utilizando o hipoclorito de cálcio;

Etapa 8: Caracterização da água após os ensaios em reatores estáticos por meio de pH e concentração de saxitoxinas.

Etapa 9: Realização de isotermas de adsorção de Freundlich e Langmuir e análises estatísticas dos dados.

#### 4.2. Seleção dos Tipos de Carvão Ativado em Pó

Foram selecionadas 3 marcas comerciais para execução dos ensaios experimentais. A Tabela 4.1 apresenta a lista dos carvões selecionados, as características dos carvões fornecidos pelos fabricantes e a nomenclaturas que foi adotada para identificá-los neste trabalho.

Tabela 4.1: Tipos de Carvões fabricados no Brasil e utilizados nos experimentos

CARACTERÍSTICAS DOS CAP	MAD-1	MAD-2	MAD-3	OSSO	MINERAL
Origem	Madeira (vegetal)	Madeira (Vegetal)	Madeira (Vegetal)	Osso (Animal)	Mineral
Nº de iodo (mgI <sub>2</sub> /g)	Min. 800	Min. 800	Min.600	*NI	*NI
Granulometria (% passante)	50-80 passante #325 (44µm)	Min. 90 passante #400 (37µm)	# 100 (150µm) –99 # 200 (75µm)- 95 # 325 (44µm)- 90	*NI	*NI
Área superficial (mg/g)	*NI	*NI	*NI	200	*NI
Preço (R\$/kg)	4,5	4,5	3,50	2,00	1,25

\*NI – não informado pelo fabricante

Os fabricantes forneceram amostras dos carvões juntamente com algumas características, como a granulometria, o número de iodo, umidade, massa específica aparente, índice de fenol, teor de cinzas, superfície da área BET.

Entretanto, algumas informações não eram comuns a todos os carvões, o que impossibilitava a comparação entre eles em relação a uma determinada característica. Portanto foram realizados ensaios, visando a comparar as características adsorptivas dos carvões.

É importante destacar que apenas três carvões foram escolhidos para os ensaios de adsorção: Mad-3, osso e mineral.

### **4.3. Caracterização dos Carvões**

#### **4.3.1. Caracterização granulométrica**

A caracterização granulométrica dos carvões, exceto o mineral, foi realizada pela técnica de difração a laser no Laboratório de Caracterização de Materiais Particulados do Departamento de Engenharia Metalúrgica da UFMG.

A distribuição de tamanhos de peneira é bastante utilizada, principalmente pelo fato de que esta medição pode ser obtida facilmente e com grande precisão, em laboratório, para tamanhos maiores que 44  $\mu\text{m}$ . Abaixo de 44  $\mu\text{m}$ , esta medida torna-se mais difícil, e a acuracidade diminui proporcionalmente ao tamanho. Abaixo de 20  $\mu\text{m}$ , medições com peneiras de laboratórios ou micro peneiras são imprecisas. Portanto, justifica-se a utilização do difratômetro para determinação da granulometria de carvões ativados em pó.

Devido à natureza irregular das partículas, as distribuições de tamanhos dos difratômetros a laser são definidas como uma distribuição de tamanhos equivalentes de esferas. A distribuição de tamanhos de esferas equivalentes não é uma medida direta. As distribuições reportadas pelos equipamentos são derivadas a partir de uma medida resultante da integração das partículas com a luz.

Os resultados dos carvões ativados em pó, exceto o carvão mineral, foram apresentados por meio de relatório com a distribuição granulométrica das partículas dos carvões. As análises foram realizadas em duplicata. O equipamento, modelo 1064 e marca Cilas utilizado, é apresentado na Figura 4.1.



Figura 4.1- Difratrômetro a laser modelo 1064, marca Cilas.

A determinação granulométrica do carvão mineral foi realizada por meio de peneiramento com filete de água, conforme norma brasileira MB-3412. Vale ressaltar que o carvão mineral apresentou granulometria espessa, o que inviabilizou o uso da difração a laser.

Foram utilizadas as peneiras ABNT nº100 (150  $\mu\text{m}$ ), nº 200 (75  $\mu\text{m}$ ) e nº 325 (44  $\mu\text{m}$ ) . Pesaram-se três frações de 5,0 g cada uma, da amostra previamente seca, com precisão de 0,001g (P3). Promoveu-se a passagem da amostra na malha da peneira por meio de um filete de água. As frações retidas em cada peneira foram transferidas para um funil de vidro, com papel de filtro previamente seco ( $130 \pm 5$ )°C por 2 horas e tarado (P1), lavando bem a malha para recuperar todo o material. O papel filtro com a amostra foi transferido para uma estufa ( $130 \pm 5$ )°C por 3 horas e resfriado à temperatura ambiente em dessecador e pesado com precisão de 0,001 g. Na seqüência, o papel filtro foi retornado para a estufa por 30 min, repetindo a mesma operação até que duas pesagens sucessivas não apresentem diferença superior a 0,01 g. Foi registrado o menor valor com precisão de 0,001 g (P2). Este ensaio foi realizado em duplicata.

A granulometria foi expressa em porcentagem de massa passante, base seca, na respectiva peneira, e foi obtido pela Equação 4.1:

$$G = 100 - \left[ \frac{(P2 - P1) \times 100}{P3} \right] \quad (4.1)$$

Na qual:

G= granulometria na peneira analisada, (%);

P1= massa do papel de filtro seco, (g);

P2= massa do papel de filtro + amostra retida na peneira, (g);

P3= massa da amostra seca, (g).

#### 4.3.2. Determinação do número de iodo

O método utilizado para determinação do número de iodo foi baseado na norma brasileira MB-3410.

Inicialmente foram moídos cerca de 10 g de cada CAP até que 95% ou mais passasse na peneira ABNT nº 325 (44  $\mu$ m). O equipamento moinho de panela utilizado para moer os carvões está apresentado na Figura 4.2.



Figura 4.2- Moinho de panela utilizado para moer o CAP

Pesou-se 1,0 g de CAP moído em balança analítica. Coloca-se esta amostra em um erlenmeyer na qual se adiciona 10 mL de solução de ácido clorídrico. Após deixar por 30 s

em ebulição, em chapa quente, adiciona-se 100 mL de solução de iodo a 0,1 N. A amostra é filtrada imediatamente após ser agitada por 30 s, em funil de vidro qualitativo de 10,5.

Rejeita-se 20 mL a 30 mL do filtrado e o restante é posteriormente titulado com solução de tiosulfato de sódio 0,1 N até obter uma coloração amarelada. Adiciona-se 2 mL de solução indicadora de amido 0,5% e continua-se a titulação até quando desaparecer a coloração azul.

O número de iodo é expresso em miligrama de iodo por grama de carvão ativado pulverizado (mg/g) e é obtido pelas equações 4.2 , 4.3 e 4.4:

$$\frac{X}{M} = \frac{Ax(2,2xBxV)}{p} \quad (4.2)$$

Na qual:

X/M = Número de iodo sem o fator de correção da normalidade do filtrado;

A= Normalidade da solução de iodo 0,1N multiplicado pelo fator de correção da solução e por 12693;

B = Normalidade da solução de tiosulfato de sódio 0,1N multiplicado pelo fator de correção da solução e por 126,93;

V= Volume total de tiosulfato de sódio 0,1N gasto na titulação, (mL);

P = Massa da amostra de carvão ativado pulverizado (g);

$$C = \frac{N_f \cdot xV_f}{50} \quad (4.3)$$

Na qual:

C = Normalidade do filtrado residual;

N f= Normalidade da solução de tiosulfato de sódio 0,1 multiplicado pelo fator de correção da solução;

Vf = Volume total da solução de tiosulfato de sódio 0,1 N gasto na titulação (mL);

Se a normalidade do filtrado residual C for inferior a 0,0080 N deve-se repetir o ensaio com uma massa de carvão ativado menor e proceder segundo a norma da ABNT MB-3410. Se a normalidade do filtrado residual C for superior a 0,0335 N, deve-se repetir o ensaio com uma massa de carvão ativado maior e proceder segundo a norma da ABNT MB-3410.

$$I = \frac{X}{M} xD \quad (4.4)$$

Na qual:

X/M = Número de iodo sem o fator de correção da normalidade do filtrado;

D = Fator de correção da normalidade do filtrado residual encontrado no anexo A da norma da ABNT MB-3410.

#### 4.3.3. Determinação da área superficial e da distribuição de tamanho dos poros

O Método BET (Brunauer, Emmet e Teller) fornece a área específica (em m<sup>2</sup>/g de adsorvente) que pode ser recoberta por uma camada monomolecular de nitrogênio. A adsorção de nitrogênio a temperatura de 77 K permite a construção de isotermas de adsorção e dessorção gasosa, das quais se podem extrair informações como a área superficial, volume dos poros e distribuição do tamanho dos poros (YENISOY-KARAKAS *et al.*, 2004; TEIXEIRA, 2001).

A análise da área superficial BET e da distribuição de tamanho dos poros das amostras de carvão foi realizada em equipamento denominado *Autosorb* (Quantachrome Corporation), que se baseia na técnica de adsorção de nitrogênio a 77 K. Essas análises foram realizadas pela equipe técnica do Laboratório de Caracterização de Materiais Particulados do Departamento de Engenharia Metalúrgica da UFMG. Na Figura 4.3 apresenta-se o equipamento utilizado para determinação da área superficial BET.





Figura 4.3- Equipamento Autosorb (Quantachrome Corporation)

#### 4.3.4. Fotografias em microscópio eletrônico de varredura - MEV

A microscopia eletrônica de varredura é uma ferramenta importante na caracterização da amostra, proporcionando excelente visualização das características morfológicas das superfícies dos carvões.

As análises morfológica e textural das amostras foram efetuadas por meio de microscópio eletrônico de varredura- MEV marca JOEL, modelo JSM-6360LV com um sistema de captura de fotos reflex acoplado, utilizando filmes preto e branco de 120 mm. A Figura 4.4 mostra o microscópio utilizado para obtenção das fotografias das amostras de carvão ativado.

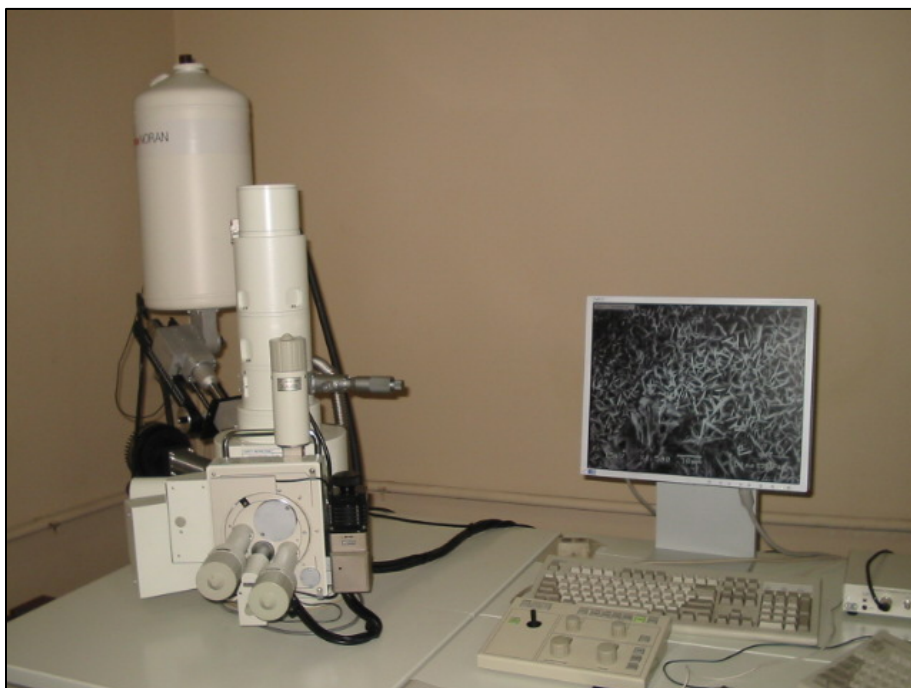


Figura 4.4- Microscópio Eletrônico de Varredura

Para realização das amostras, os CAP foram secados em estufa para posterior metalização das “lâminas”. A metalização da amostra e posterior análise no MEV foram executadas pela equipe de técnicos do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Departamento de Metalurgia da UFMG.

Após o processo de metalização as amostras, eram encaminhadas para análise no MEV, onde foram fotografadas em diferentes níveis de aumento.

#### **4.4. Cultivo de Cianobactérias**

As cianobactérias foram cultivadas em meio líquido WC (GUILLARD & LORENZEN, 1977). Os frascos contendo a cultura foram mantidos em ambiente climatizado, com controle da temperatura (mantida a cerca de 24°C), de intensidade luminosa, em torno de  $80\mu\text{mol}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$  e com um fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro. Na Figura 4.5 apresenta-se a sala de cultivo de cianobactérias, localizada no Departamento de Botânica.



Figura 4.5- Câmara fria de cultivo de cianobactérias.

Na câmara de cultivo acima ilustrada cultiva-se quatro cepas da espécie *C. raciborskii* isoladas da lagoa central de Lagoa Santa, as quais apresentam ótimo crescimento e foram mantidas rotineiramente no laboratório.

A metodologia para o meio de cultura WC baseia-se em soluções estoque de nutrientes tais como:  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NaSiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{H}_3\text{BO}_3$ . A cepa utilizada no experimento era cultivada no meio WC com 10% de nitrogênio, visto que nestas condições a cepa apresentava um crescimento rápido e boa produção de toxinas.

Para elaboração do meio de cultura, adiciona-se 1000  $\mu\text{L}$  de cada solução estoque nutriente, exceto o  $\text{NaNO}_3$  e o  $\text{NaCl}$ , 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaNO}_3$  e 900  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaCl}$  em balão volumétrico de 1 L e completa-se o volume com água destilada. O pH era ajustado para o intervalo de 7,16 a 7,24. Posteriormente a solução era acondicionada em erlenmeyer de 2 L vedada com rolha de algodão e levado para esterilização em autoclave.

O processo de repicagem do cultivo era realizado quando as células atingiam o crescimento exponencial. O cultivo na fase de crescimento exponencial continha uma concentração de *C. raciborskii* da ordem de  $10^6$  cel/mL. Neste momento as células necessitavam de mais nutrientes para continuar crescendo. Portanto uma parte de células que atingiam o crescimento

exponencial era adicionada em sete erlenmeyer de 2 L com meio de cultura WC (pH 7,22) totalizando 10 L de cultivo.

A cepa de *C.raciborskii* utilizada no experimento foi proveniente da lagoa central de Lagoa Santa, designada como 124. Na figura 4.6, ilustra o filamento da cepa 124.



Figura 4.6- Filamento da cepa 124 de *C. raciborskii*

## **4.5. Produção de Saxitoxinas**

### **4.5.1. Extração de células de *C.raciborskii***

Para liberar a toxina intracelular a ser usada nos experimentos de avaliação da adsorção e oxidação de saxitoxinas, o cultivo na fase exponencial era submetido à filtração a vácuo em membranas de borossilicato com abertura de poro de 0,45  $\mu\text{m}$  e posteriormente liofilizado. Para extração da toxina intracelular o filtro contendo o material seco retido era fragmentado com tesoura em um béquer. Uma solução de ácido acético 0,05 M era então vertida no béquer até cobrir todos os pedaços do filtro. O béquer era vedado com filme de PVC e submetido à agitação vigorosa por cerca de 1 hora. Após este procedimento, o material era centrifugado a 3500 rpm, por 15 minutos. O precipitado era novamente extraído com solução de ácido acético e centrifugado sob as mesmas condições anteriores (esse processo era realizado por três vezes consecutivas). Os sobrenadantes eram misturados e o pH ajustado para valores entre 3 e 4 antes do congelamento, pois isto aumentaria a sua estabilidade por vários meses (até um ano).

Este extrato de saxitoxinas, com elevada concentração, era armazenado em congelador para preparação das amostras de água a serem usadas nos experimentos.

Nas figuras 4.7 a 4.13 apresentam-se as etapas de extração das células e produção de saxitoxinas



Figuras 4.7 e 4.8 – Cultivo de *C.raciborskii* e filtragem a vácuo das células de *C.raciborskii*, respectivamente



Figuras 4.9 e 4.10 – Material seco de células de *C.raciborskii* liofilizadas e procedimento de extração da toxina, respectivamente.





Figura 4.11 e 4.12 – Agitação e centrifugação da amostra, respectivamente.



Figura 4.13 – Extrato de saxitoxinas.

## 4.5.2. Análise de saxitoxinas no extrato

### 4.5.2.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

As análises de saxitoxinas foram realizadas utilizando-se a cromatografia líquida de alta eficiência com derivatização pós-coluna e detecção de fluorescência. O sistema CLAE utilizado para as análises está instalado no Laboratório Metropolitano de Cromatografia da Copasa (figura 4.14).



Figura 4.14- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência do Laboratório Metropolitano de Cromatografia da Copasa

Para que as amostras contendo saxitoxinas fossem analisadas no CLAE, fazia-se necessário um procedimento de purificação das toxinas com cartucho C18 octilsilano (ODS), uma vez que o excesso de partículas pode alterar os resultados e diminuir a vida útil das colunas cromatográficas.

A identificação da presença das saxitoxinas nas amostras era realizada por meio da comparação do cromatograma da amostra com o da saxitoxina padrão, observando-se o tempo de retenção. Foram utilizados padrões de saxitoxinas do NRC (*National Research Council Canada*).

Foi observado que os cromatogramas obtidos pelo CLAE, apresentaram picos sobrepostos e tempos de retenção com atraso em relação aos padrões, concluindo-se que a técnica ainda não estava devidamente implementada no laboratório da Copasa.

Diante do exposto verificou-se a necessidade de realizar bioensaios com a finalidade de caracterizar a cepa como: pouca toxicidade, média toxicidade e elevada toxicidade.

#### 4.5.2.2. Testes toxicológicos com camundongos

Nos ensaios toxicológicos foram utilizados camundongos da espécie *Swiss ssp.* Os testes toxicológicos foram realizados injetando nos camundongos doses de extratos de cianobactérias (liofilizados) proveniente do cultivo de *C.raciborskii*. Nestes ensaios foram preparadas concentrações crescentes de extrato nas doses: 41, 199 e 377 mg/kg (mg de material algáceo seco/kg por peso corpóreo dos camundongos). Para cada dose foram utilizados 2 camundongos- um macho e uma fêmea - pesando entre 22 a 27 g, tendo sido injetado um volume de 1 mL por meio de injeções intraperitoneais (i.p). Após, as injeções, os animais foram mantidos em local arejado com alimento e água, sob observação, durante 24 horas. Nas figuras 4.15 e 4.16 apresentam-se os testes toxicológicos, utilizando-se camundongos.



Figura 4.15 e 4.16-Camundongos *Swiss ssp.* utilizados no teste toxicológico e dosagens injetadas nos camundongos, respectivamente

Bioensaios são técnicas ineficazes para destituir e quantificar toxinas análogas. Portanto para quantificar as saxitoxinas presentes no extrato, proveniente da lise das células da cepa 124 de *C.raciborskii*, foi necessário encaminhar a amostra para o laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de cianobactérias – LETC do Instituto de Biofísica Carlos Chagas da UFRJ, uma vez que este laboratório dispõe de metodologia padronizada para quantificação de saxitoxinas. Tal análise tinha o objetivo de quantificar a produção de saxitoxinas extraídas da lise celular da cepa 124.

O sistema CLAE utilizado no laboratório LETC consiste de um reservatório (temperatura constante, 15°C) para a fase móvel, uma bomba de alimentação da fase móvel (Shimadzu LC-10AD), um injetor de amostra (*loop* de 20  $\mu$ L), uma coluna de fase reversa (Phenomenex



C18, 4 µm, 150 x 4,6 mm d.i.), uma bomba peristáltica para injeção do ácido periódico, uma outra bomba peristáltica para injeção do tampão fosfato de potássio, um reator pós-coluna constituído de um tubo de 10 m de Teflon aquecido a 85°C, uma terceira bomba peristáltica para injeção de ácido acético, um detector de fluorescência (Shimadzu RF-551) e um microcomputador ligado a todo o sistema para coleta e processamento dos dados.

A fase móvel utilizada para as análises das amostras nesse trabalho consistia de heptanosulfonato de sódio 2 mM em tampão fosfato de amônio 30 mM (pH 7,1) contendo 3% de acetonitrila, com vazão de 0,8 mL/min. Essa solução é utilizada quando se pretende identificar as variantes STX, neoSTX e seus respectivos grupos decarbamoil, dcSTX e dcneoSTX, já que para outras variantes, como por exemplo as GTXs e as C-toxinas, outras soluções (fase-móvel) são mais adequadas (OSHIMA, 1995). A fase móvel é constituída de substâncias que favorecem a adsorção das saxitoxinas na coluna e posterior dessorção em tempos de retenção conhecidos.

O volume de amostra injetado foi de 20 µL. O efluente da coluna era continuamente oxidado com ácido periódico 7 mM em tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 9,0 e vazão total de 0,45 mL/min) durante a passagem pelo reator pós-coluna e, posteriormente, acidificado com ácido acético 500mM (vazão de 0,5 mL/min) para cessar a reação de oxidação antes de chegar ao detector de fluorescência. A oxidação das saxitoxinas produzia compostos fluorescentes que eram identificados no fluorímetro.

#### 4.5.2.3. Teste imunoenensaio competitivo - Kit Elisa

Diante da falta de equipamentos calibrados em Minas Gerais para determinação de saxitoxinas e para que se pudesse dar continuidade ao trabalho, as análises de determinação de saxitoxinas foram realizadas no *kit Elisa da Ridascreen@Fast Saxitoxin*.

Este *kit* já teve sua validade comprovada no que concerne à determinação de saxitoxinas presentes em peixes e mariscos, embora o mesmo não se possa afirmar para análises com água. Portanto, no presente trabalho optou-se por interpretar os resultados em termos de saxitoxinas equivalentes para cada técnica de tratamento, uma vez que os valores absolutos registrados pelo *kit Elisa*, não se apresentam totalmente confiáveis para análise com água.

O teste de imunoenensaio competitivo (*Ridascrenn Saxitoxina*) era proveniente da *R-Biopharm*. O teste era realizado de acordo com as orientações constantes no manual de instruções do *kit Elisa*. Primeiramente utilizava-se 50 µl de cada solução padrão (0; 2,5;5;10;20 e 40µg/L) para realização da curva de calibração. A amostra representativa de água tratada era coletada e ajustada para pH 7. Para realização dos testes era necessário um volume de 50 µl de cada amostra. Vale ressaltar que o extrato de saxitoxinas foi diluído diversas vezes, uma vez que os valores mínimos e máximos do limite de detecção do *kit* são respectivamente 2,5 e 40 µg/L.

Juntamente às amostras eram adicionados 50 µl de conjugado e anticorpo de anti-saxitoxinas nas cavidades da placa Elisa. A placa Elisa era misturada lentamente e incubada por 15 minutos a temperatura ambiente. Em seguida a placa era lavada com 250 µl de água deionizada. Posteriormente era adicionado 100 µl do substrato/cromógeno em cada cavidade. A placa era novamente misturada e incubada por 5 minutos em ambiente escuro, após era adicionado 100µl de solução *stop*, com o objetivo de parar a reação. Para realizar a leitura quantitativa utilizou-se um leitor *Elisa* com absorvância a 450 nm. Todos os padrões e amostras eram analisados em duplicata. Os valores de concentração de saxitoxinas das amostras eram expressas em saxitoxinas equivalente e determinadas pela curva padrão.

Os resultados de absorvância obtidos pelos padrões e pelas amostras são divididos pelo valor de absorvância do primeiro padrão (padrão zero: branco) e multiplicados por 100. O padrão zero é feito desta maneira igual a 100% e os valores de absorvância apresentados em porcentagens.

Os valores de absorvância dos padrões são inseridos em um gráfico com sistema de coordenadas semi-logarítmico versus a concentração de saxitoxinas equivalente. O limite de detecção deste método é de 2,5 µg/L. Na Figura 4.17, apresenta-se foto do *kit Elisa* utilizado nos experimentos.



Figura 4.17 - Teste imunoenensaio competitivo (*Kit Elisa*) da *Ridascreen®Fast Saxitoxin*

#### **4.6. Preparo da Água Sintética**

A metodologia empregada para a produção de água sintética consistia na diluição do extrato de saxitoxinas proveniente da lise celular em 500 mL de água destilada. Como o extrato apresentava-se acidificado (pH 3 a 4), era necessário o ajuste do pH para 7.

A detecção de saxitoxinas foi realizada utilizando o teste de imunoenensaio competitivo (*Kit Elisa*). Para cada análise realizada no kit é necessário realizar uma curva padrão, que é composta por seis pontos, totalizando em doze pontos, uma vez que a leitura é feita em duplicata. Diante a falta de recursos financeiros, optou-se em realizar as análises em bateladas, além do que os resultados eram balizados pela mesma curva. Portanto, as concentrações iniciais ( $C_0$ ) dos experimentos, apresentaram grande variabilidade da ordem de 15 a 75  $\mu\text{g/L}$ .

#### **4.7. Métodos para Determinação dos Parâmetros Analisados**

Os parâmetros avaliados nos experimentos foram pH e concentração de saxitoxinas. As análises de saxitoxinas eram realizadas em duplicadas por meio do *Kit Elisa*. Não era necessário um procedimento para concentração das toxinas, uma vez que o limite de detecção do Elisa é de 2,5  $\mu\text{g/L}$ . Ao contrário, na maioria dos casos, as amostras tiveram que ser diluídas.

As amostras de saxitoxinas antes e após a remoção foram armazenadas em frascos âmbar e acidificadas (pH 3 a 4) até o momento das análises. Vale ressaltar que no momento das análises de saxitoxinas todas as amostras tinham o pH ajustado para 7.

#### **4.8. Determinação da Capacidade Adsorptiva dos Carvões**

Os ensaios de adsorção para a construção das isothermas foram executados utilizando-se dispositivos de agitação de jarros e recipientes de acrílico de 1000 mL, em uma sala mantida sob temperatura aproximadamente constante.

Para o monitoramento da temperatura da sala utilizou-se o termômetro, e de forma indireta, para monitorar a temperatura do líquido durante os experimentos utilizou-se um termômetro num frasco com água.

O tempo de contato utilizado no experimento foi de 2 horas, uma vez este tempo corresponderia aproximadamente ao período de permanência da água em uma estação de tratamento de água. Vale ressaltar também que a norma D3860-98 da *American Society for Testing and Materials* – ASTM (2000) determina 2 horas como um tempo suficiente para adsorção de moléculas.

O procedimento utilizado neste experimento para a água sintética, conforme descrito, consiste na adição de 3 mL de extrato de saxitoxinas para 497 mL de água destilada. O pH era ajustado entre 6 a 7.

As concentrações iniciais de saxitoxinas adotadas foram equivalentes ao total de toxina presente no extrato diluído 166,67 vezes, perfazendo valores de concentração de 15 a 75 µg/L de saxitoxinas equivalentes. A massa de carvão ativado e o volume da amostra utilizado foram definidos com base nas recomendações da norma D3860-98, descritas na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Volumes de amostras e massas de carvão para níveis de concentração de adsorvato

Concentração de adsorvato (mg/L)	Volume da amostra (mL)	Massa de carvão sugerida (mg)
≤ 10	500	1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 25,0 e 50,0
>10; 100	100	10,0; 20,0; 40,0; 100,0; 200,0; 400,0; 1.000,0; 2.000,0 e 4.000
>100	100	50,0; 100,0; 200,0; 500,0; 1.000,0; 2.000,0; 5.000,0 e 10.000,0

Fonte: (ASTM, 2000)

O volume adotado para a amostra foi de 500 mL e as dosagens de CAP foram 5, 15, 20 e 50mg/L correspondendo a uma massa de 2,5; 7,5; 10 e 25 mg respectivamente. As dosagens adotadas basearam-se no intervalo usualmente utilizados em estações de tratamento de água. Valores superiores a 50 mg/L de CAP torna-se inviável economicamente para as concessionárias potabilizadoras de água, além do que correria outros problemas sanitários como: grande produção de lodo nos decantadores e comatação mais frequentes dos filtros.

De acordo com a norma D3860-98, para determinação da capacidade adsortiva dos CAP era necessário que os carvões fossem moídos até apresentarem 95% de sua granulometria inferior a 45 µm. Após este procedimento era pesada a massa de CAP estabelecida de acordo com a dosagem e adicionado 20 mL de água destilada. Posteriormente o CAP era colocado em um dessecador acoplado a uma bomba de vácuo. A massa de CAP permanecia sobre condições de subpressão aproximadamente 3 (três) horas, até o momento de ser adicionada à amostra. Este procedimento era adotado com o objetivo de retirar o ar dos interstícios do carvão, possibilitando, desta forma, que a superfície dos poros entrasse em contato com o meio líquido.

Os ensaios foram realizados em duplicata no equipamento de *Jar Test* (Nova Ética), com seis jarros de 2L, apto para coletar água decantada e capacidade de imprimir gradientes de 10 e 2000 s<sup>-1</sup>.

Os jarros de *Jar Test* foram adaptados para frascos de acrílico de 1.000 L, uma vez que as amostras perfaziam um volume de 500 mL. Na Figura 4.18 apresenta-se o equipamento utilizado no experimento.



Figura 4.18- Experimento de *Jar Test*, com jarros de 1000 mL utilizado no experimento.

As amostras foram agitadas para manter o CAP em suspensão (aproximadamente 100 rpm), correspondendo a um gradiente de aproximadamente  $220 \text{ s}^{-1}$ , valor obtido por meio da curva do equipamento de *Jar Test* (Nova Ética). É importante discutir que o procedimento adotado para adsorção de saxitoxinas foge dos padrões convencionais de tratamento de água, ou seja, de acordo com a norma D3860-98 da ASTM, 2000 o CAP deve permanecer pelo menos 2 horas em um gradiente 100 rpm para adsorção completa das moléculas de saxitoxinas.

Depois de decorrido o tempo de contato de 2 horas, as amostras foram imediatamente filtradas em membranas com abertura dos poros de  $0,45 \mu\text{m}$  para separação do CAP. Para evitar interferências relativas às diferenças no tempo de contato em relação à etapa de filtração, o início do ensaio foi realizado com defasagem de 10 min de um frasco para outro.

A fração filtrada era submetida à leitura do pH e análises de concentração de saxitoxinas. Esses experimentos foram realizados em duplicata para cada CAP.

De posse dos resultados obtidos foram determinadas as isotermas tanto para o modelo de Freundlich, como para o modelo de Langmuir.

#### **4.9. Determinação da Eficiência de Remoção de Saxitoxinas Utilizando a Cloração**

Assim como nos experimentos de determinação da capacidade adsortiva dos carvões, os ensaios para determinação da eficiência de remoção de saxitoxinas utilizando a cloração

foram executados em quadruplicata utilizando-se dispositivos de agitação para testes de jarros em recipientes de 1.000 mL.

Com o objetivo de verificar a eficiência da cloração para pequenas concentrações de saxitoxinas, a metodologia empregada no preparo da água sintética para este experimento, consistia na adição de 2 mL de extrato de saxitoxinas para 498 mL de água destilada. O pH era ajustado para valores entre 6 a 7.

Os tempos de contato utilizados nos experimentos foram de 30 e 60 minutos e as dosagens testadas foram de 0,9; 1,2 e 1,5 mg/L de cloro ativo, uma vez que foi utilizado no experimento hipoclorito de cálcio. Estes tempos de contato foram determinados principalmente em relação ao tempo percorrido para água realizar a desinfecção. Em relação as dosagens, as mesmas foram baseadas em relação ao intervalo usualmente utilizado para desinfecção de águas filtradas.

As amostras foram agitadas (100 rpm) , simulando a homogeneidade fornecida pelas chicanas presentes no tanque de contato. Após concluído o tempo de contato, a amostra era submetida a leitura de pH e análises de saxitoxinas.

#### ***4.10. Análise Estatística dos Dados de Remoção de Saxitoxinas***

##### **4.10.1. Estatística descritiva dos dados**

Os dados experimentais de concentração de saxitoxinas ( $\mu\text{g/L}$ ) foram analisados por meio de estudos estatísticos preliminares, visando uma descrição numérica das variáveis quantitativas. Para todas as dosagens de carvão mineral, osso e madeira e hipoclorito foram calculadas as estatísticas descritivas relativas ao número de dados, média, mediana, mínimo, máximo, amplitude (máximo-mínimo), desvio padrão e coeficiente de variação.

##### **4.10.2. Análise de Variância**

Os testes paramétricos dependem da premissa de que a distribuição dos dados seja normal. No presente trabalho não se pode admitir que as amostras possuem uma distribuição normal, visto que o tamanho da amostra é extremamente pequena. Portanto, com o objetivo de avaliar a análise de variância dos tipos de carvões utilizados na remoção de saxitoxinas, foram utilizados testes não-paramétricos.

A execução do teste de Kruskal-Wallis inicia-se com a classificação crescente das variáveis analisadas, desconsiderando a distribuição entre diferentes grupos ou amostras de dados, ou seja, faz-se uma ordenação ou “*ranking*”. Durante o procedimento, podem ocorrer repetições nos valores das variáveis. Caso isto ocorra, deve-se calcular a média aritmética da posição ocupada na ordenação para cada valor repetido. Dessa forma, os dados originais de cada amostra serão substituídos por sua respectiva classificação, caso existam variáveis repetidas.

O teste não-paramétrico utilizado foi o Kruskal Wallis, cujo objetivo desta análise de variância consiste em estimar as variações sistemáticas entre medianas e determinar se essas variações são significativas, ou seja, verificar a existência ou não da hipótese nula.

Como mencionado anteriormente, os valores de concentrações iniciais de saxitoxinas não foram os mesmos para todos os carvões avaliados, portanto para análise de variância foram considerados os percentuais de remoção para cada dosagem analisada.

Em seguida, resolve-se a seguinte expressão e calcula-se o valor de h (Equação 5.1)

$$h = \frac{12}{n(n+1)} \sum_{i=1}^k \frac{r_i^2}{n_i} - 3(n+1) \quad (5.1)$$

Na qual:

h = estatística de teste (Kruskal-Wallis);

n = número de dados;

k = número de amostras;

r<sub>i</sub> = número de dados em cada amostra.

Após determinar h e conhecer o grau de liberdade ( $v = k - 1$ ), o resultado da hipótese nula é obtido pela tabela de estatística da distribuição Qui-Quadrado ( $\chi^2_{\alpha,v}$ ).

Se o valor de h obtido está situado na região crítica, ou seja, se  $h > \chi^2_{\alpha,v}$  (valor da tabela), deve-se rejeitar a hipótese nula ( $H_0$ ) a um nível de significância ( $\alpha$ ), caso se verifique o contrário, isto é, se  $h < \chi^2_{\alpha,v}$  (valor da tabela), deve-se aceitar  $H_0$ . O teste deve-se ser aplicado separadamente para cada parâmetro em estudo, identificando suas semelhanças em cada uma das diferentes células experimentais.



---

É importante salientar que o tamanho da região crítica ou nível de significância ( $\alpha$ ) define a probabilidade de se rejeitar uma hipótese verdadeira, também conhecida como erro do tipo I. Sendo assim, a definição de qual será o valor de  $\alpha$  adotado para realizar o teste de Kruskal-Wallis será função da probabilidade de erro que se quer admitir na análise.

O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para verificar as análises de variância entre as dosagens de CAP estabelecidas e entre os tipos de carvões, ou seja análises entre-grupos e intra-grupos. Em uma outra análise, foi verificada a variância entre as dosagens de hipoclorito de cálcio e entre os tempos contato utilizados.

Todos os cálculos, provenientes do teste de Kruskal-Wallis, foram realizados com o auxílio do software STATISTICA 6.1. Vale ressaltar que foram utilizados todos os dados referentes às réplicas experimentais, uma vez que com maior número de dados se obtém uma confiabilidade estatística melhor.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Caracterização dos Carvões

Os resultados apresentados para a caracterização dos carvões serão extensivos aos cinco carvões selecionados, porém apenas três foram escolhidos para os ensaios de adsorção (Mad-3, osso e mineral), uma vez que a pesquisa não apresentava recursos financeiros para realização dos testes de remoção de saxitoxinas com todos os carvões. No anexo A apresentam-se os resultados das análises de caracterização dos cinco carvões ativados em pó.

#### 5.1.1. Determinação granulométrica

As figuras 5.1 a 5.3 apresentam os resultados da determinação granulométrica em comparação com os valores apresentados pela norma de caracterização dos carvões ativados em pó EB-2133 da ABNT. Os gráficos correspondem às porcentagens de massa passante nas peneiras n° 100, 200 e 375 para cada CAP avaliado. Os resultados apresentados são valores médios e suas respectivas dispersões em termo de desvio padrão.

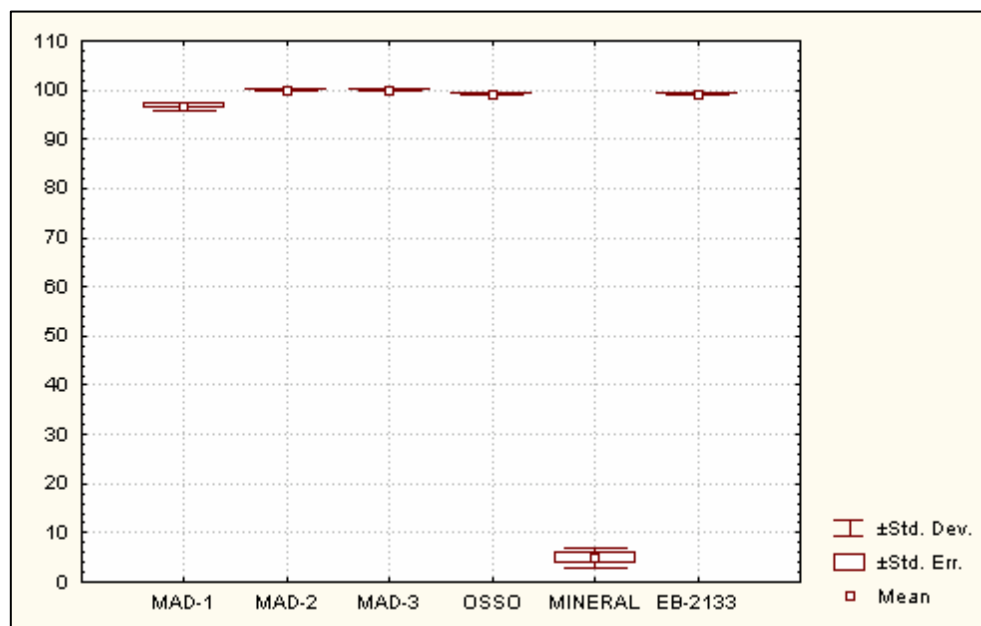


Figura 5.1 – Porcentagem de massa passante na peneira n° 100 (150 µm)

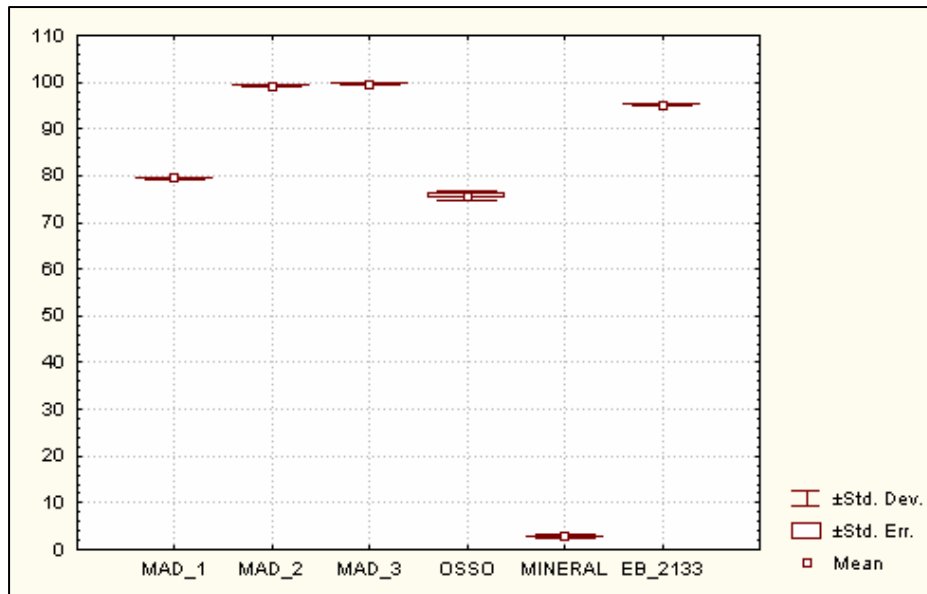


Figura 5.2 – Porcentagem de massa passante na peneira nº 200 (75 µm)

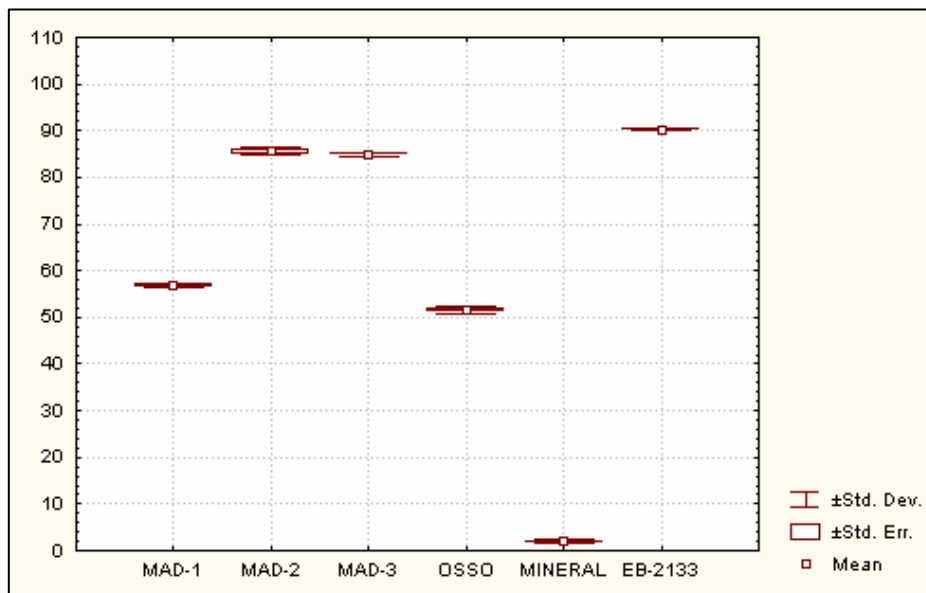


Figura 5.3 – Porcentagem de massa passante na peneira nº 325 (45 µm)

A análise granulométrica foi realizada com o objetivo de comparar a distribuição granulométrica das amostras e verificar se os mesmos se enquadram nos valores estipulados pela norma EB-2133 da ABNT. Vale ressaltar que os valores da norma EB-2133 apresentados nos gráficos correspondem aos valores mínimos. Observa-se nas figuras 5.1 a 5.3 que o carvão mineral é constituído de partículas mais grosseiras em relação aos demais carvões: 95% de suas partículas são superiores a 150µm. Os carvões vegetais, Mad-2 e o Mad-3, são os carvões que apresentaram granulometria mais fina.

Em relação aos dados fornecidos pelos fabricantes, observa-se que as características relativas à granulométrica dos carvões de madeira apresentaram-se distinta dos caracterizados pela pesquisa.

Verificou-se também que nenhuns dos carvões analisados enquadram-se nos valores de percentagem de massa passante na peneira nº 200 e 325 determinados pela norma EB-2133. Portanto ressalta-se a importância da caracterização dos carvões para avaliação da adsorção de adsorvatos.

### 5.1.2. Número de iodo

A magnitude do índice de iodo de cada carvão possibilita uma avaliação do índice representativo da quantidade de poros presentes na amostra de CAP, uma vez que o número de iodo fornece uma indicação do número de poros acima de 0,27 nm, valor correspondente ao diâmetro da molécula de iodo.

Na Figura 5.4 apresentam-se os resultados do número de iodo, os valores médios e suas respectivas dispersões, em termos do desvio padrão. Vale ressaltar que os valores da norma EB-2133 apresentados no gráfico correspondem aos valores mínimos. Observa-se que os carvões de origem vegetal foram os que apresentaram os maiores valores de número de iodo, e, conseqüentemente, de microporos comparados aos carvões de origem animal e mineral.

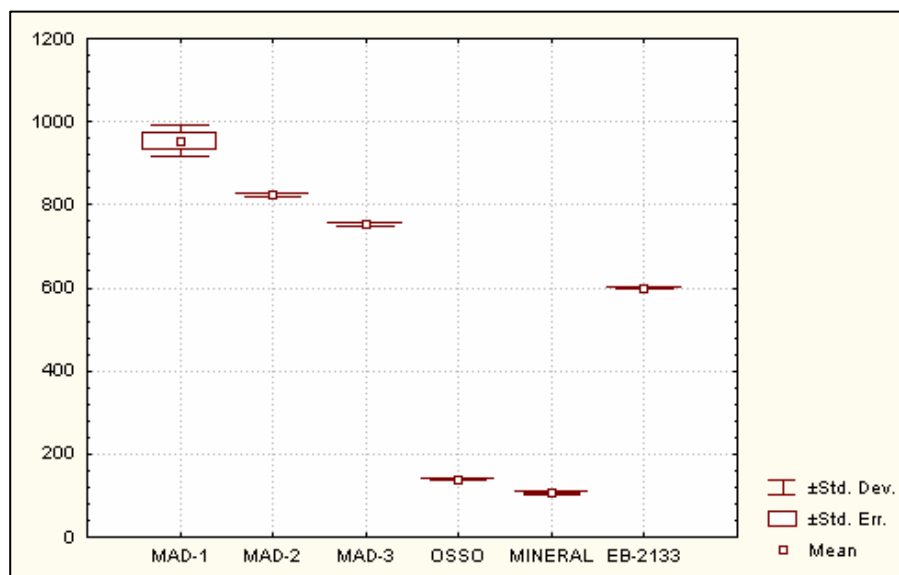


Figura 5.4- Número de iodo (mg/g) para cada CAP avaliado

Outro fator importante é que apenas os carvões vegetais apresentaram número de iodo superior a 600  $\text{mgI}_2/\text{g}$ , como estipulado pela norma EB-2133.

### 5.1.3. Área superficial BET e distribuição do tamanho dos poros

As superfícies específicas de cada carvão foram estimadas empregando o método de BET. Os cálculos dos volumes de poros foram realizados utilizando o método de BJH. Na Tabela 5.1 apresenta-se o resumo dos resultados da caracterização dos carvões.

Tabela 5.1- Resumo da caracterização dos CAPs

CAP	Nº de iodo ( $\text{mgI}_2/\text{g}$ )	Densidade ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	Área BET ( $\text{m}^2/\text{g}$ )	Volume de poros ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	Distribuição dos tamanhos dos poros $\text{cm}^3/\text{g}$ (%)		
					Microporos	Mesoporos	Macroporos
MAD-1	920,71+10,62	2,05	945	0,634	0,330 (62)	0,038 (6)	0,201 (32)
MAD-2	824,12+2,73	2,28	823	0,649	0,380 (58)	0,074 (11)	0,215 (31)
MAD-3	754,13+5,31	1,70	774	0,498	0,300 (61)	0,036 (7)	0,120 (32)
OSSO	137,74+0,25	2,65	122	0,320	0,128(40)	0,160 (50)	0,032 (10)
MINERAL	105,03+1,54	2,77	2,5	0,005	0,003(55)	0,001 (25)	0,001 (25)

média  $\pm$  desvio padrão

Na Figura 5.5 apresenta-se a distribuição dos tamanhos dos poros presente em cada amostra de CAP para as três faixas de tamanho consideradas (micro, meso e macroporos).

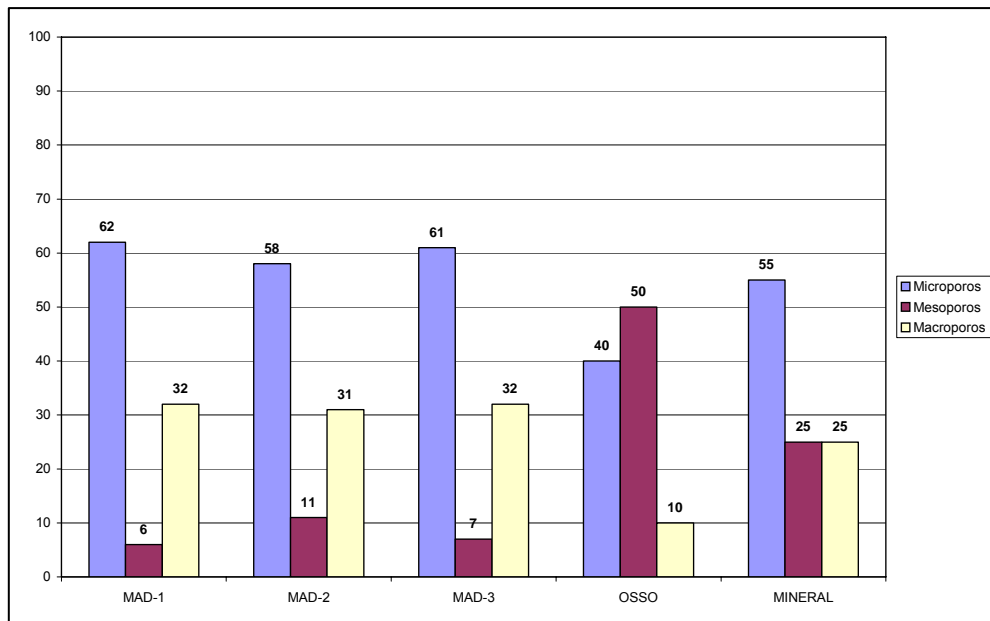


Figura 5.5 – Percentual de distribuição do tamanho dos poros nos CAPs.

Observa-se que a seqüência dos valores da superfície específica em ordem decrescente para os carvões é a mesma para o índice de iodo e o volume de microporos – Mad-1, Mad-2, Mad-3, Osso e Mineral. Existe, portanto, uma correspondência direta entre ambos os parâmetros, isto é, altos valores de superfície específica correspondem a altos valores de índice de iodo e maiores volumes de microporos.

Os carvões de madeira foram os que apresentaram o maior volume de microporos, comparados com os outros carvões. O carvão de osso foi o que apresentou maior volume de mesoporos, seguido pelo CAP Mad-2. O carvão Mineral foi o que apresentou menor volume de poros, conseqüentemente menor número de iodo e menor superfície específica.

#### 5.1.4. Fotografias em microscópio eletrônico de varredura- MEV

A forma dos grãos e o tipo de superfície (plana, conchoidal, irregular) podem ser observadas nas figuras 5.6 a 5.10, dos diferentes tipos de carvões.

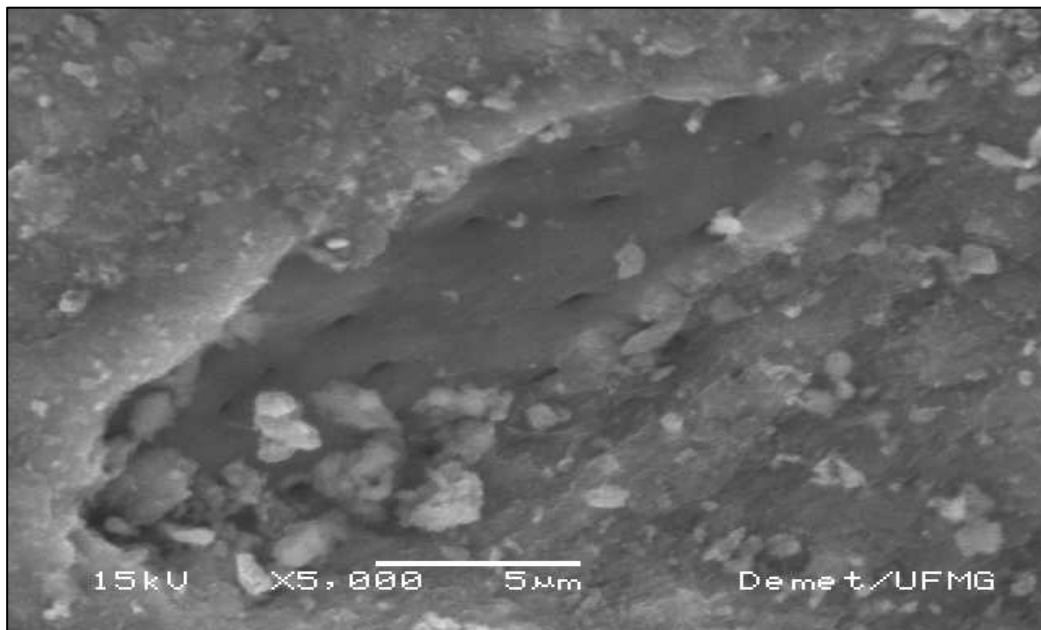


Figura 5.6 – Fotografia da amostra de CAP de osso com aumento de 5.000 vezes

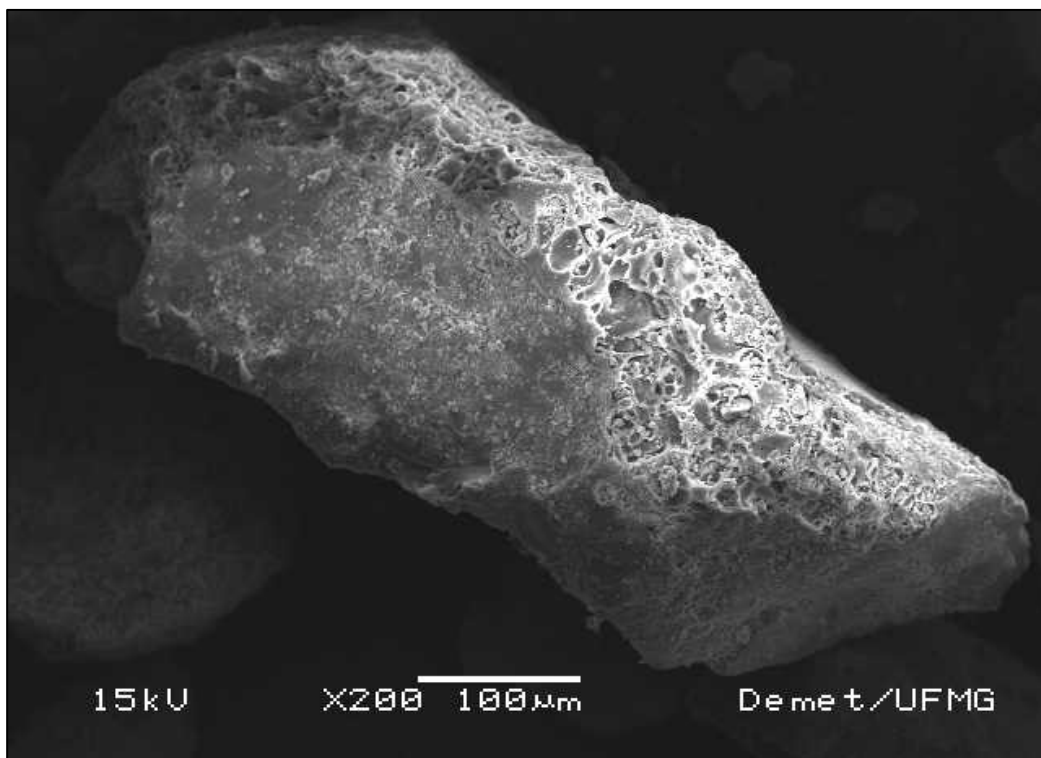


Figura 5.7 - Fotografia da amostra de CAP mineral com aumento de 200 vezes

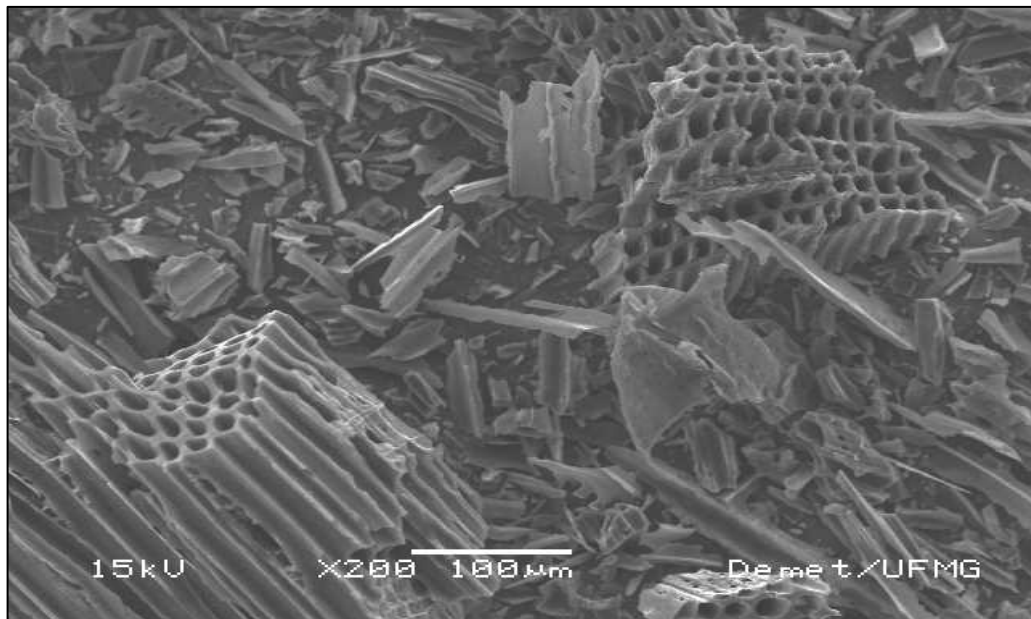


Figura 5.8- Fotografia da amostra de MAD 1 com aumento de 200 vezes

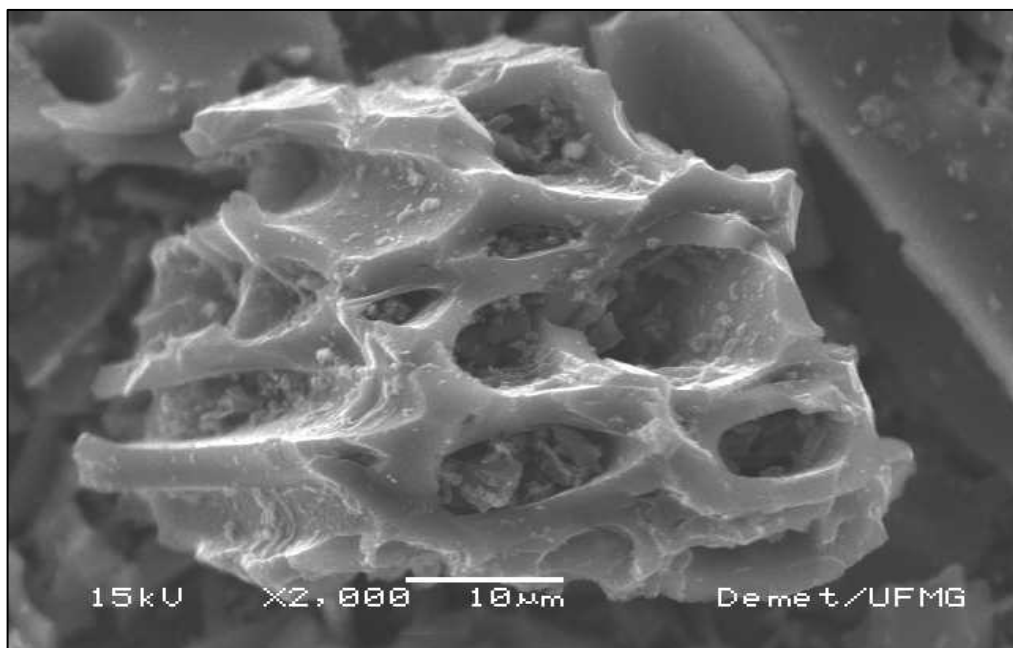


Figura 5.9 - Fotografia da amostra de MAD 2 com aumento de 2.000 vezes



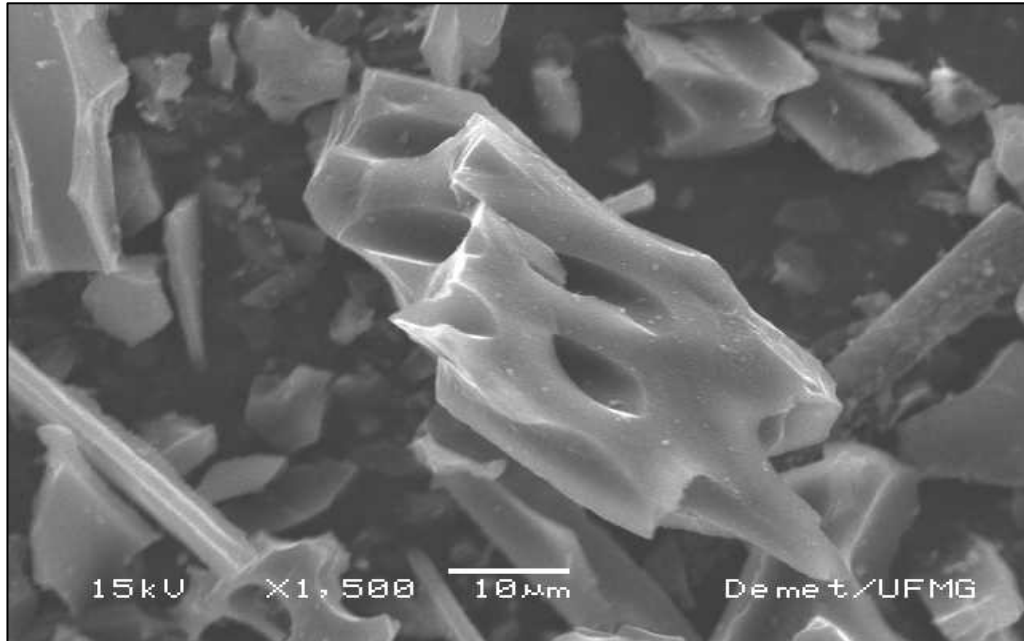


Figura 5.10 - Fotografia da amostra de MAD 3 com aumento de 1.500 vezes

Nas figuras 5.6 a 5.10, respectivamente, apresentam-se a natureza altamente porosa da superfície dos carvões, assim como a heterogeneidade de tamanho dos poros dos carvões Mad-1, Mad-2 e Mad-3.

Nas fotografias em MEV pode-se verificar as diferenças morfológicas de cada CAP, e ainda visualizar o arranjo e a conformação dos poros. Nas fotografias apresentadas nas figuras 5.8, 5.9 e 5.10, observou-se que os carvões vegetais apresentaram uma superfície bastante porosa comparada aos carvões de Osso e Mineral, que por sua vez, apresentaram uma superfície bastante irregular, não ficando clara a visualização de poros.

## **5.2. Preparo da Água Sintética**

### **5.2.1. Análise de saxitoxinas no extrato de células de *C.raciborskii***

#### **5.2.1.1. Testes Toxicológicos com Camundongos**

Os resultados obtidos nos bioensaios de toxicidade com camundongos *Swiiss ssp.* demonstraram que as amostras apresentaram elevada toxicidade. Os animais manifestaram efeitos de letalidade em um período máximo de 5 minutos, apresentando sintomas neurotóxicos (sintomas de contração muscular, taquicardia, respiração ofegante e parada respiratória).

Foram injetadas em seis camundongos duas doses semelhantes para cada par de camundongos, totalizando-se três doses médias letais (mg de peso seco de células de *C.raciborskii* por kg de peso corpóreo).

As duas primeiras doses médias letais correspondentes a 377,22 e 198,59 mg/kg foram responsáveis pela morte de todos os camundongos. A última dose correspondeu a 41 mg/kg de peso corpóreo, sendo responsável pela morte de apenas um camundongo. Portanto a dose letal em 50% dos camundongos foi de 41 mg/kg. Porém não se pode considerar esta dose como a  $DL_{50}$ , uma vez que se utilizaram apenas 2 camundongos para cada dose intraperitoneal.

De acordo com a classificação sugerida por LAWTON *et al.*, (1994b), para valores menores do que 100 mg de peso seco de células de cianobactérias /kg de peso corpóreo, pode-se considerar a cepa com toxicidade alta. Como a dosagem de 41 mg/kg foi responsável pela morte de apenas um camundongo, pode-se considerar que a cepa é extremamente tóxica.

#### 5.2.1.2. Saxitoxinas detectadas por cromatografia de alta eficiência

Como mencionado no item 4.5.2, as análises para detecção de saxitoxinas no extrato proveniente da lise de células da cepa 124 de *C.raciborskii* foram realizadas no LETC do Instituto de Biofísica Carlos Chagas da UFRJ. Na Figura 5.11 apresenta-se o cromatograma dos padrões de neoSTX e STX e na Figura 5.12 o perfil cromatográfico do extrato proveniente do cultivo de *C.raciborskii* lisado.

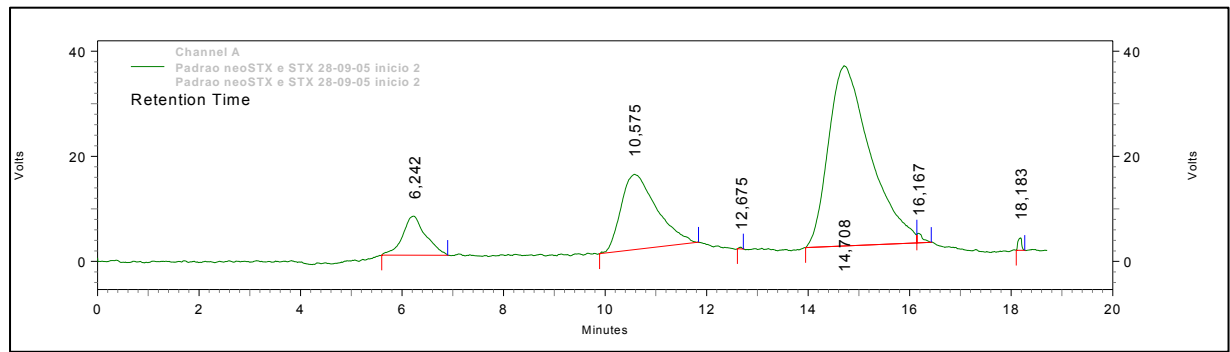


Figura 5.11 - Perfil cromatográfico dos padrões de saxitoxina (STX) e neosaxitoxina (neoSTX)

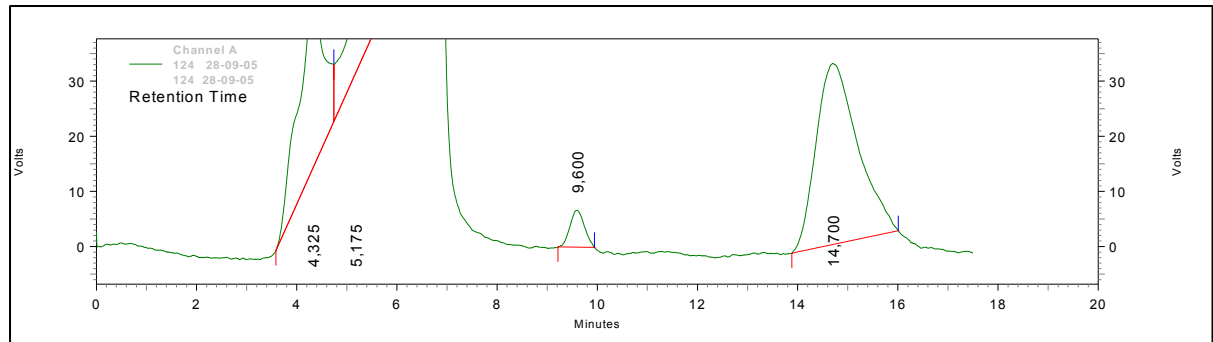


Figura 5.12 – Perfil cromatográfico do extrato proveniente do cultivo de *C. raciborskii* lisado

De acordo com a Figura 5.11 observa-se que o perfil cromatográfico apresentado pelos padrões de neoSTX e STX corresponderam a um tempo de 10,57 e 14,71 minutos, respectivamente. O perfil cromatográfico apresentado pelo extrato de saxitoxinas, correspondente à Figura 5.12, apresentou picos com tempo de detenção característicos de neoSTX e STX. Vale ressaltar que o cromatogramas dos padrões e do extrato apresentaram um pico não identificado com um tempo de detenção em torno de 6 minutos.

Lagos *et al* (2004) mostram que o pico que aparece no tempo de retenção de 6 minutos refere-se à mistura de goniautoxinas (GTX). Na Figura 5.13A os autores apresentaram um perfil cromatográfico do padrão de saxitoxinas, com três picos bem definidos – GTX, neoSTX e STX, os quais assemelharam-se ao perfil mostrado na Figura 5.11. Observa-se, também na Figura 5.14B que o perfil cromatográfico da amostra apresentada no trabalho de Lagos *et al* (2004), aproximou-se ao apresentado na Figura 5.12. Os pesquisadores concluíram que para identificar os tipos de goniautoxinas presentes na amostra, conforme Figura 5.13C, deve-se utilizar a fase móvel correspondente (heptanosulfonato de sódio (2mM) em 10mM de fosfato de amônia) e pH 7,1. Esta conclusão fundamenta-se no fato da fase móvel para detecção de STX, neoSTX e dcSTX (heptanosulfonato de sódio (2mM) em 30mM de fosfato de amônia,

pH 7,1 e concentração de 10:5 de acetonitrila)- apresentar um único pico para o grupo de goniautoxinas.

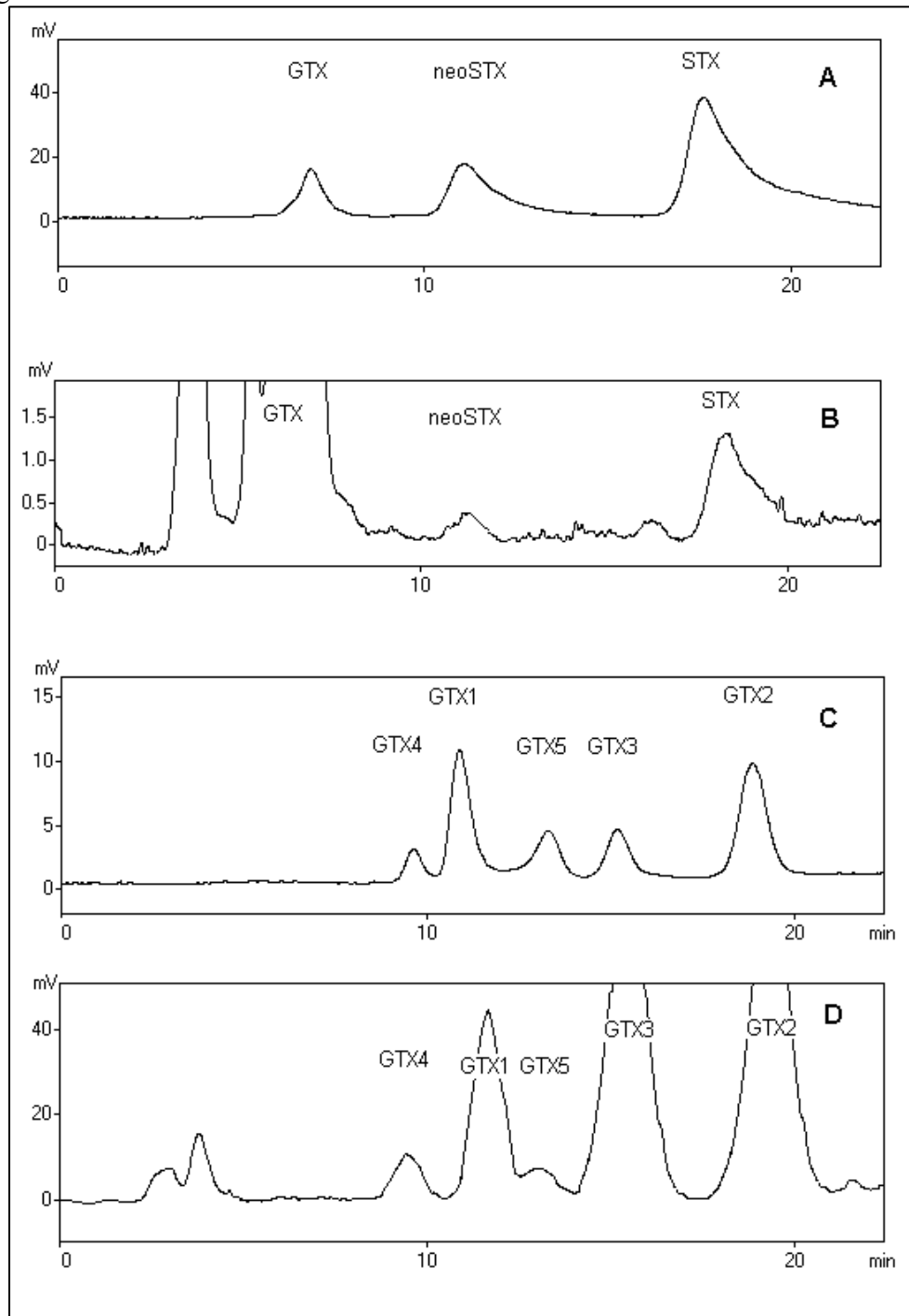


Figura 5.13 – Perfis cromatográficos do extrato proveniente do cultivo de *C. Raciborskii* apresentado no trabalho de Lagos et al (2004)

Fonte: LAGOS et. al (2004)

Portanto, acredita-se que provavelmente o pico desconhecido presente na amostras do extrato de saxitoxinas proveniente da lise das células de *C. raciborskii* refere à goniautoxinas, contudo é necessária a aquisição de padrões dessa toxina e nova análise para poder confirmar esta hipótese.

As concentrações de neoSTX e STX apresentadas na amostra do extrato de saxitoxinas foram calculadas de acordo com a curva de calibração construída pelo LETC. Nas Figuras 5.14 e 5.15 apresentam-se as curvas de calibração para neoSTX e STX, respectivamente, com ajuste linear e coeficiente de correlação ( $R^2$ ). A massa das saxitoxinas traçadas no eixo das abscissas é equivalente à concentração em 20  $\mu\text{L}$ .

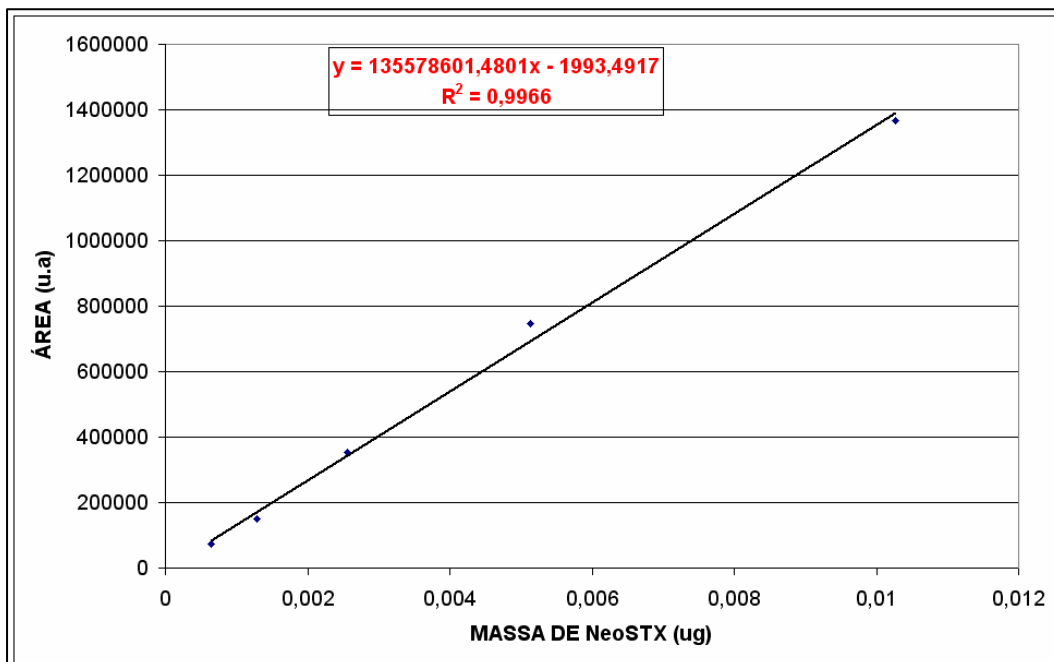


Figura 5.14 – Curva de Calibração para neoSTX

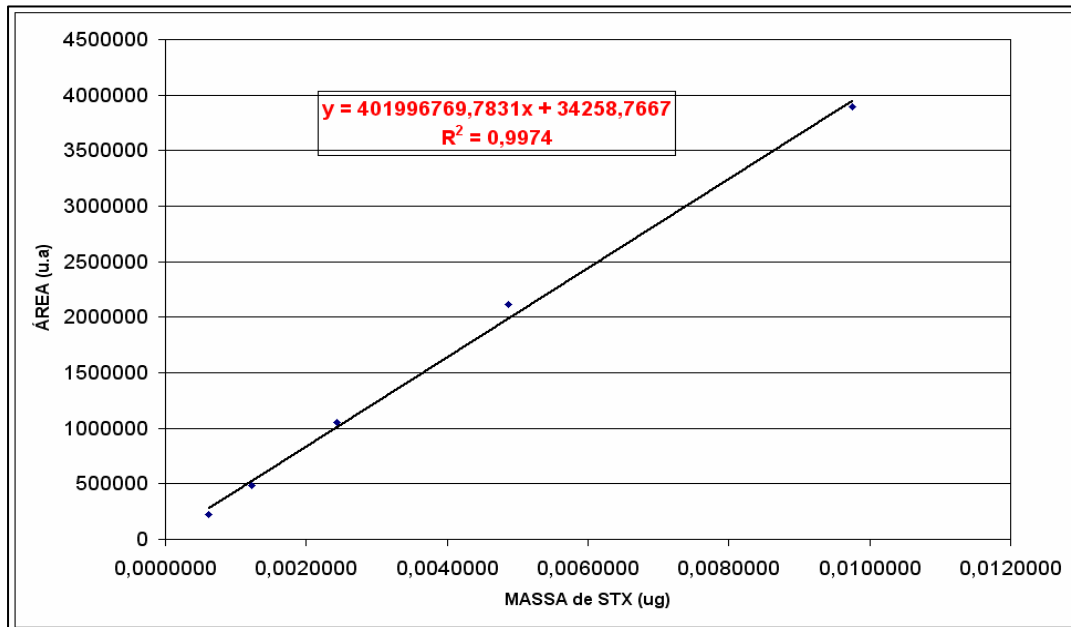


Figura 5.15 – Curva de Calibração para STX

As concentrações de neoSTX e STX foram calculadas com a equação de ajuste de pontos da curva de calibração para cada toxina identificada. O valor obtido correspondia à concentração de toxina presente no extrato. Portanto para determinar a toxina presente no cultivo era necessário corrigir o valor de acordo com o número de vezes que a amostra inicial foi concentrada. As equações 5.1 e 5.2 correspondem aos ajustes das curvas de calibração de neoSTX e STX, respectivamente:

$$M_{neo} = 135296097,170 \cdot A_{neo} \quad (5.1)$$

Na qual:

$M_{neo}$  = massa de neoSTX equivalente à concentração em 20  $\mu$ L ( $\mu$ g);

$A_{neo}$  = área do pico correspondente a neoSTX no cromatograma (u.a).

$$M_{stx} = 407106586,573 \cdot A_{stx} \quad (5.2)$$

Na qual:

$M_{stx}$  = massa de neoSTX equivalente a concentração em 20  $\mu$ L ( $\mu$ g);

$A_{stx}$  = área do pico correspondente a neoSTX no cromatograma (u.a).

### 5.2.1.3. Testes de imunoenaios para detecção de saxitoxinas

Diante dos problemas apresentados com a metodologia para quantificação de saxitoxinas no Laboratório Metropolitano da Copasa, conforme mencionado no item 4.5.2 e para dar continuidade ao trabalho, optou-se realizar os ensaios com o *kit Elisa*. Porém era necessária uma comparação entre os resultados apresentados pelo Elisa e o CLAE, uma vez que o teste de imunoenensaio competitivo para saxitoxinas ainda não foi devidamente testado para análises em água ou plâncton.

O valor base detectado pelo CLAE para concentração de saxitoxinas obtido no extrato de 10mL, resultante da lise celular proveniente do cultivo de *C.raciborskii* com densidade de 436.000 células/mL (neoSTX e STX), foi de 551 µg/L. Por meio deste valor foram realizadas as diluições respectivas para comparação com os valores apresentados pelo Elisa.

Na Figura 5.16 apresenta-se a comparação entre os valores calculados pelo CLAE e os valores médios obtidos pelo Elisa.

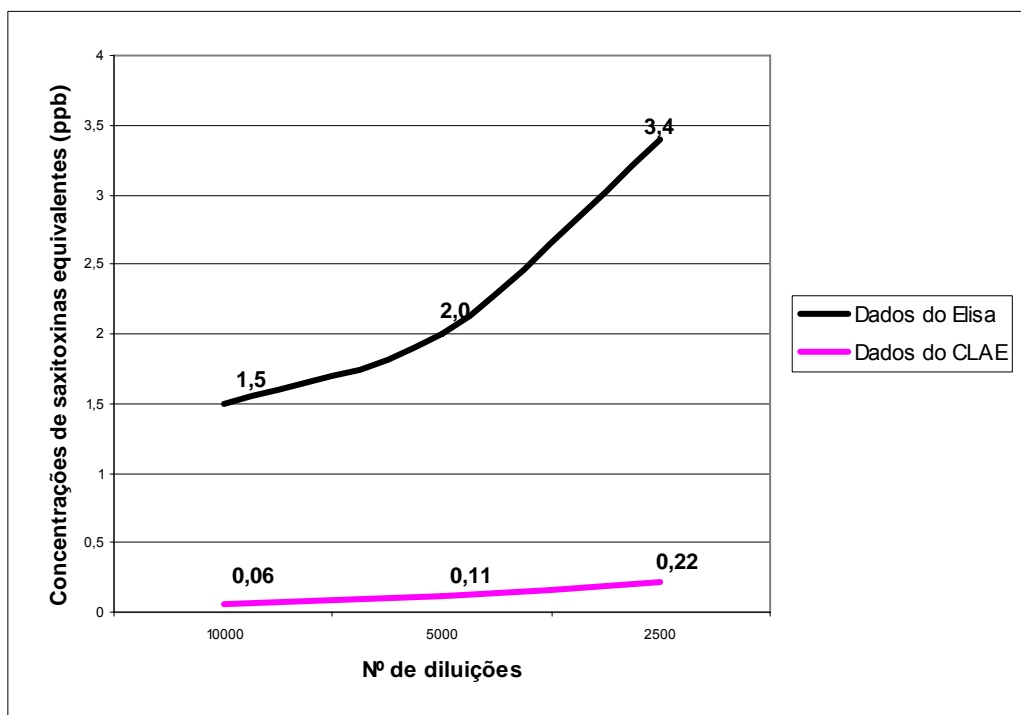


Figura 5.16 – Gráfico comparativo entre valores de concentração de saxitoxinas obtidos pelo CLAE e Elisa

Analisando a Figura 5.16 verifica-se que os valores obtidos pelo Elisa apresentaram-se superiores aos valores calculados pelo CLAE. Tal fato justifica-se pela possível presença de goniautoxinas nas amostras, uma vez que as análises de cromatografia líquida restringiram-se à detecção de neoSTX e STX e o teste de imunoenensaio detecta as saxitoxinas equivalentes, isto é saxitoxinas totais na amostra. Valores mais elevados são de fato esperados. Contudo, é necessária que se investigue mais profundamente esta afirmação.

Outro parâmetro utilizado para verificar a fidedignidade do teste de imunoenensaio competitivo para saxitoxinas foi a comparação das concentrações dos padrões externos de neoSTX e STX em relação aos valores obtidos pelo Elisa.

Conforme mencionado no item 3.6.2.2, o teste *Ridascreen®Fast Saxitoxin* apresenta reatividade de 100% para STX e 12% para neoSTX, portanto os valores apresentados na Figura 5.17 estão ajustados conforme a reatividade informada no manual do *kit*.

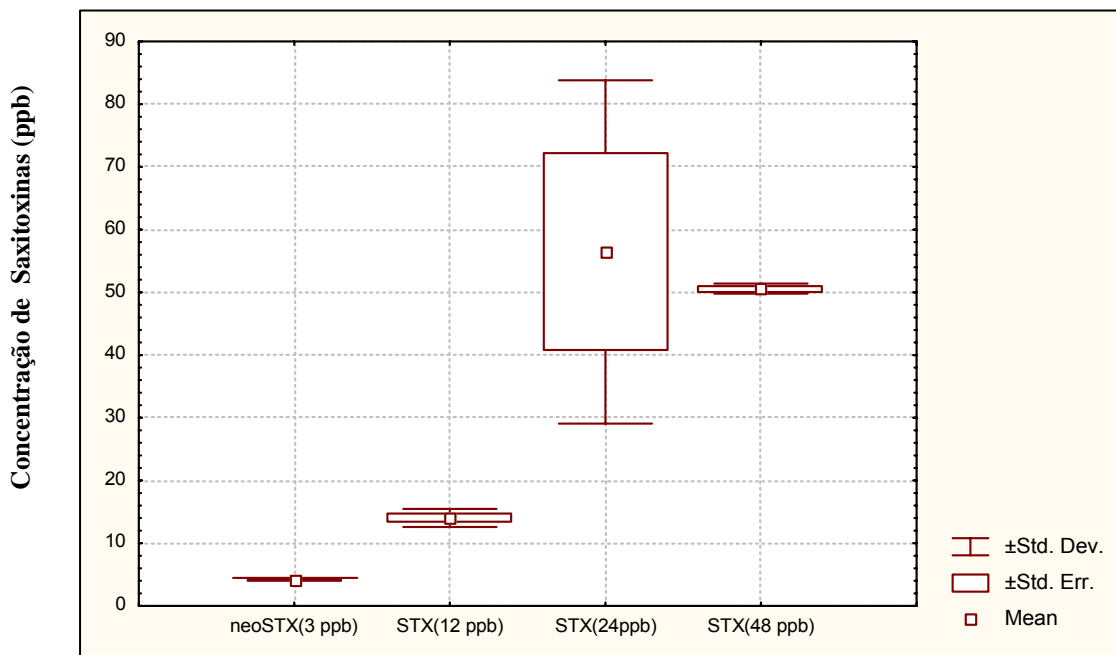


Figura 5.17 – Concentrações de NeoSTX e STX obtidos pelo kit Elisa

De acordo com a Figura 5.17, observa-se que as concentrações extraídas do *kit* se apresentaram bastante coerentes em relação às concentrações dos padrões, apresentados na abscissa do gráfico. Exceto em relação ao ponto correspondente à concentração de 24  $\mu\text{g/L}$ , este dado apresentou grande variabilidade induzindo a conclusão de falha operacional neste ponto. Apesar desta constatação, conclui-se pela elevada tendência da fidedignidade do *kit*



para as análises em água. Porém é evidente a necessidade de um maior número de testes. Ainda assim o trabalho foi desenvolvido utilizando tal método, devido a problemas durante a pesquisa com relação a medidas realizadas pelo CLAE. Portanto verificou-se apenas a porcentagem de remoção de cada técnica aplicada.

Outro fator limitante na pesquisa foi à dificuldade de aumentar o tamanho das amostras, uma vez que todo o experimento foi realizado com kit Elisa. O método de imunoenensaio competitivo é oneroso, sendo capaz de realizar apenas pequenas quantidades de amostras, o que inviabiliza a pesquisa.

No anexo B, apresenta-se a curva de calibração utilizada no teste Elisa para quantificação das saxitoxinas, bem como os valores residuais de saxitoxinas obtidos após as técnicas de remoção.

### **5.3. Avaliação da Capacidade Adsorativa dos Carvões**

Conforme descrito no item 4.6, as concentrações iniciais de saxitoxinas não foram as mesmas para os três tipos de carvão, porém foi possível avaliar o desempenho a partir de cada percentual de remoção. Os resultados residuais de concentração de saxitoxinas para diferentes dosagens de CAP estão apresentados nas figuras 5.18 a 5.20 representando à média e o desvio padrão dos valores obtidos experimentalmente em quadruplicata.

Como descrito no item 4.8, o tempo de detenção do CAP na água era de 2 horas. Outro aspecto que merece comentário é em relação ao método de quantificação de saxitoxinas. Os valores apresentados para concentrações iniciais e finais se referem às saxitoxinas equivalentes, uma vez que os testes Elisa não são capazes de distinguir cada toxina.

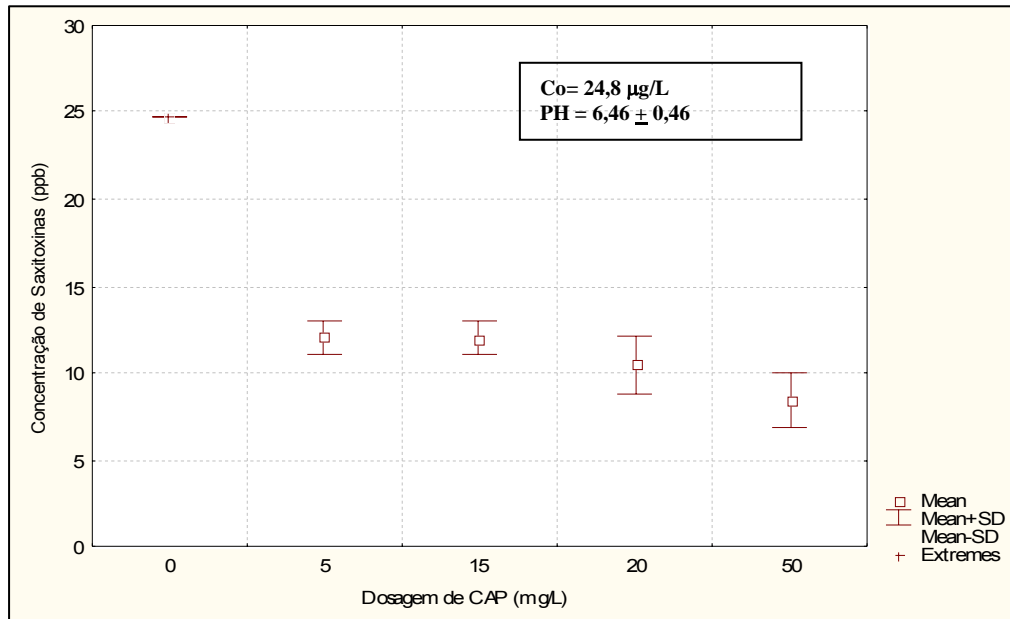


Figura 5.18 – Residuais de saxitoxinas para doses de CAP de madeira

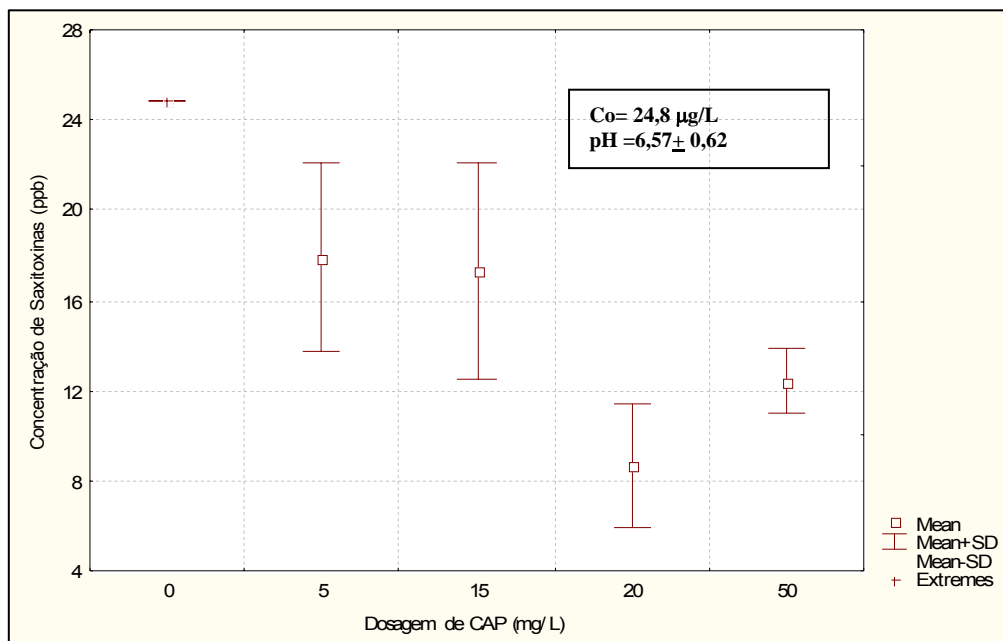


Figura 5.19 – Residuais de saxitoxinas para doses de CAP Osso

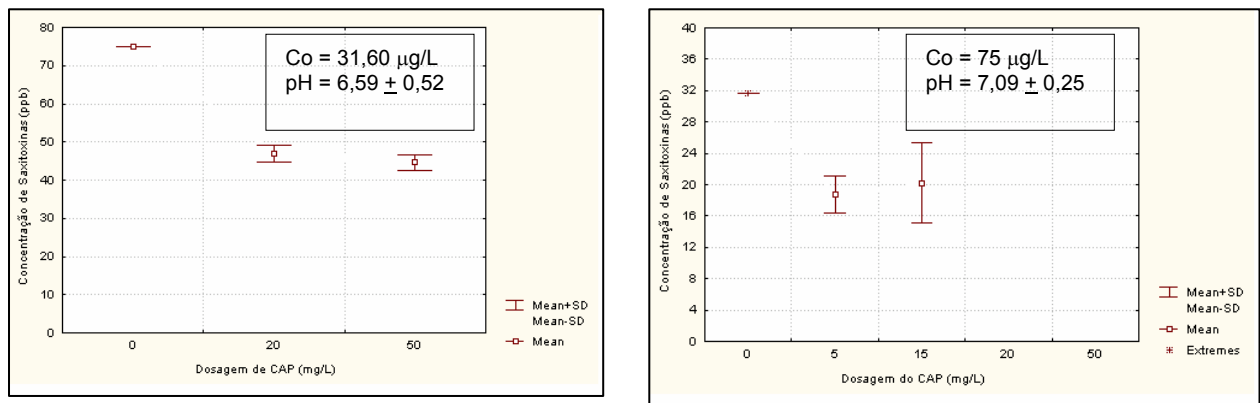


Figura 5.20 – Residuais de saxitoxinas para dosagens de CAP Mineral

Analisando as figuras 5.18 a 5.20, verifica-se a tendência da redução da concentração residual de saxitoxinas com o aumento das dosagens de carvões. Esta afirmativa é enfatizada no gráfico correspondente ao CAP de Madeira e Osso, que apresentou aproximadamente um decaimento da concentração de saxitoxinas com o aumento da dosagem de carvão.

O CAP Mineral apresentou uma tendência assintótica com o aumento da dosagem do carvão, ou seja, baixa redução de saxitoxinas foi obtida com o uso de dosagens mais elevadas desse carvão.

Outro fator bastante relevante é que nenhum dos carvões avaliados apresentou eficiência suficiente para reduzir a concentração inicial de saxitoxinas para o valor máximo admissível recomendado pela Portaria 518 ( 3  $\mu\text{g/L}$ ).

Verifica-se na Figura 5.19, que o ponto correspondente à dosagem de 50 mg/L de CAP de Osso representa um ponto atípico em relação aos demais pontos. Este fato pode ser justificado com um possível erro na análise experimental da amostra.

Na figura 5.21 apresenta-se o percentual médio de remoção para cada CAP avaliado. Vale ressaltar que os valores iniciais da concentração de saxitoxinas foram iguais apenas para os carvões de Osso e Madeira.

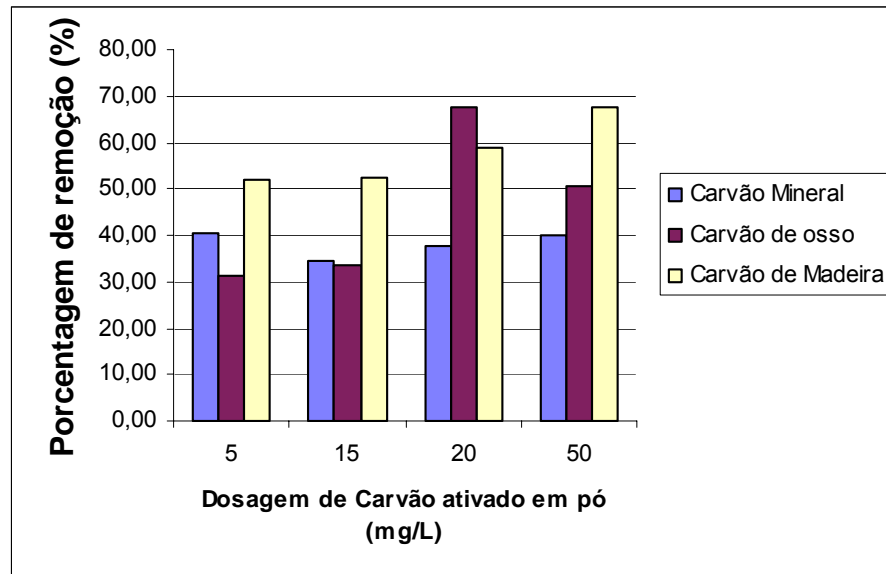


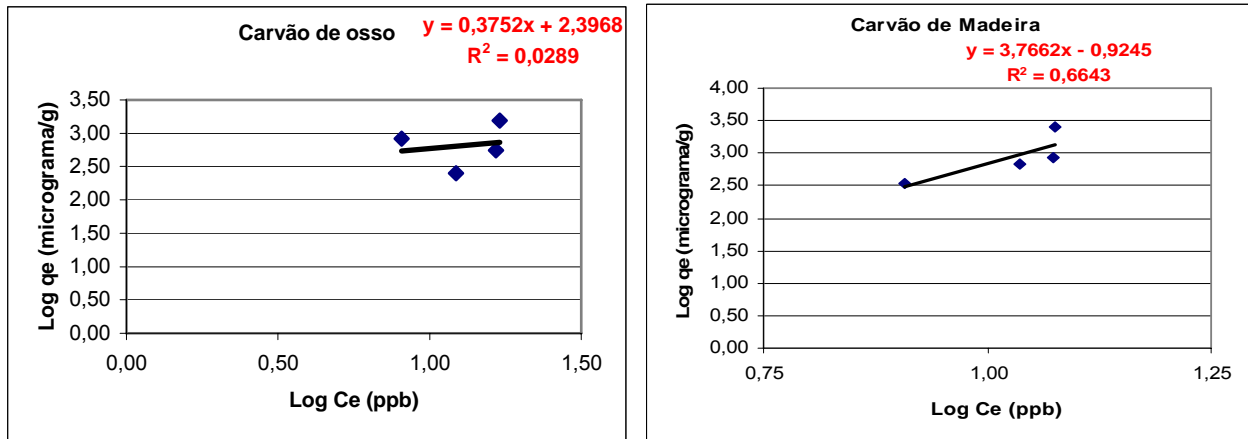
Figura 5.21 - Percentual médio de remoção de saxitoxinas para cada dosagem analisada.

Verifica-se que o CAP de madeira apresentou uma remoção média de 58% e o CAP de osso de 45%. Observa-se claramente, para os carvões de madeira e osso, que a porcentagem de remoção eleva-se com o aumento da dosagem de CAP.

Em relação ao CAP Mineral, observa-se uma tendência de remoção, aproximadamente constante, por volta de 40%, ou seja, o tempo de 2 horas, foi suficiente para saturar o CAP. Tal fato pode ser explicado pela baixa quantidade de poros presentes na superfície dos poros do carvão.

Em relação às características dos carvões, verifica-se melhor remoção de saxitoxinas para o CAP que obteve elevado número de iodo, conseqüentemente maior volume de microporos, contrapondo com o trabalho de Silva (2005), no qual afirma que os carvões que foram capazes de remover maior concentração de saxitoxinas caracterizam-se por apresentar o maior volume de mesoporos entre os carvões estudados.

Nas figuras 5.22 e 5.23 são apresentados os ajustes dos dados experimentais ao modelo de isoterma de Freundlich para os carvões de Madeira e Osso. Não foram realizados ajustes para o CAP Mineral, porque neste caso foram utilizadas duas concentrações iniciais distintas de saxitoxinas.

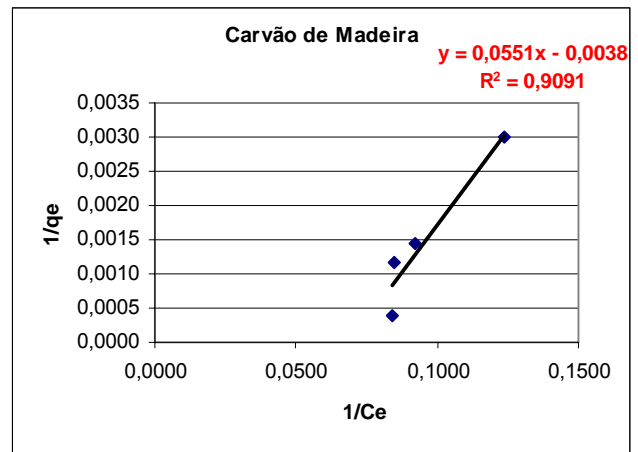
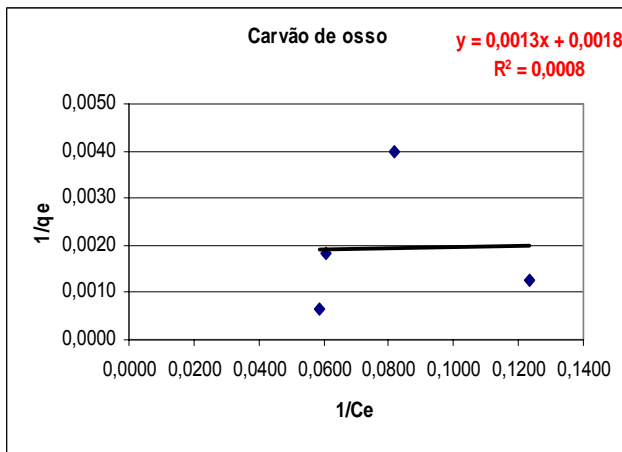


Figuras 5.22 e 5.23 –Resultados dos ajustes ao modelo de isoterma de Freundlich

Os carvões de osso e madeira descritos pelas isotermas de Freundlich apresentaram praticamente à mesma inclinação, indicando que ambos apresentam as mesmas características de adsorção.

Para a maioria dos carvões o valor  $1/n$  está entre 0,3 e 0,7. A adsorção de substâncias é considerada menos eficiente se o coeficiente  $n$  for menor do que 1,0 ou  $1/n$  maior do que 1,0 (MASSCHELEIN, 1992). Como se pode observar ambos os carvões apresentaram valores superiores a 1 para o índice  $1/n$ , concluindo-se que ambos não apresentaram-se eficientes na adsorção de saxitoxinas.

Nas Figura 5.24 e 5.25 são também apresentados os dados experimentais ao modelo de Langmuir. Verifica-se também que não foram obtidos bons ajustes para o CAP de osso. Em relação ao CAP de Madeira, apesar do coeficiente de determinação ( $R^2 = 0,91$ ) se apresentar elevado, os ajustes obtidos para o CAP de madeira registraram valor negativo para  $1/q_{m\acute{a}x}$ , valor incompatível com o previsto no modelo de Langmuir.



Figuras 5.24 e 5.25 - Resultados dos ajustes ao modelo de isoterma de Langmuir

De forma geral, não se obteve êxito nos ajustes aos modelos de Freundlich e Langmuir, os quais não permitiram calcular as constantes experimentais características de cada modelo ( $K$ ,  $n$ ,  $b$  e  $q_{\max}$ ), dificultando a análise da influência das características de cada carvão na capacidade destes removerem saxitoxinas. Acredita-se na hipótese de melhores ajustes na utilização da toxina purificada, uma vez que ao se utilizar extrato bruto, a matéria orgânica e os restos celulares competirão pelos mesmos sítios de adsorção do carvão ativado.

Silva (2005) relatou remoção máxima de 33% de saxitoxinas para uma faixa de dosagem de 3 a 15 mg/L em um tempo de detenção de 12 horas. Neste trabalho conclui-se que os dados experimentais não se ajustaram aos modelos de Freundlich e Langmuir, confirmando os resultados obtidos no presente trabalho.

Em relação ao trabalho de Newcombe e Nicholson (2002), a remoção de saxitoxinas STX foi de 100 % para uma dosagem de 30 mg/L utilizando-se cinco carvões diferentes e um tempo de detenção de 1 hora, contrapondo-se com os resultados obtidos no presente trabalho, no qual, na faixa de dosagem avaliada, as remoções de saxitoxinas não ultrapassaram a 68% e do trabalho de Silva (2005), no qual, a remoção máxima foi de 33%. Entretanto é importante destacar que no trabalho de Newcombe e Nicholson (2002) não é indicado o valor da concentração inicial de saxitoxinas e que se este valor for relativamente baixo a concentração efetivamente removida é pequena.

#### 5.4. Avaliação da Cloração na Remoção de Saxitoxinas

A oxidação química vem sendo apresentada na literatura como técnica tão efetiva quanto o carvão ativado na remoção de cianotoxinas. Desta forma a pesquisa tenciona avaliar, também, a ação do hipoclorito na remoção de saxitoxinas.

Nas Figura 5.26 e 5.27, observa-se que os gráficos reportaram um tendência assintótica, ou seja, para dosagens superiores a 1,20 mg/L, a remoção de saxitoxinas apresentou-se praticamente constante.

Em relação ao tempo de contato, não foram verificadas diferenças entre os tempos de 30 e 60 minutos.

O experimento foi realizado com o mesmo pH da água sintética, portanto não foi possível avaliar a influencia do pH na remoção das cianotoxinas.

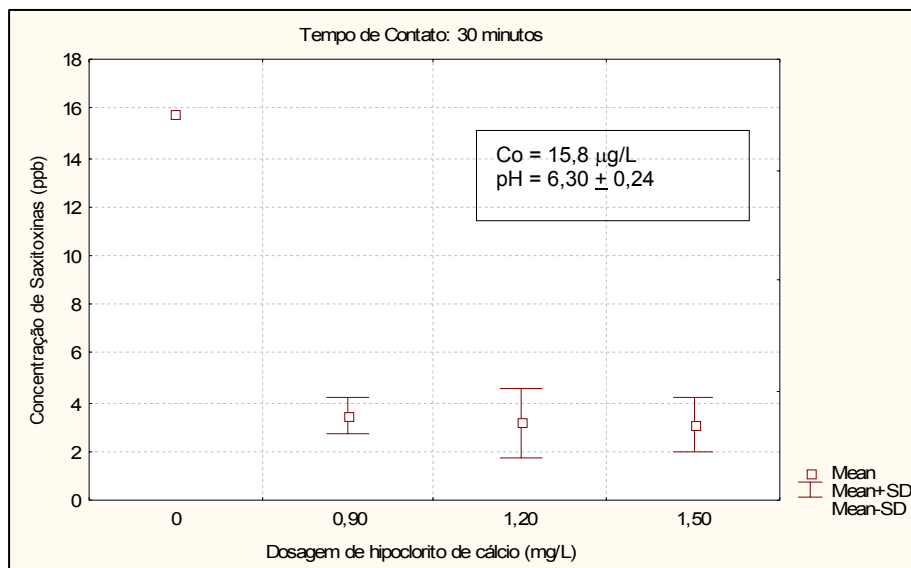


Figura 5.26 – Residuais de saxitoxinas para dosagens de hipoclorito de cálcio com tempo de contato de 30 minutos.

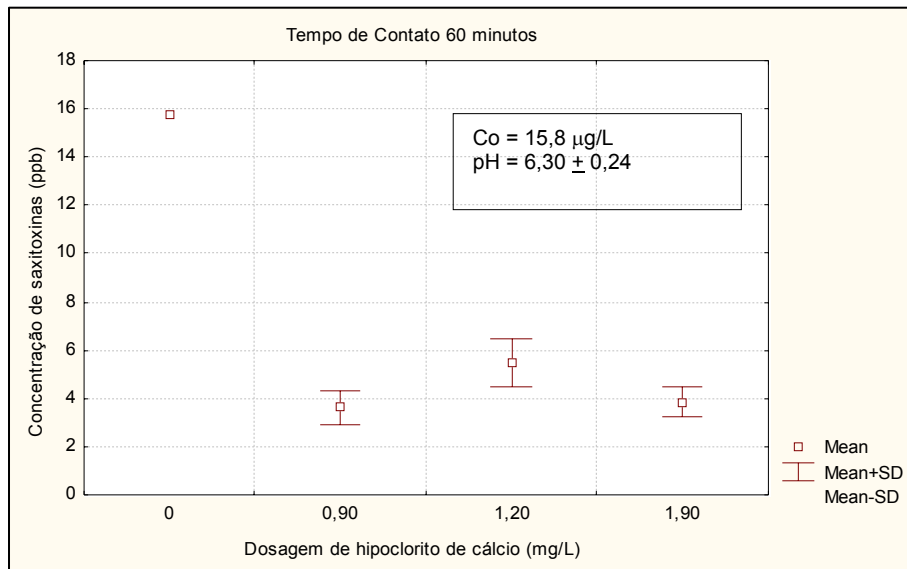


Figura 5.27 – Residuais de saxitoxinas para dosagens de hipoclorito de cálcio com tempo de contato de 60 minutos.

Na Figura 5.28, apresenta-se um gráfico do percentual de remoção de saxitoxinas utilizando-se o hipoclorito de cálcio. Conforme relatado anteriormente, verifica-se a pouca influência do tempo de contato na avaliação de remoção da saxitoxinas.

É importante observar que na oxidação química, utilizando o hipoclorito de cálcio, obteve-se percentual de remoção bastante elevado, acima de 80%. Outro fator relevante seria o êxito da remoção das cianotoxinas em relação a baixas dosagens inicial de saxitoxinas. Observe-se também que o residual de saxitoxinas praticamente obedeceu ao valor máximo permissível recomendado pela Portaria 518 (3 µg/L).

Nicholson *et al* (2003) relataram que o cloro e o hipoclorito de cálcio removeram 95% das microcistinas e nodularias para dosagens de 1 mg/L (cloro ativo) após um tempo de 30 minutos, assemelhando-se com os resultados obtidos para a oxidação de saxitoxinas desenvolvidos no presente trabalho no qual, para dosagens de 0,9 a 1,2 mg/L em um tempo de 30 minutos obteve-se remoção em torno de 80%. Porém, de acordo com Nicholson *et al.*(2003), a eficiência da remoção de saxitoxinas por cloração depende do pH e da toxina em questão, sendo eficiente a degradação de saxitoxinas a pH com valores elevados.



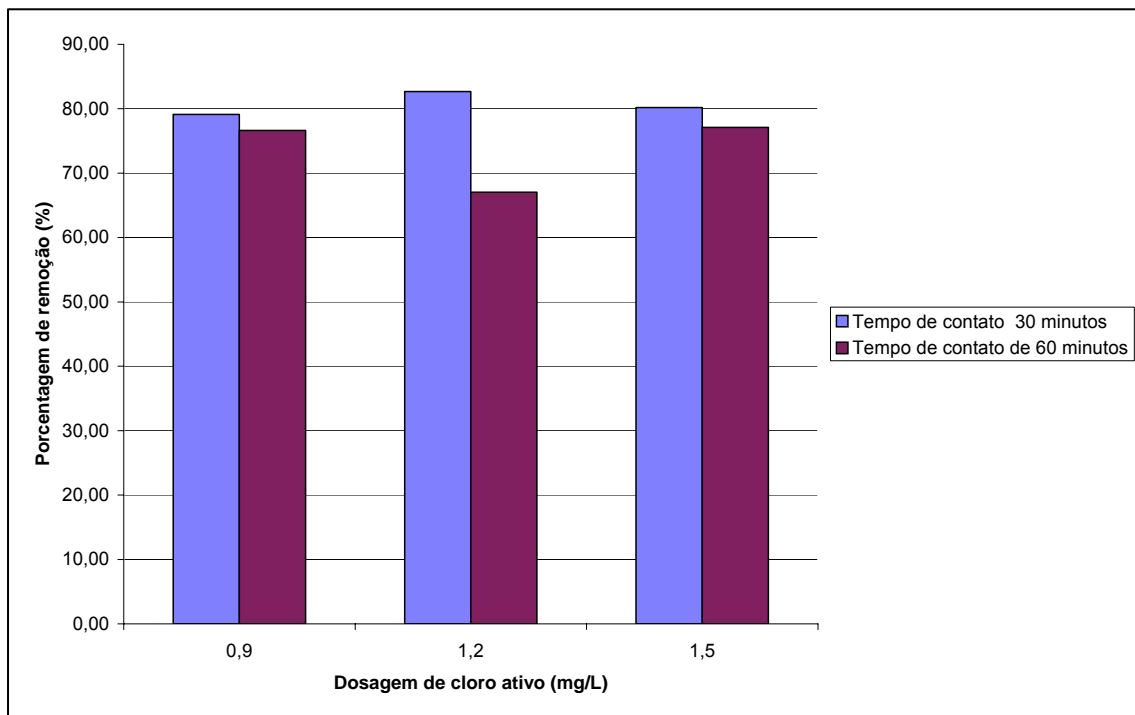


Figura 5.28 – Percentual médio de remoção de saxitoxinas para cada dosagem analisada.

## 5.5. Análise Estatística dos Dados de Remoção de Saxitoxinas

### 5.5.1. Estatística descritiva dos dados

Nas Tabelas 5.2 a 5.6 encontra-se a estatística descritiva dos dados referentes às técnicas de remoção de saxitoxinas.

Tabela 5.2- Estatística Descritiva da análise dos dados experimentais para adsorção de saxitoxinas utilizando a técnica de adsorção por carvão mineral

Estatística Básica Concentração de saxitoxinas ( $\mu\text{g/L}$ )	Dosagens de Carvão Mineral (mg/L)			
	5(*)	15(*)	20(**)	50(**)
Número de dados	4	4	4	4
Média	18,88	21,00	46,68	44,93
Mediana	19,05	22,15	46,35	45,35
Mínimo	16,40	14,60	44,90	42,50
Máximo	21,00	24,90	49,10	46,50
Amplitude	4,60	10,10	4,20	4,00
Desvio Padrão	1,90	4,36	1,77	1,73
Variância	3,61	19,05	3,12	2,99
Coef. Variação	0,10	0,21	0,04	0,04

\* Concentração inicial de saxitoxinas:  $31,60 \pm 0,30 \mu\text{g/L}$

\*\* Concentração inicial de saxitoxinas:  $75,00 \pm 4,50 \mu\text{g/L}$

Tabela 5.3- Estatística Descritiva da análise dos dados experimentais para adsorção de saxitoxinas utilizando a técnica de adsorção por carvão de osso

Estatística Básica Concentração de saxitoxinas ( $\mu\text{g/L}$ )	Dosagens de Carvão Osso ( $\text{mg/L}$ )			
	5(*)	15(*)	20(*)	50(*)
Número de dados	4	4	4	4
Média	17,33	16,58	8,33	12,23
Mediana	16,45	15,55	7,80	12,00
Mínimo	14,00	12,70	6,10	11,00
Máximo	22,40	22,50	11,60	13,90
Amplitude	8,40	9,60	5,50	2,90
Desvio Padrão	3,70	4,66	2,35	1,38
Variância	13,66	21,74	5,52	1,90
Coef. Variação	0,21	0,28	0,26	0,11

\* Concentração inicial de saxitoxinas:  $24,80 \pm 1,90 \mu\text{g/L}$

Tabela 5.4- Estatística Descritiva da análise dos dados experimentais para adsorção de saxitoxinas utilizando a técnica de adsorção por carvão de madeira

Estatística Básica Concentração de saxitoxinas ( $\mu\text{g/L}$ )	Dosagens de Carvão Madeira ( $\text{mg/L}$ )			
	5(*)	15(*)	20(*)	50(*)
Número de dados	4	4	4	4
Média	11,93	11,85	10,25	8,08
Mediana	11,75	11,60	9,95	7,90
Mínimo	11,10	11,20	8,90	6,50
Máximo	13,10	13,00	12,20	10,00
Amplitude	2,00	1,80	3,30	3,50
Desvio Padrão	0,99	0,83	1,42	1,58
Variância	0,99	0,68	2,02	2,51
Coef. Variação	0,08	0,07	0,14	0,20

\* Concentração inicial de saxitoxinas é:  $24,80 \pm 1,90 \mu\text{g/L}$

Tabela 5.5- Estatística Descritiva da análise dos dados experimentais para oxidação de saxitoxinas utilizando a técnica de cloração por meio de hipoclorito de cálcio para os tempos de detenção de 30 e 60 minutos

Estatística Básica	Dosagens de Hipoclorito (mg/L)					
	0,90 (30 min)	1,20 (30 min)	1,50 (30 min)	0,90 (60 min)	1,20 (60 min)	1,50 (60 min)
Concentração de saxitoxinas (µg/L)						
Número de dados	4	4	4	4	4	4
Média	3,33	2,75	3,43	3,70	5,28	3,65
Mediana	3,15	2,20	3,45	3,80	5,00	3,45
Mínimo	2,60	1,90	2,60	2,90	4,50	3,10
Máximo	4,20	4,70	4,00	4,30	6,60	4,60
Amplitude	1,40	2,80	1,20	1,40	2,10	1,50
Desvio Padrão	0,67	1,31	0,67	0,59	0,97	0,67
Variância	0,45	1,72	0,44	0,35	0,94	0,44
Coef. Variação	0,20	0,48	0,19	0,16	0,18	0,18

\* Concentração inicial de saxitoxinas é:  $15,80 \pm 0,20$  µg/L

### 5.5.2. Análises de regressão

Conforme mencionado, os modelos de Freundlich e Langmuir utilizados para calcular a capacidade de remoção dos carvões, são na verdade regressões lineares, nos quais, por meio do coeficiente de determinação ( $R^2$ ), verifica-se o quanto a variação total da variável dependente é explicada pela reta de mínimos quadrados.

De acordo com os resultados mostrados nos item 5.3, verificam-se baixos valores de  $R^2$ , além do que o número reduzido do espaço amostral reduz significativamente a confiabilidade do modelo. Portanto pode-se concluir que a adsorção de saxitoxinas por meio de CAP não pode ser representativa para este conjunto de amostras.

### 5.5.3. Análise de variância

Os resultados referentes às análises de variância podem ser observados nas tabelas 5.6 a 5.9. Em relação às análises intra-grupos, pode-se observar nas tabelas 5.6 e 5.7 as dosagens que devem rejeitar a hipótese nula  $H_0$  de que não há diferença entre as medianas referentes a cada dosagem. Em outras palavras, há diferença significativa, de dosagem para dosagem, para a remoção de saxitoxinas.

Tabela 5.6- Teste de Kruskal-Wallis para variáveis intra-grupos referente as dosagens de CAP

<b>Tipo de CAP</b>	<b>Rejeita <math>H_0</math></b>	<b>Aceita <math>H_0</math></b>
Mineral	-	Todas as dosagem
Osso	Entre 5 e 20 mg/L	Entre 5 e 15, 5 e 50, 15 e 20, 20 e 50, 15 e 50 mg/L
Madeira	Entre 15 e 50 mg/L	Entre 5 e 15, 5 e 50, 15 e 20, 20 e 50, 5 e 20 mg/L

Tabela 5.7- Teste de Kruskal-Wallis para variáveis intra-grupos referente as dosagens de hipoclorito de cálcio

<b>Tempo</b>	<b>Rejeita <math>H_0</math></b>	<b>Aceita <math>H_0</math></b>
30 min	-	Todas as dosagens
60 min	-	Todas as dosagens

Na tabela 5.6 observa-se que as variações de dosagens do CAP mineral apresentaram resultados estatisticamente diferentes na remoção de saxitoxinas. O mesmo ocorre no tratamento utilizando o hipoclorito de cálcio, como se pode observar na tabela 5.7, ou seja, a diferença das dosagens para a oxidação da saxitoxina não se apresentou estatisticamente diferente.

De acordo com gráfico apresentado na figura 5.22 percebe-se que a eficiência de remoção de saxitoxinas para o CAP mineral foi em torno de 40% para praticamente todas as dosagens; o mesmo ocorre com o percentual de remoção utilizando diferentes dosagens de hipoclorito de cálcio, ou seja, obteve-se uma remoção em torno de 80% para todas as dosagens. Portanto o teste estatístico de Kruskal-Wallis respalda tal afirmativa. Em relação aos CAPs de osso e madeira, obteve-se uma diferença significativa em relação as dosagens de 5 e 20 mg/L e 15 e 50 mg/L.

Nas tabelas 5.8 e 5.9, está apresentando a variância entre-grupos referente aos tipos de carvões e as dosagens de hipoclorito respectivamente.

Tabela 5.8- Teste de Kruskal-Wallis para variáveis entre-grupos referente aos tipos de CAP

Dosagem (mg/L)	Rejeita $H_0$	Aceita $H_0$
5	CAP Osso e Mad	CAP Osso e Mineral, CAP Mad e Mineral
15	-	Todos os carvões
20	CAP Mineral e Osso	CAPO Mad e Osso, CAP Mad e Mineral
50	CAP Mineral e Mad	CAP Mad e Osso, CAP Osso e Mineral

Tabela 5.9- Teste de Kruskal-Wallis para variáveis entre-grupos referente aos dois tempos de contato dos hipoclorito de cálcio

Dosagem ( mg/L)	Rejeita $H_0$	Aceita $H_0$
0,90	-	Todos os dois tempos
1,20	-	Todos os dois tempos
1,90	-	Todos os dois tempos

De acordo com o estudo estatístico verifica-se que para a dosagem de 15 mg/L, não existe diferença estatística entre carvões. Observa-se também que não existe diferença estatística entre os tempos de contato utilizados para oxidação de saxitoxinas, conforme Tabela 5.9.

Em relação ao gráfico da Figura 5.22 e a Tabela 5.8 verifica-se que para a dosagem de 5 mg/L o CAP Mad apresentou remoção de 51% e o CAP de Osso de 30%. Para a dosagem de 20mg/L o CAP Mineral apresentou remoção de 38% e o de Osso de 68%. Quanto à dosagem de 50 mg/L o CAP Mineral apresentou eficiência de 40% e o Mad de 68%. Portanto pode-se concluir que a melhor eficiência está relacionada com o tipo de carvão e a dosagem empregada.

## 6. CONCLUSÕES

Dentre os carvões ativados em pó avaliados na remoção de saxitoxinas, pode-se concluir que a eficiência de remoção está diretamente ligada ao tipo de carvão e à dosagem empregada. Entretanto os carvões e as dosagens que apresentaram melhor eficiência (68%) na remoção de saxitoxinas foram 20 mg/L para o carvão de osso e 50 mg/L para carvão de madeira.

Em relação à oxidação por meio de hipoclorito de cálcio, observou-se um bom desempenho na remoção de saxitoxinas, apresentando-se 80% de eficiência. Vale ressaltar que o valor de concentração inicial de saxitoxinas utilizados na técnica de oxidação foi da ordem de 25µg/L diferente da concentração inicial utilizada para a técnica de adsorção que variou entre 75 a 25µg/L .

Dentre os parâmetros de caracterização avaliados para os três carvões estudados, número de iodo, distribuição granulométrica, área superficial BET, volume total de poros e volume de microporos, mesoporos e macroporos, aquele que, para a maioria dos carvões, parece melhor representar a capacidade do carvão de remover saxitoxinas é o volume total de poros presentes na superfície do carvão. Observa-se que o carvão de madeira apresentou o maior volume total de poros em relação ao carvão de osso e mineral, e que o carvão mineral apresentou o menor número de poros.

A adsorção de saxitoxinas nos carvões estudados não foi representada pelo modelo de Freundlich e pelo modelo de Langmuir. Diante disto, não foi possível determinar as constantes experimentais características de cada modelo.

A eficiência do carvão mineral apresentou tendência assintótica com o aumento das dosagens, diferindo dos carvões de madeira e osso, que apresentaram uma tendência linear.

O tempo de contato de trinta e sessenta minutos, em relação ao hipoclorito de cálcio, não se apresentou relevante na remoção de saxitoxinas. Para os dois tempos a eficiência de remoção foi praticamente à mesma.

A técnica de adsorção para remoção de saxitoxinas por meio do CAP, não foi eficiente o bastante para atingir o valor máximo permissível recomendado pela Portaria 518 (3µg/L).

Porém as concentrações removidas de saxitoxinas foram altas, mesmo com baixas dosagens de carvão, o que sugere que, nas condições mais usuais de floração de *C.raciborskii*, para populações da ordem de  $10^6$  cel/mL, a adição de carvão em pó pode ser uma estratégia de minimização da presença de saxitoxinas na água de consumo.

Em relação à técnica de oxidação, por meio de hipoclorito de cálcio, verificou-se bom desempenho, tanto na remoção quanto no enquadramento ao valor máximo permissível determinado pela Portaria 518. Porém, deve-se estudar a potencialidade tóxica dos subprodutos gerados da oxidação da saxitoxinas.

Quanto à caracterização dos carvões, conclui-se que tal procedimento é de extrema importância, visto que os dados fornecidos pelos fabricantes se apresentaram significativamente distintos em relação aos determinados na pesquisa.

No que diz respeito ao Elisa, o mesmo apresentou resultados bastante coerentes em relação às concentrações dos padrões externos de neoSTX e STX, verificando, preliminarmente, uma correspondência coerente dos resultados apresentados pelo método imunocompetitivo às concentrações de saxitoxinas.

Por fim, outro fator de grande relevância, refere-se à verificação da potencialidade tóxica apresentada pela cepa proveniente da lagoa central de Lagoa Santa. Verificou-se que a mesma é produtora de neoSTX e STX com grande probabilidade na produção de goniautoxinas, ainda que esta última cianotoxina não pôde ser confirmada.

## 7. RECOMENDAÇÕES

O presente trabalho consistiu em um estudo na avaliação de técnicas de remoção de saxitoxinas. Diante dos problemas ocorridos na quantificação de saxitoxinas, o trabalho foi desenvolvido com a utilização de testes imunocompetitivos. Portanto, pode-se considerar a pesquisa como pioneira no estudo da determinação de saxitoxinas, utilizando técnica quantitativa por meio destes testes. Desta forma, a pesquisa deve ser entendida como um estudo preliminar que aponta, ao mesmo tempo, potencial do uso de CAP e cloro e a utilização de *kits* Elisa na quantificação de saxitoxinas e a necessidade de novas pesquisas que busquem uma melhor compreensão dos fatores limitantes do uso desses produtos na remoção de saxitoxinas. Neste sentido, recomenda-se a realização dos seguintes estudos:

- Avaliação da capacidade adsortiva dos carvões, utilizando águas naturais com presença de outros variantes como: turbidez, cor aparente e verdadeira, alcalinidade e concentração de saxitoxinas, verificando o efeito da competição exercida pela matéria orgânica naturalmente presente em águas eutrofizadas;
- Verificação dos resultados obtidos pelo teste de imunoensaio por meio de medidas por cromatografia líquida para quantificação de saxitoxinas em águas;
- Avaliação da influência do coagulante e do oxidante sobre a capacidade adsortiva dos carvões em pó, considerando que o ponto de aplicação do CAP em uma estação de tratamento de água convencional é usualmente na unidade de mistura rápida;
- Verificação da influência do pH na cloração da saxitoxinas;
- Verificação de subprodutos gerados com a oxidação de saxitoxinas.



**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ABNT (1991). MB-3410 – Carvão Ativado Pulverizado – Determinação do número de Iodo. Associação Brasileira de Normas Técnicas, Rio de Janeiro, Brasil, 4p.
- ABNT (1991). MB-3412 – Carvão Ativado Pulverizado – Determinação granulométrica. Associação Brasileira de Normas Técnicas, Rio de Janeiro, Brasil, 2p.
- ABNT (1991). EB-2133 – Carvão Ativado Pulverizado – Especificação. Associação Brasileira de Normas Técnicas, Rio de Janeiro, Brasil, 2p.
- AFONSO, A.; LOUZÃO, M. C.; VIEYTES, M. R. & BOTANA, L. M. (1994). Comparative study of the stability of saxitoxin and neosaxitoxin in acidic solutions and lyophilized samples. *Toxicon*, 32 (12), 1593-1598.
- AMAND, A.S.T (2002). Cylindrospermopsis: na invasive toxic alga Lakeline., v. 22, n.11, p 37-38. Disponível em : <http://www.nalms.org/lakeline/II22-01.htm> Acesso em: 12 Nov 2005.
- ANDERSON, D.M (1994). Red tides. *Scientific American*, New York, v.270, n.8, p 52-56.
- ASTM (2000) - American Society for Testing Materials - Standards on Activated Carbon. Second Edition. Philadelphia, EEUU.
- AZEVEDO, S. M. F. O.; CARMICHAEL, W. W.; JOCHIMSEN, E.M.; RINEHART, K. L.; LAU, S.; SHAW, G. R. S. & EAGLESHAM, G. K. (2002). “Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru – Brazil.” *Toxicology*, 181-182, 441-446.
- AZEVEDO, S. M. F. O. & BRANDÃO, C. C. S. (2003). Cianobactérias Tóxicas na Água para Consumo Humano. FUNASA/MS, Brasília, Brasil, 56p.
- BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.C (2003). Detection of potential microcystin- producing cyanobacteria in Brazilian reservoirs with a Mcyb molecular marker. *Harmful Algae Amsterdam*, v.2, n.1, p. 51-60, Mar.
- BRASIL (2004). Ministério da Saúde. Portaria nº518: Procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. *Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 de março de 2004.
- BRUCHET, A.; BERNAZEAU, F.; BAUDIN, I. & PIERONNE, P. (1998). Algal toxins in surface waters: analysis and treatment. *Water Supply*, 16 (1/2), 619-623.
- CARMICHAEL, W.W. (1988) Freshwater cyanobacteria (blue-green algae) toxins. In OWNBY, C.L.; ODELL, G.V (Ed). *Nature toxins characterization, pharmacology and therapeutics*. London: Pergamon Press. P.3-16.
- CARMICHAEL, W.W; MAHMOOD N.A; HYDE E.G (1990) Natural toxins from cyanobacteria (blue-green algae). In: Hall S e Strichartz G (eds.) *Marine Toxins. Origin, Structure and Molecular Pharmacology*. American Chemical Society, Washington, EUA, pp. 87-106.
- CARMICHAEL, W.W. (1992). Cyanobacteria secondary metabolites – the cyanotoxins. *Journal of Applied Bacteriology*, 72, 445-459.
- CARMICHAEL, W. W. (1994). The toxins of cyanobacteria. *Scientific American*, 270 (1), 78-86.

- CARMICHAEL, W. W. *et al.* (2001) Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental Health Perspectives*, research Triangle Park, v.109, n.7, p 663-668, July.
- CEMBELLA A.D *et al* (1995) *In Vitro* biochemical methods and mammalian bioassays for phycotoxins. In: Hallegraeff GM, Anderson DM, Cembella AD (eds), *Manual on Harmful Marine Microalgae*, IOC Manuals and Guides N° 33, United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, Paris, pp. 177-211.
- CHORUS, I.; BARTRAM, J (Ed). (1999). *Toxic Cyanobacteria in Water. a guide to their public health consequences, monitoring and management*. New York: E & FN Spon.
- CHORUS, I.; FASTNER, J. (2001) Recreational exposure to cyanotoxins. In: CHORUS,I. (Ed). *Cyanotoxins occurrence causes, consequences*. Berlin: Springer.
- DEVLIN, J.P *et al* (1977) Anatoxin-a, a toxic alkaloid from *Anabaena flos-aquae* NRC-4<sup>th</sup>. *Canadian Journal of Chemistry*, 55, 1367-1371.
- DI BERNARDO, L (2005) *Métodos e Técnicas de Tratamento de Água*, vols. 1 e 2 ABES, Rio de Janeiro, Brasil.
- DONATI, C.; DRIKAS, M.; HAYES, R. & NEWCOMBE, G. (1994). Microcystin-LR adsorption by powdered activated carbon. *Water Research*, 28 (8), 1735-1742.
- FALCONER, I.R (1991) Tumor promotion and liver injury caused by oral consumption of cyanobacteria. *Environ. Toxicol. Water Qual.*, 6(2), 177-184.
- FITZGERALD, D. J.; CUNLIFFE, D. A. & BURCH, M. D. (1999). Development of health alerts for cyanobacteria and related toxins in drinking water in South Australia. *Environment Toxicology*, 14 (1), 203-207.
- GARCÍA, C., BRAVO, M. C., LAGOS, M. & LAGOS, N. (2004). Paralytic shellfish poisoning: post-mortem analysis of tissue and body fluid samples from human victims in the Patagonia fjords. *Toxicon*, 43, 149-158.
- HARADA, K. I. *et al.* ( 1988) Improved method for purification of toxic peptides produced by cyanobacteria. *Toxicon, Oxford*, v.26, n.5, p.433-439
- HARADA, K-I *et al* (1990) Isolation and characterization of the minor components associated with microcystins-LR and -RR in the cyanobacterium (blue-green algae). *Toxicon*, 28, 55-64.
- HARADA K-I, KONDO F, LAWTON L (1999) Laboratory analysis of cyanotoxins. In: Chorus I, Bartram J (eds), *Toxic Cyanobacteria in Water*. E & FN Spon, Londres, pp. 369-405.
- HART, J., FAWELL, J. K. & CROLL, B. (1998). "The fate of both intra- and extracellular toxins during drinking water treatment." *Water Supply*, 16 (1-2), 611-616.
- HAWKINS P.R, RUNNEGAR M.T.C, JACKSON A.R.B, FALCONER I.R (1985) Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (blue-green alga) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subba Raju isolated from a domestic water supply reservoir. *Appl. Environ. Microbiol.*, 50(5), 1292-1295.
- HAWKINS,P.R *et al* (1997) Isolation and toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* from an ornamental lake. *Toxicon*, 35, 341-346.
- HENRIKSEN, P.; MOESTRUP, O (1997) Seaxanol variation in microcystin contents of Danish cyanobacteria. *Nature Toxins*, v.5, p.99-106

- INDRASENA, W. M. & GILL, T. A. (1999). Thermal degradation of paralytic shellfish poisoning toxins in scallop digestive glands. *Food Research International*, 32, 49-57.
- INDRASENA, W. M. & GILL, T. A. (2000). Storage stability of paralytic shellfish poisoning toxins. *Food Chemistry*, 71, 71-77.
- JANECEK M, QUILLIAM M.A, LAWRENCE J.F (1993) Analysis of paralytic shellfish poisoning toxins by automated pre-column oxidation and microcolumn liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatog.*, 664, 321-331.
- JARDIM *et al.* (1999) A experiência da Copasa no monitoramento, detecção e adoção de medidas mitigadoras para as cianobactérias tóxicas em estações de tratamento de água em Minas Gerais, Brasil. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, XXVII. 2000, Porto Alegre. Anais Eletrônicos II-034, Porto Alegre, 2000.
- JOCHIMSEN, E. M. *et al.* (1998) Liver failure and death after exposure to microcystins at a haemodialysis center in Brazil. *New England Journal of Medicine*, Waltham, v.338, n.13, p 873-878.
- JONES G.J, NEGRI A.P (1997) Persistence and degradation of cyanobacterial paralytic shellfish poisons (PSPs) in freshwaters. *Water Research*, 31, 525-533.
- KURODA, E.K. *et al.* (2005) Caracterização e escolha do tipo de carvão ativado a ser empregado no tratamento de água contendo microcistins. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 23., 2005, Campo Grande. Anais Eletrônicos I-072, Campo Grande.
- LADEIRA, Q.C.A (1990). Caracterização Tecnológica de Carvões ativados Empregados como Adsorventes na Indústria do Ouro: Propriedades Químicas, Físicas e Estudo Cinético. 120p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1990.
- LAGOS *et al.* (2004) Simultaneous presence of Paralytic and Diarrheic Shellfish Poisoning toxins in *Mytilus chilensis* samples collected in the Chiloe Island, Austral Chilean Fjords
- LAWRENCE J.F, MENARD C, CLEROUX C (1995) Evaluation of prechromatographic oxidation for liquid chromatographic determination of paralytic shellfish poisons in shellfish. *J. AOAC Int.*, 78, 514-520.
- LAWTON, L.A. *et al* (1994) Evaluation of assay methods for the determination of cyanobacterial hepatotoxicity In: CODD, G.A. *et al* (Ed) Detection methods for cyanobacterial toxins. Cambridge: The Royal Society of Chemistry. P 111-116
- MASSCHELEIN, W. J. (1992). Adsorption. In: *Unit Processes in Drinking Water Treatment*, Marcel Dekker, Inc., Nova York, EUA. 321-363.
- MATTHIENSEN, A *et al* (2000) [D-Leu1]Microcystin-LR, from the cyanobacterium *Microcystis* RST 9501 and from a *Microcystis* bloom in the Patos Lagoon estuary, Brazil. *Phytochemistry*, 55, 383-387.
- MUR, L.R.; SKULBERG, O.M.; UTKILEN, H. (1999) Cyanobacteria in the environment. In: CHORUS, I.; BARTRAM, J (Ed) Toxic cyanobacteria in water a guide to their consequences, monitoring and management. London: E & FN Spon. P. 15-40.
- NEWCOMBE, G. & NICHOLSON, B. (2002). Treatment options for the saxitoxin class of cyanotoxins. *Water Science and Technology: Water Supply*, 2 (5-6), 271-275.
- NICHOLSON B.C *et al.* (2003), Clorination for degrading saxitoxins ( Paralytic Shellfish Poisons) in water. *Environmental Technology*, 8 ( 1341-1348)

- ORR, P. T., JONES, G. J. & HAMILTON, G. R. (2004). Removal of saxitoxins from drinking water by granular activated carbon, ozone and hydrogen peroxide – implications for compliance with the Australian drinking water guidelines. *Water Research*, 38, 4455-4461.
- OSHIMA, Y (1995) Post-column derivatization HPLC methods for paralytic shellfish poisons. In: Hallegraef GM, Anderson DM, Cembella AD (eds), *Manual on Harmful Marine Microalgae*, IOC Manuals and Guides n° 33, United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, Paris, pp. 81-94.
- PAERL, H.W.; TUCKER, J.; BLAND, P.T. (1983) Carotenoid enhancement and its role in maintaining blue-green algal (*Microcystis aeruginosa*) surface blooms. *Limnology Oceanography*, Grafton, v.28, n.5, p.847-857, Sept.
- PAERL, H.W.(1988). Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine and inland waters. *Limnology Oceanography*, Grafton, v.33 n.4, pt.2, p.823-847, July
- PADISAK, J. (1997) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynnska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Archiv Fur Hydrobiologie*, Stuttgart, v. 107, p. 563-593
- POURIA, S. *et al.* (1998). Fatal microcystin intoxication in hemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *The Lancet*, London, v.352, n.9121, p 21-26, July.
- RANDTKE, S. J. & SNOEYINK, V. L. (1983). "Evaluating GAC adsorptive capacity". *Journal American Water Works Association*, 406-413.
- RINEHART, K.L; *et al* (1994) Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). *J. App. Phycol.*, 6, 159-176.
- ROSITANO, J; NICHOLSON B.C; HERESZTYN T; VELZEBOER R.M.A (1998) Characterization and Determination of PSP Toxins in Neurotoxic Cyanobacteria and Methods for their Removal from Water. Urban Water Research Association of Australia Research Report n° 148. Melbourne: Urban Water Research Association of Australia.
- SANT'ANNA, C. L. & AZEVEDO, M. T. P. (2000). Contribution to the knowledge of potentially toxic Cyanobacteria from Brazil. *Nova Hedwingia*, 71 (3-4), 359-385.
- SHIMIZU, Y & YOSHIOKA, M. (1981). "Transformation of paralytic shellfish toxins as demonstrated in scallop homogenates". *Science*, 212, 547-549.
- SILVA, A.S (2005) Avaliação da capacidade de remoção de saxitoxinas por diferentes tipos de carvão ativado em pó (CAP) produzidos no Brasil. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Brasília, 113p.
- SIVONEN K, KONONEN K, CARMICHAEL W.W, DAHLEM A.M, RINEHART K.L, KIVIRANTA J, NIEMELÄ S.I (1989) Occurrence of the hepatotoxic cyanobacterium *Nodularia spumigena* in the Baltic Sea and the structure of the toxin. *App. Env. Microbiol.*, 55, 1990-1995.
- SIVONEN, K.; JONES, G. (1999). Cyanobacterial Toxins. In: CHORUS, I.; BARTRAM, J.(ed). *Toxic Cyanobacteria in Water*. London: E & FN Spon- p.41-111.
- SIVONEN, K. *et al.* (1990). Toxic cyanobacteria (blue-green algae) in Finish fresh and coastal water. *Hydrobiologia*, Dordrecht, v. 190, n,3, p.267-275, Feb.
- SNOEYINK, V., (1990). Adsorption of organic compounds. In: *Water Quality and Treatment: A Handbook of Community Water Supplies*. Mc Graw Hill, Nova York, EUA, 781-867.

- TEIXEIRA M.G.L.C, *et al* (1993) Bulletin of the Pan American Health Organization, 27, 244-253.
- TEIXEIRA, V. G., COUTINHO, F. M. B. & GOMES, A. (2001). “Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas a base de divinilbenzeno.” *Química Nova*, 24 (6), 808-818.
- TERAO, K. *et al.* (1994). Electron microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green alga *Umezakia nanaans*. *Toxicon, Oxford*, v.32, n.7, p 833-843, July.
- VALE P, SAMPAIO MAD (2001) Determination of paralytic shellfish toxins in Portuguese shellfish by automated pre-column oxidation. *Toxicon*, 39, 561-571.
- VASCONCELOS, V.M (1994) Toxic cyanobacteria (blue-green algal) in portuguese freshwater. *Archiv fur Hydrobiologia*, v.4, p.211-221.
- YENISOY-KARAKAS, S., AYGÜN, A., GÜNES, M. & TAHTASAKAL, E., (2004). “Physical and chemical characteristics of polymer-based spherical activated carbon and its ability to adsorb organics.” *Carbon*, 42, 477-484.
- YOO, R.S. *et al* (1995) Cyanobacterial (blue-green algal) toxins: a resource guide Denver: WWA Foundation and the American Water Work Association.
- WEBER., W. J. J. (1972). *Physicochemical Processes for Water Quality Control*, John Wiley & Sons, Inc., Nova York, EUA, 640p.

---

## **ANEXOS**

### **ANEXO A – RESULTADOS OBTIDOS PARA CARACTERIZAÇÃO DOS CARVÕES ATIVADOS EM PÓ**

A.1 – Resultados das distribuições granulométricas por difração a laser.

A.1.1 – CAP de Madeira -1

A.1.2 – CAP de Madeira -2

A 1.3 – CAP de Madeira -3

A.1.4 – CAP de Osso

A.2 – Resultado da distribuição granulométrica por peneiramento para carvão mineral.

A.3 – Resultados das isotermas de adsorção-desadsorção de nitrogênio a 77K.

A.3.1 – CAP de Madeira -1

A.3.2 – CAP de Madeira -2

A 3.3 – CAP de Madeira -3

A.3.4 – CAP de Osso

A 3.5 – CAP Mineral

A.4 – Resultados das análises para determinação do número de iodo.

### **ANEXO B – RESULTADOS DAS ANÁLISES NOS ENSAIOS DE REMOÇÃO DE SAXITOXINAS**

B.1 – Curvas de calibração utilizadas no cálculo da concentração de saxitoxinas equivalentes por teste Elisa

B.2 – Resultados dos residuais de saxitoxinas após remoção por carvão ativado em pó e hipoclorito de cálcio

B.1.1 – CAP

B.1.2 – Hipoclorito de Cálcio

## **ANEXO A.1 – RESULTADOS DAS DISTRIBUIÇÕES GRANULOMÉTRICAS POR DIFRAÇÃO A LASER**

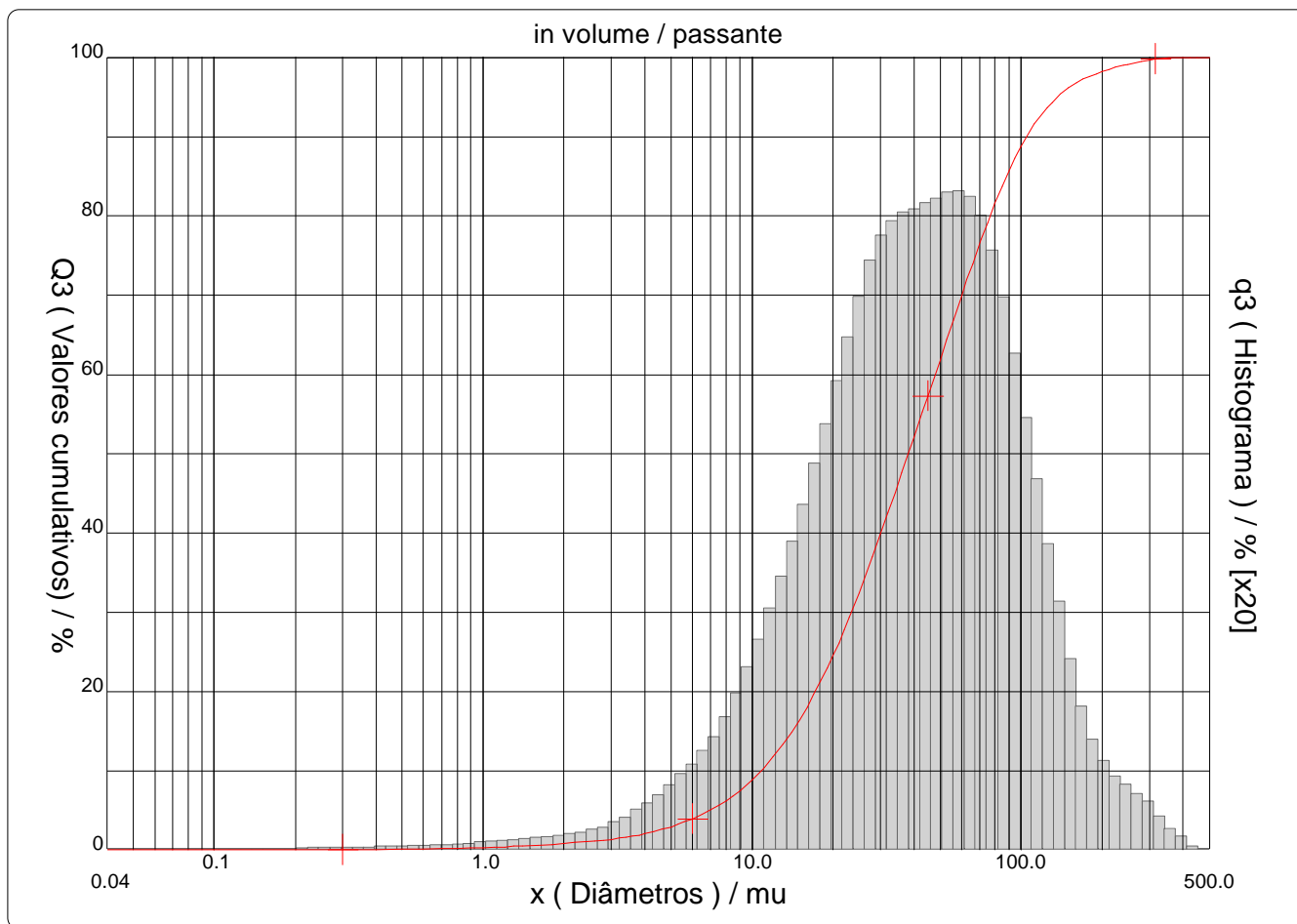


## **ANEXO A.1.1 – CAP DE MADEIRA -1**

Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado 118-CB 1  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,11g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 14:46:16  
 Índice med. : 416

Ultrasom : 60 s  
 Concentração : 108  
 Diâmetro a 10% : 10.78 mu  
 Diâmetro a 50% : 38.05 mu  
 Diâmetro a 90% : 105.27 mu  
 Diâmetro médio : 51.23 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade



Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado 118-CB 1  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,11g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 14:46:16  
 Índice med. : 416

Ultrasom : 60 s  
 Concentração : 108  
 Diâmetro a 10% : 10.78 mu  
 Diâmetro a 50% : 38.05 mu  
 Diâmetro a 90% : 105.27 mu  
 Diâmetro médio : 51.23 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade

Valores cumulados característicos in volume / passante

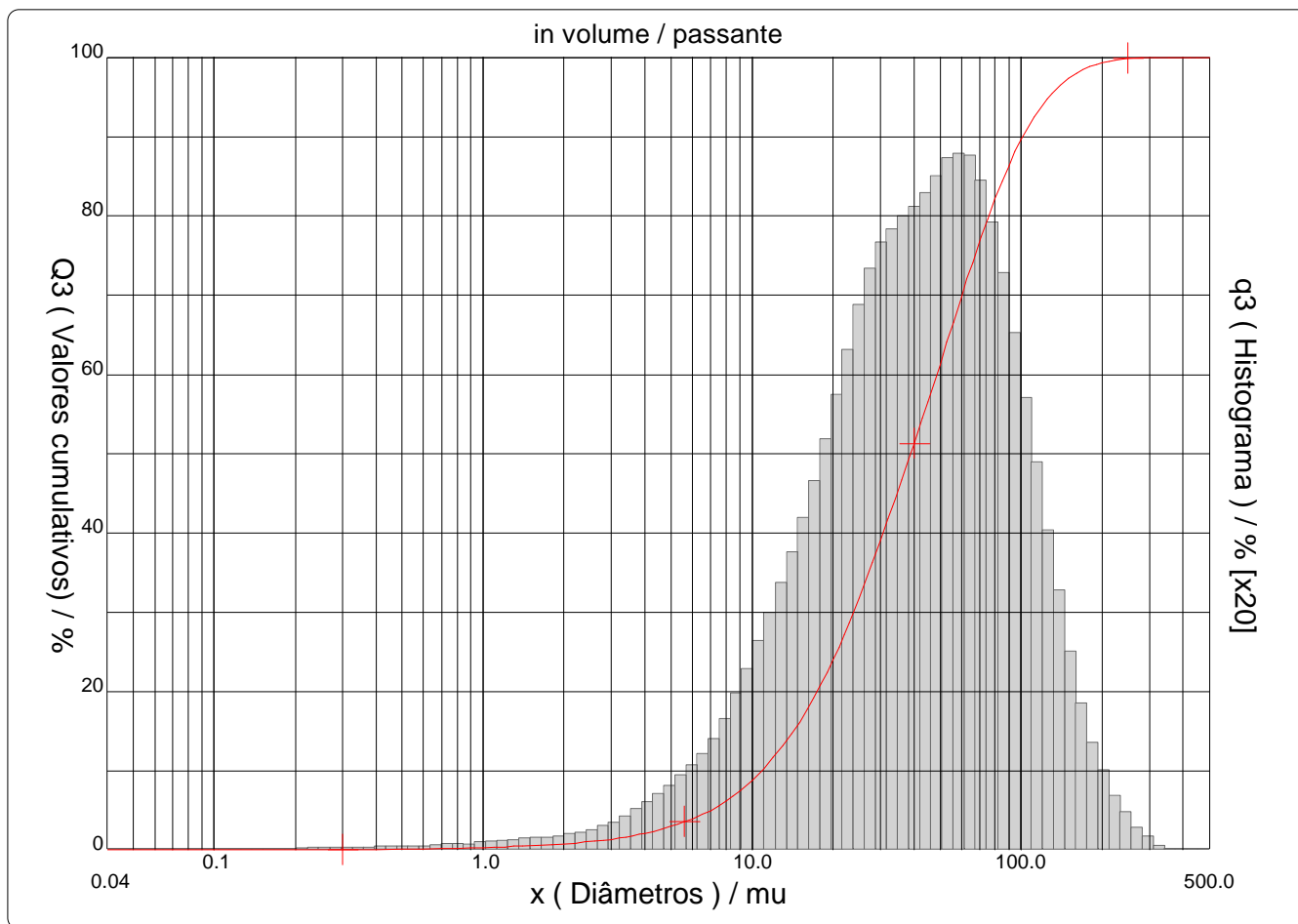
x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.09	0.13	0.17	0.21	0.25
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.29	0.34	0.39	0.44	0.49	0.54	0.64	0.74	0.84	0.94
q3	0.02	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.05	0.06	0.06	0.07
x	2.40	2.60	2.80	3.00	3.20	3.40	3.60	3.80	4.00	4.30
Q3	1.04	1.15	1.26	1.38	1.51	1.64	1.79	1.94	2.10	2.35
q3	0.07	0.09	0.10	0.11	0.13	0.14	0.17	0.18	0.20	0.23
x	4.60	5.00	5.30	5.60	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00	8.50
Q3	2.61	2.98	3.27	3.57	3.97	4.50	5.04	5.62	6.21	6.84
q3	0.25	0.29	0.32	0.35	0.38	0.43	0.47	0.55	0.60	0.68
x	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00	18.00
Q3	7.50	8.87	10.31	11.80	13.33	14.89	16.47	18.08	19.69	21.31
q3	0.75	0.85	0.98	1.12	1.25	1.37	1.49	1.63	1.73	1.85
x	19.00	20.00	21.00	22.00	23.00	25.00	28.00	30.00	32.00	34.00
Q3	22.93	24.55	26.17	27.78	29.37	32.52	37.05	39.91	42.62	45.19
q3	1.95	2.06	2.16	2.25	2.33	2.46	2.60	2.70	2.74	2.76
x	36.00	38.00	40.00	43.00	45.00	50.00	53.00	56.00	60.00	63.00
Q3	47.63	49.94	52.14	55.27	57.24	61.85	64.41	66.83	69.86	71.97
q3	2.78	2.78	2.79	2.82	2.82	2.85	2.86	2.86	2.86	2.82
x	66.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00	95.00	100.0	112.0	125.0
Q3	73.96	76.99	79.17	81.61	83.76	85.65	87.30	88.74	91.52	93.66
q3	2.79	2.70	2.59	2.46	2.31	2.15	1.99	1.83	1.60	1.27
x	130.0	140.0	150.0	160.0	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	224.0
Q3	94.31	95.36	96.15	96.75	97.22	97.61	97.93	98.20	98.48	98.72
q3	1.08	0.92	0.75	0.61	0.51	0.44	0.39	0.34	0.31	0.28
x	240.0	250.0	280.0	300.0	315.0	355.0	400.0	425.0	450.0	500.0
Q3	99.01	99.16	99.53	99.71	99.79	99.94	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.27	0.24	0.21	0.17	0.11	0.08	0.03	0.00	0.00	0.00

x : diâmetro / mu    Q3 : valor cumulativo / %    q3 : Histograma / %

Faixa : 0.04  $\mu$ m - 500.00  $\mu$ m / 100 Classes

Ref da amostra	: Carvão Ativado 118-CB 1
Type produit	: Carvão Ativado
Client	: DESA
Comentários	: 0,11g de amostra em água
Líquido	: Água
Agente dispersante	: Ultra som
Operador	: João
Empresa	: UFMG - LabHidro
Localização	: Belo Horizonte - MG
Data : 18/01/2005	Hora : 15:38:13
Índice med.	: 417

Ultrasom	: 60	s
Concentração	: 113	
Diâmetro a 10%	: 10.82	$\mu$ m
Diâmetro a 50%	: 38.82	$\mu$ m
Diâmetro a 90%	: 101.53	$\mu$ m
Diâmetro médio	: 49.38	$\mu$ m
Fraunhofer		
Densidade/Fator	-----	
Superfície específica	-----	
Diluição automática	: Não / Não	
Medida./Limp.	: 60/60/3	
SOP	: Repetibilidade	



Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado 118-CB 1  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,11g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 15:38:13  
 Índice med. : 417

Ultrasom : 60 s  
 Concentração : 113  
 Diâmetro a 10% : 10.82 mu  
 Diâmetro a 50% : 38.82 mu  
 Diâmetro a 90% : 101.53 mu  
 Diâmetro médio : 49.38 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade

Valores cumulados característicos in volume / passante

x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.09	0.13	0.16	0.20	0.25
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.29	0.34	0.39	0.44	0.49	0.54	0.64	0.73	0.83	0.93
q3	0.02	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.05	0.05	0.06	0.07
x	2.40	2.60	2.80	3.00	3.20	3.40	3.60	3.80	4.00	4.30
Q3	1.03	1.14	1.26	1.38	1.51	1.65	1.80	1.96	2.12	2.37
q3	0.07	0.09	0.11	0.11	0.13	0.15	0.17	0.19	0.20	0.22
x	4.60	5.00	5.30	5.60	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00	8.50
Q3	2.64	3.00	3.29	3.58	3.98	4.49	5.02	5.59	6.18	6.81
q3	0.26	0.28	0.32	0.34	0.38	0.41	0.47	0.54	0.59	0.68
x	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00	18.00
Q3	7.46	8.82	10.24	11.70	13.19	14.69	16.21	17.75	19.29	20.85
q3	0.74	0.84	0.97	1.09	1.21	1.32	1.43	1.55	1.65	1.78
x	19.00	20.00	21.00	22.00	23.00	25.00	28.00	30.00	32.00	34.00
Q3	22.42	23.99	25.57	27.14	28.70	31.81	36.28	39.11	41.78	44.33
q3	1.89	1.99	2.11	2.20	2.28	2.43	2.57	2.67	2.69	2.74
x	36.00	38.00	40.00	43.00	45.00	50.00	53.00	56.00	60.00	63.00
Q3	46.76	49.08	51.30	54.48	56.51	61.32	64.03	66.59	69.80	72.05
q3	2.77	2.79	2.82	2.86	2.91	2.97	3.03	3.02	3.03	3.00
x	66.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00	95.00	100.0	112.0	125.0
Q3	74.15	77.34	79.62	82.17	84.41	86.38	88.10	89.61	92.52	94.76
q3	2.94	2.84	2.71	2.57	2.40	2.24	2.07	1.92	1.67	1.33
x	130.0	140.0	150.0	160.0	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	224.0
Q3	95.44	96.53	97.35	97.96	98.43	98.79	99.08	99.30	99.50	99.65
q3	1.13	0.96	0.77	0.61	0.50	0.41	0.35	0.28	0.22	0.18
x	240.0	250.0	280.0	300.0	315.0	355.0	400.0	425.0	450.0	500.0
Q3	99.80	99.86	99.97	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.14	0.10	0.06	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

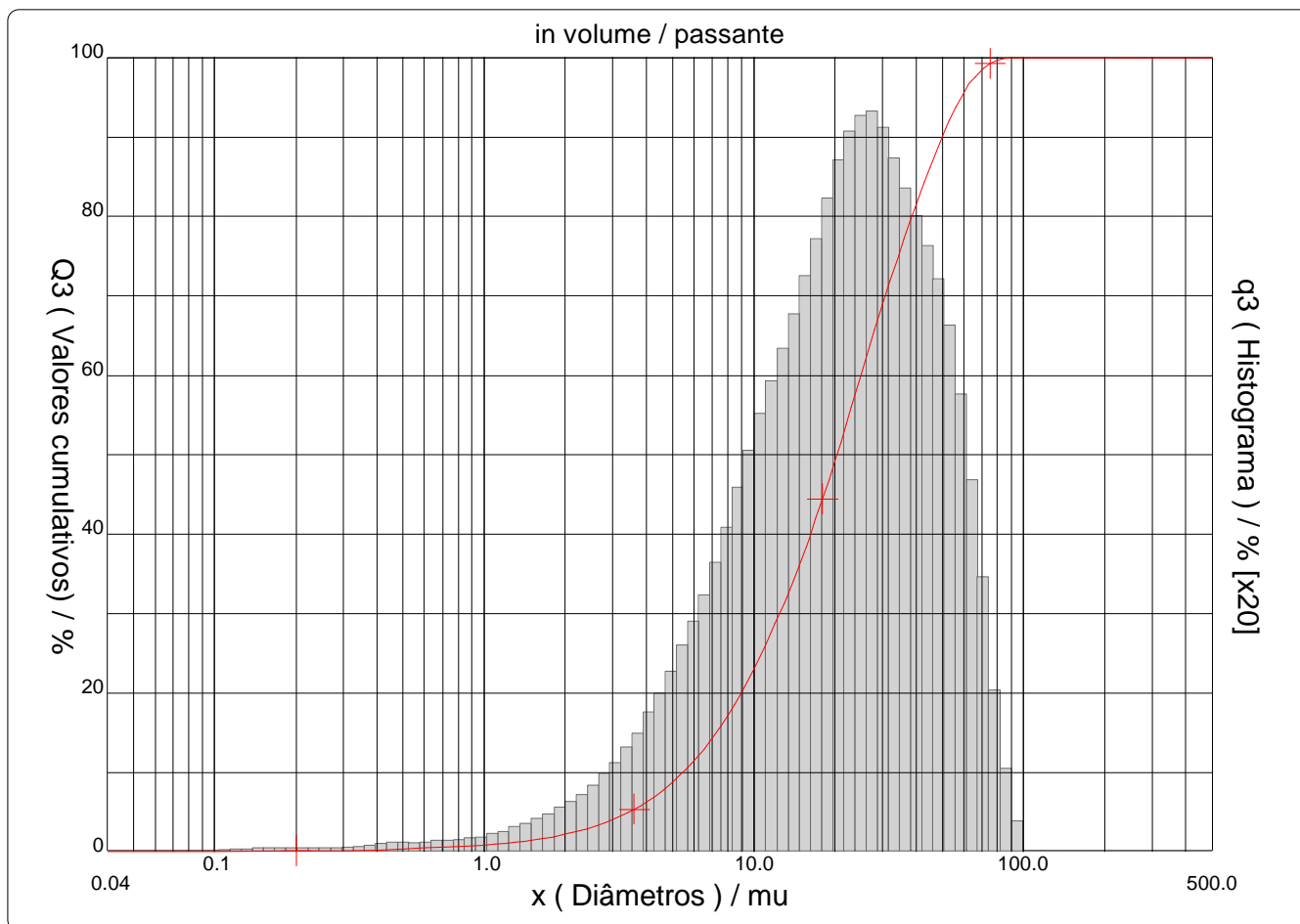
x : diâmetro / mu    Q3 : valor cumulativo / %    q3 : Histograma / %

**ANEXO A.1.2 – CAP DE MADEIRA -2**

Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado 118-90 2  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,11g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 15:59:14  
 Índice med. : 418

Ultrasom : 60 s  
 Concentração : 106  
 Diâmetro a 10% : 5.44 mu  
 Diâmetro a 50% : 20.33 mu  
 Diâmetro a 90% : 49.92 mu  
 Diâmetro médio : 24.32 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade



Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado 118-90 2  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,11g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 15:59:14  
 Índice med. : 418

Ultrasom : 60 s  
 Concentração : 106  
 Diâmetro a 10% : 5.44 mu  
 Diâmetro a 50% : 20.33 mu  
 Diâmetro a 90% : 49.92 mu  
 Diâmetro médio : 24.32 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade

Valores cumulados característicos

in volume / passante

x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.00	0.00	0.00	0.10	0.17	0.26	0.38	0.48	0.58	0.67
q3	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.02	0.04	0.04	0.04	0.04
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.77	0.87	0.98	1.09	1.22	1.35	1.63	1.93	2.25	2.58
q3	0.06	0.06	0.08	0.08	0.11	0.12	0.14	0.17	0.20	0.23
x	2.40	2.60	2.80	3.00	3.20	3.40	3.60	3.80	4.00	4.30
Q3	2.93	3.30	3.69	4.09	4.50	4.94	5.38	5.84	6.32	7.05
q3	0.27	0.31	0.35	0.39	0.42	0.48	0.51	0.57	0.62	0.67
x	4.60	5.00	5.30	5.60	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00	8.50
Q3	7.80	8.83	9.63	10.43	11.52	12.89	14.29	15.72	17.16	18.63
q3	0.74	0.82	0.92	0.97	1.05	1.14	1.26	1.38	1.49	1.62
x	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00	18.00
Q3	20.10	23.04	25.93	28.75	31.50	34.19	36.83	39.41	41.94	44.42
q3	1.72	1.86	2.02	2.16	2.29	2.42	2.55	2.67	2.78	2.89
x	19.00	20.00	21.00	22.00	23.00	25.00	28.00	30.00	32.00	34.00
Q3	46.86	49.23	51.55	53.79	55.95	60.06	65.62	68.91	71.89	74.61
q3	3.01	3.08	3.17	3.21	3.24	3.29	3.27	3.18	3.08	2.99
x	36.00	38.00	40.00	43.00	45.00	50.00	53.00	56.00	60.00	63.00
Q3	77.10	79.40	81.53	84.43	86.19	90.06	92.00	93.68	95.53	96.65
q3	2.91	2.84	2.77	2.68	2.58	2.45	2.22	2.04	1.79	1.53
x	66.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00	95.00	100.0	112.0	125.0
Q3	97.57	98.67	99.21	99.64	99.88	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	1.32	1.01	0.66	0.44	0.26	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00
x	130.0	140.0	150.0	160.0	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	224.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	240.0	250.0	280.0	300.0	315.0	355.0	400.0	425.0	450.0	500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

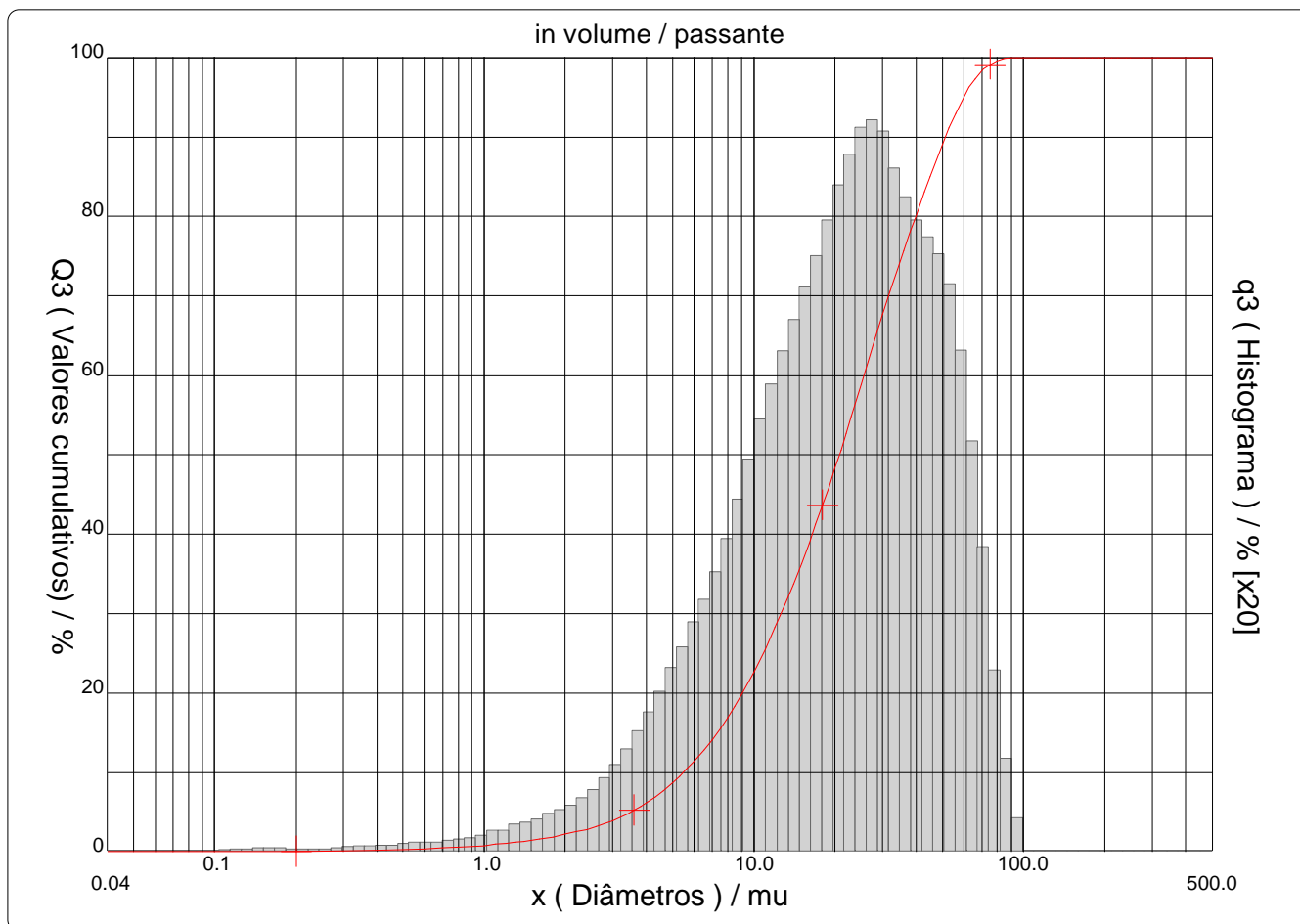
x : diâmetro / mu    Q3 : valor cumulativo / %    q3 : Histograma / %



Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado 118-90 2  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,07g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 16:09:01  
 Índice med. : 419

Ultrasom : 60 s  
 Concentração : 104  
 Diâmetro a 10% : 5.46 mu  
 Diâmetro a 50% : 20.75 mu  
 Diâmetro a 90% : 51.37 mu  
 Diâmetro médio : 24.89 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade



Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado 118-90 2  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,07g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 16:09:01  
 Índice med. : 419

Ultrassom : 60 s  
 Concentração : 104  
 Diâmetro a 10% : 5.46 mu  
 Diâmetro a 50% : 20.75 mu  
 Diâmetro a 90% : 51.37 mu  
 Diâmetro médio : 24.89 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade

Valores cumulados característicos

in volume / passante

x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.00	0.00	0.00	0.09	0.15	0.24	0.33	0.43	0.52	0.62
q3	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.02	0.03	0.04	0.04	0.05
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.72	0.83	0.96	1.08	1.22	1.36	1.64	1.94	2.24	2.55
q3	0.06	0.07	0.09	0.09	0.12	0.13	0.14	0.17	0.19	0.22
x	2.40	2.60	2.80	3.00	3.20	3.40	3.60	3.80	4.00	4.30
Q3	2.88	3.22	3.59	3.98	4.39	4.82	5.27	5.73	6.21	6.95
q3	0.25	0.28	0.33	0.38	0.42	0.47	0.53	0.57	0.62	0.68
x	4.60	5.00	5.30	5.60	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00	8.50
Q3	7.71	8.76	9.55	10.36	11.43	12.78	14.14	15.51	16.91	18.33
q3	0.75	0.84	0.90	0.98	1.03	1.12	1.22	1.32	1.45	1.56
x	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00	18.00
Q3	19.76	22.65	25.51	28.32	31.05	33.71	36.30	38.82	41.27	43.67
q3	1.67	1.83	2.00	2.15	2.27	2.39	2.50	2.60	2.70	2.80
x	19.00	20.00	21.00	22.00	23.00	25.00	28.00	30.00	32.00	34.00
Q3	46.01	48.30	50.54	52.71	54.83	58.88	64.39	67.66	70.59	73.27
q3	2.89	2.98	3.06	3.11	3.18	3.24	3.24	3.16	3.03	2.95
x	36.00	38.00	40.00	43.00	45.00	50.00	53.00	56.00	60.00	63.00
Q3	75.73	78.01	80.14	83.09	84.91	89.02	91.14	92.98	95.02	96.26
q3	2.87	2.81	2.77	2.72	2.67	2.60	2.43	2.23	1.97	1.70
x	66.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00	95.00	100.0	112.0	125.0
Q3	97.28	98.51	99.12	99.60	99.87	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	1.46	1.12	0.74	0.50	0.30	0.15	0.00	0.00	0.00	0.00
x	130.0	140.0	150.0	160.0	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	224.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	240.0	250.0	280.0	300.0	315.0	355.0	400.0	425.0	450.0	500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

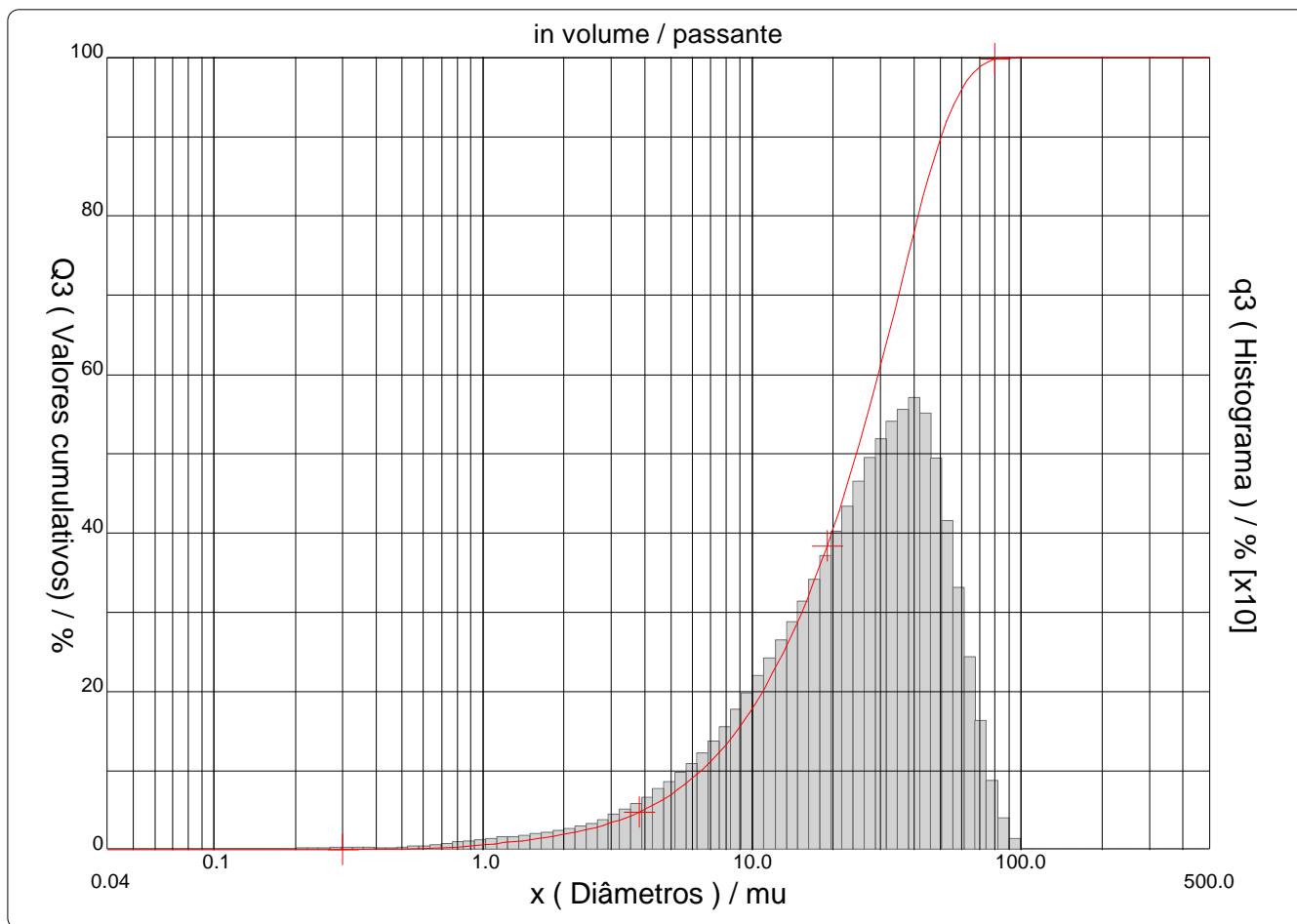
x : diâmetro / mu    Q3 : valor cumulativo / %    q3 : Histograma / %

## **ANEXO A.1.3 – CAP DE MADEIRA -3**

Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado 106-90 3  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,12g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 16:20:16  
 Índice med. : 420

Ultrasom : 60 s  
 Concentração : 139  
 Diâmetro a 10% : 6.45 mu  
 Diâmetro a 50% : 24.41 mu  
 Diâmetro a 90% : 50.37 mu  
 Diâmetro médio : 26.79 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade



Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado 106-90 3  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,12g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 16:20:16  
 Índice med. : 420

Ultrassom : 60 s  
 Concentração : 139  
 Diâmetro a 10% : 6.45 mu  
 Diâmetro a 50% : 24.41 mu  
 Diâmetro a 90% : 50.37 mu  
 Diâmetro médio : 26.79 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade

Valores cumulados característicos

in volume / passante

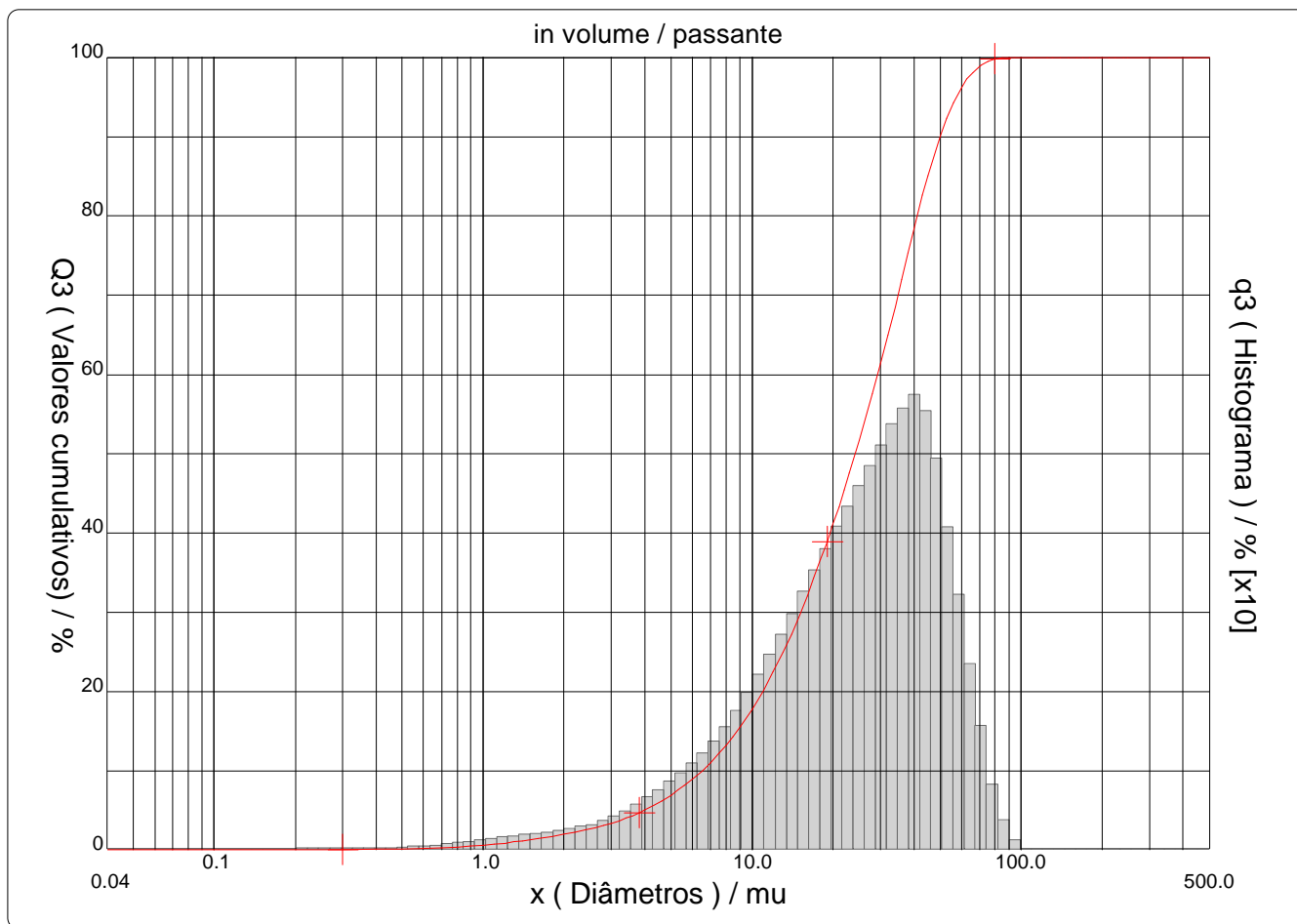
x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.13	0.17	0.23	0.31	0.42
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02	0.03	0.05
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.54	0.67	0.80	0.94	1.07	1.20	1.47	1.74	2.01	2.28
q3	0.07	0.08	0.09	0.11	0.11	0.12	0.13	0.15	0.17	0.19
x	2.40	2.60	2.80	3.00	3.20	3.40	3.60	3.80	4.00	4.30
Q3	2.56	2.84	3.14	3.45	3.77	4.10	4.44	4.80	5.15	5.71
q3	0.21	0.23	0.27	0.30	0.33	0.36	0.39	0.44	0.45	0.51
x	4.60	5.00	5.30	5.60	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00	8.50
Q3	6.28	7.05	7.65	8.25	9.06	10.09	11.13	12.21	13.30	14.43
q3	0.56	0.61	0.68	0.72	0.78	0.85	0.93	1.03	1.12	1.23
x	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00	18.00
Q3	15.57	17.88	20.21	22.53	24.84	27.13	29.41	31.67	33.91	36.14
q3	1.32	1.45	1.62	1.76	1.91	2.04	2.18	2.32	2.44	2.58
x	19.00	20.00	21.00	22.00	23.00	25.00	28.00	30.00	32.00	34.00
Q3	38.36	40.55	42.73	44.88	47.00	51.19	57.22	61.05	64.74	68.28
q3	2.71	2.82	2.95	3.06	3.15	3.32	3.52	3.67	3.78	3.86
x	36.00	38.00	40.00	43.00	45.00	50.00	53.00	56.00	60.00	63.00
Q3	71.66	74.93	78.00	82.19	84.66	89.70	92.06	93.98	95.96	97.09
q3	3.91	4.00	3.96	3.83	3.59	3.16	2.68	2.31	1.90	1.53
x	66.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00	95.00	100.0	112.0	125.0
Q3	97.96	98.97	99.42	99.75	99.92	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	1.24	0.91	0.54	0.34	0.19	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00
x	130.0	140.0	150.0	160.0	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	224.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	240.0	250.0	280.0	300.0	315.0	355.0	400.0	425.0	450.0	500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x : diâmetro / mu    Q3 : valor cumulativo / %    q3 : Histograma / %

Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado 106-90 3  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,14g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 16:34:39  
 Índice med. : 421

Ultrasom : 60 s  
 Concentração : 162  
 Diâmetro a 10% : 6.50 mu  
 Diâmetro a 50% : 24.16 mu  
 Diâmetro a 90% : 49.95 mu  
 Diâmetro médio : 26.61 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade



Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado 106-90 3  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,14g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 16:34:39  
 Índice med. : 421

Ultrasom : 60 s  
 Concentração : 162  
 Diâmetro a 10% : 6.50 mu  
 Diâmetro a 50% : 24.16 mu  
 Diâmetro a 90% : 49.95 mu  
 Diâmetro médio : 26.61 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade

Valores cumulados característicos

in volume / passante

x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.12	0.16	0.22	0.29	0.40
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02	0.03	0.05
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.51	0.64	0.77	0.91	1.05	1.19	1.46	1.73	2.00	2.27
q3	0.06	0.08	0.09	0.11	0.12	0.12	0.13	0.15	0.17	0.19
x	2.40	2.60	2.80	3.00	3.20	3.40	3.60	3.80	4.00	4.30
Q3	2.54	2.81	3.10	3.40	3.71	4.03	4.37	4.71	5.07	5.62
q3	0.21	0.22	0.26	0.29	0.32	0.35	0.39	0.42	0.46	0.50
x	4.60	5.00	5.30	5.60	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00	8.50
Q3	6.18	6.96	7.55	8.15	8.97	10.00	11.05	12.12	13.22	14.34
q3	0.55	0.62	0.67	0.72	0.79	0.85	0.94	1.02	1.13	1.22
x	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00	18.00
Q3	15.48	17.80	20.16	22.54	24.92	27.30	29.67	32.02	34.34	36.63
q3	1.32	1.45	1.64	1.81	1.96	2.12	2.27	2.41	2.53	2.65
x	19.00	20.00	21.00	22.00	23.00	25.00	28.00	30.00	32.00	34.00
Q3	38.89	41.12	43.30	45.45	47.56	51.68	57.59	61.38	65.05	68.59
q3	2.76	2.87	2.95	3.05	3.14	3.26	3.45	3.63	3.76	3.86
x	36.00	38.00	40.00	43.00	45.00	50.00	53.00	56.00	60.00	63.00
Q3	71.99	75.28	78.38	82.58	85.06	90.05	92.35	94.23	96.14	97.23
q3	3.93	4.02	3.99	3.84	3.60	3.13	2.61	2.26	1.83	1.48
x	66.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00	95.00	100.0	112.0	125.0
Q3	98.07	99.03	99.46	99.77	99.93	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	1.19	0.87	0.52	0.32	0.17	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00
x	130.0	140.0	150.0	160.0	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	224.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	240.0	250.0	280.0	300.0	315.0	355.0	400.0	425.0	450.0	500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x : diâmetro / mu    Q3 : valor cumulativo / %    q3 : Histograma / %

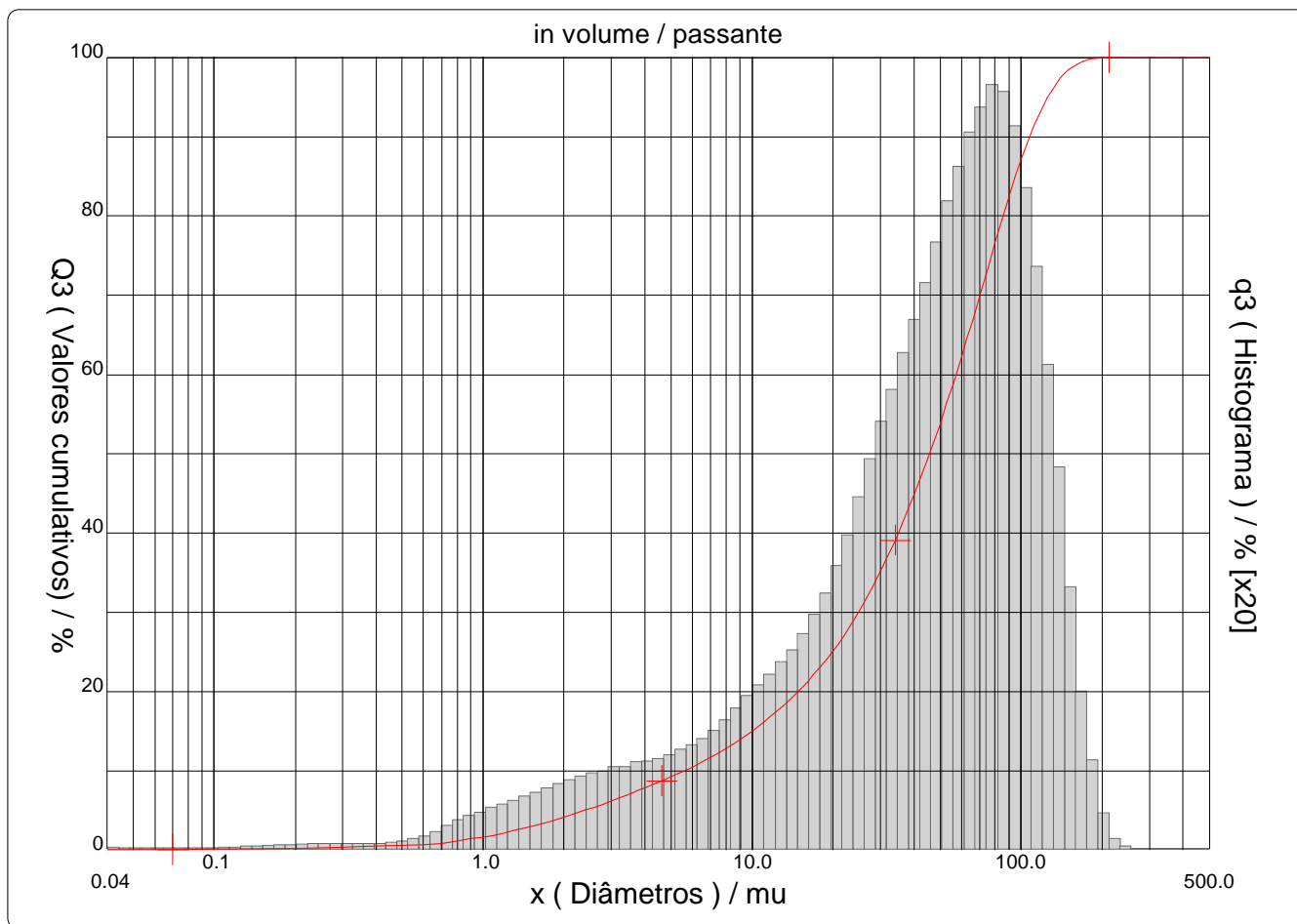
## **ANEXO A.1.4 – CAP DE OSSO**



Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado de Osso  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,25g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 10:49:21  
 Índice med. : 412

Ultrasom : 60 s  
 Concentração : 104  
 Diâmetro a 10% : 5.58 mu  
 Diâmetro a 50% : 45.64 mu  
 Diâmetro a 90% : 107.76 mu  
 Diâmetro médio : 52.20 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade



Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado de Osso  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,25g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 10:49:21  
 Índice med. : 412

Ultrasom : 60 s  
 Concentração : 104  
 Diâmetro a 10% : 5.58 mu  
 Diâmetro a 50% : 45.64 mu  
 Diâmetro a 90% : 107.76 mu  
 Diâmetro médio : 52.20 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade

Valores cumulados característicos

in volume / passante

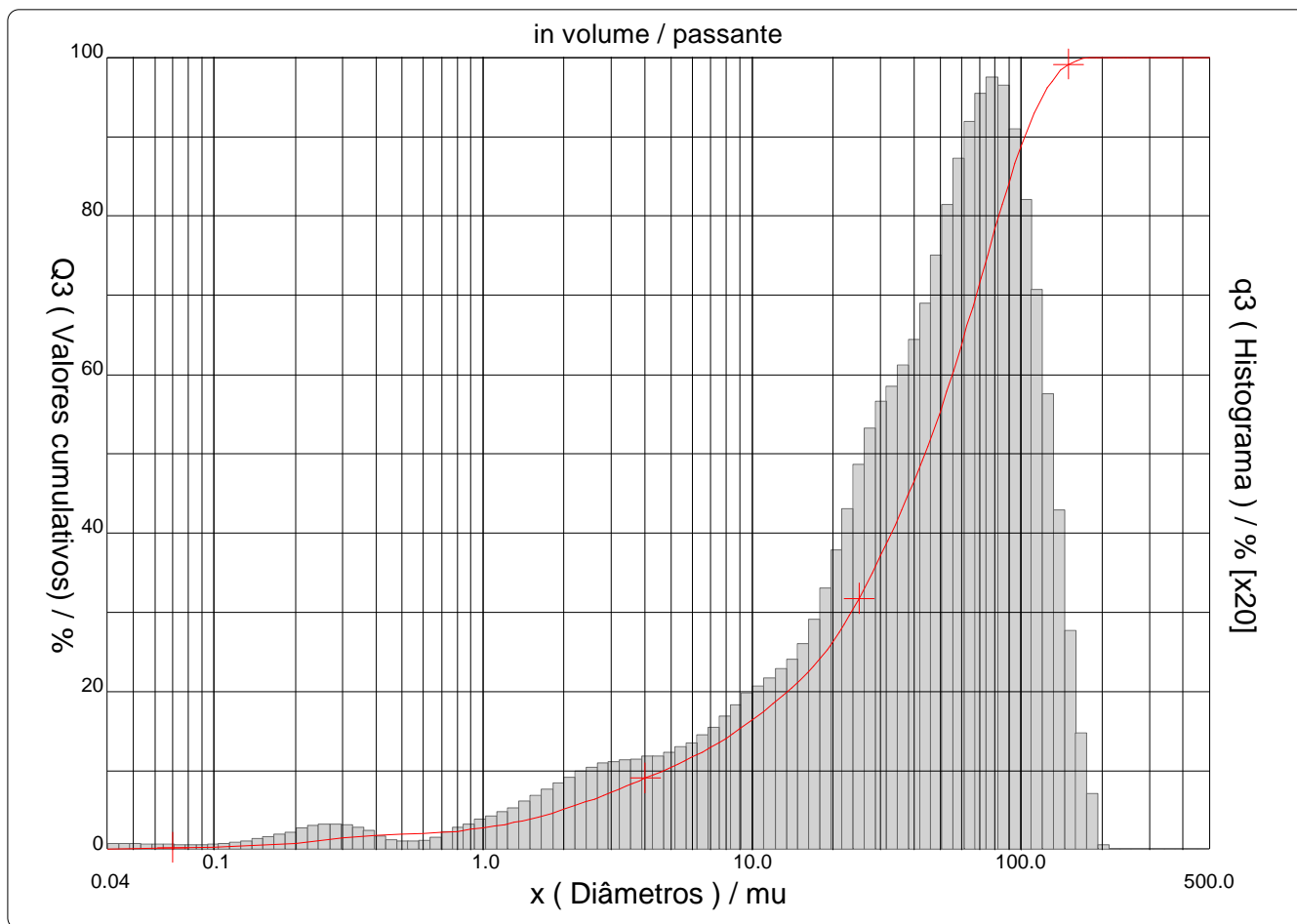
x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.03	0.08	0.11	0.24	0.39	0.50	0.60	0.73	0.91	1.15
q3	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.03	0.03	0.05	0.08	0.12
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	1.41	1.67	1.94	2.20	2.46	2.72	3.22	3.71	4.18	4.63
q3	0.15	0.16	0.19	0.20	0.22	0.23	0.25	0.28	0.30	0.31
x	2.40	2.60	2.80	3.00	3.20	3.40	3.60	3.80	4.00	4.30
Q3	5.06	5.47	5.86	6.24	6.59	6.93	7.26	7.58	7.88	8.31
q3	0.33	0.34	0.35	0.37	0.36	0.37	0.38	0.39	0.39	0.40
x	4.60	5.00	5.30	5.60	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00	8.50
Q3	8.73	9.26	9.65	10.02	10.51	11.10	11.68	12.26	12.83	13.40
q3	0.41	0.42	0.44	0.45	0.47	0.49	0.52	0.56	0.59	0.62
x	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00	18.00
Q3	13.97	15.08	16.16	17.21	18.24	19.24	20.23	21.21	22.19	23.16
q3	0.66	0.70	0.75	0.80	0.86	0.90	0.95	1.01	1.07	1.13
x	19.00	20.00	21.00	22.00	23.00	25.00	28.00	30.00	32.00	34.00
Q3	24.14	25.12	26.10	27.09	28.09	30.12	33.17	35.19	37.17	39.14
q3	1.20	1.27	1.34	1.41	1.50	1.62	1.79	1.95	2.04	2.16
x	36.00	38.00	40.00	43.00	45.00	50.00	53.00	56.00	60.00	63.00
Q3	41.07	42.97	44.84	47.60	49.41	53.84	56.42	58.93	62.19	64.55
q3	2.24	2.34	2.42	2.54	2.65	2.79	2.94	3.03	3.14	3.22
x	66.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00	95.00	100.0	112.0	125.0
Q3	66.84	70.51	73.32	76.60	79.64	82.40	84.88	87.11	91.49	94.88
q3	3.27	3.34	3.41	3.38	3.33	3.21	3.05	2.89	2.57	2.05
x	130.0	140.0	150.0	160.0	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	224.0
Q3	95.88	97.42	98.42	99.07	99.49	99.75	99.88	99.95	99.98	100.00
q3	1.69	1.38	0.96	0.67	0.46	0.30	0.16	0.09	0.03	0.02
x	240.0	250.0	280.0	300.0	315.0	355.0	400.0	425.0	450.0	500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x : diâmetro / mu    Q3 : valor cumulativo / %    q3 : Histograma / %

Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado de Osso  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,30g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 13:28:50  
 Índice med. : 413

Ultrasom : 60 s  
 Concentração : 143  
 Diâmetro a 10% : 4.64 mu  
 Diâmetro a 50% : 43.91 mu  
 Diâmetro a 90% : 103.37 mu  
 Diâmetro médio : 49.86 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade



Faixa : 0.04 mu - 500.00 mu / 100 Classes

Ref da amostra : Carvão Ativado de Osso  
 Type produit : Carvão Ativado  
 Client : DESA  
 Comentários : 0,30g de amostra em água  
 Líquido : Água  
 Agente dispersante : Ultra som  
 Operador : João  
 Empresa : UFMG - LabHidro  
 Localização : Belo Horizonte - MG  
 Data : 18/01/2005 Hora : 13:28:50  
 Índice med. : 413

Ultrasom : 60 s  
 Concentração : 143  
 Diâmetro a 10% : 4.64 mu  
 Diâmetro a 50% : 43.91 mu  
 Diâmetro a 90% : 103.37 mu  
 Diâmetro médio : 49.86 mu  
 Fraunhofer  
 Densidade/Fator : -----  
 Superfície específica : -----  
 Diluição automática : Não / Não  
 Medida./Limp. : 60/60/3  
 SOP : Repetibilidade

Valores cumulados característicos

in volume / passante

x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.10	0.29	0.39	0.86	1.50	1.88	2.02	2.12	2.24	2.42
q3	0.02	0.02	0.02	0.05	0.11	0.09	0.04	0.04	0.05	0.09
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	2.61	2.82	3.03	3.25	3.47	3.70	4.17	4.65	5.13	5.60
q3	0.11	0.13	0.15	0.17	0.18	0.21	0.24	0.27	0.31	0.33
x	2.40	2.60	2.80	3.00	3.20	3.40	3.60	3.80	4.00	4.30
Q3	6.07	6.51	6.94	7.34	7.72	8.08	8.42	8.75	9.07	9.51
q3	0.36	0.37	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40	0.41	0.42	0.41
x	4.60	5.00	5.30	5.60	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00	8.50
Q3	9.94	10.48	10.88	11.26	11.76	12.37	12.96	13.56	14.14	14.72
q3	0.43	0.43	0.46	0.46	0.49	0.51	0.53	0.58	0.60	0.64
x	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00	18.00
Q3	15.30	16.42	17.48	18.50	19.48	20.43	21.37	22.32	23.29	24.28
q3	0.68	0.71	0.75	0.79	0.82	0.86	0.91	0.99	1.07	1.16
x	19.00	20.00	21.00	22.00	23.00	25.00	28.00	30.00	32.00	34.00
Q3	25.29	26.33	27.40	28.47	29.56	31.77	35.03	37.12	39.11	41.04
q3	1.25	1.36	1.47	1.54	1.65	1.78	1.93	2.03	2.07	2.14
x	36.00	38.00	40.00	43.00	45.00	50.00	53.00	56.00	60.00	63.00
Q3	42.91	44.74	46.53	49.19	50.95	55.32	57.90	60.44	63.74	66.14
q3	2.20	2.27	2.34	2.47	2.60	2.78	2.97	3.10	3.21	3.30
x	66.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00	95.00	100.0	112.0	125.0
Q3	68.47	72.20	75.03	78.35	81.39	84.14	86.59	88.77	92.97	96.12
q3	3.36	3.43	3.47	3.45	3.37	3.23	3.04	2.85	2.49	1.93
x	130.0	140.0	150.0	160.0	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	224.0
Q3	97.00	98.33	99.12	99.59	99.86	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	1.51	1.20	0.77	0.49	0.30	0.16	0.00	0.00	0.00	0.00
x	240.0	250.0	280.0	300.0	315.0	355.0	400.0	425.0	450.0	500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x : diâmetro / mu    Q3 : valor cumulativo / %    q3 : Histograma / %

---

**ANEXO A.2 – DETERMINAÇÃO GRANULOMÉTRICA POR PENEIRAMENTO  
PARA O CARVÃO ATIVADO EM PÓ MINERAL**

---

<b>Malha</b>	<b>Massa dos filtros (g)</b>	<b>Massa de carvão (g)</b>	<b>Massa de carvão retido + filtro (g)</b>
100#	1- 0,999	5,002	5,678
	2- 0,973	5,002	5,756
	3- 0,986	5,000	5,750
200#	1- 0,975	5,001	5,856
	2- 0,999	5,001	5,856
	3- 0,979	5,000	5,838
352#	1- 1,000	5,002	5,908
	2- 0,966	5,001	5,860
	3- 0,980	5,000	5,883

---

**ANEXO A.3 – RESULTADOS DAS ISOTERMAS DE ADSORÇÃO- DESADSORÇÃO  
DE NITROGÊNIO A 77K**

## **ANEXO A.3.1 – CAP DE MADEIRA -1**

Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = ca118cb1.dat

User ID = João  
Comments = 2h no fluxo de gás N2 a 300°C

User Setup = 23

Sample ID = C. Ativado 118 CB 1  
Sample Weight = 0.1733 g  
Sample Density = 2.6500 g/cc

Sample Cell Number = 1  
Sample Volume = 0.0654 cc

Po Type = Calculate  
Adsorbate = Nitrogen

Po = 700.59 mm Hg  
Bath Temperature = 77.40 deg K

Adsorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Adsorption Equil Time = 60 sec  
Adsorption Dwell Time = 180 sec

Desorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Desorption Equil Time = 60 sec  
Desorption Dwell Time = 180 sec

P/Po	Volume (cc/g)	TAGS	
0.044257	245.743924	A	M
0.135513	268.272916	A	M
0.223047	282.332852	A	M S
0.312971	295.004971	A	T
0.403399	307.364621	A	T
0.490819	319.418179	A	T
0.582809	333.050900	A	T
0.673682	347.116878	A	T
0.760818	360.833217	A	T
0.850451	374.985530	A	
0.940037	394.537563	A	
0.981990	410.405086	A D	J
0.955619	407.770656	D	J
0.870160	394.928249	D	J
0.776286	383.206844	D	J
0.689103	371.317073	D	J
0.597901	356.232937	D	J
0.504532	339.165340	D	J
0.417833	312.787594	D	J
0.329517	297.662198	D	J
0.234341	283.944150	D	J
0.143729	269.760342	D	J
0.056807	249.990445	D	J



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de gás N2 a 300°C		
Sample ID	= C. Ativado 118 CB 1	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1733 g	Sample Volume	= 0.0654 cc
Sample Density	= 2.6500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 700.59 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Jan 20 12:24:56 2005	Elapsed Time	= 202.73 Minutes.

Single Point BET (Adsorption)

P/Po	Specific Surface Area [m <sup>2</sup> /g]
0.223047	954.763556

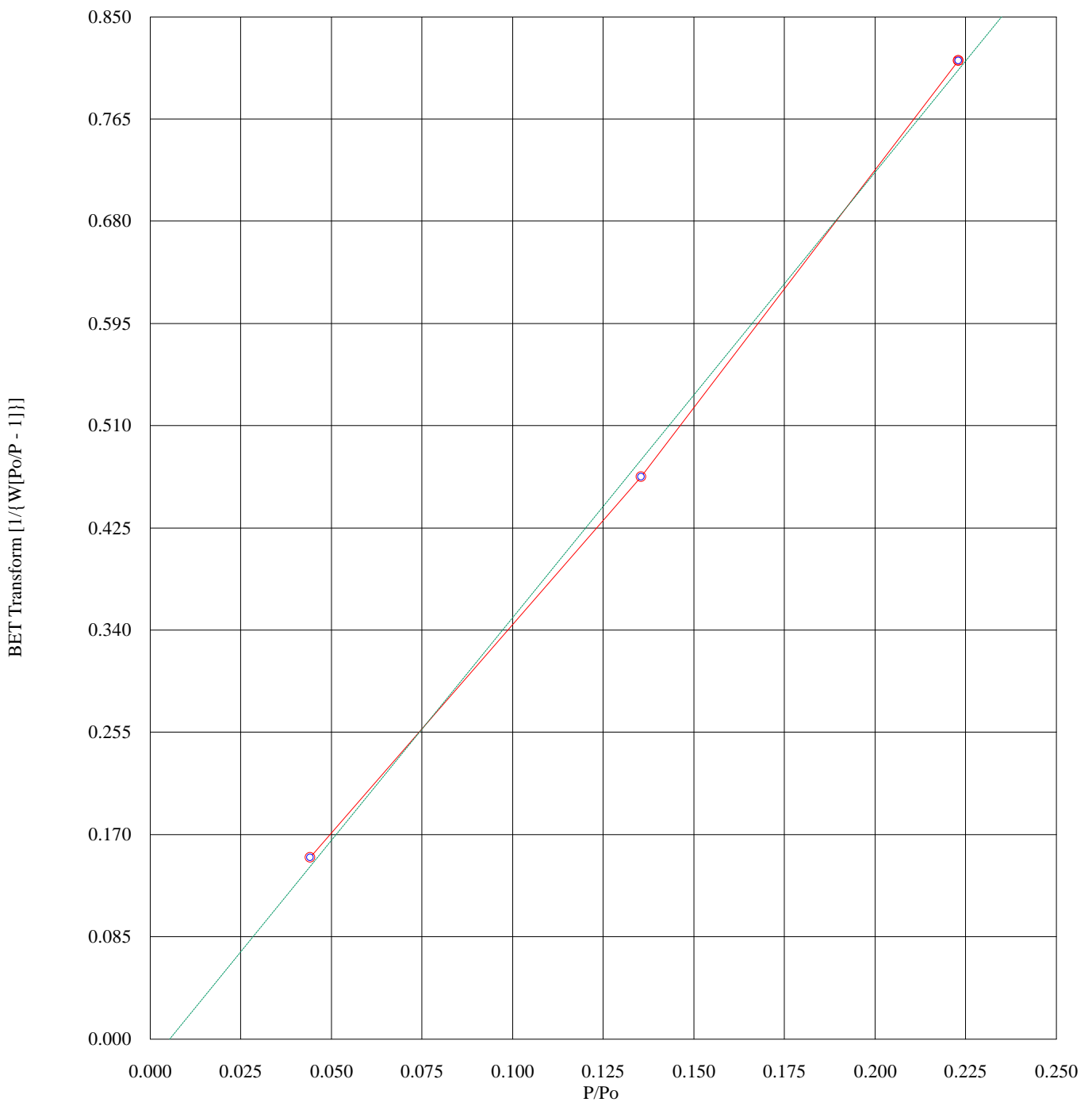
Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de gás N2 a 300°C		
Sample ID	= C. Ativado 118 CB 1	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1733 g	Sample Volume	= 0.0654 cc
Sample Density	= 2.6500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 700.59 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Jan 20 12:24:56 2005	Elapsed Time	= 202.73 Minutes.

Multi Point BET (Adsorption)

P/Po	BET Transform [1/{W[Po/P - 1]}]
0.044257	0.150769
0.135513	0.467518
0.223047	0.813568
Slope	= 3.705465
Intercept	= -0.020256
Correlation Coefficient	= 0.999296
BET C	= -181.930152
Total Surface Area in Cell	= 163.7683 m <sup>2</sup>
Specific Surface Area	= 944.9986 m <sup>2</sup> /g

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de gás N2 a 300°C		
Sample ID	= C. Ativado 118 CB 1	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1733 g	Sample Volume	= 0.0654 cc
Sample Density	= 2.6500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 700.59 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Jan 20 12:24:56 2005	Elapsed Time	= 202.73 Minutes.

Multi Point BET (Adsorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de gás N2 a 300°C		
Sample ID	= C. Ativado 118 CB 1	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1733 g	Sample Volume	= 0.0654 cc
Sample Density	= 2.6500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 700.59 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Jan 20 12:24:56 2005	Elapsed Time	= 202.73 Minutes.

BJH Cumulative Pore Size Distribution (Desorption)

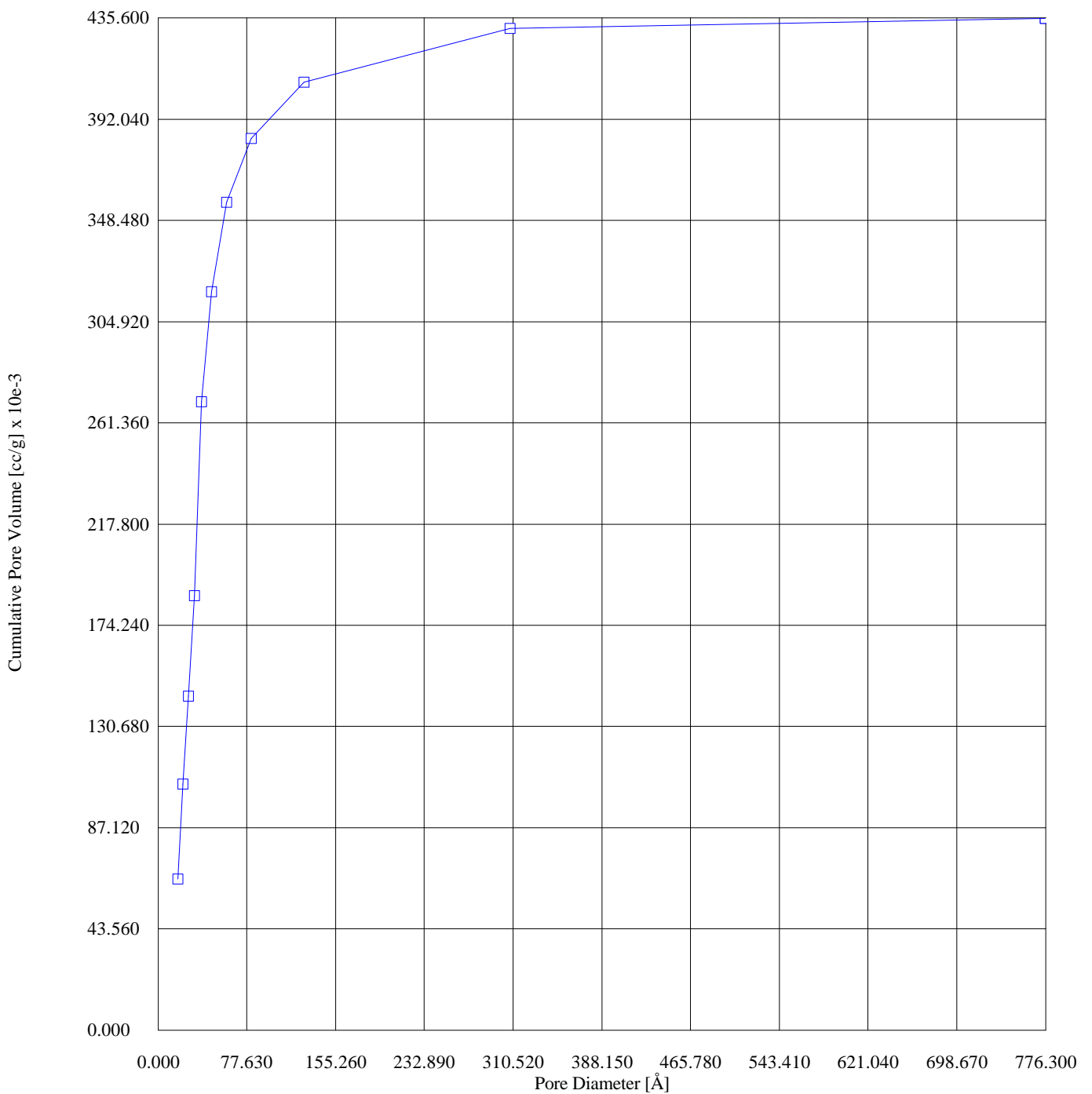
Pore Diameter [Å]	Cumulative Pore Area [m <sup>2</sup> /g]	Cumulative Pore Volume [cc/g] x 10e-3
776.263317	514.728959	435.568161
307.855909	514.499665	431.118348
127.692319	511.498960	408.023727
81.377872	503.921264	383.833387
60.209600	490.408443	356.342272
46.971045	464.832076	317.843702
38.121309	424.478296	270.457221
31.737578	336.964647	187.053851
26.385922	282.243165	143.635669
21.711826	225.113675	105.950311
17.371464	149.668719	64.999118

Total Pore Volume is 0.63393 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 1097.595 Å.

Average pore diameter is 26.833 Å.

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de gás N2 a 300°C		
Sample ID	= C. Ativado 118 CB 1	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1733 g	Sample Volume	= 0.0654 cc
Sample Density	= 2.6500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 700.59 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Jan 20 12:24:56 2005	Elapsed Time	= 202.73 Minutes.

BJH Cumulative Pore Size Distribution (Desorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de gás N2 a 300°C		
Sample ID	= C. Ativado 118 CB 1	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1733 g	Sample Volume	= 0.0654 cc
Sample Density	= 2.6500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 700.59 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Jan 20 12:24:56 2005	Elapsed Time	= 202.73 Minutes.

BJH dV/dD (Desorption)

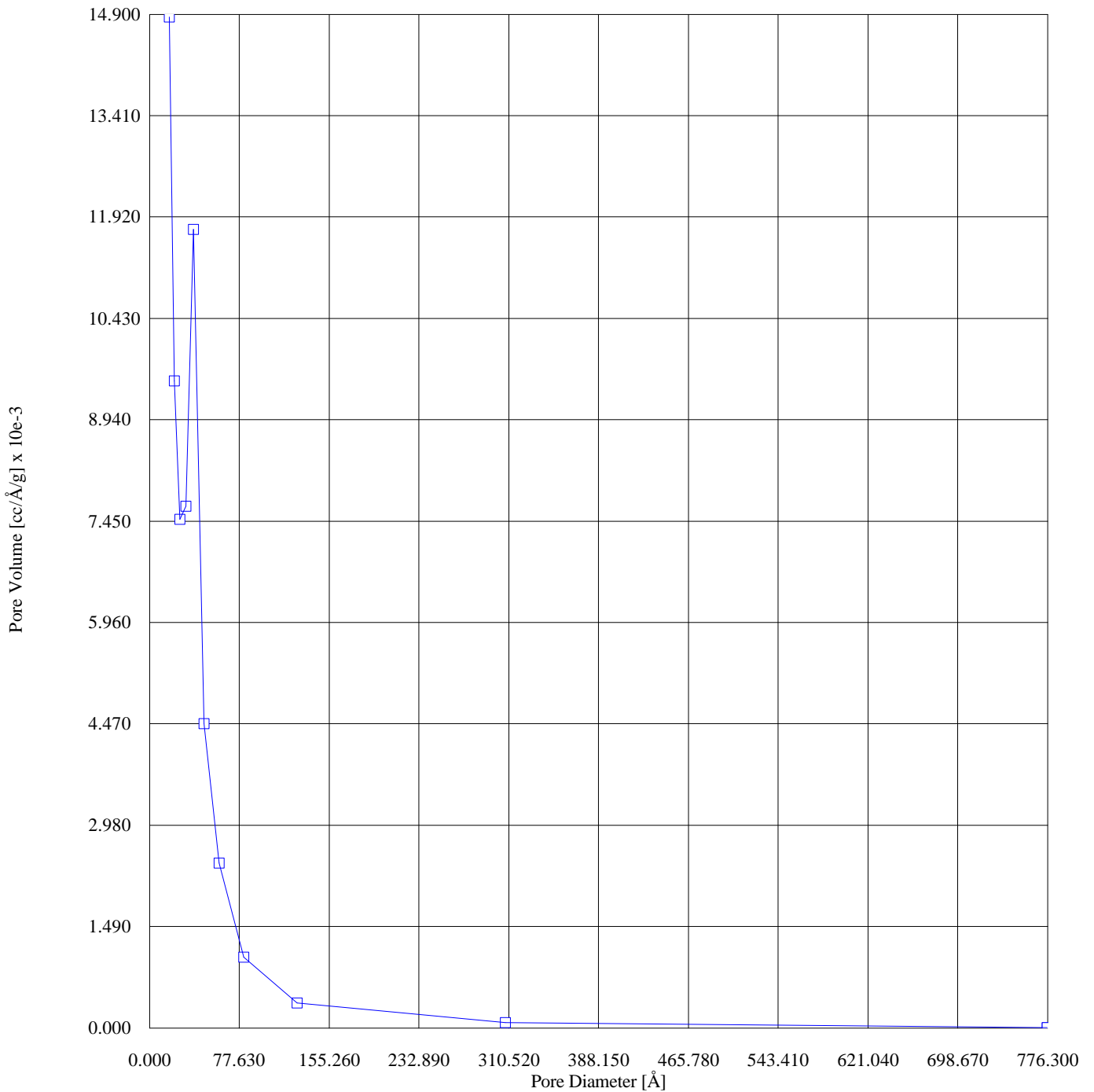
Pore Diameter [Å]	Pore Area [m <sup>2</sup> /Å/g]	Pore Volume [cc/Å/g] x 10e-3
776.263317	0.000357	0.006924
307.855909	0.010201	0.078513
127.692319	0.114507	0.365542
81.377872	0.510837	1.039270
60.209600	1.610174	2.423699
46.971045	3.809516	4.473424
38.121309	12.314445	11.736069
31.737578	9.666609	7.669869
26.385922	11.329744	7.473644
21.711826	17.521869	9.510794
17.371464	34.210272	14.857062

Total Pore Volume is 0.63393 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 1097.595 Å.

Average pore diameter is 26.833 Å.

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de gás N2 a 300°C		
Sample ID	= C. Ativado 118 CB 1	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1733 g	Sample Volume	= 0.0654 cc
Sample Density	= 2.6500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 700.59 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Jan 20 12:24:56 2005	Elapsed Time	= 202.73 Minutes.

BJH dV/dD (Desorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de gás N2 a 300°C		
Sample ID	= C. Ativado 118 CB 1	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1733 g	Sample Volume	= 0.0654 cc
Sample Density	= 2.6500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 700.59 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Jan 20 12:24:56 2005	Elapsed Time	= 202.73 Minutes.

BJH dV/d[logD] (Desorption)

Pore Diameter [Å]	Pore Area [m <sup>2</sup> /g]	Pore Volume [cc/g] x 10e-3
776.263317	0.599467	11.633603
307.855909	6.642960	51.126862
127.692319	32.900159	105.027440
81.377872	94.871488	193.010997
60.209600	221.930151	334.058142
46.971045	410.265360	481.764821
38.121309	1077.794197	1027.173129
31.737578	704.544208	559.013166
26.385922	686.248027	452.682181
21.711826	873.098059	473.913820
17.371464	1361.122415	591.117215

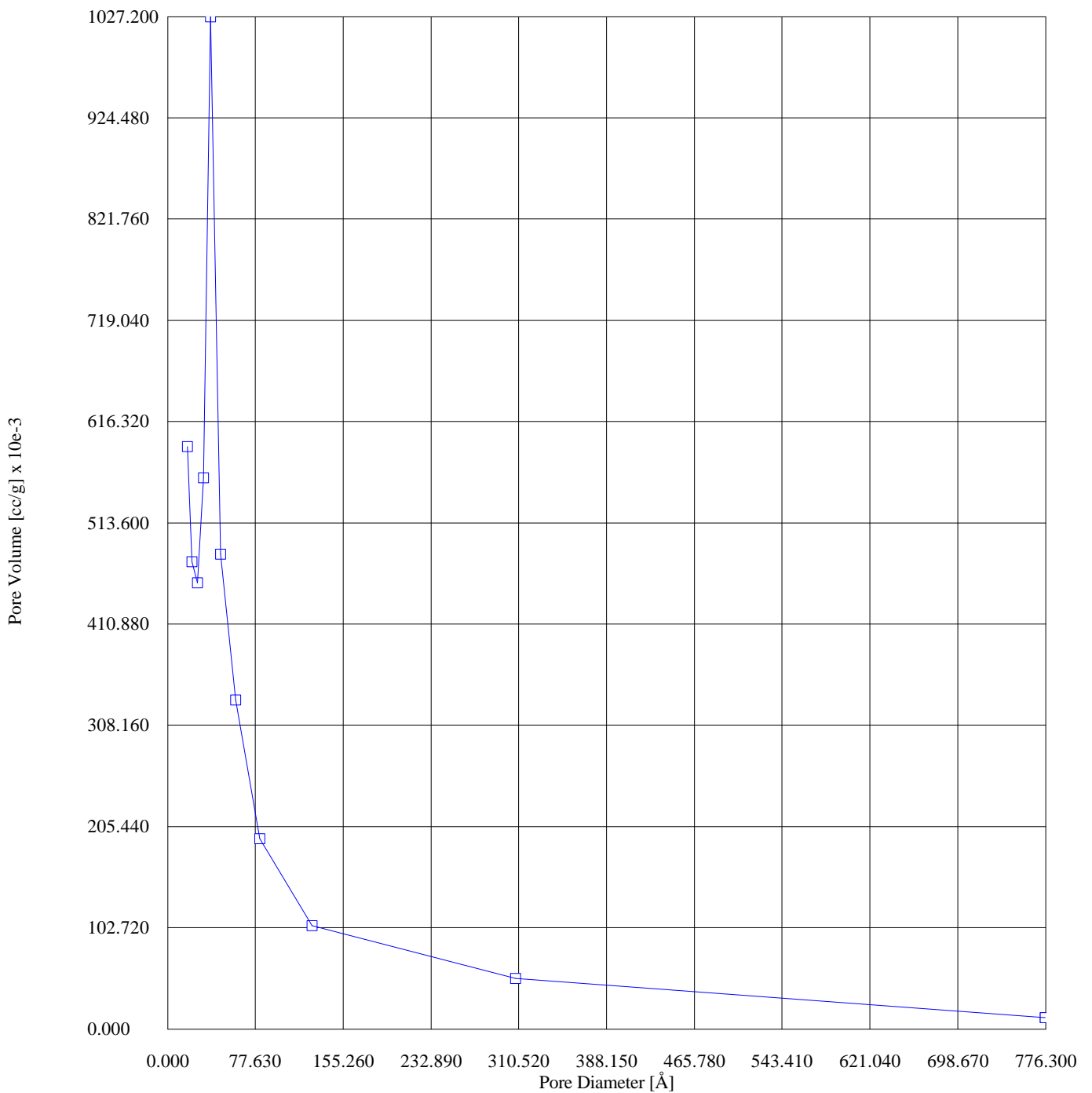
Total Pore Volume is 0.63393 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 1097.595 Å.

Average pore diameter is 26.833 Å.



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de gás N2 a 300°C		
Sample ID	= C. Ativado 118 CB 1	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1733 g	Sample Volume	= 0.0654 cc
Sample Density	= 2.6500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 700.59 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Jan 20 12:24:56 2005	Elapsed Time	= 202.73 Minutes.

BJH dV/d[logD] (Desorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de gás N2 a 300°C		
Sample ID	= C. Ativado 118 CB 1	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1733 g	Sample Volume	= 0.0654 cc
Sample Density	= 2.6500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 700.59 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Jan 20 12:24:56 2005	Elapsed Time	= 202.73 Minutes.

Isotherm (Adsorption/Desorption)

P/Po	Volume Adsorbed @STP [cc/g]
0.044257	245.743924
0.135513	268.272916
0.223047	282.332852
0.312971	295.004971
0.403399	307.364621
0.490819	319.418179
0.582809	333.050900
0.673682	347.116878
0.760818	360.833217
0.850451	374.985530
0.940037	394.537563
0.981990	410.405086
0.955619	407.770656
0.870160	394.928249
0.776286	383.206844
0.689103	371.317073
0.597901	356.232937
0.504532	339.165340
0.417833	312.787594
0.329517	297.662198
0.234341	283.944150
0.143729	269.760342
0.056807	249.990445

Instrument = NOVA-1200 Ver. 5.25  
User ID = João  
Comments = 2h no fluxo de gás N2 a 300°C

User Setup = 23

Sample ID = C. Ativado 118 CB 1  
Sample Weight = 0.1733 g  
Sample Density = 2.6500 g/cc

Sample Cell Number = 1  
Sample Volume = 0.0654 cc

Po Type = Calculate  
Adsorbate = Nitrogen

Po = 700.59 mm Hg  
Bath Temperature = 77.40 deg K

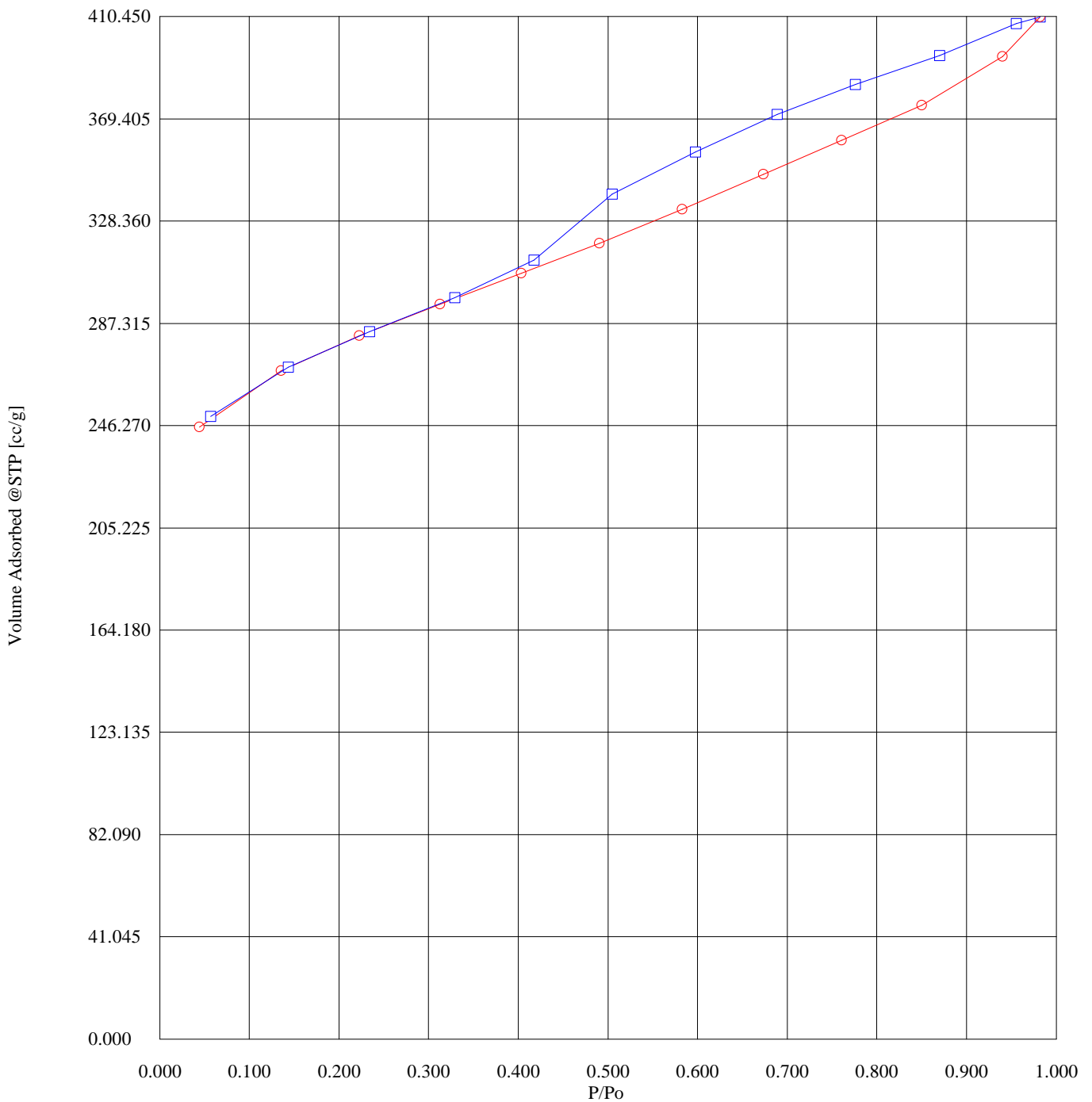
Adsorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Adsorption Equil Time = 60 sec  
Adsorption Dwell Time = 180 sec

Desorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Desorption Equil Time = 60 sec  
Desorption Dwell Time = 180 sec

Analysis Start Time = Thu Jan 20 12:24:56 2005

Elapsed Time = 202.73 Minutes.

Isotherm (Adsorption/Desorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de gás N2 a 300°C		
Sample ID	= C. Ativado 118 CB 1	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1733 g	Sample Volume	= 0.0654 cc
Sample Density	= 2.6500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 700.59 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Jan 20 12:24:56 2005	Elapsed Time	= 202.73 Minutes.

t Method -- Carbon Black (Adsorption)

Statistical Thickness [Å]	Adsorbed Volume [cc/g]
5.084860	0.456317
5.725128	0.475436
6.357776	0.494080
7.038027	0.515167
7.724636	0.536925
8.396662	0.558141
External Surface Area	= 307.6229 m <sup>2</sup> /g
Micropore Surface Area	= 637.3758 m <sup>2</sup> /g
Micropore Volume	= 0.299252 cc/g
Correlation Coefficient	= 0.999885

**ANEXO A.3.2 – CAP DE MADEIRA -2**

Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = ca118901.dat

User ID = João  
Comments = 2h no fluxo de N2 a 300°C.

User Setup = 23

Sample ID = C. Ativado 118 - 90  
Sample Weight = 0.1149 g  
Sample Density = 2.0500 g/cc

Sample Cell Number = 1  
Sample Volume = 0.0560 cc

Po Type = Calculate  
Adsorbate = Nitrogen

Po = 698.43 mm Hg  
Bath Temperature = 77.40 deg K

Adsorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Adsorption Equil Time = 60 sec  
Adsorption Dwell Time = 180 sec

Desorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Desorption Equil Time = 60 sec  
Desorption Dwell Time = 180 sec

P/Po	Volume (cc/g)	TAGS		
0.042589	209.697877	A	M	
0.141454	232.524522	A	M	
0.227269	246.291367	A	M S	T
0.311064	258.058930	A		T
0.407087	273.956971	A		T
0.494531	287.777467	A		T
0.584955	304.243989	A		T
0.676200	324.296235	A		T
0.761124	345.192262	A		T
0.854774	370.562196	A		
0.940935	400.481325	A		
0.981596	419.981782	A D	J	
0.955313	415.893068	D	J	
0.865496	393.916871	D	J	
0.778913	373.939515	D	J	
0.687529	350.888734	D	J	
0.598872	328.656984	D	J	
0.508033	306.587403	D	J	
0.420152	279.277467	D	J	
0.328069	262.241151	D	J	
0.232115	247.747300	D	J	
0.149319	234.817689	D	J	
0.054402	214.196336	D	J	

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado 118 - 90	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1149 g	Sample Volume	= 0.0560 cc
Sample Density	= 2.0500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 698.43 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Tue Feb 01 12:34:49 2005	Elapsed Time	= 181.77 Minutes.

Single Point BET (Adsorption)

P/Po	Specific Surface Area [m <sup>2</sup> /g]
0.227269	828.356329

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado 118 - 90	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1149 g	Sample Volume	= 0.0560 cc
Sample Density	= 2.0500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 698.43 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Tue Feb 01 12:34:49 2005	Elapsed Time	= 181.77 Minutes.

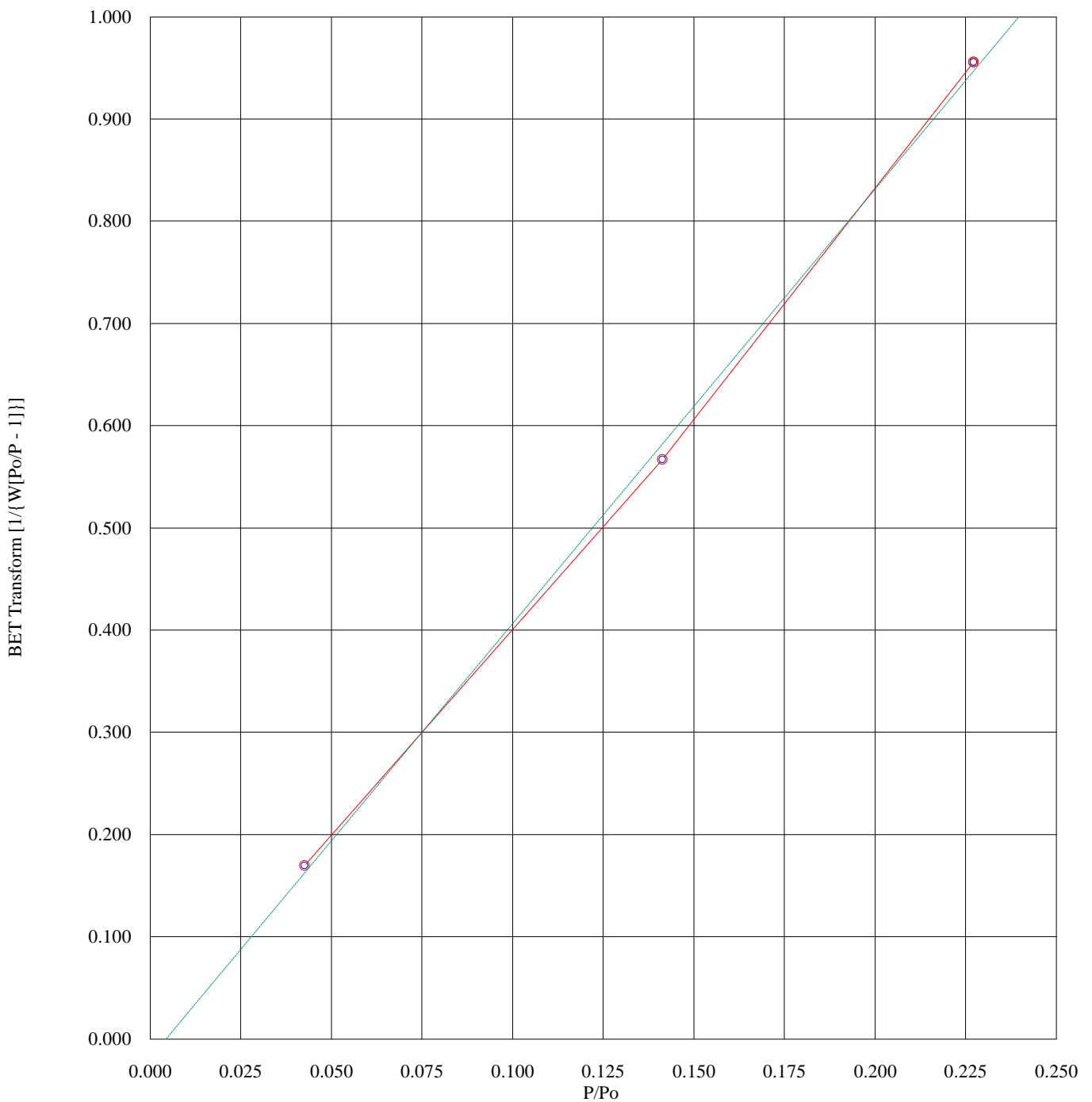
Multi Point BET (Adsorption)

P/Po	BET Transform [1/{W[Po/P - 1]}]
0.042589	0.169730
0.141454	0.566937
0.227269	0.955468
Slope	= 4.248629
Intercept	= -0.018458
Correlation Coefficient	= 0.999408
BET C	= -229.174831
Total Surface Area in Cell	= 94.5922 m <sup>2</sup>
Specific Surface Area	= 823.2569 m <sup>2</sup> /g



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado 118 - 90	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1149 g	Sample Volume	= 0.0560 cc
Sample Density	= 2.0500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 698.43 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Tue Feb 01 12:34:49 2005	Elapsed Time	= 181.77 Minutes.

Multi Point BET (Adsorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado 118 - 90	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1149 g	Sample Volume	= 0.0560 cc
Sample Density	= 2.0500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 698.43 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Tue Feb 01 12:34:49 2005	Elapsed Time	= 181.77 Minutes.

BJH Cumulative Pore Size Distribution (Desorption)

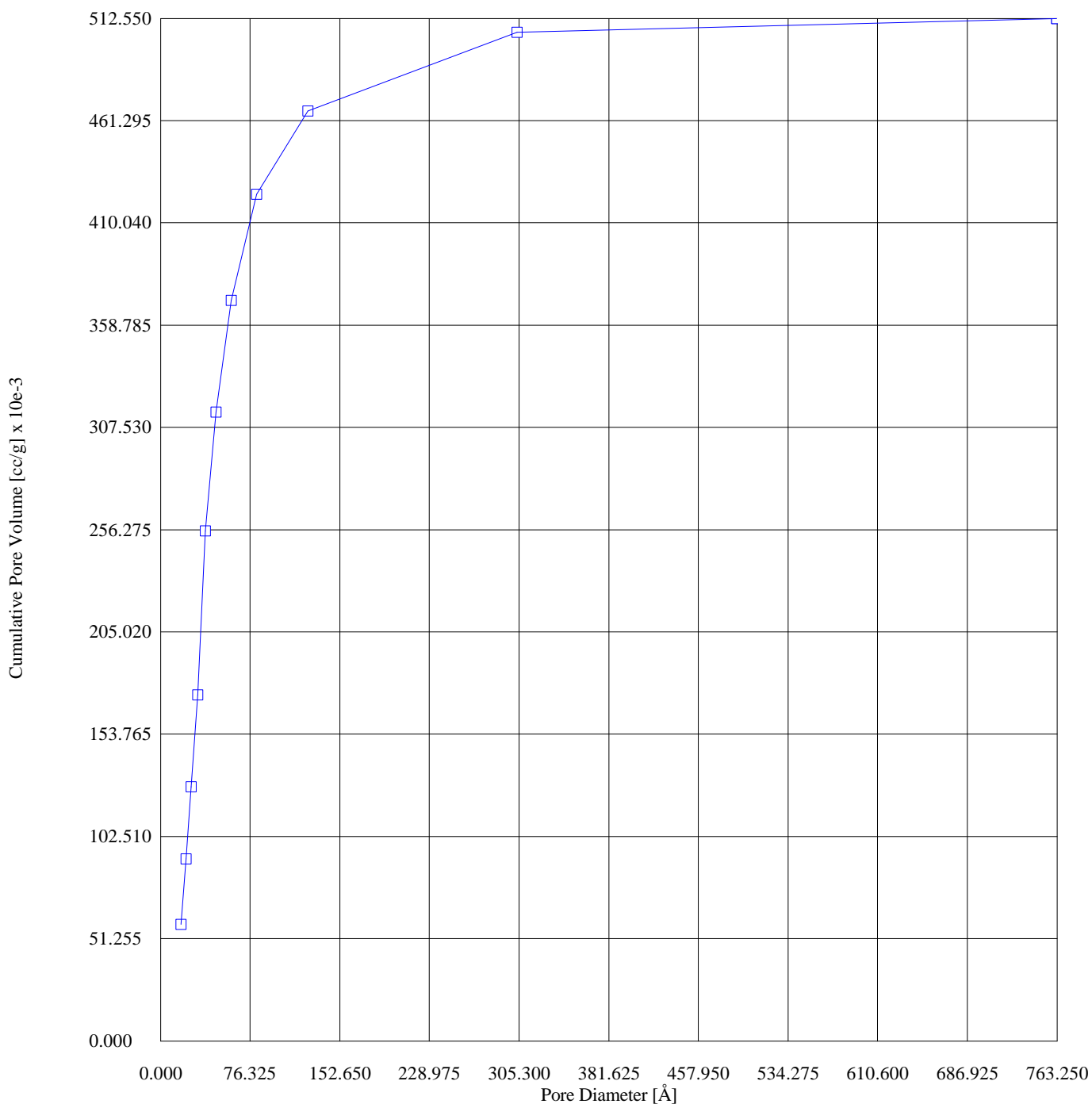
Pore Diameter [Å]	Cumulative Pore Area [m <sup>2</sup> /g]	Cumulative Pore Volume [cc/g] x 10e-3
763.239264	525.623992	512.529024
303.639058	525.261562	505.613499
125.542759	520.052625	466.072584
81.757234	506.777982	424.409200
60.102508	480.702952	371.113642
47.203709	443.502244	315.217246
38.370592	393.088203	255.724003
31.779204	307.408782	173.534751
26.289494	249.450070	127.487707
21.788199	194.281577	91.228914
17.431822	134.030885	58.410062

Total Pore Volume is 0.64872 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 1074.576 Å.

Average pore diameter is 31.520 Å.

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado 118 - 90	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1149 g	Sample Volume	= 0.0560 cc
Sample Density	= 2.0500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 698.43 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Tue Feb 01 12:34:49 2005	Elapsed Time	= 181.77 Minutes.

BJH Cumulative Pore Size Distribution (Desorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado 118 - 90	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1149 g	Sample Volume	= 0.0560 cc
Sample Density	= 2.0500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 698.43 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Tue Feb 01 12:34:49 2005	Elapsed Time	= 181.77 Minutes.

BJH dV/dD (Desorption)

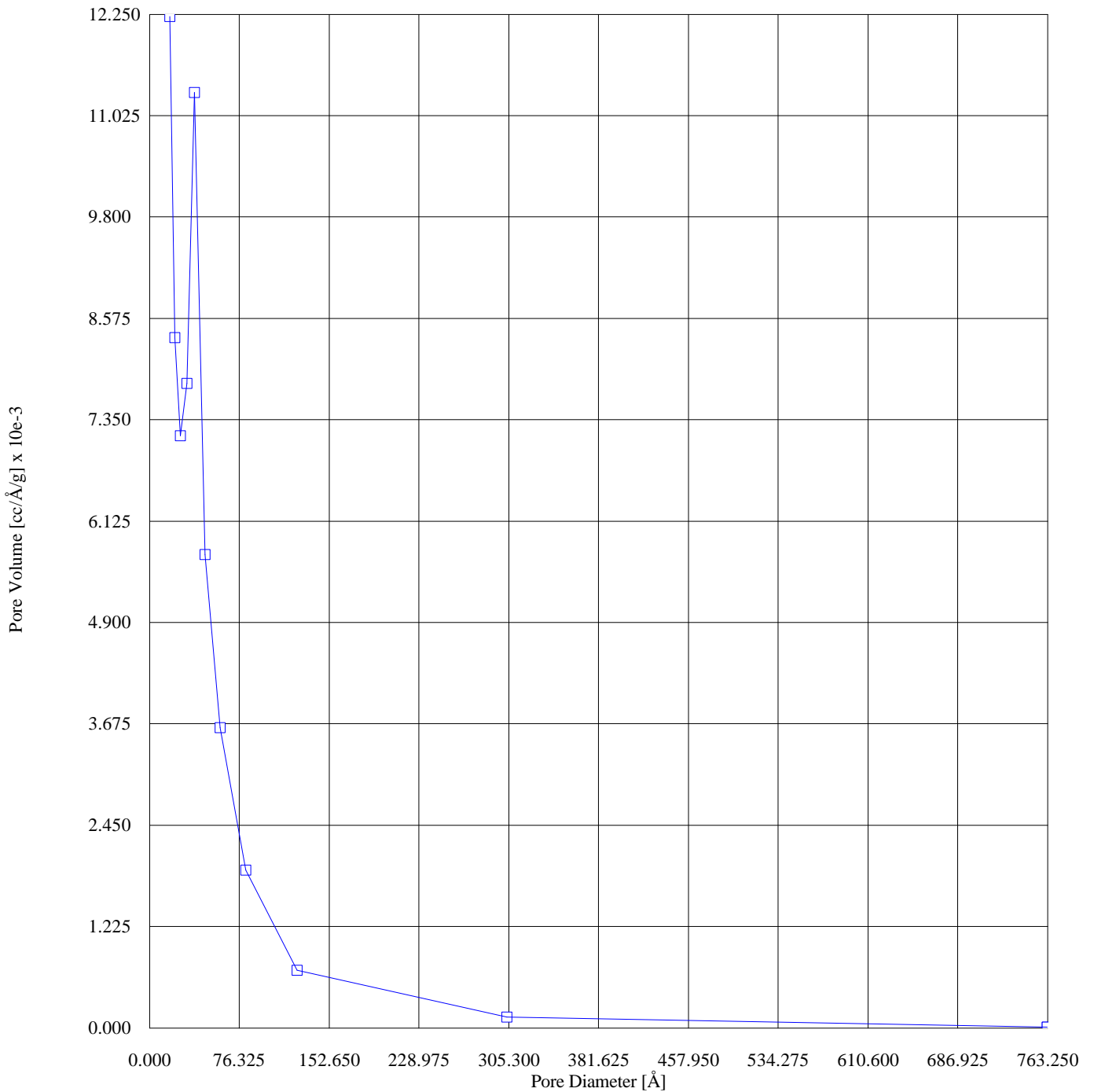
Pore Diameter [Å]	Pore Area [m <sup>2</sup> /Å/g]	Pore Volume [cc/Å/g] x 10e-3
763.239264	0.000582	0.011106
303.639058	0.017566	0.133346
125.542759	0.222487	0.698292
81.757234	0.934376	1.909801
60.102508	2.415143	3.628903
47.203709	4.850074	5.723537
38.370592	11.782511	11.302548
31.779204	9.805181	7.790022
26.289494	10.884811	7.153904
21.788199	15.314608	8.341943
17.431822	28.048401	12.223368

Total Pore Volume is 0.64872 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 1074.576 Å.

Average pore diameter is 31.520 Å.

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado 118 - 90	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1149 g	Sample Volume	= 0.0560 cc
Sample Density	= 2.0500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 698.43 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Tue Feb 01 12:34:49 2005	Elapsed Time	= 181.77 Minutes.

BJH dV/dD (Desorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado 118 - 90	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1149 g	Sample Volume	= 0.0560 cc
Sample Density	= 2.0500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 698.43 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Tue Feb 01 12:34:49 2005	Elapsed Time	= 181.77 Minutes.

BJH dV/d[logD] (Desorption)

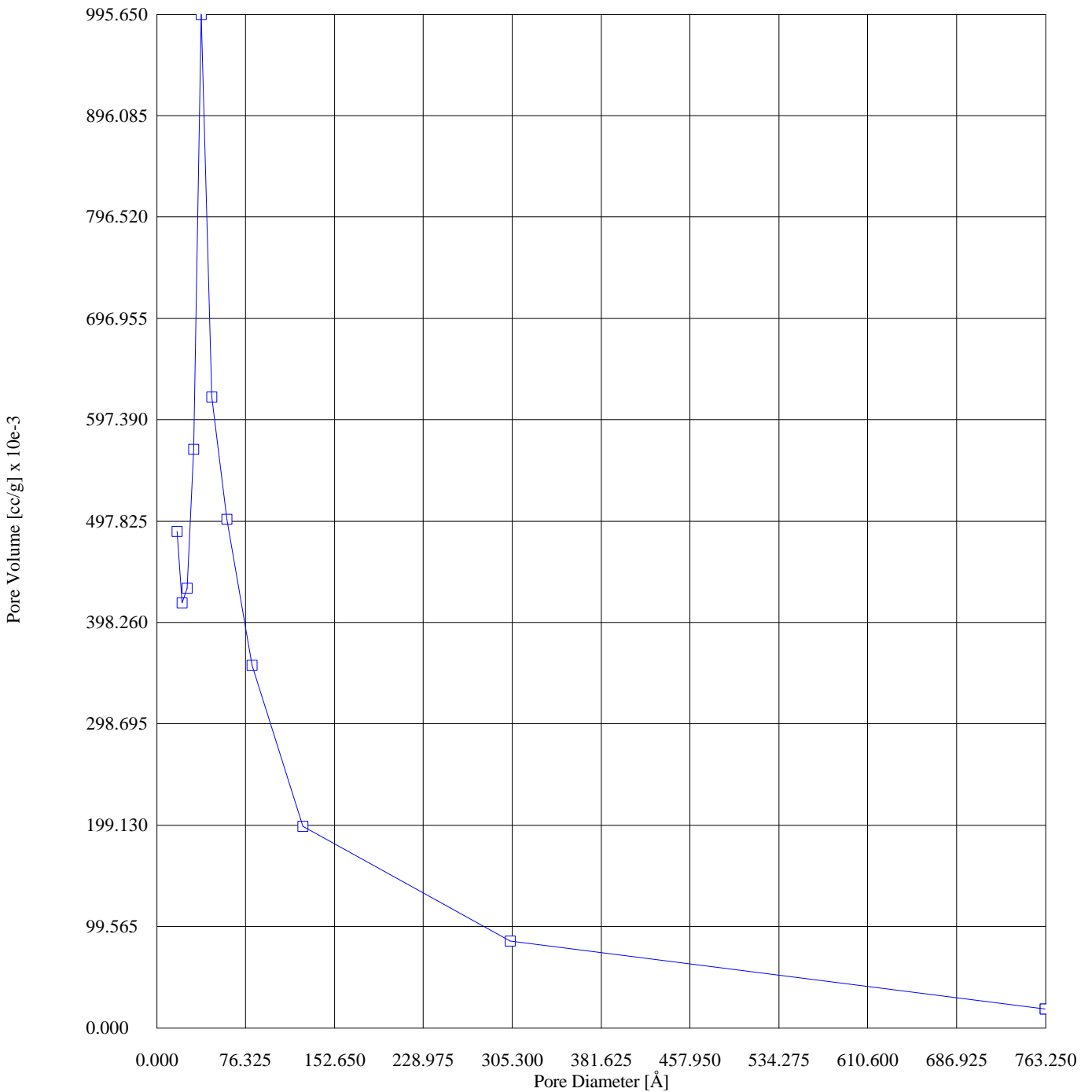
Pore Diameter [Å]	Pore Area [m <sup>2</sup> /g]	Pore Volume [cc/g] x 10e-3
763.239264	0.963419	18.382982
303.639058	11.234297	85.279286
125.542759	63.085725	197.998899
81.757234	174.177896	356.007575
60.102508	332.396915	499.447207
47.203709	525.020126	619.572432
38.370592	1037.879994	995.601735
31.779204	715.414123	568.382291
26.289494	656.853005	431.708324
21.788199	766.229267	417.368891
17.431822	1118.728071	487.536703

Total Pore Volume is 0.64872 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 1074.576 Å.

Average pore diameter is 31.520 Å.

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado 118 - 90	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1149 g	Sample Volume	= 0.0560 cc
Sample Density	= 2.0500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 698.43 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Tue Feb 01 12:34:49 2005	Elapsed Time	= 181.77 Minutes.

BJH dV/d[logD] (Desorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado 118 - 90	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1149 g	Sample Volume	= 0.0560 cc
Sample Density	= 2.0500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 698.43 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Tue Feb 01 12:34:49 2005	Elapsed Time	= 181.77 Minutes.

Isotherm (Adsorption/Desorption)

P/Po	Volume Adsorbed @STP [cc/g]
0.042589	209.697877
0.141454	232.524522
0.227269	246.291367
0.311064	258.058930
0.407087	273.956971
0.494531	287.777467
0.584955	304.243989
0.676200	324.296235
0.761124	345.192262
0.854774	370.562196
0.940935	400.481325
0.981596	419.981782
0.955313	415.893068
0.865496	393.916871
0.778913	373.939515
0.687529	350.888734
0.598872	328.656984
0.508033	306.587403
0.420152	279.277467
0.328069	262.241151
0.232115	247.747300
0.149319	234.817689
0.054402	214.196336



Instrument = NOVA-1200 Ver. 5.25  
User ID = João  
Comments = 2h no fluxo de N2 a 300°C.

User Setup = 23

Sample ID = C. Ativado 118 - 90  
Sample Weight = 0.1149 g  
Sample Density = 2.0500 g/cc

Sample Cell Number = 1  
Sample Volume = 0.0560 cc

Po Type = Calculate  
Adsorbate = Nitrogen

Po = 698.43 mm Hg  
Bath Temperature = 77.40 deg K

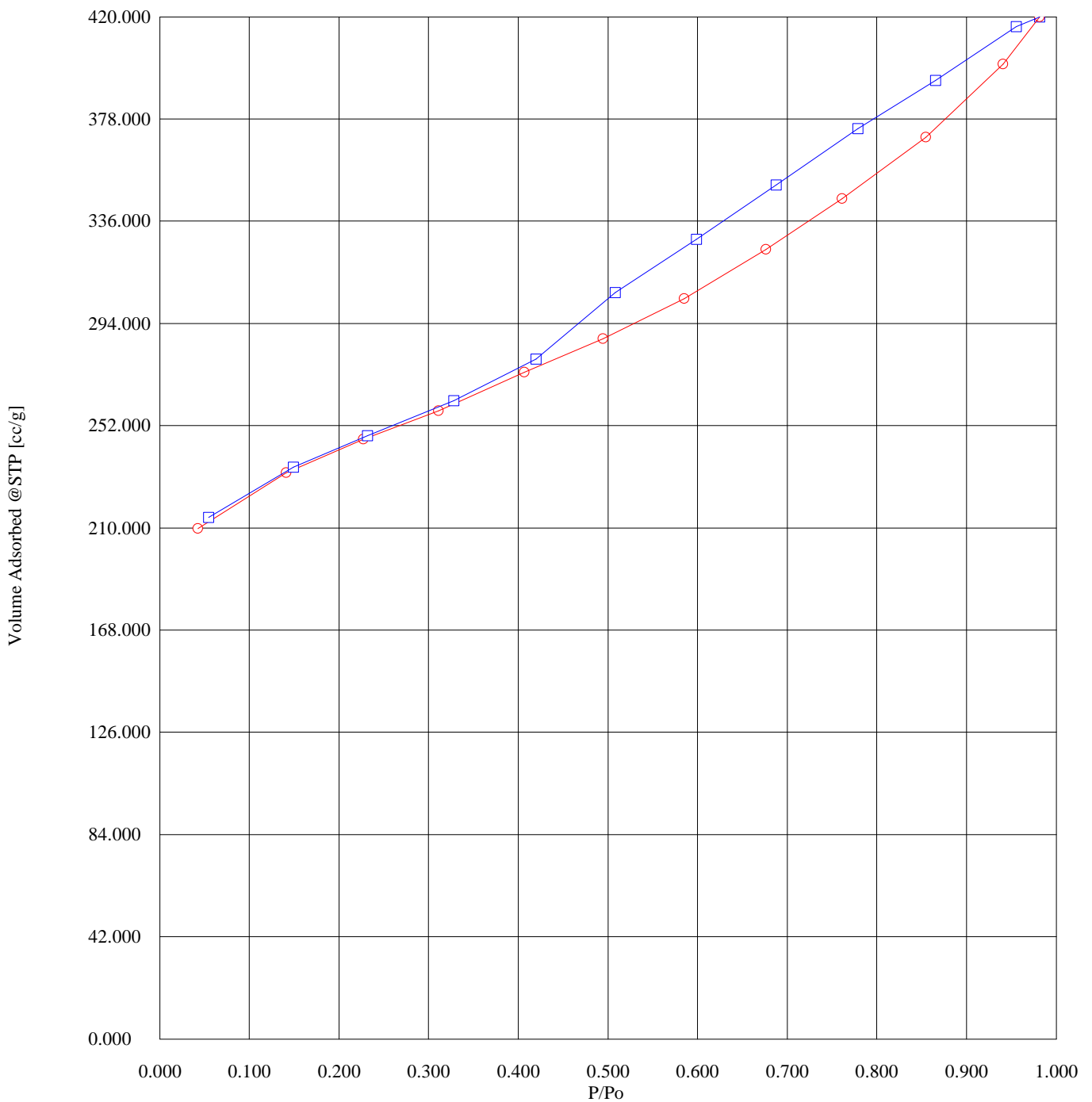
Adsorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Adsorption Equil Time = 60 sec  
Adsorption Dwell Time = 180 sec

Desorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Desorption Equil Time = 60 sec  
Desorption Dwell Time = 180 sec

Analysis Start Time = Tue Feb 01 12:34:49 2005

Elapsed Time = 181.77 Minutes.

Isotherm (Adsorption/Desorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado 118 - 90	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1149 g	Sample Volume	= 0.0560 cc
Sample Density	= 2.0500 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 698.43 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Tue Feb 01 12:34:49 2005	Elapsed Time	= 181.77 Minutes.

t Method -- Carbon Black (Adsorption)

Statistical Thickness [Å]	Adsorbed Volume [cc/g]
4.491338	0.380967
5.071515	0.399169
5.751546	0.423760
6.384938	0.445138
7.054068	0.470609
7.743868	0.501626
8.399046	0.533948
External Surface Area	= 387.3025 m <sup>2</sup> /g
Micropore Surface Area	= 435.9544 m <sup>2</sup> /g
Micropore Volume	= 0.202339 cc/g
Correlation Coefficient	= 0.997011

## **ANEXO A.3.3 – CAP DE MADEIRA -3**

Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = ca031.dat

User ID = João  
Comments = 2h no fluxo de N2 a 300°C.

User Setup = 23

Sample ID = Carvão Ativado 03  
Sample Weight = 0.1851 g  
Sample Density = 2.2800 g/cc

Sample Cell Number = 1  
Sample Volume = 0.0812 cc

Po Type = Calculate  
Adsorbate = Nitrogen

Po = 701.29 mm Hg  
Bath Temperature = 77.40 deg K

Adsorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Adsorption Equil Time = 60 sec  
Adsorption Dwell Time = 180 sec

Desorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Desorption Equil Time = 60 sec  
Desorption Dwell Time = 180 sec

P/Po	Volume (cc/g)	TAGS		
0.042561	204.613225	A	M	
0.131667	221.786245	A	M	
0.227635	233.132802	A	M S	T
0.311494	240.356710	A		T
0.406820	248.556982	A		T
0.496423	256.363165	A		T
0.581629	264.528143	A		T
0.673504	274.682898	A		T
0.762664	285.318427	A		T
0.855794	297.360297	A		
0.945207	312.413306	A		
0.982436	322.202186	A D	J	
0.956207	319.564063	D	J	
0.861333	307.161170	D	J	
0.777313	297.655585	D	J	
0.685215	287.254553	D	J	
0.592980	276.741309	D	J	
0.502359	266.717077	D	J	
0.413895	279.277472	D	J	
0.328069	262.241156	D	J	
0.232115	247.747305	D	J	
0.149319	234.817693	D	J	
0.054402	214.196340	D	J	

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= Carvão Ativado 03	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1851 g	Sample Volume	= 0.0812 cc
Sample Density	= 2.2800 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 701.29 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Wed Feb 02 12:09:33 2005	Elapsed Time	= 192.03 Minutes.

Single Point BET (Adsorption)

P/Po	Specific Surface Area [m <sup>2</sup> /g]
0.227635	783.728498

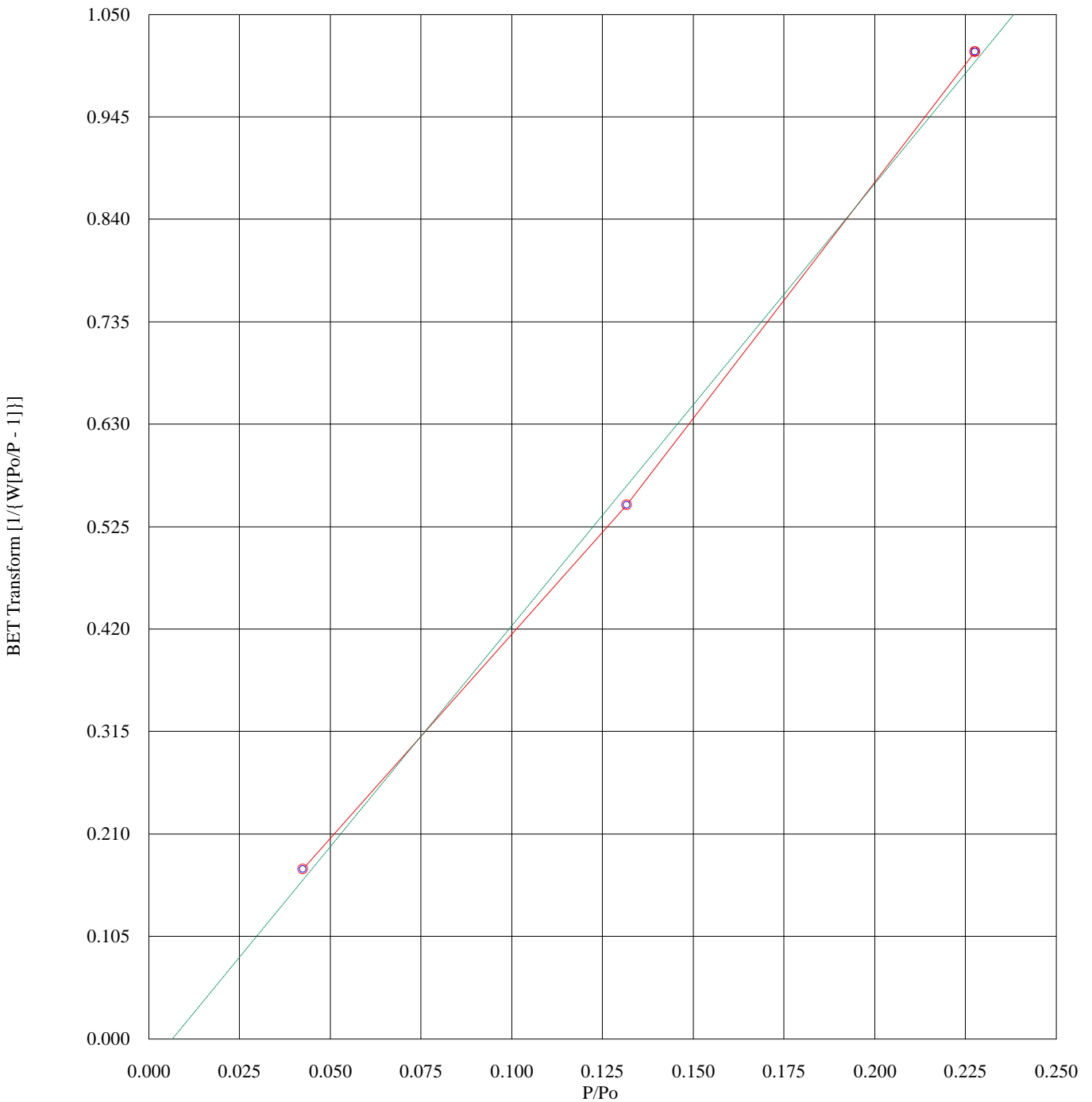
Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= Carvão Ativado 03	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1851 g	Sample Volume	= 0.0812 cc
Sample Density	= 2.2800 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 701.29 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Wed Feb 02 12:09:33 2005	Elapsed Time	= 192.03 Minutes.

Multi Point BET (Adsorption)

P/Po	BET Transform [1/{W[Po/P - 1]}]
0.042561	0.173828
0.131667	0.547029
0.227635	1.011502
Slope	= 4.530173
Intercept	= -0.029384
Correlation Coefficient	= 0.999142
BET C	= -153.173618
Total Surface Area in Cell	= 143.2224 m <sup>2</sup>
Specific Surface Area	= 773.7569 m <sup>2</sup> /g

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= Carvão Ativado 03	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1851 g	Sample Volume	= 0.0812 cc
Sample Density	= 2.2800 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 701.29 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Wed Feb 02 12:09:33 2005	Elapsed Time	= 192.03 Minutes.

Multi Point BET (Adsorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= Carvão Ativado 03	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1851 g	Sample Volume	= 0.0812 cc
Sample Density	= 2.2800 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 701.29 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Wed Feb 02 12:09:33 2005	Elapsed Time	= 192.03 Minutes.

BJH Cumulative Pore Size Distribution (Desorption)

Pore Diameter [Å]	Cumulative Pore Area [m <sup>2</sup> /g]	Cumulative Pore Volume [cc/g] x 10e-3
792.911745	488.948157	380.307830
305.857489	488.723702	375.858510
122.941754	485.816231	353.626714
81.166387	479.349030	333.749487
59.449458	467.560649	309.828981
46.535231	449.785225	283.410498
37.879075	426.502560	256.323893
31.555585	386.426049	218.372363
26.289494	313.359802	160.731159
21.788199	242.363075	114.069458
17.431822	164.787504	71.813659

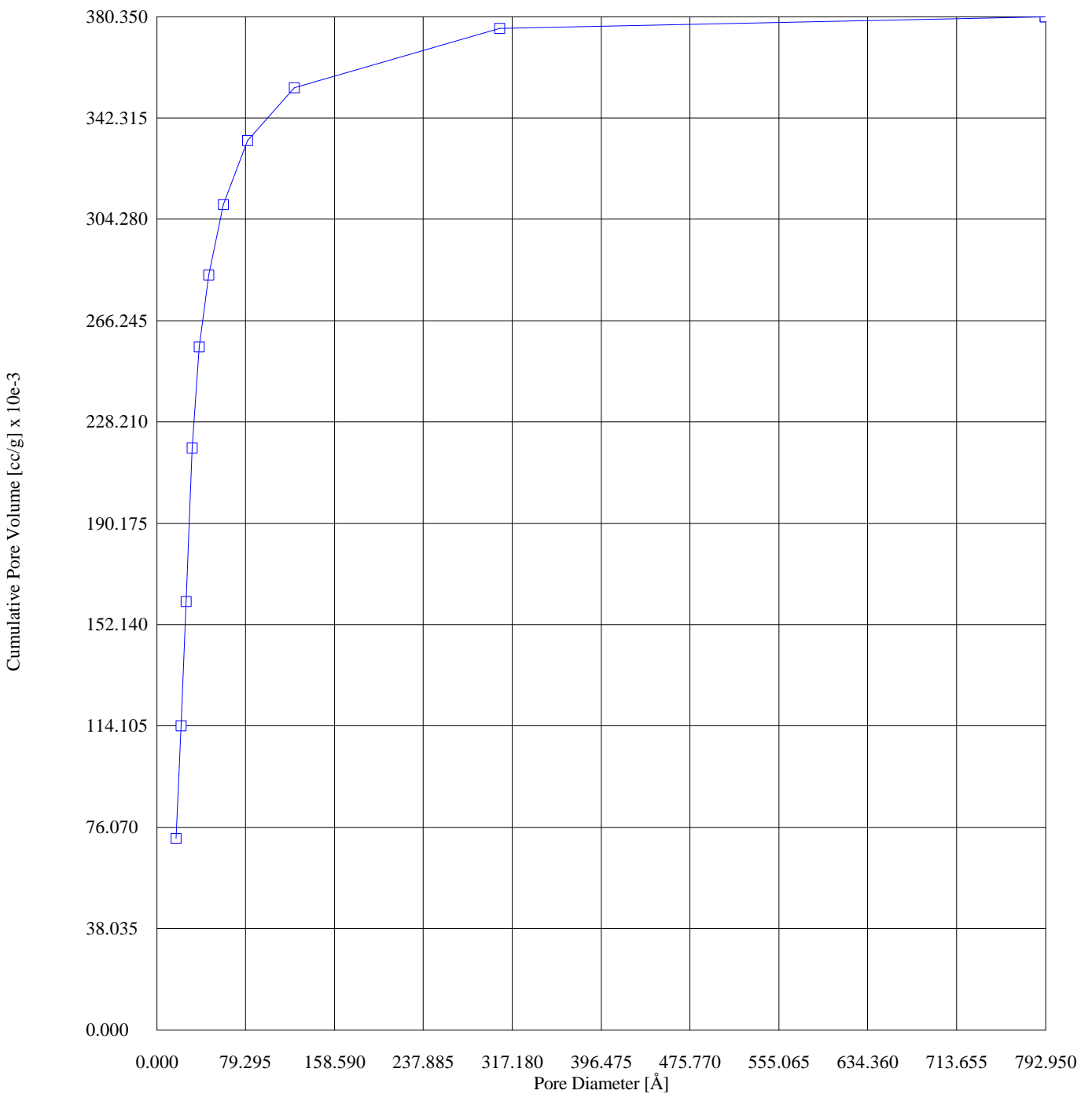
Total Pore Volume is 0.49769 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 1124.958 Å.

Average pore diameter is 25.728 Å.



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= Carvão Ativado 03	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1851 g	Sample Volume	= 0.0812 cc
Sample Density	= 2.2800 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 701.29 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Wed Feb 02 12:09:33 2005	Elapsed Time	= 192.03 Minutes.

BJH Cumulative Pore Size Distribution (Desorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= Carvão Ativado 03	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1851 g	Sample Volume	= 0.0812 cc
Sample Density	= 2.2800 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 701.29 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Wed Feb 02 12:09:33 2005	Elapsed Time	= 192.03 Minutes.

BJH dV/dD (Desorption)

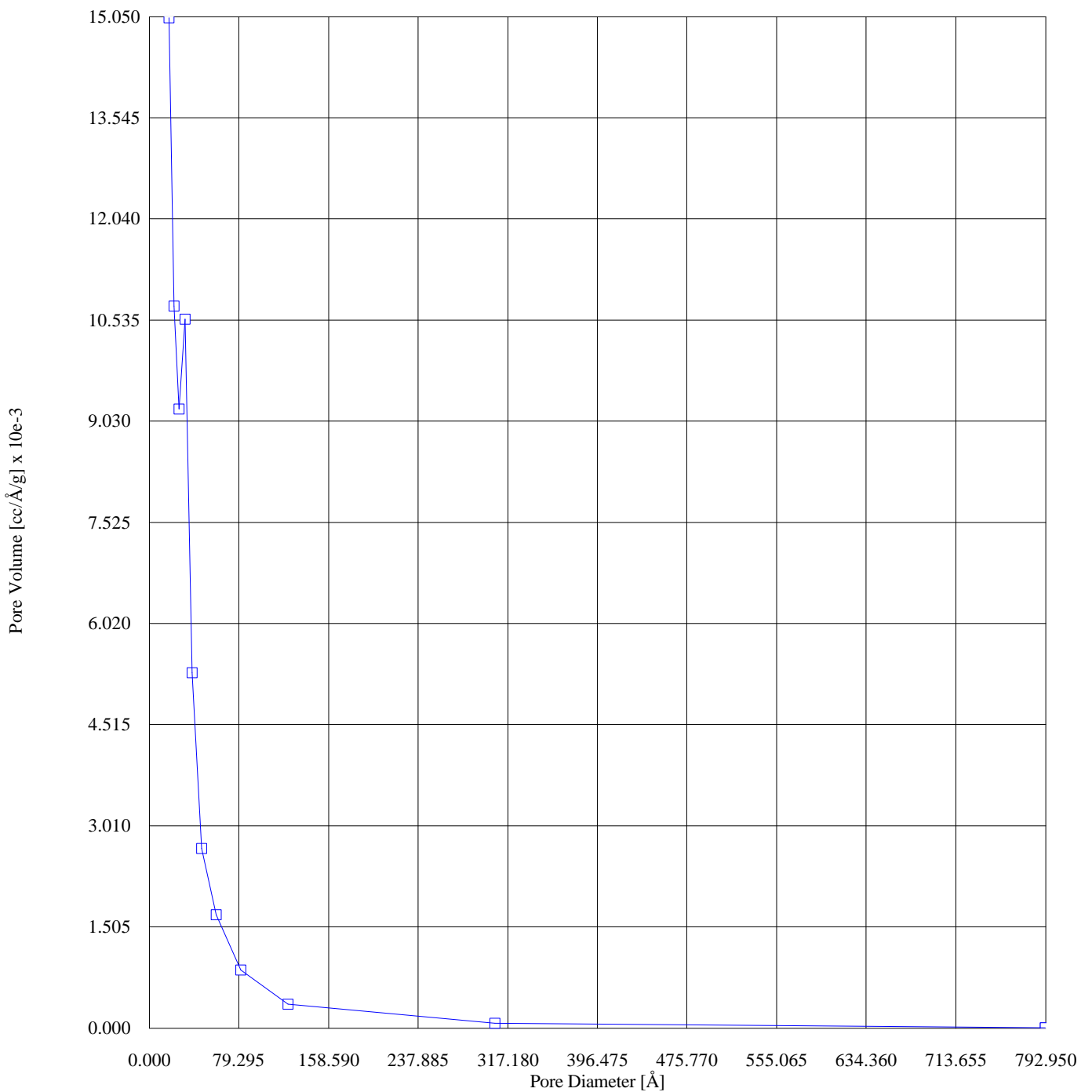
Pore Diameter [Å]	Pore Area [m <sup>2</sup> /Å/g]	Pore Volume [cc/Å/g] x 10e-3
792.911745	0.000338	0.006700
305.857489	0.009378	0.071712
122.941754	0.115866	0.356119
81.166387	0.425044	0.862481
59.449458	1.132241	1.682777
46.535231	2.298587	2.674132
37.879075	5.579209	5.283382
31.555585	13.372811	10.549672
26.289494	14.007741	9.206411
21.788199	19.718270	10.740640
17.431822	34.484783	15.028315

Total Pore Volume is 0.49769 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 1124.958 Å.

Average pore diameter is 25.728 Å.

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= Carvão Ativado 03	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1851 g	Sample Volume	= 0.0812 cc
Sample Density	= 2.2800 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 701.29 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Wed Feb 02 12:09:33 2005	Elapsed Time	= 192.03 Minutes.

BJH dV/dD (Desorption)



Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = ca031.dat

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= Carvão Ativado 03	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1851 g	Sample Volume	= 0.0812 cc
Sample Density	= 2.2800 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 701.29 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Wed Feb 02 12:09:33 2005	Elapsed Time	= 192.03 Minutes.

BJH dV/d[logD] (Desorption)

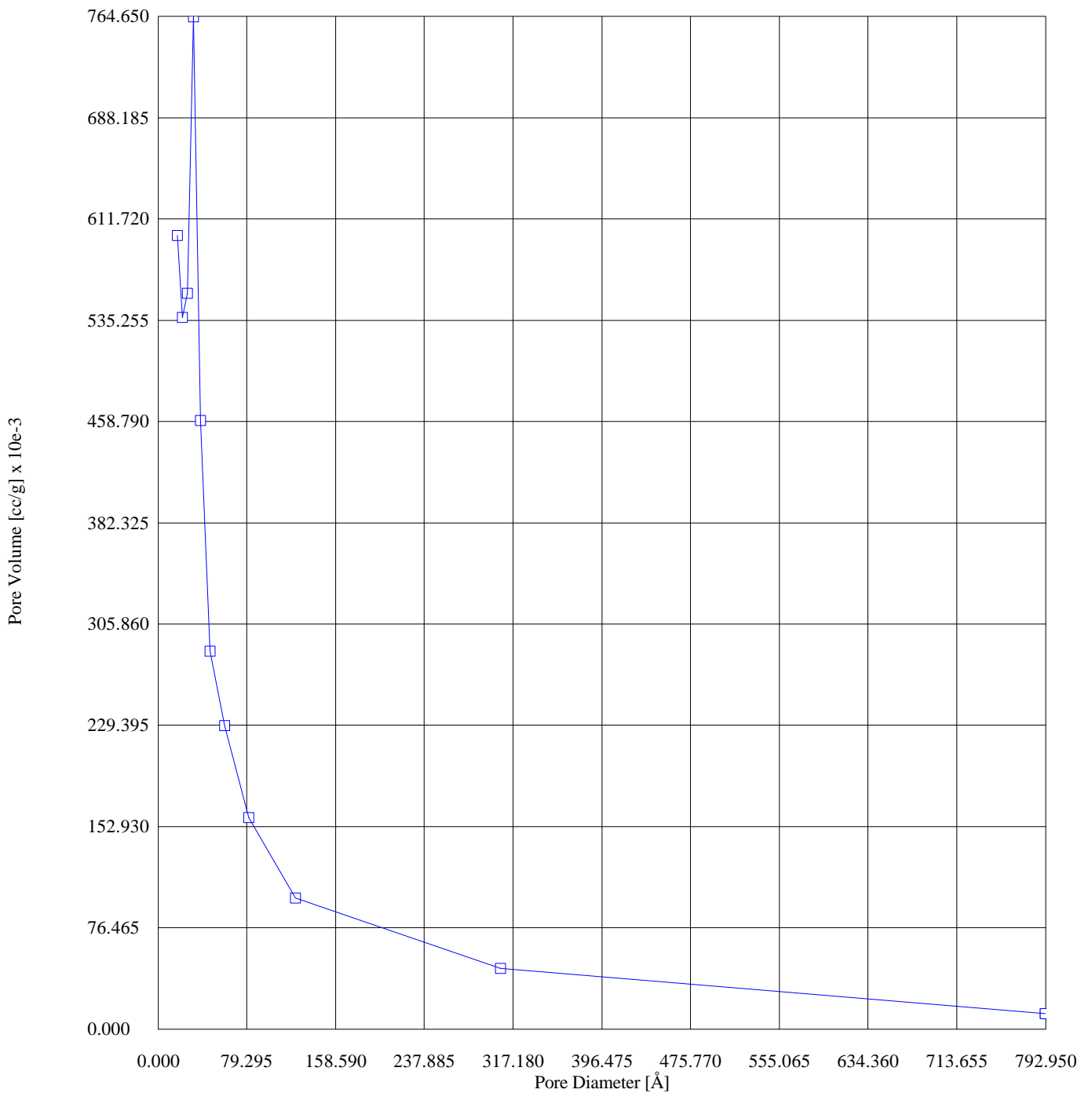
Pore Diameter [Å]	Pore Area [m <sup>2</sup> /g]	Pore Volume [cc/g] x 10e-3
792.911745	0.579145	11.480262
305.857489	5.994428	45.836020
122.941754	32.228444	99.055537
81.166387	78.658425	159.610505
59.449458	154.084587	229.006128
46.535231	245.321122	285.401874
37.879075	485.155638	459.431174
31.555585	969.228302	764.614160
26.289494	845.308831	555.568531
21.788199	986.555832	537.381866
17.431822	1375.447214	599.413760

Total Pore Volume is 0.49769 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 1124.958 Å.

Average pore diameter is 25.728 Å.

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= Carvão Ativado 03	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1851 g	Sample Volume	= 0.0812 cc
Sample Density	= 2.2800 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 701.29 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Wed Feb 02 12:09:33 2005	Elapsed Time	= 192.03 Minutes.

BJH dV/d[logD] (Desorption)



Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = ca031.dat

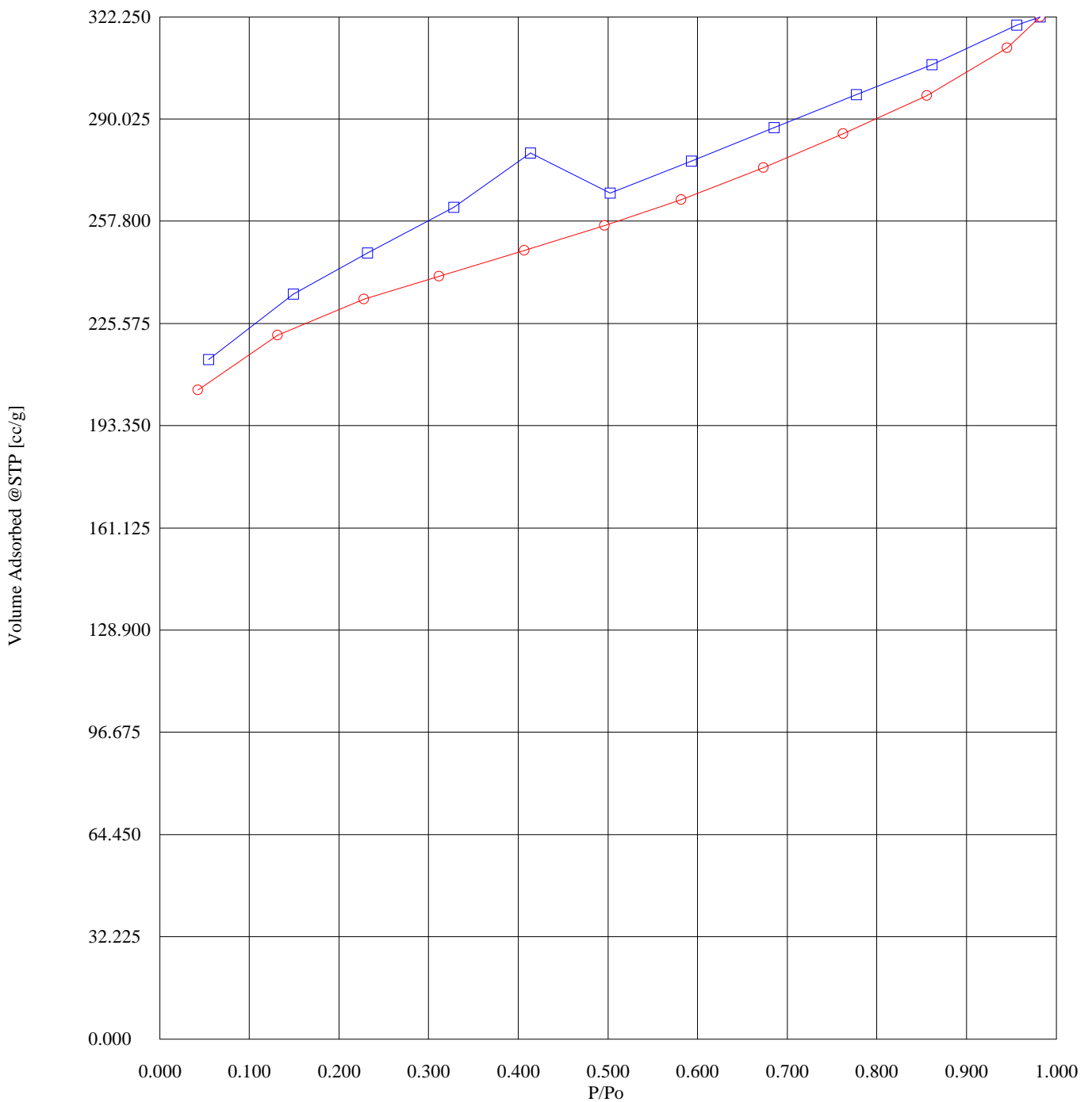
Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= Carvão Ativado 03	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1851 g	Sample Volume	= 0.0812 cc
Sample Density	= 2.2800 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 701.29 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Wed Feb 02 12:09:33 2005	Elapsed Time	= 192.03 Minutes.

Isotherm (Adsorption/Desorption)

P/Po	Volume Adsorbed @STP [cc/g]
0.042561	204.613225
0.131667	221.786245
0.227635	233.132802
0.311494	240.356710
0.406820	248.556982
0.496423	256.363165
0.581629	264.528143
0.673504	274.682898
0.762664	285.318427
0.855794	297.360297
0.945207	312.413306
0.982436	322.202186
0.956207	319.564063
0.861333	307.161170
0.777313	297.655585
0.685215	287.254553
0.592980	276.741309
0.502359	266.717077
0.413895	279.277472
0.328069	262.241156
0.232115	247.747305
0.149319	234.817693
0.054402	214.196340

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= Carvão Ativado 03	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1851 g	Sample Volume	= 0.0812 cc
Sample Density	= 2.2800 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 701.29 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Wed Feb 02 12:09:33 2005	Elapsed Time	= 192.03 Minutes.

Isotherm (Adsorption/Desorption)



Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = ca031.dat

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= Carvão Ativado 03	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.1851 g	Sample Volume	= 0.0812 cc
Sample Density	= 2.2800 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 701.29 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Wed Feb 02 12:09:33 2005	Elapsed Time	= 192.03 Minutes.

t Method -- Carbon Black (Adsorption)

Statistical Thickness [Å]	Adsorbed Volume [cc/g]
4.493845	0.360613
5.074521	0.371787
5.749629	0.384471
6.398795	0.396546
7.029203	0.409176
7.723278	0.424883
8.411044	0.441334
External Surface Area	= 203.7144 m <sup>2</sup> /g
Micropore Surface Area	= 570.0425 m <sup>2</sup> /g
Micropore Volume	= 0.267790 cc/g
Correlation Coefficient	= 0.998704



## **ANEXO A.3.4 – CAP DE OSSO**

Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = caosso.dat

User ID = João  
Comments = 2h no fluxo de N2 a 300°C.

User Setup = 23

Sample ID = C. Ativado de Osso  
Sample Weight = 0.4079 g  
Sample Density = 2.7700 g/cc

Sample Cell Number = 1  
Sample Volume = 0.1473 cc

Po Type = Calculate  
Adsorbate = Nitrogen

Po = 699.31 mm Hg  
Bath Temperature = 77.40 deg K

Adsorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Adsorption Equil Time = 60 sec  
Adsorption Dwell Time = 180 sec

Desorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Desorption Equil Time = 60 sec  
Desorption Dwell Time = 180 sec

P/Po	Volume (cc/g)	TAGS		
0.045796	26.179543	A	M	
0.134257	31.185284	A	M	
0.226569	35.425488	A	M S	T
0.315552	39.673012	A		T
0.402770	44.000176	A		T
0.494361	49.084176	A		T
0.581818	57.914086	A		T
0.671222	66.736619	A		T
0.761709	79.528176	A		T
0.850201	102.129648	A		
0.940135	152.124758	A		
0.979909	186.185382	A D	J	
0.957417	182.809725	D	J	
0.868396	144.156466	D	J	
0.779467	105.246141	D	J	
0.689119	82.178888	D	J	
0.597934	68.359857	D	J	
0.509596	58.832600	D	J	
0.416171	47.477303	D	J	
0.325217	41.435177	D	J	
0.235728	36.629422	D	J	
0.143953	31.921954	D	J	
0.057379	26.911400	D	J	

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado de Osso	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.4079 g	Sample Volume	= 0.1473 cc
Sample Density	= 2.7700 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 699.31 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Mon Jan 31 12:27:46 2005	Elapsed Time	= 280.25 Minutes.

Single Point BET (Adsorption)

P/Po	Specific Surface Area [m <sup>2</sup> /g]
0.226569	119.255135

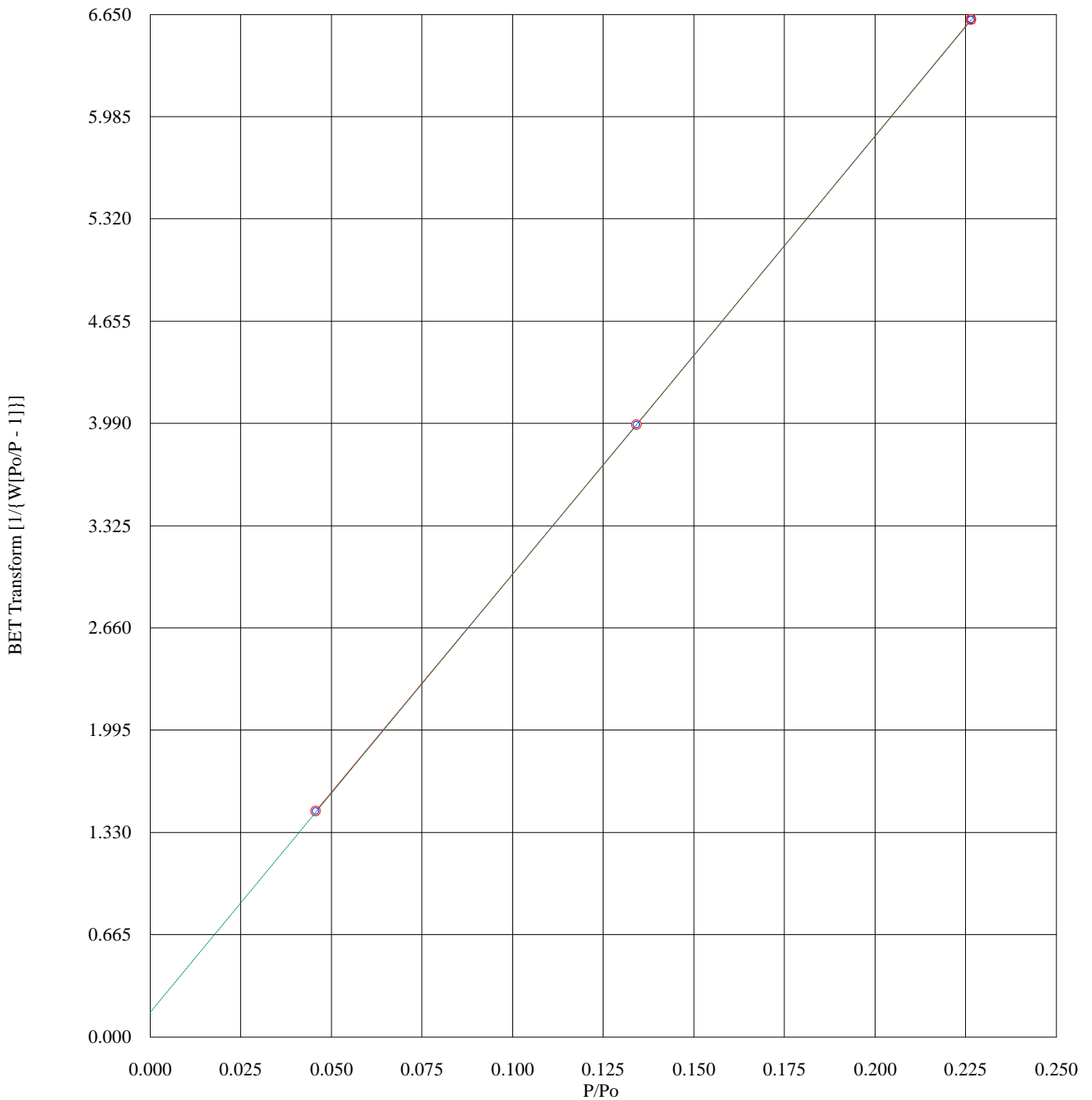
Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado de Osso	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.4079 g	Sample Volume	= 0.1473 cc
Sample Density	= 2.7700 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 699.31 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Mon Jan 31 12:27:46 2005	Elapsed Time	= 280.25 Minutes.

Multi Point BET (Adsorption)

P/Po	BET Transform [1/{W[Po/P - 1]}]
0.045796	1.466807
0.134257	3.978789
0.226569	6.616322
Slope	= 28.486631
Intercept	= 0.159549
Correlation Coefficient	= 0.999998
BET C	= 179.544424
Total Surface Area in Cell	= 49.5884 m <sup>2</sup>
Specific Surface Area	= 121.5700 m <sup>2</sup> /g

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado de Osso	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.4079 g	Sample Volume	= 0.1473 cc
Sample Density	= 2.7700 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 699.31 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Mon Jan 31 12:27:46 2005	Elapsed Time	= 280.25 Minutes.

Multi Point BET (Adsorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado de Osso	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.4079 g	Sample Volume	= 0.1473 cc
Sample Density	= 2.7700 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 699.31 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Mon Jan 31 12:27:46 2005	Elapsed Time	= 280.25 Minutes.

BJH Cumulative Pore Size Distribution (Desorption)

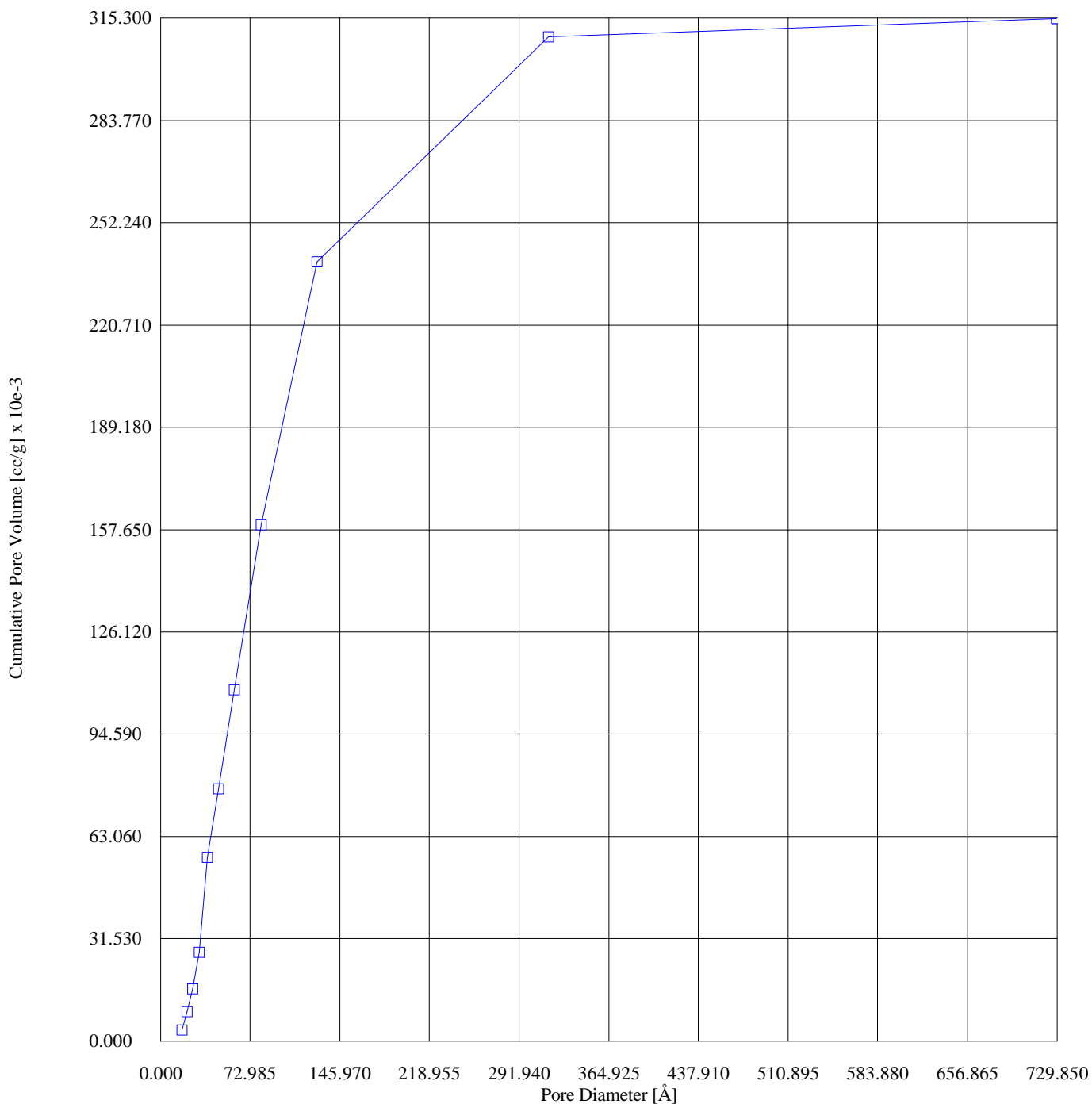
Pore Diameter [Å]	Cumulative Pore Area [m <sup>2</sup> /g]	Cumulative Pore Volume [cc/g] x 10e-3
729.809815	171.208546	315.291169
316.147151	170.893774	309.548072
127.319699	162.117068	240.179812
82.051100	136.638058	159.080312
60.213561	111.893461	108.322278
47.213962	91.583397	77.748745
38.302598	73.710569	56.652570
31.554674	43.134541	27.374037
26.296538	28.770875	16.043018
21.751238	17.952222	8.930690
17.393362	7.631117	3.318270

Total Pore Volume is 0.28759 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 986.018 Å.

Average pore diameter is 94.625 Å.

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado de Osso	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.4079 g	Sample Volume	= 0.1473 cc
Sample Density	= 2.7700 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 699.31 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Mon Jan 31 12:27:46 2005	Elapsed Time	= 280.25 Minutes.

BJH Cumulative Pore Size Distribution (Desorption)



Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = caosso.dat

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado de Osso	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.4079 g	Sample Volume	= 0.1473 cc
Sample Density	= 2.7700 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 699.31 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Mon Jan 31 12:27:46 2005	Elapsed Time	= 280.25 Minutes.

BJH dV/dD (Desorption)

Pore Diameter [Å]	Pore Area [m <sup>2</sup> /Å/g]	Pore Volume [cc/Å/g] x 10e-3
729.809815	0.000614	0.011208
316.147151	0.027871	0.220280
127.319699	0.406071	1.292521
82.051100	0.890350	1.826355
60.213561	1.278722	1.924910
47.213962	1.766770	2.085405
38.302598	3.967499	3.799138
31.554674	2.481104	1.957261
26.296538	2.288670	1.504602
21.751238	2.365299	1.286204
17.393362	1.753394	0.762435

Total Pore Volume is 0.28759 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 986.018 Å.

Average pore diameter is 94.625 Å.



Instrument = NOVA-1200 Ver. 5.25  
User ID = João  
Comments = 2h no fluxo de N2 a 300°C.

User Setup = 23

Sample ID = C. Ativado de Osso  
Sample Weight = 0.4079 g  
Sample Density = 2.7700 g/cc

Sample Cell Number = 1  
Sample Volume = 0.1473 cc

Po Type = Calculate  
Adsorbate = Nitrogen

Po = 699.31 mm Hg  
Bath Temperature = 77.40 deg K

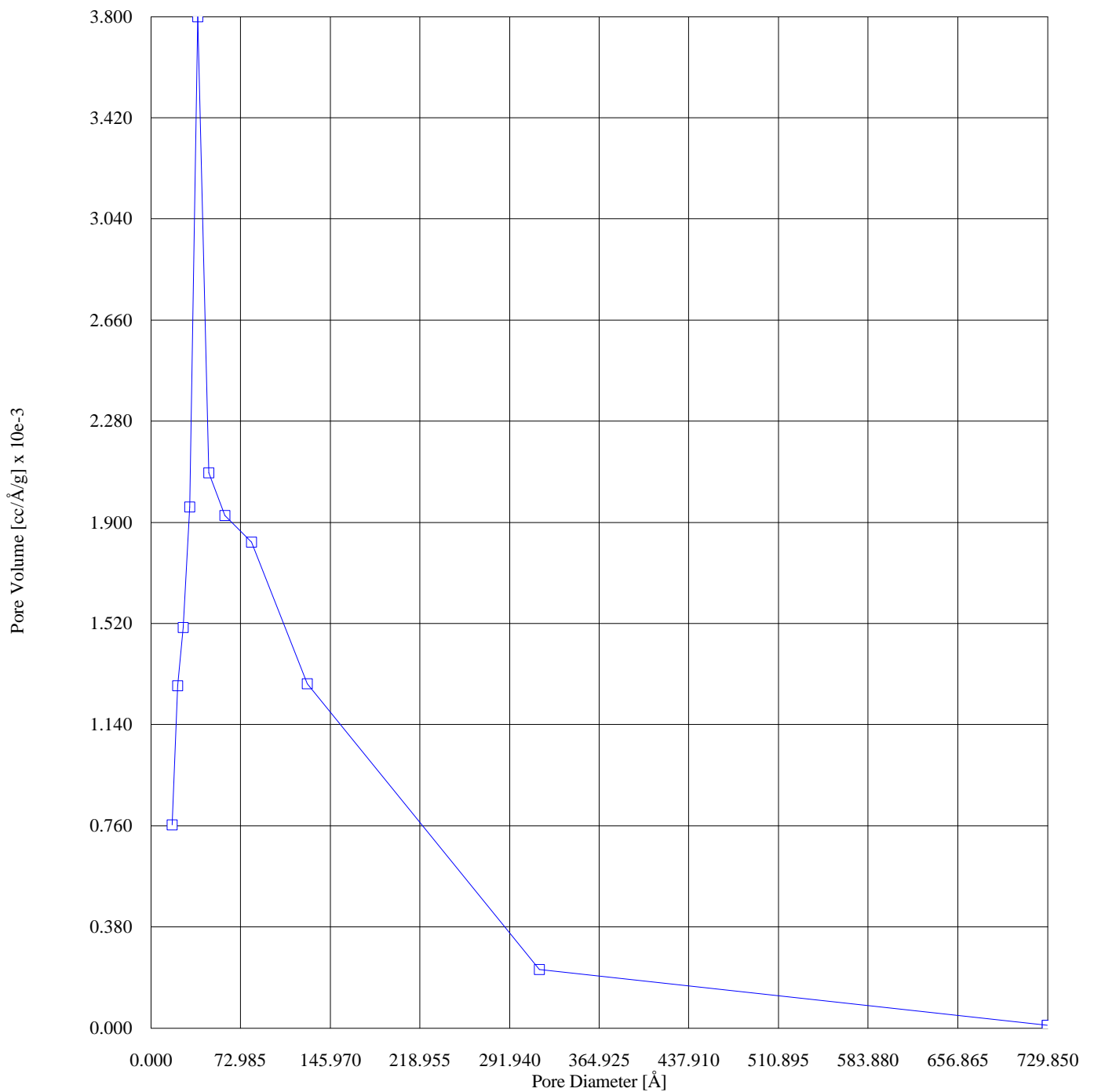
Adsorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Adsorption Equil Time = 60 sec  
Adsorption Dwell Time = 180 sec

Desorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Desorption Equil Time = 60 sec  
Desorption Dwell Time = 180 sec

Analysis Start Time = Mon Jan 31 12:27:46 2005

Elapsed Time = 280.25 Minutes.

BJH dV/dD (Desorption)



Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = caosso.dat

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado de Osso	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.4079 g	Sample Volume	= 0.1473 cc
Sample Density	= 2.7700 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 699.31 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Mon Jan 31 12:27:46 2005	Elapsed Time	= 280.25 Minutes.

BJH dV/d[logD] (Desorption)

Pore Diameter [Å]	Pore Area [m <sup>2</sup> /g]	Pore Volume [cc/g] x 10e-3
729.809815	0.988385	18.033334
316.147151	18.482813	146.082220
127.319699	116.595907	371.123893
82.051100	166.592818	341.728100
60.213561	176.257972	265.328004
47.213962	191.335875	225.843116
38.302598	348.729877	333.931505
31.554674	179.763603	141.809546
26.296538	138.205021	90.857840
21.751238	118.065425	64.201728
17.393362	69.854948	30.375310

Total Pore Volume is 0.28759 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 986.018 Å.

Average pore diameter is 94.625 Å.

Instrument = NOVA-1200 Ver. 5.25  
User ID = João  
Comments = 2h no fluxo de N2 a 300°C.

User Setup = 23

Sample ID = C. Ativado de Osso  
Sample Weight = 0.4079 g  
Sample Density = 2.7700 g/cc

Sample Cell Number = 1  
Sample Volume = 0.1473 cc

Po Type = Calculate  
Adsorbate = Nitrogen

Po = 699.31 mm Hg  
Bath Temperature = 77.40 deg K

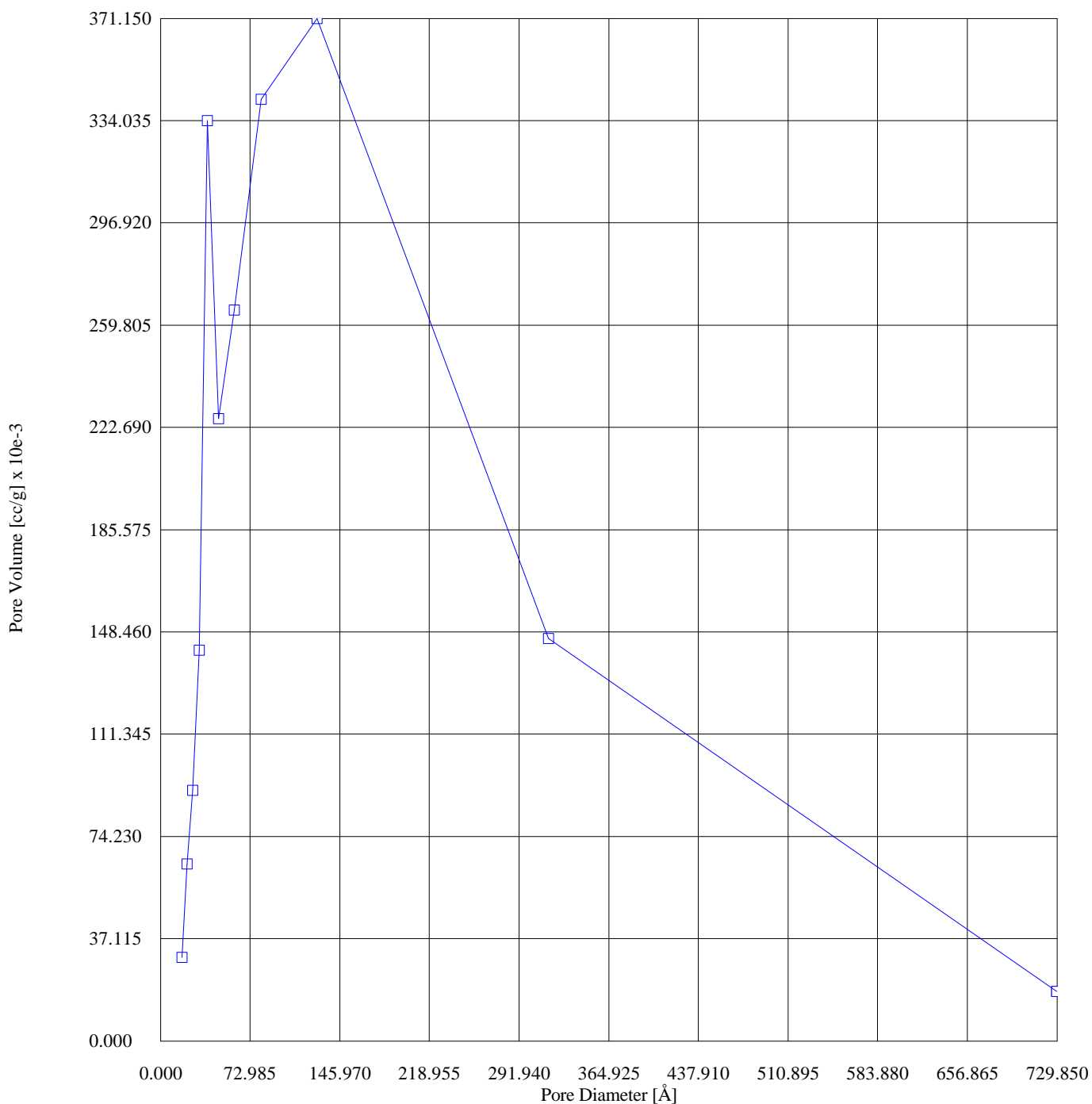
Adsorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Adsorption Equil Time = 60 sec  
Adsorption Dwell Time = 180 sec

Desorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Desorption Equil Time = 60 sec  
Desorption Dwell Time = 180 sec

Analysis Start Time = Mon Jan 31 12:27:46 2005

Elapsed Time = 280.25 Minutes.

BJH dV/d[logD] (Desorption)



Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = caosso.dat

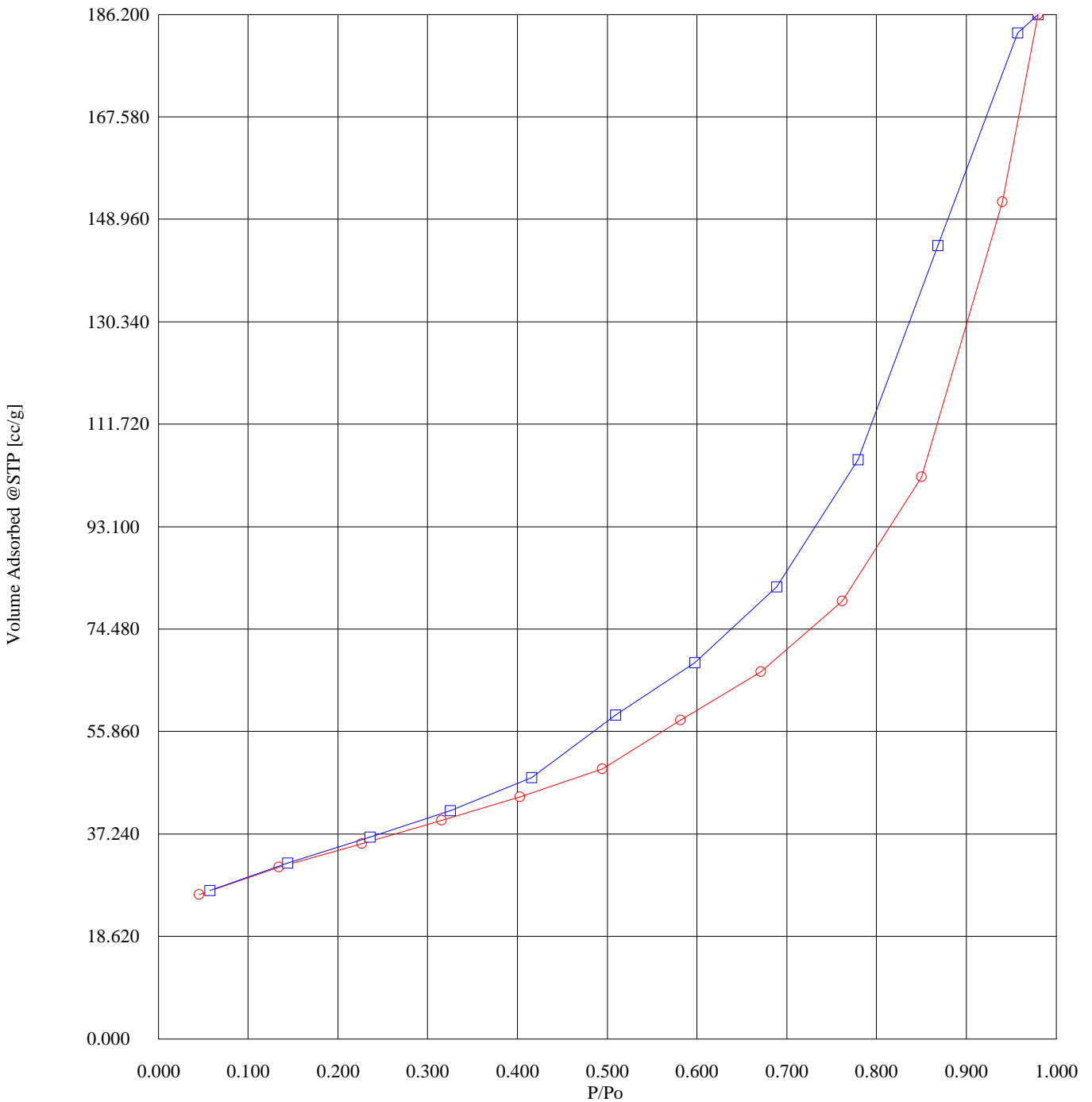
Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado de Osso	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.4079 g	Sample Volume	= 0.1473 cc
Sample Density	= 2.7700 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 699.31 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Mon Jan 31 12:27:46 2005	Elapsed Time	= 280.25 Minutes.

Isotherm (Adsorption/Desorption)

P/Po	Volume Adsorbed @STP [cc/g]
0.045796	26.179543
0.134257	31.185284
0.226569	35.425488
0.315552	39.673012
0.402770	44.000176
0.494361	49.084176
0.581818	57.914086
0.671222	66.736619
0.761709	79.528176
0.850201	102.129648
0.940135	152.124758
0.979909	186.185382
0.957417	182.809725
0.868396	144.156466
0.779467	105.246141
0.689119	82.178888
0.597934	68.359857
0.509596	58.832600
0.416171	47.477303
0.325217	41.435177
0.235728	36.629422
0.143953	31.921954
0.057379	26.911400

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado de Osso	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.4079 g	Sample Volume	= 0.1473 cc
Sample Density	= 2.7700 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 699.31 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Mon Jan 31 12:27:46 2005	Elapsed Time	= 280.25 Minutes.

Isotherm (Adsorption/Desorption)



Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = caosso.dat

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado de Osso	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.4079 g	Sample Volume	= 0.1473 cc
Sample Density	= 2.7700 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 699.31 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Mon Jan 31 12:27:46 2005	Elapsed Time	= 280.25 Minutes.

t Method -- Carbon Black (Adsorption)

Statistical Thickness [Å]	Adsorbed Volume [cc/g]
4.486544	0.054797
5.102933	0.061367
5.720625	0.068060
6.383696	0.075924
7.030614	0.089582
7.705860	0.103229
8.403598	0.123015
External Surface Area	= 170.3112 m <sup>2</sup> /g
Micropore Surface Area	= 0.0000 m <sup>2</sup> /g
Micropore Volume	= 0.000000 cc/g
Correlation Coefficient	= 0.981915

## **ANEXO A.3.5 – CAP MINERAL**

Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = caminer.dat

User ID = João  
Comments = 2h no fluxo de N2 a 300°C.

User Setup = 23

Sample ID = C. Ativado Mineral  
Sample Weight = 0.9440 g  
Sample Density = 1.7000 g/cc

Sample Cell Number = 1  
Sample Volume = 0.5553 cc

Po Type = Calculate  
Adsorbate = Nitrogen

Po = 702.84 mm Hg  
Bath Temperature = 77.40 deg K

Adsorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Adsorption Equil Time = 60 sec  
Adsorption Dwell Time = 180 sec

Desorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Desorption Equil Time = 60 sec  
Desorption Dwell Time = 180 sec

P/Po	Volume (cc/g)	TAGS		
0.040818	0.480020	A	M	
0.136361	0.637808	A	M	
0.230705	0.720076	A	M S	T
0.324271	0.805896	A		T
0.417447	0.892667	A		T
0.506502	0.987783	A		T
0.596359	1.118512	A		T
0.684620	1.300176	A		T
0.770309	1.565528	A		T
0.854739	1.946037	A		
0.948541	2.660488	A		
0.984108	3.069648	A D	J	
0.949236	2.824365	D	J	
0.869362	2.346942	D	J	
0.769683	1.821694	D	J	
0.681536	1.477946	D	J	
0.590596	1.242602	D	J	
0.500320	1.014789	D	J	
0.406472	0.916861	D	J	
0.315219	0.809809	D	J	
0.224240	0.725546	D	J	
0.134132	0.634939	D	J	
0.038124	0.473885	D	J	



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado Mineral	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.9440 g	Sample Volume	= 0.5553 cc
Sample Density	= 1.7000 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 702.84 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Feb 03 12:21:41 2005	Elapsed Time	= 76.48 Minutes.

Single Point BET (Adsorption)

P/Po	Specific Surface Area [m <sup>2</sup> /g]
0.230705	2.411076

Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = caminer.dat

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado Mineral	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.9440 g	Sample Volume	= 0.5553 cc
Sample Density	= 1.7000 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 702.84 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Feb 03 12:21:41 2005	Elapsed Time	= 76.48 Minutes.

Multi Point BET (Adsorption)

P/Po	BET Transform [1/{W[Po/P - 1]}]
0.040818	70.932656
0.136361	198.070711
0.230705	333.226339
Slope	= 1381.208509
Intercept	= 12.952353
Correlation Coefficient	= 0.999773
BET C	= 107.637654
Total Surface Area in Cell	= 2.3580 m <sup>2</sup>
Specific Surface Area	= 2.4979 m <sup>2</sup> /g

Instrument = NOVA-1200 Ver. 5.25  
User ID = João  
Comments = 2h no fluxo de N2 a 300°C.

User Setup = 23

Sample ID = C. Ativado Mineral  
Sample Weight = 0.9440 g  
Sample Density = 1.7000 g/cc

Sample Cell Number = 1  
Sample Volume = 0.5553 cc

Po Type = Calculate  
Adsorbate = Nitrogen

Po = 702.84 mm Hg  
Bath Temperature = 77.40 deg K

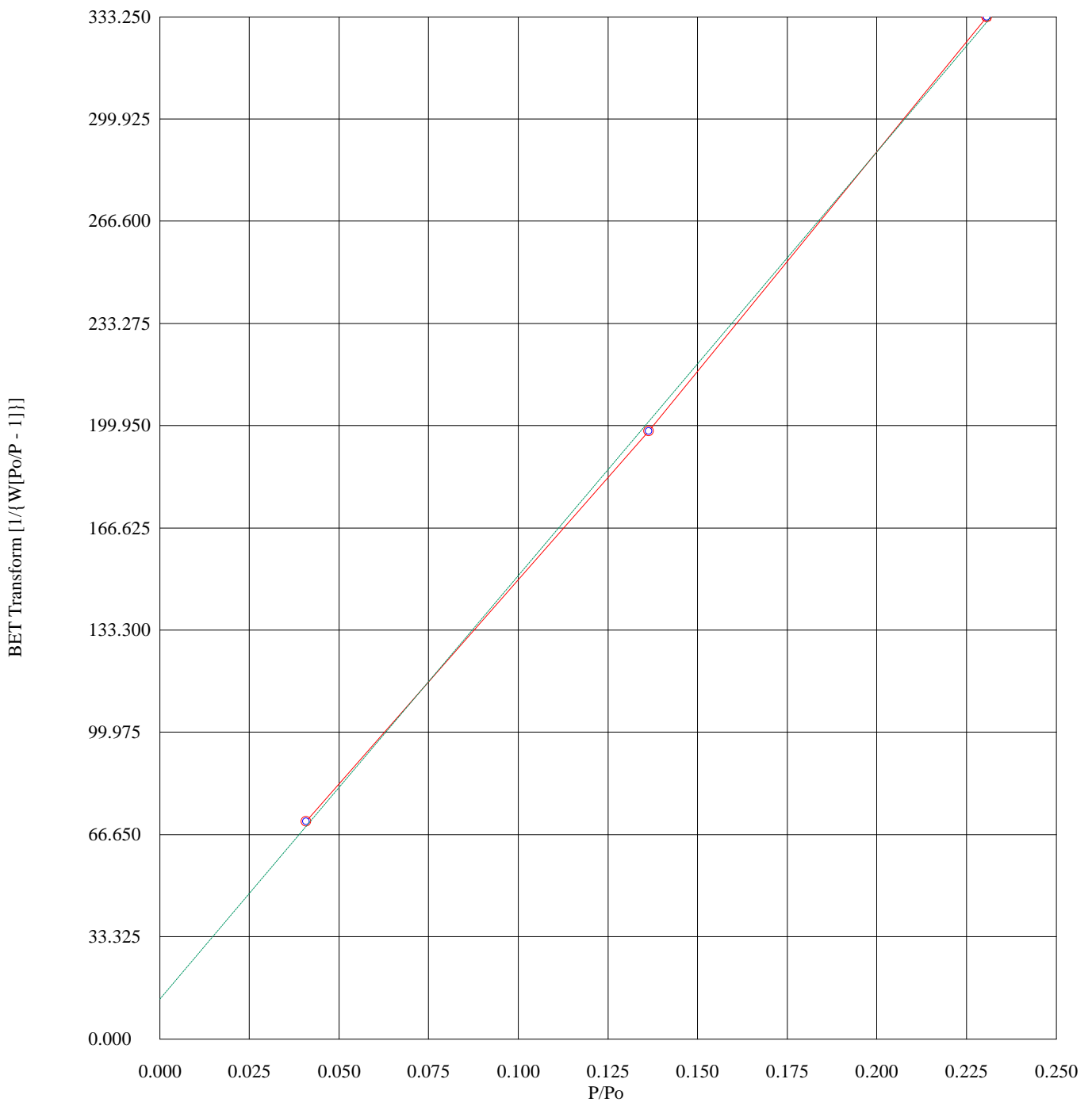
Adsorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Adsorption Equil Time = 60 sec  
Adsorption Dwell Time = 180 sec

Desorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Desorption Equil Time = 60 sec  
Desorption Dwell Time = 180 sec

Analysis Start Time = Thu Feb 03 12:21:41 2005

Elapsed Time = 76.48 Minutes.

Multi Point BET (Adsorption)



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado Mineral	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.9440 g	Sample Volume	= 0.5553 cc
Sample Density	= 1.7000 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 702.84 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Feb 03 12:21:41 2005	Elapsed Time	= 76.48 Minutes.

BJH Cumulative Pore Size Distribution (Desorption)

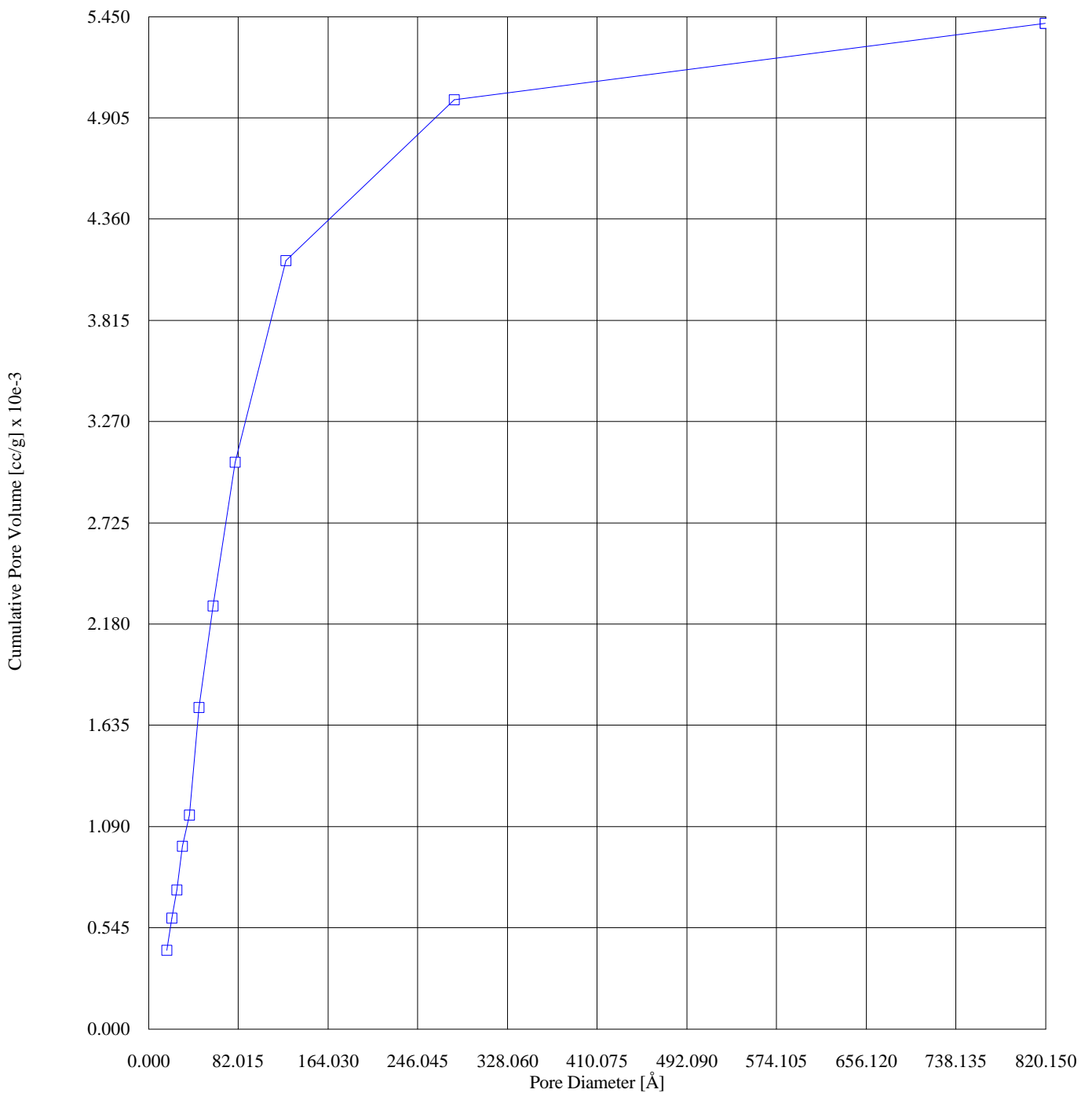
Pore Diameter [Å]	Cumulative Pore Area [m <sup>2</sup> /g]	Cumulative Pore Volume [cc/g] x 10e-3
820.140062	3.819614	5.413894
279.538983	3.799583	5.003198
125.880405	3.675458	4.135756
79.220829	3.330988	3.051702
58.896055	2.939245	2.275848
46.281159	2.568703	1.730262
37.523746	2.068684	1.151725
30.930342	1.889207	0.983359
25.732171	1.583764	0.747172
21.238943	1.350400	0.597048
16.558049	1.025260	0.424408

Total Pore Volume is 0.00474 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 1241.032 Å.

Average pore diameter is 75.927 Å.

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado Mineral	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.9440 g	Sample Volume	= 0.5553 cc
Sample Density	= 1.7000 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 702.84 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Feb 03 12:21:41 2005	Elapsed Time	= 76.48 Minutes.

BJH Cumulative Pore Size Distribution (Desorption)



Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = caminer.dat

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado Mineral	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.9440 g	Sample Volume	= 0.5553 cc
Sample Density	= 1.7000 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 702.84 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Feb 03 12:21:41 2005	Elapsed Time	= 76.48 Minutes.

BJH dV/dD (Desorption)

Pore Diameter [Å]	Pore Area [m <sup>2</sup> /Å/g]	Pore Volume [cc/Å/g] x 10e-3
820.140062	0.000024	0.000488
279.538983	0.000518	0.003623
125.880405	0.005073	0.015966
79.220829	0.015410	0.030521
58.896055	0.024331	0.035826
46.281159	0.049998	0.057849
37.523746	0.023886	0.022407
30.930342	0.053843	0.041634
25.732171	0.049405	0.031783
21.238943	0.076270	0.040498
16.558049	0.201079	0.083237

Total Pore Volume is 0.00474 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 1241.032 Å.

Average pore diameter is 75.927 Å.

Instrument = NOVA-1200 Ver. 5.25  
User ID = João  
Comments = 2h no fluxo de N2 a 300°C.

User Setup = 23

Sample ID = C. Ativado Mineral  
Sample Weight = 0.9440 g  
Sample Density = 1.7000 g/cc

Sample Cell Number = 1  
Sample Volume = 0.5553 cc

Po Type = Calculate  
Adsorbate = Nitrogen

Po = 702.84 mm Hg  
Bath Temperature = 77.40 deg K

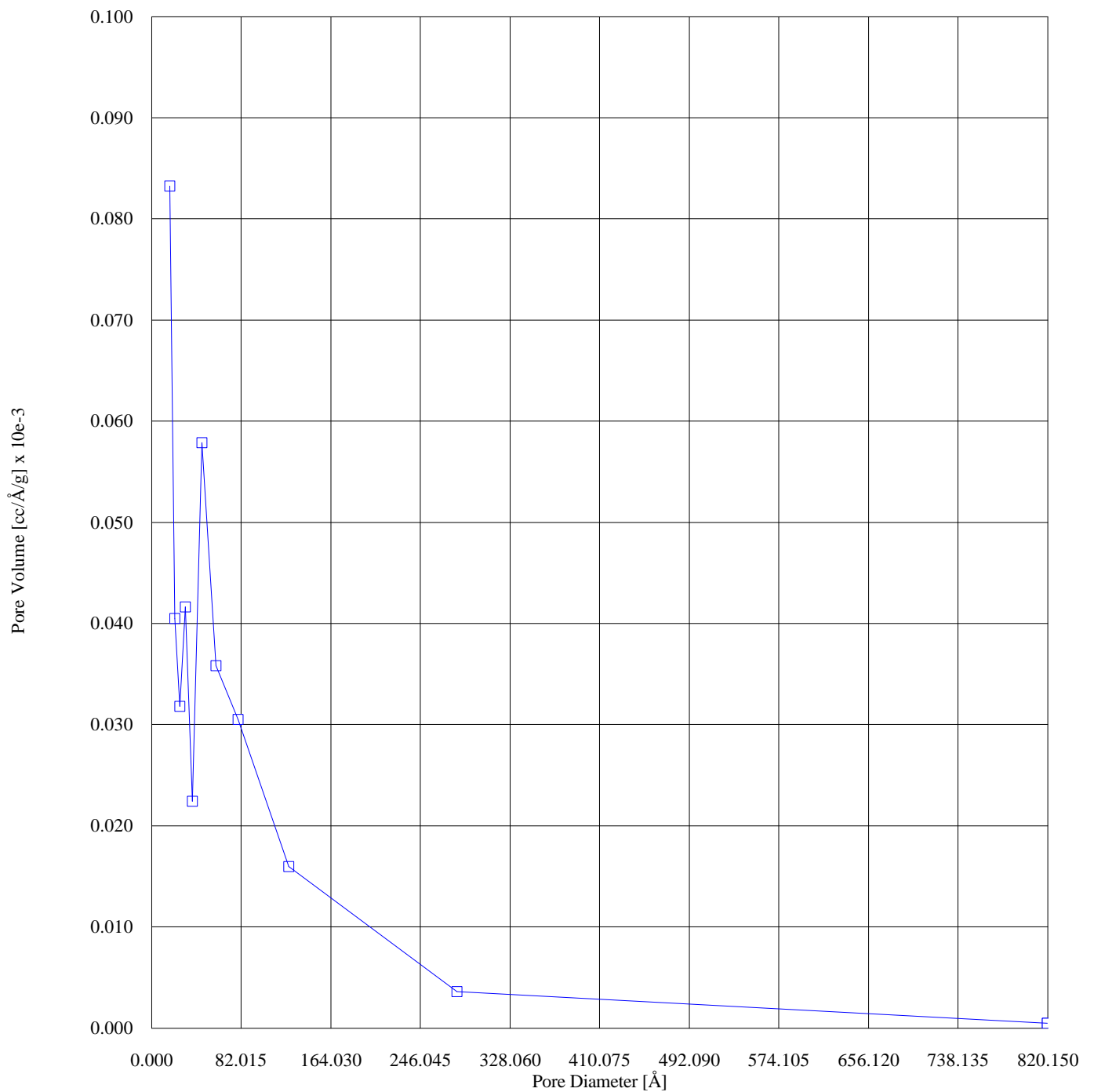
Adsorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Adsorption Equil Time = 60 sec  
Adsorption Dwell Time = 180 sec

Desorption Tolerance = 0.1000 mm Hg  
Desorption Equil Time = 60 sec  
Desorption Dwell Time = 180 sec

Analysis Start Time = Thu Feb 03 12:21:41 2005

Elapsed Time = 76.48 Minutes.

BJH dV/dD (Desorption)



Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = caminer.dat

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado Mineral	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.9440 g	Sample Volume	= 0.5553 cc
Sample Density	= 1.7000 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 702.84 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Feb 03 12:21:41 2005	Elapsed Time	= 76.48 Minutes.

BJH dV/d[logD] (Desorption)

Pore Diameter [Å]	Pore Area [m <sup>2</sup> /g]	Pore Volume [cc/g] x 10e-3
820.140062	0.040668	0.833832
279.538983	0.312196	2.181776
125.880405	1.434132	4.513228
79.220829	2.786766	5.519247
58.896055	3.281201	4.831245
46.281159	5.307252	6.140645
37.523746	2.056868	1.929534
30.930342	3.823889	2.956855
25.732171	2.919048	1.877836
21.238943	3.717412	1.973847
16.558049	7.605416	3.148271

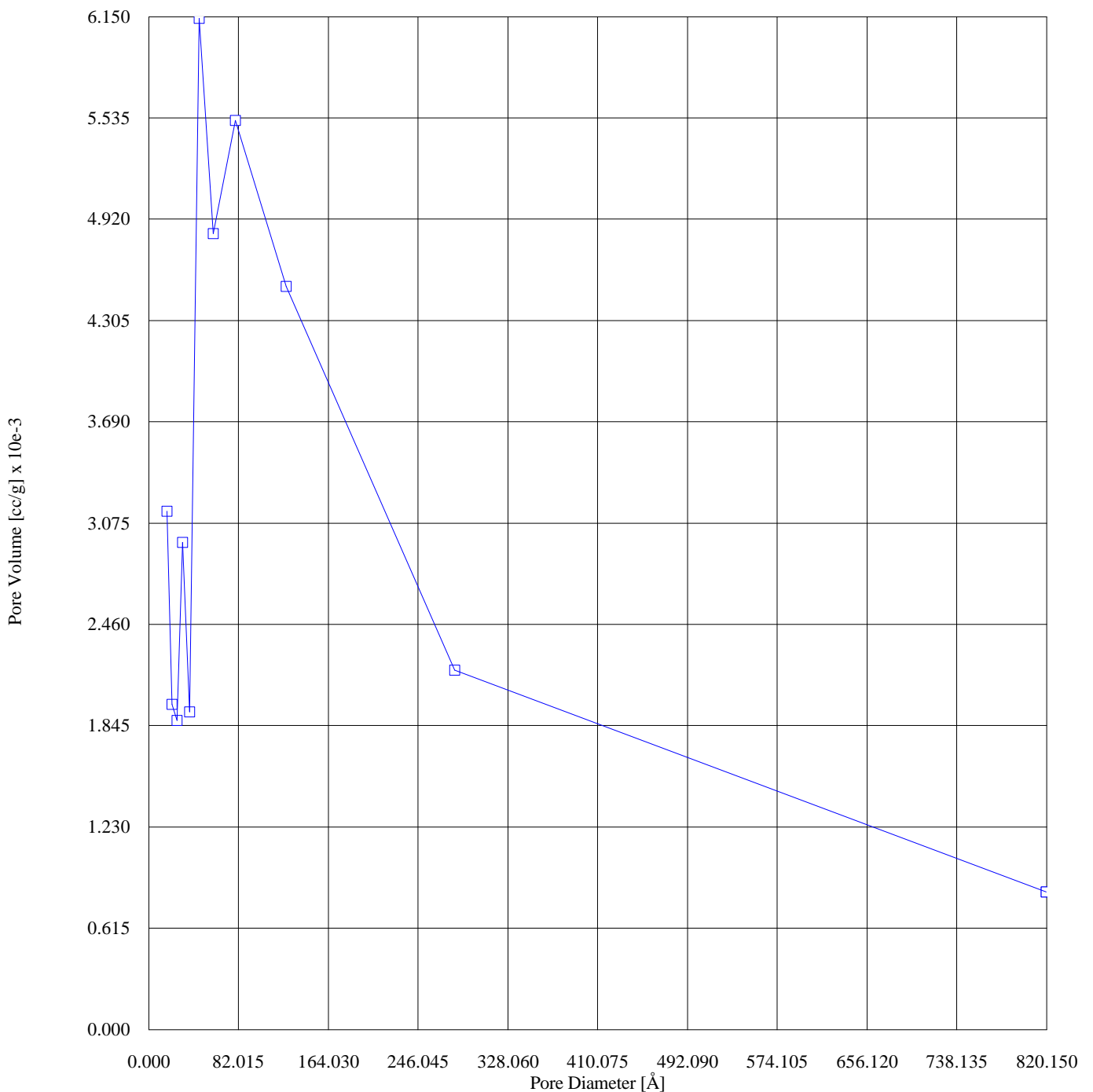
Total Pore Volume is 0.00474 cc/g for  
all pores of diameter smaller than 1241.032 Å.

Average pore diameter is 75.927 Å.



Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado Mineral	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.9440 g	Sample Volume	= 0.5553 cc
Sample Density	= 1.7000 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 702.84 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Feb 03 12:21:41 2005	Elapsed Time	= 76.48 Minutes.

BJH dV/d[logD] (Desorption)



Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = caminer.dat

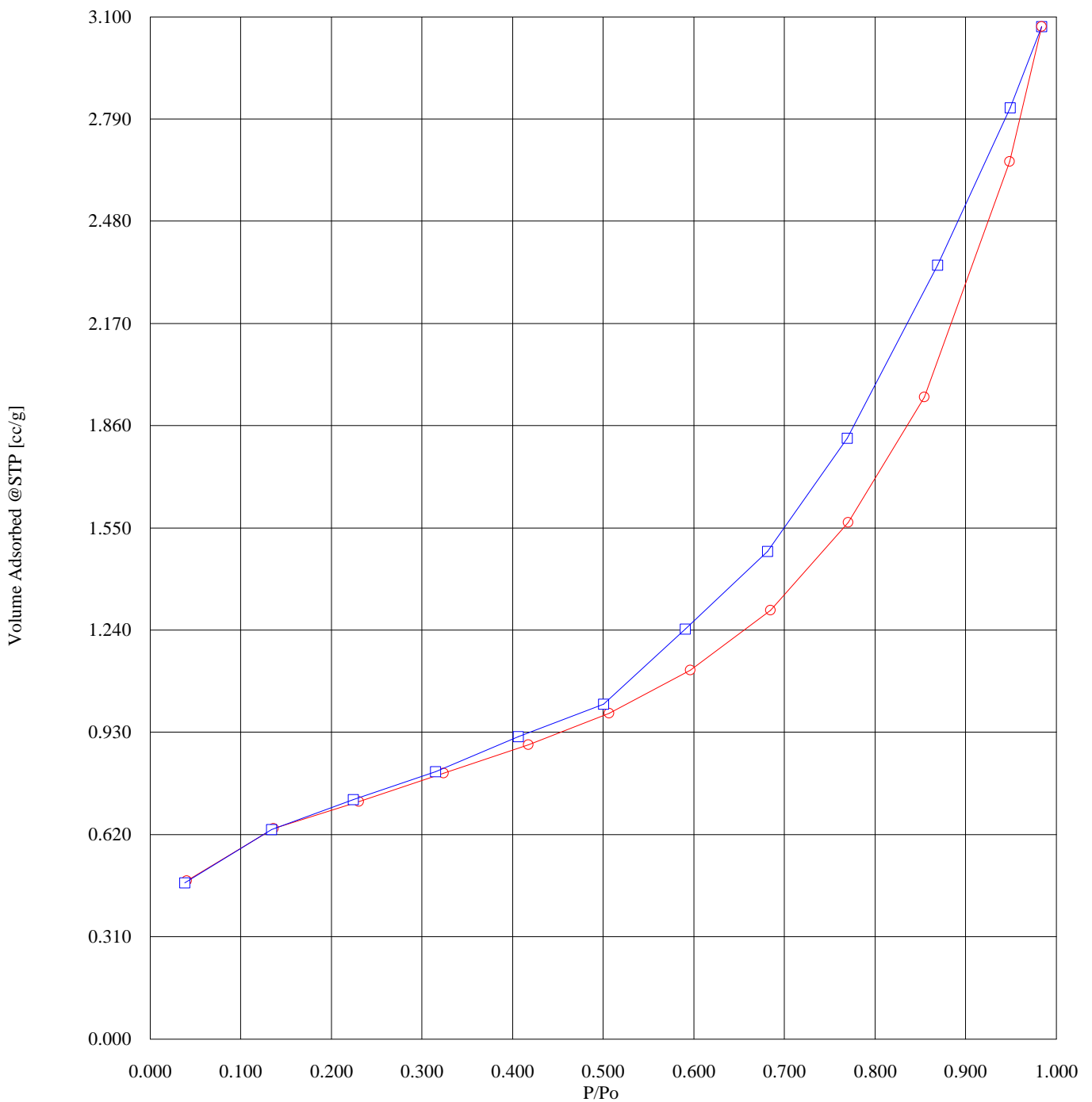
Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado Mineral	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.9440 g	Sample Volume	= 0.5553 cc
Sample Density	= 1.7000 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 702.84 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Feb 03 12:21:41 2005	Elapsed Time	= 76.48 Minutes.

Isotherm (Adsorption/Desorption)

P/Po	Volume Adsorbed @STP [cc/g]
0.040818	0.480020
0.136361	0.637808
0.230705	0.720076
0.324271	0.805896
0.417447	0.892667
0.506502	0.987783
0.596359	1.118512
0.684620	1.300176
0.770309	1.565528
0.854739	1.946037
0.948541	2.660488
0.984108	3.069648
0.949236	2.824365
0.869362	2.346942
0.769683	1.821694
0.681536	1.477946
0.590596	1.242602
0.500320	1.014789
0.406472	0.916861
0.315219	0.809809
0.224240	0.725546
0.134132	0.634939
0.038124	0.473885

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado Mineral	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.9440 g	Sample Volume	= 0.5553 cc
Sample Density	= 1.7000 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 702.84 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Feb 03 12:21:41 2005	Elapsed Time	= 76.48 Minutes.

Isotherm (Adsorption/Desorption)



Quantachrome Corporation  
NOVA Enhanced Data Reduction Software Ver. 2.13  
File Name = caminer.dat

Instrument	= NOVA-1200 Ver. 5.25	User Setup	= 23
User ID	= João		
Comments	= 2h no fluxo de N2 a 300°C.		
Sample ID	= C. Ativado Mineral	Sample Cell Number	= 1
Sample Weight	= 0.9440 g	Sample Volume	= 0.5553 cc
Sample Density	= 1.7000 g/cc		
Po Type	= Calculate	Po	= 702.84 mm Hg
Adsorbate	= Nitrogen	Bath Temperature	= 77.40 deg K
Adsorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg	Desorption Tolerance	= 0.1000 mm Hg
Adsorption Equil Time	= 60 sec	Desorption Equil Time	= 60 sec
Adsorption Dwell Time	= 180 sec	Desorption Dwell Time	= 180 sec
Analysis Start Time	= Thu Feb 03 12:21:41 2005	Elapsed Time	= 76.48 Minutes.

t Method -- Carbon Black (Adsorption)

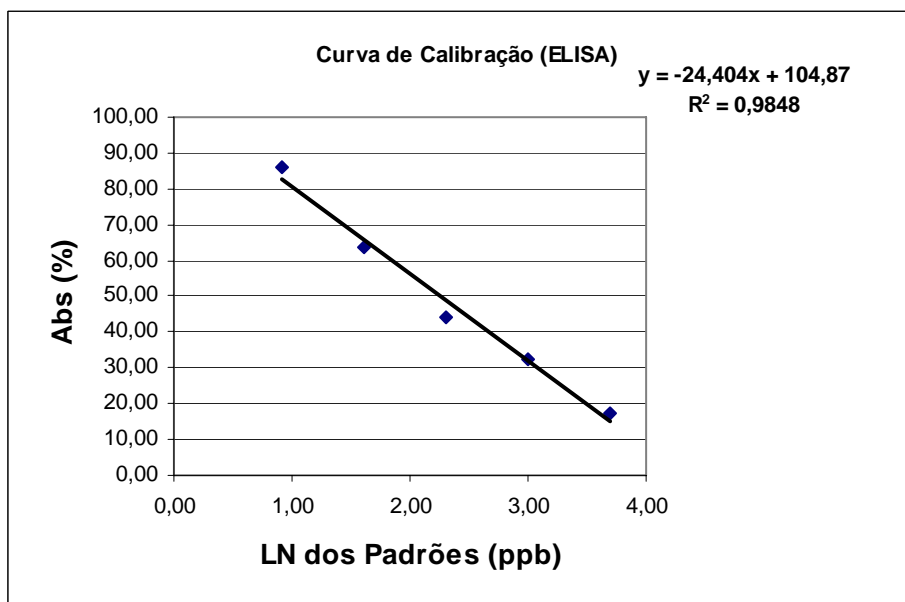
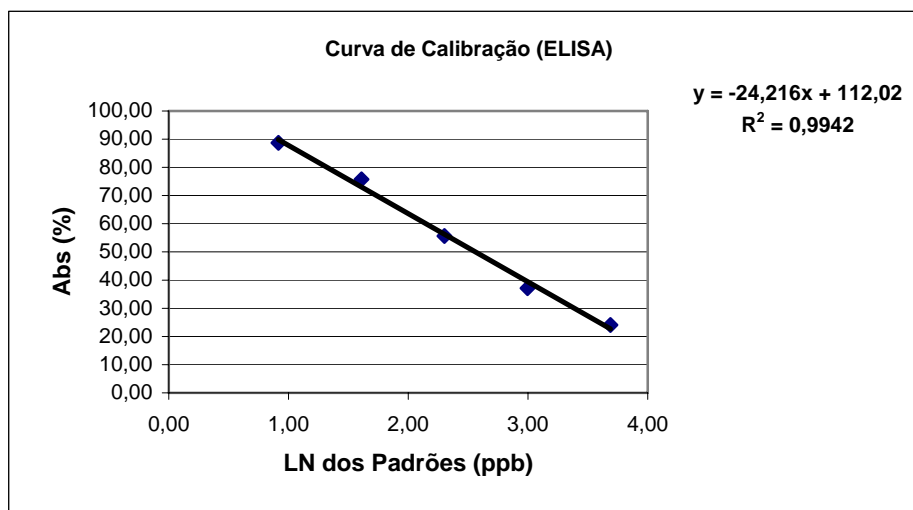
Statistical Thickness [Å]	Adsorbed Volume [cc/g]
4.514885	0.001114
5.164080	0.001247
5.825886	0.001381
6.472698	0.001528
7.139480	0.001730
7.808258	0.002011
8.470664	0.002422
External Surface Area	= 3.1442 m <sup>2</sup> /g
Micropore Surface Area	= 0.0000 m <sup>2</sup> /g
Micropore Volume	= 0.000000 cc/g
Correlation Coefficient	= 0.974685

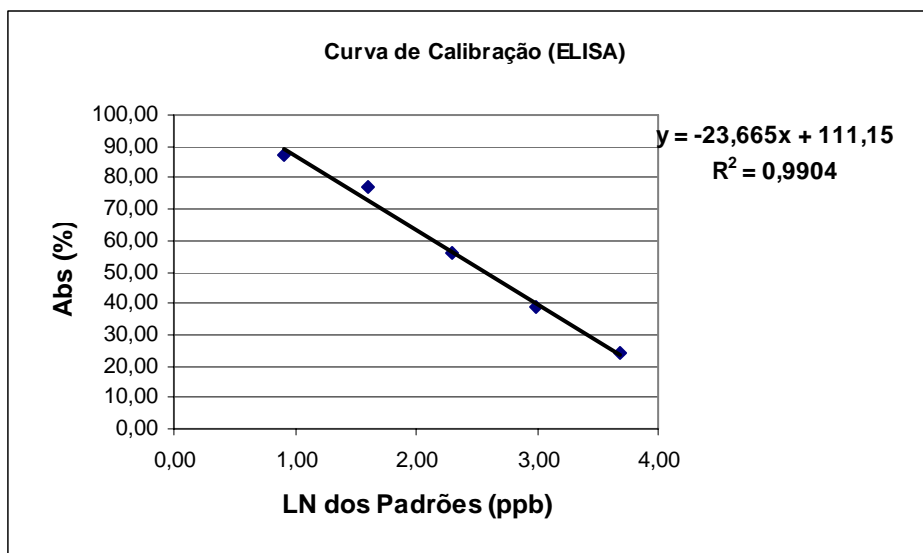
**ANEXO A.4 – DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE IODO PARA OS CARVÕES ATIVADOS EM PÓ**

<b>Carvões</b>	<b>Número de iodo (mg I<sub>2</sub>/g)</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>
<b>Mad-1</b>	928,22	920,21	10,62
<b>Mad-1</b>	913,21		
<b>Mad-2</b>	826,05	824,12	2,73
<b>Mad-2</b>	822,19		
<b>Mad-3</b>	750,37	754,13	5,31
<b>Mad-3</b>	757,89		
<b>Osso</b>	137,92	137,74	0,26
<b>Osso</b>	137,55		
<b>Mineral</b>	106,12	105,03	1,54
<b>Mineral</b>	103,94		

**ANEXO B – RESULTADOS DAS ANÁLISES NOS ENSAIOS DE REMOÇÃO DE SAXITOXINAS**

## ANEXO B.1- CURVAS DE CALIBRAÇÃO UTILIZADAS NO CÁLCULO DA CONCENTRAÇÃO DE SAXITOXINAS EQUIVALENTES POR TESTE ELISA







---

**ANEXO B.2 – RESULTADOS DOS RESIDUAIS DE SAXITOXINAS APÓS  
REMOÇÃO POR CARVÃO ATIVADO EM OÓ E HIPOCLORITO DE CÁLCIO**

B.2.1.1 – Carvão ativado em pó de madeira

Co = 24,80 µg/L

---

<b>Dosagem de Carvão (mg/L)</b>	<b>Residual de Saxitoxinas (µG/L)</b>
5	13,10
5	12,40
5	11,10
5	11,10
15	13,00
15	11,90
15	11,30
15	11,20
20	9,60
20	10,30
20	8,90
50	12,20
50	8,70
50	6,50
50	10,00
50	7,10

---

B.2.1.2 – Carvão ativado em pó de osso

Co = 24,80 µg/L

---

<b>Dosagem de Carvão (mg/L)</b>	<b>Residual de Saxitoxinas (µG/L)</b>
5	14,00
5	15,30
5	22,40
5	17,60
15	22,50
15	13,00
15	18,10
15	12,70
20	8,20
20	11,60
20	7,40
50	6,10
50	11,20
50	13,90
50	11,00
50	12,80

---

### B.2.1.3 – Carvão ativado em pó Mineral

Co = 31,60 µg/L ( para dosagens de 5 e 15 mg/L)

Co = 75,00 µg/L ( para dosagens de 20 e 50 mg/L)

<b>Dosagem de Carvão (mg/L)</b>	<b>Residual de Saxitoxinas (µG/L)</b>
5	21,00
5	18,80
5	16,40
5	19,30
15	21,50
15	24,90
15	22,80
15	14,80
20	44,90
20	49,10
20	46,10
50	46,60
50	45,70
50	45,00
50	46,50
50	42,50

### B.2.2. – Hipoclorito de Cálcio

#### B 2.2.1 – Tempo de detenção de 30 minutos

Co = 15,00 µg/L

<b>Dosagem de Hipoclorito de cálcio (mg/L)</b>	<b>Residual de Saxitoxinas (µG/L)</b>
0,90	2,80
0,90	3,50
0,90	4,20
0,90	2,80
1,20	4,70
1,20	2,10
1,20	1,90
1,20	2,30
1,50	4,00
1,50	2,90
1,50	4,00
1,50	2,80

## B.2.2.2 – Tempo de detenção de 60 minutos

 $C_0 = 15,00 \mu\text{g/L}$ 

---

<b>Dosagem de Hipoclorito de cálcio (mg/L)</b>	<b>Residual de Saxitoxinas (<math>\mu\text{g/L}</math>)</b>
0,90	2,90
0,90	4,30
0,90	3,70
0,90	3,90
1,20	4,50
1,20	4,60
1,20	5,40
1,20	6,60
1,50	4,60
1,50	3,10
1,50	3,60
1,50	3,30

---