

WILLIAN FERNANDO DOMINGUES VILELA

**Estudo da Degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR
por Fotocatálise Heterogênea Solar**

Dissertação apresentada ao Instituto
de Química de São Carlos da Univer-
sidade de São Paulo para obtenção
do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração:
Química Analítica

Orientador:
Prof. Dr. Eduardo Bessa Azevedo

São Carlos

2009

AGRADECIMENTOS

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Grupo de Química Analítica Aplicada a Medicamentos e a Ecossistemas – IQSC

Laboratório de Desenvolvimento de Tecnologias Ambientais - IQSC

RESUMO

VILELA, W. F. D. **Estudo da Degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR por Fotocatálise Heterogênea Solar**. 2009. 70 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

Um dos bens mais preciosos da Humanidade é a água. Embora ela seja abundante no planeta, grande parte é imprópria para o consumo humano. E, devido ao crescimento populacional intenso, à concentração urbana e à poluição dos corpos d'água superficiais e subterrâneos, a quantidade de água em condições para consumo vem se reduzindo em taxas alarmantes. Recentemente, um dos tipos mais comuns de contaminação dos corpos d'água tem sido a presença de cianotoxinas. Atualmente, não existe um estado brasileiro que não tenha problemas com florações excessivas de algas e os correspondentes transtornos causados às concessionárias que operam as estações de tratamento. Tem-se apontado que esse fato é devido principalmente ao aporte de nitrogênio e fósforo derivado do uso indiscriminado de detergentes e fertilizantes. O presente estudo tem como objetivo investigar a aplicação da fotocatalise heterogênea solar (TiO_2 como fotocatalisador) na destruição da [D-Leu]-Microcistina-LR, potente toxina de ampla ocorrência nas florações de cianobactérias. A [D-Leu]-Microcistina-LR foi extraída de uma cultura de *Microcystis aeruginosa*. Foi utilizado um reator de placa plana de vidro recoberta com TiO_2 para os estudos de degradação. Além disso, a irradiância durante os experimentos solares foi medida com o uso de espectrorradiômetro. Após os ensaios de degradação, a concentração da toxina foi determinada por CLAE. A cinética de mineralização da solução tratada foi determinada através de análises de COT. A toxicidade aguda e crônica do efluente foi quantificada através de análises utilizando camundongos e ensaios *in vitro* de inibição da proteína fosfatase. A partir dos experimentos realizados, pôde-se observar que foi necessário um tempo de tratamento de 150 min para que a concentração da microcistina fosse reduzida aos valores exigidos por lei (de 10 para $1 \mu\text{g L}^{-1}$). Outra constatação muito importante que pôde ser feita é que a fotocatalise heterogênea solar foi eminente destrutiva, não só para a toxina, mas também para os demais componentes do extrato e dos compostos de degradação gerados. Obteve-se uma remoção de carbono de aproximadamente 90% com 90 min de exposição ao Sol. Além disso, os testes de toxicidade utilizando camundongos mostraram que o efeito agudo causado pela amostras iniciais foi eliminado; entretanto, os testes utilizando a enzima fosfatase indicaram que podem ter sido formados subprodutos que produzam um efeito crônico em mamíferos. Os experimentos realizados apontam para a viabilidade do uso da fotocatalise heterogênea solar para o tratamento de águas contaminadas pela [D-Leu]-Microcistina-LR, não só devido à sua destruição, mas também à grande remoção de matéria orgânica que pode ser alcançada.

Palavras-chave: Microcistina. Fotocatálise. Solar. POA. Toxicidade. Fosfatase.

ABSTRACT

VILELA, W. F. D. **Degradation Study of [D-Leu]-Microcystine-LR using Solar Heterogeneous Photocatalysis.** 2009. 70 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

One of the most precious assets of mankind is the water. Although it is abundant in the planet, the majority of it is not suited for human consumption. Due to the intense population growth, to the urban concentration, and to the pollution of surface water bodies and ground water, the amount of freshwater is decreasing at alarming rates. Recently, a common type of water bodies' contamination is the presence of cyanotoxins. Presently, all over Brazil there are records of excessive algae blooms, with the corresponding nuisances caused to the companies that run water treatment stations. This fact is thought to be a result of nitrogen and phosphorus inputs due to the indiscriminate use of detergents and fertilizers. The purpose of the present study is to investigate the use of solar heterogeneous photocatalysis (TiO_2 as the photocatalyst) for the destruction of [D-Leu]-Microcystin-LR, powerful toxin of widespread occurrence within cyanobacteria blooms. The [D-Leu]-Microcystin-LR was extracted from a culture of *Microcystis aeruginosa*. It was used a flat plate glass reactor covered with TiO_2 for the degradation studies. The irradiance was measured during the experiments with aid of a spectrum radiometer. After the degradation experiments, the toxin concentration was determined by HPLC. The mineralization kinetics was determined by TOC analyses. The acute and chronic toxicities were quantified using mice and phosphatase inhibition *in vitro* assays. From the performed experiments, it was determined that 150 min are necessary to reduce the toxin concentration to the value demanded by law (from 10 to $1 \mu\text{g L}^{-1}$). Another important finding is that the solar heterogeneous photocatalysis was really destructive process, not only for the toxin, but also for the other extract components and degradation products generated. A mineralization degree of 90% was achieved with 90 min of exposure to the sun. Moreover, toxicity tests using mice have shown that the acute effect caused by the initial sample was removed. However, tests using the phosphatase enzyme indicated that it may be formed products capable of inducing chronic effects on mammals. The performed experiments indicate the feasibility of using solar heterogeneous photocatalysis for treating contaminated with [D-Leu]-Microcystin-LR, not only due to its destruction, but also to the significant removal of organic matter that can be achieved.

Keywords: Microcystin. Photocatalysis. Solar. AOP. Toxicity. Phosphatase.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1. Cianobactérias e Cianotoxinas	12
2.1.1. Características das Cianobactérias.....	12
2.1.2. Florações de Cianobactérias	13
2.1.3. Cianotoxinas	14
2.1.4. Hepatotoxinas	15
2.1.5 Estabilidade das Microcistinas	19
2.1.6. Evidências de Contaminação por Microcistinas.....	20
2.2. Tratamento de água e Cianotoxinas.....	21
2.3. Processos Oxidativos Avançados	22
2.3.1. Fotocatálise.....	24
2.3.2. Mecanismo e Cinética	25
2.3.3. Variáveis que afetam a fotocatálise.....	28
2.3.4. Fotocatálise Heterogênea aplicada a degradação de Microcistina	31
2.3.5. Outros POAs estudados para degradação de Microcistinas	33
2.3.6. Energia Solar	33
3. METODOLOGIA.....	35
3.1. Cianotoxina.....	35
3.1.1. Obtenção do Extrato de [D-Leu]-Microcistina-LR	35
3.2. Reator Fotocatalítico.....	36
3.2.1. Fixação do Catalisador	36
3.2.2. Funcionamento do Reator.....	37
3.2.3. Ensaio de Degradação	38
3.3. Análises	38
3.3.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	38
3.3.2. Carbono Orgânico Total	40
3.3.3. Teste de Toxicidade com Camundongos.....	40
3.3.4. Fosfatase Alcalina.....	40
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
4.1. Imobilização e Caracterização do TiO ₂ em placa de vidro	42
4.2. Validação do Método de Quantificação da [D-Leu]-Microcistina-LR	44
4.3. Análises Cromatográficas.....	47
4.4. Análises de Carbono Orgânico Total.....	50
4.5. Análises de toxicidade utilizando-se camundongos	52
4.6. Análises de inibição da fosfatase.....	53
5. CONCLUSÃO.....	54
6. PERSPECTIVAS FUTURAS	55
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Gêneros de cianobactérias potencialmente tóxicas encontradas em ambientes aquáticos do Brasil (OUELLETT, 2007).....	12
Figura 2.	Reservatório de abastecimento público do Rio Guandu, estado do Rio de Janeiro. O tom esverdeado na água indica florações de algas.	13
Figura 3.	Estrutura genérica da microcistina, onde Y e X representam os aminoácidos variáveis. Exemplo: MC-LR, Y = Leucina e X = Arginina.	16
Figura 4.	Estrutura geral das Nodularinas: (1) Mdhb (N-metilhidrobutireno); (2) D-MeAsp (ácido D-eritro-β-metilaspártico); (3) Z (variável); (4) Adda (ácido (2S,3S,8S,9S)-3-amino-9-metoxi-2-6-8-trimetil-10-fenildeca-4,6-dienóico); e (5) D-glutamato. R1 e R2 são H (dimetilmicrocistinas) ou CH ₃	17
Figura 5.	Estrutura da cilindrospermopsina.	18
Figura 6.	Modelo para fotoativação de um semicondutor (TAUCHERT e PERALTA-ZAMORA, 2004).	24
Figura 7.	Etapas primárias do mecanismo fotocatalítico (LINSEBIGLER et al., 1995).	28
Figura 8.	Fórmula estrutural da [D-Leu]-microcistina-LR.	35
Figura 9.	Esquema do reator solar de leito fixo e filme delgado (Nogueira e Jardim, 1996).	36
Figura 10.	Reator utilizado solar utilizado	37
Figura 11.	Microfotografia (MEV) com resolução de 500 vezes. Os Ponto 1 e 2 referem-se às análises semi-quantitativas por EDX realizadas	42
Figura 12.	Análise elementar do filme formado na placa por EDX: (a) ponto 1 e (b) ponto 2 da Figura 11.	43
Figura 13.	Microfotografias (MEV) com resolução de 500 vezes. Número de aplicações da solução de TiO ₂ a 1%: (a) 10, (b) 20 e (c) 30.	43
Figura 14.	Topologia típica da superfície da placa com 10 aplicações de solução 1% TiO ₂	44
Figura 15.	Cromatogramas obtidos: (a) padrão e (b) extrato de [D-Leu]-Microcistina-LR... ..	45
Figura 16.	Espectro UV do pico com t _R de 6,8 min ([D-Leu]-Microcistina-LR).....	45
Figura 17.	Curva analítica obtida para a [D-Leu]-Microcistina-LR.....	46
Figura 18.	Cromatogramas obtidos durante a degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR.....	47
Figura 19.	Mineralização relativa da [D-Leu]-Microcistina-LR: (a) dados brutos; (b) dados com correção do n° de passes; (c) dados com correção do n° de passes e da energia incidente (UV-A).	51
Figura 20.	Inibição da fosfatase em função do tempo (amostras fotocatalisadas).	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Potencial de oxidação de alguns oxidantes.....	23
Tabela 2. Sistemas típicos de processos oxidativos avançados.....	23
Tabela 3. Gradiente utilizado com a fase móvel nas análises de CLAE.....	39
Tabela 4. Valores de recuperação obtidos nos diferentes níveis de fortificação com [D-Leu]- Microcistina-LR.....	47
Tabela 5. Resultados dos testes de toxicidade com camundongos.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS

ACN	Acetonitrila
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BC	Banda de Condução
BV	Banda de Valência
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
COT	Carbono Orgânico Total
DAD	Detector de Arranjo de Diodo
DL ₅₀	Dose letal a 50% dos organismos-teste
EDX	Espectroscopia Dispersiva de Energia por Raios-X
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
i.p.	Intraperitonal
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
OMS	Organização Mundial da Saúde
POA	Processos Oxidativos Avançados
TFA	Ácido Trifluoroacético
US	Ultrassom
UV	Ultravioleta
Vis	Visível

1. INTRODUÇÃO

A contaminação ambiental é um dos principais dilemas enfrentados pela sociedade moderna. Desde a revolução industrial o homem vem explorando e modificando de maneira relevante todos os ecossistemas terrestres. Dentre os recursos naturais, a água se destaca como pré-requisito fundamental para o desenvolvimento de vida na Terra, seja como componente bioquímico de seres vivos ou como meio de vida de várias espécies vegetais e animais. A contaminação dos recursos hídricos e dos mananciais de abastecimento público por rejeitos oriundos das atividades humanas é um dos maiores fatores de risco para a saúde humana, especialmente em regiões com condições inadequadas de saneamento e suprimento de água. Outra consequência dos impactos antrópicos nos reservatórios de água é a ocorrência de acelerados processos de eutrofização, causando um enriquecimento artificial desses ecossistemas pelo aumento das concentrações de nutrientes na água, principalmente compostos nitrogenados e fosfatados, que resulta num aumento dos processos naturais de produção biológica em rios, lagos e reservatórios. As principais fontes desse enriquecimento têm sido identificadas como as descargas de esgotos domésticos e industriais dos centros urbanos e regiões agricultáveis. A eutrofização artificial produz mudanças na qualidade da água, incluindo a redução do oxigênio dissolvido e da biodiversidade aquática, a perda das qualidades paisagísticas, a morte extensiva de peixes e o aumento da incidência de florações de microalgas e cianobactérias. Ironicamente, o organismo que contribuiu para o surgimento de vida em nosso planeta é o grande responsável por este sério problema de saúde pública relacionado à qualidade da água. As cianobactérias têm sido extremamente citadas em textos de biologia por sua capacidade de fixar nitrogênio (converter N_2 atmosférico em NH_3) e pelo fato de serem, provavelmente, o único organismo primário responsável por fornecer uma atmosfera rica em oxigênio. No entanto, a maior parte da literatura publicada sobre cianobactérias nos últimos anos tem se referido à grande produção de várias toxinas (cianotoxinas) prejudiciais à saúde humana e animal (CARMICHAEL, 1997; JOCHIMSEN et al., 1998; CARMICHAEL et al., 2001).

Entre os fatores que levam as cianobactérias a predominarem sobre os outros grupos fitoplanctônicos (microalgas) destacam-se as características fisiológicas pelas quais as cianobactérias assimilam os nutrientes (N e P) do meio aquático. De forma geral, as cianobactérias são menos eficientes na assimilação desses nutrientes do que as microalgas (algas verdes ou diatomáceas), que, em condições normais, crescem mais e melhor. Entretanto, ao produzir

uma descarga excessiva de nutrientes nos reservatórios, o homem propicia uma maior disponibilidade desses nutrientes, facilitando a assimilação dos mesmos e o conseqüente crescimento das cianobactérias. O crescimento intenso desses microorganismos na superfície da água geralmente se dá com predomínio de poucas ou mesmo de apenas uma espécie de cianobactéria produtora de toxinas, além de outros metabólitos, que inibem a sua predação por microcrustáceos, larvas de peixes, moluscos, entre outros. Consumidores primários vão preferir consumir as microalgas atóxicas e com maior valor nutricional, contribuindo, com isso, para a redução das populações dessas microalgas, o que, por sua vez, resultará numa diminuição drástica da comunidade dos consumidores primários, com conseqüências em toda a cadeia alimentar do ecossistema aquático. Portanto, como resultado desses processos, muitas vezes restará no meio aquático apenas as cianobactérias tóxicas como organismos fitoplanctônicos dominantes.

As toxinas produzidas pelas cianobactérias são denominadas cianotoxinas, formando um grupo de substâncias químicas bastante diverso, com mecanismos tóxicos específicos em vertebrados. Algumas cianotoxinas são neurotoxinas bastante potentes (anatoxina-a, saxitoxinas) outras são principalmente tóxicas ao fígado (microcistinas, nodularina e cilindrospermopsina) e outras ainda podem ser irritantes por contato, consideradas como endotoxinas pirogênicas, como as de bactérias Gram negativas. Como o número de estudos sobre a remoção dessas cianotoxinas pelos processos convencionais de tratamento da água ainda é reduzido e as técnicas de detecção de cianotoxinas ainda não são muito difundidas na prática do monitoramento de águas de abastecimento, a avaliação da exposição humana às cianotoxinas pelo consumo da água ainda é muito falha. Além disso, em regiões abastecidas por mananciais de superfície que apresentam florações de cianobactérias tóxicas, a real exposição a essas toxinas irá depender do método de captação, da seqüência de tratamento da água e do controle operacional do sistema de abastecimento. As cianotoxinas mais tóxicas pertencem à classe das microcistinas. Estas são as cianotoxinas mais presentes em florações, perfazendo um grupo de mais de 75 heptapeptídeos cíclicos. Foram primeiramente extraídas da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* (CODD, 2000). Outros estudos mostraram que outros gêneros de cianobactérias também são capazes de produzir microcistinas (SIVONEN e JONES, 1999; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

Assumindo-se que a qualidade de água é um fator limitante para o desenvolvimento social e econômico do país, verifica-se que várias lacunas precisam ser preenchidas para que

se possa garantir, de forma segura e confiável, a qualidade de água nos mananciais e sistemas de abastecimento público. Uma das principais lacunas é o desenvolvimento de métodos de tratamento para água que não somente transfiram o poluente de fase, mas sim o transforme em produtos atóxicos que possam ser devolvidos ao meio ambiente sem graves consequências.

Sendo assim, o presente estudo trata da aplicação de um processo destrutivo, capaz de, efetivamente, diminuir a concentração de microcistinas a níveis que não apresentem mais ação tóxica. O processo a ser utilizado é a fotocatalise heterogênea usando-se o TiO_2 como fotocatalisador. Essa tecnologia está incluída nos Processos Oxidativos Avançados (POAs), tendo eles em comum a geração *in situ* do radical hidroxila (OH^\bullet). Esse radical é capaz de oxidar praticamente qualquer tipo de molécula orgânica, resolvendo em grande parte os problemas de baixa biodegradabilidade e toxicidade de vários compostos xenobióticos e recalcitrantes já testados. Os principais objetivos foram: desenvolver um reator solar fotocatalítico, estudar a degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR por fotocatalise solar, além de quantificar a remoção da toxicidade.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Cianobactérias e Cianotoxinas

2.1.1. Características das Cianobactérias

As cianobactérias ou cianofíceas são organismos procariontes, isto é, não possuem núcleo definido. São conhecidas pelas divisões Mixophyta, Schizophyta, Cyanophyta, pertencendo ao Reino Eubacteria e divisão Cyanobacteria. Devido à presença de pigmentos fotossintéticos em suas células e à semelhança superficial com algas verdes eucarióticas, foram chamadas de algas azuis. De acordo com os registros fósseis, sua origem foi estimada em cerca de 3,5 milhões de anos, sendo provavelmente os primeiros produtores primários de matéria orgânica a liberarem oxigênio elementar na atmosfera primitiva (YOO et al., 1995). Constituem um dos três maiores grupos de bactérias pigmentadas. Entretanto, diferem das outras formas pigmentadas por serem capazes de produzir oxigênio durante a fotossíntese. Podem ser encontradas na forma unicelular, como nos gêneros *Synechococcus* e *Aphanothece* ou em colônias de seres unicelulares como *Microcystis*, *Gomphospheria*, *Merismopedium* ou, ainda, apresentarem as células organizadas em forma de filamentos, como *Oscillatoria*, *Planktothrix*, *Anabaena*, *Cylindrospermopsis* e *Nostoc*. A Figura 1 destaca alguns gêneros de cianobactérias encontradas no Brasil, dentre elas a *Microcystis ssp.*, a qual foi utilizada neste trabalho para produção de [D-Leu]MC-LR.



Figura 1. Gêneros de cianobactérias potencialmente tóxicas encontradas em ambientes aquáticos do Brasil (OUELLETT, 2007).

2.1.2. Florações de Cianobactérias

A crescente eutrofização dos ambientes aquáticos tem sido produzida principalmente por atividades humanas, causando uma redução na diversidade de espécies. Entretanto, verifica-se um aumento significativo da biomassa das espécies presentes. As descargas de esgotos domésticos e industriais dos centros urbanos e a poluição difusa originada nas regiões agricultáveis são os principais causadores deste fenômeno. Esta por sua vez produz mudanças na qualidade da água, incluindo: a redução de oxigênio dissolvido, a perda das qualidades cênicas, ou seja, das características estéticas do ambiente e seu potencial para lazer, a extensa mortandade de peixes e o aumento da incidência de florações de microalgas e cianobactérias, com conseqüências negativas sobre a eficiência e custo de tratamento da água, quando se trata de manancial de abastecimento público, conforme mostrado na Figura 2.



Figura 2. Reservatório de abastecimento público do Rio Guandu, estado do Rio de Janeiro. O tom esverdeado na água indica florações de algas.

Entre os principais impactos causados pela eutrofização e conseqüente aparecimento de florações de cianobactérias sobre a qualidade da água, destaca-se a produção de odores e sabores, bem como a sua interferência em certos processos de tratamento de água (YOO et al., 1995). De acordo com a taxonomia atual, existem 150 gêneros, com mais de 2.000 espécies de cianobactérias identificadas (VAN DEN HOEK et al., 1995). Deste número, cerca de 25 gêneros, com mais de 40 espécies, são produtores de cianotoxinas nocivas a animais e ao ho-

mem, podendo este número estar sendo subestimado mediante dificuldades relacionadas à identificação taxonômica destes organismos (CHORUS, 2001).

A ocorrência de florações de cianobactérias tóxicas não é um fenômeno local, regional ou específico de um só país, mas de proporções globais. De acordo com Sant'Anna e Azevedo (2000) no Brasil já foi registrada a ocorrência de pelo menos 20 espécies de cianobactérias potencialmente tóxicas, incluídas em 14 gêneros. As espécies *Microcystis aeruginosa* apresenta a distribuição mais ampla no Brasil e *Anabaena* é o gênero com o maior número de espécies potencialmente tóxicas (*A. circinalis*, *A. flos-aquae*, *A. planctonica*, *A. solitária* e *A. spiroides*). Entretanto, na última década, tem sido observado um grande aumento na ocorrência da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* em diferentes regiões brasileiras (BOUVY et al., 1999; BRANCO E SENNA, 1994; CONTE et al., 2000; JARDIM et al., 1999; HUSZAR et al., 2000).

2.1.3. Cianotoxinas

As toxinas produzidas por cianobactérias são conhecidas como cianotoxinas. Constituem um amplo grupo de produtos naturais tóxicos. Comumente são classificadas em categorias distintas relacionadas aos efeitos tóxicos provocados nos organismos afetados. Estes podem assumir caráter agudo ou crônico, dependendo do tempo de exposição, quantidade e natureza da toxina produzida. Algumas dessas toxinas, que são caracterizadas por sua ação rápida, causando a morte de mamíferos por parada respiratória após poucos minutos de exposição, têm sido identificadas como alcalóides ou organofosforados neurotóxicos. Outras atuam menos rapidamente e são identificadas como peptídeos ou alcalóides hepatotóxicos. De acordo com suas estruturas químicas, as cianotoxinas podem ser incluídas em três grandes grupos: os peptídeos cíclicos, os alcalóides e os lipopolissacarídeos. No entanto, elas são principalmente divididas conforme a sua ação farmacológica em neurotoxinas e hepatotoxinas.

O presente estudo restringir-se-á às hepatotoxinas, grupo com maior incidência de acidentes por contaminação de animais e humanos. Para mais detalhes sobre os demais grupos de cianotoxinas, indica-se o trabalho de HAIDER et al. (2003).

2.1.4. Hepatotoxinas

Grande parte dos envenenamentos por cianobactérias envolve hepatotoxicose aguda causada por hepatotoxinas, que apresentam uma ação mais lenta, podendo causar morte num intervalo de poucas horas a poucos dias. As espécies já identificadas como produtoras dessas hepatotoxinas estão incluídas nos gêneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Oscillatoria*, *Nostoc* e *Cylindrospermopsis* (CARMICHAEL, 1994).

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

As hepatotoxinas são representadas por alcalóides e peptídeos cíclicos cuja massa molar varia geralmente entre 800 e 1.100 g mol⁻¹. A maioria desses compostos é hidrofílica e incapaz de penetrar diretamente através das membranas celular dos eucariontes, sendo necessários transportadores ATP-dependentes, como os transportadores de sais orgânicos. Essa dependência restringe as áreas de ação das hepatotoxinas aos órgãos e tecidos que apresentam esses canais, como fígado e rins (RUNNEGAR et al., 1982; RUNNEGAR, 1991). A alteração nos processos de sinalização da fosforilação é o principal mecanismo pelo quais as cianotoxinas atuam. Nas células existem vários sítios que são controlados de forma reversível e que podem sofrer a ação da microcistina (FELIX et al., 1990; MULKEY et al., 1993; MUMBY e WALTER, 1993).

Estruturalmente, as microcistinas são heptapeptídeos monocíclicos, compostos pelos seguintes resíduos: D-Alanina – X – D-MeAsp – Z – Adda – D-Glutamato – Mdha, no qual X e Z são dois L-aminoácidos variáveis, D-MeAsp é o ácido D-eritro-β-metilaspártico e Mdha é a N-metildeidroalanina. O radical Adda é um aminoácido incomum (ácido (2S,3S,8S,9S)-3-amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10-fenildeca-4,6-dienóico), cuja fórmula estrutural é mostrada na Figura 3.

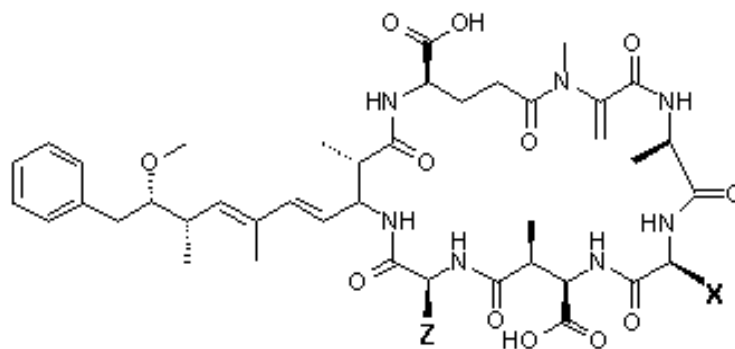


Figura 3. Estrutura genérica da microcistina, onde Y e X representam os aminoácidos variáveis. Exemplo: MC-LR, Y = Leucina e X = Arginina.

A nomenclatura das microcistinas foi proposta por Carmichael et al. (1988). Inicialmente, apenas as variações qualitativas observadas em seus dois L-aminoácidos foram usadas para designar as diferentes microcistinas. Neste sistema apenas os dois aminoácidos variáveis identificam a microcistina, de acordo com os seguintes exemplos: microcistina-LR (leucina-arginina); microcistina-RR (arginina-arginina); microcistina-YA (tirosina-alanina). Atualmente as diferentes microcistinas ainda são principalmente identificadas por este sistema, juntamente com as metilações e desmetilações dos dois aminoácidos incomuns (Adda e Mdha), podendo ainda existir outras alterações menores na estrutura química das moléculas destes compostos (CHORUS e BARTRAM, 1999).

A toxicidade dessas microcistinas em animais de laboratório apresenta DL_{50} (i.p.) entre 25 e 150 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de massa corpórea e entre 5.000 e 10.900 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de massa corpórea por administração oral (CHORUS e BARTRAM, 1999).

As microcistinas são inibidoras potentes dos resíduos de serina e treonina das proteínas fosfatases PP1, PP2A e PP3A e PP6, contudo não agem sobre as PP2B, PP2C e PP7 (MACKINTOSH et al., 1990; HONKANEN et al., 1990; MACKINTOSH e MACKINTOSH, 1994; TOIVOLA e ERIKSSON, 1999).

Foi comprovado *in vitro* que as microcistinas interagem com as fosfatases em nível molecular (RUNNEGAR et al., 1995; ZHANG et al., 1996; BAGU et al., 1997), podendo ocorrer ligações covalentes entre a cianotoxina e os resíduos de cisteína-273 da PP1C e de cisteína-266 da PP2Ac, via o terminal N-metil dehidroalanina (GOLDBERG et al., 1995; MACKINTOSH et al., 1995; CAMPOS et al., 1996), e interações não-covalente relacionadas

à inibição da atividade enzimática, que é mediada pelo sítio hidrofóbico Adda das moléculas de microcistinas e íons hidrogênio (NAMIKOSHI et al., 1989; RUDOLPH-BÖHNER et al., 1994).

A ação direta das microcistinas nas membranas celulares foi evidenciada como uma inibição de síntese protéica seguida por uma mobilização de glicose-6-fosfato (CLAEYSSENS et al., 1993; CLAEYSSENS et al., 1995). Ocorre também uma queda de glutathione após administração dessas cianotoxinas, enquanto que as concentrações de glicose e cálcio citoplasmático em hepatócitos aumentam (RUNNEGAR et al., 1991).

Análises ultra-estruturais e patológicas mostram necroses centrolobulares, destruição do endotélio sinusoidal, ruptura dos canais biliares, perda das microvilosidades, formação de vacúolos nos hepatócitos e necrose dos mesmos (HOOSER et al., 1889; ERIKSSON et al., 1990b; ITO et al., 1997). Sintomas subagudos de intoxicação com microcistinas são representados por diarreia, vômito, piloereção, fraqueza e palidez (BELL e CODD, 1994).

As nodularinas, cuja estrutura geral é apresentada na Figura 4, é um pentapeptídeo, tendo sido inicialmente identificadas na espécie *Nodularia spumigena* (SIVONEN et al., 1989). Atualmente são conhecidas oito nodularinas distintas, classificadas de acordo com as variações no grau de metilação, composição e isomerização de seus aminoácidos. A DL_{50} (i.p.) em camundongos varia entre 50 a 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de massa corpórea (RINEHART et al., 1994).

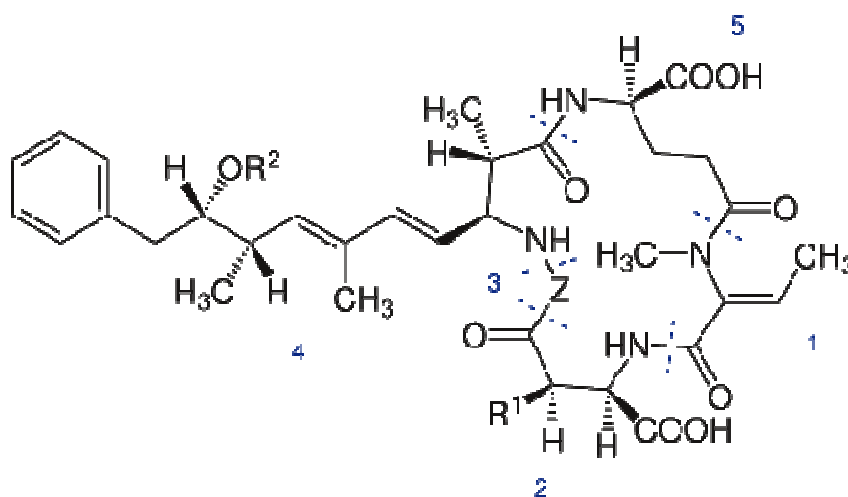


Figura 4. Estrutura geral das Nodularinas: (1) Mdhb (N-metilidihidrobutileno); (2) D-MeAsp (ácido D-eritro- β -metilaspártico); (3) Z (variável); (4) Adda (ácido (2S,3S,8S,9S)-3-amino-9-metoxi-2-6-8-trimetil-10-fenildeca-4,6-dienóico); e (5) D-glutamato. R1 e R2 são H (dimetilmicrocistinas) ou CH_3 .

As hepatotoxinas têm acesso aos hepatócitos por meio dos receptores dos ácidos biliares (FALCONER, 1991). Uma vez dentro da célula, promovem uma desorganização dos fi-

lamentos intermediários e microfilamentos de actina, ocasionando a desestruturação do citoesqueleto dos hepatócitos. Como consequência, o fígado perde sua estrutura e desenvolve graves lesões internas. A perda de contato entre as células cria espaços internos que são preenchidos pelo sangue, que passa então a fluir dos capilares para esses locais, provocando uma hemorragia intra-hepática (CARMICHAEL, 1994). Em humanos, o efeito da intoxicação por hepatotoxinas inclui distúrbios gastrintestinais, pneumonia atípica, dor de cabeça e elevação da concentração de determinadas enzimas no fígado.

Através de estudos de toxicidade oral em níveis subcrônicos, realizados com camundongos por Fawell et al. (1994) e com porcos por Falconer et al. (1994), foi estabelecida como ingestão diária aceitável de microcistina-LR o valor de $0,04 \mu\text{g kg}^{-1}$ de massa corpórea (CHORUS e BARTRAM, 1999). A partir desse valor, um limite máximo aceitável de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de microcistinas em água para consumo humano foi adotado pela OMS e incorporado no adendo das Normas para Qualidade da Água Tratada publicado em 1998 (“Guideline for Drinking Water Quality — WHO, 1998).

Recentemente, um alcalóide hepatotóxico denominado cilindropermopsina, conforme apresentado na Figura 5, foi isolado de três espécies de cianobactérias: *Cylindropermopsis raciborskii* (OHATOANI et al., 1992), *Umezakia natans* (HARADA et al., 1994) e *Aphanizomenon ovalisporum* (BANKER et al., 1997).

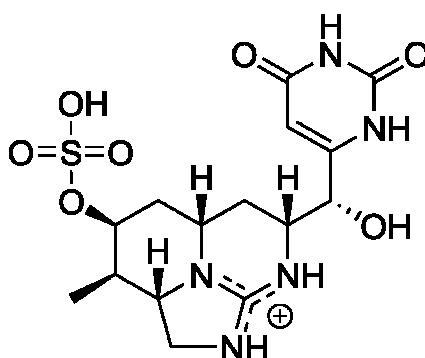


Figura 5. Estrutura da cilindropermopsina.

Seu mecanismo de ação se dá pela inibição da síntese protéica e já têm sido observados danos severos também em células renais, pulmonares e cardíacas dos animais testados. A cilindropermopsina é uma toxina de ação lenta, requerendo de cinco a sete dias para produzir seu efeito tóxico máximo. Em camundongos, a DL_{50} (i.p.) após 24 horas é de 2 mg kg^{-1}

de massa corpórea, enquanto que após cinco dias a DL_{50} (i.p.) passa a ser de $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ de massa corpórea (TERAO, 1994). Por administração oral, a DL_{50} após cinco dias é de aproximadamente $6 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ (SEAWRIGHT et al., 1999).

A Portaria nº 518 do Ministério da Saúde de 25 de Março de 2004 recomenda que as análises para cianotoxinas incluam a determinação de cilindropermopsina e saxitoxinas, observando, respectivamente, os valores limites em água para consumo de $15 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

2.1.5 Estabilidade das Microcistinas

As microcistinas, devido a sua estrutura peptídica cíclica, são muito estáveis e resistentes à hidrólise e à oxidação em pH próximo da neutralidade. Além disso, microcistinas e nodularinas mantêm sua toxicidade mesmo após a fervura. Em condições naturais, no escuro, as microcistinas podem persistir por meses ou anos. Em temperatura elevada (40°C) e condições de pH alto ou baixo, foram observadas hidrólises lentas, sendo necessárias aproximadamente 10 semanas em pH 1 e mais de 12 semanas em pH 9 para a degradação de cerca de 90% da concentração total das microcistinas (HARADA et al., 1996). Porém, já foi observada uma lenta degradação fotoquímica das microcistinas expostas à luz solar. A taxa desta reação é aumentada pela presença de pigmentos fotossintéticos hidrossolúveis, provavelmente ficobiliproteínas (TSUJI et al., 1993). Na presença desses pigmentos, a degradação fotoquímica de 90% da concentração total das microcistinas pode variar de duas a seis semanas, dependendo da concentração de pigmentos e toxinas.

A presença de substâncias húmicas também parece acelerar a degradação das microcistinas sob a luz solar. Embora as microcistinas sejam resistentes a muitas peptidases de organismos eucariontes e bactérias, elas são suscetíveis à degradação por algumas bactérias encontradas naturalmente em rios e reservatórios. Bactérias capazes de degradar microcistinas já foram isoladas de vários ecossistemas aquáticos e também efluentes de esgotos (CHORUS e BARTRAM, 1999). Este processo pode levar à degradação de 90% do total de microcistinas entre 2 a 10 dias, dependendo principalmente da concentração inicial dessas toxinas e da temperatura da água.

2.1.6. Evidências de Contaminação por Microcistinas

Casos de intoxicações de animais e humanos pelo consumo oral de água contaminada por cepas tóxicas de cianobactérias já foram descritos em todo o mundo (FALCONER, 1994). O primeiro caso documentado de intoxicação letal de animais por consumo de água ocorreu na Austrália em 1800 (FRANCIS, 1878). Desde então, inúmeros relatos têm sido publicados de envenenamento por cianotoxinas.

No Brasil, o trabalho de Teixeira et al. (1993) descreve uma forte evidência de correlação entre a ocorrência de florações de cianobactérias no reservatório de Itaparica-BA e a morte de 88 pessoas, entre as 200 intoxicadas, pelo consumo de água do reservatório, entre março e abril de 1988. Entretanto, o primeiro caso confirmado de mortes humanas causadas por cianotoxinas ocorreu no início de 1996, quando 130 pacientes renais crônicos, após terem sido submetidos a sessões de hemodiálise em uma clínica da cidade de Caruaru (PE), passaram a apresentar um quadro clínico compatível com uma grave hepatotoxicose. Destes, 60 pacientes vieram a falecer até 10 meses após o início dos sintomas.

As análises confirmaram a presença de microcistinas e cilindrospermopsina no carvão ativado utilizado no sistema de purificação de água da clínica, e de microcistinas em amostras de sangue e fígado dos pacientes intoxicados (AZEVEDO, 1996; CARMICHAEL et al., 1996; JOCHIMSEN et al., 1998; CARMICHAEL et al., 2001). Além disso, as contagens das amostras do fitoplâncton do reservatório que abastecia a cidade demonstraram uma dominância de gêneros de cianobactérias comumente relacionados com a produção de cianotoxinas.

Em termos globais, os relatos clínicos dos danos para a população humana, pelo consumo oral de cianotoxinas em águas de abastecimento, indicam que esses danos acontecem como consequência de acidentes, desconhecimento ou deficiência na operação dos sistemas de tratamento da água. Como resultado, esses relatos são parcialmente estimados e as circunstâncias originais são freqüentemente de difícil definição. Em muitos casos, as cianobactérias causadoras dos danos desaparecem do reservatório antes que as autoridades de saúde pública considerem uma floração como o possível risco. Geralmente desconhecem os possíveis danos resultantes da ocorrência de florações de cianobactérias e, portanto, assumem que os processos de tratamento da água usuais são capazes de remover qualquer problema poten-

cial. Entretanto, várias toxinas de cianobactérias, quando em solução, são dificilmente removidas pelos processos convencionais de tratamento.

Em regiões agricultáveis ou áreas densamente povoadas, ocorre muitas vezes o aparecimento de florações constantes de cianobactérias em reservatórios de abastecimento público e, usualmente, as autoridades de meio ambiente tentam controlar as florações com aplicação de sulfato de cobre ou outros algicidas. Este método provoca a lise desses organismos, liberando as toxinas freqüentemente presentes nas células para a água bruta do manancial. Tais ações podem causar exposições agudas às toxinas. Além disso, há evidências de que as populações abastecidas por reservatórios que apresentam extensas florações podem estar expostas a baixos níveis de toxinas por longo período (LAMBERT et al., 1994). Essa exposição prolongada deve ser considerada como um sério risco à saúde uma vez que as microcistinas são potentes promotoras de tumores.

2.2. Tratamento de água e Cianotoxinas

Os métodos convencionais de tratamento de água utilizados nas estações de tratamento (ETAs) apenas transferem de fase o contaminante, sem que este seja eliminado. O produto final destes processos se constitui de uma fase mais limpa e uma fase concentrada de contaminantes. Considerando-se que no atual cenário ambiental os locais para a disposição de resíduos indesejáveis ficam cada vez mais escassos, a degradação dos mesmos em compostos que sejam absorvidos de forma segura pelo meio ambiente é de fundamental importância para sustentabilidade dos grandes centros urbanos.

Além disso, a presença de algas e cianobactérias na água bruta aduzida às estações de tratamento podem causar problemas operacionais em várias etapas de tratamento, tais como: dificuldade de coagulação e floculação, baixa eficiência do processo de sedimentação, colmatção dos filtros e aumento da necessidade de produtos para a desinfecção (EDZWALD, 1993; KAUR et al., 1994). Como conseqüência desses problemas operacionais, verifica-se, geralmente, a redução na eficiência dos processos de tratamento e o surgimento de problemas na água tratada associados à presença de algas, cianobactérias e seus subprodutos extracelulares.

Os tratamentos biológicos são processos oxidantes muito utilizados na redução de poluentes orgânicos não recalcitrantes; no entanto, a existência de compostos tóxicos (por exemplo MCs) no meio inviabiliza a sua utilização.

O emprego de agentes químicos em processos oxidativos também tem sido utilizados. A cloração e a ozonização são alternativas para a degradação de poluentes. No entanto, a grande demanda de cloro e de ozônio pode tornar o processo inviável economicamente (ROBINSON e BRITZ, 2001). Além disso, alguns processos oxidativos podem produzir subprodutos recalcitrantes ou mais tóxicos que os compostos originais (BARD, 2004).

Neste contexto, fica claro que há a necessidade do desenvolvimento de novas técnicas destrutivas para o tratamento de água (KEIJOLA et al., 1998). Os Processos Oxidativos Avançados (POAs) se destacam como um método promissor para degradação de poluentes tóxicos em meio aquoso (GOGATE e PANDIT, 2004).

2.3. Processos Oxidativos Avançados

Nas últimas décadas, os Processos Oxidativos Avançados (POAs) têm sido alvo de vários estudos para o tratamento de compostos orgânicos presentes em águas, solo e efluentes industriais (BALCIOGLU et al., 2003; RODRIGUEZ et al., 2002; OTURAN et al., 2001). São tecnologias extremamente eficientes para a destruição de compostos orgânicos de difícil degradação, muitas vezes presentes em baixas concentrações. Podem ser consideradas tecnologias limpas, pois há a minimização da formação de subprodutos sólidos e os poluentes não são transferidos de uma fase para outra (DEZOTTI, 2003).

Os POAs são baseados na geração de radicais fortemente oxidantes, principalmente o radical hidroxila ($\bullet\text{OH}$), que destroem inúmeros compostos de maneira rápida e não-seletiva conduzindo à mineralização parcial ou completa do contaminante (ANDREOZZI et al., 2000). A Tabela 1 apresenta o potencial de oxidação para vários oxidantes em água. Pode-se observar que o potencial de oxidação do radical $\bullet\text{OH}$ é superior aos dos oxidantes comumente utilizados no tratamento de águas de abastecimento.

Tabela 1. Potencial de oxidação de alguns oxidantes.

Oxidante	Potencial de Oxidação (eV)
$\bullet\text{OH}$	2,80
$\text{O}({}^1\text{D})$	2,42
O_3	2,07
H_2O_2	1,77
$\bullet\text{OOH}$	1,70
MnO_4^-	1,67
ClO_2	1,50
Cl_2	1,36
O_2	1,23

Os POAs podem ser divididos em dois grupos: aqueles que envolvem reações homogêneas (utilizando H_2O_2 , O_3 e/ou luz ultravioleta) e aqueles que envolvem reações heterogêneas (utilizando óxidos metálicos foto-ativos). A Tabela 2 lista os principais sistemas de processos oxidativos relatados. A grande versatilidade dos POAs está no fato dos radicais hidroxila poderem ser gerados a partir de diferentes processos.

Tabela 2. Sistemas típicos de processos oxidativos avançados.

Processos	Sistemas	
	Homogêneos	Heterogêneos
<i>Com irradiação</i>	O_3/UV	Fotocatalisador/ O_2/UV
	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{+2}/\text{UV}$ (Foto-Fenton)	Fotocatalisador/ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$
	Feixe de Elétron	
<i>Sem irradiação</i>	$\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$	Eletro-Fenton
	$\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{+2}$ (Fenton)	

Vários estudos também mostraram que os POAs são tecnologias bastante promissoras para a degradação de cianotoxinas (FEITZ et al., 1999; LAWTON et al., 2003; ONSTAD, et al., 2007). Em especial, a fotocatalise heterogênea tem chamado a atenção de pesquisadores para desinfecção e degradação de compostos orgânicos em água.

2.3.1. Fotocatálise

Os processos de degradação fotoquímica e fotocatalítica têm atraído a atenção de pesquisadores interessados no desenvolvimento de novos métodos de tratamento de efluentes. Por meio deste processo, em condições amenas de temperatura e pressão, é possível chegar à completa mineralização de poluentes orgânicos.

O mecanismo da fotocatalise ocorre na superfície de um semicondutor (por exemplo: TiO_2). Este mecanismo envolve a ativação do semicondutor por luz solar ou artificial em comprimento de onda abaixo de 400 nm.

Um semicondutor é caracterizado por duas bandas: uma de condução (BC) e uma de valência (BV), sendo o intervalo entre elas chamado de “*bandgap*” (LINSEBIGLER et al., 1995). Uma representação esquemática deste modelo é mostrada na Figura 6. A reação fotocatalítica ocorre quando a separação de carga é induzida nessas bandas pela incidência de fótons com energia adequada (RIDEH et al., 1997). Os elétrons da banda de valência são promovidos para a banda de condução, deixando uma lacuna positiva (h^+) na banda de valência (ISUMI et al., 1980).

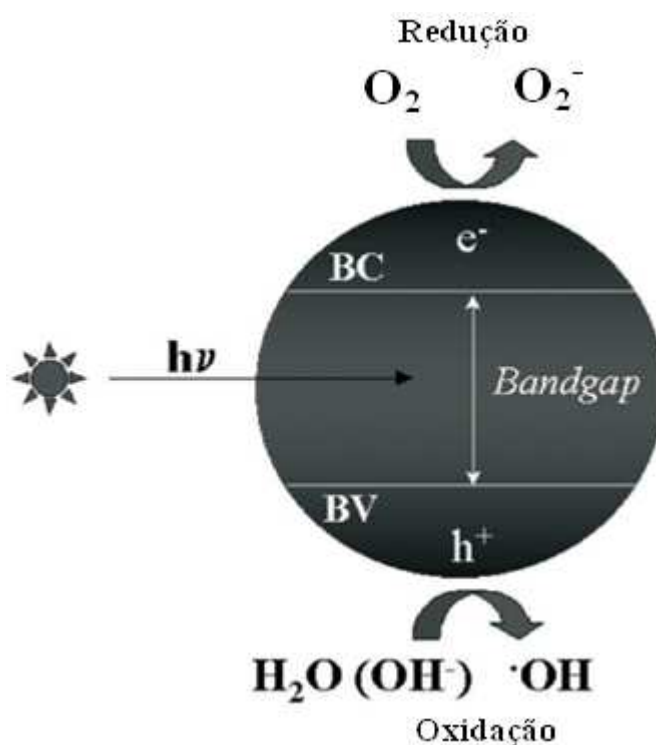


Figura 6. Modelo para fotoativação de um semicondutor (TAUCHERT e PERALTA-ZAMORA, 2004).

A lacuna positiva na banda de valência pode reagir com moléculas d'água ou com íons hidroxila adsorvidos na superfície para formar radicais hidroxila ($\bullet\text{OH}$). Os elétrons da banda de condução podem reduzir o oxigênio adsorvido gerando radicais peróxidos ($\bullet\text{O}_2^-$) que por sua vez também pode se desproporcionar para formar $\bullet\text{OH}$ por meio de várias rotas (GRÄTZEL, 1989).

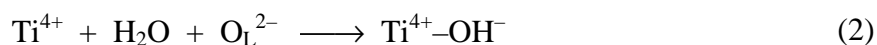
Durante o processo fotocatalítico, outros radicais contendo oxigênio podem ser formados, dentre eles se destacam o radical superóxido e o radical hidroperóxido (DIONYSIOU et al., 2000). Os elétrons também podem reagir diretamente com o contaminante via processos redutivos (JONES e WATTS, 1997). No entanto, ainda não existe consenso sobre qual é o principal caminho para geração de radicais livres. Contudo, a adsorção do substrato sobre a superfície do semicondutor é tido como a principal etapa da oxidação fotocatalítica (DUONGHONG et al., 1982; MALATO et al., 2009).

2.3.2. Mecanismo e Cinética

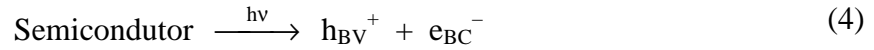
A oxidação fotocatalítica aparece como a tecnologia mais promissora para degradação e compostos orgânicos dentro dos processos oxidativos avançados (POAs), já existindo uma grande quantidade de informação disponível na literatura. As Equações 1–21 destacam as principais reações envolvidas neste processo (TEIXEIRA e JARDIM, 2004). O TiO_2 é o catalisador mais utilizado, e por essa razão, será utilizado na descrição deste processo.

O mecanismo pode ser dividido em 5 etapas principais: adsorção na partícula do catalisador, excitação do semicondutor, manutenção das cargas, recombinação das cargas e geração de radicais (ZIOLLI e JARDIM, 1998).

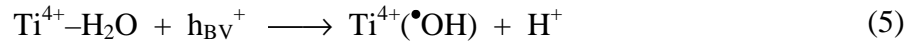
(i) *Adsorção na partícula do catalisador:*



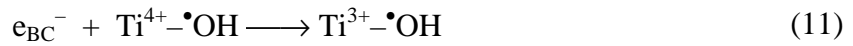
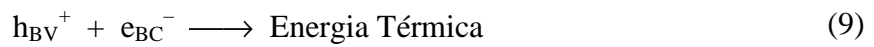
(ii) *Excitação do semicondutor:*



(iii) Manutenção das Cargas:

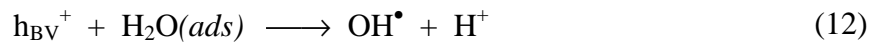


(iv) Recombinação das cargas:

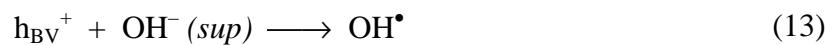


(v) Geração de radicais:

Reação entre a lacuna fotoegerada e a água adsorvida:



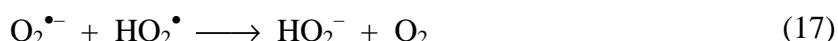
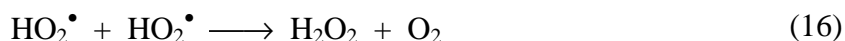
Reação entre a lacuna fotoegerada e os grupos OH⁻ na superfície da partícula do semi-condutor:



Formação do íon radical superóxido:



Formação do peróxido de hidrogênio:



Geração de radicais hidroxilas pela quebra de peróxido de hidrogênio:



Quebra da molécula de peróxido de hidrogênio via fotólise direta:



R_1 = Substrato

h^+ = lacuna fotogerada

e^- = elétron fotogerado

O_L^{2-} = Oxigênio do retículo do TiO_2

Como já foi citado anteriormente, nem todas as etapas do processo fotocatalítico são unanimidade entre os pesquisadores. No entanto, o processo de adsorção (Equações 1–3) à superfície do catalisador tem papel importante na oxidação fotocatalítica (DUONGHONG, 1982; AGUSTINA, 2005). Conseqüentemente, ao se analisar este tipo de processo, fatores como a estrutura cristalina do catalisador, morfologia e interface devem ser considerados, assim como as características do substrato(s) e as condições físico-químicas do meio (ZIOILLI e JARDIM, 2005).

A Figura 8 ilustra uma partícula de um semiconductor e os processos de excitação, manutenção das cargas e recombinação. As cargas opostas geradas pela fotoativação do semiconductor (Equação 4) podem se recombinar de acordo com a Equação 9, desativando o semiconductor e liberando energia na forma térmica. As lacunas foto geradas podem reagir com os substratos diretamente ou reagir com moléculas de água ou íons hidroxila adsorvidos, gerando radicais $\bullet\text{OH}$ (Equação 13). A redução do Ti^{4+} a Ti^{3+} também pode ser processada pelos elétrons gerados (Equação 7).

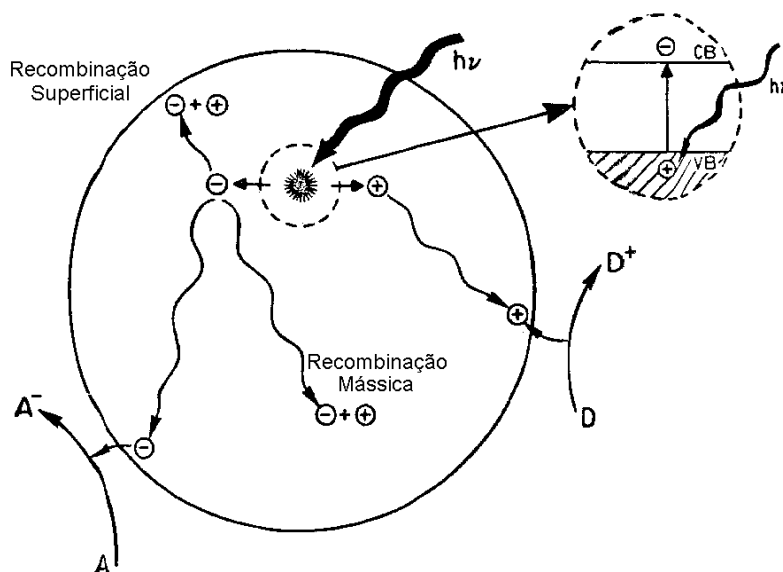


Figura 7. Etapas primárias do mecanismo fotocatalítico (LINSEBIGLER et al., 1995).

2.3.3. Variáveis que afetam a fotocatalise

De acordo com os estudos realizados até o momento, podem-se destacar nove parâmetros imprescindíveis ao se avaliar um sistema fotocatalítico: fotocatalisador, reator, comprimento de onda e fluxo radiante, concentração inicial do poluente, temperatura e pH.

Fotocatalisador

Um fotocatalisador ideal deve ter as seguintes características: (i) alta atividade química; (ii) estabilidade em diferentes condições físico-químicas; (iii) disponibilidade; (iv) baixo custo; e (v) baixa toxicidade. Vários semicondutores podem agir mediados por irradiação em reações redox, dentre eles: TiO_2 , WO_3 , CdS e ZnS . O TiO_2 é o que apresenta características mais favoráveis para aplicação em fotocatalise (CASSANO et al., 2000).

O TiO_2 existe em 3 formas alotrópicas distintas: rutilo, anatásio e brookita. No entanto, somente o rutilo e o anatásio são estáveis e utilizados em fotocatalise. O anatásio é a forma mais foto-ativa (MILLS e LEE, 2002).

Como já foi citada anteriormente, a recombinação elétron-lacuna é um fator limitante em reações fotocatalíticas. Visando diminuir este efeito, a mesclagem anatásio-rutilo e a dopagem do semicondutor com metais e nitrogênio têm alcançado grande sucesso (NOGUEIRA e JARDIM, 1998; CHOI et al., 2007).

Grande parte dos estudos publicados utilizam uma combinação de TiO_2 de 80% na forma anatásio e 20% na forma rutilo, chamada comercialmente de P25, fabricado pela Degussa (AUGUSTINA et al., 2005). Liu et al. 2009 avaliaram a eficiência de vários fotocatalisadores comparado com o P25 aplicado a degradação da microcistina-LR. O P25 apresentou o melhor desempenho para o processo.

Para sistemas nos quais o fotocatalisador encontra-se em suspensão, sua concentração é um fator extremamente importante, estando diretamente relacionada à quantidade de poluente disponível. O excesso de catalisador pode ocasionar a aglomeração de suas partículas e a opacidade do meio, dificultando a passagem de luz. Portanto existe uma concentração ótima para cada caso, as quais devem ser determinadas experimentalmente (ANDREOZZI et al., 2000; GOGATE et al., 2002). Os sistemas em suspensão possibilitam uma maior área de contato entre catalisador e substrato; no entanto, a recuperação do catalisador ao final do processo dificulta a sua aplicação em grande escala.

Para sistemas imobilizados deve-se maximizar a densidade do catalisador na superfície do suporte.

Comprimento de onda

Deve-se utilizar o comprimento de onda correspondente a energia de “*band gap*” do fotocatalisador. Para o TiO_2 esse valor é de 3,2 eV, correspondendo a um comprimento de onda de 387 nm (HERRMANN, 1999).

Esforços têm sido direcionados para utilização de luz solar como fonte de radiação para excitação do fotocatalisador (FEITZ et al., 2002). Já a dopagem do TiO₂ com nitrogênio para o aumento do comprimento de resposta tem mostrado excelentes resultados (CHOI et al., 1994; CHOI et al., 2007).

Concentração inicial do poluente

A relação ente degradação fotocatalítica e concentração inicial do poluente é característico de cada substrato, dependendo da sua natureza química e complexidade de compostos existentes no meio.

Este parâmetro também deve ser otimizado por meio de experimentos em laboratório, pois o excesso de substratos pode causar opacidade no meio e uma adsorção excessiva à superfície do catalisador, competindo com as moléculas d'água e os íons OH⁻.

Temperatura

Entre 20 e 80°C, a degradação fotocatalítica tem baixa dependência da temperatura (FOX e DULAY, 1993; HOFSTADLER et al., 1994; ANDREOZZI, 2000). Normalmente os sistemas têm sido operados em temperatura ambiente. Caso a temperatura venha a exceder os 80°C, devem ser adotados sistemas de refrigeração. Acima desta temperatura a isoterma de adsorção dos reagentes torna-se desfavorável com o aumento da entropia do solvente, podendo reduzir a energia de ativação do mesmo (MACHADO et al., 2003).

pH

Este parâmetro é governado pelo tipo de poluente e pelo pH de carga zero (pH₀) do fotocatalisador utilizado. Basicamente, devem ser avaliadas as interações entre a superfície do catalisador e o poluente. Essa interação (adsorção) geralmente é maximizada quando o meio apresenta um pH próximo do pH₀ do catalisador (FOX e DULAY, 1993). Para poluentes fracamente ácidos, tais como as microcistinas, a oxidação fotocatalítica é otimizada a baixos valores de pH, isso devido ao aumento da adsorção em condições ácidas (ANDREOZZI et al.,

2000). No entanto, além de importante, o efeito da variação do pH não pode ser generalizado, sendo necessário o estudo sistemático em laboratório para cada sistema.

Espécies iônicas

A presença de íons pode ter influência direta nos processos fotocatalíticos, alterando a adsorção do poluente sobre o catalisador, capturando radicais $\bullet\text{OH}$ e absorvendo radiação.

Os íons CO_3^{2-} e HCO_3^- capturam radicais $\bullet\text{OH}$ e também afetam o processo de adsorção à superfície do catalisador; o anion Cl^- absorve luz UV e afeta algumas etapas no processo de adsorção (WEI et al., 1990; YAWALKAR et al., 2001).

Segundo Yawalkar et al. (2001), os íons HCO_3^- tem o maior efeito negativo sobre a reação fotocatalítica, seguido pelos íons Cl^- , CO_3^{2-} e SO_4^{2-} , respectivamente.

Aceptores de elétrons

Segundo Yamazaki et al. (2001), a presença de aceptores de elétrons reduz a taxa de recombinação elétron-lacuna na superfície do semicondutor. Dijkstra et al. (2001) mostraram que a fotocatalise é extremamente afetada pela ausência de oxigênio no meio.

Além do oxigênio, outros compostos já foram utilizados como aceptores de elétrons; no entanto, a facilidade de aeração torna o oxigênio a alternativa mais viável.

2.3.4. Fotocatálise Heterogênea aplicada a degradação de Microcistina

Cerca de 70% dos trabalhos publicados sobre a degradação de microcistinas utilizando POAs usam a fotocatalise heterogênea como processo principal de geração de radicais hidroxila. Este processo tem-se mostrado bastante promissor para a degradação de cianotoxinas e a inativação de microrganismos patogênicos (SVRCEK e SMITH, 2004).

Utilizando a fotocatalise com TiO_2 , Robertson et al. (1997) e Shephard et al. (1998) estudaram a degradação de microcistinas YR, LR, YA. Mostraram que o catalisador TiO_2 é

fundamental para a degradação, sendo que a velocidade de degradação é diretamente proporcional à concentração do catalisador e do substrato.

Lawton et al. (2003) estudaram a adsorção das microcistinas LR, RR, LW e LF no catalisador TiO_2 como fator predominante para a degradação do substrato. O pH do meio reacional modifica a carga total das microcistinas, conseqüentemente influenciando sua adsorção no catalisador. A variação de carga também ocorre na superfície do TiO_2 de acordo com a mudança de pH, também influenciando na adsorção do substrato. Segundo Feitz et al. (1999), a fotocatalise usando UV/ TiO_2 é otimizada em meio ácido (pH 3,5).

Shephard et al. (2002) analisaram a degradação das microcistinas LR e RR por fotocatalise com TiO_2 imobilizado. A degradação da microcistina-RR foi mais sensível à variação de pH. O uso conjunto do TiO_2 imobilizado e de uma suspensão de TiO_2 foi mais eficiente na degradação quando comparado com a utilização de ambos isoladamente. O processo resultou na completa mineralização dos poluentes (considerando o limite analítico de 10 ng mL^{-1}). A degradação relativa em amostras de águas naturais é menor quando comparada com águas deionizadas. Tal efeito foi atribuído à matriz orgânica e aos íons inorgânicos presentes em águas sem tratamento, os quais podem capturar os radicais $\bullet\text{OH}$.

Lee et al. (2004) estudaram a oxidação da microcistina-LR em reator de leito fluidizado com TiO_2 e carbono ativado. Este sistema obteve grande sucesso na eliminação do poluente. No entanto, parte da microcistina pode ter ficado adsorvida ao carvão ativado e não ter sido degradada.

Liu et al. (2003) realizaram um estudo cinético da reação de degradação da MC-LR por fotocatalise com TiO_2 . A rota de degradação está associada a três mecanismos: fotólise pela radiação UV, ataque via radical hidroxila e oxidação. A clivagem do dieno conjugado Adda resulta em subprodutos atóxicos derivados da MC. Acredita-se que o dieno conjugado Adda é responsável pelo efeito tóxico das microcistinas e nodularinas (LIU et al., 2005; AN e CARMICHAEL, 1994; BARFORD e KELLER, 1994).

Tem sido demonstrado que, usando-se a fotocatalise com UV/ TiO_2 , mesmo quando a mineralização não é completa, o potencial tóxico das microcistinas é removido quase que por completo (LAWTON et al., 1999, LIU et al., 2003, LEE et al., 2004). Um dos grandes desa-

fos é aperfeiçoar sistemas fotocatalíticos que utilizem luz solar (visível) como fonte de radiação (BANDALA et al., 2004).

O reagente de Fenton também tem sido relatado na literatura na degradação de cianotoxinas (GAJDEK et al., 2001; BANDALA et al., 2004). Esse é um POA que consiste de um sistema catalítico, sendo composto de uma solução de H_2O_2 que reage com um sal de Fe^{+2} ou Fe^{+3} , em meio ácido, produzindo radicais $\cdot\text{OH}$.

A utilização de sistemas combinados utilizando H_2O_2 , reagente de Fenton e fotocátalise tem sido muito estudada para a degradação de micropoluentes (CORNISH et al., 2000; YUAN et al., 2006).

2.3.5. Outros POAs estudados para degradação de Microcistinas

A utilização dos sistemas $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, Ultra-som (US) e O_3 tem sido estudada para a degradação de cianotoxinas. No entanto, estes sistemas se mostraram, até o momento, menos eficientes do que os sistemas heterogêneos. Além disso, a separação final do catalisador é um problema que dificulta a utilização de sistemas fotocatalíticos homogêneos.

Qiao et. al. (2005) utilizaram o sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ para estudar a degradação da microcistina-RR. Este processo é o mais simples dos POAs, consistindo da quebra da molécula de peróxido de hidrogênio em dois radicais hidroxila, os quais reagem rápida e não-seletivamente com composto orgânicos (RODRIGUEZ et. al., 2000).

Brooke et al. (2006) e Onstad et. al. (2007) utilizaram o ozônio para a degradação das microcistinas LA, RA e LR. O problema deste sistema é que a quantidade de ozônio residual geralmente não é suficiente para degradar os micropoluentes.

2.3.6. Energia Solar

A escassez de energia e de fontes de água potável são amplamente reconhecidos como os grandes problemas do século XXI. O evidente aquecimento da atmosfera terrestre, provo-

cado pelo acúmulo de gases causadores do efeito estufa, e a escassez dos chamados combustíveis fósseis, vêm tornando cada vez maior a busca por fontes renováveis de energia. Nesse contexto, a energia solar se destaca como uma fonte limpa e renovável de energia e de ampla disponibilidade no Brasil.

Dentre as várias aplicações, o tratamento de água para consumo vem recebendo grande atenção de pesquisadores (Blanco et. al., 2008). O desenvolvimento de processos fotocatalíticos utilizando TiO_2 tem grande sucesso na redução de matéria orgânica e eliminação de poluentes orgânicos em baixa concentração (Feitz et al. 2002). Considerando-se que cerca de 5% da radiação solar que chega à superfície da Terra se encontra na faixa de absorção do TiO_2 , a utilização da luz solar parece ser viável para tal aplicação. Alguns trabalhos têm buscado reduzir o *band gap* do TiO_2 , aumentando conseqüentemente a faixa do espectro solar útil para degradação do poluente. O principal foco é a dopagem do TiO_2 com nitrogênio (CHOI et. al., 2007).

3. METODOLOGIA

3.1. Cianotoxina

Foi utilizada a [D-Leu]-microcistina-LR como composto-modelo para os estudos de degradação. Esta cianotoxina é uma variante da microcistina-LR. Sua escolha foi devida à sua ampla ocorrência nas florações de cianobactérias em águas brasileiras, além da sua alta toxicidade (MATTHIENSEN, 2000). Sua estrutura química está apresentada na Figura 8.

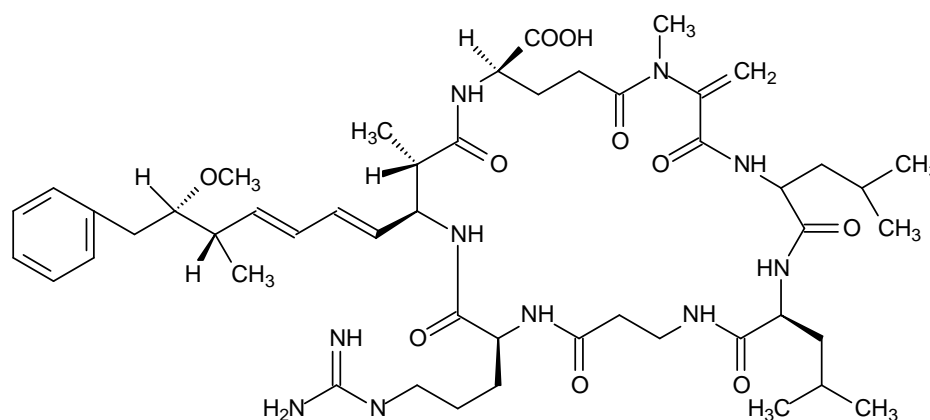


Figura 8. Fórmula estrutural da [D-Leu]-microcistina-LR.

3.1.1. Obtenção do Extrato de [D-Leu]-Microcistina-LR

O extrato contendo [D-Leu]-Microcistina-LR foi fornecido pelo Pesquisador Alessandro Minillo da Universidade Estadual Paulista, campus de Ilha Solteira, tendo sido seguindo o protocolo descrito a seguir.

Aquisição dos extratos com microcistina para o estudo

Os extratos de microcistina foram produzidos a partir de uma cepa de *Microcystis spp.* A cepa foi mantida em culturas descontínuas em garrações (4 L) em meio ASM-1, incubadas a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas (intensidade luminosa de $55 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e submetidas sob aeração em condições de esterilidade. Ao final da fase de crescimento exponencial das culturas (3 semanas), tendo sido obtida uma densidade da ordem de 10^7 células mL^{-1} , foram colhidas as células para a obtenção dos extratos com microcistina.

Extração de microcistina das culturas de *Microcystis spp*

Os extratos contendo microcistina foram obtidos a partir da concentração das células de *Microcystis spp* em centrífuga (10 min, 5.000 rpm, 20°C) e filtração destas em filtros de celulose GF/C (0,45 µm). As células concentradas foram expostas a uma solução de metanol 75% em volume por 18 horas no escuro a 4°C para a extração de microcistina. Essa solução foi centrifugada (10 min, 5.000 rpm, 20°C) para a remoção dos detritos celulares, sendo o sobrenadante estocado em freezer (- 20°C) até ser utilizada.

3.2. Reator Fotocatalítico

Nos estudos de degradação foi utilizada a configuração mostrada na Figura 9. O primeiro protótipo desse tipo de reator foi desenvolvido na UNICAMP por Kondo (1990) e examinado em detalhe por Nogueira (1995) e Nogueira e Jardim (1996). O reator consiste de uma placa de vidro recoberta com TiO₂ colocada em um suporte voltado para a linha do Equador com uma inclinação de 22°.

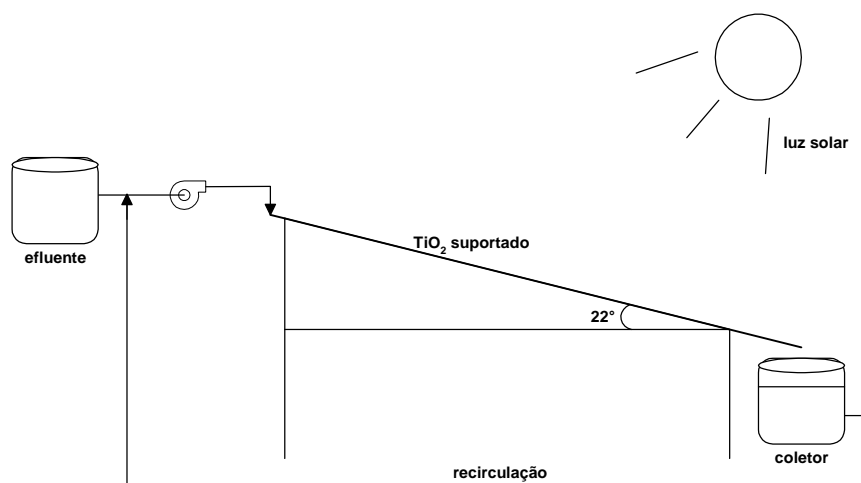


Figura 9. Esquema do reator solar de leito fixo e filme delgado (Nogueira e Jardim, 1996).

3.2.1. Fixação do Catalisador

A imobilização do TiO₂ foi realizada em uma placa de vidro jateado. Inicialmente esta placa foi limpa, utilizando detergente e ácido nítrico a 10% em volume. Utilizando-se um borrifador, aplicou-se uniformemente uma suspensão de TiO₂ a 1% massa por volume com

pH = 3 à placa de vidro. Em seguida, a placa foi seca em uma estufa a 100°C. Esse procedimento foi repetido 10 vezes.

O filme de TiO₂ resultante foi avaliado por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As análises de MEV foram realizadas em um Microscópio LEO modelo 440 com detector de elétrons secundários, tensão de 15 kV e pressão de 1 Pa. As superfícies foram presas a um porta-amostras de alumínio por meio de uma fita dupla face. Em seguida, uma fina camada de tinta prata foi cuidadosamente aplicada nas extremidades do substrato para aumentar o contato elétrico.

3.2.2. Funcionamento do Reator

O reator foi operado no modo de batelada com reciclo. O vaso de mistura tem um volume útil de um litro e meio, armazenando todo efluente sendo tratado sob contínua agitação. O efluente chega a uma pingadeira colocada no topo da placa (que contém o fotocatalisador imobilizado) impulsionado por uma bomba centrífuga (bomba esta colocada no interior de um circuito em by-pass para que se faça o controle da vazão). O efluente então escoar pela placa e é recolhido de volta para o vaso de mistura (Figura 10).



Figura 10. Reator utilizado solar utilizado

Como, em experimentos solares, a evaporação da água na superfície da placa é bastante significativa, construiu-se um sistema semi-automático de reposição da água perdida por

evaporação de forma a se manter o volume tratado constante. Esse sistema consiste de um reservatório com água, uma válvula solenóide e um sensor de nível, o qual é reajustado manualmente a cada retirada de amostra.

A irradiância e o espectro da luz solar durante os experimentos foram medidos com o auxílio do espectrorradiômetro StellarNet EPP2000C, sendo o sensor embutido na placa para que ficasse no mesmo ângulo de incidência solar.

Nos experimentos de adsorção, foi colocada uma tampa que se encaixa perfeitamente à placa do reator de forma que os experimentos foram conduzidos totalmente no escuro. Nos experimentos de fotólise, utilizou-se outra placa de vidro jateado na qual não foi feita a deposição do filme de TiO₂.

3.2.3. Ensaio de Degradação

A concentração inicial de [D-Leu]-Microcistina-LR utilizada foi de 10 µg L⁻¹, pH 3 e com uma vazão de 6 mL s⁻¹. Essa concentração de [D-Leu]-Microcistina-LR foi escolhida de forma a representar um cenário no qual se tivesse dez vezes mais microcistina do que o valor indicado pela OMS como limite em água para consumo humano. O pH 3 é descrito por diversos pesquisadores como ótimo para máxima interação entre o catalisador e o toxina (LIU et al. 2009). A vazão foi definida a partir de experimentos prévios nos quais ela foi variada, tendo-se escolhido a que forneceu a maior degradação. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.3. Análises

3.3.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Foi utilizado um cromatógrafo Agilent série 1200 nas seguintes condições: coluna Zorbax C-18 da Agilent (250 mm × 4,6 mm × 5 µm). Utilizou-se um gradiente linear de eluição com a fase móvel constituída de água, acetonitrila (ACN) e ácido trifluoroacético (TFA), conforme mostrado na Tabela 3. A vazão foi de 1,0 mL min⁻¹ e a temperatura do forno foi de 25°C. O detector DAD foi ajustado para λ = 238 nm. Esse protocolo é uma adaptação do

procedimento desenvolvido por Meriluoto e Spoof (2005). A ACN e o TFA foram fornecidos pela JT Baker, grau HPLC, e a água foi ultra-purificada em sistema Millipore MilliQ.

Tabela 3. Gradiente utilizado com a fase móvel nas análises de CLAE.

Tempo (min)	Solvente A (TFA 0,05% em ACN)	Solvente B (TFA 0,05% em água)
0,0	25	75
5,0	70	30
5,9	70	30
6,7	25	75
10	25	75

Após a otimização das condições cromatográficas, foram preparadas soluções diluídas nas concentrações de 0,8, 3,0, 6,0, 8,0 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ a partir de uma solução concentrada (1 mg L^{-1}). As amostras foram concentradas 100 vezes quando 100 mL foram levados à secura completa em rota-evaporador e recuperados com 1 mL de TFA 0,05% em metanol.

O método foi validado determinando-se a linearidade, a precisão e o limite de quantificação (LOQ), de acordo com o método proposto pela ANVISA (2003). Para a construção da curva-padrão foi utilizado um extrato de [D-Leu]-Microcistina-LR com concentração conhecida. A diluição foi realizada com água ultrapurificada para se obter as concentrações de 1,0, 4,0, 6,0, 8,0 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$.

A linearidade da resposta do detector para os padrões preparados foi avaliada por meio da análise da regressão linear, correlacionando-se as concentrações de cada padrão, medidas em $\mu\text{g L}^{-1}$, e o fator de resposta (FR) (área do pico correspondente dividida pela área de [D-Leu]-Microcistina-LR correspondente).

3.3.2. Carbono Orgânico Total

O grau de mineralização foi determinado por análises de carbono orgânico total. Elas foram realizadas em analisador de carbono da Shimadzu, modelo TOC-VCPH.

3.3.3. Teste de Toxicidade com Camundongos

A hepatotoxicidade das amostras foi determinada por meio de ensaios *in vivo* usando-se ratos como organismos-teste de acordo com o protocolo apresentado por Heresztyn e Nicholson (2001). Os testes foram realizados no Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva (UFSCar).

As microcistinas têm efeito tóxico agudo em animais, com LD₅₀ por injeção intraperitoneal de aproximadamente de 50 µg kg⁻¹ de massa corpórea em 24 h (CHEN, 2006).

A fim de se entrar na faixa da DL₅₀, as amostras foram concentradas 150 vezes. Foram utilizados 20 camundongos fêmeas “Swiss-albinos” para cada dose (massa média: 23 g), sendo um volume de 1,5 mL de extrato aplicado intraperitonealmente. Os controles foram realizados com a aplicação de solução fisiológica.

3.3.4. Fosfatase Alcalina

Inúmeros trabalhos indicam que as microcistinas promovem tumores hepáticos pela inibição das proteínas fosfatases PP1A e PP2A (HERESZTYN e NICHOLSON, 2001; HONKANEN, 1990). Esta reação de inibição é o mecanismo do teste utilizado para avaliar a diminuição da atividade da [D-Leu]-Microcistina-LR.

Utilizou-se um kit colorimétrico (marca Doles) para a determinação de fosfatases no soro, no plasma e em outros líquidos biológicos, o qual foi adaptado para testes com o efluente do presente trabalho. Esse kit segue a metodologia de Bessey-Lowry.

A amostra é incubada com *p*-nitrofenilfosfato, sal ciclohexilamina (substrato). Sob a ação das fosfatases, dá-se a hidrólise do sal com a liberação de *p*-nitrofenol. Com a adição de soda à reação e a conseqüente alcalinização do meio, o *p*-nitrofenol liberado torna-se amarelo. A atividade de fosfatase é proporcional à quantidade de *p*-nitrofenol neo-formado.

Para cada amostra foram identificados dois tubos de ensaios como B (branco) e T (teste). Em cada tubo adicionou-se 0,4 mL do substrato e 2 gotas do tampão pH 10,3. Os tubos foram então colocados em banho-maria a 37°C durante 2 min. Ao tubo T adicionaram-se 50 µL de amostra, colocando-se em seguida ambos os tubos em banho-maria a 37°C por 10 min. Adicionaram-se então a cada tubo 5 mL da solução de hidróxido de sódio e, ao tubo B, mais 50 µL de amostra. Após homogeneização, foram realizadas leituras em um espectrofotômetro Jasco V-630 a 410 nm.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Imobilização e Caracterização do TiO_2 em placa de vidro

Seguindo a metodologia apresentada no item 3.3.1, procedeu-se à imobilização do TiO_2 na placa de vidro jateada. Em seguida, por meio de análises de MEV, passou-se a verificar as características do filme depositado. A Figura 11 mostra uma microfotografia indicando dois pontos distintos nos quais foi utilizada uma sonda de EDX (Espectroscopia Dispersiva de Energia por Raios-X) para a análise elementar semi-quantitativa. Os resultados dessas análises são apresentados na Figura 12.

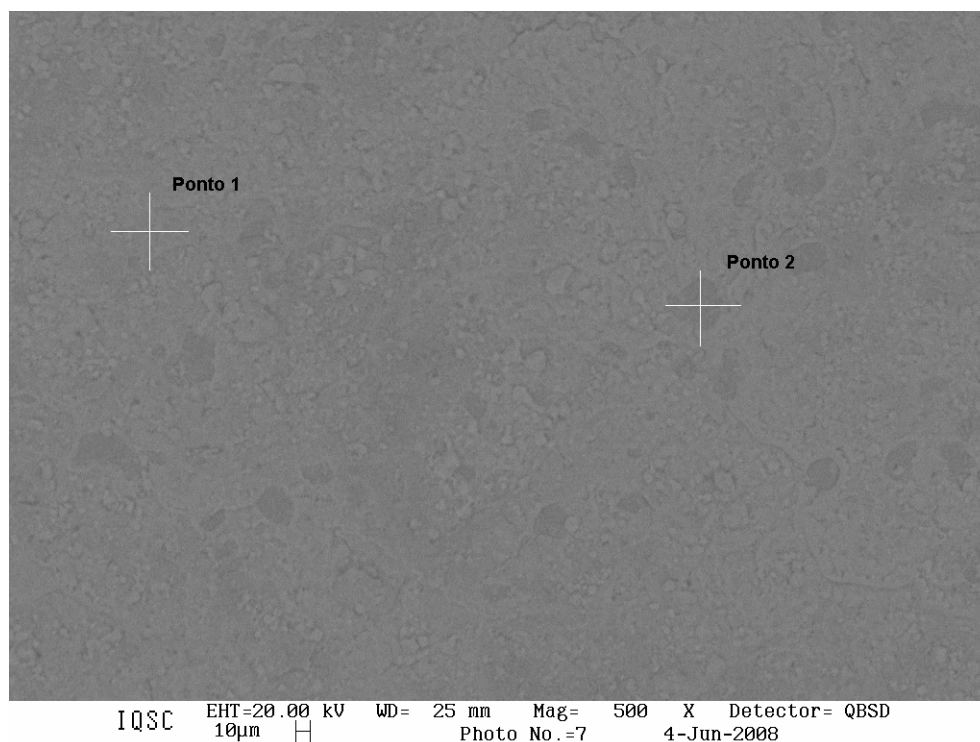


Figura 11. Microfotografia (MEV) com resolução de 500 vezes. Os Ponto 1 e 2 referem-se às análises semi-quantitativas por EDX realizadas

Pela análise da composição química obtida, pode-se notar que, independentemente da morfologia da superfície, houve um recobrimento adequado da placa com o TiO_2 . Percebe-se claramente os picos relativo ao titânio, elemento que não se encontra inicialmente no vidro.

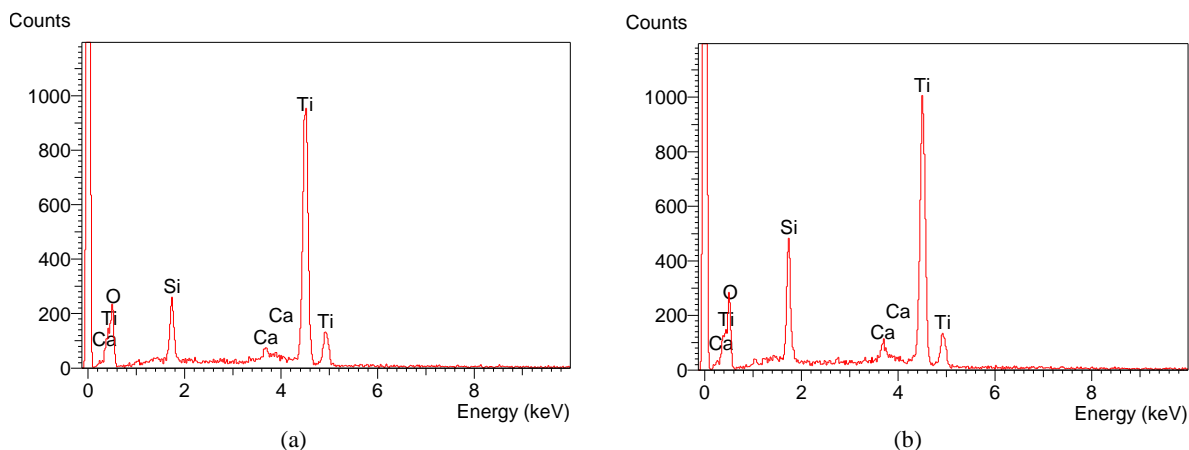


Figura 12. Análise elemental do filme formado na placa por EDX: (a) ponto 1 e (b) ponto 2 da Figura 11.

Em seguida, foram realizados testes nos quais o procedimento de imobilização foi repetido por 10, 20 e 30 vezes. A Figura 13 apresenta as microfotografias correspondentes. Foi observado um recobrimento para os três testes mas, com o aumento do número de aplicações, a quantidade de TiO_2 que não esta ligado quimicamente à superfície do vidro aumentou. Essa massa poderia ser retirada facilmente pela movimentação do fluido no reator. Assim, optou-se pela placa com 10 aplicações da solução 1% de TiO_2 .

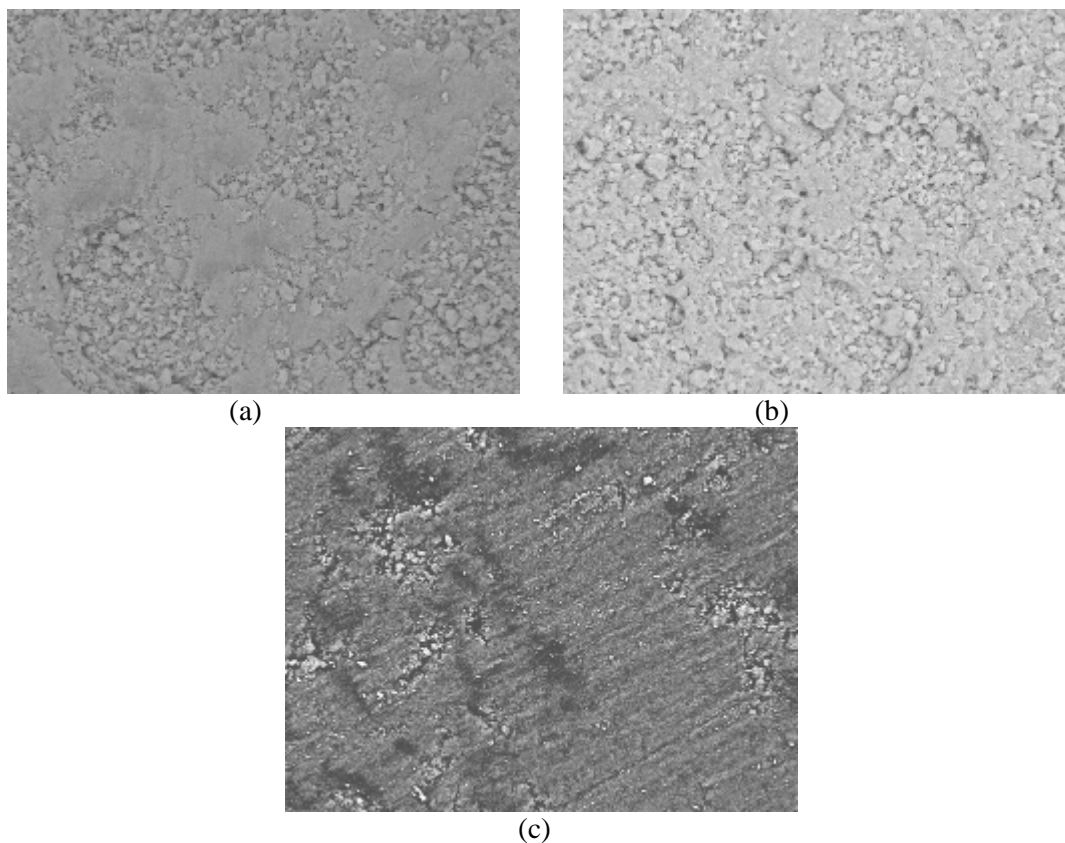


Figura 13. Microfotografias (MEV) com resolução de 500 vezes. Número de aplicações da solução de TiO_2 a 1%: (a) 10, (b) 20 e (c) 30.

Por fim, os dados obtidos a partir da função Line Scan do MEV foram tratados com os Softwares OriginLab 7.1 e Un-Scan-It. A Figura 14 apresenta então um exemplo típico da topologia encontrada na superfície do vidro recoberta com TiO₂.

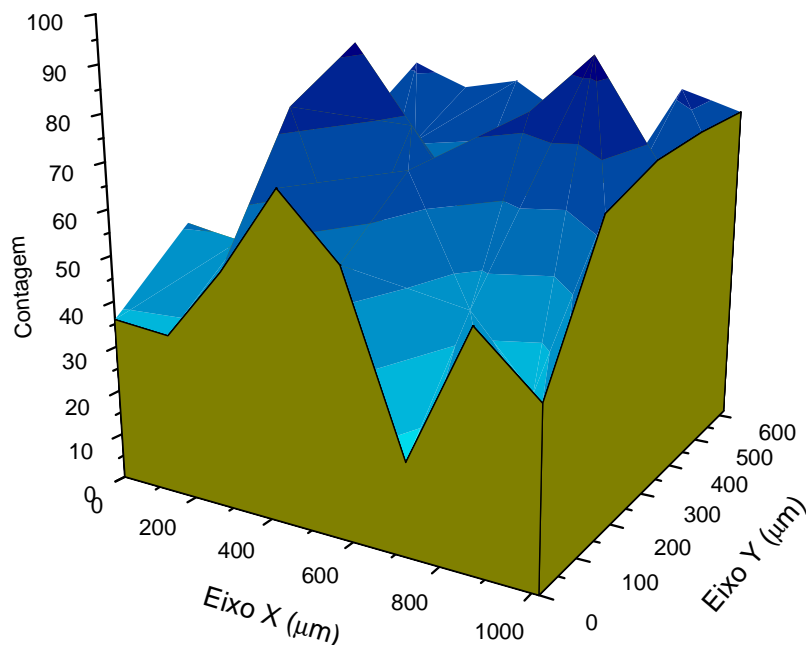
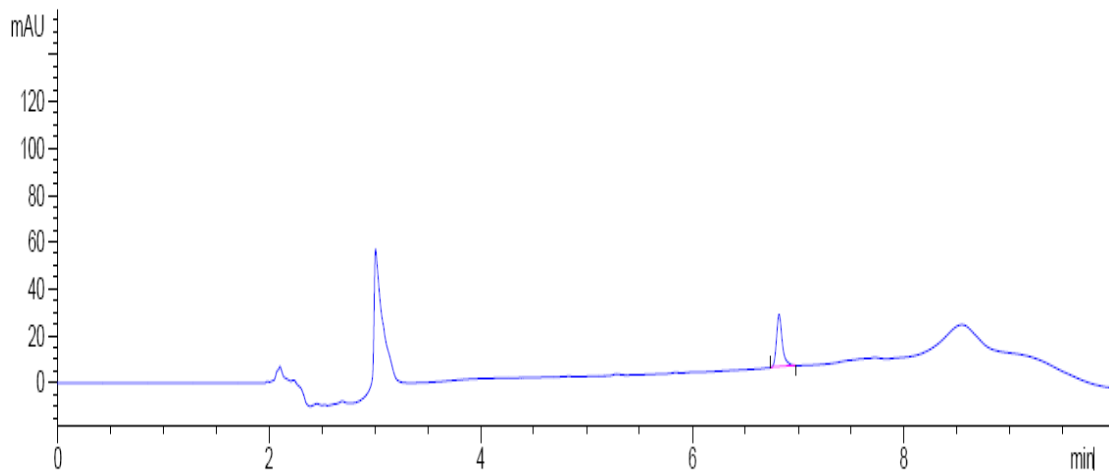


Figura 14. Topologia típica da superfície da placa com 10 aplicações de solução 1% TiO₂

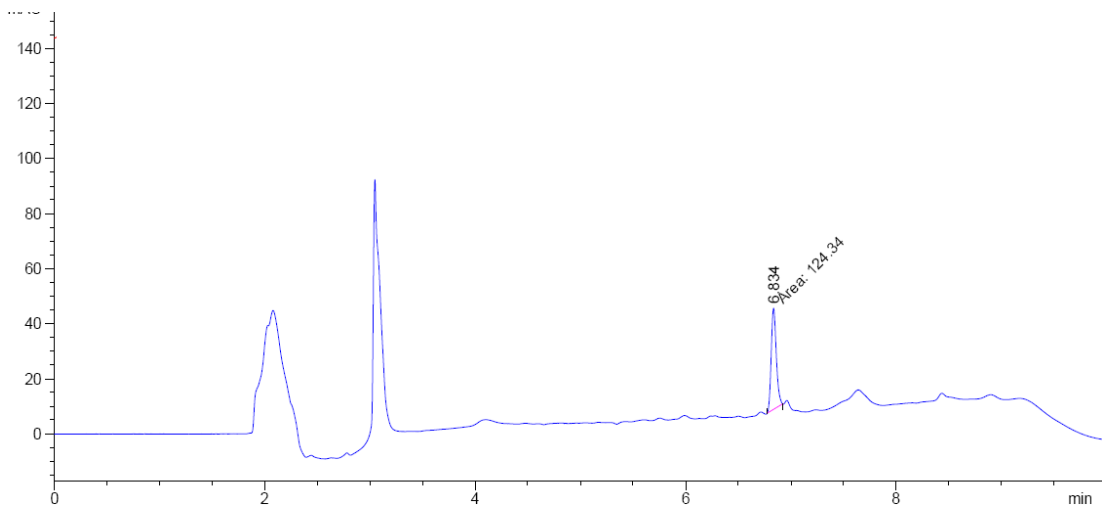
4.2. Validação do Método de Quantificação da [D-Leu]-Microcistina-LR

Após serem testadas diferentes condições cromatográficas para a determinação da [D-Leu]-Microcistina-LR, obteve-se a melhor resolução dos picos utilizando-se as condições citadas no item 3.2.1.

Adotando-se estas condições para a confecção da curva analítica, foi possível resolver bem a [D-Leu]-Microcistina-LR das demais substâncias existentes no extrato. Como pode ser observado nos cromatogramas apresentados na Figura 15, verifica-se que identifica-se apenas o pico da [D-Leu]-Microcistina-LR. O qual é confirmado pelo espectro UV apresentado na Figura 16.



(a)



(b)

Figura 15. Cromatogramas obtidos: (a) padrão e (b) extrato de [D-Leu]-Microcistina-LR.

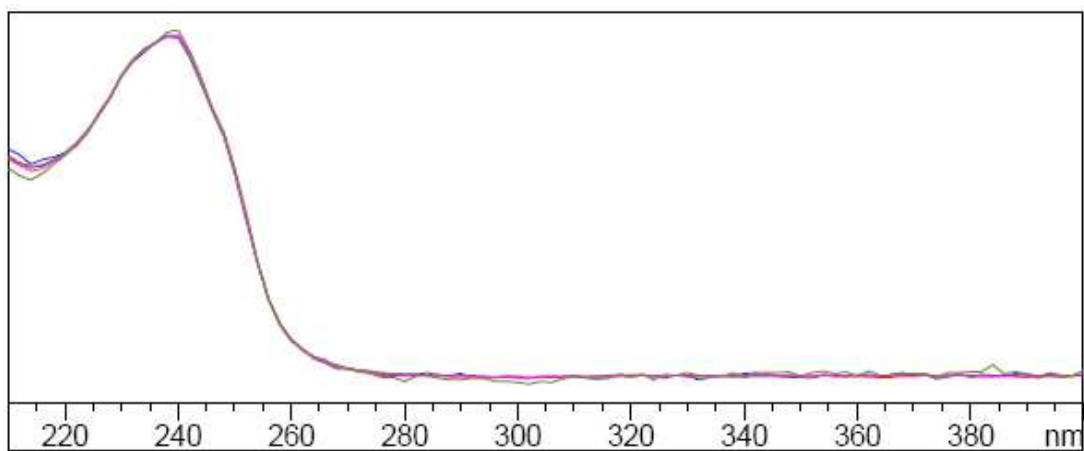


Figura 16. Espectro UV do pico com t_R de 6,8 min ([D-Leu]-Microcistina-LR).

Para a confecção da curva analítica, foram preparadas cinco soluções-padrão, nas concentrações de 0,8, 3,0, 6,0 8,0 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, que foram então injetadas no cromatógrafo em triplicada.

O método de regressão linear foi aplicado para a obtenção da curva analítica. A Figura 17 apresenta a curva obtida para a [D-Leu]-Microcistina-LR.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2003) recomenda um coeficiente de determinação igual a 0,99.

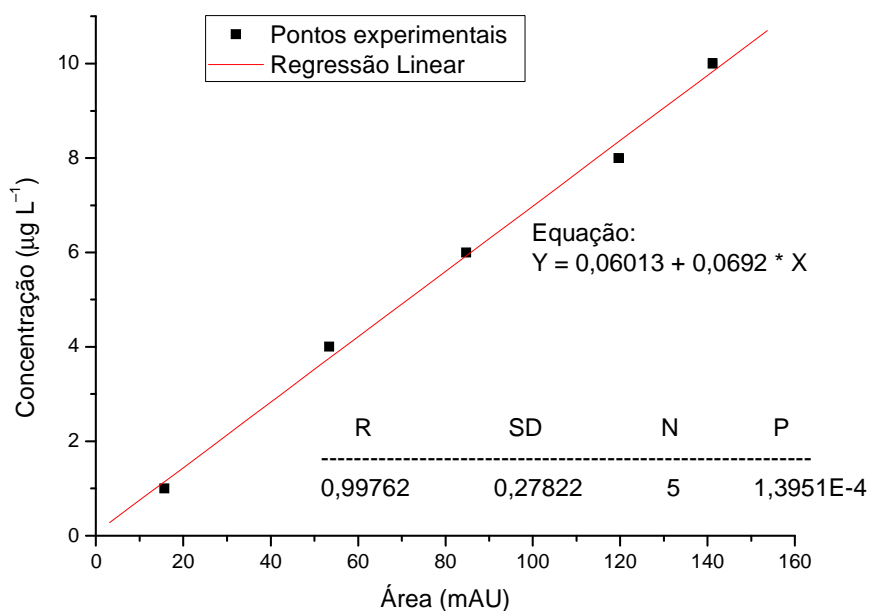


Figura 17. Curva analítica obtida para a [D-Leu]-Microcistina-LR.

Como o coeficiente de determinação encontrado foi igual a 0,995, a linearidade do método para a [D-Leu]-Microcistina-LR, na faixa de concentrações estudada, foi considerada adequada.

Para avaliar a recuperação da [D-Leu]-Microcistina-LR foram utilizados três níveis de fortificação. A recuperação deve estar entre 75 e 115% para que o método possa ser considerado adequado (ANVISA, 2003).

Os resultados de recuperação média estão apresentados na Tabela 4. Verifica-se que foram obtidos níveis de recuperação em torno de 100% para a [D-Leu]-Microcistina-LR nos

três níveis de fortificação testados. Portanto, foi considerado o método apropriado para aplicação desejada no presente trabalho.

Tabela 4. Valores de recuperação obtidos nos diferentes níveis de fortificação com [D-Leu]-Microcistina-LR.

Composto	Concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração média encontrada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
[D-Leu]-Microcistina-LR	10,0	9,90	99,0
[D-Leu]-Microcistina-LR	6,00	5,98	100,0
[D-Leu]-Microcistina-LR	2,00	2,01	100,5

4.3. Análises Cromatográficas

A Figura 18 apresenta um conjunto típico de cromatogramas obtidos durante os experimentos de degradação solar da [D-Leu]-Microcistina-LR (tempo de retenção de 6,8 min).

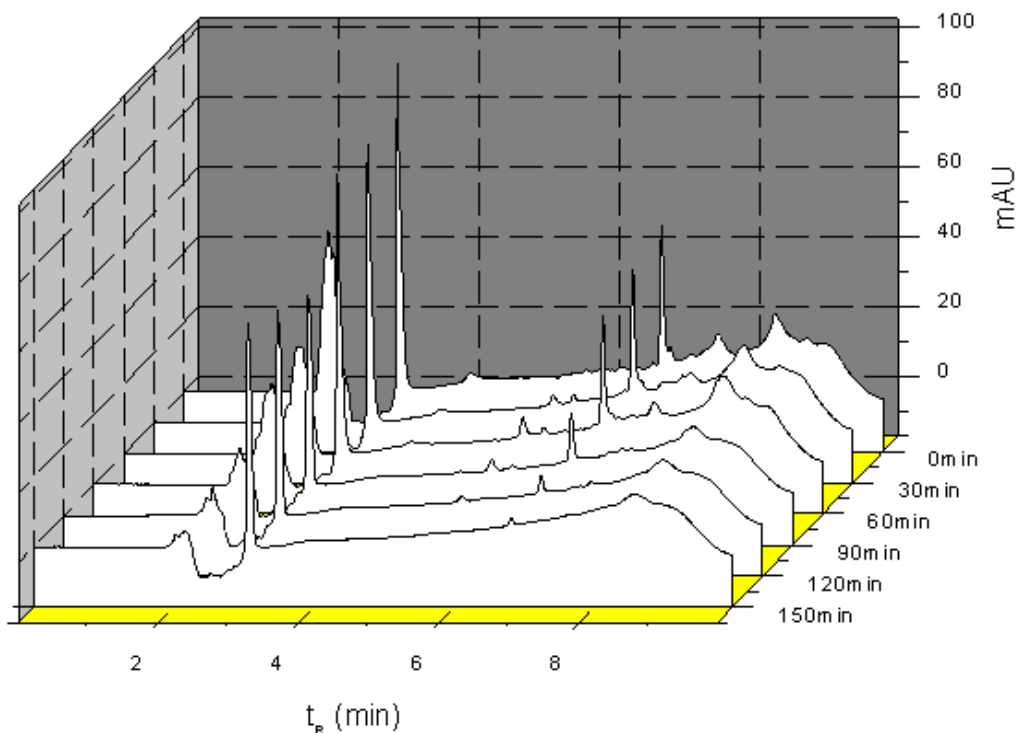


Figura 18. Cromatogramas obtidos durante a degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR.

A partir da Figura 18, duas observações podem ser feitas. A primeira é que se percebe o surgimento de picos entre os tempos de retenção de 5 e 6 min, os quais podem estar ligados à formação de intermediários na reação de degradação. A segunda é que não só o pico da toxina

como os demais tiveram a sua área diminuída, inclusive aqueles referentes aos intermediários, corroborando o fato conhecido de que a fotocatalise é uma tecnologia não-seletiva.

A partir das áreas dos picos da [D-Leu]-Microcistina-LR obtidas nos cromatogramas, montou-se um gráfico onde se observa o perfil bruto de degradação, conforme apresentado na Figura 18a. Pôde-se observar que foi necessário um tempo de tratamento de 150 min para que a concentração da toxina fosse reduzida aos valores exigidos por lei ($1,0 \mu\text{g L}^{-1}$).

Em seguida, tomou-se o cuidado de corrigir os dados em função da variação de volume circulante no reator. Como o volume inicial foi de 1,6 L e cada alíquota foi de 0,200 L, ao longo do tempo de operação do reator o volume foi diminuindo de forma significativa. Isso fez com que o número de passes da solução na placa do reator fosse paulatinamente incrementado, propiciando uma degradação maior do que a real. Calculou-se então o número de passes após cada retirada de alíquota e os dados foram normalizados em função deste parâmetro. O resultado obtido encontra-se na Figura 18b. Pode-se verificar que o perfil do gráfico não se alterou significativamente.

Por último, procurou-se corrigir os dados também pela energia incidente durante os experimentos. Isso se torna fundamental para que se possam comparar experimentos realizados em dias diferentes, em estações do ano diferentes, em condições de cobertura do céu diferentes etc. Para tal, analisaram-se os espectros obtidos com o auxílio do espectrorradiômetro durante as corridas. Os dados de irradiância foram divididos em faixas, de forma a se verificar em qual delas havia uma correlação adequada com os dados de degradação. Foram elas: UV-C (200 a 280 nm), UV-B (280 a 315 nm), UV-A (315 a 400 nm), UV (200 a 400 nm), Visível (400 a 700 nm) e Total (200 a 700 nm). Verificou-se, então, que a única faixa que se correlacionou com os dados experimentais foi a UV-A ($R^2 = 0,9999$). Esse resultado está de acordo com a região de absorção do TiO_2 ($\lambda < 387 \text{ nm}$) e com a pequena quantidade de energia incidente nas regiões do UV-C e do UV-B. O resultado final encontra-se na Figura 18c. Analisando as Figuras 18 (a), (b) e (c) pode-se verificar uma mudança significativa no perfil do gráfico de degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR. Este fato mostra a importância dos parâmetros de correção para análise do processo.

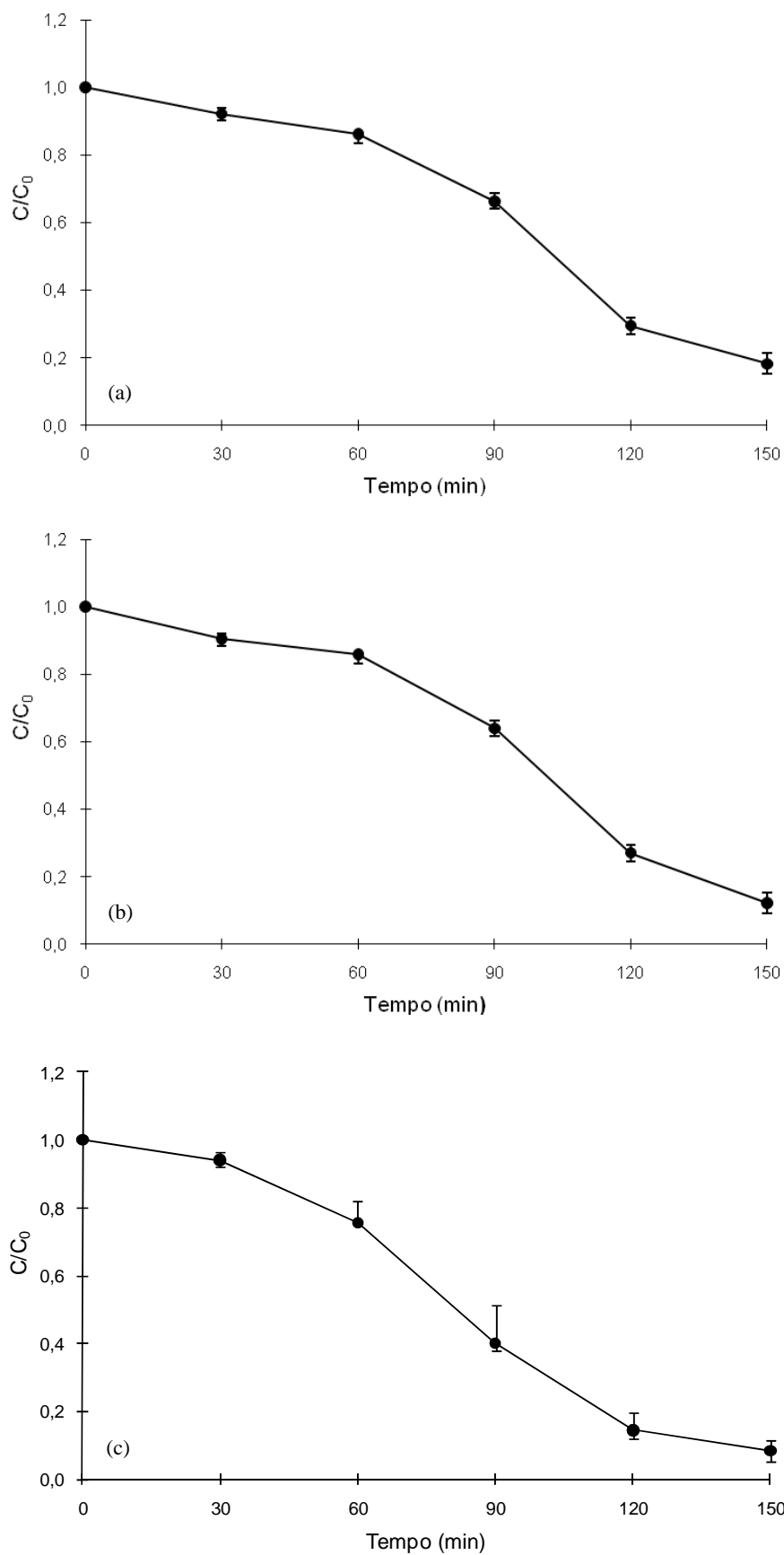


Figura 18. Degradação relativa da [D-Leu]-Microcistina-LR: (a) dados brutos; (b) dados com correção do nº de passes; (c) dados com correção do nº de passes e da energia incidente (UV-A).

Vários autores estudaram a degradação da microcistina-LR por fotocatalise, a maioria usando luz UV (ROBERTSON et al., 1997; SHEPHARD et al. 1998; LAWTON et al. 2003; LIE et al. 2004; LIU et al., 2003; LIU et al., 2005; YOU et al., 2006). Entretanto, como as concentrações utilizadas variam de 100 a 1.000 vezes à utilizada neste trabalho, torna-se difícil uma comparação direta dos graus de remoção alcançados. Por outro lado, os resultados obtidos neste estudo são mais próximos de uma situação real, por se ter usado concentrações de microcistina próximas daquelas encontradas no meio ambiente (CARMICHAEL et al., 2001; VIEIRA et al., 2005; GIANE et al., 2005; WANG et al., 2007).

Pelaez et al. (2009) estudaram a utilização da luz visível ($\lambda > 420$ nm) no processo fotocatalítico com TiO₂ dopado com nitrogênio e flúor, tendo sido alcançada uma degradação de 60% em 120 min, ainda com altas concentrações iniciais de microcistina.

4.4. Análises de Carbono Orgânico Total

O grau de mineralização obtido pelo processo empregado foi avaliado por meio das análises de COT. Os dados obtidos são mostrados na Figura 19, na qual as mesmas correções quanto ao número de passes e à energia incidente foram feitas.

Observa-se que se obteve uma mineralização de aproximadamente 90% até os 90 min de tratamento. A partir daí, a concentração de carbono orgânico permaneceu praticamente constante, até os 150 min. Verifica-se, então, que a fotocatalise heterogênea solar foi eminente destrutiva, não só para a toxina, mas também para os demais componentes do extrato e dos compostos de degradação gerados. Considerando que o extrato utilizado contém uma concentração de matéria orgânica mais elevada que a concentração do contaminante.

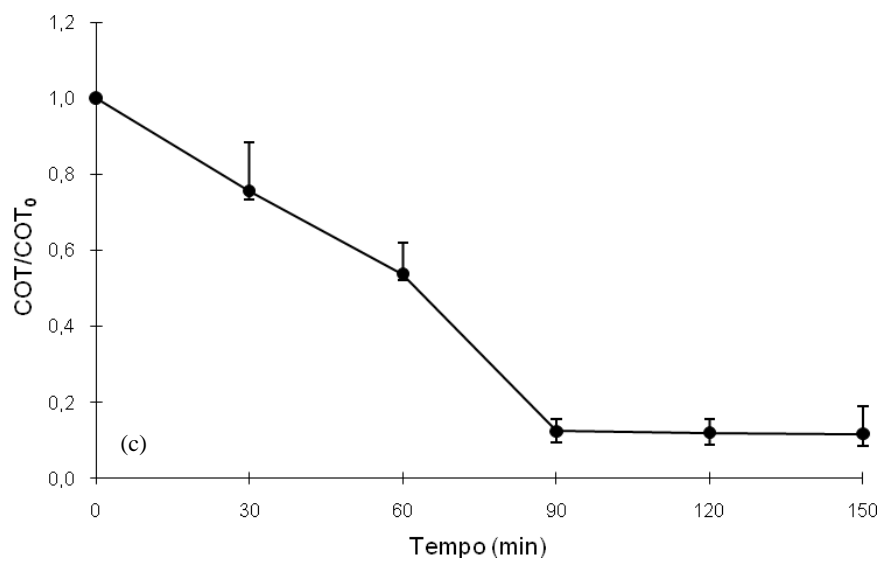
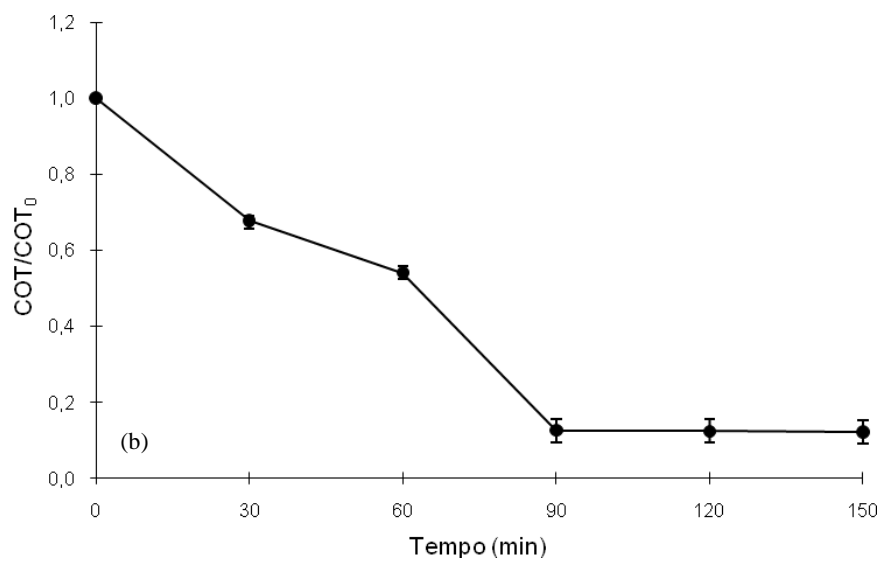
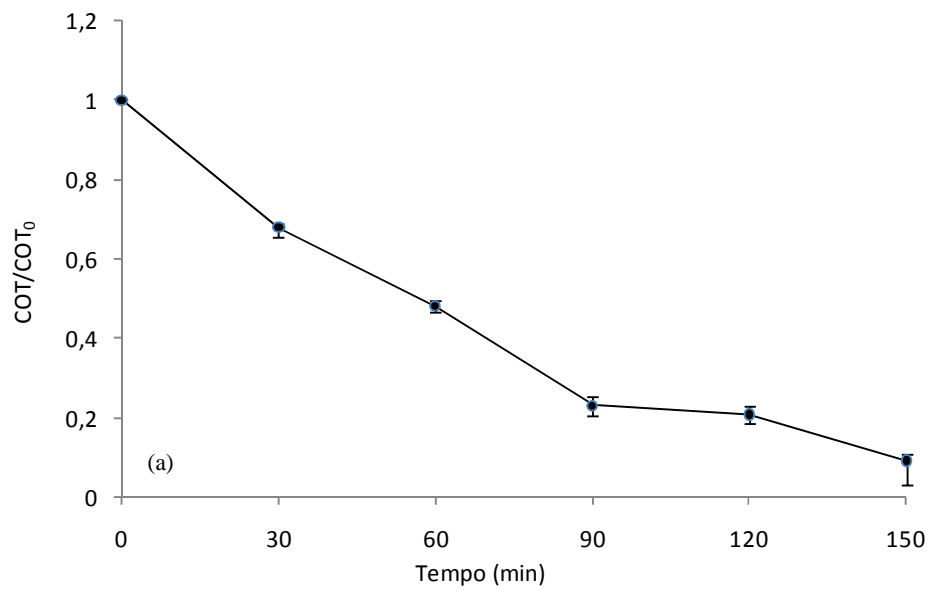


Figura 19. Mineralização relativa da [D-Leu]-Microcistina-LR: (a) dados brutos; (b) dados com correção do n° de passes; (c) dados com correção do n° de passes e da energia incidente (UV-A).

4.5. Análises de toxicidade utilizando-se camundongos

A Tabela 5 resume os resultados obtidos nas análises de toxicidade. Concentrando-se a amostra 150 vezes foi possível injetar algo em torno de 900 μg amostra kg^{-1} de massa corpórea. Assim, a mortalidade, em 24 horas, no grupo que recebeu a amostra inicial do reator, foi de 75%, apresentando grande elevação na massa média do fígado (8,14%). Já nos grupos que receberam as amostras tratadas, não foi observado efeito em 24 horas. Também não foi percebido o aumento da massa do fígado. Este resultado demonstra que a fotocatalise heterogênea, com o uso da luz solar, foi capaz de remover a toxicidade da solução inicial de [D-Leu]-Microcistina-LR e, ainda, que não foram gerados produtos tóxicos resultantes da degradação da toxina.

Tabela 5. Resultados dos testes de toxicidade com camundongos.

Grupo	Massa dos Camundongos (g)	Estado	Massa do Fígado (% da Massa do Camundongo)	% Média de Aumento do Fígado
① Amostra Final	23	vivo	6,47	5,79
	22	vivo	5,36	
	22	vivo	5,55	
	22	vivo	6,23	
② Amostra Final	23	vivo	6,17	5,87
	26	vivo	5,65	
	25	vivo	5,24	
	23	vivo	6,43	
③ Amostra Final	22	vivo	5,91	6,21
	22	vivo	6,59	
	21	vivo	6,14	
	21	vivo	6,20	
④ Amostra Inicial	28	vivo	5,53	8,14
	29	morto	8,86	
	26	morto	9,30	
	26	morto	8,85	
⑤ Amostra-Controle	19	vivo	6,42	6,24
	21	vivo	5,76	
	17	vivo	6,88	
	20	vivo	5,90	

4.6. Análises de inibição da fosfatase

A Figura 20 apresenta o gráfico da absorvância no comprimento de onda de 410 nm em função do tempo. Como esta medida é proporcional à inibição da fosfatase pela [D-Leu]-Microcistina-LR, verifica-se que houve uma diminuição deste efeito ao longo do tratamento, existindo ainda um efeito inibitório residual.

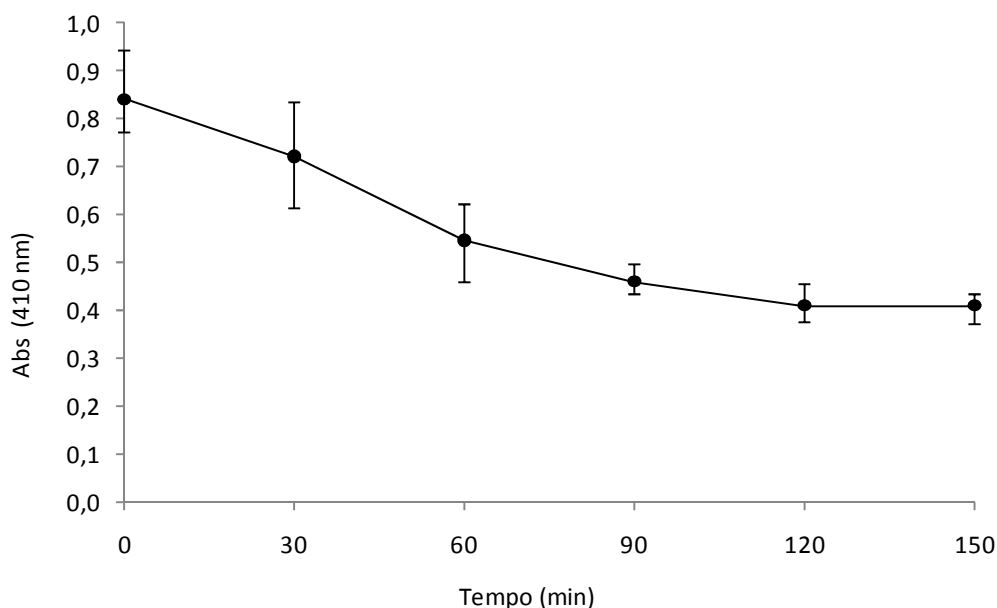


Figura 20. Inibição da fosfatase em função do tempo (amostras fotocatalisadas).

Esse resultado não era esperado, já que a degradação da [D-Leu]-Microcistina-LR acompanhada pela CLAE e o teste de toxicidade com camundongos mostraram que a toxina foi eliminada com sucesso. No entanto, a manutenção desse residual de inibição da proteína fosfatase pode estar relacionada com a persistência de subprodutos da reação também capazes de inibi-la. Esses, portanto, poderiam provocar o mesmo efeito crônico que a [D-Leu]-Microcistina-LR em mamíferos quando submetidos a pequenas doses por longos períodos, ou seja, câncer hepático (NISHIWAKI-MATSUSHIMA et al., 1992; DAWSON, 1998).

Em um estudo desenvolvido por Antoniou et al. (2009), foi utilizada a fotocatalise com luz UV ($\lambda = 365$ nm) atingindo-se uma degradação total da microcistina-LR em 250 min para uma concentração inicial de $800 \mu\text{g L}^{-1}$, além da total inibição da proteína fosfatase. Estima-se que, caso tivessem sido empregados tempos maiores no tratamento da [D-Leu]-Microcistina-LR, resultados semelhantes teriam sido alcançados.

5. CONCLUSÃO

A contaminação por micropoluentes em água potável é um fator de risco que a sociedade moderna esta descobrindo com o desenvolvimento de novos métodos analíticos capazes de detectar quantidades cada vez menores do contaminante. Muito destes poluentes emergentes têm sido relacionados a diversas enfermidades, fato que tem despertado um grande interesse pelos métodos não-convencionais de tratamento que transformem tais poluentes em compostos inócuos. Neste cenário, a fotocatalise se destaca como uma metodologia eficiente para a descontaminação de água para consumo.

A utilização da energia solar neste processo se destaca por se tratar de uma fonte limpa e inesgotável. O Brasil por estar em uma posição geográfica privilegiada possui ampla possibilidade de utilização da energia solar, embora seja ainda pouco explorada.

O presente trabalho destaca o uso da fotocatalise solar como uma tecnologia efetivamente destrutiva, não somente para [D-Leu]-Microcistina-LR, como também para matéria orgânica presente no extrato utilizado. Os testes de toxicidade apresentaram o efetivo desaparecimento de efeitos agudos além de uma possível redução nos efeitos crônicos relacionados ao aparecimento de câncer de fígado pela inibição da proteína fosfatase.

O reator solar de placa plana se mostrou eficiente para o processo. A utilização de um sistema de reposição da água evaporada foi fundamental para se avaliar a real taxa de degradação da microcistina. Além disso, a medição da energia incidente no reator em todo o espectro solar se mostrou de fundamental importância para o estudo e o desenvolvimento desta tecnologia.

Os resultados mostraram que apenas a energia incidente na faixa do UV-A é significativa para a ativação do catalisador. Esse fato é uma desvantagem, pois a radiação UV-A é uma pequena porção do espectro solar. Essa desvantagem seria contornada pelo uso de catalisadores com resposta estendida para a região do visível.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

A tecnologia estudada neste trabalho apresentou-se potencialmente viável para o emprego em escalas maiores. Para que tal ocorra, alguns desenvolvimentos seriam necessários:

- O desenvolvimento de novos fotocatalisadores que absorvam energia em comprimentos de onda maiores, de forma a se aproveitar melhor a energia solar.
- Um estudo hidrodinâmico do reator visando a sua operação sem reciclo, de forma a aumentar o volume tratado no tempo.
- A realização de testes de toxicidade crônica, de forma a se certificar da segurança biológica do efluente tratado.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUSTINA, T. E.; ANG, H. M.; VAREEK, V. K. A review of synergistic effect of photocatalysis and ozonation on wastewater treatment. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 6, n. 4, p. 264-273, 2005.
- AN, S.; CARMICHAEL, W. W. Use of a colorimetric protein phosphatase inhibition assay and enzyme-linked-immunosorbent-assay for the study of microcystins and nodularins. **Toxicon**, v. 32, n. 12, p. 1495-1507, 1994.
- ANDREOZZI, R.; CAPRIO, V.; INSOLA, A.; MAROTTA, R. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. **Catalysis Today**, v. 53, n. 1, p. 51-59, 2000.
- ANTONIOU, M.G.; NICOLAOU, P.A.; SHOEMAKER, J.A.; DE LA CRUZ, A.A.; DIONYSIOS, D.D. Impact of the morphological properties of TiO₂ photocatalytic films on the detoxification of water contaminated with the cyanotoxin, microcystin-LR. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 91, p. 165-173, 2009.
- AZEVEDO, S. M. F. O. Toxic cyanobacteria and the Caruaru tragedy. In: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TOXICOLOGIA, 4., **Livro de resumos...**, p. 84, 1996.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos"; fica revogada a Resolução RE nº 475, de 19 de março de 2002. Diário Oficial da União, Brasília, 2 jun. 2003a. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15132&word>>. Acesso em: 10 set. 2008.
- BAGU, J. R.; SYKES, B. D.; CRAIG, M. M.; HOLMES, C. A molecular basis for different interactions of marine toxins with protein phosphatase-1 – Molecular models for bound motu-porin, microcystins, okadaic acid, and calyculin A. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 8, p. 5087-5097, 1997.
- BALCIOGLU, I. A.; ALATON, I. A.; OTKER, M.; BAHAR, R.; BAKAR, N.; IKIZ, M. Application of advanced oxidation processes to different industrial wastewaters. **Journal of Environmental Science Health Part A – Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering**, v. 38, n. 8, p. 1587-1596, 2003.
- BALCIOGLU, I. A.; OTKER, M. Treatment of Pharmaceutical wastewater containing antibiotics by O₃ and O₃/H₂O₂ processes. **Chemosphere**, v. 50, n. 1, p. 85-95, 2003.
- BANDALA, E. R.; MARTÍNEZ, D.; MARTÍNEZ, E.; DIONYSIOU, D. D. Degradation of microcystin-LR toxin by Fenton and Photo-Fenton processes. **Toxicon**, v. 43, n. 7, p. 829-832, 2004.
- BANKER, R.; CARMELI, S.; HADAS, O.; TELTSCH, B.; PORAT, R.; SUKENIK, A. Identification of cylindrospermopsin in *Aphanizomenon ovalisporum* (Cyanophyceae) isolated from Lake Kinneret, Israel. **Journal of Phycology**, v. 33, n. 4, p. 613-616, 1997.
- BARD, C. **Química Ambiental**. Porto Alegre: Bookman, 2004. 622 p.

BARFORD, D.; KELLER, J. C. Cocrystallization of the catalytic subunit of the serine threonine specific protein phosphatase-1 from human in complex with microcystin-LR. **Journal of Molecular Biology**, v. 235, n. 2, p.763-766, 1994.

BELL, S.; CODD, G. Cyanobacterial toxins and human health. **Reviews in Medical Microbiology**, v. 5, n. 4, p. 256-264, 1994.

BLANCO, J.; MALATO, S.; FERNÁNDEZ-IBÁÑEZ, P.; ALARCÓN, D.; GERNJAK, W.; MALDONADO, M. I. Review of feasible solar energy applications to water processes. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 13, n. 6-7, p. 1437-1445, 2009.

BOUVY, M.; MOLICA, R.; OLIVEIRA, S.; MARINHO, M.; BEKER, B. Dynamics of toxic cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis raciborskii*) in a shallow reservoir in the semi-arid region of northeast Brazil. **Aquatic Microbial Ecology Journal**, v. 20, n. 3, p. 285-297, 1999.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. Qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Ministério da Saúde. Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/dab/docs/legislacao/portaria518_25_03_04.pdf>. Acesso em: 18 abr, 2008.

BROOKE, S.; NEWCOMBE, G.; NICHOLSON, B.; KLASS, G. Decrease in toxicity of microcystins LA and LR in drinking water by ozonation. **Toxicon**, v. 48, n. 8, p. 1054-1059, 2006.

CAMPOS, M.; FADDEN, P.; ALMS, G.; QIAN, Z.; HAYSTEAD, T. A. J. Identification of protein phosphatase-1-binding proteins by microcystin-biotin affinity chromatography. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 45, p. 28478-28484, 1996.

CARMICHAEL, W. W. The Cyanotoxins. **Advances in Botanical Research Journal**, v. 27, p. 211-256, 1997.

CARMICHAEL, W. W. The toxins of cyanobacteria. **Scientific American Journal**, v. 270, n. 1, p. 78-86, 1994.

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

CARMICHAEL, W. W.; BEASLEY, V. R.; BUNNER, D. L.; ELOFF, J. N.; HALCONER, I. R.; GORHAM, I. R.; HARADA, K. I.; YU, M. J.; KRISHNAMURTHY, T.; MOORE, R. E.; RINEHART, K. L.; RUNNEGAR, M. T. C.; SKULBERG, O. M.; WATANABE, M. Naming of cyclic heptapeptide toxins of cyanobacteria (blue-green algae). **Toxicon**, v. 26, n. 11, p. 971-973, 1988.

CARMICHAEL, W. W.; NA, J. S.; AZEVEDO, S. M. F. O.; LAU, S.; RINEHART, K. L.; JOCHIMSEN, E. M.; HOLMES, C. E. M.; SILVA, J. B. Analysis for microcystins involved in outbreak of liver failure and death of humans at a hemodialysis center in Caruaru, Pernambuco, Brazil. In: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TOXICOLOGIA, 4., 1996, **Anais...** Recife, Sociedade Brasileira de Toxicologia, 1996. 105 p.

CASSANO, A. E.; ALFANO, O. M. Reaction engineering of suspended solid heterogeneous photocatalytic reactors. **Catalysis Today**, v. 58, n. 2-3, p. 167-197, 2000.

CHEN, Y.M.; LEE, T.H.; LEE, S.J.; HUANG, H.B.; HUANG, R.; CHOU, H.N. Comparison of protein phosphatase inhibition activities and mouse toxicities of microcystins. **Toxicon**, v. 47, n. 7, p. 742-746, 2006

CHOI, H.; ANTONIOU, M. G.; PELAEZ, M.; DE LA CRUZ A. A.; SHOEMAKER, J. A.; DIONYSIOU, D. D. Mesoporous nitrogen-doped TiO₂ for the photocatalytic destruction of the cyanobacterial toxin Microcystin-LR under visible light irradiation. **Environmental Science and Technology**, v. 41, n. 21, p. 7530-7535, 2007.

CHOI, W. Y.; TERMIN, A.; HOFFMANN, M. R. Effects of metal-ion dopants on the photocatalytic reactivity of quantum-sized TiO₂ particles. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 33, n. 10, p. 1901-1092, 1994.

CHORUS, I. **Cyanotoxins: occurrence, causes, consequences**. Berlin: Springer Publishers Heidelberg, 2001. 357 p.

CHORUS, I.; BARTRAM, J. **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. New York: E & FN Spon, 1999. p.167.

CLAEYSSENS, S.; CHEDEVILLE, A.; LAVOINNE, A. Inhibition of protein phosphatases activates glucose-6-phosphatase in isolated rat hepatocytes. **FEBS Letters**, v. 315, n. 1, p. 7-10, 1993.

CLAEYSSENS, S.; FRANÇOIS, A.; CHEDEVILLE, A.; LAVOINNE, A. A Microcystin-LR induced an inhibition of protein synthesis in isolated rat hepatocytes. **Biochemical Journal**, v. 306, p. 693-696, 1995.

CONTE, S. M.; RABELO, I. M. M.; GIORDANI, A. T.; DEWES, W. Ocorrência de *Cylindrospermopsis raciborskii* nas bacias hidrográficas dos rios dos Sinos e Caí, RS-Brasil. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 27. 2000, **Anais...** Recife: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000. p. 211.

DAWSON, R. M. The toxicology of microcystins. **Toxicon**, v. 36, n. 7, p. 953-962, 1998.

DEZOTTI, M. **Técnicas de Controle Ambiental em efluentes líquidos: Processos Oxidativos Avançados**. Escola Piloto Virtual, PEQ, COPPE, UFRJ, Rio de Janeiro, 2003. 50 p.

DIJKSTRA, M. F. J.; BUWALDA, H.; DE JONG, A. W. F.; MICHORIUS, A.; WINKELMAN, J. G. M.; BEENACKERS, A. A. C. M. Experimental comparison of three reactor designs for photocatalytic water purification. **Chemical Engineering Science**, v. 56, n. 2, p. 547-555, 2001.

- DIONYSIOS, D. D.; KHODADOUST, A. P.; KERN, A. M.; SUIDAN, M. T.; BAUDIN, I.; LAÏNÉ, J. M. Continuous-mode photocatalytic degradation of chlorinated phenols and pesticides in water using a bench-scale TiO₂ rotating disk reactor. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 24, n. 3-4, p. 139-155, 2000.
- DOKULL, M. T.; TEUBNER, K. Cyanobacterial dominance in lakes. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 438, n. 1-3, p. 1-12, 2000.
- DUONGHONG, D.; RAMSDEN, J. GRATZEL, M. Dynamics of interfacial electron-transfer processes in colloidal semiconductor systems. **Journal of the American Chemical Society**, v. 104, n. 11, p. 2977-2985, 1982.
- EDZWALD, J. K. Algae, bubbles, coagulants, and dissolved air flotation. **Water Science and Technology**, v. 27, n. 10, p. 67-81, 1993.
- ERIKSSON, J. E.; TOIVOLA, D.; MERILUOTO, J. A. O.; KARAKI, H.; HAN, Y. G.; HARTSHORNE, D. Hepatocyte deformation induced by cyanobacterial toxins reflects inhibition of protein phosphatases. **Biochemical Biophysical Research Communications**, v. 173, n. 3, p. 1347-1353, 1990.
- ESTEVEZ, F. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 315 p.
- FALCONER, I. R. Tumor promotion and injury caused by oral consumption of cyanobacteria. **Environmental Toxicology Water Quality**, v. 6, n. 2, p. 177-184, 1991.
- FALCONER, I.R. (1994). Health implications of Cyanobacterial (blue-green algae) toxins. In : **Toxic Cyanobacteria current status of research and management**. Editor: STEFFENSEN, D.A. & NICHOLSON, B.C. Adelaide: Proceedings of an International Workshop, 1994. 483 p.
- FAWELL, J. K.; MILLER, D. G. UK drinking-water — a European comparison. **Journal of the Institution of Water Environmental Management**, v. 8, n. 1, p. 76-83, 1994.
- FEITZ, A. J.; WAITE, T. D. Kinetic Modeling of TiO₂-catalyzed photodegradation of trace levels of microcystin-LR. **Environmental Science and Technology**, v. 37, n. 3, p. 561-568, 2003.
- FEITZ, A. J.; WAITE, T. D.; BOYDEN, B. H.; JONES, G. J. Solar pilot-scale photocatalytic degradation of microcystin-LR. **Journal of Advanced Oxidation Technologies**, v. 5, n. 1, p. 22-26, 2002.
- FEITZ, A. J.; WAITE, T. D.; JONES, G. J.; BOYDEN, B. H.; ORR, P. I. Photocatalytic degradation of the blue green algal toxin microcystin-LR in a natural organic-aqueous matrix. **Environmental Science and Technology**, v. 33, n. 2, p. 243-249, 1999.
- FELIX, M. A.; COHEN, P.; KARSENTI, E. CDC H1 kinase is negatively regulated by a type-2A phosphatase in the *Xenopus* early embryonic-cell cycle: evidence from the effects of okadaic acid. **The EMBO Journal**, v. 9, n. 3, p. 675-683, 1990.
- FOX, M. A. ; DULAY, M. T. Heterogeneous Photocatalysis. **Chemical Reviews**, v. 93, n. 1, p. 341-357, 1993.

- FRANCIS, G. Poisonous Australian lake. **Nature**, v. 18, n. 444, p. 11–12, 1878.
- FUJISHIMA, A.; HONDA, K. Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. **Nature**, v. 238, n. 7, p. 37–38, 1972.
- GAJDEK, P.; LECHOWSKI, Z.; BOCHNIA, T.; KEPCZYNSKI, M. Decomposition of microcystin-LR by Fenton oxidation. **Toxicon**, v. 39, n. 10, p. 1575-1578, 2001.
- GIANE, A.; BIRD, D.F.; PRAIRIE, Y.T.; LAWRENCE, J.F. Empirical study of cyanobacterial toxicity along a trophic gradient of lakes. **Canadian Journal Fisheries and Aquatic Sciences**. v.62, p.2100-2109, 2005.
- GOGATE, P. R.; MUJUMDAR, S.; PANDIT, A. B. A sonophotochemical reactor for the removal of formic acid from wastewater. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 41, n. 14, p. 3370-3378, 2002.
- GOGATE, P. R.; PANDIT, A. B. A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions. **Advances Environmental Research**, v. 8, n. 3-4, p. 501-551, 2004.
- GOLDBERG, J.; HUANG, H. B.; KWON, Y. G.; GREENGARD, P.; NAIRN, A. C.; KURIYAN, J. Three-dimensional structure of the catalytic subunit of protein serine/threonine phosphatase-1. **Nature**, v. 376, n. 6543, p. 745-753, 1995.
- GRÄTZEL, M. **Heterogeneous Photochemical Electron Transfer**. Boca Raton: CRC Press, 1989. 230 p.
- HAIDER, S.; NAITHANI, V.; VISWANATHAN, P. N.; KAKKAR, P. Cyanobacterial toxins: a growing environmental concern. **Chemosphere**, v. 52, n. 6, p. 1-21, 2003.
- HARADA, K. I.; OHTANI, I.; IWAMOTO, K.; SUZUKI, M.; WATANABE, M. F.; WATANABE, M.; TERAOKA, K. Isolation of cylindrospermopsin from a cyanobacterium *Mezocricoides natans* and its screening method. **Toxicon**, v. 32, n. 1, p. 73-84, 1994.
- HARADA, K. I.; TSUJI, K.; WATANABE, M. F. Stability of microcystins from cyanobacteria. III. Effect of pH and temperature. **Phycologia**, v. 35, n. 6, p. 83-88, 1996.
- HERESZTYN, T.; NICHOLSON, B. C. Determination of cyanobacterial hepatotoxins directly in water using a protein phosphatase inhibition assay. **Water Research**, v. 35, n. 13, p. 3049–3046, 2001.
- HERRMANN, J. Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants. **Catalysis Today**, v. 53, n. 1, p. 115-129, 1999.
- HOFSTADLER, K.; BAUER, R.; NOVALIC, S.; HEISLER, G. New reactor design for photocatalytic waste-water treatment with TiO₂ immobilized on fused-silica glass-fibers - photomineralization of 4-chlorophenol. **Environmental Science and Technology**, v. 28, n. 4, p. 670-674, 1994.

HONKANEN, R. E. Cantharidin, another natural toxin that inhibits the activity of serine/threonine protein phosphatases types 1 and 2A. **FEBS Letters**, v. 330, n. 3, p. 283-286, 1993.

HONKANEN, R. E.; ZWILLER, J.; MOORE, R. E.; DAILY, S. L.; KHATRA, B. S.; DUKELOW, M.; BOYNTON, A. L. Characterization of microcystin-LR, a potent inhibitor of type 1 and type 2A protein phosphatases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 265, n. 32, p. 19401-19404, 1990.

HOOSER, S. B.; BEASLEY, V. R.; LOVELL, R. A.; CAMICHAEL, W. W.; HASCHEK, W. M. Toxicity of microcystin-LR, a cyclic heptapeptide from *Microcystis aeruginosa*, to rats and mice. **Veterinary Pathology**, v. 26, n. 3, p. 246-252, 1989.

HSIAO, C.-Y.; LEE, C.-L.; OLLIS, D. F. Heterogeneous photocatalysis: degradation of dilute solutions of dichloromethane (CH₂Cl₂), chloroform (CHCl₃), and carbon tetrachloride (CCl₄) with illuminated TiO₂ photocatalyst. **Journal of Catalysis**, v. 82, n. 2, p. 418-423, 1983.

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

HYENSTRAND, P. **Factors influencing the success of pelagic cyanobacteria**. 1999. 50 f. Tese – Uppsala University, Uppsala, 1999.

HYENSTRAND, P.; BLOMQVIST, P.; PETTERSSON, A. Factors determining cyanobacterial success in aquatic systems – a literature review. **Advances in Limnology 51 – Lake Erken – 50 Years of Limnological Research**, v. 51, p. 41-62, 1998.

ITO, E.; KONDO, F.; HARADA, K-I. Hepatic necrosis in aged mice by oral administration of microcystin-LR. **Toxicon**, v. 36, n. 2, p. 231-239, 1997.

IZUMI, I.; DUNN, W. W.; WILBOURN, K. O.; FAN, F. R. F.; BARD, A. J. Heterogeneous photocatalytic oxidation of hydrocarbons on platinized TiO₂ powders. **Journal of Physical Chemistry**, v. 84, v. 24, p. 3207-3210, 1980.

JARDIM, F. A.; FONSECA, Y. M. F.; AZEVEDO, S. M. F. O. A ocorrência de *Microcystis viridis* e *Cylindrospermopsis raciborskii* tóxicas em um manancial da COPASA-MG. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FICOLOGIA, 8, 1999. Porto de Galinhas/PE. **Anais...** Sociedade Brasileira de Ficologia, 1999. p. 17

JOCHIMSEN, E. M.; CARMICHAEL, W. W.; AN, J. S.; CARDO, D. M.; COOKSON, S. T.; HOLMES, C. E. M.; ANTUNES, M. B. C.; MELO FILHO, D. A.; LYRA, T. M.; BARRETO, V. S.; AZEVEDO, S. M.; JARVIS, W. R. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. **The New England Journal Medicine**, v. 338, n. 13, p. 873-878, 1998.

JONES, A. P.; WATTS, R. J. Dry phase titanium dioxide-mediated photocatalysis: Basis for in situ surface destruction of hazardous chemicals. **Journal of Environmental Engineering**, v. 123, n. 10, p. 974-981, 1997.

JONES, G. J.; NEGRI, A. P. Persistence and degradation of cyanobacterial paralytic shellfish poisons (PSPs) in freshwaters. **Water Research**, v. 31, n. 3, p. 525-33, 1997.

KAUR, K.; BOTT, R.R.; HEATHCOTE, G.R.; KEAY, G.; LEADBEATER, B.S. Treatment of algal-laden water pilot plant experiences. **Journal of the Institution of Water and Environmental Management**, v. 8, n. 1, p. 22-32, 1994.

KEIJOLA, A. M.; HIMBERG, K.; ESALA, A. L.; SIVONEN, K.; HIISVIRTA, L. Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: Laboratory and pilot-scale experiments. **Journal of Toxicology Assessment**, v. 3, n. 6, p. 643-656, 1998.

KELETI, G.; SYKORA, J. L. Production and properties of cyanobacterial endotoxins. **Applied Environmental Microbiology**, v. 43, n. 1, p. 104-109, 1982.

KONDO, M. M., **Fotodegradação de compostos orgânicos por fotocatalise heterogênea**. 1990. 141 f. Dissertação (mestrado) – Universidade de Campinas, Campinas, 1990.

LAMBERT, T. W.; BOLAND, M. P.; HOLMES, C. F. B.; HRUDEY, S. E. Quantitation of the microcystin hepatotoxins in water at environmentally relevant concentrations with the protein phosphate bioassay. **Environmental Science and Technology**, v. 28, n. 4, p. 753-755, 1994.

LAWTON, L. A.; ROBERTSON, P. K. J.; CORNISH, B. J. P.; JASPARS, M. Detoxification of microcystin (cyanobacterial hepatotoxins) using TiO₂ photocatalytic oxidation. **Environmental Science and Technology**, v. 33, n. 5, p. 771-775, 1999.

LAWTON, L. A.; ROBERTSON, P. K. J.; CORNISH, B. J. P. A.; MARR, I. L.; JASPARS, M. Processes influencing surface interaction and photocatalytic destruction of microcystins on titanium dioxide photocatalysts. **Journal of Catalysis**, v. 231, n. 2, p. 109-113, 2003.

LEAL, A. C.; SOARES, M. C. P. Hepatotoxicidade da cianotoxina microcistina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, 2004, Suplemento II, p. 25-32.

LEE, D. K.; KIM, S. C.; CHO, I. C.; KIM, S. J.; KIM, S. W. Photocatalytic oxidation of MC-LR with TiO₂-coated activated carbon. **Chemical Engineering Journal**, v. 102, n. 1, p. 93-98, 2004.

LEGRINI, O.; OLIVEROS, E.; BRAUN, A. M. Photochemical processes for water treatment. **Chemical Reviews**, v. 93, n. 2, p. 671-698, 1993.

LINSEBIGLER, A. L.; LU, G.; YATES Jr., J. T. Photocatalysis on TiO₂ surfaces: principles, mechanisms, and selected results. **Chemical Reviews**, v. 95, n. 3, p. 735-758, 1995.

LIU, I.; LAWTON, L. A.; BAHNEMANN, D. W.; ROBERTSON, P. K. J. The photocatalytic destruction of the cyanotoxin, nodularin using TiO₂. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 60, n. 3-4, p. 245-252, 2005.

LIU, I.; LAWTON, L. A.; BAHNEMANN, D. W.; LIU, L.; PROFT, B.; ROBERTSON, P. K. J. The photocatalytic decomposition of microcystin-LR using selected titanium dioxide materials. **Chemosphere**, v. 76, n. 4, p. 549-553, 2009.

- LIU, I.; LAWTON, L. A.; ROBERTSON, P. K. J. Mechanistic studies of the photocatalytic oxidation of MC-LR: an investigation of byproducts of the decomposition process. **Environmental Science and Technology**, v. 37, n. 14, p. 3214-3219, 2003.
- MACHADO, A. E. H.; DE MIRANDA, J. A.; DE FREITAS, R. F.; DUARTE, E. T. F. M.; FERREIRA, L. F.; ALBUQUERQUE, Y. D. T.; RUGGIERO, R.; SATTLER, C.; DE OLIVEIRA, L. Destruction of the organic matter present in effluent from a cellulose and paper industry using photocatalysis. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 155, n. 1-3, p. 231-241, 2003.
- MACKINTOSH, C.; BEATTIE, K. A.; KLUMPP, S. ; COHEN, P.; CODD, G. A. Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants. **FEBS Letters**, v. 264, n. 2, p. 187-192, 1990.
- MACKINTOSH, C.; MACKINTOSH, R. W. Inhibitors of protein kinases and phosphatases. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 19, n. 11, p. 444-448, 1994.
- MACKINTOSH, R. W.; DALBY, K. N.; CAMPBELL, D. G.; COHEN, P. T.; COHEN, P.; MACKINTOSH, C. The cyanobacterial toxin microcystin binds covalently to cysteine-273 on protein phosphatase-1. **FEBS letters**, v. 371, n. 3, p. 236-240, 1995.
- MAHMOOD, K. Reservoir sedimentation – impact, extent and mitigation. **World Bank Technology**, n.71, 1987b.
- MATTHIENSEN, A. BEATTIE, K.A.; YUNES, J.S.; KAYA, K.; COOD, G.A.; [D-Leu(1)]microcystin-LR, from the cyanobacterium *Microcystis* RST 9501 and from a *Microcystis* bloom in the Patos Lagoon estuary, Brazil. **Phytochemistry**, v. 55, n. 5, p. 383-387, 2000.
- MALATO, S.; FERNÁNDEZ-IBAÑEZ, P.; MALDONADO, M. I.; BLANCO, J.; GERNJAK, W. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. **Catalysis Today**, v. 147, n. 1, p. 1-59. 2009.
- MATSUNAGA, S.; MOORE, R. E.; MIEZCZURA, W. P.; CARMICHAEL, W. W. Anatoxin-a(s), a potent anticholinesterase from *Anabaena flos-aquae*. **Journal of the American Chemistry Society**, v. 111, n. 20, p. 8021-8023, 1989.
- MERILUOTO, J.; SPOOF, L. **Solid phase extraction of microcystins in water samples. TOXIC European Project “Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxins Analysis”**. Turku: Abo Akademi University, 2005. 151 p.
- MILLS, A.; DAVIES, R. H.; WORSLEY, D. Water purification by semiconductor photocatalysis. **Chemical Society Reviews**, v. 22, n. 6, p. 417–425, 1993.
- MILLS, A.; LEE, S. A web-based overview of semiconductor photochemistry-based current commercial applications. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 152, n. 1-3, p. 233-247, 2002.
- MORRIS, S. **Photocatalysis for water purification**. 1992. 122 f. Tese – University of Wales, Wales, United Kingdom, 1992.

MULKEY, R. M.; HERRON, C. E.; MALENKA, R. C. An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. **Science**, v. 261, n. 5124, p.1051-1055, 1993.

MUMBY, M. C.; WALTER, G. Protein serine/threonine phosphatase: structure, regulation, and functions in cell growth. **Physiological Reviews**, v. 73, n. 4, p. 673-699, 1993.

NAMIKOSHI, N.; RINEHART, K.; DAHLEM, A.; BEASLEY, V.; CARMICHAEL, W. W. Total synthesis of Adda, the unique C20 amino acid of cyanobacterial hepatotoxins. **Tetrahedron Letters**, v. 30, n. 33, p. 4349-4352, 1989.

NISHIWAKI-MATSUSHIMA, R.; OHTA, T.; NISHIWAKI, S.; SUGANAMA, M.; KOHYAMA, K.; ISHIWAWA, T.; CARMICHAEL, W. W.; FUUKI, H. J. Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 118, n. 6, p. 420-424, 1992.

NOGUEIRA, R. F. P. **Fotodestruição de compostos potencialmente tóxicos utilizando TiO₂ e luz solar**. 1995. 103 f. Tese – Universidade de Campinas, Campinas, 1995.

NOGUEIRA, R. F. P.; JARDIM, W. F. TiO₂-fixed-bed reactor for water decontamination using solar light. **Solar Energy**, v. 56, n. 5, p. 471-477, 1996.

NOGUEIRA, R. F. P.; JARDIM, W. F. Heterogeneous photocatalysis and its environmental applications. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 69-72, 1998.

OHTANI, I.; MOORE, R. E.; RUNNEGAR, M. T. C. Cylindrospermopsin – a potent hepatotoxin from the blue-green-alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. **Journal of the American Chemical Society**, v. 114, n. 20, p. 7941-7942, 1992.

OLLIS, D. F.; AL-EKABI, H. **Photocatalytic purification and treatment of water and Air**. Amsterdã, Elsevier Science Ltda, 1993.

OLLIS, D. F.; PELIZZETTI, E.; SERPONE, N. Destruction of water contaminants. **Environmental Science and Technology**, v. 25, n. 9, p. 1523-1529, 1991.

ONSTAD, G. D.; STRAUCH, S.; MERILUOTO, J.; CODD, G. A.; VON GUNTEN, U. Selective oxidation of key functional groups in cyanotoxins during drinking water ozonation. **Environmental Science and Technology**, v. 41, n. 12, p. 4397-4404, 2007.

OTURAN, M. A.; OTURAN, N.; LAHITTE C.; TREVIN, S. Production of hydroxyl radicals by electrochemically assisted Fenton's reagent: application to the mineralization of an organic micropollutant, pentachlorophenol. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 507, n. 1-2, p. 96-102, 2001.

OUELLETT, A. J. A. Cyanobacterial bloom in lake Neatahwanta, New York. Disponível em: <<http://www.oswego.edu/~ouellett/LakeNeatahwanta61404.htm>>. Acesso em: 22 out., 2007.

PAERL, H. W.; TUCKER, J.; BLAND, P. T. Carotenoid enhancement and its role in maintaining blue-green algal (*Microcystis aeruginosa*) surface blooms. **Limnology and Oceanography**, v. 28, n. 5, p. 847-857, 1983.

PELAEZ, M.; DE LA CRUZ, A.A.; STATHATOS, E.; FALARAS, P.; DIONYSIOU, D.D. Visible light-activated N-F-codoped TiO₂ nanoparticles for the photocatalytic degradation of microcystin-LR in water. **Catalysis Today**, v. 144, p. 19-25, 2009.

QIAO, R. P.; LI, N.; QI, X. H.; WANG, Q. S.; ZHUANG, Y. Y. Degradation of microcystin-RR by UV radiation in the presence of hydrogen peroxide. **Toxicon**, v. 45, n. 6, p. 745-752, 2005.

RAZIUDDIN, S.; SIEGELMAN, H. W.; TORNABENE, T. G. Lipopolysaccharides of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. **European Journal of Biochemistry**, v. 37, n. 1-2, p. 333-336, 1983.

RIDEH, L.; WEHRER, A.; RONZE, D.; ZOULALIAN, A. Photocatalytic degradation of 2-chlorophenol in TiO₂ aqueous suspension: modeling of reaction rate. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 36, n. 11, p. 4712-1718, 1997.

RINEHART, K. L.; NAMIKOSHI, M.; CHOI, B. W. Structure and biosynthesis of toxins from blue-green-algae (cyanobacteria). **Journal of Applied Phycology**, v. 6, n. 2, p. 159-176, 1994.

ROBINSON, J.M.; BRITZ, S.J; Ascorbate-dehydroascorbate level and redox status in leaflets of field-grown soybeans exposed to elevated ozone. **International Journal of Plant Sciences**, v. 162, n. 1, p. 119-125, 2001.

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

RODRIGUEZ, M.; BEN ABDERRAZIK, N.; CONTRERAS, S.; CHAMARRO, E.; GIMENEZ, J.; ESPLUGAS, S. Iron(III) photooxidation of organic compounds in aqueous solutions. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 37, n. 2, p. 131-137, 2002.

RODRIGUEZ, M.; KIRCHNER, A.; CONTRERAS, S.; CHAMARRO, E.; ESPLUGAS, S. Influence of H₂O₂ and Fe(III) in the photodegradation of nitrobenzene **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 133, n. 1-2, p. 123-127, 2000.

RODRIGUEZ, M.; SARRIA, V.; ESPLUGAS, S.; PULGARI, C. Photo-Fenton treatment of a biorecalcitrant wastewater generated in textile activities: biodegradability of photo-treated solution. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 151, n. 1-3, p. 129-135, 2002.

ROTHENBERGER, G.; MOSER, J.; GRÄTZEL, M.; SERPONE, N.; SHARMA, D. K. Charge carrier trapping and recombination dynamics in small semiconductor particles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 107, n. 26, p. 8054-8059, 1985.

RUDOLPH-BÖHNER, S.; MIERKE, D. F.; MORODER, L. Molecular structure of the cyanobacterial tumor-promoting microcystin. **FEBS Letters**, v. 349, n. 3, p. 319-323, 1994.

RUNNEGAR, M. T. C.; BERNDT, N.; KAPLOWITZ, N. Microcystin uptake and inhibition of protein phosphatases – effects of chemoprotectants and self-inhibition in relation to known hepatic transporters toxicology and applied pharmacology. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 134, n. 2, p. 264-272, 1995.

RUNNEGAR, M. T. C.; FALCONER, I. R.; GERDES, R. G. The uptake of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by isolated rat hepatocytes. **Toxicon**, v. 29, n. 1, p. 43-51, 1991.

RUNNEGAR, M. T. C.; FALCONER, I. R. The in vivo and in vitro biological effects of the peptide hepatotoxin from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. **South African Journal of Science**, v. 78, n. 9, p. 363-366, 1982.

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

SCHIAVELLO, M. **Photocatalysis and Environment**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1988. 510 p.

SEAWRIGHT, A. A.; NOLAN, C. C.; SHAW, G. R.; CHISWELL, R. K.; NORRIS, R. L.; MOORE, M. R.; SMITH, M. J. The oral toxicity for mice of the tropical cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska). **Environmental Toxicology**, v. 14, n. 1, p. 135-142, 1999.

SHAW, G. R.; SEAWRIGHT, A. A.; MOORE, M. R.; LAM, P. K. S. Cylindrospermopsin, a cyanobacterial alkaloid: Evaluation of its toxicologic activity. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 22, n. 1, p. 89-92, 2000.

SHEPHARD, G. S.; STOCKENSTROM, S.; DE VILLIERS, D.; ENGELBRECHT, W. J.; WESSELS, G. F. S. Degradation of microcystin toxins in a falling film photocatalytic reactor with immobilized titanium dioxide catalyst. **Water Research**, v. 36, n. 4, p. 140-146, 2002.

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

SIVONEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial toxins, in toxic cyanobacteria in water. CHORUS, I.; BARTRAM, I. **Toxic cyanobacteria in water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management**. London: E & FN SPON, 1999. p. 41-91.

SIVONEN, K.; KONONEN, K.; CARMICHAEL, W. W.; DAHLEM, A. M.; RINEHART, K. L.; KIVIRANTA, J.; NIEMELA, S. I. Occurrence of the hepatotoxic cyanobacterium *nodularia-spumigena* in the Baltic Sea and structure of the toxin. **Applied Environmental Microbiology**, v. 55, n. 8, p. 1990-1995, 1989.

SVRCEK, C.; SMITH, D. W. Cyanobacteria toxins and the current state of knowledge on water treatment options: a review. **Journal of Environmental Engineering and Science**, v. 3, n. 3, p. 155-185, 2004.

TAUCHERT, E.; PERALTA-ZAMORA, P. Avaliação de processos fotoeletroquímicos no tratamento de líquidos lixiviados de aterros sanitários. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 9, n. 3, p. 197-201, 2004

TEIXEIRA, M. G. L. C.; COSTA, M. C. N.; CARVALHO, V. L. P.; PEREIRA, M. S.; HAGE, E. Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica, Bahia, Brazil. **Bulletin of PAHO**, v. 27, n. 3, p. 244-53, 1993.

TEIXEIRA, M. G. L. C.; JARDIM, W. F. **Processos oxidativos avançados**: conceitos teóricos. Caderno Temáticos, UNICAMP, 2004, Disponível em: <<http://lqa.iqm.unicamp.br>>. Acesso em: 15 mar., 2008.

TERAO, K.; OHMORI, S.; IGARASHI, K.; OHTANI, I.; WATANABE, M. F.; HARADA, K. I.; ITO, E.; WATANABE, M. Electron-microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green-alga *Umezakia natans*. **Toxicon**, v. 32, n. 7, p. 833-843, 1994.

TOIVOLA, D. M.; ERIKSSON, J. E. Toxins affecting cell signalling and alteration of cytoskeletal structure. **Toxicology**, v. 13, n. 4-5, p. 521-530, 1999.

TSUJI, K.; NAITO, S.; KONDO, F.; ISHIKAWA, N.; WATANABE, M. F.; SUZUKI, M.; HARADA, K. I. Stability of microcystins from cyanobacteria: effect of light on decomposition and isomerization. **Environmental Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 173-177. 1994.

VAN DEN HOEK, C.; MANN, D. G.; JAHNS, H. M. **Algae**: an introduction to phycology. Cambridge: Cambridge University Press. 1995. 359 p.

VIEIRA, J.M.S.; AZEVEDO, M.T.P.; AZEVEDO, S.M.F.O.; HONDA, R.Y.; CORRÊA, B. Toxic cyanobacteria and microcystin concentration in a public water supply reservoir in the Brazilian Amazônia region. **Toxicon**, v.45, n. 7, p.901-909, 2005.

WANG, J.; PANG, X.; GE, F.; ZHANYU, M.A. An ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for determination of microcystins occurrence in surface water in Zhejiang Province, China. **Toxicon**, v. 49, n. 8, p. 1120-1128, 2007.

WEI, T. Y.; WANG, Y. Y.; WAN, C. C. Photocatalytic oxidation of phenol in the presence of hydrogen-peroxide and titanium-dioxide powders. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 115-126, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for drinking-water quality. First addendum to third edition. Volume 1. Recommendations. New York. Disponível em: <http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq0506.pdf>. Acesso em: 28 out., 2009.

YAMAZAKI, S.; MATSUNAGA, S.; HORI, K. Photocatalytic degradation of trichloroethylene in water using TiO₂ pellets. **Water Research**, v. 35, n. 4, p. 1022-1028, 2001.

YAWALKAR, A. A.; BHATKHANDI, D. S.; PANGARKAR, V. G.; BEENACKERS, A. A. C. M. Solar-assisted photochemical and photocatalytic degradation of phenol. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 76, n. 4, p. 363, 2001.

YOO, R. S.; CARMICHAEL, W. W.; HOEHN, R. C.; HRUDY, S. E. **Cyanobacterial (blue-green algal) toxins: a resource guide**. Denver: American Water Works Association. 1995. 471 p.

ZHANG, L.; ZHANG, Z.; LONG, F.; LEE, E. Y. Tyrosine-272 is involved in the inhibition of protein phosphatase-1 by multiple toxins. **Biochemistry**, v. 35, n. 5, p. 1606-1611, 1996.

ZIOLLI, R. L.; JARDIM, W. F. Mecanismo de fotodegradação de compostos orgânicos catalisada por TiO₂. **Química Nova**, v. 21, n. 3, p. 319-325, 1998.