



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E AMBIENTAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL:**  
**SANEAMENTO AMBIENTAL**

**JOLITA PORTELA NORONHA**

**REMOÇÃO DE MICROCYSTIS AERUGINOSA E MICROCISTINAS POR  
FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA – UMA ABORDAGEM ALTERNATIVA**

**FORTALEZA**

**2020**

JOLITA PORTELA NORONHA

**REMOÇÃO DE MICROCYSTIS AERUGINOSA E MICROCISTINAS POR  
FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA – UMA ABORDAGEM ALTERNATIVA**

Dissertação submetida à coordenação do curso de Pós-graduação em Engenharia Civil, da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do Mestre em Engenharia Civil.

Área de concentração: Saneamento Ambiental

Orientador: Prof. Dr. José Capelo-Neto.

**FORTALEZA**

**2020**

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)

---

N1r NORONHA, JOLITA PORTELA.  
REMOÇÃO DE MICROCYSTIS AERUGINOSA E MICROCISTINAS POR FOTOCATÁLISE  
HETEROGÊNEA – UMA ABORDAGEM ALTERNATIVA / JOLITA PORTELA NORONHA. – 2020.  
64 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil: Saneamento Ambiental, Fortaleza, 2020.  
Orientação: Prof. Dr. JOSÉ CAPELO NETO.

1. TRATAMENTO DE ÁGUA. 2. DIÓXIDO DE TITÂNIO. 3. FOTOCATÁLISE. 4. CIANOBACTÉRIAS.  
5. CIANOTOXINAS. I. Título.

CDD 628

---

JOLITA PORTELA NORONHA

**REMOÇÃO DE MICROCYSTIS AERUGINOSA E MICROCISTINAS POR  
FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA – UMA ABORDAGEM ALTERNATIVA**

Dissertação submetida à coordenação do curso de Pós-graduação em Engenharia Civil, da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do Mestre em Engenharia Civil.

Área de concentração: Saneamento Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Jose Capelo Neto.

APROVADO EM: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Professor Dr. José Capelo-Neto  
Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental  
Universidade Federal do Ceará

---

Professor Dr. Etham Barbosa  
Universidade Estadual da Paraíba

---

Professor Dr. Wilton Lopes  
Universidade Estadual da Paraíba

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de dedicar esse trabalho primeiramente a Deus e agradece-lo por toda força que me foi dada durante a jornada.

À minha família, meus pais, minhas irmãs, meus cunhados e meus sobrinhos, pela compreensão nos momentos de ausência, por acreditarem tanto em mim, pela paciência nos dias difíceis e principalmente pelo amor que sempre me deram.

Ao meu companheiro Daniel, que tanto amo, que me apoiou desde o início e que foi meu suporte em todos os desafios que enfrentamos durante esse mestrado.

Aos amigos do intercâmbio da Austrália, às amigas da época de escola e às amigas de infância, irmãs de coração, por contribuírem com palavras e momentos especiais que fizeram toda a diferença nessa reta final do curso.

Ao grupo de pesquisa do SELAQUA da Universidade Federal do Ceará (UFC), especialmente à Diana, Cida, Marianna e aos bolsistas de iniciação científica, que pude sempre contar com instruções, apoio e companhia durante o trabalho desenvolvido.

Ao grupo de pesquisa CyanoSol (Robert Gordon University), que me recebeu de uma forma tão acolhedora, me guiando tão bem na ciência e me servindo de inspiração.

Ao meu orientador José Capelo-Neto, por apostar no meu trabalho e pela orientação no trabalho.

Aos participantes da banca, professores Etham Barbosa e Wilton Lopes, que aceitaram o convite de avaliar e contribuir com essa dissertação.

A todos os colegas e professores do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da UFC.

À FUNCAP, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro garantindo a bolsa e auxílio à pesquisa.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismo da fotocatalise (adaptado de Banerjee et al., 2015).....	21
Figura2: Diagrama esquemático do projeto experimental fotocatalítico UV-LED (vista lateral).....	33
Figura 3: Diagrama esquemático do aparato experimental fotocatalítico UV-LED (vista superior) contendo bomba de ar (1), Central de distribuição de ar (2) para obter pressão de ar igual em todas as amostras; tubo de silicone de igual comprimento (3), amostras de tratamento em triplicata (4), amostras de controle de UV em triplicata (5), painel deUV-LED (6) com 90 LEDs UV (saída total de 365 nm, 67,5 mW) em 9 linhas de 10 LEDs com saída a 100 mm de 2,6 mW s <sup>-1</sup> ; superfície refletiva e que bloqueia a irradiação UV do painel LED para controles de TiO <sub>2</sub> (7); amostras de controle de TiO <sub>2</sub> em triplicata(8); tubos de silicone (9).....	33
Figura 4: protocolo de análise do potencial de recrescimento de células de M. aeruginosa pós tratamento. ....	35
Figura 5: Remoção de células M. aeruginosa PCC7813 por fotocatalise usando esferas de vidro porosas revestidas com TiO <sub>2</sub> por um período de dois dias sob 2,8 μmol de fótons m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> a 365 nm (2,6 mW s <sup>-1</sup> ) a 100 mm de distância, bem como o efeito do tratamento em M. aeruginosa PCC7813 volume celular e diâmetro celular médio.....	37
Figura 6: Remoção de células M. aeruginosa PCC7813 por fotocatalise usando esferas de vidro porosas revestidas com TiO <sub>2</sub> por um período de sete dias sob 2,8 μmol de fótons m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> a 365 nm (2,6 mW s <sup>-1</sup> ) a 100 mm de distância, bem como o efeito do tratamento em M. aeruginosa PCC7813 volume celular e diâmetro celular médio.....	39
Figura 7: Remoção de microcistinas intracelulares por célula (MC-LR, MC-LY, MC-LW, MC-LF) durante o tratamento fotocatalítico por dois dias com esferas de vidro reciclado revestido com TiO <sub>2</sub> . LED UV proporcionaram irradiação UV a 2,8 μmol de fótons m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> a 365 nm (2,6 mW s <sup>-1</sup> ) a uma distância de 100 mm.....	41
Figura 8: Microcistinas extracelulares (MC-LR, MC-LW, MC-LF) durante o tratamento fotocatalítico por sete dias com esferas de vidro porosas revestidas com TiO <sub>2</sub> e UV-LED forneceram irradiação UV a 2,8 μmol de fótons m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> a 365 nm (2,6 mW s <sup>-1</sup> ) a 100 mm de distância.....	42
Figura 9: Remoção de microcistinas intracelulares por célula (MC-LR, MC-LY, MC-LW, MC-LF) durante um tratamento fotocatalítico por sete dias com esferas de vidro	

reciclado espumado poroso revestido com TiO<sub>2</sub> e LED UV proporcionaram irradiação UV a 2,8 μmol de fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> a 365 nm (2,6 mW s<sup>-1</sup>) a uma distância de 100 mm... 44

Figura 10: Microcistinas extracelulares (MC-LR, MC-LW, MC-LF) produzidas por *M. aeruginosa* PCC7813 durante um tratamento fotocatalítico de sete dias com esferas de vidro porosas revestidas com TiO<sub>2</sub> e UV-LED forneceram irradiação UV a 2,8 μmol de fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> a 365 nm (2,6 mW s<sup>-1</sup>) a 100 mm de distância. .... 45

Figura 11: Análise de crescimento celular por oito dias de *M. aeruginosa* PCC7813 após tratamento fotocatalítico de dois dias. .... 47

Figura 12: Análise de crescimento celular por quatro dias de *M. aeruginosa* PCC7813 após tratamento fotocatalítico de sete dias. .... 47

Figura 13: Caracterização das esferas de vidro espumosas porosas virgens e revestidas com TiO<sub>2</sub>. (A) superfície do cordão de vidro (ampliação de 35x); (B) seção transversal através de contas de vidro virgem mostrando bolsas de ar devido à natureza espumosa do material (ampliação de 35x); (C) morfologia da superfície das esferas de vidro porosas virgens (aumento de 50.000x); (D) Caracterização elementar de esferas de vidro com espuma porosa, conforme determinado por análise EDS; (E) Morfologia da superfície de esferas de vidro com espuma porosa após revestimento repetido com P25 TiO<sub>2</sub> (final 10% p / p); (F) caracterização elementar de esferas de vidro poroso revestidas com TiO<sub>2</sub>, conforme determinado por análise EDS, confirmando a presença de titânio na superfície das esferas; (G) análise de difração de raios X confirmando que o precursor de TiO<sub>2</sub> P25 permanece inalterado após o revestimento, apresentando picos característicos para as fases anatase e rutilo de P25..... 50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Redução da concentração intracelular de congênere de microcistina em <i>M. aeruginosa</i> PCC7813 após sete dias de tratamento em um reator fotocatalítico sob irradiação UV-LED (a $2,8 \mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a $365 \text{ nm}$ ( $2,6 \text{ mW s}^{-1}$ )) a $100 \text{ mm}$ de distância na presença esferas porosas de vidro revestidas de $\text{TiO}_2$ . .....	43
---	----



## LISTA DE ABREVIACÕES

<b>AFW</b>	Água <i>in natura</i> artificial
<b>CAPES</b>	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
<b>CNPq</b>	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
<b>EROs</b>	Espécies reativas do oxigênio
<b>FUNCAP</b>	Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico
<b>HPLC</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>LED</b>	Diodo emissor de luz
<b>MC</b>	Microcistina
<b>POAs</b>	Processos oxidativos avançados
<b>UFC</b>	Universidade Federal do Ceará – Federal University of Ceará
<b>UV</b>	Ultravioleta

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	12
CAPÍTULO I.....	14
RESUMO .....	14
ABSTRACT .....	14
1. Introdução.....	15
2. Cianobactérias e seus metabólitos .....	18
3. Fundamento da fotocatalise com TiO <sub>2</sub> .....	20
4. Uso no tratamento de células e toxinas .....	23
5. Conclusão .....	24
CAPÍTULO II.....	26
Fotocatalise heterogênea utilizando esferas de vidro revestidas com TiO <sub>2</sub> e irradiação UV – LED na remoção de <i>Microcystis aeruginosa</i> e suas toxinas. ....	26
RESUMO GRÁFICO .....	26
RESUMO .....	26
1. Introdução.....	27
2. Materiais e métodos.....	30
2.1. Reagentes e Soluções .....	30
2.2. Preparação do cultivo e suspensão de células .....	31
2.3. Preparação de catalisadores .....	31
2.4. Experimentos fotocatalíticos .....	32
2.5. Experimentos de potencial de recrescimento celular .....	34
2.6. Métodos analíticos.....	35
2.7. Análise estatística .....	36
3. Resultados e discussão .....	36
3.1. Inativação fotocatalítica das células .....	36

3.2. Degradação de cianotoxinas .....	39
3.3. Recrescimento celular .....	46
4. Conclusão .....	47
5. Agradecimento.....	48
6. Informações complementares .....	49
CONCLUSÃO GERAL .....	51
REFERÊNCIAS .....	52

## INTRODUÇÃO

Um dos problemas mais relevantes no tratamento da água é o processo de eutrofização antrópica nos açudes. As atividades humanas e as mudanças climáticas são citadas como intensificadoras desse processo que prejudica de forma substancial a qualidade da água. Como consequência, há um aumento significativo da proliferação do fitoplâncton e, principalmente, um aumento da intensidade e frequência das florações de cianobactérias. A presença de cianobactérias aumentam as chances de metabólitos tóxicos e de compostos que atribuem sabor e odor estarem presentes na água, aumentando os riscos à saúde das pessoas e da biota aquática (AZEVEDO et al., 2002; CARMICHAEL; BOYER, 2016; ZHANG et al., 2019).

Tratamentos convencionais de água não atingem total eficiência na remoção de florações de cianobactérias e seus metabólitos dissolvidos. Processos complementares normalmente aplicados em plantas de tratamento para melhorar a remoção de turbidez e cor, tais como a pré cloração, podem aumentar as concentrações de metabólitos dissolvidos na água tratada. Portanto, há uma necessidade em se desenvolver processos alternativos eficientes, baratos e sustentáveis para lidar tanto com as cianobactérias quanto com seus metabólitos.

A fotocatalise heterogênea tem atraído bastante atenção pela sua capacidade de degradação de poluentes, incluindo no tratamento de água de abastecimento. O dióxido de titânio é a substância mais utilizada como pigmento branco e aplicada em diversos segmentos da indústria (RAHIMI; PAX; GRAY, 2016). Este semiconductor tem sido estudado intensivamente como fotocatalisador de grande potencial devido ao seu baixo custo, alta estabilidade, não toxicidade e, como em destaque para à questão levantada nesse estudo, capacidade de elevar o potencial redox. Alguns estudos já demonstraram sua capacidade na remoção de cianobacterias e cianotoxinas devido aos radicais gerados quando o  $\text{TiO}_2$  é exposto à radiação UV durante a fotocatalise. Levando-se em consideração esse cenário, adota-se como hipótese que um tratamento alternativo via fotocatalise heterogênea com  $\text{TiO}_2$  imobilizado em esferas de vidro reciclado e excitado por diodos emissores de luz ultra-violeta (LED-UV) de baixa potência e custo é eficiente para remover células e inviabilizar o crescimento de *Microcystis aeruginosa* e degradar microcistinas ampliando o potencial da tecnologia para aplicação *in situ* em reservatórios de abastecimento.

Este estudo foi dividido em dois capítulos em formato de artigos, submetidos para periódicos nacional e internacional. O primeiro artigo trata de um levantamento bibliográfico sobre os avanços do tratamento de água por fotocatalise, com ênfase à problemática de cianobactérias e suas toxinas e ao uso do dióxido de titânio como catalisador. No segundo artigo é apresentado um estudo experimental de um sistema composto por um painel de luzes LED-UV e esferas de vidro reciclado revestidas com  $\text{TiO}_2$ , analisando a eficiência na remoção de células de *Microcystis aeruginosa* PCC 7813, suas toxinas intra e extracelulares e na inativação do recrescimento destas células cianobacterianas após o tratamento visando a aplicação futura desta tecnologia em reservatórios de abastecimento.

## CAPÍTULO I

Submetido à Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental – RESA (ISSN 1809-4457)

**Remoção fotocatalítica de *Microcystis aeruginosa* e Microcistinas usando compósitos de TiO<sub>2</sub>: o Estado-da-arte**

**Photocatalytic removal of *Microcystis aeruginosa* and Microcystins using TiO<sub>2</sub> compounds: the state of the art**

### RESUMO

A qualidade da água doce superficial disponível vem se reduzindo em todo o mundo nos últimos anos, e a presença de cianobactérias é um grande contribuinte para esse problema. Cianobactérias são micro-organismos resistentes nos quais foram documentados desde o primeiro registro de vida. *Microcystis sp.* é um gênero de cianobactérias bastante popular e que representa perigo, sendo encontrado em várias amostras de água em todo o mundo e se caracterizando como produtora de toxinas. Existem muitos casos de contaminação humana e de outros animais por cianotoxinas, podendo ser desde uma simples irritação da pele até a morte. Os tratamentos convencionais utilizados para água apresentam limitações quando aplicados em casos que apresentam estes micro-organismos e compostos. A fotocatalise é um processo verde que envolve espécies reativas de oxigênio no mecanismo, tendo um grande potencial para tratar água e esgoto, incluindo na remoção de células cianobacterianas e seus metabólitos. O TiO<sub>2</sub> tem sido comumente utilizado como catalisador em fotorreações e apresenta grandes vantagens. Este estudo apresenta o tratamento da água envolvendo estudos e avanços na fotocatalise, gerando conclusões sobre necessidades e aprimoramento do processo para ser utilizado como tratamento em escala real.

**Palavras-chave:** Dióxido de titânio; tratamento de água; cianobactérias; cianotoxinas.

### ABSTRACT

The quality of available surface fresh water has been declining worldwide in recent years, and the presence of cyanobacteria is a major contributor to this problem.

Cyanobacteria are resistant microorganisms in which they have been documented since the first record of life. *Microcystis* sp. is a very popular and dangerous genus of cyanobacteria, found in several water samples worldwide and characterized as a toxin producer. There are many cases of contamination in humans and animals by cyanotoxins, which can range from simple skin irritation to death. The conventional water treatments present limitations when applied in the presence of these microorganisms and compounds. Photocatalysis is a green process that involves reactive oxygen species in the mechanism, with a great potential to treat water and sewage, including the removal of cyanobacterial cells and their metabolites.  $\text{TiO}_2$  has been commonly used as a catalyst in photoreactions and it brings great advantages. This study shows water treatments involving studies and advances in photocatalysis, generating conclusions of needs and improvement of the process to be used as a full-scale treatment.

**Keywords:** Titanium dioxide; water treatment; cyanobacteria; cyanotoxins

## 1. Introdução

A qualidade da água de reservatórios naturais e artificiais depende de vários fatores, como clima e solo da bacia hidrográfica, além da intensidade de atividades humanas na área (PAERL et al., 2016). No caso de mudanças nas concentrações de fósforo e nitrogênio da água, o processo de eutrofização pode ser acelerado. Como consequência desse processo, pode-se citar graves danos à qualidade da água associados à presença de produtores primários, tais como aumento da concentração da matéria orgânica, déficit de oxigênio na água, odores desagradáveis e crescimento acelerado de macrófitas (DODDS; SMITH, 2016; SELLNER; DOUCETTE; KIRKPATRICK, 2003). Florações de cianobactérias (Harmful algal blooms - HABs), por exemplo, tornaram-se um problema frequente nos recursos hídricos afetando a saúde animal, ecossistêmica e humana, bem como a viabilidade econômica do uso dessa água (CARMICHAEL; BOYER, 2016; WANG et al., 2016b). Em 2012, uma publicação da Organização das Nações Unidas (ONU) indicou que, em aproximadamente trinta anos, o número de lagos que apresentarão HABs aumentará em pelo menos 20% (UN, 2012). A presença de cianobactérias está diretamente associada a essas florações e representa risco, pois são capazes de produzir compostos que agregam sabor e odor a água, além de,

metabólitos tóxicos e altamente solúveis (CARMICHAEL; BOYER, 2016), nos quais os tratamentos convencionais de água não demonstram eficiência em removê-los. Além disso, existe outro agravante em utilizar os processos convencionais, seus mecanismos podem induzir ao rompimento ou ‘lise’ de células, aumentando significativamente a concentração de metabólitos dissolvidos na água final (PESTANA et al., 2019).

Como já introduzido, florações de cianobactérias se tornaram uma preocupação no cenário mundial devido às intoxicações causadas por cianotoxinas e insatisfação com o odor e sabor da água (ZAMYADI et al., 2016). A intoxicação humana por cianotoxinas pode ocorrer através da utilização da água para recreação, pela ingestão da água e de animais contaminados, geralmente peixes ou ainda pela ingestão de folhagem irrigada com água contaminada (ABEYSIRIWARDENA; GASCOIGNE; ANANDAPPA, 2018; LORENZI et al., 2018; MEREL et al., 2013). Existe um número significativo de casos de intoxicações causadas por cianotoxinas relatados globalmente (AGUILERA et al., 2018; L.S. et al., 1997; LÉVESQUE et al., 2014; PILOTTO et al., 2004; WOOD, 2016). No Brasil, o caso mais grave relatado até hoje foi a morte de vários pacientes em diálise na cidade de Caruaru na região nordeste do país, causado pelo uso de água contaminada com hepatotoxinas proveniente de cianobactérias (AZEVEDO et al., 2002).

Diversas políticas foram implementadas por governos e companhias de saneamentos em diversos países de forma a se controlar os impactos causados pelas cianobactérias (GAYLE NEWCOMBE, JENNY HOUSE, LIONEL HO, 2010; IBELINGS et al., 2014). Uma dessas políticas é estabelecer limites máximos de concentração de toxinas na água potável. Um exemplo clássico deste esforço são os limites definidos pela Organização Mundial de Saúde (DU PREEZ et al., 2007; NEWCOMBE, 2015). A implementação do monitoramento da densidade de cianobactérias também é importante para o controle de riscos envolvidos já que existe uma relação entre a concentração de toxinas na água final e o número de cianobactérias presentes na água bruta (IBELINGS et al., 2014; NEWCOMBE, 2015; POBEL; ROBIN; HUMBERT, 2011)

Na esfera do tratamento, uma estratégia muito utilizada para reduzir os riscos potenciais causados pelas cianobactérias na água potável é adotar a chamada “abordagem de múltiplas barreiras”, que tem como fundamento a implementação de várias etapas em série no trem de tratamento de água, de forma a prevenir a passagem do contaminante em caso de uma das etapas falhar (HE et al., 2016).



Etapas físico-químicas de tratamento de água, também conhecidas como convencionais, tornaram-se populares devido ao relativo baixo custo e facilidade de operação. Por outro lado, esse método apresenta algumas limitações quando tratando águas contendo elevadas concentrações de cianobactérias tais como a liberação de metabólitos intracelulares na água (MA et al., 2016) e a baixa capacidade de remoção de toxinas e metabólitos solúveis (YANG et al., 2018).

Coagulação, floculação, sedimentação e filtração são partes constituintes do processo convencional de tratamento de água, utilizados historicamente para separar sólidos em suspensão e coloidais da água (HE et al., 2016). Entretanto, o uso do tratamento convencional na remoção de cianobactérias é um desafio já que sua baixa densidade, carga negativa e morfologia própria dificultam a remoção quando comparadas às partículas inorgânicas tais como as argilas. Mesmo em situações em que a filtração direta é usada alternativamente para tratamento de água, ela ainda não seria indicada nos casos em que a densidade celular de cianobactérias é elevada (AL-KATHILY, 2014). Adicionalmente, mesmo nos casos em que essa remoção seja possível, os metabólitos intracelulares liberados para o meio líquido não são degradados (GHERNAOUT; GHERNAOUT; SAIBA, 2010). O acúmulo de cianobactérias no decantador e nos filtros representam uma limitação adicional ao processo de tratamento de água contaminada com cianobactérias. Durante este acúmulo, pode ocorrer a lise celular e a liberação das toxinas e outros metabólitos intracelulares para a água, incrementando não só os riscos à saúde por cianotoxinas, mas também pela geração de subprodutos da desinfecção (HE et al., 2016).

A pré-oxidação foi adicionada ao tratamento da água com o objetivo de auxiliar os mecanismos de coagulação e floculação e melhorar a remoção de cor e turbidez. No entanto, pode impactar de forma negativa na remoção de cianotoxinas, dependendo do tipo de oxidante e da concentração aplicada (U.S. EPA OFFICE OF WATER, 2015). Apesar do cloro e do permanganato serem os oxidantes tradicionais de maior interesse para remoção de cianobactérias e suas toxinas, o oxidante e a concentração ótimos adotados dependerão de cada organismo alvo e da toxina ou metabólito presente (FAN et al., 2016; LASZAKOVITS; MACKAY, 2019).

Neste contexto, o desenvolvimento de processos mais avançados de tratamento visa lidar com os riscos causados pelas dificuldades do processo convencional durante o

tratamento de água com cianobactérias (SONG et al., 2018). Dentre estes processos, destacam-se os que envolvem biodegradação, membranas e processos oxidativos avançados (HE et al., 2016). No que tange os processos oxidativos avançados, a fotocatalise tem ganhado grande importância, com o dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) sendo um dos catalisadores de preferência devido ao seu baixo custo, fácil acesso, atoxicidade, estabilidade, dentre outras vantagens (AHMED; HAIDER, 2018). Com objetivo de sintetizar o estado da arte do processo fotocatalítico, e mais especificamente nos seus efeitos sobre a *Microcystis aeruginosa* e Microcistinas, alguns conceitos e estudos já realizados foram compilados neste trabalho a fim de melhor compreender os desafios que envolvem esta tecnologia e guiar futuros trabalhos.

## **2. Cianobactérias e seus metabólitos**

Cianobactérias são organismos fotossintéticos procarióticos, aeróbicos e autotróficos que se adaptam a várias condições ambientais, sendo encontradas também em ambientes extremos. Sua plasticidade fisiológica, genética e reprodutiva permitiu a sobrevivência e a evolução desses micro-organismos em diversos ecossistemas, desde a forma primitiva do planeta até as condições atuais de forte ação antrópica (ZANCHETT; OLIVEIRA-FILHO, 2013). Assim, eles podem ser encontrados em ambientes distintos, como água doce ou salgada, fontes termais, desertos, ar, neve e áreas de solos úmidos.

Constituem o grupo mais antigo de micro-organismos produtores de oxigênio e seus fósseis podem ser encontrados com idades de até 3,5 bilhões de anos (BADGER; PRICE, 2003). As cianobactérias tiveram uma importância significativa no processo evolutivo das espécies devido à sua capacidade de metabolizar dióxido de carbono e produção de oxigênio no ambiente. Algumas espécies também ganham grande importância por terem a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico (BURFORD et al., 2019).

Esses micro-organismos chamados também de algas azuis, são encontrados com frequência em corpos d'água eutrofizados e são facilmente percebidos como manchas na superfície dos lagos. Quando os níveis de nitrogênio e fósforo dissolvidos nos ecossistemas aquáticos são elevados, existe uma intensificação na produtividade primária e na produção de biomassa, principalmente de células cianobacterianas (DODDS; SMITH, 2016). Além das elevadas concentrações de nitrogênio e fósforo, outras condições favoráveis para o crescimento excessivo de cianobactérias em fontes

hídricas são: elevadas temperaturas, pH e baixa taxa de renovação da água (HAVENS et al., 2019).

Essa comunidade microbiana é capaz de produzir metabólitos secundários nos quais são comumente tóxicos e relacionados à reação de proteção em meio ao estresse ambiental (LAWTON et al., 1999). Esses compostos tóxicos, armazenados principalmente no interior das células, mas encontrados também dissolvidos, são conhecidos como cianotoxinas e podem ser classificados a partir de seus efeitos tóxicos no corpo humano: neurotoxinas, hepatotoxinas, citotoxinas, genotoxinas e dermatotoxinas (KOREIVIENE et al., 2014). Nesse grupo de metabólitos, as microcistinas, cilindrospermopsina, anatoxina e saxitoxinas são as cianotoxinas que mais causam prejuízos à produção de água potável (HE et al., 2016). Também são encontradas na água a geosmina e o 2-metilisoborneol (MIB) que, apesar de não tóxicos, atribuem sabor e odor à água afastando o consumidor de uma fonte segura (ZAMYADI et al., 2015). Um mesmo gênero de cianobactérias pode produzir diferentes variantes de toxinas quando exposto a diferentes condições ambientais

As microcistinas são polipeptídeos cíclicos imediatamente associados às cianotoxinas devido sua predominância nos casos de contaminação (ZAMYADI et al., 2016). Elas também são as mais diversas, com mais de 200 variantes, sendo sua estrutura principal composta por alanina (Ala), ácido metil-aspártico (MeAsp), ácido glutâmico (Glu), nmetildehidroalanina (Mdha) e 3-amino-9-metoxi- 2,6,8-trimetil-10-fenildeca-4,6-dienoicácido (Adda), diferindo uma variante da outra nas combinações de radicais aminoácidos (RINEHART et al., 1988). As microcistinas podem ser produzidas por vários gêneros de cianobactérias como *Microcystis*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis* e *Planktothrix* (BURATTI et al., 2017; HE et al., 2016). São solúveis em água e são consideradas altamente tóxicas, causando problemas hepáticos e neurológicos, e podendo ser fatal. Suas variantes têm diferentes níveis de toxicidade sendo a MC-LR, com radicais leucina (L) e arginina (R), a que chama mais a atenção devido à sua alta toxicidade e abundância nos registros pelo mundo (CORNISH; LAWTON; ROBERTSON, 2000). A produção de microcistinas se caracteriza como as de toxinas não diazotróficas, o que significa que não é ativada pela ação de defesa, mas provavelmente está associada à moderação do estresse oxidativo nas cianobactérias, característica que diverge de outras cianotoxinas (PIMENTEL; GIANI, 2014). Isso justifica, por exemplo, o fato de diferentes microcistinas serem encontradas em células

de *Microcystis aeruginosa* isoladas de amostras de diferentes ambientes (BOUHADDADA et al., 2016; QI et al., 2015; YILMAZ et al., 2019).

### **3. Fundamento da fotocatalise com TiO<sub>2</sub>**

Os processos oxidativos avançados (POA) é visto atualmente como uma possível solução para os desafios para o tratamento das águas de abastecimento e residuais. Entre os POAs, a fotocatalise realizada por semicondutores exhibe potencial para auxiliar na remoção de toxinas naturais e inorgânicas (AYEKOE; ROBERT; LANCINÉ, 2017; GOYAL; CHAKRABORTY; MISRA, 2018; MAZHARI et al., 2018). Por apresentar vantagens e potencial, o uso de tecnologias envolvendo o processo fotocatalítico no tratamento de água e de esgoto tem gerado interesse e ganhado espaço em estudos científicos, com destaques para os processos que utilizam o TiO<sub>2</sub> devido suas propriedades como semicondutor fotocatalítico.

A fotocatalise é um processo (Figura 1) em que a reação é induzida pela incidência da luz e acelerada com a ativação de um substrato o qual não participa diretamente da reação (BANERJEE; DIONYSIOU; PILLAI, 2015). A reação química é causada quando um elétron-fóton é excitado por uma fonte de energia superior ao intervalo da banda do catalisador (band gap), causando a transição do elétron da banda de valência (VB) para a banda de condução (CB). Como consequência, o par elétron-lacuna é formado através da camada de valência que estava anteriormente cheia e da camada de condução anteriormente vazia, adquirindo um vazio positivo (h<sup>+</sup>) e um negativo (e<sup>-</sup>) (AHMED; HAIDER, 2018). Se o par elétron-lacuna permanecer estável, este irá induzir um mecanismo de reação onde poderá ocorrer a adsorção dos poluentes, fazendo com que haja oxidação direta ou a oxidação de hidroxilas ( $\cdot\text{OH}$ ) ou da água, resultando em CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O como produtos (CHONG et al., 2010). Os compostos orgânicos são exemplos de contaminantes potencialmente degradados por essas espécies reativas do oxigênio (EROs).

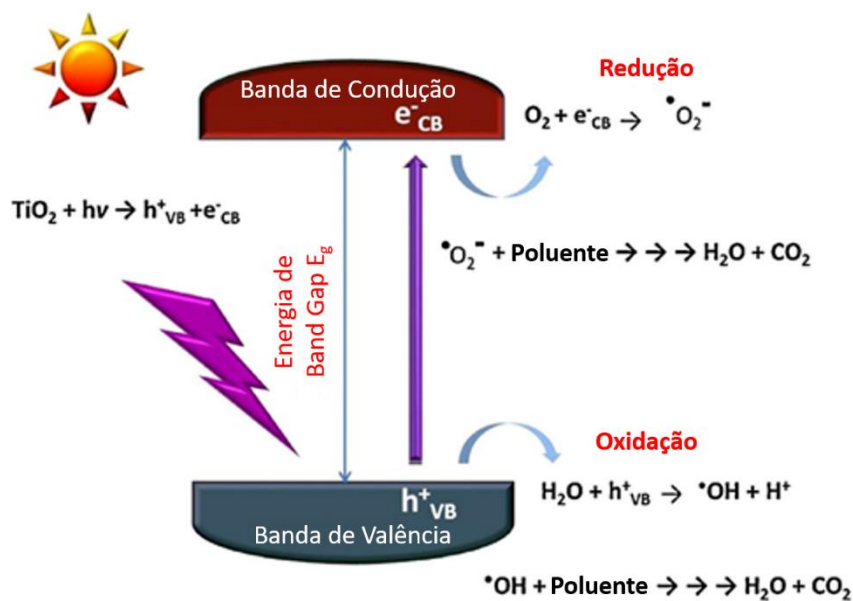


Figura 1: Mecanismo da fotocatalise (adaptado de Banerjee et al., 2015)

A fotocatalise heterogênea apresenta vantagens quando utilizada em vários segmentos, como meio ambiente, construção civil e medicina. Uma dessas vantagens pode ser observada, por exemplo, com a degradação completa de diversos contaminantes e compostos orgânicos. Adicionalmente, normalmente não se fazem necessárias alterações nas condições ambientais para ativar este processo já que os pré-requisitos de reação estão disponíveis na maioria dos ambientes naturais. Outro ponto positivo é que o número de matrizes inertes potencialmente usadas como suporte para o catalisador é considerável; vidros, polímeros, nanotubos de carbono e óxidos de grafeno (SONG et al., 2016; SRIKANTH et al., 2017; ZHANG et al., 2015). A fotocatalise heterogênea também é considerada um método de baixo custo e ecológico (AHMED; HAIDER, 2018).

Muitos dos catalisadores que ganham destaque para a fotocatalise são nanomateriais, como  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  e  $\text{ZnO}$  (GLINIAK et al., 2017; MCLAREN et al., 2009). As características necessárias para cada aplicação definem qual o melhor dos nanomateriais dimensão a ser adotado (AHMED; HAIDER, 2018). O  $\text{TiO}_2$  demonstrou capacidade de tratar patógenos microbianos na água (FUJISHIMA, A., & HONDA, 1972). Cinco anos depois da publicação desse trabalho, Frank e Bard voltaram a investigar o uso da tecnologia com esse catalisador para fins de tratamento de água (FRANK; BARD, 1977). Esses eventos foram um marco para os estudos de fotocatalise e o uso de  $\text{TiO}_2$ ,

despertando interesse em investigar mais ainda o processo e as propriedades desse catalisador (FAGAN et al., 2016; LI; ZHANG; CHUA, 1996; ROBERTSON; ROBERTSON; LAWTON, 2005; SONG et al., 2018). Com base nesses estudos, foram realizadas pesquisas para observar a ação dessa tecnologia em bactérias, como *Escherichia coli* e *Streptococcus sobrinus* (MATSUNAGA et al., 1985; SAITO et al., 1992). Os resultados encontrados da capacidade de decomposição de células fotocatalíticas do TiO<sub>2</sub> forneceram um incentivo adicional para trabalhos futuros.

A cristalização natural do TiO<sub>2</sub> pode derivar em três estruturas diferentes: duas tetragonais (rutilo e broquita) e uma romboédrica (anatase). Embora o rutilo seja a forma de mais fácil acesso, a anatase oferece um número superior de hidroxilas por área superficial que as outras formações, obtendo vantagem sobre as demais estruturas e, portanto, sendo a mais utilizada (CARRÉ et al., 2014). A broquita apresenta a forma menos estável entre as estruturas. Por outro lado, existem limitações no uso de anatase no processo fotocatalítico devido à necessidade do comprimento de onda requerido estar no domínio ultravioleta (UV). Para mitigar este problema, métodos de modificação foram testados para viabilizar o uso deste catalisador com o uso de luz solar visível. Dentre estes métodos estão a dopagem e a modificação da superfície com diferentes metais (ALI et al., 2018; NOSRATI; OLAD; MARYAMI, 2018), utilização de forma mista de TiO<sub>2</sub>, como o P-25 (SHAHAM-WALDMANN; PAZ, 2016) ou ainda, a utilização de diferentes fases morfológicas ao mesmo tempo no processo (OHNO; SARUKAWA; MATSUMURA, 2002).

O TiO<sub>2</sub> é utilizado em vários segmentos, aproveitando suas propriedades de cor, potencial de desinfecção e seu alto poder anticorrosivo (FAGAN et al., 2016) sendo exemplo de nanomaterial ajustável, participando como catalisador de reações oxidativas e redutoras (MILLS; DAVIES; WORSLEY, 1993). Além disso, esse material pode ser classificado como o fotocatalisador mais ativo, sendo o mais utilizado para degradação de compostos orgânicos em água e efluentes (YASMINA et al., 2014). Produtos farmacêuticos e outros compostos orgânicos, como corantes, são exemplos de contaminantes que causam grande preocupação quando presentes nas águas residuais, sendo estes passíveis de serem removidos por tratamento que utiliza a técnica de TiO<sub>2</sub> imobilizado (ARLOS et al., 2016). No grupo dos inorgânicos, estudos mostram que os metais pesados são exemplos de compostos tóxicos que são removidos com o aplicação

do processo fotocatalítico com  $\text{TiO}_2$  ou com o uso de tratamentos combinados (WANG et al., 2016a).

Minimizar o custo do processo de fotocatalise heterogênea é de ampla significância para que este possa ser aplicado em estações de tratamento de água e efluentes. Nesse sentido, vários fotocatalisadores apresentam vantagem por conta de seu poder de reciclagem, que já foi comprovado em estudos que os mesmos não são desativados mesmo após vários ciclos de tratamento (HONG et al., 2016; ZHAO et al., 2017). Para reduzir mais ainda o custo e aumentar a reciclabilidade dos materiais, métodos como imobilização são utilizados como alternativas. A imobilização do  $\text{TiO}_2$  é um processo prático, podendo revestir substratos como quartzo e vidro e dessa forma obtendo vantagens sobre outros fotocatalisadores (FERNÁNDEZ et al., 1995). Com o uso semicondutor como catalisador, Boruah e colaboradores verificaram que o  $\text{TiO}_2$  pode ser submetido a um método de imobilização o qual preserva 80% de sua eficiência, mesmo após participar como catalisador por 10 ciclos (BORUAH et al., 2019).

#### **4. Uso no tratamento de células e toxinas**

O processo de fotocatalise pode ser uma alternativa de tratamento de água para desinfecção e eliminação de micro-organismos, dentre eles as bactérias. Os materiais semicondutores são selecionados como os fotocatalisadores favoritos para eliminar bactérias e similares (ARLOS et al., 2016). Referindo-se à material semicondutor, o  $\text{AgBiO}_3$  atua de forma eficiente como catalisador na fotorreação para desinfecção de água contaminada com *E. coli* com elevada taxa fotocatalítica (BORUAH et al., 2019). Na continuação do levantamento sobre esse processo com uso de semicondutores para tratamento de contaminantes, são citadas algumas informações sobre os métodos de tratamento de água utilizados para remoção de cianobactérias e suas toxinas, focando na fotocatalise de  $\text{TiO}_2$  sobre a *Microcystis aeruginosa* e Microcistinas (MCs).

Na maioria dos processos de oxidação via agente químico, há problema com a toxicidade dos subprodutos gerados. Uma das principais vantagens dos POAs é que esses processos são ecologicamente corretos devido à baixa ou nenhuma geração de subprodutos perigosos. Além disso, essa tecnologia está listada no grupo de tratamentos eficientes de água para poluentes orgânicos pelas potentes EROs, vista como purificadora, desinfetante e desintoxicante (HE et al., 2016). Um exemplo disso é o envolvimento dos radicais hidroxila reativos na fotocatalise ao se ativar semicondutores

expostos à luz, sendo capazes de destruir células de cianobactérias e oxidar toxinas associadas a elas. Devido ao progressivo aumento das florações de cianobactérias, há um crescente esforço por parte de grupos de pesquisa no tratamento simultâneo de *Microcystis aeruginosa* e Microcystin-LR (PINHO et al., 2012; SONG et al., 2018).

O uso da fotoatividade do TiO<sub>2</sub> dopado com óxido de grafeno sob luz visível, pode atingir elevado desempenho da diminuição da concentração de MC-LR da água (FAGAN et al., 2016; FOTIOU et al., 2013). Também, usando luz visível como ativador, Wang e colaboradores desenvolveram um nanocompósito misto de TiO<sub>2</sub> para inativar *M. aeruginosa* e destruir cianotoxinas. Observou-se que a fotocatalise sob luz visível envolvendo esse material teve capacidade de inativar 100% das células após 4 horas de processo, reduzindo a atividade fotossintética das células e removendo com eficiência o MC-LR (WANG et al., 2018). Por outro lado, a degradação de diferentes variantes de microcistinas por POA sob luz contínua de LED UV foi estudada pelo grupo de Schneider, usando membrana de TiO<sub>2</sub>. Este estudo enfatizou a vantagem de não haver necessidade de recuperação do catalisador ao usar membranas e concluiu que existe uma diferença significativa na degradação do MC-LA em comparação com o MC-LR e MC-RR, podendo o processo ser modificado pela alteração do pH (SCHNEIDER et al., 2019). Outro estudo recente e relevante para o problema de contaminação foi o conduzido por Song e colaboradores, onde um catalisador de g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> / TiO<sub>2</sub> foi sintetizado e usado no experimento de fotocatalise com objetivo de oxidar células de *Microcystis aeruginosa* e MC-LR. Os resultados após 6 horas de irradiação alcançaram 88,1% e 54,4% de remoção de células e toxinas, respectivamente (SONG et al., 2018).

## **5. Conclusão**

A presença de cianobactérias em desequilíbrio ocasionando altas concentrações de toxinas é um problema sério para a sociedade e para a economia, afetando significativamente a oferta de água potável segura. Alternativas para o tratamento de água contaminada por cianobactérias e suas toxinas tornaram-se um ponto chave e acabaram provocando interesse de muitos pesquisadores, principalmente quando relacionadas à *Microcystis aeruginosa* e seus metabólitos tóxicos, por serem os mais abundantes no mundo. Tratamentos convencionais dispõem de limitações na tentativa de remoção desses contaminantes emergentes. A fotocatalise com o uso de TiO<sub>2</sub> se



apresenta como um processo promissor no tratamento de água, apresentando elevada capacidade de desinfecção, reutilização do catalisador e não geração de subprodutos. Contaminantes orgânicos são eficientemente degradados por espécies reativas de oxigênio produzidas no processo. A fotocatalise de  $\text{TiO}_2$  mostra vantagens quando comparada com outras tecnologias convencionais de tratamento de água. Por outro lado, ainda que avanços significativos nos resultados de estudos possam ser observados até o presente estágio, há parte do procedimento necessitando de melhor compreensão, como a destruição de toxinas intra e extracelulares, além do estudo do tratamento de outros tipos de cianobactérias e toxina, e também da análise do comportamento das células pós-tratamento. Salientando-se ainda que, são necessários estudos com diferentes comprimentos de onda da luz e em escala real. Em resumo, conclui-se que existe o potencial significativo para o uso da fotocatalise com  $\text{TiO}_2$  para auxiliar no desafio do tratamento de águas contaminadas por cianobactérias e seus metabólitos, necessitando de mais estudos pensando no aumento de escala do processo.

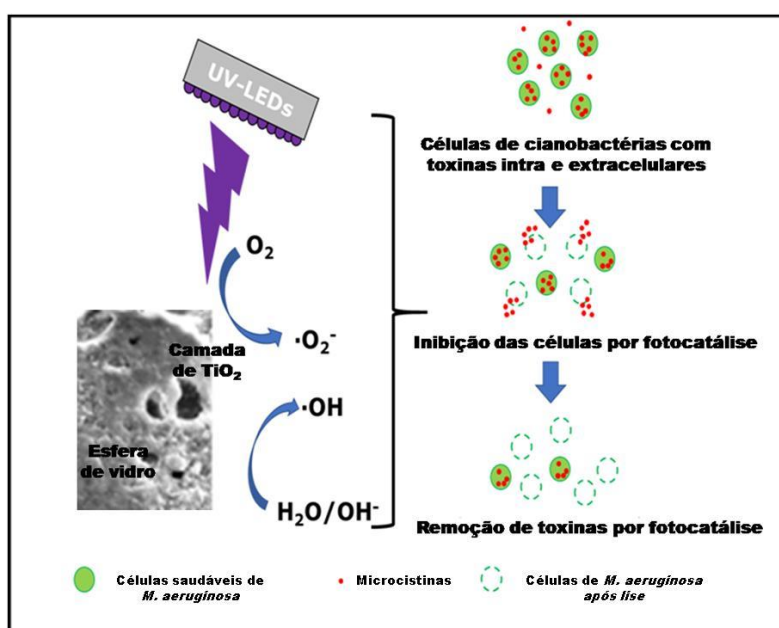
## CAPÍTULO II

### Fotocatálise heterogênea utilizando esferas de vidro revestidas com TiO<sub>2</sub> e irradiação UV – LED na remoção de *Microcystis aeruginosa* e suas toxinas.

Manuscrito submetido para a o periódico Science of the Total Environment

(ISSN:0043-1354)

#### RESUMO GRÁFICO



#### RESUMO

Florações de cianobactérias, associados a eventos de eutrofização em corpos d'água, se caracterizam como um problema alarmante para a sociedade e representam um elevado risco à saúde humana e animal. A modernização da infraestrutura do tratamento de água existente é cara ou inviável, portanto, opções de tratamento no próprio reservatório estão sendo exploradas. O foco principal deste estudo foi avaliar a capacidade de um sistema composto por luz LED UV de baixa intensidade e TiO<sub>2</sub> de inativar células cianobacterianas e remover diferentes variantes de cianotoxinas. Para provar o que foi proposto, *Microcystis aeruginosa* PCC7813 e as quatro variantes produzidas de microcistinas foram selecionadas devido à sua abundância e popularidade. As esferas de

vidro P-25 revestidas com  $\text{TiO}_2$  foram utilizadas como catalisador heterogêneo. Lotes de solução de algas foram conduzidos em nove reatores com densidade celular inicial de  $15 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ , sendo três com o sistema completo de fotocatalise e outros seis como amostras de controle. Os experimentos ocorreram em duas etapas com tempos de exposição dois e sete dias. A densidade celular, o biovolume e o diâmetro médio foram analisados ao longo dos experimentos, juntamente com a verificação de toxinas intracelular e extracelular. O uso de 0.22% de peso de  $\text{TiO}_2$  por volume experimental irradiado pelo painel de LED-UV obteve melhor eficiência quando exposto por sete dias, resultando em uma remoção significativa de 35% das células, 25% de MC-LR intracelular, 8% de MC-LY intracelular, 32% de intracelular MC-LW, 21% de MC-LF intracelular e 100% de toxinas extracelulares. Como complemento, o potencial de recrescimento das células após o tratamento foi determinado por oito e quatro dias de análise, concluindo que o tratamento afeta a taxa de crescimento, na qual diminui quando comparada com culturas celulares saudáveis. As descobertas do presente estudo demonstram a viabilidade de uma unidade de tratamento no reservatório que aplica esferas de vidro porosas revestidas, recicladas e recobertas com dióxido de titânio irradiadas por LED-UV de baixo custo como meio de controlar cianobactérias e suas toxinas.

**Palavras-chave:** Cianobactérias; cianotoxinas; dióxido de titânio; diodos ultravioleta; tratamento de água.

## 1. Introdução

A eutrofização em corpos d'água torna-se cada vez mais frequente como resultado da intensificação das atividades humanas e das mudanças climáticas, representando um risco para o abastecimento público e para os ecossistemas. Florações de cianobactérias causam altas cargas orgânicas particuladas e densidades celulares que por sua vez comprometem os sistemas de tratamento de água, reduzindo as carreiras de filtração e a eficiência do tratamento, além de aumentar o consumo de produtos químicos, como coagulantes e desinfetantes (DE JULIO et al., 2010). O problema se agrava com a possível dissolução de metabólitos tóxicos e/ou nocivos produzidos pelas

cianobactérias, os quais prejudicam a qualidade e a satisfação dos consumidores (CARMICHAEL; BOYER, 2016; WANG et al., 2016b; ZAMYADI et al., 2016), desafiando ainda mais as companhias de saneamento (CHOW et al., 1999; DRIKAS et al., 2001). As microcistinas (MCs) apresentam alta toxicidade e são consideradas as cianotoxinas mais abundantes e diversificadas (PREECE et al., 2017; RINEHART et al., 1988). Até a presente data, 247 congêneres de MCs já foram identificadas (SPOOF; CATHERINE, 2017). Este composto pode ser produzido por várias cianobactérias, mais frequentemente pelo gênero *Microcystis* (BURATTI et al., 2017).

Um grande número de contaminação humana por ingestão ou contato com essas toxinas já foram detectados, podendo variar desde uma leve irritação na pele até danos graves no sistema nervoso central (AGUILERA et al., 2018; AZEVEDO et al., 2002; L.S. et al., 1997; LÉVESQUE et al., 2014; PILOTTO et al., 2004; WOOD, 2016). Devido ao cenário exposto, autoridades nacionais de diversos países e a Organização Mundial de Saúde (OMS) buscam estratégias para remediar a situação, implementando limites de concentração máximos, monitoramento da água e controle mais próximo das unidades de tratamento (DU PREEZ et al., 2007; IBELINGS et al., 2014; NEWCOMBE, 2015; SHAHAM-WALDMANN; PAZ, 2016). A toxicidade das MCs foi reconhecida como um problema global, sendo estabelecido um limite máximo permitido de  $1\mu\text{g L}^{-1}$  em água potável pela Organização Mundial da Saúde (WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

As estações de tratamento de água convencionais apresentam limitações quando tratando água de reservatórios artificiais eutrofizados. Ademais, modificações ou adaptações destas estações podem ser caras ou até fisicamente inviáveis. A aplicação de algicidas diretamente no reservatório é a forma mais simples de pré-tratamento da água, mas estudos demonstraram que existem efeitos negativos dessa prática, como toxicidade para organismos não-alvo, desenvolvimento de resistências, liberação de metabólitos intracelulares potencialmente tóxicos e criação de precursores de subprodutos da desinfecção (BISHOP et al., 2017). Além disso, uma parte significativa dos tratamentos aplicados não é eficiente em remover os compostos liberados e dissolvidos, aumentando a contaminação da água (PANTELIC' et al., 2013).

Os processos oxidativos avançados ou POAs surgem como uma tecnologia promissora devido aos radicais reativos hidroxila (-OH) que promovem a destruição de compostos

orgânicos e inorgânicos da água além de ser ambientalmente amigável, sem geração de subprodutos perigosos (AHMED; HAIDER, 2018; FOTEINIS et al., 2018). O uso de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) no tratamento de patógenos microbianos foi relatado pela primeira vez por Fujishima e Honda (FUJISHIMA, A., & HONDA, 1972), despertando interesse em diversos grupos de pesquisa. O TiO<sub>2</sub>, quando usado como catalisador de fotoreações, atua como uma alternativa de baixo custo para o controle de cianobactérias em água contaminada, incluindo a destruição simultânea de células e toxinas (CHANG; HUO; LIN, 2018; JIN et al., 2019; PINHO et al., 2012; SONG et al., 2018).

A ação fotocatalítica do TiO<sub>2</sub> em cianotoxinas foi estudada de forma mais aprofundada no final dos anos 90 quando demonstrou uma eficiente resposta do tratamento em remover essas toxinas em água contaminada (LAWTON; ROBERTSON, 1999; ROBERTSON et al., 1997). Apesar de sua expressiva capacidade, o uso do dióxido de titânio como tratamento apresenta limitações devido à dificuldade na remoção do catalisador após a finalização do processo. A recuperação pós-tratamento do TiO<sub>2</sub> não é apenas um desafio técnico, mas também tem implicações ecotoxicológicas na saúde. Foi demonstrado que o TiO<sub>2</sub> nanoparticulado pode acumular e danificar a biota (HEINLAAN et al., 2008; ZHU; CHANG; CHEN, 2010). Além disso, a aplicação de TiO<sub>2</sub> nanoparticulado representa um risco à saúde dos operadores se inalada (GRASSIAN et al., 2007). Para evitar problemas com o uso do TiO<sub>2</sub> nanoparticulado, é preferível sua imobilização em uma matriz transportadora, como no revestimento de microesferas de vidro que oferece vantagens devido à facilidade de separação do catalisador da água e da elevada área da superfície de contato em comparação a outras matrizes (PESTANA et al., 2015). Estudos recentes tem utilizado sistemas de luz ultravioleta (UV) em conjunto com TiO<sub>2</sub> para remover *M. aeruginosa* e Microcistinas. A irradiação UV sobre partículas de TiO<sub>2</sub> cria pares elétron-buraco das transições elétricas, que podem formar radicais reativos (ARLOS et al., 2016; KU; SHIU; WU, 2017; SCHNEIDER et al., 2019).

Este estudo propõe o uso da fotocatalise heterogênea por um sistema composto por microesferas revestidas com TiO<sub>2</sub> e painel de LED UV com objetivo de inibir e eliminar células de *Microcystis aeruginosa* (*M. aeruginosa*) e, simultaneamente, remover suas quatro variantes de microcistinas, economizando energia e viabilizando, desta forma, sua utilização contínua dentro dos reservatórios de forma a limitar a biomassa de cianobactérias de entrada nas estações de tratamento de água. Porém, vários parâmetros

de projeto devem ser considerados ao aplicar TiO<sub>2</sub> imobilizado em um contexto de tratamento de água. Por exemplo, as cianobactérias ocupam diferentes posições na coluna d'água, dependendo da espécie e da hora do dia (VARUNI; MENON; MENON, 2017). Assim, para garantir a máxima eficiência do catalisador imobilizado, é desejável uma distribuição uniforme em toda a coluna de água. As matrizes menos densas que a água, por exemplo, não tem a capacidade de atingir as cianobactérias mais profundas e as matrizes mais pesadas, afundarão e não entrarão em contato com as cianobactérias nas camadas mais altas da coluna d'água. Assim, o uso de esferas de vidro expandido com uma densidade próxima a da água permite uma distribuição uniforme do catalisador na coluna de água, adquirindo a capacidade de tratar águas em diversas profundidades.

Além disso, o uso de LEDs UV (365 nm) de baixo custo (USD 0,30 por LED), com vida útil longa (aproximadamente 100.000 horas de trabalho) e à prova d'água utilizado na ativação do TiO<sub>2</sub> resolveria um desafio tecnológico adicional na aplicação desse sistema de tratamento *in situ*, o custo do tratamento. Recentemente, a viabilidade de tal sistema para a remoção fotocatalítica de microcistina-LR foi demonstrada (GUNARATNE et al., 2020). Entretanto, o efeito sobre outras MCs e sobre *M. aeruginosa* ainda não foram demonstrados. Neste sentido experimentos em escala de bancada com os mesmos princípios de um sistema de tratamento em larga escala em reservatórios foi desenvolvido, aplicando esferas de vidro expandido revestidas de TiO<sub>2</sub> e LEDs emissores de UV. A eficácia do tratamento na remoção de células e toxinas intracelulares e extracelulares foi analisada em dois tempos diferentes, sempre comparada aos controles, sem catalisador e sem luz UV. O potencial de recrescimento das células após o tratamento também foi avaliado.

## **2. Materiais e métodos**

### **2.1. Reagentes e Soluções**

As células de *M. aeruginosa* PCC7813 foram obtidas da coleção Cyanosol Group na Robert Gordon University (Aberdeen, Escócia) e originalmente adquiridas da coleção de culturas Pasteur na França. A água *in natura* artificial (AFW) foi utilizada como matriz experimental nos experimentos de fotocatalise a fim de simular água natural de reservatórios e padronizar a composição encontrada em todos os experimentos realizados. A AFW foi produzida pelo método de Akkanen e Kekkonen (AKKANEN;

KUKKONEN, 2003) e refrigerada a 4°C até ser utilizada em temperatura ambiente antes de três meses de validade.

Todos os reagentes para a preparação de AFW e meio de cultura de cianobactérias BG-11 foram de grau analítico (PA) e os reagentes utilizados para as análises foram de grau HPLC, fornecidos pela Fisher Scientific (Reino Unido). O diluente Isoton II da marca Beckman Coulter foi utilizado no contador de células e a água ultrapura utilizada (18,2 MΩ) foi fornecida por um sistema PURELAB © (ELGA Veolia, Reino Unido).

## **2.2. Preparação do cultivo e suspensão de células**

A cepa de *M. aeruginosa* foi cultivada em meio BG-11 esterilizado (STANIER et al., 1971), diluída na proporção de 5mL de inóculo para 100mL de meio em condições assépticas e mantida em ciclos de 12 horas de luz/escuridão de iluminação com 20 μmol de fótons m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> em uma câmara a 22 ± 2°C. A *M. aeruginosa* PCC 7813 cultivada produz quatro análogos principais de microcistinas (MC-LR, MC-LY, MC-LW e MC-LF) e não contém vesículas gasosas.

A cultura utilizada para o experimento foi coletada com aproximadamente três semanas de cultivo, quando estava na fase de crescimento exponencial, e diluída em água doce artificial (AFW) para atingir a concentração previamente determinada. Um contador Multisizer 3 Coulter (Beckman Coulter, Indianapolis, Estados Unidos) foi utilizado para contagem de células e obtenção de biovolume e diâmetro médio das células, utilizando a solução de isoton II.

## **2.3. Preparação de catalisadores**

O catalisador usado foi desenvolvido na Universidade de Saint Andrews (Escócia), a partir de esferas de vidro expandidas e porosas preparadas a partir de material reciclado (1-4 mm de diâmetro, Poraver, Alemanha), nas quais foram revertidas com o dióxido de titânio. Durante o processo, as esferas foram peneiradas para recuperar as de diâmetro menor que 2 mm, lavadas com acetona, depois com água deionizada em banho de sonicção (Scientific Laboratory Supplies Ltd., Reino Unido) e secas em forno a 80°C. Após este pré-tratamento, as esferas foram revestidas com dióxido de titânio (P25, Rutilo / Anatase: 85/15, 99,9%, tamanho de partícula de 20 nm; Degussa Evonik, Alemanha) de acordo com o método proposto por Mills et al. (2006) com adaptações. Em resumo, uma pasta de P25 e água foi preparada, na qual as esferas de vidro pré-

tratadas foram submersas. Na seqüência, as esferas revestidas passaram por secagem seguida de calcinação a 550°C por 3h. Cada procedimento de revestimento deposita aproximadamente 2% (em peso) de TiO<sub>2</sub> nas esferas. O processo de revestimento foi repetido até que se alcançasse aproximadamente 10% (em peso) de TiO<sub>2</sub> nas esferas. A caracterização das esferas e do revestimento encontra-se na seção de informações complementares.

#### **2.4. Experimentos fotocatalíticos**

Inicialmente, realizou-se teste para verificação do comportamento das células cultivadas após serem expostas às condições experimentais, investigou-se o comportamento da cultura com faixa etária determinada e diluída em AFW em reatores assépticos por dois dias com agitação através de um sistema de borbulhamento de ar e luz ambiente. Nesta etapa, a solução com as células não teve contato com o catalisador nem exposição à luz UV e o teste foi realizado em triplicata. A densidade celular foi analisada ao longo dos dois dias pelo contador Multisizer.

A densidade celular da cultura de *M. aeruginosa* PCC7813 com três semanas de idade foi analisada e depois diluída em AFW para obter uma suspensão com densidade celular de  $15 \times 10^6$  células mL<sup>-1</sup>. Em frascos de 40mL utilizados como reatores, foi adicionado 30mL dessa solução de células juntamente com o suporte de malha de vidro contendo as esferas revestidas. Em uma das triplicatas, o experimento foi conduzido com a razão do catalisador de 0,22% p/v de TiO<sub>2</sub>, que representava aproximadamente 700 mg de esferas. Foi conduzida em baixa intensidade de luz utilizando um painel de LED UV (365 nm) de 550 cm<sup>2</sup> com 90 LEDs, fornecendo 2,8μmol de fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (2,1 mWs<sup>-1</sup>) a 100 mm de distância (figura 1 e 2). Os outros dois grupos de triplicatas funcionaram como controles para investigar a interferência individual do catalisador e da luz, sendo três de controle UV, não contendo esferas revestidas com dióxido de titânio, mas expostas à mesma distância dos LEDs UV, e outras três de controle TiO<sub>2</sub>, contendo catalisador, mas fora da área de irradiação da luz UV. Normalmente, na fotocatalise, o controle escuro é realizado em completa escuridão; no entanto, as cianobactérias são organismos fotossintéticos que não sobreviveriam ao experimento sem luz, portanto, esse terceiro conjunto de réplica foi mantido à luz ambiente (sem irradiação UV) a 13 μmol s<sup>-1</sup> m<sup>-2</sup> de irradiação fluorescente fria.



Todas as amostras foram borbulhadas com  $1,5 \text{ L min}^{-1}$  de ar ambiente estéril. A intensidade da luz submetida no experimento foi medida com um fotômetro Stellarnet Light Measurement. O sistema de agitação de ar (Figura 1 e 2) foi composto por bomba de ar com vazão  $1,5 \text{ L min}^{-1}$ , agulhas e tubos silicone de mesmo comprimento, ocasionando mistura, permitindo troca de gases pelas células e garantindo a presença de oxigênio suficiente para ocorrer a reação fotocatalítica.

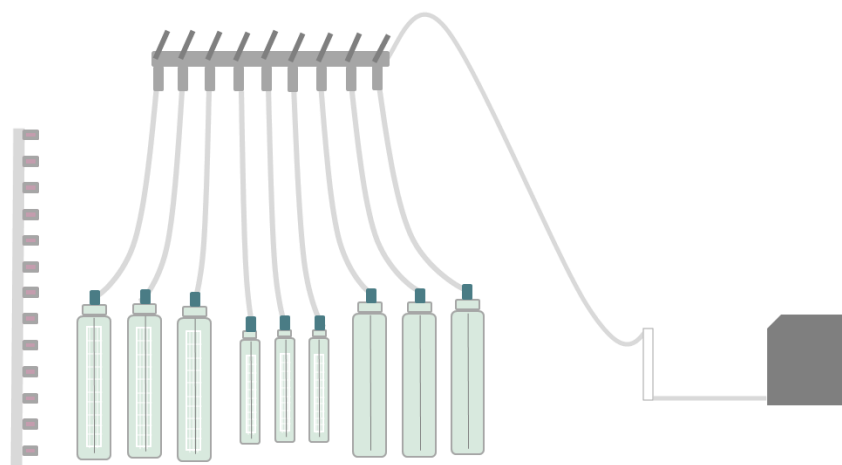


Figura2: Diagrama esquemático do projeto experimental fotocatalítico UV-LED (vista lateral)

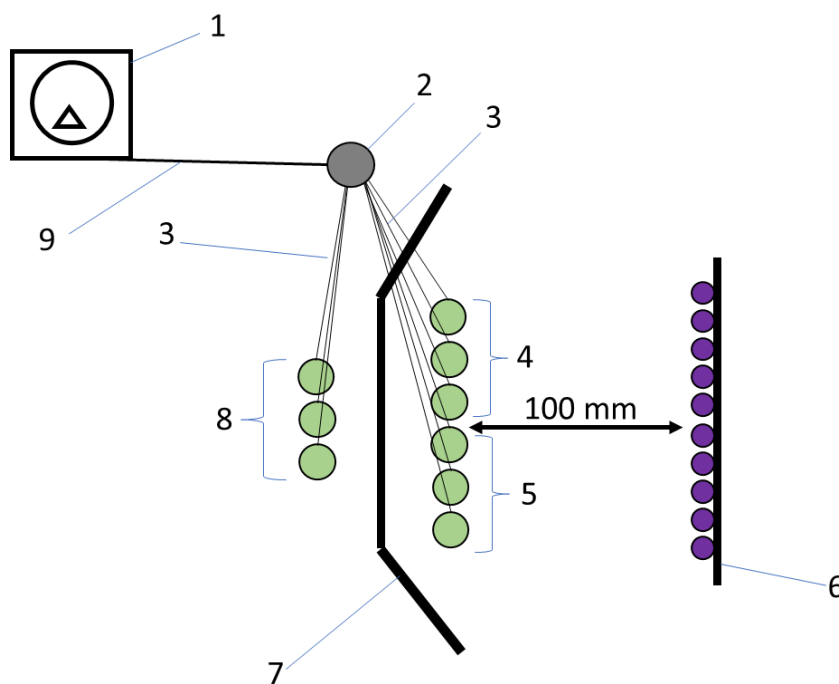


Figura 3: Diagrama esquemático do aparato experimental fotocatalítico UV-LED (vista superior) contendo bomba de ar (1), Central de distribuição de ar (2) para obter pressão de ar igual em todas as amostras; tubo de silicone de igual comprimento (3), amostras de tratamento em triplicata (4), amostras

de controle de UV em triplicata (5), painel de UV-LED (6) com 90 LEDs UV (saída total de 365 nm, 67,5 mW) em 9 linhas de 10 LEDs com saída a 100 mm de 2,6 mW s<sup>-1</sup>; superfície refletiva e que bloqueia a irradiação UV do painel LED para controles de TiO<sub>2</sub> (7); amostras de controle de TiO<sub>2</sub> em triplicata(8); tubos de silicone (9).

Houve duas etapas de experimentos. Na primeira, foi adotada 48 horas de tratamento com tempo de amostragem de 0, 2, 6, 12, 24 e 48 horas. A segunda batelada teve o propósito de verificar os resultados adotando um maior tempo de exposição, sendo o tratamento prolongado por sete dias com amostragens diárias. Em cada tempo de amostragem foi coletado 1,1 mL. A contagem celular foi obtida a partir de 100 µL da amostra em solução Isoton II. Além da densidade celular, foram obtidos o biovolume e diâmetro médio, observando a evolução da célula durante o tratamento.

A determinação das cianotoxinas (MC-LR, MC-LY, MC-LW e MC-LF) foi realizada a partir do 1mL restante da amostra, passando por centrifugação (13000 G) em tubo de microcentrífuga (1,5 mL) por 10 minutos para separar as células e o meio. As células centrifugadas foram armazenadas a -20 °C até o procedimento adicional e o sobrenadante evaporado através do equipamento EZ-II Evaporator (Genevac, Reino Unido). Para análise das microcistinas intracelulares, uma solução aquosa de metanol 80% foi adicionada às células para extrair os compostos intracelulares, agitando em vórtice por 5 minutos a 2500, centrifugando (13000 G) para extrair o material particulado das células rompidas e, posteriormente, o sobrenadante foi analisado em HPLC. Para análise das microcistinas extracelulares, o sobrenadante obtido da primeira centrifugação e evaporado, foi resolubilizado em metanol 80%, centrifugando e o sobrenadante, analisado em HPLC.

Após o período de experimento, as esferas foram facilmente removidas dos reatores, retirando os suportes. Posteriormente, as microesferas passaram por uma desinfecção por um período de luz intensa e secagem em forno para reutilização em estudos futuros.

## **2.5. Experimentos de potencial de recrescimento celular**

A densidade celular foi analisada após o tratamento para avaliar o impacto no crescimento celular. Este estudo foi realizado com amostras das duas etapas do tratamento, sendo uma alíquota de 8mL de cada reator, após o tratamento, redistribuída em quatro frascos de 4 mL, como mostrado na figura 4. Os frascos de recrescimento de cada reator foram adicionados e armazenados em uma câmara ambiental nas mesmas

condições das culturas de cianobactérias. A contagem celular foi determinada por amostragem de 20  $\mu\text{L}$ , posteriormente diluída em 10 mL da solução diluente e analisada pelo contador de células a cada dois dias. Na primeira etapa, o crescimento celular foi investigado por oito dias e, na segunda, por quatro dias. O processo de recrescimento foi realizado em condições assépticas.

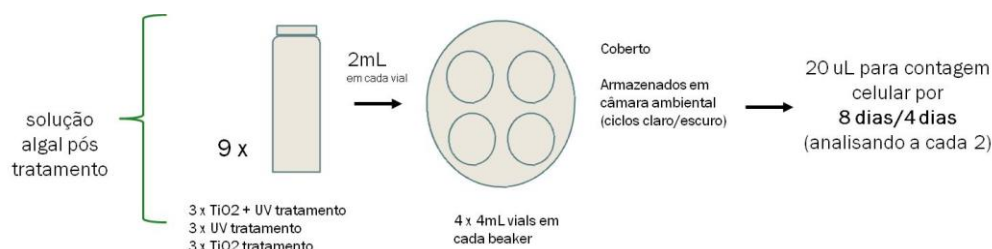


Figura 4: protocolo de análise do potencial de recrescimento de células de *M. aeruginosa* pós tratamento.

## 2.6. Métodos analíticos

A contagem celular foi investigada usando um Multisizer 3 Coulter com abertura de 100  $\mu\text{m}$  de diâmetro. As amostras de suspensão de células foram diluídas em solução Isoton II na proporção de 100  $\mu\text{L}$  de amostra para 10 mL de diluente para a análise do tratamento e 20  $\mu\text{L}$  de amostra para 10 mL de diluente para a contagem celular durante o recrescimento. Todos os dados foram analisados pelo software Multisizer 3 utilizando os picos gerados entre 3 e 4  $\mu\text{m}$  de diâmetro de partícula, tamanho considerado para as células intactas, com base em análises prévias e dados publicados (HARKE et al., 2016; KOMÁREK; KOMÁRKOVÁ, 2002).

A determinação das quatro variantes de microcistinas foi realizada em um módulo de separação Waters HPLC 2965 acoplado com um detector de conjunto de fotodiodos (PDA) Waters 2996 e coluna Symmetry C18 (tamanho de partícula de 5  $\mu\text{m}$ ; 2,1 x 150 mm). As fases móveis utilizadas foram água ultrapura (18,2 M $\Omega$ ) (A) e acetonitrila (B) contendo 0,05% (v / v) de TFA cada. O volume de injeção das amostras foi de 20  $\mu\text{l}$  e a vazão foi de 0,3 mL min<sup>-1</sup> com gradiente linear de 35 a 70% da fase orgânica ao longo de 25 min, seguido de uma lavagem com solvente orgânico (100%) e restabelecimento das condições de partida. A temperatura da coluna foi de 40 °C, o intervalo de varredura para o PDA foi de 200 a 400 nm, com microcistinas analisadas a 238 nm. O limite de quantificação desse método foi de 5ng mL<sup>-1</sup>.

## **2.7. Análise estatística**

A análise dos dados foi realizada no software Excel. Os resultados mostrados são médias e desvios padrão das triplicatas do tratamento as diferenças dos resultados foram comparados por análise de variância fatorial (ANOVA) de uma via. As diferenças significativas entre os resultados foram definidas como estatisticamente diferentes quando um intervalo de confiança de 95% ( $\alpha = 0,05$ ) foi atingido.

## **3. Resultados e discussão**

### **3.1. Inativação fotocatalítica das células**

O teste inicial com cultura de três semanas de idade nas condições de design do experimento, incluindo cultura pura e cultura em AFW, demonstrou que as células presentes nos reatores continuaram a crescer quando analisadas após dois dias.

A figura 5 mostra os resultados encontrados na primeira etapa. Nos gráficos apresentados, são relatadas as três condições às quais as células foram submetidas, sendo possível comparar o tratamento fotocatalítico com os dois controles. Os valores iniciais de densidade celular, biovolume e diâmetro médio de células nos nove reatores foram de aproximadamente  $15 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ ,  $300 \times 10^6 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$  e  $3,5 \mu\text{m}$ , respectivamente. Em nenhuma situação os valores apresentaram diferença significativa após 48 horas de experimento quando comparados aos valores iniciais, sugerindo que o tempo de exposição não foi suficiente para obter resultados significativos de degradação de células.

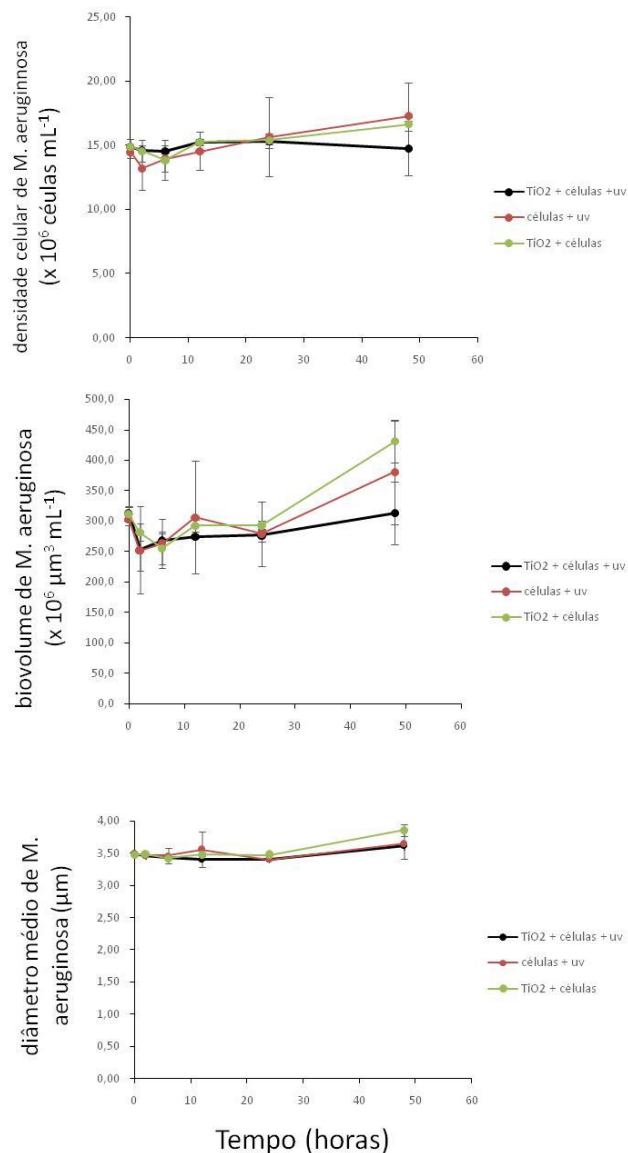


Figura 5: Remoção de células *M. aeruginosa* PCC7813 por fotocatalise usando esferas de vidro porosas revestidas com  $\text{TiO}_2$  por um período de dois dias sob  $2,8 \mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a  $365 \text{ nm}$  ( $2,6 \text{ mW s}^{-1}$ ) a  $100 \text{ mm}$  de distância, bem como o efeito do tratamento em *M. aeruginosa* PCC7813 volume celular e diâmetro celular médio.

A figura 6 contém informações semelhantes à figura 5, mas com resultados pertencentes à segunda etapa no tratamento. Na segunda batelada de experimentos, as amostras de água contendo cianobactérias e toxinas foram expostas ao tratamento por sete dias. A idéia principal era que, com mais tempo de fotocatalise, a eficiência do processo de destruição das células pudesse ser observada com mais intensidade.

Com a aplicação do processo de fotocatalise heterogênea completo ( $\text{TiO}_2 + \text{Células} + \text{UV}$ ), a concentração inicial de células foi reduzida significativamente ( $\alpha$

= 0,00004) em 35%, para  $10 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  além da diminuição de 54% do biovolume após sete dias de tratamento. Por outro lado, a concentração celular de *M. aeruginosa* PCC7813 aumentou significativamente em ambos os controles ( $p < 0,05$ ), atingindo  $32$  e  $34 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ , respectivamente, representando aumento de 213% e 226%. Não houve diferença estatística entre os dois controles em relação ao biovolume ( $p > 0,05$ ). O diâmetro das células intactas após sete dias (3-4  $\mu\text{m}$ ) não mudou significativamente em relação ao tempo zero tanto no tratamento quanto nos controles ( $p > 0,05$ ). Isso pode indicar que o tratamento fragmentou as células em partículas menores, em vez de afetar os diâmetros das células, uma vez que o diâmetro médio das células não mudou. A fragmentação celular de *M. aeruginosa* já foi observada durante o tratamento fotocatalítico com partículas flutuantes revestidas com  $\text{TiO}_2$  por outro grupo de pesquisa (WANG et al., 2017).

O uso separado das esferas de  $\text{TiO}_2$  ou da luz LED-UV não foi capaz de reduzir significativamente o número de células de *M. aeruginosa*, enquanto o uso combinado foi capaz de parcialmente inativar os micro-organismos. Os resultados encontrados nesta pesquisa apresentaram uma eficiência inferior quando comparados aos resultados apresentados por outros estudos que investigaram o uso da fotocatalise para destruir cianobactérias (CARRÉ et al., 2014; CHANG; HUO; LIN, 2018; JIN et al., 2019; LIAO et al., 2009; SONG et al., 2018; WANG et al., 2017, 2018, 2019). Vale ressaltar, entretanto, que os estudos citados utilizaram luz visível com maior potência enquanto, em nosso trabalho, foram usados LEDs de baixa potência e que requerem menos energia que as lâmpadas usadas nos outros estudos. Uma vantagem adicional do emprego de LEDs é a maior vida útil em comparação com as lâmpadas (HEERING, 2004).

Além disso, a maioria desses outros estudos que investigaram a inibição de *M. aeruginosa* pela fotocatalise de  $\text{TiO}_2$  utilizou materiais compósitos modificados de  $\text{TiO}_2$  que aumentam a atividade fotocatalítica. Liao et. al (2009), por exemplo, usaram  $\text{TiO}_2$  dopado com Ag e Wang et al. (2017) usaram  $\text{TiO}_2$  dopado com F-Ce. Apesar da dopagem de  $\text{TiO}_2$  oferecer a vantagem de mudar a reatividade para o espectro da luz visível, o relativo alto custo do material de dopagem e a complexidade da preparação do catalizador permanecem um impedimento para a aplicação em larga escala. A proposta atual tem o objetivo de operar continuamente dentro de um reservatório para aliviar a carga de cianobactérias no processo de tratamento de água e assim, os materiais

utilizados precisam ser abundantes, baratos e fáceis de obter, o que não acontece quando dopamos com metais nobres.

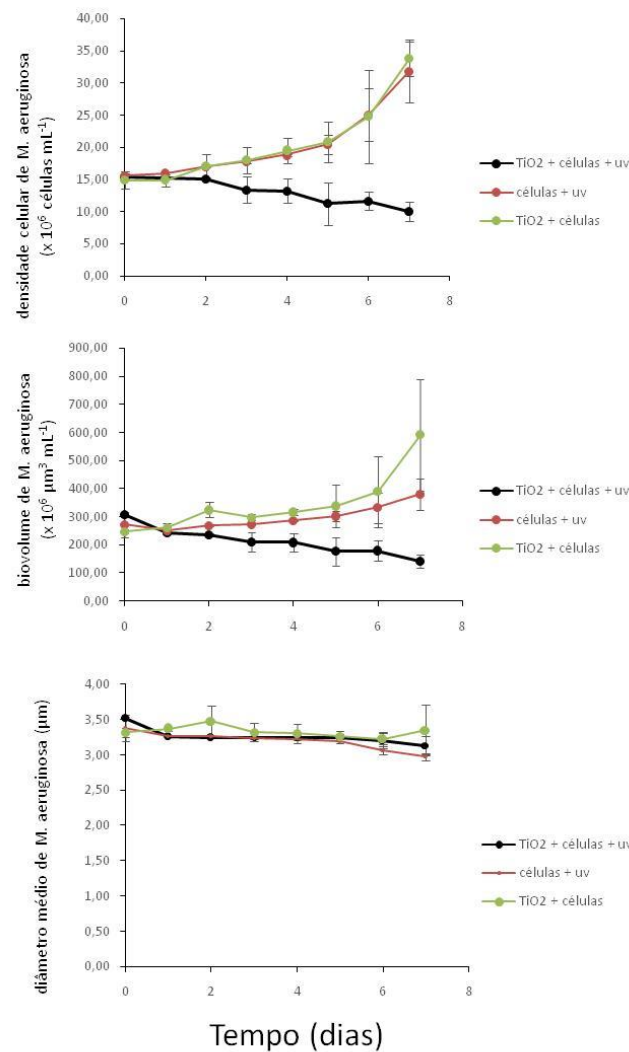


Figura 6: Remoção de células *M. aeruginosa* PCC7813 por fotocatalise usando esferas de vidro porosas revestidas com  $\text{TiO}_2$  por um período de sete dias sob  $2,8 \mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a  $365 \text{ nm}$  ( $2,6 \text{ mW s}^{-1}$ ) a  $100 \text{ mm}$  de distância, bem como o efeito do tratamento em *M. aeruginosa* PCC7813 volume celular e diâmetro celular médio.

### 3.2. Degradação de cianotoxinas

Como a maior concentração das microcistinas é encontrada dentro das células até que a integridade celular seja comprometida e as toxinas intracelulares sejam liberadas para a água, o monitoramento da concentração intracelular durante a fotocatalise pode ser usado como uma medida substitutiva de integridade celular. As quatro variantes de Microcistinas analisadas foram detectadas em picos nos seguintes tempos de retenção:

14min, 20min, 22min e 23min, respectivamente representando MC-LR, MC-LY, MC-LW e MC-LF. Esta informação foi obtida por estudos prévios e curvas de calibração.

As figuras 5 e 6 apresentam os resultados relacionados a toxinas intra e extracelulares, respectivamente, obtidos ao longo da etapa um em dois dias de experimento. Na figura 5 é possível observar uma diminuição significativa da concentração das quatro variantes de toxina intracelular entre 24 e 48 horas de experimento em todas as réplicas quando comparadas aos valores iniciais. Não houve diferença significativa entre a porcentagem final de remoção de toxinas intracelulares entre o tratamento e os dois controles. A MC-LR intracelular atingiu redução máxima de 43%, seguida de 33%, 45% e 47% de redução de MC-LY, MC-LW e MC-LF, respectivamente.

A figura 6 apresenta os resultados da degradação de toxinas extracelulares. O controle UV não apresentou diferença significativa nos valores de concentração após dois dias de tratamento. Em contraste, não houve detecção de toxina extracelular após algumas horas de experimento nas outras duas das condições de tratamento aplicadas. A partir destes resultados, é possível sugerir que foi possível remover totalmente a concentração inicial de MC-LR, MC-LW e MC-LF extracelulares e também quaisquer toxinas intracelulares de células fragmentadas nas primeiras duas horas de tratamento. Não houve detecção de Microcistina-LY extracelular. Os valores encontrados indicam que, mesmo sem o sucesso do tratamento em destruir expressivamente as células, as condições submetidas do processo foram eficientes na oxidação dos metabólitos.



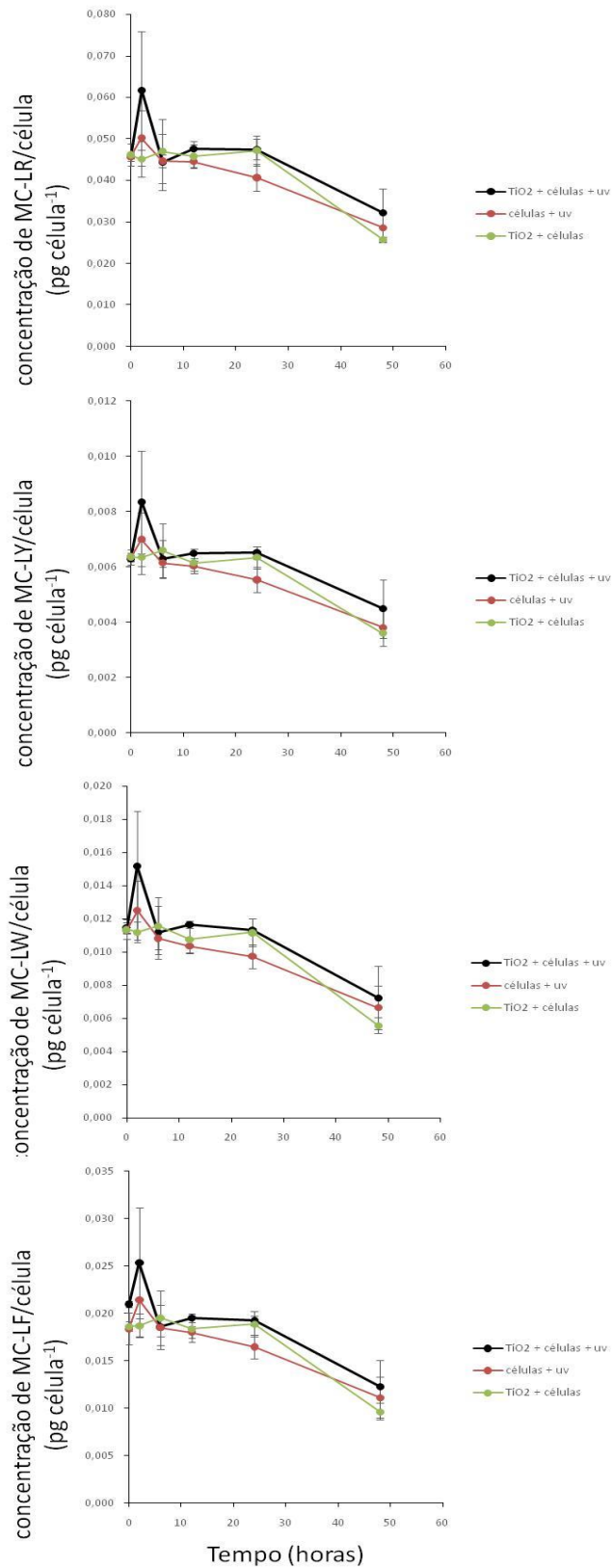


Figura 7: Remoção de microcistinas intracelulares por célula (MC-LR, MC-LY, MC-LW, MC-LF) durante o tratamento fotocatalítico por dois dias com esferas de vidro reciclado revestido com TiO<sub>2</sub>. LED UV proporcionaram irradiação UV a 2,8 μmol de fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> a 365 nm (2,6 mW s<sup>-1</sup>) a uma distância de 100 mm.

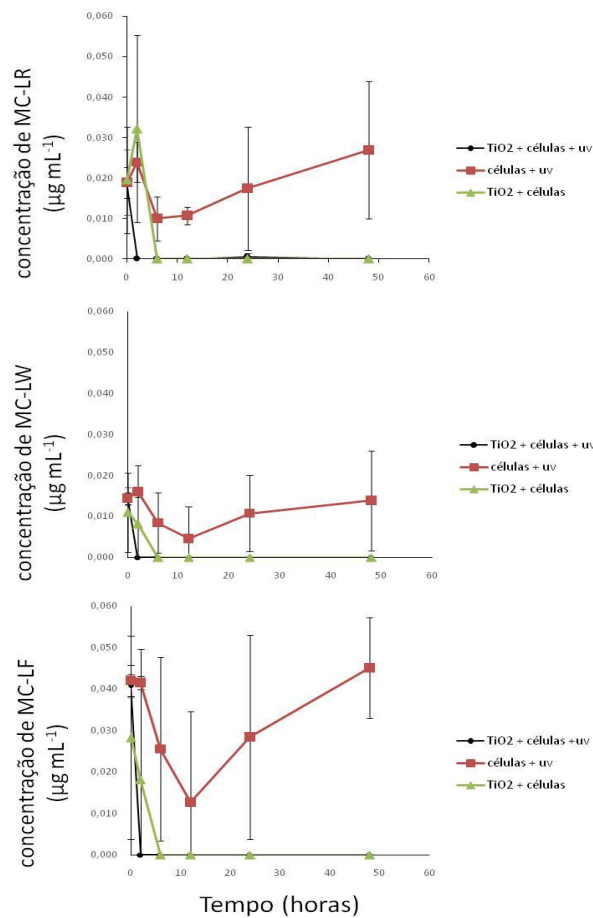


Figura 8: Microcistinas extracelulares (MC-LR, MC-LW, MC-LF) durante o tratamento fotocatalítico por sete dias com esferas de vidro porosas revestidas com  $\text{TiO}_2$  e UV-LED forneceram irradiação UV a  $2,8 \mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a  $365 \text{ nm}$  ( $2,6 \text{ mW s}^{-1}$ ) a  $100 \text{ mm}$  de distância.

O segundo ciclo de experimentos teve como objetivo avaliar a eficiência do tratamento na remoção de cianotoxinas em tempos longos. As figuras 7 e 8 apresentam os resultados de degradação de toxinas quando a suspensão de *M. aeruginosa* foi submetida a sete dias de tratamento. A distribuição das quatro variantes no início do experimento foi de 58% MC-LR, 9% MC-LY, 14% MC-LW e 19% MC-LF da concentração total de microcistina intracelular. Foi observada uma diminuição significativa da concentração de toxina intracelular para todos os quatro congêneres de microcistina ao longo de sete dias do tratamento fotocatalítico (Figura 7). O conteúdo total de microcistina intracelular diminuiu 49%, de  $0,69$  para  $0,35 \mu\text{g mL}^{-1}$ . O perfil das diferentes variantes intracelulares de microcistina no final do experimento permanece

praticamente inalterado, com a MC-LR permanecendo como principal congênera produzido (54%), seguida pela MC-LF (23%), MC-LY e MC-LW (11%).

A quantidade de toxina intracelular por célula foi significativamente menor entre seis e sete dias de tratamento nas três condições de tratamento aplicadas quando comparada com o valor inicial. Esse fato pode ter sido devido à contagem incorreta das células danificadas pelo tratamento, mas que ainda não estavam completamente fragmentadas, ou devido à capacidade do processo de afetar compostos presentes dentro da célula. Zilligeset al. (2011) observaram que as concentrações intracelulares de microcistinas diminuem como resposta ao estresse oxidativo causado por radicais hidroxilas. A porcentagem de remoção de toxinas intracelulares por célula pela fotocatalise heterogênea durante os sete dias foi de aproximadamente 25% de MC-LR, 8% de MC-LY, 32% de MC-LW e 21% de MC-LF (Tabela 1).

Tabela 1: Redução da concentração intracelular de microcistinas produzidas pela *M. aeruginosa* PCC7813 após sete dias de tratamento em um reator fotocatalítico sob irradiação UV-LED (a  $2,8 \mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a  $365 \text{ nm}$  ( $2,6 \text{ mW s}^{-1}$ )) a  $100 \text{ mm}$  de distância na presença esferas porosas de vidro revestidas de  $\text{TiO}_2$ .

MC congênera	Tempo 0 (fg célula <sup>-1</sup> )	Tempo 7 (fg célula <sup>-1</sup> )	Redução (%)
MC-LR	25.8±2	19.4±2	25*
MC-LY	3.8±0.1	3.5±0.4	8
MC-LW	6.4±0.4	4.3±0.6	32*
MC-LF	10.8±0.7	8.5±0.8	21*

\*significativamente diferente ( $\alpha > 0,05$ )

No início do experimento, foram detectadas concentrações relativamente baixas ( $0,02$ - $0,04 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) de MC-LR, MC-LW e MC-LF extracelular, enquanto nenhuma MC-LY extracelular foi detectada. Ao longo do tratamento fotocatalítico de sete dias, as concentrações extracelulares de microcistina permaneceram baixas, não excedendo  $0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$  nas amostras tratadas. Além disso, os resultados do tratamento com catalisador e LED-UV demonstraram eficiência na remoção de metabólitos extracelulares de 100% (Figura 8). As toxinas extracelulares não foram mais detectadas após o primeiro dia de tratamento. Complementarmente, com base nos resultados da primeira batelada de experimentos, observa-se que os compostos extracelulares foram removidos nas primeiras horas do experimento. Como as concentrações de microcistinas intracelulares diminuem devido à perda da integridade estrutural das células cianobacterianas, as concentrações de toxinas extracelulares devem aumentar, porém isso não foi observado nas amostras tratadas. Em vez disso, as microcistinas intracelulares foram removidas depois que foram dissolvidas no meio, reafirmando a eficácia da remoção fotocatalítica

de microcistinas dissolvidas já demonstrada em trabalhos anteriores (GUNARATNE et al., 2020; LAWTON et al., 2003; PESTANA et al., 2015).

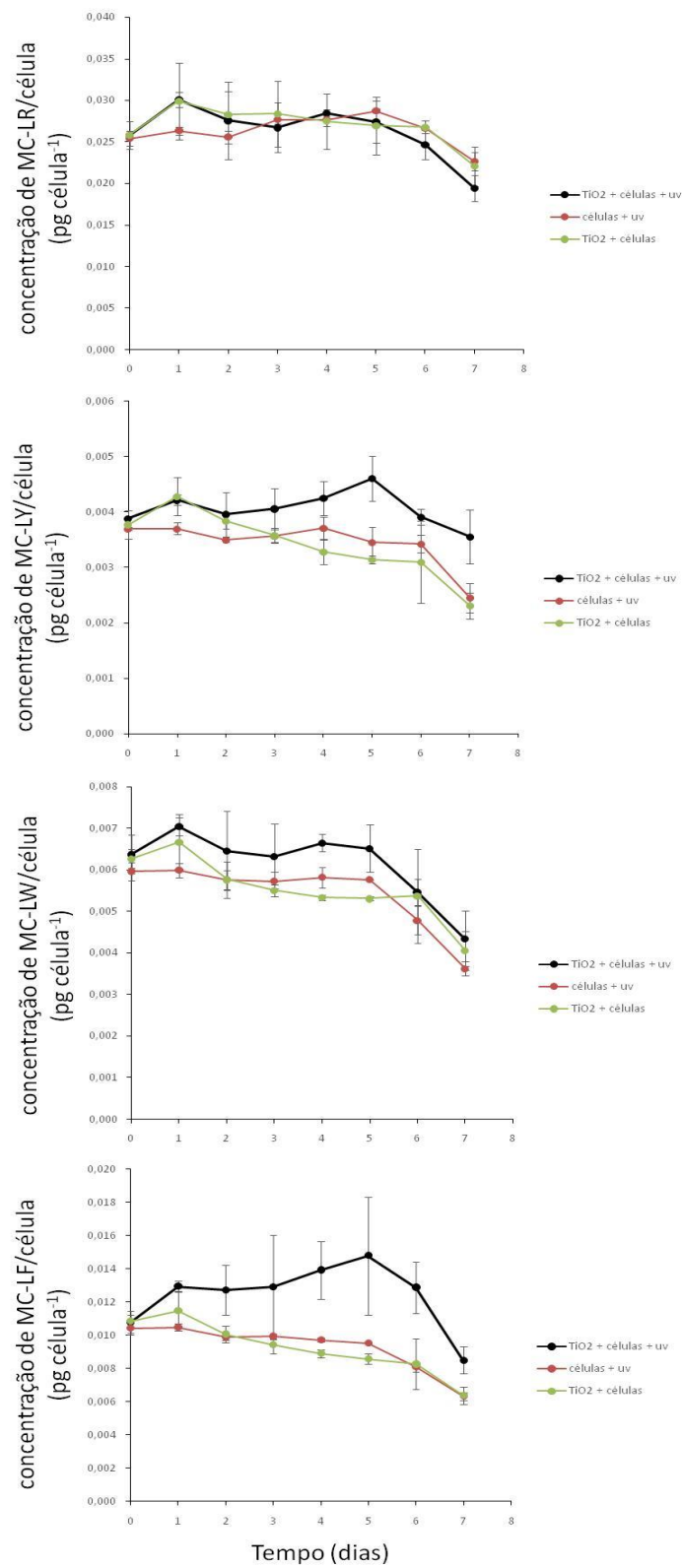


Figura 9: Remoção de microcistinas intracelulares por célula (MC-LR, MC-LY, MC-LW, MC-LF) durante um tratamento fotocatalítico por sete dias com esferas de vidro reciclado espumado poroso

revestido com TiO<sub>2</sub> e LED UV proporcionaram irradiação UV a 2,8 μmol de fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> a 365 nm (2,6 mW s<sup>-1</sup>) a uma distância de 100 mm.

No que se refere às condições de controle empregadas, as cianobactérias continuaram a crescer e não tiveram a integridade das células afetadas como aconteceu no tratamento fotocatalítico. Dessa forma, não foi possível constatar diferença significativa nas concentrações de toxinas extracelulares ao longo dos sete dias em relação aos valores iniciais. Nenhuma MC-LY extracelular foi detectada durante todo o período experimental, nem nas amostras de tratamento nem nos controles provavelmente devido às baixas concentrações intracelulares de MC-LY presentes.

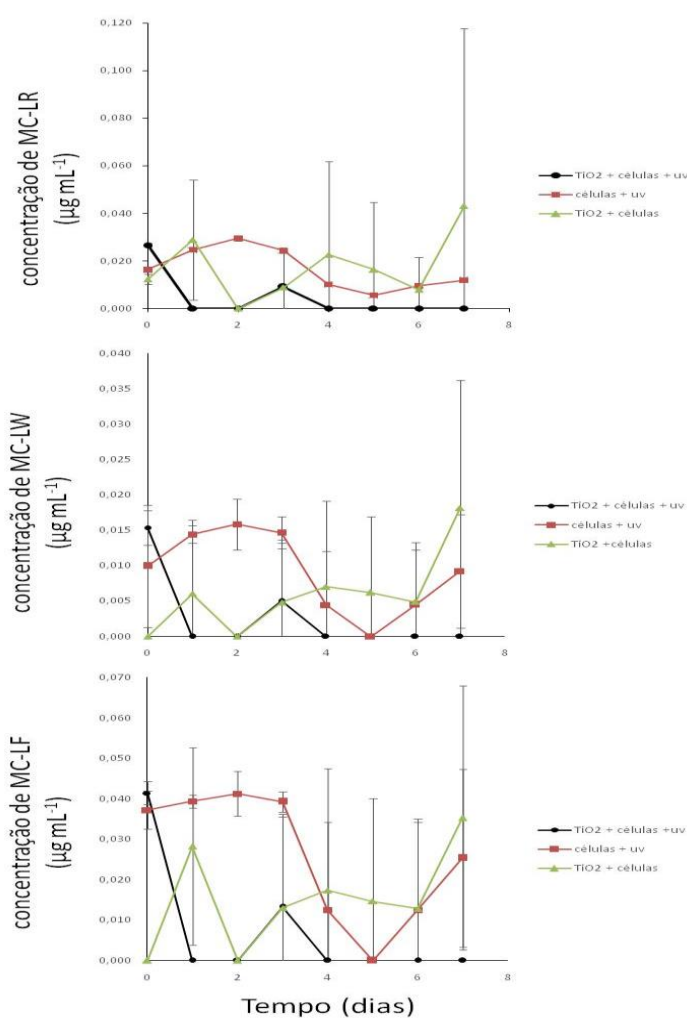


Figura 10: Microcistinas extracelulares (MC-LR, MC-LW, MC-LF) produzidas por *M. aeruginosa* PCC7813 durante um tratamento fotocatalítico de sete dias com esferas de vidro porosas revestidas com TiO<sub>2</sub> e UV-LED forneceram irradiação UV a 2,8 μmol de fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> a 365 nm (2,6 mW s<sup>-1</sup>) a 100 mm de distância.

### 3.3. Recrescimento celular

Os efeitos da fotocatalise sobre o crescimento celular foram investigados por oito dias (Figuras 9), após tratamento fotocatalítico de dois dias (Etapa 1) e por quatro dias (Figuras 10), após tratamento fotocatalítico de sete dias (Etapa 2). Após a batelada de experimentos da etapa 1, a densidade celular do conteúdo restante nos reatores foi analisada por oito dias, apresentando um aumento significativo nos valores iniciais. As amostras tratadas com TiO<sub>2</sub>/UV apresentaram a menor taxa de recrescimento celular em relação aos dois controles. Valores de biovolume também foram avaliados e apresentaram aumento significativo durante os oito dias em todas as amostras. É importante destacar que no primeiro tempo de exposição testado, não houve diferença significativa na contagem de células durante todo o tempo de tratamento como foi discutido na seção 3.1, como consequência, o número inicial de células para o recrescimento foi aproximadamente igual em todas as triplicatas.

Na figura 10 podem ser encontrados os resultados de recrescimento celular para a segunda etapa de experimentos. Tanto os valores de densidade celular quanto de biovolume apresentaram aumento significativo em todas as amostras dos reatores, mesmo apresentando taxas de crescimento inferior às encontradas na primeira etapa um nos primeiros quatro dias de recrescimento. Em contraste com o primeiro processo de recrescimento, os reatores que aplicaram a fotocatalise heterogênea apresentaram as maiores taxas de recrescimento. Como esta suspensão foi tratada com um tempo maior do que no estágio um, a concentração inicial de células nos reatores com tratamento foi significativamente menor que nos reatores controle. Com o sistema TiO<sub>2</sub>/UV, houve uma inativação significante de células enquanto que nos sistemas controle a densidade celular aumentou. Essa diferença inicial de concentrações celulares foi que induziu ao crescimento relativo maior nos reatores que receberam tratamento.

Neste sentido, Dunn e Manoylov (2016) demonstraram através de estudos em laboratório, que a *M. aeruginosa* UTEX2385 cresceu mais lentamente com uma densidade celular de inoculação inicial mais alta ( $7 \times 10^5$  células mL<sup>-1</sup>) em comparação com uma menor ( $1 \times 10^5$  células mL<sup>-1</sup>). Assim, menores concentrações de células resultam em maiores taxas de crescimento. Outro ponto que deve ser destacado é que mesmo obtendo 84% de aumento na concentração de células após quatro dias do tratamento, este valor é inferior à taxa de crescimento de células saldáveis de *M.*

*aeruginosa* de dobrar a cada dois dias de cultivo (valor obtido em estudos prévios do grupo de pesquisa).

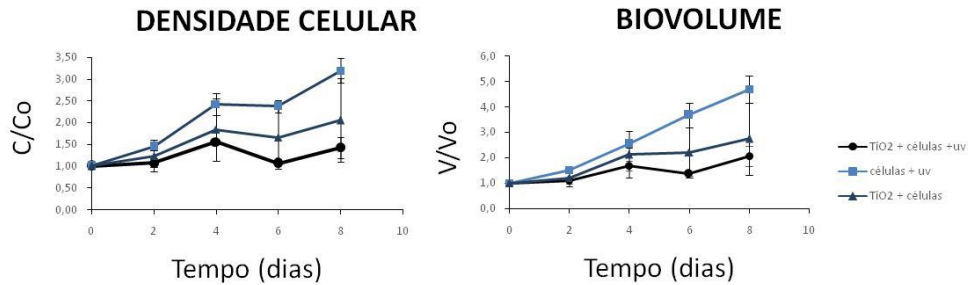


Figura 11: Análise de crescimento celular por oito dias de *M. aeruginosa* PCC7813 após tratamento fotocatalítico de dois dias.

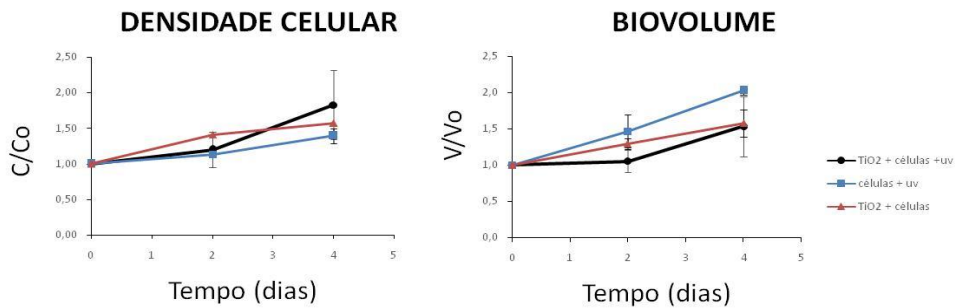


Figura 12: Análise de crescimento celular por quatro dias de *M. aeruginosa* PCC7813 após tratamento fotocatalítico de sete dias.

#### 4. Conclusão

No presente estudo, esferas de vidro reciclado revestidas com  $\text{TiO}_2$  foram colocadas em contato com água contendo cianobactérias e expostas a um painel de LED UV de baixa potência para avaliar a eficiência do sistema na eliminação de células de *Microcystis aeruginosa* e Microcistinas. O tratamento utilizando fotocatalise heterogênea pôde inibir com sucesso o crescimento de cianobactérias e eliminar Microcistinas liberadas, apresentando melhor desempenho quando submetido a um maior tempo de exposição ao processo, sete dias. Da mesma forma, o estudo mostrou que os processos utilizados afetaram o crescimento das células após o tratamento, quando a taxa de crescimento é

comparada a de células saudáveis. Pode-se afirmar que o sistema de tratamento proposto:

- É eficiente em termos de energia devido ao uso de LEDs emissores de UV que exigem uma entrada de energia menor em comparação com fontes de luz de bulbo convencionais, entrada de energia na ordem de grandeza de mW em comparação a W.
- O sistema tem potencial de ser aplicado *in situ* utilizando alimentação por sistemas fotovoltaicos;
- O sistema não cria um problema adicional às estações de tratamento convencional já que é extremamente eficiente na remoção fotocatalítica de toxinas, simultaneamente;
- Representa uma opção de tratamento sustentável com uso de materiais reciclados, catalisadores inertes e LEDs de baixa energia;
- Serve de base para futuros estudos e aplicações em maior escala como remediação alternativa *in situ* de corpos d'água eutrofizados.

## **5. Agradecimento**

Os autores gostariam de agradecer ao Conselho de Pesquisa em Engenharia e Ciências Físicas do Reino Unido (EPSRC), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES [PROEX 20/2016], à Fundação de Amparo à Pesquisa do Ceará - FUNCAP [PNE-0112-00042.01.00 / 16] e ao Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq (PDJ [150429/2016-9], CNPq – Universal [403116/2016-3] e EP / P029280 / 1] por financiar esta pesquisa.



## **6. Informações complementares**

### **Caracterização de esferas porosas de vidro e revestimento de TiO<sub>2</sub>**

Virgem (como recebida da Dennert Poraver GmbH, Alemanha) e contas de vidro porosas revestidas com TiO<sub>2</sub> foram caracterizadas por análise SEM-EDS (Scios Dual Beam, Thermo Scientific) e análise de difração de raios-x (XRD, difratômetro de raios X empírico, Malvern Panalytical, Reino Unido) ; O difratômetro de raios X foi operado no modo de reflexão (Cu K $\alpha$ 1)) (figura 12). A natureza espumosa porosa das contas de vidro virgem pode ser claramente discernida (figura 12 A e B). A superfície das contas é levemente ondulada com as áreas expostas do material espumado, mas é lisa (figura 12 A e C). Sílica, sódio, cálcio e oxigênio são os principais constituintes das esferas, como seria de esperar do material de vidro (figura 12 D). Os outros elementos presentes são provavelmente devidos à natureza reciclada do material de origem. Após o processo de revestimento, a superfície das esferas se torna menos ondulada e apresenta cobertura quase completa da superfície com catalisador. A análise EDS (figura 12 F) confirma que mais de 10% de Ti foram encontrados na superfície das esferas revestidas. As fases da camada de revestimento foram determinadas por difração de raios-X (DRX, figura 12 G). As fases anatase e rutilo do precursor de TiO<sub>2</sub> P25 permaneceram inalteradas, sem introduzir outras impurezas durante o processamento.

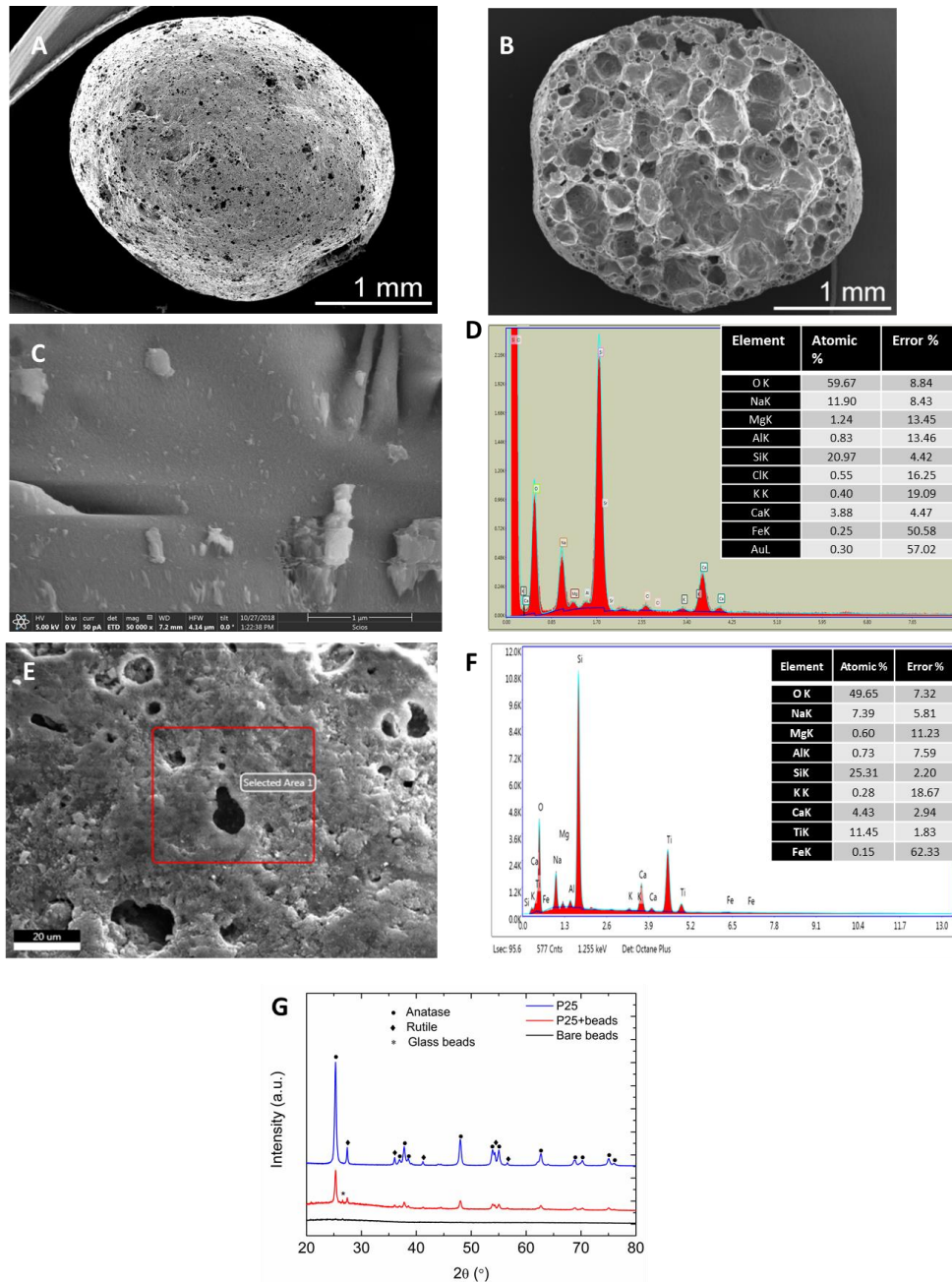


Figura 13: Caracterização das esferas de vidro espumas porosas virgens e revestidas com  $\text{TiO}_2$ . (A) superfície do cordão de vidro (ampliação de 35x); (B) seção transversal através de contas de vidro virgem mostrando bolsas de ar devido à natureza espumosa do material (ampliação de 35x); (C) morfologia da superfície das esferas de vidro porosas virgens (aumento de 50.000x); (D) Caracterização elementar de esferas de vidro com espuma porosa, conforme determinado por análise EDS; (E) Morfologia da superfície de esferas de vidro com espuma porosa após revestimento repetido com P25  $\text{TiO}_2$  (final 10% p / p); (F) caracterização elementar de esferas de vidro poroso revestidas com  $\text{TiO}_2$ , conforme determinado por análise EDS, confirmando a presença de titânio na superfície das esferas; (G) análise de difração de raios X confirmando que o precursor de  $\text{TiO}_2$  P25 permanece inalterado após o revestimento, apresentando picos característicos para as fases anatase e rutilo de P25.

## CONCLUSÃO GERAL

Inúmeros são os problemas encontrados num manancial de abastecimento eutrofizado, um deles é a alta concentração de cianobactérias e seus metabólitos secundários. A obtenção de água para consumo dentro dos padrões exigidos nessa situação se torna um grande desafio, já que os tratamentos convencionais normalmente adotados não são eficientes na remoção de células de cianobactérias e suas cianotoxinas. Modificações de estações de tratamento de água existentes ou construção de estações novas podem ser inviáveis. Diante do exposto, a fotocatalise apresenta-se como potencial tratamento preliminar para adequar a água à capacidade de tratamento da estação despertando interesse de diversos pesquisadores na questão. Apesar da elevada eficiência do processo fotocatalítico, sua aplicação em escala real envolve questões de custo.

O sistema simples de fotocatalise heterogênea utilizando como suporte esferas porosas de vidro reciclado para o  $\text{TiO}_2$  e com incidência de luz UV de baixa potência (LEDs), demonstrou eficiência no tratamento de células de *Microcystis aeruginosa* e Microcistinas. Os resultados demonstram que o sistema proposto é capaz de remover totalmente os metabólitos extracelulares enquanto simultaneamente removendo células. Essa combinação é importante já que um dos desafios do tratamento de células cianobacterianas é o aumento de toxinas dissolvidas após a lise celular. Outro efeito importante observado foi que o tratamento também diminui a taxa de crescimento das células mesmo após seu desligamento.

A iluminação via LED-UV torna a aplicação desta tecnologia viável do ponto de vista energético já que o consumo de energia do nosso sistema foi da ordem de mW. O aumento da escala do tratamento para aplicação *in situ* em reservatórios pode ser aperfeiçoada com a adoção de painéis solares de forma a alimentar mais LEDs-UV e esferas de  $\text{TiO}_2$ . Assim, o sistema proposto representa uma opção ambientalmente menos agressiva, de baixo custo e acessível com potencial para contribuir com a diminuição da carga orgânica e de toxinas em estações de tratamento de água.

## REFERÊNCIAS

- ABEYSIRIWARDENA, N. M.; GASCOIGNE, S. J. L.; ANANDAPPA, A. **Algal bloom expansion increases cyanotoxin risk in food** *Yale Journal of Biology and Medicine*, 2018.
- AGUILERA, A. et al. **Bloom-forming cyanobacteria and cyanotoxins in Argentina: A growing health and environmental concern** *Limnologia*, 2018.
- AHMED, S. N.; HAIDER, W. **Heterogeneous photocatalysis and its potential applications in water and wastewater treatment: A review** *Nanotechnology*, 2018.
- AKKANEN, J.; KUKKONEN, J. V. K. Biotransformation and bioconcentration of pyrene in *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 2003.
- AL-KATHILY, F. Direct Filtration using Surface Lakes Water in Iraq. **Global Journal of Researches in Engineering: E Civil and Structural Engineering**, 2014.
- ALI, T. et al. Enhanced photocatalytic and antibacterial activities of Ag-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles under visible light. **Materials Chemistry and Physics**, 2018.
- ARLOS, M. J. et al. Photocatalytic decomposition of organic micropollutants using immobilized TiO<sub>2</sub> having different isoelectric points. **Water Research**, 2016.
- AYEKOE, C. Y. P.; ROBERT, D.; LANCINÉ, D. G. Combination of coagulation-flocculation and heterogeneous photocatalysis for improving the removal of humic substances in real treated water from Agbô River (Ivory-Coast). **Catalysis Today**, 2017.
- AZEVEDO, S. M. F. O. et al. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru - Brazil. **Toxicology**, v. 181–182, p. 441–446, 2002.

BADGER, M. R.; PRICE, G. D. **CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in cyanobacteria: Molecular components, their diversity and evolution** *Journal of Experimental Botany*, 2003.

BANERJEE, S.; DIONYSIOU, D. D.; PILLAI, S. C. **Self-cleaning applications of TiO<sub>2</sub> by photo-induced hydrophilicity and photocatalysis** *Applied Catalysis B: Environmental*, 2015.

BISHOP, W. M. et al. Copper-Based Aquatic Algaecide Adsorption and Accumulation Kinetics: Influence of Exposure Concentration and Duration for Controlling the Cyanobacterium *Lyngbya wollei*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 2017.

BORUAH, B. et al. Novel insights into the properties of AgBiO<sub>3</sub> photocatalyst and its application in immobilized state for 4-nitrophenol degradation and bacteria inactivation. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 2019.

BOUHADDADA, R. et al. High diversity of microcystins in a *Microcystis* bloom from an Algerian lake. **Environmental Pollution**, 2016.

BURATTI, F. M. et al. **Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation** *Archives of Toxicology*, 2017.

BURFORD, M. A. et al. Perspective: Advancing the research agenda for improving understanding of cyanobacteria in a future of global change. **Harmful Algae**, 2019.

CARMICHAEL, W. W.; BOYER, G. L. **Health impacts from cyanobacteria harmful algae blooms: Implications for the North American Great Lakes** *Harmful Algae*, 2016.

CARRÉ, G. et al. TiO<sub>2</sub> photocatalysis damages lipids and proteins in Escherichia coli. **Applied and Environmental Microbiology**, 2014.

CHANG, C. W.; HUO, X.; LIN, T. F. Exposure of Microcystis aeruginosa to hydrogen peroxide and titanium dioxide under visible light conditions: Modeling the impact of hydrogen peroxide and hydroxyl radical on cell rupture and microcystin degradation. **Water Research**, 2018.

CHONG, M. N. et al. **Recent developments in photocatalytic water treatment technology: A review** **Water Research**, 2010.

CHOW, C. W. K. et al. The impact of conventional water treatment processes on cells of the cyanobacterium Microcystis aeruginosa. **Water Research**, 1999.

CORNISH, B. J. P. A.; LAWTON, L. A.; ROBERTSON, P. K. J. Hydrogen peroxide enhanced photocatalytic oxidation of microcystin-LR using titanium dioxide. **Applied Catalysis B: Environmental**, 2000.

DE JULIO, M. et al. A methodology for optimising the removal of cyanobacteria cells from a brazilian eutrophic water. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, 2010.

DODDS, W. K.; SMITH, V. H. Nitrogen, phosphorus, and eutrophication in streams. **Inland Waters**, 2016.

DRIKAS, M. et al. Using coagulation, and settling to remove toxic cyanobacteria. **Journal / American Water Works Association**, 2001.

DU PREEZ, H. et al. Cyanobacterial Incident Management Frameworks (CIMFs) for application by drinking water suppliers. **Water SA**, 2007.

DUNN, R. M.; MANOYLOV, K. M. The Effects of Initial Cell Density on the Growth

and Proliferation of the Potentially Toxic Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*; **Journal of Environmental Protection**, 2016.

FAGAN, R. et al. **A review of solar and visible light active TiO<sub>2</sub> photocatalysis for treating bacteria, cyanotoxins and contaminants of emerging concern** **Materials Science in Semiconductor Processing**, 2016.

FAN, J. et al. Impact of chlorine on the cell integrity and toxin release and degradation of colonial *Microcystis*. **Water Research**, 2016.

FERNÁNDEZ, A. et al. Preparation and characterization of TiO<sub>2</sub> photocatalysts supported on various rigid supports (glass, quartz and stainless steel). Comparative studies of photocatalytic activity in water purification. **Applied Catalysis B, Environmental**, 1995.

FOTEINIS, S. et al. Environmental sustainability of light-driven processes for wastewater treatment applications. **Journal of Cleaner Production**, 2018.

FOTIOU, T. et al. **Photocatalytic degradation of microcystin-LR and off-odor compounds in water under UV-A and solar light with a nanostructured photocatalyst based on reduced graphene oxide-TiO<sub>2</sub> composite. Identification of intermediate products.** Industrial and Engineering Chemistry Research. **Anais...**2013

FRANK, S. N.; BARD, A. J. Heterogeneous Photocatalytic Oxidation of Cyanide Ion in Aqueous Solutions at TiO<sub>2</sub> Powder. **Journal of the American Chemical Society**, 1977.

FUJISHIMA, A., & HONDA, K. Electrochemical Photolysis of Water One and Two-dimensional Structure of Poly ( L-Alanine ) shown by Specific Heat Measurements at Low. **Nature**, 1972.

GAYLE NEWCOMBE, JENNY HOUSE, LIONEL HO, P. B. AND M. B.  
**Management Strategies for Cyanobacteria (blue-green algae): a Guide for Water Utilities**Water Quality Research Australia. [s.l: s.n.].

GHERNAOUT, B.; GHERNAOUT, D.; SAIBA, A. Algae and cyanotoxins removal by coagulation/flocculation: A review. **Desalination and Water Treatment**, 2010.

GLINIAK, J. et al. Sulfur-Doped Graphene Oxide Quantum Dots as Photocatalysts for Hydrogen Generation in the Aqueous Phase. **ChemSusChem**, 2017.

GOYAL, P.; CHAKRABORTY, S.; MISRA, S. K. Multifunctional Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-ZnO nanocomposites for environmental remediation applications. **Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management**, 2018.

GRASSIAN, V. H. et al. Inhalation exposure study of Titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm. **Environmental Health Perspectives**, 2007.

GUNARATNE, H. Q. N. et al. 'All in one' photo-reactor pod containing TiO<sub>2</sub> coated glass beads and LEDs for continuous photocatalytic destruction of cyanotoxins in water . **Environmental Science: Water Research & Technology**, 2020.

HARKE, M. J. et al. **A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, Microcystis spp.**Harmful Algae, 2016.

HAVENS, K. E. et al. Dynamics of cyanobacteria blooms are linked to the hydrology of shallow Florida lakes and provide insight into possible impacts of climate change. **Hydrobiologia**, 2019.

HE, X. et al. **Toxic cyanobacteria and drinking water: Impacts, detection, and treatment**Harmful Algae, 2016.



HEERING, W. UV-sources - Basics, Properties and Applications. **International Ultraviolet Association**, 2004.

HEINLAAN, M. et al. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. **Chemosphere**, 2008.

HONG, Y. et al. In-situ synthesis of direct solid-state Z-scheme V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> heterojunctions with enhanced visible light efficiency in photocatalytic degradation of pollutants. **Applied Catalysis B: Environmental**, 2016.

IBELINGS, B. W. et al. Current approaches to cyanotoxin risk assessment and risk management around the globe. **Harmful Algae**, 2014.

JIN, Y. et al. Application of N-TiO<sub>2</sub> for visible-light photocatalytic degradation of *Cylindrospermopsis raciborskii* — More difficult than that for photodegradation of *Microcystis aeruginosa*? **Environmental Pollution**, 2019.

KOMÁREK, J.; KOMÁRKOVÁ, J. Review of the European *Microcystis* morphospecies (Cyanoprokaryotes) from nature. **Fottea**, 2002.

KOREIVIENE, J. et al. **Cyanotoxin management and human health risk mitigation in recreational waters** **Environmental Monitoring and Assessment**, 2014.

KU, Y.; SHIU, S. J.; WU, H. C. Decomposition of dimethyl phthalate in aqueous solution by UV-LED/TiO<sub>2</sub> process under periodic illumination. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 2017.

L.S., P. et al. Health effects of exposure to cyanobacteria (blue-green algae) during

recreational water-related activities. **Australian and New Zealand Journal of Public Health**, 1997.

LASZAKOVITS, J. R.; MACKAY, A. A. Removal of cyanotoxins by potassium permanganate: Incorporating competition from natural water constituents. **Water Research**, 2019.

LAWTON, L. et al. Determination of cyanobacteria in the laboratory. **Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management**, p. 28, 1999.

LAWTON, L. A. et al. Processes influencing surface interaction and photocatalytic destruction of microcystins on titanium dioxide photocatalysts. **Journal of Catalysis**, 2003.

LAWTON, L. A.; ROBERTSON, P. K. J. Physico-chemical treatment methods for the removal of microcystins (cyanobacterial hepatotoxins) from potable waters. **Chemical Society Reviews**, 1999.

LÉVESQUE, B. et al. Prospective study of acute health effects in relation to exposure to cyanobacteria. **Science of the Total Environment**, 2014.

LI, X. Z.; ZHANG, M.; CHUA, H. **Disinfection of municipal wastewater by sensitized photooxidation**. Water Science and Technology. **Anais...**1996

LIAO, X. et al. Photocatalytic inhibition of cyanobacterial growth using silver-doped TiO<sub>2</sub> under UV-C light. **Journal Wuhan University of Technology, Materials Science Edition**, 2009.

LORENZI, A. S. et al. Cyanotoxin contamination of semiarid drinking water supply

reservoirs. **Environmental Earth Sciences**, 2018.

MA, C. et al. The lysis and regrowth of toxic cyanobacteria during storage of achitosan-aluminium chloride composite coagulated sludge: implications for drinking water sludge treatment. **RSC Advances**, 2016.

MATSUNAGA, T. et al. Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. **FEMS Microbiology Letters**, 1985.

MAZHARI, M. P. et al. Central composite design (CCD) optimized synthesis of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@AgCl/Ag/Ag<sub>2</sub>S as a novel magnetic nano-photocatalyst for catalytic degradation of organic pollutants. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 2018.

MCLAREN, A. et al. Shape and size effects of ZnO nanocrystals on photocatalytic activity. **Journal of the American Chemical Society**, 2009.

MEREL, S. et al. **State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins** **Environment International**, 2013.

MILLS, A.; DAVIES, R. H.; WORSLEY, D. **Water purification by semiconductor photocatalysis** **Chemical Society Reviews**, 1993.

MILLS, A.; WANG, J.; CROW, M. Photocatalytic oxidation of soot by P25 TiO<sub>2</sub> films. **Chemosphere**, 2006.

NEWCOMBE, G. International Guidance Manual for the Management of Toxic Cyanobacteria. **Water Intelligence Online**, 2015.

NOSRATI, R.; OLAD, A.; MARYAMI, F. Visible-light induced anti-bacterial and self-cleaning waterborne polyacrylic coating modified with TiO<sub>2</sub> /polypyrrole

nanocomposite; preparation and characterization. **Journal of Molecular Structure**, 2018.

OHNO, T.; SARUKAWA, K.; MATSUMURA, M. Photocatalytic Activities of Pure Rutile Particles Isolated from TiO<sub>2</sub> Powder by Dissolving the Anatase Component in HF Solution. **The Journal of Physical Chemistry B**, 2002.

PAERL, H. W. et al. **Mitigating cyanobacterial harmful algal blooms in aquatic ecosystems impacted by climate change and anthropogenic nutrients** *Harmful Algae*, 2016.

PANTELIĆ, D. et al. **Cyanotoxins: Characteristics, production and degradation routes in drinking water treatment with reference to the situation in Serbia** *Chemosphere*, 2013.

PESTANA, C. J. et al. Photocatalytic degradation of eleven microcystin variants and nodularin by TiO<sub>2</sub> coated glass microspheres. **Journal of Hazardous Materials**, 2015.

PESTANA, C. J. et al. The effect of water treatment unit processes on cyanobacterial trichome integrity. **Science of the Total Environment**, 2019.

PILOTTO, L. et al. Acute skin irritant effects of cyanobacteria (blue-green algae) in healthy volunteers. **Australian and New Zealand Journal of Public Health**, 2004.

PIMENTEL, J. S. M.; GIANI, A. Microcystin production and regulation under nutrient stress conditions in toxic *Microcystis* strains. **Applied and Environmental Microbiology**, 2014.

PINHO, L. X. et al. Decomposition of *Microcystis aeruginosa* and microcystin-LR by TiO<sub>2</sub> oxidation using artificial UV light or natural sunlight. **Journal of Advanced**

**Oxidation Technologies**, 2012.

POBEL, D.; ROBIN, J.; HUMBERT, J. F. Influence of sampling strategies on the monitoring of cyanobacteria in shallow lakes: Lessons from a case study in France. **Water Research**, 2011.

PREECE, E. P. et al. **A review of microcystin detections in Estuarine and Marine waters: Environmental implications and human health risk** *Harmful Algae*, 2017.

QI, Y. et al. Seven new microcystin variants discovered from a native *Microcystis aeruginosa* strain - Unambiguous assignment of product ions by tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, 2015.

RAHIMI, N.; PAX, R. A.; GRAY, E. M. A. **Review of functional titanium oxides. I: TiO<sub>2</sub> and its modifications** *Progress in Solid State Chemistry*, 2016.

RINEHART, K. L. et al. Nodularin, Microcystin, and the Configuration of Adda. **Journal of the American Chemical Society**, 1988.

ROBERTSON, J. M. C.; ROBERTSON, P. K. J.; LAWTON, L. A. A comparison of the effectiveness of TiO<sub>2</sub> photocatalysis and UVA photolysis for the destruction of three pathogenic micro-organisms. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 2005.

ROBERTSON, P. K. J. et al. Destruction of cyanobacterial toxins by semiconductor photocatalysis. **Chemical Communications**, 1997.

SAITO, T. et al. Mode of photocatalytic bactericidal action of powdered semiconductor TiO<sub>2</sub> on mutans streptococci. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology**, 1992.

SCHNEIDER, O. M. et al. Photocatalytic degradation of microcystins by TiO<sub>2</sub> using UV-LED controlled periodic illumination. **Catalysts**, 2019.

SELLNER, K. G.; DOUCETTE, G. J.; KIRKPATRICK, G. J. **Harmful algal blooms: Causes, impacts and detection** *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2003.

SHAHAM-WALDMANN, N.; PAZ, Y. **Away from TiO<sub>2</sub>: A critical minireview on the developing of new photocatalysts for degradation of contaminants in water** *Materials Science in Semiconductor Processing*, 2016.

SONG, J. et al. Preparation, characterization, and photocatalytic activity evaluation of Fe–N-codoped TiO<sub>2</sub> /fly ash cenospheres floating photocatalyst. **Environmental Science and Pollution Research**, 2016.

SONG, J. et al. Removal of *Microcystis aeruginosa* and Microcystin-LR using a graphitic-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub> floating photocatalyst under visible light irradiation. **Chemical Engineering Journal**, 2018.

SPOOF, L.; CATHERINE, A. Appendix 3: Tables of Microcystins and Nodularins. In: **Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis**. [s.l: s.n.].

SRIKANTH, B. et al. **Recent advancements in supporting materials for immobilised photocatalytic applications in waste water treatment** *Journal of Environmental Management*, 2017.

STANIER, R. Y. et al. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales). **Bacteriological reviews**, 1971.

U.S. EPA OFFICE OF WATER. **Recommendations for Public Water Systems to**

**Manage Cyanotoxins in Drinking Water.** [s.l: s.n.].

UN. Back to our Common Future: Sustainable Development in the 21st Century (SD21) project. **Back to our Common Future: Sustainable Development in the 21st Century (SD21) project**, 2012.

VARUNI, P.; MENON, S. N.; MENON, G. I. Phototaxis as a Collective Phenomenon in Cyanobacterial Colonies. **Scientific Reports**, 2017.

WANG, X. et al. Solar light-driven photocatalytic destruction of cyanobacteria by F-Ce-TiO<sub>2</sub>/expanded perlite floating composites. **Chemical Engineering Journal**, 2017.

WANG, X. et al. CeO<sub>x</sub>/TiO<sub>2</sub>-yF<sub>y</sub> nanocomposite: An efficient electron and oxygen tuning mechanism for photocatalytic inactivation of water-bloom algae. **Ceramics International**, 2018.

WANG, X. et al. A highly efficient TiOX (X=N and P) photocatalyst for inactivation of *Microcystis aeruginosa* under visible light irradiation. **Separation and Purification Technology**, 2019.

WANG, Y. et al. Aqueous arsenite removal by simultaneous ultraviolet photocatalytic oxidation-coagulation of titanium sulfate. **Journal of Hazardous Materials**, 2016a.

WANG, Z. et al. Removal of *Microcystis aeruginosa* by UV-activated persulfate: Performance and characteristics. **Chemical Engineering Journal**, 2016b.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for drinking-water quality.** [s.l: s.n.].

WOOD, R. Acute animal and human poisonings from cyanotoxin exposure - A review of the literature **Environment International**, 2016.

YANG, H. et al. Nucleus Accumbens Subnuclei Regulate Motivated Behavior via Direct Inhibition and Disinhibition of VTA Dopamine Subpopulations. **Neuron**, 2018.

YASMINA, M. et al. **Treatment heterogeneous photocatalysis; Factors influencing the photocatalytic degradation by TiO<sub>2</sub>**. Energy Procedia. **Anais...**2014

YILMAZ, M. et al. Comprehensive multi-technique approach reveals the high diversity of microcystins in field collections and an associated isolate of *Microcystis aeruginosa* from a Turkish lake. **Toxicon**, 2019.

ZAMYADI, A. et al. Fate of geosmin and 2-methylisoborneol in full-scale water treatment plants. **Water Research**, 2015.

ZAMYADI, A. et al. **A review of monitoring technologies for real-time management of cyanobacteria: Recent advances and future direction**TrAC - **Trends in Analytical Chemistry**, 2016.

ZANCHETT, G.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. **Cyanobacteria and cyanotoxins: From impacts on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects**Toxins, 2013.

ZHANG, J. et al. Floating photocatalysts based on loading Bi/N-doped TiO<sub>2</sub> on expanded graphite C/C (EGC) composites for the visible light degradation of diesel. **RSC Advances**, 2015.

ZHANG, R. et al. Cyanobacteria derived taste and odor characteristics in various lakes in China: Songhua Lake, Chaohu Lake and Taihu Lake. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2019.

ZHAO, J. et al. Immobilization of titanium dioxide on PAN fiber as a recyclable



photocatalyst via co-dispersion solvent dip coating. **Textile Research Journal**, 2017.

ZHU, X.; CHANG, Y.; CHEN, Y. Toxicity and bioaccumulation of TiO<sub>2</sub> nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*. **Chemosphere**, 2010.

ZILLIGES, Y. et al. The cyanobacterial hepatotoxin microcystin binds to proteins and increases the fitness of *Microcystis* under oxidative stress conditions. **PLoS ONE**, 2011.