



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**THIAGO TEIXEIRA DA SILVA**

**ESTUDO SOBRE AS VARIÁVEIS RESPONSÁVEIS PELA EUTROFIZAÇÃO DAS  
ÁGUAS DOS RESERVATÓRIOS DO SEMIÁRIDO CEARENSE**

**FORTALEZA**

**2018**

THIAGO TEIXEIRA DA SILVA

ESTUDO SOBRE AS VARIÁVEIS RESPONSÁVEIS PELA EUTROFIZAÇÃO DAS  
ÁGUAS DOS RESERVATÓRIOS DO SEMIÁRIDO CEARENSE

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Prof. Dra. Helena Becker.

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S584e Silva, Thiago Teixeira da.  
Estudo sobre as variáveis responsáveis pela eutrofização das águas dos reservatórios do semiárido cearense / Thiago Teixeira da Silva. – 2018.  
51 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2018.  
Orientação: Profa. Dra. Helena Becker.
1. Nível trófico. 2. Ficocianina. 3. Reservatórios cearenses. I. Título.

CDD 540

---

THIAGO TEIXEIRA DA SILVA

ESTUDO SOBRE AS VARIÁVEIS RESPONSÁVEIS PELA EUTROFIZAÇÃO DAS  
ÁGUAS DOS RESERVATÓRIOS DO SEMIÁRIDO CEARENSE

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dra. Helena Becker (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dra. Gisele Simone Lopes  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Fernando Bezerra Lopes  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. José Capelo Neto  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, familiares e amigos.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por todas as bênçãos recebidas.

A meus pais Reinaldo Gomes da Silva e Roseane Teixeira da Silva, por me amarem, educarem e apoiarem em minhas decisões.

A minha noiva e futura esposa Marianna de Andrade Saraiva, pelo amor, carinho, respeito e companhia que só ela pode transmitir a minha vida, além de incentivar minha “criança interior”.

A Prof. Dra. Helena Becker, pela excelente orientação nesse trabalho e na vida como cidadão e químico.

Aos professores participantes da banca examinadora Prof. Dra. Gisele Simone Lopes, Prof. Dr. Fernando Bezerra Lopes e Prof. Dr. José Capelo Neto por terem aceitado esse convite, pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

A CAPES, pelo apoio financeiro disponibilizado durante o período de mestrado.

Aos meus companheiros de graduação e mestrado, Francisco Wagner e Marcos Vinícius pelos diversos momentos juntos de estudo, “zoeira” e preocupação com provas.

Aos bolsistas e voluntários do LAQUIM: Samuel, Ádila, Eduardo, Levi, Felipe e Jéssica, por muitos conselhos, muita dedicação em trabalhar e auxiliar nas análises de nutrientes.

Ao LAQAMB, em especial ao bolsista Judah Leite, por auxiliar nas análises de Carbono Orgânico Dissolvido, no IFCE-Maracanaú.

Ao ITEP, por realizarem as análises de contagem de cianobactérias, contribuindo nos estudos desse trabalho.

A Universidade Federal do Ceará, pela estrutura física e pelo conhecimento profissional e pessoal adquirido nesses dois anos de mestrado.

“Tudo tem que acabar eventualmente. Se não nada poderia começar”

**Doctor Who**

## RESUMO

A caracterização das substâncias presentes nas águas dos reservatórios (açudes) utilizadas tanto para o consumo humano, quanto para os mais variados fins, constitui-se uma ferramenta importante para avaliação da qualidade ambiental dos mesmos. Nestes ambientes aquáticos a quantidade e a qualidade da biomassa, juntamente com o fósforo total, variam muito em função da sua origem e contribuem para o cálculo do Índice do Estado Trófico (IET). Estudos efetuados desde 2008, pelo Laboratório de Química Ambiental, por meio de contrato com a COGERH mostram que a concentração de clorofila não se relaciona a contagem de cianobactérias, como seria esperado, sendo então necessário a busca de outra(s) variável(is) que justifiquem o alto teor de cianobactérias presentes em nossos reservatórios, dos quais 75% estão com IET situados entre eutrófico e hipereutrófico. Pesquisas mostram que o elevado crescimento de cianobactérias (algas azuis) em corpos hídricos é favorecido pela quantidade em excesso de nutrientes nitrogenados e fosforados, e que a quantidade do pigmento ficocianina é muito superior (acima de 75%) em relação aos outros pigmentos. Atualmente, poucos estudos estão disponíveis sobre a concentração de ficocianina nos reservatórios cearenses. Pretende-se então analisar esse pigmento pela utilização da técnica de fluorescência molecular, a concentração de clorofila e nutrientes por espectrofotometria e caracterizar a matéria orgânica dissolvida, tanto no período seco como no chuvoso, para verificar se existem correlações. Nesse trabalho foi constatado o nível trófico anual de reservatórios estudados, todos classificados como eutróficos. Para a ficocianina, foram obtidas mais informações acerca de suas características ópticas nos reservatórios cearenses e observado a baixa quantidade do pigmento (valores abaixo do limite de quantificação). Nos resultados, o carbono orgânico disponível no reservatórios foi predominantemente de origem alóctone, com divergência observada no reservatório Pacajus. Estatisticamente, foi observada relação linear entre clorofila e contagem de cianobactérias, além de significativa contribuição da variável transparência relacionada com outras variáveis. As informações aqui geradas podem contribuir no direcionamento de ações que favoreçam a qualidade ambiental dos reservatórios.

**Palavras-chave:** Nível trófico. Ficocianina. Reservatórios cearenses.

## ABSTRACT

The characterization of the substances present in the waters of the reservoirs (reservoirs) used for both human consumption and for the most varied purposes constitutes an important tool to evaluate the environmental quality of the same. In these aquatic environments, the quantity and quality of the biomass, together with the total phosphorus, vary greatly according to their origin and contribute to the calculation of the Index of the Trophic State (ITS). Studies carried out since 2008 by the Laboratory of Environmental Chemistry, through a contract with COGERH show that the concentration of chlorophyll is not related to the cyanobacteria count, as would be expected, so it is necessary to search for another variable (s) that justify the high content of cyanobacteria present in our reservoirs, of which 75% are with ITS located between eutrophic and hypereutrophic. Research shows that the high growth of cyanobacteria (blue algae) in water bodies is favored by the excess amount of nitrogenous and phosphorous nutrients, and that the amount of phycocyanin pigment is much higher (over 75%) than other pigments. Currently, few studies are available on the concentration of phycocyanin in Ceará reservoirs. It is intended to analyze this pigment by using the molecular fluorescence technique, the concentration of chlorophyll and nutrients by spectrophotometry and characterize dissolved organic matter, both in the dry and rainy period, to verify if there are correlations. In this work, the annual trophic level of reservoirs studied was evaluated, all classified as eutrophic. For phycocyanin, more information about its optical characteristics was obtained in the Ceará reservoirs and observed the low amount of pigment (values below the limit of quantification). In the results, the organic carbon available in the reservoirs was predominantly of allochthonous origin, with divergence observed in the Pacajus reservoir. Statistically, a linear relationship between chlorophyll and cyanobacteria counts was observed, in addition to a significant contribution of the variable transparency related to other variables. The information generated here can contribute to the direction of actions that favor the environmental quality of the reservoirs.

**Keywords:** Trophic level. Phycocyanin. Ceará reservoirs.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Mapa ilustrativo dos reservatórios dos da Região Metropolitana de Fortaleza (2017).....	18
Figura 2 –	Estrutura molecular da ficocianina.....	22
Figura 3 –	Sistema de filtração (a); papel de filtro com amostra (b); armazenamento do papel de filtro (c) e congelamento das amostras (d).....	29
Figura 4 –	Fluxograma representativo do processo “freezing/thawing/sonication”.....	29
Figura 5 –	Gráfico da concentração de clorofila <i>a</i> X nº de cianobactérias para os reservatórios: Gavião (a); Pacoti (b); Riachão (c) e Pacajus (d).....	31
Figura 6 –	Região de absorção máxima da solução de ficocianina.....	33
Figura 7 –	Curva de calibração espectrofotométrica da análise de ficocianina (em µg/L).....	34
Figura 8 –	Curva de calibração espectrofotométrica da análise de ficocianina (em mg/mL).....	35
Figura 9 –	Região de emissão máxima da solução de ficocianina ( $\lambda_{Exc} = 619$ nm).....	36
Figura 10 –	Curva de calibração fluorimétrica da análise de ficocianina (em µg/L).....	37
Figura 11 –	Região de emissão máxima (excitação em 370 nm) para amostras do açudes Gavião (a), Pacajus (b), Pacoti (c) e Riachão (d) .....	39
Figura 12 –	Diagrama de componentes principais para amostras dos reservatórios .....	42
Figura 13 –	Diagrama de escores para variáveis analisadas .....	43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Estados tróficos e respectivas características nos corpos hídricos.....	19
Tabela 2 –	Valores do IET e estado trófico para reservatórios.....	20
Tabela 3 –	Técnicas de análise para ficocianina.....	23
Tabela 4 –	Dados hidrológicos (por trimestre, em 2017) dos reservatórios estudados.....	26
Tabela 5 –	Metodologias padrões utilizadas .....	27
Tabela 6 –	Dados das análises dos reservatórios .....	32
Tabela 7 –	Valor do IET médio e classificação dos reservatórios estudados (2017).....	32
Tabela 8 –	Comparação bibliográfica de absorvidade da ficocianina.....	35
Tabela 9 –	Concentração do pigmento ficocianina nos reservatórios cearenses.....	38
Tabela 10 –	Dados da razão $I_{450\text{ nm}}/I_{500\text{ nm}}$ para os reservatórios.....	40
Tabela 11 –	Correlação entre variáveis estudadas para os reservatórios .....	41

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
2.1	Objetivos gerais .....	16
2.2	Objetivos específicos .....	16
3	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
3.1	Recursos hídricos no semiárido do Ceará.....	17
3.2	Eutrofização.....	18
3.3	Cianobactérias.....	21
3.4	Ficocianina.....	22
3.5	Carbono orgânico dissolvido.....	24
4	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	26
4.1	Área de estudo .....	26
4.2	Coleta das amostras .....	26
4.3	Reagentes e vidrarias .....	27
4.4	Análise de nutrientes, clorofila <i>a</i> e cianobactérias .....	27
4.5	Análise de ficocianina .....	27
4.5.1	<i>Determinação da concentração do reagente padrão e elaboração da curva analítica de ficocianina</i> .....	27
4.5.2	<i>Análise de ficocianina nas amostras</i> .....	28
4.6	Análise qualitativa e quantitativa de COD .....	30
4.7	Análise quimiométrica .....	30
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	31
5.1	Estudos espectrofotométricos .....	31
5.1.1	<i>Relação clorofila <i>a</i> e cianobactérias</i> .....	31
5.1.2	<i>Análises de nutrientes e clorofila <i>a</i></i> .....	32
5.1.3	<i>Curva analítica e equações para ficocianina</i> .....	33
5.1.4	<i>Absortividade da ficocianina</i> .....	34
5.2	Estudo fluorimétricos .....	36
5.2.1	<i>Curva analítica e equações para ficocianina</i> .....	36
5.2.2	<i>Análise qualitativa COD</i> .....	38
5.3	Estudo estatístico .....	41

<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>44</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A água possui diversas finalidades, sendo seus usos apresentados pela resolução nº 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) como: irrigação, abastecimento humano, fonte energética, transporte, lazer, harmonia paisagística e até inspiração artística. Dependendo das propriedades físico-químicas, biológicas e toxicológicas que o corpo d'água apresenta, seus usos podem se tornar mais restritivos, tendo em vista a preocupação da empregabilidade da água em atividades industriais, comerciais e residenciais.

Com a intenção de avaliar de maneira adequada a qualidade das águas, o monitoramento se faz necessário (AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS, 2017), proporcionando um melhor direcionamento das atividades a serem desenvolvidas (tratamento de água, restrição de uso da população) para controlar e manter as variáveis em níveis aceitáveis nos corpos hídricos.

Pelo fato da água ser um dos principais veículos de transmissão de doenças (SANCHES *et al.*, 2012) a importância de realizar monitoramento das reservas hídricas se dá com intuito de evitar a ocorrência de contaminação para população, ocasionando malefícios à saúde ou até óbito de indivíduos. A ocorrência de eutrofização em reservatórios, tanto no aspecto visual quanto no aspecto de qualidade, acarreta restrições na utilização da água devido à presença ou ausência de variáveis que estejam em desacordo com o que indica a legislação. Entre diversos possíveis modos de contaminação à população, destaca-se a presença e ação das cianobactérias.

Uma das características apresentadas pelas cianobactérias é a presença de pigmentos específicos em sua estrutura, as ficobilinas (LAWRENZ *et al.*, 2011). Por possuírem propriedades ópticas específicas (cor na região visível e fluorescência), estudos sobre esses pigmentos tem sido realizados na literatura (STEWART; FARMER, 1984; LEHMAN 2007; GREGOR *et al.*, 2007; LAWRENZ *et al.*, 2011).

Espécies orgânicas e inorgânicas são geradas, como produto e subprodutos, nos corpos hídricos pelas diversas reações decorrentes dos organismos presentes. Nas águas naturais estão localizadas grandes quantidades de carbono tanto orgânico quanto inorgânico (SIERRA *et al.*, 1995). A identificação das espécies que constituem a matéria orgânica dos reservatórios é complexa, devido à grande quantidade de espécies possíveis de serem

encontradas e quantificadas. Com a utilização de técnicas voltadas as propriedades ópticas das substâncias orgânicas, pode-se avaliar se a presença da matéria orgânica é devido a efeitos naturais do ambiente ou por efeitos externos, como poluição humana (WESTERHOFF; ANNING, 2000).

No território nacional houveram casos de contaminação (e alguns foram fatais) associados à esse microorganismos. No trabalho de Teixeira *et al.*, (1993) foram relatados casos de gastroenterite na Bahia em 1988 (cerca de 2000 casos), sendo contabilizados 88 mortes. O estudo mostrou que a grande proliferação de cianobactérias e, conseqüentemente, grande produção de cianotoxinas ocasionou esse problema de saúde e óbitos.

A nível estadual, no Ceará a preocupação com a qualidade e a quantidade de água disponível se torna maior, devido à escassez de chuvas, elevada evaporação dos reservatórios, associada com a intensa exposição solar ao ano, características de uma clima semiárido (BEZERRA, 2002; ARAÚJO, 2011), proporcionando aos reservatórios um déficit hídrico durante vários meses do ano.

No território cearense, o monitoramento é realizado pela Companhia de Gestão dos Recursos Hídricos do Ceará (COGERH). A coleta das amostras, acondicionamento e transporte destas são realizadas pela COGERH, enquanto as análises são realizadas, por contrato, com Instituto de Tecnologia de Pernambuco (ITEP), com a Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE) e com o Laboratório de Análises Químicas (LAQUIM) da UFC.

Tendo em vista abrangência da água à população, as características dela precisam ser analisadas e mantidas de acordo com os padrões da legislação vigente, para proporcionar o bem estar da fauna, flora e da população.

O estudo das variáveis analisadas no monitoramento de água deve ser aprofundado, a fim de se compreender melhor as correlações existentes entre elas. Em destaque, a quantificação de clorofila *a*, do pigmento ficocianina, contagem de cianobactérias e análise de carbono (total e dissolvido) na água dos reservatórios, com algumas dessas variáveis sendo pouco estudadas ou totalmente desconhecidas nos reservatórios cearenses.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivos gerais**

Estudar quais variáveis são responsáveis pela eutrofização das águas dos reservatórios no semiárido cearense.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Quantificar nutrientes, clorofila *a*, carbono orgânico dissolvido (COD) e contagem de cianobactérias;
- Otimizar a metodologia e analisar o teor de ficocianina, por fluorimetria, em reservatórios do semiárido cearense;
- Determinar a possível origem de COD nos reservatórios;
- Avaliar as relações entre as variáveis estudadas utilizando ferramentas quimiométricas.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Recursos hídricos no semiárido do Ceará

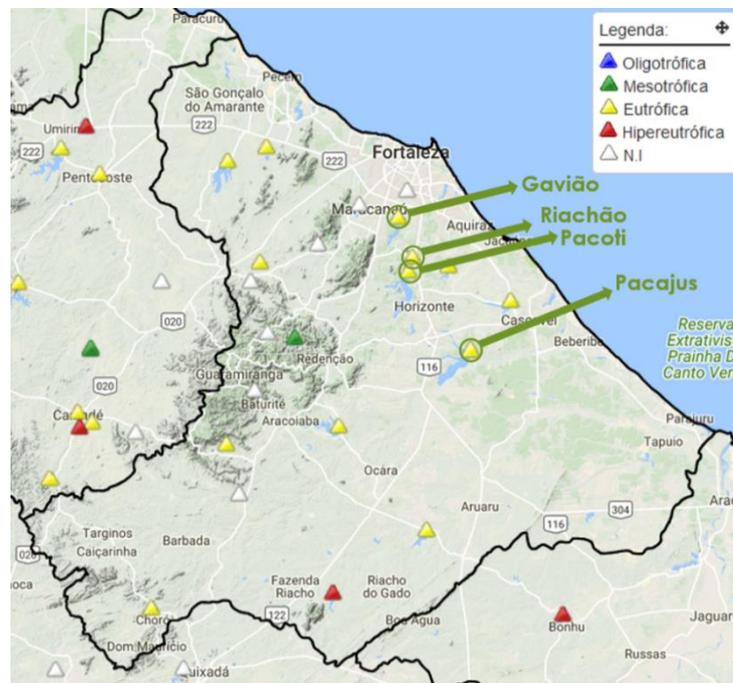
O semiárido é um clima que, como características predominantes, apresenta altas temperaturas e baixa pluviosidade (ARAÚJO, 2011). Esses fatores contribuem na ocorrência de baixa umidade e chuvas irregulares durante o ano. Visualmente, a paisagem das regiões com esse clima apresentam solo seco e rachado, pouca vegetação existente, com exceção de espécies xenófilas (cactos), que são adaptadas ao clima seco.

No Estado do Ceará, o clima semiárido afeta intensamente a qualidade e quantidade de água disponível nos reservatórios, podendo comprometer ou restringir seus usos. Devido as elevadas temperaturas e baixo índice pluviométrico, associado a irregularidade das chuvas (no aspecto temporal e espacial), o saldo hídrico nos reservatórios frequentemente é negativo (mais perda do que ganho de água).

No aspecto hidrológico, o Ceará possui 155 corpos hídricos monitorados pela COGERH, que abastecem, de forma direta ou indireta, 8.448.055 habitantes aproximadamente (IBGE, 2010). Com enfoque na Região Metropolitana de Fortaleza, os principais reservatórios presentes são: Gavião (em Pacatuba), Riachão (em Itaitinga), Pacoti (em Horizonte) e Pacajus (em Pacajus).

A COGERH é responsável pela administração, controle de qualidade e repasse de informações acerca dos reservatórios cearenses. Resultados presentes no site do Portal Hidrológico apresentam a dados sobre análises de diversas variáveis acerca da qualidade da água, como: nitrogênio total, fósforo total, clorofila *a*, contagem de cianobactérias e transparência, entre outros. Estas variáveis são utilizadas para determinação do Índice de Estado Trófico do corpo hídrico. A figura 1 mostra a localização dos reservatórios, juntamente com a representação (em cores) do nível trófico deles.

Figura 1 – Mapa ilustrativo dos reservatórios da Região Metropolitana de Fortaleza (nov/2017)



Fonte: COGERH (2017).

De acordo com dados do Portal Hidrológico, em novembro de 2017, os reservatórios Gavião, Riachão, Pacoti e Pacajus foram classificados como eutróficos (elevada presença de nutrientes e crescimento fitoplanctônico). O processo de eutrofização em alto nível é preocupante para a sociedade, prejudicando os usos da água. Como consequência direta do excesso de nutrientes na água, o crescimento de cianobactérias ocorre, trazendo riscos e contaminação ao corpo hídrico. Resultados da COGERH indicam grandes quantidades de cianobactérias, valores esses que estão acima do valor máximo permitido pela Resolução CONAMA 357/2005 (até 50.000 cel/mL).

### 3.2 Eutrofização

O processo de enriquecimento, em termos de nutrientes, decorrente do aumento da produção de biomassa por organismos presentes nos corpos hídricos é denominado eutrofização (HUTCHINSON, 1975; FIGUEIRÊDO *et al.*, 2007; DA SILVA; FONSECA, 2016). Para a ocorrência da eutrofização é necessário a disponibilidade de nutrientes. Esses

nutrientes (principalmente espécies de nitrogênio e fósforo) podem ser de fontes naturais (decomposição de animais e plantas, solo e ar) ou de fontes antrópicas (despejos industriais e residenciais, agrotóxicos e fertilizantes), sendo este último o responsável por grande parte da disponibilidade destes nos corpos d'água (PÉREZ & RESTREPO, 2008).

A eutrofização em rios e reservatórios é um processo natural, que ocorre de modo gradual e lento. O excesso de nutrientes disponíveis (mais nutrientes fornecidos do que o sistema aquático pode assimilar) ocasiona uma aceleração da ocorrência da eutrofização, apresentando como aspectos negativos a grande proliferação de algas e plantas aquáticas, diminuição do oxigênio dissolvido, alteração da cor e do odor presentes na água, mortandade de peixes e redução dos múltiplos usos da água (SMITH & SCHINDLER, 2009).

De acordo com as características presentes ou ausentes nos corpos hídricos, por meio de constatação visual, análises de variáveis físicos, químicos e biológicos, pode-se calcular o Índice de Estado Trófico (IET) para rios e reservatórios, apresentando uma classificação para cada situação de eutrofização. A tabela 1 mostra distintas classificações do estado trófico de reservatórios e as características associadas.

Tabela 1 – Estados tróficos e respectivas características nos corpos hídricos

<b>Estado Trófico</b>	<b>Características</b>
Oligotrófico	Corpos d'água limpos, de baixa produtividade, em que não ocorrem interferências indesejáveis sobre os usos da água, decorrentes da presença de nutrientes.
Mesotrófico	Corpos d'água com produtividade intermediária, com possíveis implicações sobre a qualidade da água, mas em níveis aceitáveis, na maioria dos casos.
Eutrófico	Corpos d'água com alta produtividade em relação às condições naturais, com redução da transparência, em geral afetados por atividades antrópicas, nos quais ocorrem alterações indesejáveis na qualidade da água decorrentes do aumento da concentração de nutrientes e interferências nos seus múltiplos usos.
Hipereutrófico	Corpos d'água afetados significativamente pelas elevadas concentrações de matéria orgânica e nutrientes, com comprometimento acentuado nos seus usos, associado a episódios florações de algas ou mortandades de peixes, com consequências indesejáveis para seus múltiplos usos, inclusive sobre as atividades pecuárias nas regiões ribeirinhas.

Fonte: Adaptado de AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS (2017).

Atualmente, uma das formas de avaliação de eutrofização dos reservatórios gerenciados pela COGERH é a utilização da classificação do estado trófico elaborado por Carlson (1977), com adaptações realizadas por Toledo Jr (1983). As expressões que relacionam o IET em termos de transparência, de fósforo total (parâmetro frequentemente indicado como nutriente principal) e de clorofila *a* (parâmetro indicativo de biomassa fitoplanctônica) são apresentadas a seguir.

$$\text{IET (Secchi)} = 10. \left\{ 6 - \left[ \frac{0,64 + \ln \text{Secchi}}{\ln 2} \right] \right\} \quad (1)$$

$$\text{IET (PT)} = 10. \left\{ 6 - \left[ \frac{\ln \left( \frac{80,32}{PT} \right)}{\ln 2} \right] \right\} \quad (2)$$

$$\text{IET (Chl } a) = 10. \left\{ 6 - \left[ \frac{(2,04 - 0,695 \cdot \ln \text{Chl } a)}{\ln 2} \right] \right\} \quad (3)$$

$$\text{IET MÉDIO} = \frac{\text{IET (Secchi)} + 2 \cdot \text{IET (PT)} + 2 \cdot \text{IET (Chl } a)}{5} \quad (4)$$

Sendo: Secchi = transparência da água (m); Chl *a* = concentração de clorofila *a* (µg/L); PT = concentração de fósforo total (µg/L); ln = logaritmo natural.

No trabalho desenvolvido por Toledo Jr, com adaptação nos trabalho de Carlson, foi apresentado também os valores limites das variáveis comentados, juntamente com o estado trófico e o valor do IET associado aos valores dessas variáveis. Esses valores limites são mostrados na tabela 2.

Tabela 2 – Valores do IET e estado trófico para reservatórios

<b>ESTADO TRÓFICO</b>	<b>VALOR DO IET MÉDIO</b>	<b>TRANSPARÊNCIA (m)</b>	<b>FÓSFORO TOTAL (µg/l)</b>	<b>CLOROFILA <i>a</i> (µg/l)</b>
Oligotrófico	24 < IET ≤ 44	7,7 – 2,0	7 – 26	0,52 – 3,81
Mesotrófico	44 < IET ≤ 54	1,9 – 1,0	27 – 52	3,82 – 10,34
Eutrófico	54 < IET ≤ 74	0,9 – 0,3	53 – 211	10,35 – 76,06
Hipereutrófico	IET > 74	< 0,3	> 211	> 76,06

Fonte: Adaptado de Toledo Jr (1990).

As condições ambientais que foram realizadas os trabalhos de Carlson (clima temperado) e de Toledo Jr (clima subtropical) são distintas das condições presentes no Ceará (clima semiárido), o que dificulta uma análise precisa do estado trófico para os reservatórios cearenses. No entanto, pela ausência de uma relação entre variáveis e determinação do IET

que sejam mais condizentes com a situação do semiárido, os trabalhos comentados anteriormente são utilizados como referência auxiliar na avaliação da COGERH.

### 3.3 Cianobactérias

As cianobactérias (antigamente chamadas de algas azuis) são organismos fitoplanctônicos unicelulares procarióticos, presentes em corpos hídricos. Elas são encontradas tanto em fontes de água doce como salgada, no entanto, ambientes de água doce favorecem o crescimento e desenvolvimento das populações de cianobactérias, que utilizam como fontes energéticas para suas atividades metabólicas espécies de nitrogênio e fósforo (MUR *et al.*, 1999), fazendo parte dos processos cíclicos desses elementos.

Essas duas espécies químicas citadas são influenciadores na quantidade de nutrientes nos corpos hídricos, que se relacionam diretamente com a eutrofização da água. Observa-se que corpos d'água eutrofizados apresentam grande quantidade de cianobactérias, devido a disponibilidade dos nutrientes. O crescimento rápida e intenso da densidade desses organismos é chamado de “floração” (CARVALHO *et al.*, 2006).

A problemática associada a presença em excesso de cianobactérias na água decorre da produção de substâncias tóxicas, conhecidas como cianotoxinas. Essas toxinas possuem diversos efeitos, como hepatotóxico, neurotóxico e dermatotóxico (MANKIEWICZ *et al.*, 2003). Quando ocorre a ruptura da parede celular das cianobactérias, as toxinas são liberadas no meio que estão e podem causar os efeitos citados.

Jochimsen *et al.*, (1998) estudaram o caso de doenças e mortes registradas no centro de hemodiálise em Caruaru – Pernambuco. Foi constatado a morte de 52 pacientes devido a presença de microcistina (toxina) na água que era usada no processo de hemodiálise.

A estimativa fitoplanctônica de cianobactérias é feita pela quantificação do pigmento clorofila *a*, o tipo mais comum nas espécies fotossintetizantes (STREIT *et al.*, 2005).

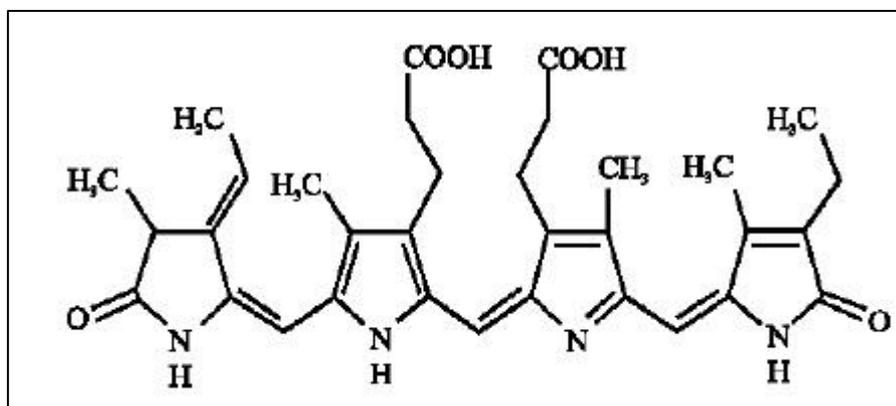
Apesar de serem chamadas anteriormente de algas azuis, as cores das cianobactérias são variadas, como violeta, vermelho, amarelo-dourado (HENRIKSON, 1994), pois na estrutura das cianobactérias, além do pigmento clorofila, há outros pigmentos que ajudam na captação de energia luminosa para suas atividades metabólicas: os carotenoides e as

ficobilinas (aloficocianina, ficocianina e ficoeritrinas) (SARADA *et al.*, 1999; LAWRENZ *et al.*, 2011). Entre as ficobilinas, a ficocianina tem destaque em composição e características nas cianobactérias.

### 3.4 Ficocianina

A ficocianina (do latim *phykos* = alga e *kyanos* = azul), como a aloficocianina e a ficoeritrina, é uma ficobilina, pigmento acessório que auxilia o processo da fotossíntese realizado pelas cianobactérias (ROMÁN *et al.*, 2002). Ela é uma molécula hidrossolúvel, que apresenta absorção da luz visível em torno de 600 nm – 650 nm (laranja-vermelho), conferindo à estrutura da bactéria a cor azul. A estrutura molecular da ficocianina é mostrada na figura 2.

Figura 2 – Estrutura molecular da ficocianina



Fonte: Abdo *et al.* (2012).

Em 2005, Patel realizou estudos comparativos de quantidade dos pigmentos presentes em cianobactérias (exceto clorofila *a*), utilizando diferentes espécies desse organismo, percebendo que a quantidade do pigmento ficocianina era muito superior (acima de 75%) em relação aos outros pigmentos. Devido a isso, estudo das cianobactérias a partir de análises desse pigmento é viável para o monitoramento desses organismos em água (GREGOR *et al.*, 2007).

No aspecto ambiental, por apresentar certas propriedades, como fluorescência e solubilidade em água, pode ser usada como indicador da presença de cianobactérias nos corpos hídricos (GREGOR *et al.*, 2007; HORVÁTH *et al.*, 2013; YACOBI *et al.*, 2015).

No aspecto clínico, a ficocianina tem sido apontada em estudos como um antioxidante eficiente (ROMAY *et al.*, 2003) e atua também como anti-inflamatório (SANTIAGO-SANTOS *et al.*, 2004). Por apresentar fluorescência e ser solúvel em água, possui aplicações como marcador biomédico em pesquisas (PATIL & RAGHAVARAO, 2007).

No aspecto comercial, esse pigmento é utilizado em alimentos (sorvetes, doces e refrescos) e cosméticos (VONSHAK, 1997).

Na estrutura das cianobactérias, a ficocianina está localizada no hialoplasma, sendo necessário o rompimento de sua parede celular para disponibilizar o pigmento no meio e poder ser analisado (YACOBI *et al.*, 2015). Para o processo de ruptura celular, diversos procedimentos são relatados, como tratamento enzimático, congelamento e descongelamento e ruptura sônica. Em estudos comparativos feitos por Horváth *et al.*, (2013), o processo de congelamento e descongelamento da amostra seguido de sonicação foi o que apresentou melhor desempenho na quebra da parede celular e futura quantificação da ficocianina.

Na literatura há diferentes técnicas analíticas para análise da ficocianina em água. Alguns destas são apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Técnicas de análise para ficocianina

<b>Técnica</b>	<b>Referências</b>
CLAE	VISKARI & COLYER (2003)
Eletroforese	SONI <i>et al.</i> , (2006); BOUSSIBA & RICHMON (1979)
Fotometria (UV-VIS)	BENNETT & BOGORAD (1973); SARADA <i>et al.</i> , (1999); SILVEIRA <i>et al.</i> , (2007); LAWRENZ <i>et al.</i> , (2011)
Fluorimetria ( <i>in situ</i> )	SEPPALA <i>et al.</i> , (2007); GREGOR <i>et al.</i> , (2007)
Fluorimetria	STEWART & FARMER (1984); LEHMAN (2007)

Fonte: Adaptado de Horváth *et al.*, (2013).

O trabalho desenvolvido por Bennett e Bogorad (1973), intitulado *Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga* é um dos mais citados na literatura associada a cianobactérias. Esse estudo apresenta expressões matemáticas para o cálculo das concentrações das ficobilinas. Essas expressões são usadas em diversos trabalhos para quantificação dos pigmentos em amostras ou padrões. A expressão que calcula a concentração da ficocianina (mg/mL) é apresentada na equação (5).

$$C - FC = \frac{ABS_{615nm} - 0,474 \cdot ABS_{652nm}}{5,34} \quad (5)$$

Sendo: C-FC = concentração de ficocianina ( $\mu\text{g/L}$ );  $ABS_{615 \text{ nm}}$  e  $ABS_{652 \text{ nm}}$  = valor da absorvância nos comprimentos de onda de 615 e 652, respectivamente.

### 3.5 Carbono orgânico dissolvido

A matéria orgânica dissolvida (MOD) nos corpos hídricos tem composição de substâncias próprias do ambiente e de fontes externas. A MOD natural corresponde a uma mistura complexa de hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos ligados em sua maioria aos grupos funcionais de amidas, carboxílicos, hidroxilas, cetonas e nos demais grupos funcionais em menor proporção (LEENHEER, 2001).

A composição precisa da matéria orgânica nos corpos hídricos é complexa, devido a diversidade de espécies que a compõem. Entre as diversas substâncias presentes, parte delas são as substâncias húmicas: ácidos fúlvicos, ácidos húmicos e humina (BEM, 2009). A presença dessas substâncias confere uma coloração amarelada ao corpo d'água (FRIMMEL, 1998). Por essa predominância, comumente a matéria orgânica dissolvida é medida como carbono orgânico dissolvido (DROH LANCINÉ *et al.*, 2011).

A presença das espécies orgânicas dissolvidas na água pode ocorrer por diferentes formas. Quando o COD é proveniente de processos internos nos corpos hídricos (atividades metabólicas) é classificado com autóctone. Quando é proveniente de processos externos (processos erosivos, despejos industriais e/ou residenciais) é classificado com alóctone (DE AZEVEDO *et al.*, 2009).

Westerhoff e Anning (2000), por meio de análises fluorimétricas de emissão, conseguiram indicar qualitativamente se o COD analisado é alóctone ou autóctone. O

procedimento consiste em obter espectros de emissão a partir da excitação eletrônica em 370 nm. Observa-se no espectro uma região de intensidade máxima em torno de 450 nm. Se os valores de intensidade máxima forem abaixo de 450 nm, indica fonte autóctone e se forem acima de 450 nm, indica fonte alóctone. De modo completar, a razão de intensidade obtida nos comprimentos de onda de 450 nm e 500 nm ( $I_{450 \text{ nm}} / I_{500 \text{ nm}}$ ) também sugerem a distinção entre fonte autóctone ou alóctone. Se a razão  $I_{450 \text{ nm}} / I_{500 \text{ nm}}$  for maior que 1,8 indica fonte autóctone e se for menor que 1,5 indica fonte alóctone (WESTERHOFF, ANNING, 2000).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Área de estudo

Os 4 reservatórios estudados (Gavião, Pacajus, Pacoti e Riachão) são pertencentes à Região Metropolitana de Fortaleza, na Bacia Metropolitana do Ceará. Informações referente aos reservatórios (para o ano de 2017) são apresentadas na tabela 4.

Tabela 4 – Dados hidrológicos (por trimestre, em 2017) dos reservatórios estudados

Reservatório	Capacidade Máxima (hm <sup>3</sup> )	Volume Armazenado Médio (hm <sup>3</sup> )				Precipitação Média (mm)			
		1°	2°	3°	4°	1°	2°	3°	4°
		Gavião	33,30	27,55	28,33	27,63	27,26	-	-
Pacoti	380,00	46,33	170,00	148,67	91,33	179,66	172,20	50,60	49,53
Riachão	47,92	14,00	23,60	21,33	13,17	262,00	129,00	-	13,00
Pacajus	232,00	36,66	101,33	94,33	60,00	204,53	86,53	-	10,76

(-) Dado não disponível

Fonte: FUNCEME (2018).

Nesses reservatórios e nos entornos ocorrem múltiplos usos da água armazenada, como abastecimento humano, recreação de contato primário, pesca artesanal, dessedentação de animais e uso de empresas concessionárias

### 4.2 Coleta das amostras

As amostras foram coletadas, mensalmente em 2017, por técnicos treinados da COGERH, em frascos plásticos escuros, à profundidade de 0,3 metros, próximo à barragem dos açudes estudados. Foram identificadas e acondicionadas em ambiente refrigerado, sendo transportadas em seguida para os laboratórios de análise.

### 4.3 Reagentes e vidrarias

As soluções foram preparadas utilizando água ultrapura (Milli-Q) e reagentes de grau analítico (PA). Na elaboração da solução estoque de ficocianina, foi utilizado o reagente C-Phycocyanin (Sigma-Aldrich), cuja concentração indicada era  $\geq 10,0$  mg/mL.

As vidrarias utilizadas nos experimentos foram materiais comuns de laboratório (balão volumétrico, béquer, erlenmeyer, entre outros), todas descontaminadas com HCl 5%.

### 4.4 Análise de nutrientes, clorofila *a* e cianobactérias

A metodologia utilizada nas análises desses parâmetros é apresentada na tabela 5.

Tabela 5 – Metodologias padrões utilizadas

Análise	Metodologia	Referência
Nitrogênio Total	Método da digestão simultânea (4500-N)	APHA
Fósforo Total	Método da digestão simultânea (4500-P)	APHA
Clorofila <i>a</i>	Método espectrofotométrico (10200 H)	APHA
Contagem de cianobactérias	Contagem Utermöhl	OMS

APHA (American Public Health Association)

OMS (Organização Mundial da Saúde)

Fonte: Autor (2018).

A análise dos nutrientes e de clorofila *a* foram realizadas no LAQUIM-UFC, enquanto a contagem de cianobactérias foi realizada no ITEP.

### 4.5 Análise de ficocianina

#### 4.5.1 Determinação da concentração do reagente padrão e elaboração da curva analítica de ficocianina

Devido a inexatidão da concentração do reagente padrão adquirido ( $\geq 10,0$  mg/mL), foi realizado uma análise preliminar para determinar essa concentração. Foram recolhidos 10  $\mu$ L do reagente C-Phycocyanin e transferidos para um balão de 10 mL, sendo aferido com solução tampão salino (0,01 mol L<sup>-1</sup> de fosfato de sódio + 0,15 mol L<sup>-1</sup> de NaCl). Foi realizada

varredura da solução aferida utilizando Espectrofotômetro UV-Vis Marca Varian modelo Cary 1E e calculado a concentração segundo Bennett e Bogorad (1973).

Na elaboração da solução estoque da curva de ficocianina foram recolhidos 40 µL do reagente C-Phycocyanin e transferidos a uma balão de 10 mL, sendo aferido com solução tampão de fosfato pH 7,2 (0,025 mol L<sup>-1</sup>). As soluções subsequentes da curva foram preparadas por diluição de determinados volumes retirados da solução estoque, todos sendo transferidos para balões volumétricos de 5 mL e aferidos com tampão de fosfato. As soluções foram analisadas por espectrofluorimetria (aparelho da Shimadzu modelo RF-6000), usando cubeta de quartzo de 1cm de caminho óptico.

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) para a análise foram calculados utilizando as equações da reta (em triplicata) da curva analítica. As equações (6) e (7) apresentam as expressões do cálculo do LD e LQ, de acordo com a indicação da ANVISA (2017).

$$LD = \frac{3,3.\sigma}{IC} \quad (6)$$

$$LQ = \frac{10.\sigma}{IC} \quad (7)$$

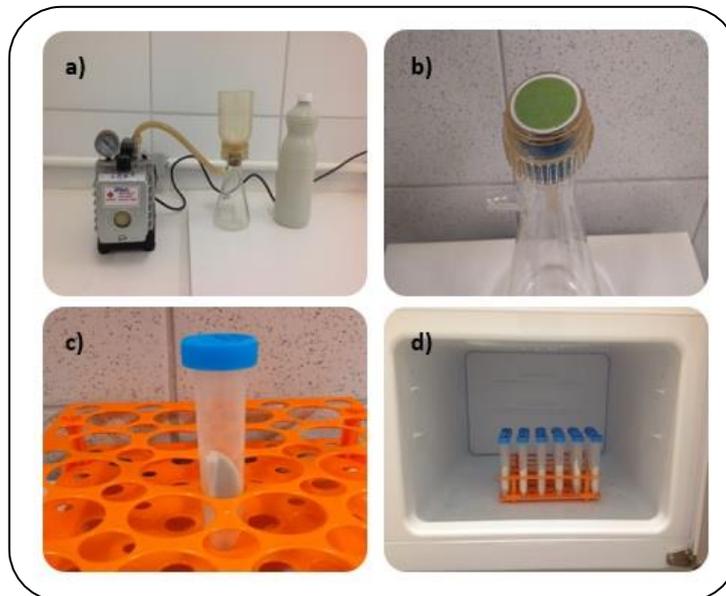
Sendo:  $\sigma$  = desvio padrão dos coeficientes lineares das retas e IC = média da inclinação das curvas de calibração (coeficientes angulares).

#### **4.5.2 Análise de ficocianina nas amostras**

Entre as técnicas apresentadas na tabela 3, a fluorimetria foi escolhida para quantificar a ficocianina nesse trabalho, por possuir elevada sensibilidade e maior seletividade com analito (GIL *et al.*, 2009). O procedimento aqui realizado está de acordo com o apresentado no trabalho de Hórvath *et al.*(2013).

As amostras foram filtradas por um sistema de filtração (em duplicata), composto por: bomba à vácuo, kitassato, papel de filtro e copo volumétrico de filtração. Volume de 100 mL foi filtrado (em duplicata) utilizando filtros de fibra de vidro da marca Macherey-Nagel (GF-3; 47 mm). Após a filtração, os filtros foram colocados em tubos de Falcon e armazenados no congelador (-18°C) até serem utilizados. A figura 3 apresenta os processos descritos nessa seção.

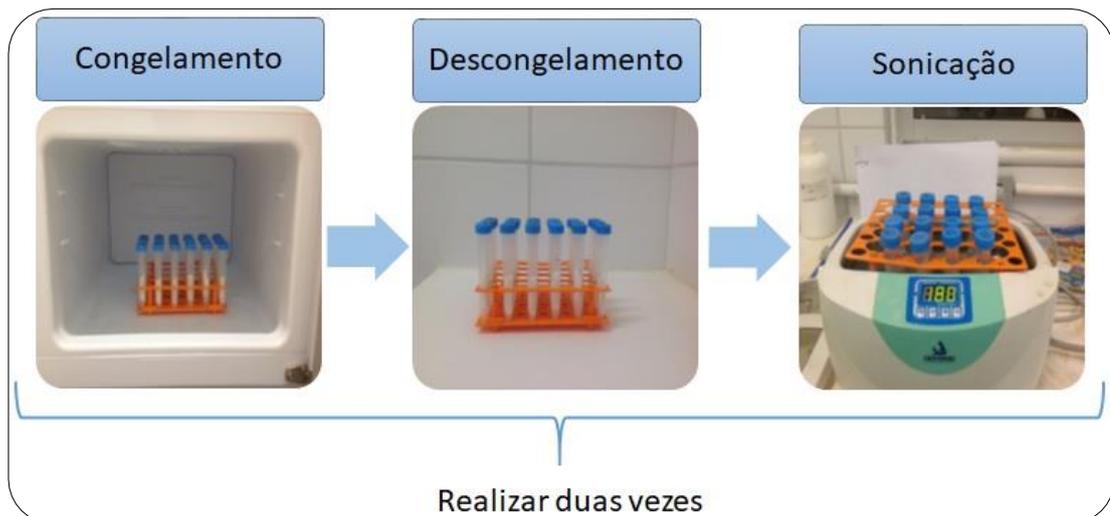
Figura 3 – Sistema de filtração (a); papel de filtro com amostra (b); armazenamento do papel de filtro (c) e congelamento das amostras (d)



Fonte: Autor (2018).

Foram adicionados 15 mL da solução tampão de fosfato pH 7,2 aos tubos de Falcon que continham os filtros das amostras, sendo agitados em seguida. O processo seguinte para disponibilizar o pigmento ficocianina em solução é apresentado pela figura 4.

Figura 4 – Fluxograma representativo do processo “freezing/thawing/sonication”



Fonte: Autor (2018).

No processo de sonicação foi utilizado aparelho Ultrassom marca Cristófoli durante 180 segundos. Após a sonicação das amostras, elas foram centrifugadas durante 15 minutos à 4000 rpm, havendo controle de temperatura ( $9,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ) no interior da incubadora marca

Marconi (modelo B.O.D MA 415). Finalizada a centrifugação, as soluções sobrenadantes das amostras foram analisados por espectrofluorimetria.

#### **4.6 Análise qualitativa e quantitativa de COD**

A amostra foi filtrada por um sistema de filtração semelhante ao da figura 3 (a). Para análise qualitativa, o filtrado foi analisado por espectrofluorimetria, utilizando comprimento de onda de excitação em 370 nm e observando emissão em torno de 450 nm. Foi utilizada cubeta de quartzo de 1cm de caminho óptico.

Na análise quantitativa, o filtrado foi analisado pelo método de oxidação com persulfato e aquecimento (5310 C), indicado pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005), realizado no Laboratório de Química e Analítica e Microbiologia Ambiental (LAQAMB) do Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Ceará (IFCE), campus Maracanaú. O equipamento utilizado nas análise foi o Sievers InnovOx Laboratory TOC Analyzer, da marca General Electric.

#### **4.7 Análise quimiométrica**

O estudos estatísticos (análise de correlação, análise de componentes principais - PCA) entre as variáveis estudados foram realizados no *software* Pirouette 4.5 (Infometrix).

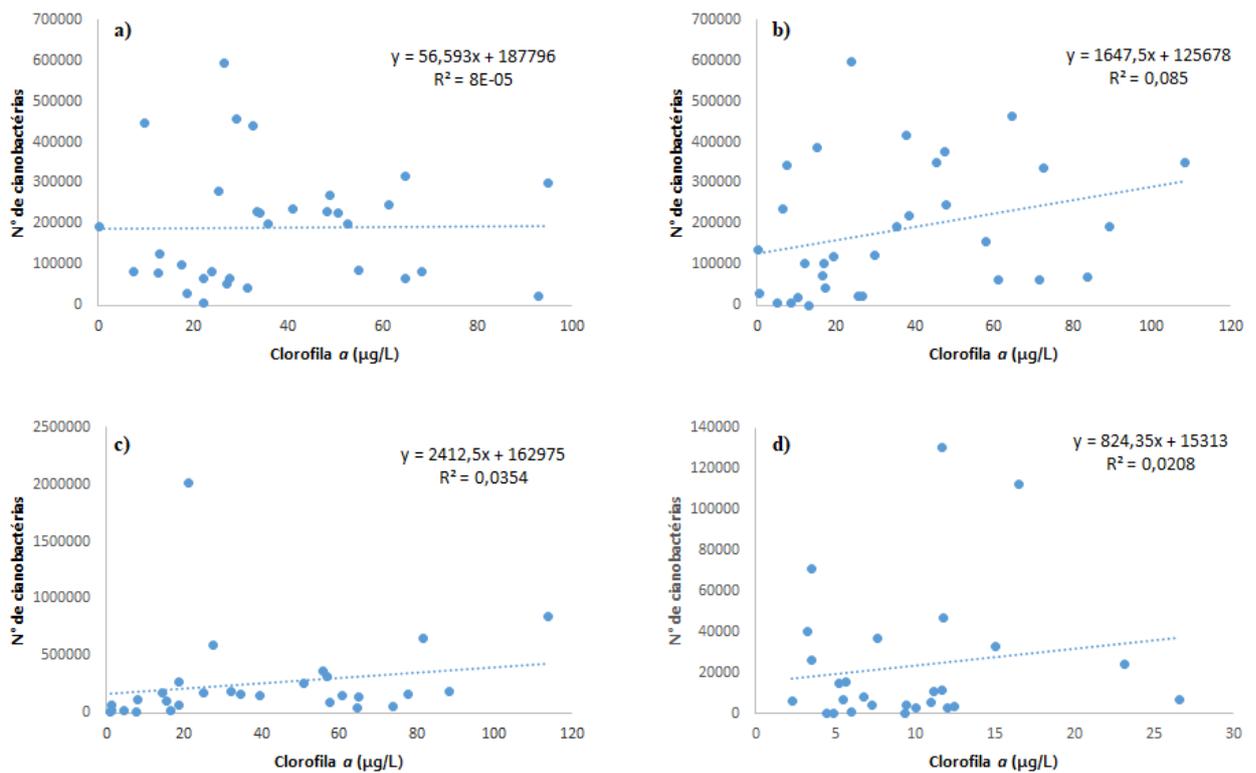
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Estudos espectrofotométricos

#### 5.1.1 Relação clorofila *a* e cianobactérias

Com dados obtidos no site da COGERH quanto a concentração de clorofila *a* e contagem de cianobactéria para o período de 2008 à 2016, foram elaborados gráficos que tentam relacionar essas duas variáveis, como apresentados na figura 5.

Figura 5 – Gráficos da concentração de clorofila *a* versus nº de cianobactérias para os reservatórios: Gavião (a); Pacoti (b); Riachão (c) e Pacajus (d)



Fonte: Autor (2018).

Os resultados apresentados anteriormente apresentam diferentes escalas em cada gráfico. Para todos os reservatórios, durante o período mostrado, o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi inferior 0,5, indicando que a relação entre essas variáveis nas águas de reservatórios não é significativa. Esses resultados favorecem a busca e pesquisa por variáveis mais eficazes na relação de cianobactérias. Comumente, a concentração de clorofila é um indicativo da biomassa fitoplanctônica em corpos d'água (KUTSER, 2004; PAN *et al.*, 2013),

justificando a realização dessa análise em monitoramento de água, no entanto a quantidade do pigmento clorofila nas cianobactérias é um valor variável, sendo influenciado pela espécie, tamanho, idade do microorganismo, entre outros (BRIENT *et al.*, 2007).

### 5.1.2 Análises de nutrientes e clorofila *a*

Os resultados das análises estão resumidos na tabela 6, para os reservatórios estudados.

Tabela 6 – Dados das análises dos reservatórios

	GAVIÃO			PACAJUS			PACOTI			RIACHÃO		
	PT	CHL-A	TRANSP									
	( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	(m)	( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	(m)	( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	(m)	( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	( $\mu\text{gL}^{-1}$ )	(m)
Mínimo	0,051	8,41	0,5	0,04	0,2	0,3	0,099	12,5	0,4	0,078	10,15	0,55
Máximo	0,274	111,1	0,9	0,33	13,24	0,6	0,434	89,18	0,9	0,350	102,7	1,0
Média	0,148	62	0,73	0,188	6,02	0,49	0,206	54,24	0,66	0,174	55,4	0,73

Fonte: Autor (2018).

A tabela 7 apresenta os resultados obtidos no cálculo do IET médio no período avaliado, em função de fósforo total, clorofila *a* e transparência da água. Utilizando as equações (1), (2), (3) e (4) foi calculado o valor do IET médio e determinado o estado trófico dos reservatórios, tendo como referência o trabalho de Toledo Jr. (1983). Considerando o resultado médio anual, todos os reservatórios foram classificados como eutróficos.

Tabela 7 – Valor do IET médio e classificação dos reservatórios estudados (2017)

PERÍODO	RESERVATÓRIOS			
	GAVIÃO	PACAJUS	PACOTI	RIACHÃO
ABRIL	63,58	60,61	69,04	63,04
MAIO	68,53	46,40	66,52	66,29
JUNHO	65,03	64,66	70,53	68,34
JULHO	70,95	58,56	74,08	72,13
AGOSTO	69,49	53,21	69,64	69,73
SETEMBRO	61,97	55,74	69,80	69,75
NOVEMBRO	67,96	58,18	67,40	65,82
DEZEMBRO	72,00	55,09	63,82	64,80

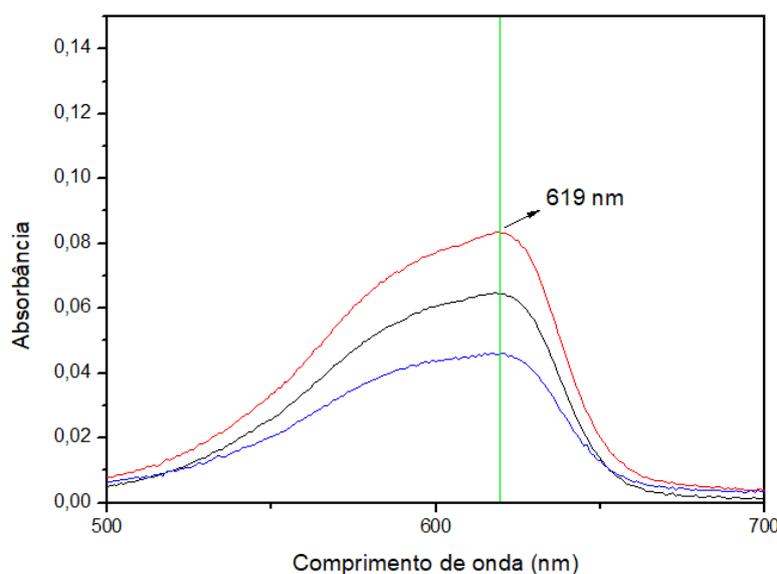
MÉDIA ANUAL	<b>67,44</b>	<b>56,56</b>	<b>68,85</b>	<b>67,49</b>
COEFICIENTE DE VARIACÃO (%)	5,3	9,59	4,41	4,47
NÍVEL TRÓFICO	EUTRÓFICO	EUTRÓFICO	EUTRÓFICO	EUTRÓFICO

Fonte: Autor (2018).

### 5.1.3 Curva analítica e equações para ficocianina

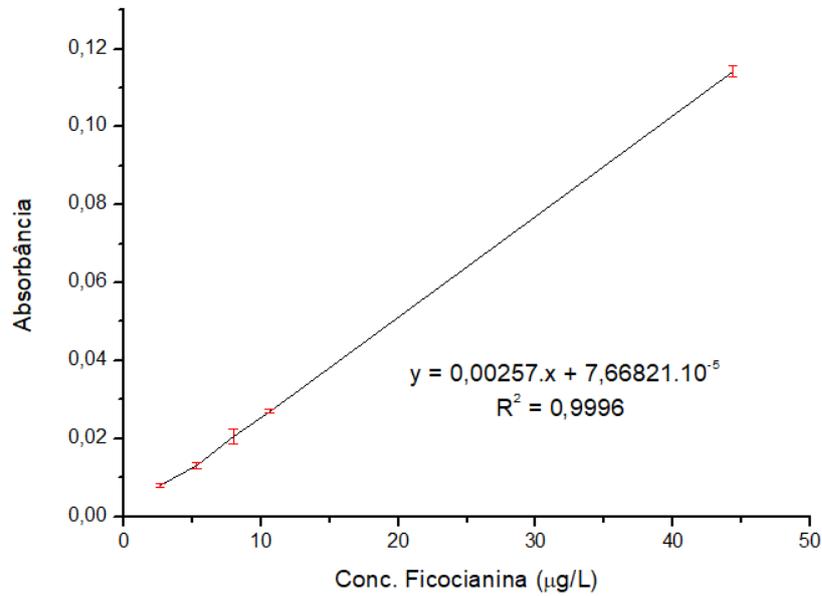
Dispondo de certo volume da solução estoque de ficocianina, foi realizada a varredura espectral para identificar a região de absorbância máxima dessa solução, como representado na figura 6.

Figura 6 – Região de absorção máxima da solução de ficocianina



Fonte: Autor (2018).

A absorbância máxima foi obtida no comprimento de onda de 619 nm, cuja coloração esperada para essa região é azul (semelhante à da solução analisada). Utilizando-se a expressão da equação (5), foi calculado a concentração do reagente padrão de ficocianina (C-Phycocyanin), obtendo valor de 11,10 mg/L. Com essa informação, foram elaboradas as soluções que compõem a curva de calibração para esse sistema de análise, cuja concentração das soluções variou de 44,4 µg/L a 2,66 µg/L. O resultado dessa curva de calibração, juntamente com a equação matemática que lhe representa é apresentada na figura 7.

Figura 7 – Curva de calibração espectrofotométrica da análise de ficocianina (em  $\mu\text{g/L}$ )

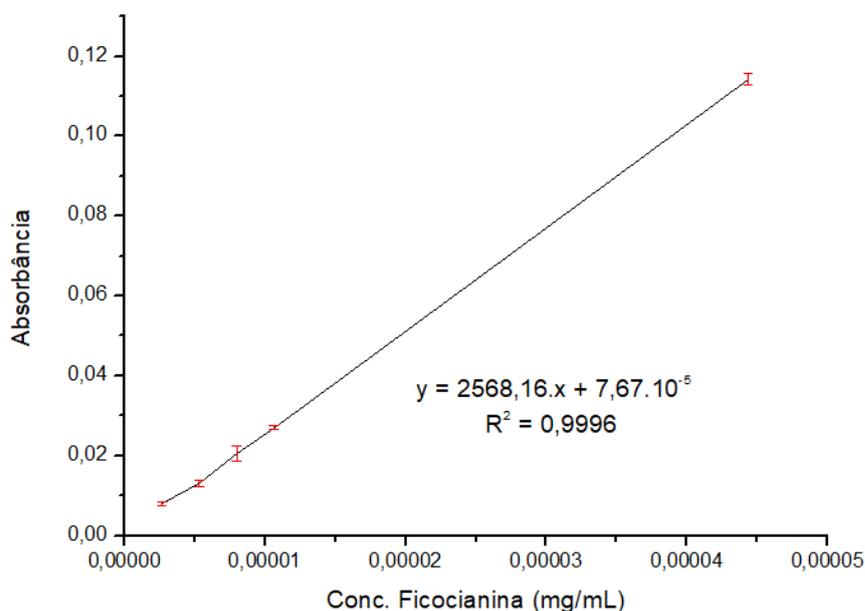
Fonte: Autor (2018).

O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para a curva de calibração obtido foi próximo de 1, indicando que há forte relação de linearidade para esses resultados. Apesar de não ser utilizada na quantificação da ficocianina, o gráfico e a equação matemática apresentada são importantes para discussões futuras acerca da absorvidade.

#### **5.1.4 Absortividade da ficocianina**

A figura 8 mostra a gráfico da curva de calibração para ficocianina (semelhante ao que é apresentado na figura 7) mudando-se a unidade de concentração calculada, para facilitar a compreensão das discussões posteriores.

Figura 8 – Curva de calibração espectrofotométrica da análise de ficocianina (em mg/mL)



Fonte: Autor (2018).

Utilizando-se a equação matemática apresentada anteriormente e relacionando-se com a expressão que rege a Lei de Beer, foi calculado o valor da absorvidade da ficocianina, obtendo-se o valor de 2568,16 mL/mg.cm. Esse valor encontrado é bem divergente, em comparação com a literatura. A tabela 6 apresenta algumas diferenças entre o valor obtido nesse estudo e os que estão reportados na literatura.

Tabela 6 – Comparação bibliográfica de absorvidade da ficocianina

Absortividade ( $\epsilon$ )	Comprimento de onda ( $\lambda$ )	Solução tampão	Referências
5,18 mL/mg.cm	620 nm	Tampão fosfato de sódio 0,1M (pH 7)	Bennett (1971)
5,92 mL/mg.cm	615 nm	Tampão fosfato de sódio 0,01M (pH 7) + NaCl 0,15M	Bennett (1973)
7,9 mL/mg.cm	615 nm	Tampão fosfato 0,01M (pH 6)	Brody (1961)
7,3 mL/mg.cm	620 nm	Tampão fosfato 0,1M (pH 7) + lisozima + EDTA	Boussiba - Adaptado (1979)
2568,16 mL/mg.cm	619 nm	Tampão fosfato 0,025M (pH 7,2)	Este trabalho

Fonte: Autor (2018).

Especula-se que a grande divergência entre as absorptividades apresentadas esteja associada com a solução tampão utilizada em cada metodologia. A concentração do sal que compõe o tampão contribui com alteração da força iônica da solução, parâmetro esse que afeta a relação comumente usada entre atividade química e concentração ( $a = C \cdot \gamma$ ). Alteração da força iônica da solução também afeta a absorptividade de um composto (SKOOG *et al.*, 2009).

Embora os valores de pH das soluções apresentadas não sejam tão discrepantes, o controle desse parâmetro influencia também nos equilíbrios que possam ocorrer com as espécies presentes, podendo suprimir ou intensificar a absorvância observada e, conseqüentemente, a absorptividade do analito.

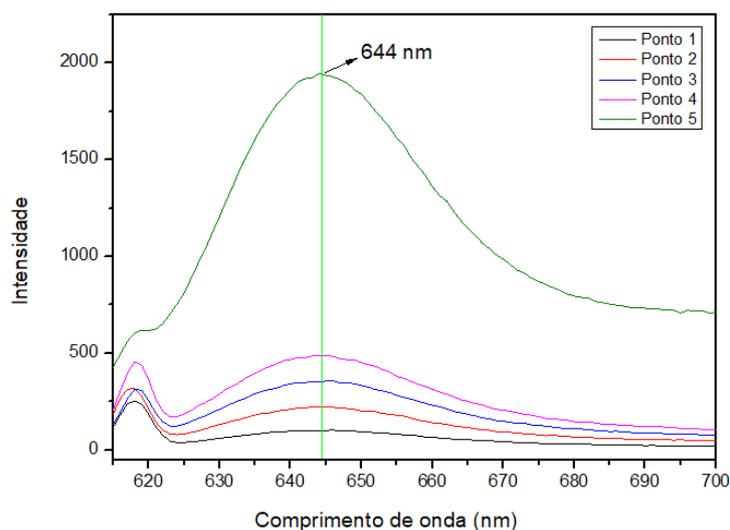
Segundo Skoog (2009), não é indicado basear os resultados de uma análise no valor de absorptividade encontrado na literatura. Assim, o valor experimental encontrado nesse trabalho será utilizado, quando necessário, em cálculos futuros.

## 5.2 Estudos fluorimétricos

### 5.2.1 Curva analítica e equações para ficocianina

Conhecendo o  $\lambda_{m\acute{a}x}$  de absorção da ficocianina nos experimentos espectrofotométricos (619 nm), foi utilizado esse mesmo comprimento de onda para realizar a excitação das moléculas e observar a região de emissão do composto por fluorimetria. Os experimentos, com diferentes concentrações, são mostrados na figura 9.

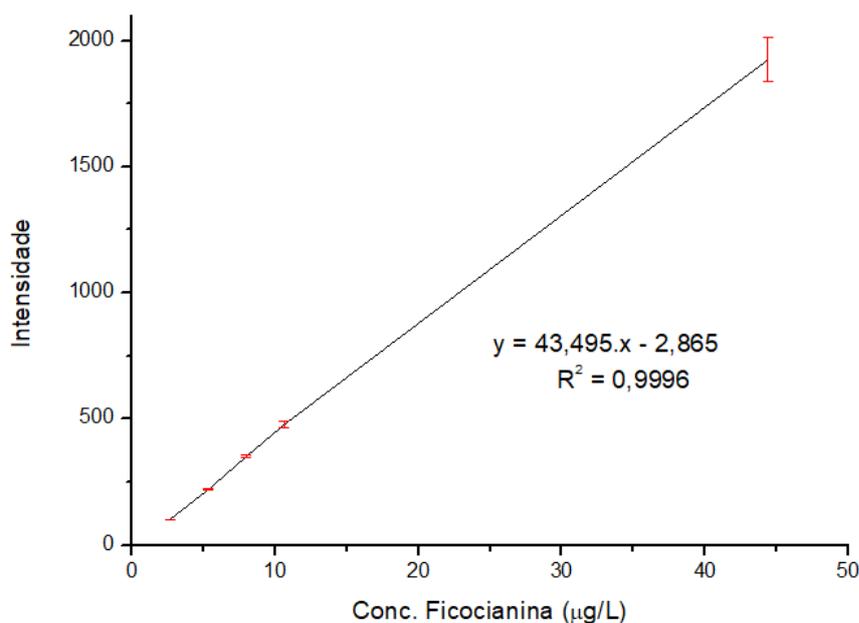
Figura 9 – Região de emissão máxima da solução de ficocianina ( $\lambda_{Exc} = 619$  nm)



Fonte: Autor (2018).

A curva de calibração no espectrofluorímetro com os valores obtidos em 644 nm, utilizando soluções de concentração 44,4 µg/L a 2,66 µg/L. O gráfico da curva de calibração e a equação matemática associada são apresentadas na figura 10.

Figura 10 – Curva de calibração fluorimétrica da análise de ficocianina (em µg/L)



Fonte: Autor (2018).

O coeficiente de determinação para essa curva de calibração também foi elevado (próximo de 1), indicando boa relação entre os dados de concentração e intensidade. Para essa expressão matemática os valores do limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram, respectivamente 0,392 µg/L e 1,188 µg/L.

Ao observar e comparar os coeficientes angulares das equações apresentadas nas figuras 7 e 10, percebe-se que, para a análise por fluorimetria, o coeficiente é maior. De acordo com Skoog (2009), ao comparar equações de reta para uma análise, o que apresentar maior coeficiente angular apresenta mais sensibilidade ao sistema. Essa informação corrobora com a escolha da técnica de espectrofluorimetria para determinação de ficocianina. Os resultados apresentados posteriormente foram obtidos pela utilização do método fluorimétrico.

Utilizando a equação matemática obtida para quantificação da ficocianina, foram calculadas as concentrações (em duplicata) desse pigmento em reservatórios, como apresentado na tabela 7.

Tabela 7 – Concentração do pigmento ficocianina nos reservatórios cearenses

RESERVATÓRIOS								
PERÍODO	Gavião		Pacajus		Pacoti		Riachão	
	Conc.	C.V	Conc.	C.V	Conc.	C.V	Conc.	C.V
	(µg/L)	(%)	(µg/L)	(%)	(µg/L)	(%)	(µg/L)	(%)
<b>Abril</b>	1,733	13,2	< LQ	-	7,751	2,3	7,300	1,7
<b>Mai</b>	7,138	1,9	1,404	6,4	1,447	1,3	1,451	0,1
<b>Junho</b>	1,460	0,7	< LQ	-	< LQ	-	< LQ	-
<b>Julho</b>	< LQ	-	< LQ	-	< LQ	-	< LQ	-
<b>Agosto</b>	11,072	3,3	< LQ	-	46,431	25,0	< LQ	-
<b>Setembro</b>	< LQ	-	< LQ	-	1,390	18,4	< LQ	-
<b>Novembro</b>	< LQ	-	< LQ	-	< LQ	-	< LQ	-
<b>Dezembro</b>	< LQ	-	< LQ	-	< LQ	-	< LQ	-

(-) Resultado não obtido

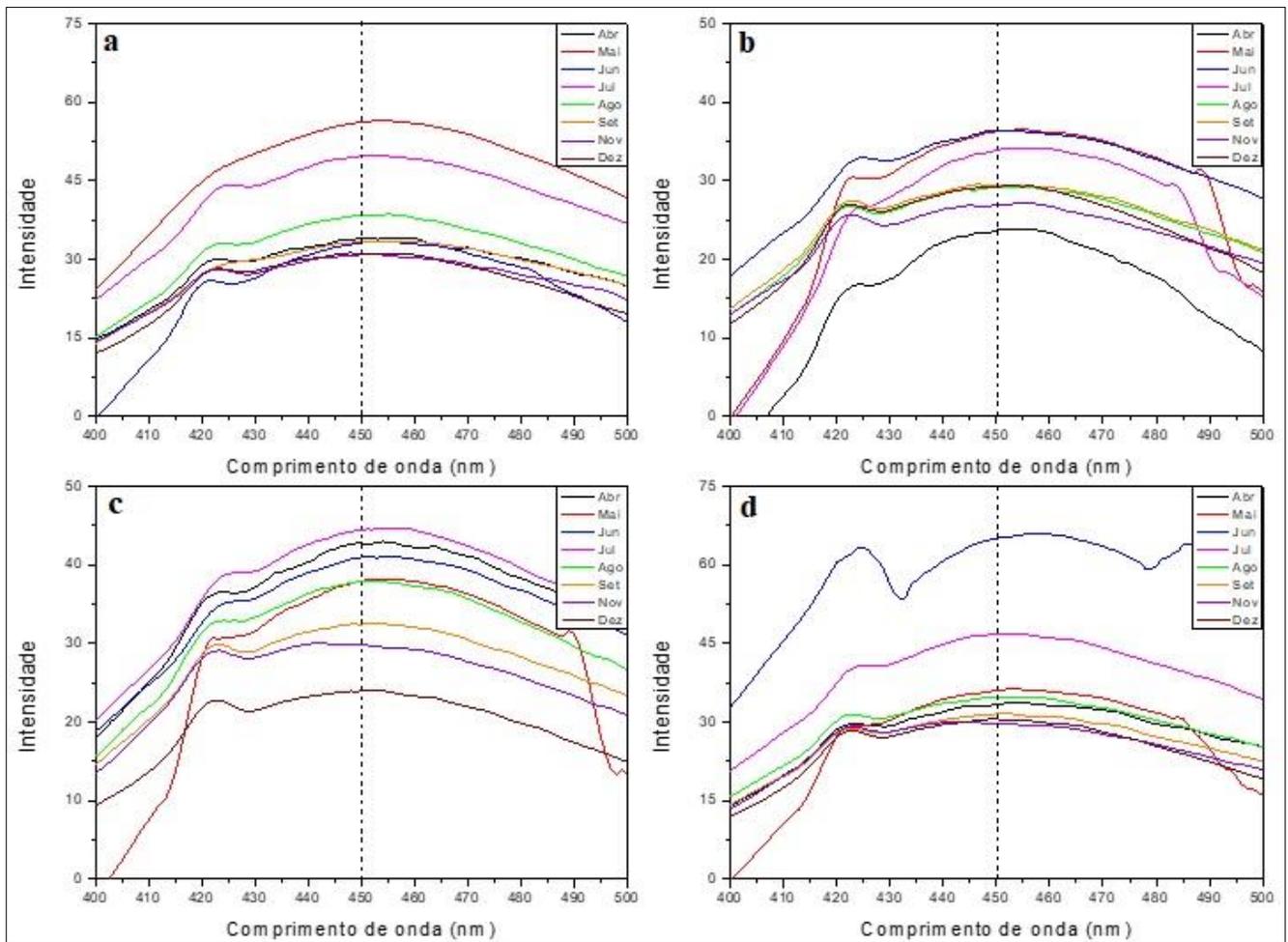
Fonte: Autor (2018).

Grande parte dos resultados apresentados foram inferiores ao limite de quantificação da técnica, sugerindo que há pequenas quantidades do pigmento nas amostras, impossibilitando uma discussão mais aprofundada desses resultados.

### 5.2.2 Análise qualitativa de COD

Os espectros de emissão da análise de Carbono Orgânico Dissolvido (excitação eletrônica em 370 nm) para os reservatórios são apresentados pela figura 11.

Figura 11 – Região de emissão máxima (excitação em 370 nm) para amostras dos açudes Gavião (a), Pacajus (b), Pacoti (c) e Riachão (d)



Fonte: Autor (2018).

Apesar de não ser fácil a percepção das regiões de máxima intensidade nos gráficos, houve a predominância de espectros nos meses analisados com valor máximo em comprimentos de onda superiores a 450 nm, indicando que o COD provavelmente é de origem alóctone.

Também foi calculado o valor da razão  $I_{450\text{ nm}}/I_{500\text{ nm}}$  utilizando os dados obtidos com excitação em 370 nm. A tabela 8 apresenta esses resultados para os reservatórios estudados.

Tabela 8 – Dados da razão  $I_{450\text{ nm}}/I_{500\text{ nm}}$  para os reservatórios

PERÍODO	RESERVATÓRIOS			
	GAVIÃO	PACAJUS	PACOTI	RIACHÃO
ABRIL	1,37	<b>2,87</b>	1,32	1,32
MAIO	1,35	<b>2,28</b>	<b>2,81</b>	<b>2,23</b>
JUNHO	<b>1,84</b>	1,31	1,32	1,11
JULHO	1,27	<b>2,23</b>	1,33	1,36
AGOSTO	1,44	1,39	1,43	1,38
SETEMBRO	1,33	1,39	1,39	1,4
NOVEMBRO	1,39	1,38	1,42	1,42
DEZEMBRO	1,59	1,59	1,60	1,59

Fonte: Autor (2018).

Os valores em negrito na tabela são superiores à 1,8 (origem autóctone). Pelos dois processos de identificação de origem do COD, foi observado que são, majoritariamente, de origem alóctone. No entanto, para o açude Pacajus, o resultado pelos dois processos não foi concordante, indicando presença de COD autóctone em alguns meses de 2017. Apesar de ser uma informação indicada pela literatura, a medida comparativa da intensidade máxima, sendo superior ou inferior à um comprimento de onda específico, pode não ser muito representativa da situação real da amostra, sabendo que em metodologias já consolidadas, o valor medido experimentalmente pode, às vezes, não corresponder ao comprimento de onda de intensidade máxima.

### 5.3 Estudo estatístico

Fornecendo diversos resultados de análises ao software Statistic, foi gerada uma tabela de correlação, a partir dos dados não-paramétricos, como apresentados na tabela 9.

Tabela 9 – Correlação entre variáveis estudadas para os reservatórios

	N-Total	P-Total	Chl- <i>a</i>	Ficoc.	Cont. Cianobactérias	Transp.	COD	IET (P-Total)	IET (Chl- <i>a</i> )	IET (Transp.)
N-Total	1,0000	0,2284	0,2456	<b>0,3539</b>	0,2760	0,2632	<b>0,4271</b>	0,2284	0,2456	-0,2632
P-Total	0,2284	1,0000	0,1858	0,0798	0,2663	0,2804	<b>0,3484</b>	1,0000	0,1858	-0,2804
Chl- <i>a</i>	0,2456	0,1858	1,0000	0,0333	<b>0,7056</b>	<b>0,4266</b>	-0,0658	0,1858	1,0000	<b>-0,4266</b>
Ficoc.	<b>0,3539</b>	0,0798	0,0333	1,0000	0,2803	<b>0,3800</b>	<b>0,4135</b>	0,0798	0,0333	<b>-0,3800</b>
Cont. Cianobactérias	0,2760	0,2663	<b>0,7056</b>	0,2803	1,0000	<b>0,4070</b>	0,2322	0,2663	<b>0,7056</b>	<b>-0,4070</b>
Transp.	0,2631	0,2804	<b>0,4266</b>	<b>0,3800</b>	<b>0,4070</b>	1,0000	<b>0,4743</b>	0,2804	<b>0,4266</b>	-1,000
COD	<b>0,4271</b>	<b>0,3484</b>	-0,0658	<b>0,4135</b>	0,2322	<b>0,4743</b>	1,0000	<b>0,3484</b>	-0,0658	<b>-0,4743</b>
IET(P-Total)	0,2284	1,0000	0,1858	0,0798	0,2663	0,2804	<b>0,3484</b>	1,0000	0,1858	-0,2804
IET(Chl- <i>a</i> )	0,2456	0,1858	1,0000	0,0333	<b>0,7056</b>	<b>0,4266</b>	-0,0658	0,1858	1,0000	<b>-0,4266</b>
IET(Transp.)	-0,2631	-0,2804	<b>-0,4266</b>	<b>-0,3800</b>	<b>-0,4070</b>	-1,0000	<b>-0,4743</b>	-0,2804	<b>-0,4266</b>	1,0000

Fonte: Autor (2018).

Na tabela, os valores marcados em negrito representam tendência de linearidade entre as variáveis. Para o cálculo do software, valores superiores à 0,3 indicam tendência linear positiva (diretamente proporcionais), enquanto valores inferiores à 0,3 indicam tendência linear negativa (inversamente proporcionais).

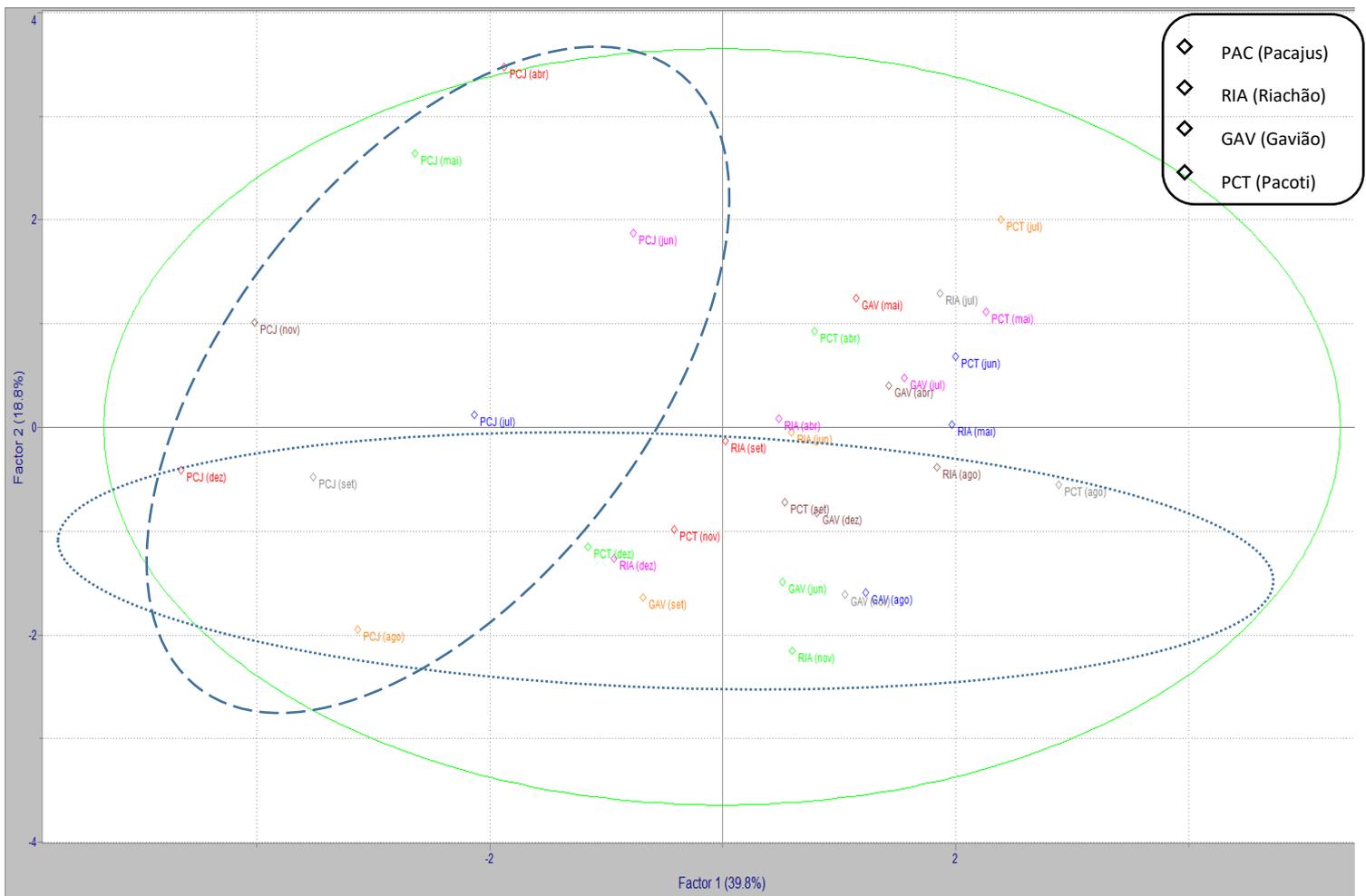
Destaca-se, em especial, uma tendência linear positiva entre as variáveis contagem de cianobactérias e clorofila *a* (e, por consequência, com IET (Chl-*a*)), dado esse que é concordante com o exposto em literaturas, mas também é discordante com dados históricos dos reservatórios do semiárido cearense.

A variável transparência também apresentou tendência linear com a variável das cianobactérias. No entanto, não foi observado essa relação com a variável ficocianina e contagem de cianobactérias. Isso pode ter ocorrido porque muitos dados da ficocianina foram inferiores ao limite de quantificação, sendo necessário inserir o valor correspondente ao LQ para que fosse efetuado os cálculos estatísticos. Acredita-se também que, para os reservatórios do semiárido, fatores morfoclimáticos e antrópicos possam afetar o crescimento/desenvolvimento das espécies e alterar a quantidade do pigmento ficocianina nas cianobactérias.

A tendência de linearidade observada entre as variáveis COD e transparência é concordante com abordado na literatura, já que algumas das espécies orgânicas que podem estar dissolvidas na água podem gerar coloração nos reservatórios e influenciar na medição da transparência.

De modo complementar, foi realizado o PCA com os dados das amostras. O resultado desse estudo está apresentado na figura 12.

Figura 12 – Diagrama de componentes principais para amostras dos reservatórios



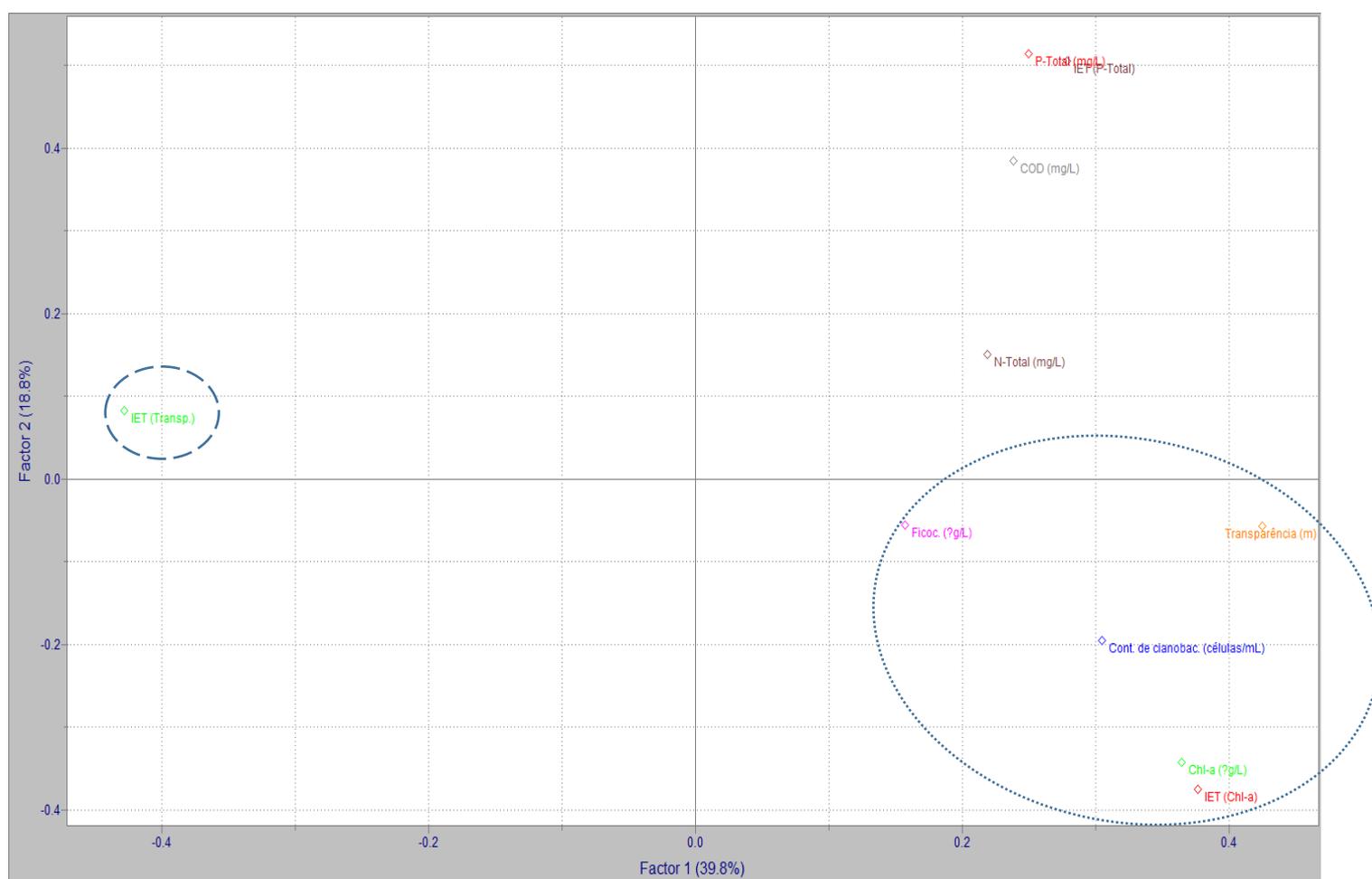
Fonte: Autor (2018).

Os códigos presentes na imagem são utilizados na identificação das amostras no laboratório de análise, onde em maiúsculo representa o reservatório e em minúsculo o mês de referência. No conjunto de dados foi realizado pré-processamento do tipo autoescalamento (mesmo peso para todas as variáveis). O PCA permitiu identificar dois conjuntos entre as amostras analisadas, com mais de 50% de precisão (somatório da contribuição dos fatores). O

grupo a esquerda é composto pelas amostras do reservatório Pacajus. O grupo na parte inferior é composto majoritariamente por amostras do segundo semestre (período seco).

De acordo com o diagrama de escores (figura 13), a variável IET (Transp.) é responsável pela diferenciação do reservatório Pacajus dos outros reservatórios. As variáveis transparência, ficocianina, contagem de cianobactérias, clorofila *a* e IET (Clorofila *a*) contribuíram para identificação do grupo inferior (período de seca).

Figura 13 – Diagrama de escores para variáveis analisadas



Fonte: Autor (2018).

A variável transparência e IET (transp.) apresentaram relações de tendência linear com algumas variáveis, além de contribuições significativas na diferenciação dos dois grupos observados. Isso sugere que a análise dessa característica das águas é importante, devendo ser levada em consideração nos processos de monitoramento dos corpos hídricos e em estudos estatísticos futuros.

## 6 CONCLUSÃO

Os gráficos observados entre clorofila *a* e contagem de cianobactérias de 2008 à 2016 sugerem que não há boa correlação entre essas variáveis.

Pelas equações e classificação trófica adotada pela COGERH, de acordo com Toledo Jr, os reservatórios foram classificados como eutróficos.

Para os experimentos realizados sobre a ficocianina foram determinados as regiões de sinal máximo para as técnicas (absorbância e intensidade), sendo 619 nm para análise espectrofotométrica e 644 nm para análise fluorimétrica.

Na determinação da absortividade da ficocianina, houve discrepância entre os valores apresentados na literatura e o obtido nesse trabalho.

As equações matemáticas, juntamente com os coeficientes de determinação apresentados, mostram que é válida a utilização destas para a quantificação do pigmento ficocianina nas águas de reservatórios, apesar dos resultados finais não favorecerem uma discussão muito conclusiva.

Para os reservatórios analisados, foi identificado como predominante a ocorrência de carbono de fontes alóctones, tanto pelo estudo da região de máxima intensidade fluorimétrica, como pela razão de intensidades em 450 nm e 500 nm.

Diferente do observado em anos anteriores, estatisticamente notou-se uma tendência linear entre clorofila *a* e contagem de cianobactérias. A variável transparência também apresentou tendência linear com outras variáveis, indicando importância na medida dessa variável.

## REFERÊNCIAS

ABDO, S. M. et al. Phytochemical and antibacterial study of five freshwater algal species. **Asian journal of plant sciences**, v. 11, n.3, p. 109-116, 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS. **Rede Nacional de Monitoramento de Qualidade da Água**. Disponível em: <<http://www3.ana.gov.br/portal/ANA/panorama-das-aguas/qualidade-da-agua/rnqa>>. Acesso em: 25 nov. 2017.

ANVISA, Resolução. 166/2017. **Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências**, 2017. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/353660> >. Acesso em: 02 jul. 2017.

APHA, AWWA, WPCF, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th Ed., 2005.

ARAÚJO, SMS de. A Região Semiárida do Nordeste do Brasil: questões ambientais e possibilidades de uso sustentável dos recursos. **Rios Eletrônica-Revista Científica da FASETE**. Ano 5, v. 5, 2011.

AZEVEDO, Julio Cesar Rodrigues de et al. Spectroscopic characterization of dissolved organic matter in the upper paraná river floodplain. **Oecologia Australis**, v. 12, n. 1, p. 66-77, 2009.

BEM, C. C. **Determinação do estado de eutrofização de um lago raso: estudo de caso do lago barigui**. 2009. Tese de Doutorado. Dissertação (Pós-graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

BENNETT, Allen; BOGORAD, Lawrence. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. **The Journal of cell biology**, v. 58, n. 2, p. 419-435, 1973.

BENNETT, Allen; BOGORAD, Lawrence. Properties of subunits and aggregates of blue-green algal biliproteins. **Biochemistry**, v. 10, n. 19, p. 3625-3634, 1971.

BEZERRA, N. F. Água no Semi-Árido Nordeste: Experiências e Desafio. In: Água e Desenvolvimento Sustentável no Semi-Árido, **Seminário**, Série Debates, n. 24. Fortaleza: Fundação Konrad Adenauer, p. 35-52, 2002.

BOUSSIBA, Samy; RICHMOND, Amos E. Isolation and characterization of phycocyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis*. **Archives of Microbiology**, v. 120, n. 2, p. 155-159, 1979.

BRIENT, Luc et al. A phycocyanin probe as a tool for monitoring cyanobacteria in freshwater bodies. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 10, n. 2, p. 248-255, 2007.

BRODY, Seymour Steven; BRODY, Marcia. A quantitative assay for the number of chromophores on a chromoprotein; its application to phycoerythrin and phycocyanin. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 50, n. 2, p. 348-352, 1961.

CARLSON, R.E. A trophic state index for lakes. **Limnology and Oceanography**, v. 22, p. 361-369, 1977.

CARVALHO, N. O. S. de et al. Crescimento inicial de plantas de licuri (*Syagrus coronata*) em diferentes níveis de luminosidade. **Revista Árvore**, Viçosa, v.30, n.3, p.351-357, 2006.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEAMENTO AMBIENTAL. Determinação de Clorofila *a* e Feofitina *a*: método espectrofotométrico In: **CETESB norma técnica**. CETESB, 2014

CONAMA, Resolução. 357/2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**, 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

DA SILVA, Aichely Rodrigues; FONSECA, Alessandra Larissa D. Oliveira. Eutrofização dos recursos hídricos como ferramenta para a compreensão das doenças de vinculação hídrica. **Geosul**, v. 31, n. 62, p. 247-270, 2016.

DROH LANCINÉ, Gone et al. Evaluating fluorescence and ultraviolet photometry to assess dissolved organic matter removal during coagulation–flocculation. **Water and Environment Journal**, v. 25, n. 4, p. 540-546, 2011.

FIGUEIRÊDO, Maria Cléa Brito de et al. Avaliação da vulnerabilidade ambiental de reservatórios à eutrofização. **Eng. sanit. ambient**, v. 12, n. 4, p. 399-409, 2007.

FRIMMEL, F. H. Characterization of natural organic matter as major constituents in aquatic systems. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 35, p. 201-216, 1998.

GIL, Eric de Souza et al. Controle físico-químico de qualidade de medicamentos. **São Paulo: Pharmabooks**, 2009.

GREGOR, Jakub; MARŠÁLEK, Blahoslav; ŠÍPKOVÁ, Helena. Detection and estimation of potentially toxic cyanobacteria in raw water at the drinking water treatment plant by in vivo fluorescence method. **Water Research**, v. 41, n. 1, p. 228-234, 2007.

HENRIKSON, Robert. **Microalga Spirulina: una notable alga azul que puede transformar su salud y nuestro planeta**. Argentina: Ediciones Urano, 1994.

HORVÁTH, Hajnalka et al. Extraction methods for phycocyanin determination in freshwater filamentous cyanobacteria and their application in a shallow lake. **European journal of phycology**, v. 48, n. 3, p. 278-286, 2013.

HUTCHINSON, George Evelyn. **A Treatise on Limnology, Vol. 1, Part 1: Geography and physics of lakes**. John Wiley & Sons, 1975.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo Demográfico 2010. **População no Último Censo**. Disponível em: <[www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)>. Acesso em 15 jul. 2017.

JOCHIMSEN, Elise M. et al. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. **New England Journal of Medicine**, v. 338, n. 13, p. 873-878, 1998.

KUTSER, Tiit. Quantitative detection of chlorophyll in cyanobacterial blooms by satellite remote sensing. **Limnology and Oceanography**, v. 49, n. 6, p. 2179-2189, 2004.

- LAWRENZ, Evelyn; FEDEWA, Erin J.; RICHARDSON, Tammi L. Extraction protocols for the quantification of phycobilins in aqueous phytoplankton extracts. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, n. 5, p. 865-871, 2011.
- LEENHEER, Jerry A. et al. Nature and chlorine reactivity of organic constituents from reclaimed water in groundwater, Los Angeles County, California. **Environmental science & technology**, v. 35, n. 19, p. 3869-3876, 2001.
- LEHMAN, Elizabeth M. Seasonal occurrence and toxicity of Microcystis in impoundments of the Huron River, Michigan, USA. **Water Research**, v. 41, n. 4, p. 795-802, 2007.
- MANKIEWICZ, JOANNA et al. Natural toxins from cyanobacteria. **Acta Biol Cracov Bot**, v. 45, p. 9-20, 2003.
- MUR, L. R.; SKULBER, O. M.; UTKILEN, H. Cyanobacteria in the environment. In: CHORUS, I; BARTRAM, J. (Orgs.). **Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management**. London: E & FN Spon. cap 2, 1999.
- PAN, Xiaojun et al. Remote sensing of picophytoplankton distribution in the northern South China Sea. **Remote sensing of environment**, v. 128, p. 162-175, 2013.
- PATEL, Anamika et al. Purification and characterization of C-phycoerythrin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. **Protein expression and purification**, v. 40, n. 2, p. 248-255, 2005.
- PATIL, Ganapathi; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Aqueous two phase extraction for purification of C-phycoerythrin. **Biochemical Engineering Journal**, v. 34, n. 2, p. 156-164, 2007.
- PÉREZ, Gabriel Roldán; RESTREPO, John Jairo Ramírez. **Fundamentos de limnología neotropical**. Universidad de Antioquia, 2008.
- PORTAL DA QUALIDADE DAS ÁGUAS. Avaliação da qualidade da água. **Introdução**. Disponível em: < <http://portalpnqa.ana.gov.br/avaliacao.aspx> >. Acesso em 16 jun. 2017.
- ROMÁN, R. Bermejo et al. Recovery of pure B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum*. **Journal of Biotechnology**, v. 93, n. 1, p. 73-85, 2002.

ROMAY, C. H. et al. C-phycoyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. **Current protein and peptide science**, v. 4, n. 3, p. 207-216, 2003.

SANCHES, Sergio Marcos et al. Presença da Toxina Microcistina em Água, Impactos na Saúde Pública e Medidas de Controle. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 2, p. 181-187, 2012.

SANT'ANNA, Célia L. **Manual ilustrado para identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras**. Interciência; São Paulo: Sociedade Brasileira de Ficologia, 2006.

SANTIAGO-SANTOS, Ma Carmen et al. Extraction and purification of phycoyanin from *Calothrix* sp. **Process biochemistry**, v. 39, n. 12, p. 2047-2052, 2004.

SARADA, R. M. G. P.; PILLAI, Manoj G.; RAVISHANKAR, G. A. Phycoyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycoyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycoyanin. **Process Biochemistry**, v. 34, n. 8, p. 795-801, 1999.

SEPPÄLÄ, J. et al. Ship-of-opportunity based phycoyanin fluorescence monitoring of the filamentous cyanobacteria bloom dynamics in the Baltic Sea. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 73, n. 3-4, p. 489-500, 2007.

SIERRA, M.M.S.; GIOVANELA, M.; DONARD, O.F.X.; BELIN, C. A utilização da espectroscopia de fluorescência no estudo da matéria orgânica dissolvida nas águas naturais: evolução e perspectivas. **Química Nova**, 19, (3), p.294-301, 1995.

SILVEIRA, Silvana Terra et al. Optimization of phycoyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. **Bioresource technology**, v. 98, n. 8, p. 1629-1634, 2007.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6 ed. Porto Alegre: Editora Bookman, 2009.

SMITH, Val H.; SCHINDLER, David W. Eutrophication science: where do we go from here?. **Trends in ecology & evolution**, v. 24, n. 4, p. 201-207, 2009.

SONI, Badrish et al. Extraction, purification and characterization of phycocyanin from *Oscillatoria quadripunctulata*—Isolated from the rocky shores of Bet-Dwarka, Gujarat, India. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 9, p. 2017-2023, 2006.

STEWART, Dianne E.; FARMER, Franklin H. Extraction, identification, and quantitation of phycobiliprotein pigments from phototrophic plankton. **Limnology and Oceanography**, v. 29, n. 2, p. 392-397, 1984.

STREIT, Nivia Maria et al. The chlorophylls. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

TEIXEIRA, Maria da Glória Lima Cruz et al. Epidemia de gastroenterite na área da barragem de Itaparica, Bahia. **Bol. of Sanit. Panam.** 1993.

TOLEDO JR, A. P. Informe preliminar sobre os estudos para a obtenção de um índice para a avaliação do estado trófico de reservatórios de regiões quentes tropicais. **São Paulo: CETESB**, 1990.

TOLEDO JÚNIOR, A. P.; TALARICO, M.; CHINEZ, S. J.; AGUDO, E. G. **A aplicação de modelos simplificados para a avaliação do processo da eutrofização em lagos e reservatórios tropicais.** In: Anais do 12º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária. p. 1-34, 1983.

VISKARI, P. J. COLYER, C. L. Rapid extraction of phycobiliproteins from cultured cyanobacteria samples. **Analytical Biochemistry**, v. 319, p. 263-271, 2003.

VONSHAK, Avigad (Ed.). **Spirulina platensis arthrospira: physiology, cell-biology and biotechnology.** CRC Press, 1997.

WESTERHOFF, P.; ANNING, D. Concentrations and characteristics of organic carbon in surface water in Arizona: influence of urbanization. **Journal of hydrology**, v. 236, n. 3, p. 202-222, 2000.

YACOBI, Y. Z. et al. Phycocyanin-specific absorption coefficient: Eliminating the effect of chlorophylls absorption. **Limnology and Oceanography: Methods**, v. 13, n. 4, p. 157-168, 2015.

ZIMBA, Paul V. An improved phycobilin extraction method. **Harmful Algae**, v. 17, p. 35-39, 2012.