

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

JOSÉ HENRIQUE EDMILSON SOUZA FREITAS

**INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL DA LECTINA DE SEMENTES DE *Moringa*
oleifera (WSMoL) PARA TRATAMENTO DE ÁGUA: AVALIAÇÃO NA REMOÇÃO
DE CONTAMINANTES METÁLICOS**

Recife
2016

JOSÉ HENRIQUE EDMILSON SOUZA FREITAS

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL DA LECTINA DE SEMENTES DE *Moringa oleifera*
(WSMoL) PARA TRATAMENTO DE ÁGUA: AVALIAÇÃO NA REMOÇÃO DE
CONTAMINANTES METÁLICOS

Dissertação apresentada para o cumprimento
parcial das exigências para obtenção do título de
Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela
Universidade Federal de Pernambuco

Área de concentração: Bioquímica

Orientador: Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão

Coorientadora: Profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva

Recife
2016

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Freitas, José Henrique Edmilson Souza

Investigação do potencial da lectina de sementes de *Moringa oleífera* (WSMoL) para tratamento de água: avaliação na remoção de contaminantes metálicos / José Henrique Edmilson Souza Freitas - 2016.

101 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Thiago Henrique Napoleão

Coorientadora: Patrícia Maria Guedes Paiva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.
Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia. Recife, 2016.

Inclui referências.

1. Tratamento de água 2. Metais 3. Ecotoxicologia

I. Napoleão, Thiago Henrique (Orient.) II. Paiva, Patrícia Maria Guedes (Coorient.) III. Título

572.6

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2019-046

JOSÉ HENRIQUE EDMILSON SOUZA FREITAS

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL DA LECTINA DE SEMENTES DE *Moringa oleifera*
(WSMoL) PARA TRATAMENTO DE ÁGUA: AVALIAÇÃO NA REMOÇÃO DE
CONTAMINANTES METÁLICOS

Dissertação apresentada para o
cumprimento parcial das exigências para
obtenção do título de Mestre em
Bioquímica e Fisiologia pela Universidade
Federal de Pernambuco

Aprovada em: 12/02/2016

BANCA EXAMINADORA

Prof. Thiago Henrique Napoleão (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Maria Betânia Melo de Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Marcos Antonio Barbosa de Lima
Universidade Federal Rural de Pernambuco

A Deus, que iluminou a minha jornada. Ao meu pai, meu tutor e grande professor que sempre irá me assistir onde quer que esteja. À minha família. Aos meus amigos, meu namorado e orientadores: pelas alegrias, ajuda, disposição e fraternidade. Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, pela proteção física e espiritual, pela inserção em todos os níveis sociais aos quais pertenço, pela sabedoria que é me dada por meio das experiências vitalícias dia após dia e por todas as oportunidades que me foram oferecidas durante todo o percurso que trilhei nestes vinte e seis anos de jornada.

Agradeço aos meus pais, por todos os anos de cuidado depositados em mim. Ao meu pai (Edmilson José), por seu pulso firme e por suas bênçãos que não deixam de ser acolhidas do além-mar. À minha mãe (Edileuza Maria), pela preocupação com meus estudos e a perseverança em construir um ser com caráter;

À minha avó (Maria Argentina), pelo colo onde sempre deitava para falar das preocupações na vida, desde o menor ao maior dos problemas e por sua maneira de levar a vida como algo simples e alegre;

Aos meus irmãos (Francisco Edmilson, Felipe Edmilson e Juliana Edileuza), pelas brigas diárias e pelas preocupações com as minhas viagens rumo a congressos ou encontros. Aos olhares orgulhosos que demonstram sem perceber quando falam de mim aos seus amigos;

À minha tia (Severina Maria) e primas (Suzy Severina e Susana Severina), pelos momentos de gargalhadas e abraços;

A Guilherme Trintinalha Corrêa, pela amizade, carinho, companheirismo, compreensão e amor depositado todos os dias em mim. Agradeço ao melhor companheiro-amigo-namorado-marido que alguém poderia ter. Te amo.

Ao Professor Doutor Thiago Henrique Napoleão, pela oportunidade de continuar na academia durante o Curso do Mestrado e por sua preocupação com todo o decorrer da pesquisa e da construção da dissertação;

À Professora Doutora Patrícia Maria Guedes Paiva, pela crença no meu potencial e pela apresentação ao professor Thiago para que pudéssemos construir juntos todo este processo de parceria;

À Professora Doutora Aline Elesbão do Nascimento, pela camaradagem, apoio e cuidado desde a graduação e por todos os dias em que as dúvidas tomaram conta e ela soube contornar a tudo com seu dom de indagar e levar-nos a questionar a própria existência;

À Professora Doutora Galba Maria de Campos Takaki, pela cordialidade e oferecimento do espaço do Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Biotecnologia (Unicap) para o desenvolvimento da pesquisa desde o seu início;

Ao Professor Doutor Marcos Antonio Barbosa de Lima, pela disponibilidade, apoio e participação na banca examinadora;

Aos técnicos (José Humberto e André Felipe), pela disponibilidade em ajudar e fornecer os materiais necessários para o desenvolvimento da pesquisa;

À Sra. Sônia Maria, pelas conversas e gargalhadas na secretaria do laboratório, pois o dia ficava melhor depois de cada bom dia animado;

A todos aqueles que fazem parte do NPCIAMB-Unicap: Davi, Daylin, Dayana, Thayse, Rosileide, José Carlos, Marcos Luna, Ladiel, Marcelo, Amanda Alencar, Milagre, Laura, Nathália, Felipe, Miller, Danielle, Ana Cláudia e todos aqueles que passaram por minha vida enquanto estive por lá. Agradeço por todas as conversas que me distraíram nos momentos em que mais precisei e aos momentos de confraternização que nos uniram um pouco mais.

A Maria Helena Menezes Estevam Alves, Lena. Se fosse elencar tudo o que preciso te agradecer, seria bem difícil... por isso, agradeço por você ser quem é comigo e por não ter medo de mostrar-se na pura essência, pois é assim que você se torna mais estonteante. Obrigado pela amizade que é tão forte como o laço entre irmãos;

A José Leandro Aleixo, Leléio. Meu amigo para quase todas as horas. O que me entende em vários aspectos e me desentende em outros zilhões, mas, que mesmo assim é um irmão que sempre está por perto (depois de alguns vacilos) e, agora, meu procurador que batalha pra resolver as broncas que a entrega da dissertação pede já que eu só vivo me mudando. Te amo;

A Rosário Câmara, minha flor de maracujá, minha Rusinha. Te agradeço por todos os bons dias e pelas patacas jogadas ao vento que conversamos e tentamos entender. Agradeço por você fazer parte da minha vida;

A Keissy Vanderley de Santana, a B..., que chegou e conquistou um espaço enorme no meu peito. Agradeço pelos dias em que eu parei de funcionar e você estava lá para ficar comigo, mesmo que apenas em silêncio. Pelos dias gastos com as correrias do laboratório e pelas horas de alegria;

A Amanda Emanuelle Sales, minha sempre mestra que agora também é doutora, pela amizade forte que deixamos crescer e amadurecer, e, veja aonde estamos agora: felizes e seguindo sempre em frente não importa o que venha;

A Jefferson Cavalcanti, vulgo Geo, pela amizade que perdura a mais de uma década e que não se desgasta com o tempo ou distância;

Aos amigos de escola: Jéssica, Danielly Alves, Wedja, Shirley, Guto, Augusto, Nikolai, Kenedy, André, Hedymur, Samuel, Suelen, José Vicente ‘Tripa’, Tarrachinha, Vânia Louise, Manu, Marcela, Antônio, Leilane e tantos outros que fazem parte da minha jornada desde que iríamos passar pelo fim do mundo no ano de 2000. Amo todos vocês de maneira especial;

Aos amigos bioloucos: Marília França, Iria Domingos, Marília Montenegro, Nairane, Layla, Alan, Raphaela e Amanda Mota, que decidiram seguir a mesma profissão e que me cativaram de forma inesquecível;

Aos amigos que vieram e que se fortaleceram com o mestrado: Jairo, Alisson, Douglas, Flávia, Jéssica, Milena, Hicla, Nataliane, Dayvid, Pollyanna, Bernardo, Camila, Hianna, Ivanildo e Luis, que passaram pelas dificuldades da disciplina de Fronteiras e, que dividiram seus sonhos, felicidades e angústias comigo.

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pelo apoio de mobilidade discente, pelo oferecimento do departamento de bioquímica e desenvolvimento do programa de pós-graduação em bioquímica e fisiologia;

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo oferecimento da bolsa ao longo de todo o curso do mestrado;

Aos fomentos do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio aos departamentos aos quais estive inserido durante todo o desenvolvimento da pesquisa de mestrado.

“O ser humano vivencia a si mesmo, com seus pensamentos como algo separado do resto do universo – numa espécie de ilusão de ótica de sua consciência. E essa ilusão é uma espécie de prisão que nos restringe a nossos desejos pessoais, conceitos e ao afeto por pessoas mais próximas. Nossa principal tarefa é a de nos livrarmos dessa prisão, ampliando o nosso círculo de compaixão, para que ele abranja todos os seres vivos e toda a natureza em sua beleza. Ninguém conseguirá alcançar completamente esse objetivo, mas lutar pela sua realização já é por si só parte de nossa libertação e o alicerce de nossa segurança interior” (EINSTEIN, 1950)

RESUMO

Efluentes industriais, resíduos de esgoto e resíduos agrícolas são os principais poluentes que contaminam o meio ambiente. A água poluída ameaça a vida aquática, perturba a produção agrícola e é referida como sendo uma das principais causas de morte em seres humanos. Dentre os diversos poluentes encontrados na água, os metais pesados são tóxicos por natureza e/ou pelas concentrações inadequadas em que são introduzidas ao meio. O sulfato de alumínio é um dos principais agentes utilizadas na etapa de coagulação-floculação no tratamento de água; contudo, a presença de alumínio residual na água tem sido associada com lesões cerebrais. Sementes de *Moringa oleifera* Lam (noz-de-ben ou moringa) são utilizadas popularmente no tratamento de água barrenta e por conter proteínas coagulantes, dentre as quais destaca-se uma lectina solúvel em água, denominada WSMoL. O presente trabalho teve como objetivos: 1) determinar o potencial de WSMoL na remoção de metais em soluções aquosas; 2) avaliar a atividade antibacteriana da lectina incubada ou não com íons metálicos; 3) investigar a capacidade de WSMoL em remover turbidez e reduzir a toxicidade de água poluída; 4) avaliar o potencial de WSMoL em reduzir a concentração de alumínio residual, quando empregada juntamente com sulfato de alumínio para tratamento de água. WSMoL foi capaz de promover redução na concentração de todos os metais testados (Mn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} e Cd^{2+}), apresentando maior eficiência de remoção de íons de magnésio e cobre. A lectina inibiu o crescimento de *Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis* (concentração mínima inibitória de 0,05 e 0,1 mg/ml, respectivamente). Os valores de concentração mínima bactericida foram de 0,2 mg/ml para *E. coli* e 0,4 mg/ml para *S. enteritidis*. Contudo, a atividade antibacteriana de WSMoL não foi detectada após a incubação com os metais. Para determinação dos efeitos de WSMoL em água do ambiente, foram coletadas amostras em diferentes pontos ao longo do curso do Riacho Cavouco, as quais foram avaliadas quanto às propriedades físico-químicas, toxicidade para *Artemia salina* e fitotoxicidade para *Eruca sativa* e *Lactuca sativa*. De acordo com os resultados dos ensaios de ecotoxicidade, perfil físico-químico e índices de qualidade, a amostra P1 (coletada na nascente do riacho) foi considerada a mais impactada, sendo então submetida aos seguintes tratamentos: (I) sulfato de alumínio 2% (p/v) por 2 h; (II) WSMoL 0,2 mg/ml por 2 h; (III) sulfato de alumínio 2% (p/v) por 2 h seguido por WSMoL 0,2 mg/ml por 2 h; (IV) sulfato de alumínio e WSMoL aplicados simultaneamente (nas mesmas concentrações descritas anteriormente) por 2 h. No tratamento somente com o sulfato de alumínio (I) houve uma maior redução (73,12%) na turbidez; contudo, foi detectada uma concentração residual de

alumínio de 35,5 mg/l. O tratamento de P1 com WSMoL (II) resultou em 64,16% de redução da turbidez. Interessantemente, quando WSMoL e sulfato de alumínio foram utilizados conjuntamente para o tratamento de P1, não somente houve uma potencialização da redução de turbidez (96,8% e 91,3% para III e IV, respectivamente), como também houve uma grande redução na concentração de alumínio residual (0,3 e 8,3 mg/l para III e IV, respectivamente). Em todos os tratamentos houve redução da fitotoxicidade e toxicidade para *A. salina*, sendo os melhores resultados obtidos para o tratamento III. Em conclusão, podemos afirmar que: 1) WSMoL é capaz de promover remoção de íons metálicos em soluções aquosas; entretanto, a exposição aos metais leva à perda de atividade antibacteriana da lectina, o que deve ser levado em conta se WSMoL estiver sendo usada como um agente desinfetante; 2) A utilização de WSMoL em conjunto com sulfato de alumínio é um método eficiente para promover forte redução da turbidez e ecotoxicidade em água do ambiente, sem resultar em uma elevada concentração residual de alumínio.

Palavras-chave: Metais. Cavouco. Impacto ambiental. Tratamento de água. Ecotoxicologia.

ABSTRACT

Industrial effluents, sewage and agricultural wastes are the main pollutants that contaminate the environment. The polluted water threatens the aquatic life, disrupts the agricultural and is referred to as a leading cause of death in humans. Among the diverse pollutants found in the water, heavy metals are toxic in nature and/or by inadequate concentrations which are introduced to the environment. Aluminum sulfate is one of the main agents used in the coagulation-flocculation step for water treatment; however, the presence of residual aluminum in the water has been associated with brain damage. *Moringa oleifera* Lam seeds (walnut-of-ben or moringa) are popularly used for treating muddy water and contain coagulating proteins, among which stands out a water-soluble lectin called WSMoL. This study aimed to: 1) determine WSMoL's potential in removing metals from aqueous solutions; 2) evaluate the antibacterial activity of lectin incubated or not with metallic ions; 3) investigate WSMoL's ability to remove turbidity and reducing polluted water toxicity; 4) evaluate WSMoL's potential in reducing the residual aluminum concentration, when used together with aluminum sulfate for water treatment. WSMoL was able to decrease the concentration of all metals tested (Mn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} and Cd^{2+}), with higher removal efficiency of manganese and copper ions. The lectin inhibited the growth of *Escherichia coli* and *Salmonella enteritidis* (minimal inhibitory concentration of 0.05 and 0.1 mg/ml, respectively). The values of minimum bactericidal concentrations were 0.2 mg/ml for *E. coli* and 0.4 mg/mL for *S. enteridis*. However, the antibacterial activity of WSMoL was not detected after incubation with metals. To determine the effects of WSMoL in environmental water, samples were collected at different points along the course of Cavouco's stream, which were evaluated for physical-chemical properties, toxicity to *Artemia salina* and phytotoxicity for *Eruca sativa* and *Lactuca sativa*. According to the results of ecotoxicity assays, physical-chemical profile and quality indexes, the sample P1 (collected in the stream's source) was considered the most impacted, and then subjected to the following treatments: (I) aluminum sulphate 2% (w/v) for 2 h; (II) WSMoL 0.2 mg/ml for 2 h; (III) aluminium sulphate 2% (w/v) for 2 h followed by WSMoL 0.2 mg/ml for 2 h; (IV) aluminum sulphate and WSMoL applied simultaneously (at the same concentrations as described above) for 2 h. In the treatment with only aluminum sulphate (I) there was a greater reduction (73.12%) in turbidity; however, a residual concentration of aluminum of 35.5 mg/l was detected. The treatment of P1 with WSMoL (II) resulted in a 64.16% reduction in turbidity. Interestingly, when WSMoL and aluminum sulphate were used together for the treatment of P1, there was a potentiation not

only reducing the turbidity (96.8% and 91.3% for III and IV, respectively), but there was also a large reduction the residual aluminum concentration (0.3 and 8.3 mg/l for III and IV, respectively). In all treatments, the phytotoxicity and toxicity for *A. salina* were reduced, being the best results for the treatment III. In conclusion, we can say that: 1) WSMoL can promote metal ions removal in aqueous solutions; however, exposure to metals leads to loss of antibacterial activity of lectin, which must be taken into account if WSMoL is being used as a disinfectant agent; 2) The use of WSMoL together with aluminum sulphate is an efficient method to promote a strong turbidity and ecotoxicity reduction of environmental water, without resulting in a high residual concentration of aluminum.

Keywords: Metals. Cavouco. Environmental impact. Water treatment. Ecotoxicology.

LISTA DE FIGURAS

Introdução

Figura 1 –	Distribuição de água no planeta.....	19
Figura 2 –	Distribuição de água entre os continentes.....	20
Figura 3 –	Descarga de efluente têxtil em rio.....	22
Figura 4 –	Classes de enquadramento e respectivos usos e qualidade de água.....	24
Figura 5 –	Processo de tratamento de água.....	32
Figura 6 –	Atividade Hemaglutinante de lectina.....	38
Figura 7 –	Aspectos de <i>M. oleifera</i>	39
Figura 8 –	Riacho Cavouco.....	43

Artigo 1

Figure 1 -	Interaction of WSMoL with metal ions.....	61
Figure 2 -	Inhibition of the growth of <i>Escherichia coli</i> and <i>Salmonella</i> <i>enterica</i>	62

Artigo 2

Figure 1 -	Satellite image of the stretch of Cavouco stream within the UFPE campus.....	89
Figure 2 -	Evaluation of phytotoxicity of water samples collected at five points (P1 to P5).....	90
Figure 3 -	Mortality of <i>Artemia</i>	91
Figure 4 -	Phytotoxicity assays using P1 water sample after treat-	

ments.....	
------------	--

92

LISTA DE TABELAS

Introdução

Tabela 1-	Padrões de lançamento de efluentes.....	28
Tabela 2-	Padrões de Níveis Máximos de Contaminantes (NMC) para os metais pesados mais perigosos.....	29
Tabela 3-	Alguns usos medicinais comuns de diferentes partes da <i>Moringa oleifera</i>	40

Artigo 2

Table 1-	Physicochemical characterization of the water samples from Cavouco stream.....	87
Table 2-	Evaluation of pH, turbidity and residual aluminum concentration.....	88

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
1.1	IMPORTÂNCIA DA ÁGUA.....	19
1.2	EFLUENTES.....	20
1.3	PARÂMETROS DE QUALIDADE DE ÁGUA.....	23
1.3.1	Turbidez.....	24
1.3.2	Condutividade elétrica.....	24
1.3.3	Cor.....	25
1.3.4	pH.....	26
1.4	METAIS PESADOS.....	27
1.5	PROCESSOS DE TRATAMENTO.....	31
1.5.1	Tratamento por processos biológicos.....	32
1.5.2	Tratamento por processos físico-químicos.....	33
1.5.2.1	Coagulação.....	33
1.5.2.2	Decantação.....	36
1.6	LECTINAS.....	36
1.7	MORINGA OLEIFERA.....	38
1.7.1	Lectinas de sementes de <i>Moringa oleifera</i>.....	41
1.8	RIACHO DO CAVOUCO.....	42
1.9	OBJETIVOS.....	43
1.9.1.	Geral.....	43
1.9.2.	Específicos.....	44
2	INTERACTION BETWEEN <i>MORINGA OLEIFERA</i> SEED	
	LECTIN AND METAL IONS: LECTIN AS A METAL REMO-	

	VER AND THE EFFECT OF METAL IONS ON LECTIN AC-	
	TIVITY.....	45
3	EVALUATION OF TREATMENTS USING ALUMINUM SUL-	
	PHATE AND <i>MORINGA OLEIFERA</i> SEED LECTIN TO REDU-	
	CE TURBIDITY OF POLLUTED STREAM WATER.....	63
4	CONCLUSÕES.....	93
	REFERÊNCIAS.....	94

1 INTRODUÇÃO

1.1 IMPORTÂNCIA DA ÁGUA

A água é um dos recursos naturais mais importantes e básicos, desempenhando também um papel crucial nos processos de desenvolvimento econômico e social (CPCB, 2007). Embora 71% da superfície da Terra seja coberta por água, cerca de 97% é encontrada nos oceanos e é salgada demais para beber ou irrigar (Figura 1). Os 3% restantes são de água doce, onde 2,997% se encontram bloqueados em calotas de gelo ou glaciares. Assim, apenas 0,003% do volume total de água do planeta está disponível para os seres humanos (Figura 2) como: a umidade do solo, águas subterrâneas, vapor de água e água em lagos, córregos, rios e áreas úmidas (Braga et al., 2002; Santos et al., 2013).

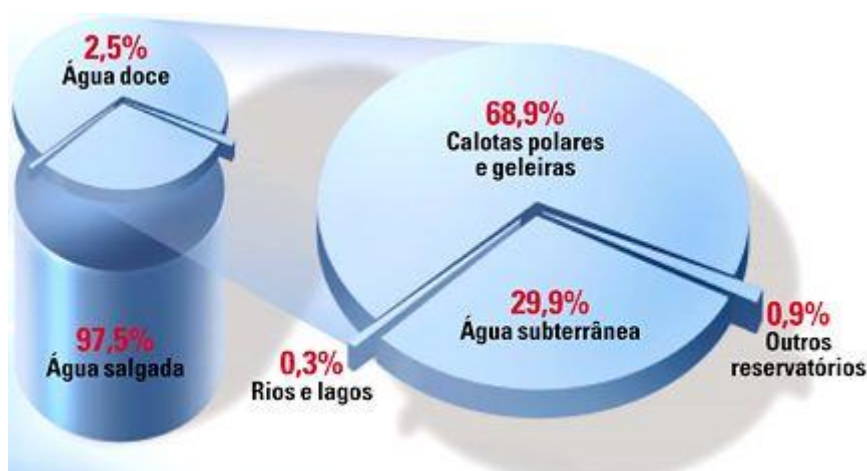


Figura 1. Distribuição de água no planeta. Fonte: Google Images

A qualidade do nosso meio ambiente está se deteriorando dia a dia com as maiores cidades atingindo pontos de saturação e incapazes de lidar com o aumento da pressão sobre a infraestrutura. A preocupação global sobre os impactos da poluição na saúde pública tem crescido ao longo das últimas três décadas (Kimani, 2007) e acredita-se que a exposição

humana à poluição é mais intensa agora do que em qualquer outro momento da existência do homem (Schell et al, 2006; Fereidoun et al, 2007).

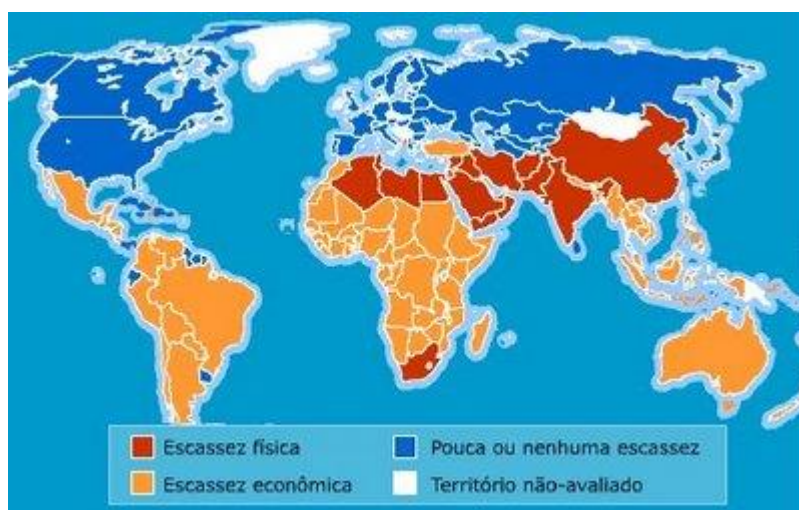


Figura 2. Distribuição de água entre os continentes. Fonte: Internarional Water Management Institute

A água que bebemos é um dos ingredientes essenciais para o nosso bem-estar e uma vida saudável. Infelizmente, água poluída é comum em todo o mundo. A Organização Mundial da Saúde (OMS) afirma que um sexto da população mundial (cerca de 1,1 bilhão de pessoas) não tem acesso à água potável e 2,4 bilhões carecem de saneamento básico (European Public Health Alliance, 2009). A água poluída causa vários perigos para a saúde, ameaça a vida aquática e também perturba a produção de diferentes culturas (Ashraf et al, 2010; Scipeeps, 2009). Os efeitos da poluição da água são referidos como sendo uma das principais causas de morte em seres humanos em todo o mundo (Scipeeps, 2009; Santos et al., 2013).

1.2 EFLUENTES

Efluentes industriais, resíduos de esgoto e resíduos agrícolas são os principais poluentes que contaminam o meio ambiente. A maioria das indústrias descarrega seus

efluentes contendo materiais tóxicos nos rios sem tratamento adequado. Dessa forma, a poluição de água tem aumentado pelo lançamento de metais tóxicos desde o início da Revolução Industrial (Wua et al, 2009). A poluição da água requer avaliação contínua e revisão da política de recursos hídricos em todos os níveis, uma vez que é responsável por mais de 14.000 mortes diárias (Rosa et al, 2006; Santos et al., 2013; Kamimura et al., 2015).

Poluentes orgânicos são comumente encontrados na água, na forma de compostos como proteínas, gorduras, carboidratos etc., bem como compostos sintéticos como corantes e pesticidas (Figura 2). Eles são originados principalmente do esgoto doméstico, esgoto urbano, efluentes industriais (sabões, detergentes, pesticidas, herbicidas), resíduos de fazendas, hidrocarbonetos de petróleo, incluindo combustíveis (gasolina, diesel), combustível lubrificante, e produtos derivados da combustão no escoamento de águas pluviais (EPA, 2005). Estes poluentes, quando descarregados em corpos de água, são degradados em compostos mais simples por bactérias aeróbias, tornando-os menos prejudiciais. Contudo, as bactérias aeróbicas consomem O_2 dissolvido presente na água para degradar os poluentes orgânicos. A quantidade de O_2 necessária para oxidar uma quantidade determinada de material orgânico é denominada como a demanda biológica de oxigênio (DBO). Devido à alta descarga pelas indústrias, a DBO aumenta, acarretando no esgotamento do O_2 dissolvido, o que resulta na morte das bactérias aeróbias e, conseqüentemente, perturbação de todo o ecossistema (Burton et al, 2001; Peixoto et al., 2013; Kamimura et al., 2015).



Figura 3. Descarga de efluente têxtil em rio. Fonte: Google Images

Os poluentes inorgânicos incluem sulfatos, nitratos, fosfatos, metais pesados, H_2SO_4 , HNO_3 e H_3PO_4 , dentre outros, que são provenientes de minas, curtume, chapeamento e operações metalúrgicas, fertilizantes encontrados no escoamento de águas pluviais, metais pesados de veículos automotivos e indústrias, e minas de drenagem ácida (EPA, 2005). Ácidos e bases inorgânicas podem trazer grandes danos a corpos d'água por quebrarem os sistemas de tamponamento natural, alterando os valores normais de pH. As alterações no pH têm um efeito profundo sobre os organismos aquáticos, especialmente os pescados. Peixes de água doce e algas geralmente prosperam na faixa de pH 5,0-8,5. Sob condições mais ácidas e alcalinas, a população aquática tende a cair, bem como a propriedade de autopurificação da água também é prejudicada pela presença de metais pesados (Lopes et al., 2001; Golombieski et al., 2005; Oliveira et al., 2014).

Devido à erosão natural de rochas e solo, quase todos os corpos d'água contêm partículas não dissolvidas chamadas sedimentos. A matéria suspensa geralmente corresponde a argilas, lodo e rochas pulverizadas, e, mesmo ao acumular-se no rio são inofensivas. Contudo, seus aumentos de concentração podem causar problemas. Os sedimentos em

suspensão e partículas de trocadores catiônicos podem atuar como depositários de metais vestigiais como Cu, Co, Ni, Mn, Cr e Mo (Schueler et al, 2000). Sólidos em suspensão, como silte e carvão podem prejudicar as brânquias dos peixes e provocar asfixia. Quando as substâncias tóxicas como metais pesados e pesticidas são liberados na água turva, as toxinas podem se aderir às partículas em suspensão e tornar-se concentradas em sedimentos. O que mais uma vez retarda o sistema de auto-purificação de água, devido à presença destes sedimentos (Al-Naimi, 2013; Oliveira et al., 2014; Kamimura et al., 2015).

1.3 PARÂMETROS DE QUALIDADE DE ÁGUA

A Resolução CONAMA 357/2005 estabelece as classes de qualidade para as águas doces, salobras e salinas. As águas de classe especial devem ter sua condição natural, não sendo aceito o lançamento de efluentes, mesmo que tratados. Para as demais classes, são admitidos níveis crescentes de poluição, sendo a classe 1 com os menores níveis e as classes 4 (águas-doces) e 3 (águas salobras e salinas) as com maiores níveis de poluição (Figura 3). Estes níveis de poluição determinam os usos que são possíveis no corpo d'água. Por exemplo, nas águas-doces de classe 4 os níveis de poluição permitem apenas os usos menos exigentes de navegação e harmonia paisagística.

A potabilidade é a qualidade necessária à água distribuída para consumo humano e é alcançada mediante várias formas de tratamento. Para atender ao padrão de potabilidade, a água de abastecimento deve apresentar quantidades limites para diversos parâmetros que são definidos pela portaria nº 518 do Ministério da Saúde (MS), estando livre de qualquer contaminação, seja esta de origem microbiológica, química, física ou radioativa, excluindo as hipóteses de riscos à saúde humana (BRASIL, 2004; Santos et al., 2013; Oliveira et al., 2014).



Figura 4. Classes de enquadramento e respectivos usos e qualidade da água. Fonte: ANA

1.3.1 Turbidez

A turbidez está relacionada ao grau de atenuação de intensidade que um feixe de luz sofre ao atravessar uma amostra de água. É causada pela presença de material coloidal suspenso oriundo de matéria orgânica e inorgânica, lodo, plâncton, dentre outros. Mesmo em baixas concentrações, as partículas coloidais e outras substâncias coloridas causam interferência na turbidez e, dependendo do tipo de matéria em suspensão e da cor, as propriedades da luz absorvida são diferentes (Metcalf & Eddy, 2003; Sperling, 2005).

A turbidez resultante de partículas de rochas, argila e silte, algas e alguns micro-organismos, ou seja, de origem natural, não causa inconvenientes de natureza sanitária diretamente, mesmo sendo esteticamente desagradável. Já a turbidez originada por erosão, despejos domésticos e industriais (antropogênica) pode estar associada a compostos tóxicos e micro-organismos indesejáveis (Sperling, 2005; Scuracchio, 2010).

1.3.2 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica é a medida da capacidade de uma solução aquosa conduzir corrente elétrica, a qual depende da presença de íons, bem como da concentração e mobilidade dos mesmos. Soluções de compostos inorgânicos são bons condutores, porém as moléculas de compostos orgânicos que não se dissociam em solução aquosa apresentam condutividade relativamente baixa. A elevação da condutividade elétrica no efluente tratado por coagulação-floculação utilizando sais de alumínio e ferro pode alterar a classificação dos corpos d'água para água salobra ou salgada, dependendo da concentração de sais e, consequentemente, desequilibrar o ecossistema (BRASIL, 2004; Scuracchio, 2010).

1.3.3 Cor

Sólidos dissolvidos, partículas em suspensão, material derivado de fitoplânctons e macrófitas aquáticas são componentes da água, sendo responsáveis por suas propriedades ópticas inerentes. Eles atuam como agentes espalhadores e absorvedores de radiação, influenciando na transmissão da radiação eletromagnética através da coluna d'água e, consequentemente, na produtividade primária (Sperling, 2005).

Um dos parâmetros de qualidade em amostras hídricas se refere à cor das águas. A cor está associada ao grau de redução de intensidade que a luz sofre ao atravessar a amostra, onde a redução ocorre por absorção de parte da radiação eletromagnética. Este parâmetro pode ser medido por comparação visual ou por espectrofotometria, pois nesse sentido, a determinação da cor sofre influência pela turbidez que absorve parte da radiação eletromagnética (devido à presença de sólidos dissolvidos, principalmente em estado coloidal), causando interferência nos resultados. O pH é responsável pela variação da cor da água, sendo essa cor mais facilmente removida em valores baixos de pH (Sperling, 2005).

As análises de cor são estudadas por diferentes métodos, onde são observadas as amostras sem remoção de partículas suspensas (cor aparente) ou após a centrifugação ou filtração da amostra (cor verdadeira). Dessa forma, a cor aparente sofre influência de partículas suspensas, enquanto a cor verdadeira, não. A utilização desses métodos depende do tamanho das partículas, assim, por generalização, partículas com diâmetro superior a 1,2 mm causam turbidez, enquanto que partículas coloidais e dissolvidas causam cor (Metcalf & Eddy, 2003). Adicionalmente, a cor exerce influência na escolha do tipo do tratamento ao qual a água deve ser submetida. (Sperling, 2005).

1.3.4 pH

O pH representa a concentração de íons de hidrogênio (H^+) na água, indicando a condição de acidez, neutralidade ou alcalinidade. O levantamento desse parâmetro é importante para o controle dos processos de tratamento de esgoto e águas residuárias. Os valores desse parâmetro nas águas naturais dependem de rochas dissolvidas, absorção de gases da atmosfera, oxidação da matéria orgânica e fotossíntese, além de fatores antropogênicos, despejos domésticos e industriais (Sperling, 2005). Valores de pH afastados da neutralidade (pH 7,0) podem interferir na saúde pública, na vida aquática e nos tratamentos de efluentes. O valor de pH influencia a coagulação dos poluentes, o crescimento de microorganismos responsáveis por tratamentos biológicos e a desinfecção por cloro (Kositz et al., 2004).

No tratamento físico-químico de efluentes industriais, muitos são os exemplos de reações dependentes do pH. A precipitação química de metais pesados, a oxidação de cianeto e o arraste de amônia convertida à forma gasosa ocorre em pH elevado; a redução do cromo

hexavalente à forma trivalente, a oxidação química de fenóis e a quebra de emulsões oleosas, em pH baixo (Scuracchio, 2010).

1.4 METAIS PESADOS

Os metais pesados têm sido motivo do aumento da preocupação com o destino dos resíduos industriais, uma vez que esses podem causar danos em todo o ecossistema por não serem degradados, acumulando-se nas cadeias tróficas. Os resíduos metálicos são facilmente transportados quando em solução, e muitas vezes, podem alcançar altas concentrações em áreas fechadas por sua própria disposição ou por amplificação biológica (Gadd, 2010). A maioria das fontes pontuais de poluentes de metais pesados são águas residuais industriais de mineração, processamento de metal, curtumes, produtos farmacêuticos, pesticidas, produtos químicos orgânicos, borracha e plásticos, madeira e produtos de madeira. Para limitar o lançamento de poluentes no meio ambiente, o Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) cria regulamentos (Tabela 1) para o controle de poluição por elementos inorgânicos como os metais pesados.

Os metais pesados são elementos com pesos atômicos entre 63,5 e 200,6. Metais pesados em águas residuais industriais incluem chumbo, cromo, mercúrio, urânio, selênio, zinco, arsênico, cádmio, prata, ouro e níquel (Ahalya et al., 2003). A maioria dos metais pesados é perigosa para a saúde humana e/ou ambiental. As principais ameaças para a saúde humana por metais pesados estão associados à exposição ao chumbo, cádmio, mercúrio e arsênico. Estes metais e seus efeitos sobre a saúde humana têm sido extensivamente estudados. Intoxicações agudas por metais pesados podem danificar a função dos sistemas nervoso central, cardiovascular, gastrointestinal, respiratório, urinário endócrino, bem como do fígado e dos ossos (Alluri et al., 2007). Doenças degenerativas desses mesmos sistemas e

alguns tipos de cânceres têm sido associadas com a exposição crônica a estes metais (Tabela 2).

Tabela 1. Padrões de lançamento de efluentes

Parâmetros inorgânicos	Valores máximos
Arsênio total	0,5 mg/L As
Bário total	5,0 mg/L Ba
Boro total (não se aplica para o lançamento em águas salinas)	5,0 mg/L B
Cádmio total	0,2 mg/L Cd
Chumbo total	0,5 mg/L Pb
Cianeto total	1,0 mg/L CN
Cianeto livre (destilável por ácidos fracos)	0,2 mg/L CN
Cobre dissolvido	1,0 mg/L Cu
Cromo hexavalente	0,1 mg/L Cr ⁺⁶
Cromo trivalente	1,0 mg/L Cr ⁺³
Estanho total	4,0 mg/L Sn
Ferro dissolvido	15,0 mg/L Fe
Fluoreto total	10,0 mg/L F
Manganês dissolvido	1,0 mg/L Mn
Mercúrio total	0,01 mg/L Hg
Níquel total	2,0 mg/L Ni
Nitrogênio amoniacal total	20,0 mg/L N
Prata total	0,1 mg/L Ag
Selênio total	0,30 mg/L Se
Sulfeto total	1,0 mg/L S
Zinco total	5,0 mg/L Zn

Fonte: CONAMA Nº 430/2011.

Além do potencial de contaminação dos resíduos industriais metálicos, são cada vez mais numerosas as contraindicações – ambientais e para a saúde humana – relacionadas ao uso de sais de metais para tratamento de águas residuais ou na produção de águas potáveis. Tem sido descrita a formação de subprodutos, como os trihalometanos, resultantes da associação do cloro com a matéria orgânica, bem como a liberação de contaminantes pela

lixiviação dos materiais das tubulações que podem danificar o aspecto estético ou econômico da água (Zhang et al., 2005).

Tabela 2. Padrões de Níveis Máximos de Contaminantes (NMC) para os metais pesados mais perigosos.

Metal Pesado	Toxicidades	NMC (mg/L)
Arsênico	Manifestações na pele, câncer visceral, doença vascular.	0,050
Cádmio	Enfisema pulmonar, doença renal, carcinógeno humano.	0,01
Cromo	Dor de cabeça, diarreia, náuseas, vômitos, carcinógeno.	0,05
Cobre	Danos no fígado, doença de Wilson, insônia.	0,25
Níquel	Dermatite, náusea, asma crônica, tosse, carcinógeno humano.	0.20
Zinco	Depressão, letargia, sinais neurológicos e aumento da sede.	0,80
Chumbo	Danifica o cérebro fetal, doenças dos rins, sistema circulatório e sistema nervoso.	0,006
Mercúrio	Artrite reumatóide, e doenças dos rins, sistema circulatório e sistema nervoso.	0,00003

Fonte: CONAMA Nº 430/2011

Alguns metais como o Cd, Hg e Pb são considerados não essenciais, uma vez que não desempenham função metabólica, enquanto que Cu, Fe, Mn, Mo, Zn, Ni e B são nutrientes essenciais para os sistemas vivos, como constituintes de moléculas orgânicas ou desempenhando funções específicas no metabolismo, indispensáveis ao normal desenvolvimento celular (Gadd, 1992, 1993, 2010).

No que diz respeito à toxicidade, tanto os elementos não essenciais, quanto os essenciais podem induzir o surgimento de efeitos tóxicos quando em níveis elevados. Tais elementos têm a propriedade de não serem degradados, o que resulta no aumento de sua concentração nos diferentes ambientes naturais, e em consequência nas cadeias tróficas.

Assim, os metais pesados estão entre os poluentes de maior relevância e preocupação no mundo atual (Hall, 2002; Gadd, 2010).

Em geral o nível da concentração dos metais no meio ambiente está associado à localização geográfica, sendo verificado o aumento do nível de toxicidade em locais próximos às atividades industriais e de mineração. Nestes locais, plantas e animais das proximidades podem absorvê-los e acumulá-los em seu organismo (bioacumulação), provocando graves intoxicações ao longo da cadeia alimentar (Callender, 2007; ATSDR, 2008; Jarup & Akesson, 2009; Simeonov et al., 2011). Dessa forma, a presença desses elementos em altas concentrações representa um grave risco ecológico.

A toxicidade dos metais depende de diversos fatores: natureza do metal, forma tóxica existente, biodisponibilidade, solubilidade, mobilidade, taxa de acumulação nos seres vivos, local de acumulação, posição do organismo na cadeia alimentar, entre outros. A sua biodisponibilidade está relacionada à sua associação com outras partículas, taxa de captação e eliminação. Já a sua toxicidade é o resultado entre os efeitos diretos, a níveis celulares e moleculares, e a capacidade adaptativa do organismo frente a este poluente (Gadd, 2010).

Vários processos físico-químicos são utilizados para a remoção de metais pesados, tais como precipitação química, eletrodialise, coagulação e floculação, ultrafiltração, osmose reversa e adsorção (Slater et al., 1983; Cartwright, 1985; Gopalratnam et al., 1988; Ghabris et al., 1989; Randtke, 1988; Williams et al., 1990; Fenglian & Wang, 2011). Ainda, podem ser citados os processos de cristalização, redução, troca iônica e eletrólise. Embora existam várias alternativas para a descontaminação de metais pesados, a maioria desses métodos são caros e exigem alto nível de especialização; portanto, eles não são aplicados por muitos usuários finais. Por razões de teses, a tecnologia de adsorção ganhou uma aplicação mais ampla devido ao baixo custo, simplicidade, versatilidade e robustez (Pollard et al., 1992; Satapathy et al., 2006; Lin et al., 2014). Outrossim, adsorventes de baixo custo derivados de subprodutos

agrícolas e resíduos sólidos industriais poderiam ser usados para remover resíduos recalcitrantes de água residuária sintética, bem como na adsorção de resíduos tóxicos de efluentes, sendo capazes de reduzir o custo de eliminação de resíduos (Wilson et al.; 2006; Wang et al, 2008; Yadanaparthi et al., 2009; Kwon et al., 2010; Gottipati et al., 2012).

A viabilidade técnica de vários adsorventes de baixo custo para remoção de metais pesados da água contaminada tem sido revista. Em vez de usar carvão ativado comercial, os pesquisadores trabalham com materiais de baixo custo, como a quitosana, zeólitas e outros adsorventes que têm alta capacidade de adsorção e estão disponíveis localmente (Reginatto et al., 2012).

1.5 PROCESSOS DE TRATAMENTO

Embora existam várias vias de poluição em corpos d'água, independente de sua qualidade, a água pode ser transformada em água potável, porém os custos envolvidos e a confiabilidade no tratamento e manutenção podem inviabilizar o uso de determinada água para o abastecimento. Os métodos de tratamento podem ser simples quanto à aplicação (Figura 4), utilizando processos físicos ou químicos que são destinados à eliminação de resíduos sólidos, mas quando o objetivo principal é a eliminação de uma substância tóxica, ou mesmo a sua degradação até uma forma inócua, tratamentos biológicos e processos oxidativos avançados têm sido explorados em seus potenciais de remoção (Alaton & Teksoy 2007; Zenaitis et al., 2002; Sahu & Chaudhari, 2013).

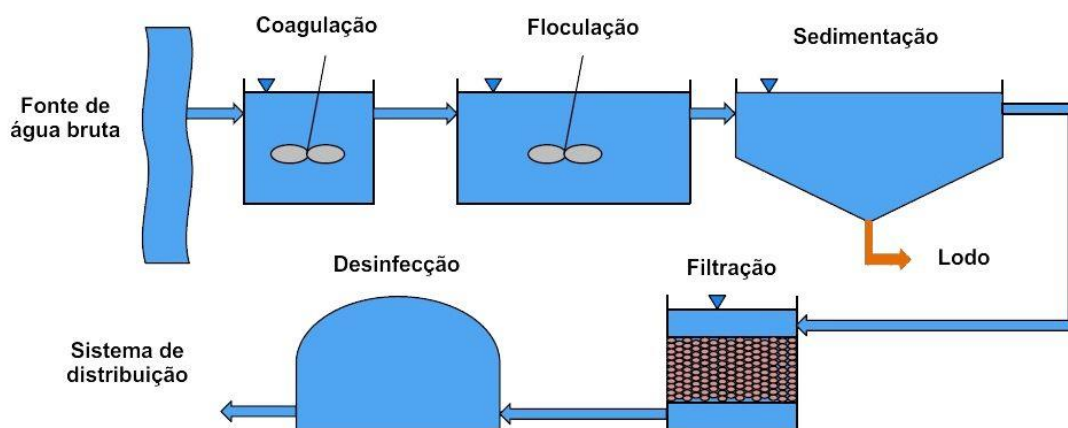


Figura 5. Processo de tratamento de água. Fonte: Próprio autor

1.5.1 Tratamento por processos biológicos

O tratamento biológico se fundamenta na oxidação por ação enzimática de micro-organismos através de processos bioquímicos que transformam compostos orgânicos tóxicos em CO_2 , H_2O e/ou CH_4 , com custos relativamente baixos, pois esse processo utiliza compostos presentes no efluente como substratos para o crescimento e manutenção dos micro-organismos que atuam no tratamento (Zanoni & Carneiro, 2000).

O desenvolvimento da biotecnologia tem propiciado alternativas diversas que viabilizam o tratamento biológico de efluentes. Esses processos vêm sendo estudados para o tratamento de resíduos oriundos de diversas indústrias visando a redução de cor e de substâncias tóxicas de efluentes na presença de diversas culturas microbianas (Chander et al., 2004). A aplicação de micro-organismos para biodegradação de xenobióticos é um atraente método de simples operação, cujos mecanismos biológicos geralmente são complexos (Ghazali et al., 2004).

1.5.2 Tratamento por processos físico-químicos

Os processos de tratamento físico-químicos geralmente abrangem etapas de coagulação, floculação, flotação e sedimentação. As estações de tratamento de efluentes (ETE), apresentam elevada eficiência na remoção de material particulado. O efluente tratado através desse processo pode ser reutilizado, proporcionando melhorias na relação custo-benefício, além das vantagens do reuso para o ambiente (Metcalf & Eddy, 2003; Sahu & Chaudhari, 2013).

Tratamentos físico-químicos são amplamente utilizados em despejos de lavanderias. Na atualidade, os sais de metais são alternativas que permitem a eliminação do material suspenso e coloidal do efluente, removendo a cor e a turbidez (Moraes et al., 2007; Matilainen et al., 2010). No entanto, todo o processo é dependente do pH do sistema, por isso, ácido sulfúrico, cloreto de cálcio e leite de cal são utilizados para ajustar o pH na presença de sulfato ferroso ou sulfato de alumínio (Durán et al., 2000; Zouhri et al., 2015).

1.5.2.1 Coagulação

O método de coagulação-floculação pode ser usado para remover diversos tipos de materiais orgânicos e inorgânicos: óleos, gorduras, fósforo, matérias em suspensão (MES), metais pesados, etc. Este processo é amplamente utilizado em estações de tratamento de água potável. O princípio da técnica de coagulação-floculação é baseado na desestabilização de partículas em suspensão através da injeção e da rápida dispersão de produtos químicos para promover a sua aglomeração e permitir a sua sedimentação (Waïs Mossa & Mazet, 1991; Sahu & Chaudhari, 2013).

Partículas suspensas são mais difíceis de remover da água, pois geralmente são muito pequenas, como partículas coloidais e sólidos dissolvidos. Estes colóides geralmente possuem carga elétrica negativa, o que impede que as partículas se aglomerem entre si para formar partículas maiores (flocos) para facilitar a sua remoção por sedimentação e filtração. O objetivo principal da coagulação é neutralizar as cargas destas partículas para promover a formação de um aglomerado, sendo os sais de ferro e alumínio mais utilizados nos processos de tratamento de água (Zouhri et al., 2015; SODIM, 2008).

a) Cloreto férrico e sulfato férrico

Os coagulantes iônicos de hidrólise primária utilizados no tratamento de água consistem em sais de alumínio e de ferro (Edzwald, 2011; Jarvis et al., 2012). O cloreto férrico, sulfato férrico, sulfato de alumínio estão comercialmente disponíveis nas formas líquida e sólida. As dosagens típicas de cloreto férrico variam de 5 a 150 mg/L de acordo com vários fatores, incluindo concentrações de matéria orgânica natural (MON) e qualidade da água bruta. Estudos anteriores mostraram que a faixa de pH ótima para coagulantes à base de ferro deve estar entre 5 e 8,5 (Amirtharajah, 1982; Barbot et al., 2008; Tolkou et al., 2013). Remoção de 80% de MON por sais de ferro foram alcançados a baixos valores de pH. No entanto, a determinação da faixa de pH e concentração ótima de coagulante depende, em última análise, das características da água bruta, e é diferente para cada fonte de água (Xu et al., 2004; Manzouri & Shon, 2011; Wang et al., 2014; Tolkou e Zouboulis, 2015).

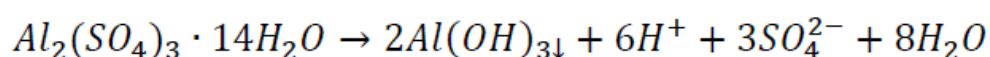
A química associada com as reações de sais de metais em água é complexa e pode formar muitas espécies de substâncias que podem ser afetadas pelo pH e temperatura (Sposito, 1996; Kan e Huang, 1998; Jarvis et al., 2012; Zhu et al., 2012). O uso de diagramas de solubilidade se faz necessário para ajudar a descrever as várias espécies de sais de metal

presentes na água na variação de pH. Esta informação é útil, pois ajuda a selecionar o tipo e a dosagem de coagulantes. Uma observação a partir de diagramas de solubilidade de coagulantes à base de ferro é que estes possuem um intervalo de pH mais amplo, onde a precipitação é suscetível de ocorrer, em comparação com a de alumínio (Marguti et al., 2008; Tolkou et al., 2013; Wang et al., 2014).

b) Sulfato de alumínio

Sulfato de alumínio é o coagulante mais comum no tratamento de água (Crittenden et al., 2005). Quando é adicionado à água, a reação de hidrólise forma um número de espécies de alumínio monoméricos dissolvidos e precipitados de hidróxido de alumínio (Constantino et al., 2002; Zhu et al., 2012).

A faixa de pH teoricamente adequada para a hidrólise do sulfato de alumínio é de 5,5 até 7,7. No pH ótimo, a solubilidade é mínima e a máxima quantidade de coagulante é convertida em partículas de flocos sólidos (Pernitsky & Edzwald, 2006). Os tipos de espécies de alumínio presentes na água são motivo de preocupação por causa das implicações que têm com a adsorção de MON. A remoção de MON tende a aumentar a valores de pH inferiores, onde espécies de alumínio altamente carregadas são predominantes. A equação a seguir, representa a reação global de sulfato de alumínio com a água (Tolkou et al., 2013).



As reações de hidrólise entre água e sais metálicos produzem íons de hidrogênio que diminuem o pH. Adicionalmente, coagulantes pré-hidrolisados à base de cloreto de alumínio, como hidroxícloreto de polialumínio (PACl) e cloridrato de alumínio (ACH) têm sido

produzidos graças à habilidade de neutralização de íons de hidrogênio (Crittenden et al., 2005; Zhu et al., 2012; Tolkou et al., 2013; Tolkou e Zouboulis, 2015).

Uma vez que o alumínio é adicionado no processo de tratamento de água, grande parte é removido numa fase posterior, o teor médio de alumínio na água tratada é apenas ligeiramente superior ao da água não tratada. Assim, a ingestão de alumínio na água potável está geralmente limitada a menos do que 5% da ingestão diária total para um adulto. No entanto, a exposição ao alumínio foi sugerida como uma possível causa de lesões cerebrais associadas à doença de Lou Gehrig Parkinson e à doença de Alzheimer porque as células do cérebro de doentes de Alzheimer pode conter de 10 a 30 vezes as concentrações normais de alumínio. (ECHA, 2010).

1.5.2.2 Decantação

A decantação tem o objetivo de utilizar a força da gravidade para a sedimentação da matéria floculada. Essa etapa é viabilizada após a floculação, quando os coágulos se tornam mais densos e estáveis, formando flocos. Estes flocos sedimentam e arrastam (além dos compostos poluentes) muitas bactérias. O período de permanência da água em um decantador deve ser superior ao tempo necessário para que a partícula caminhe desde a superfície até o fundo do tanque (Sperling, 2005; Cerqueira et al., 2014; Santos et al., 2016).

1.6 LECTINAS

A palavra lectina é derivada do latim – '*Legere*', que significa agarrar ou selecionar. Dessa forma, as lectinas são definidas como proteínas que se ligam seletiva e reversivelmente a carboidratos e são encontradas na maioria das plantas e em alguns animais. A estrutura

dessas proteínas é responsável pela diversidade proteica e as confere varias habilidades, sendo capazes de se ligar a mono, oligo e polissacarídeos e glicocornjugados, nas suas formas livres ou presentes em superfícies celulares (Lam & Ng, 2011; Ratanapo et al., 2001; Charungchitrak, 2011; Khan & Khan, 2011).

A presença de lectinas pode ser identificada através de ensaios de hemaglutinação (Figura 5), no qual a lectina se liga aos carboidratos da superfície celular de eritrócitos e promove a formação de uma rede entre eles. No entanto, a presença de lectinas apenas pode ser confirmada após testes de inibição da atividade hemaglutinante (AH) em presença de carboidratos livres em solução (Paiva et al., 2010). As lectinas apresentam uma ampla distribuição na natureza e têm sido isoladas de diversos sistemas vivos, como microorganismos, vertebrados, invertebrados e de diferentes partes de plantas (Berg et al., 2002; Vasta et al., 2004; Malagoli et al., 2010; Napoleão et al., 2011; Varrot et al., 2013; Lannoo & Van Damme, 2014).

A especificidade das lectinas permite que as mesmas sejam utilizadas como moléculas de adesão para medicamentos, como indutoras de apoptose, como moléculas de reconhecimento de tumores, ou em estudos citoquímicos e histoquímicos na detecção de resíduos glicosilados em superfícies teciduais de humanos e animais (Pedini et al., 2002; Lima et al., 2010; Fu et al., 2011; Lichtenstein & Rabinovich, 2013; Yabe et al., 2014; García-Vallejo et al., 2015). Adicionalmente, são capazes de estimular macrófagos, linfócitos e neutrófilos, exibem atividades antibacteriana, anti-inflamatória, antitumoral, antifúngica, inseticida, dentre outras, e estão envolvidas nos mecanismos de defesa das plantas e animais (Pajic et al., 2002; Santana et al., 2009; Fang et al., 2010; Melo et al., 2010; Ferreira et al., 2011; Napoleão et al., 2011).

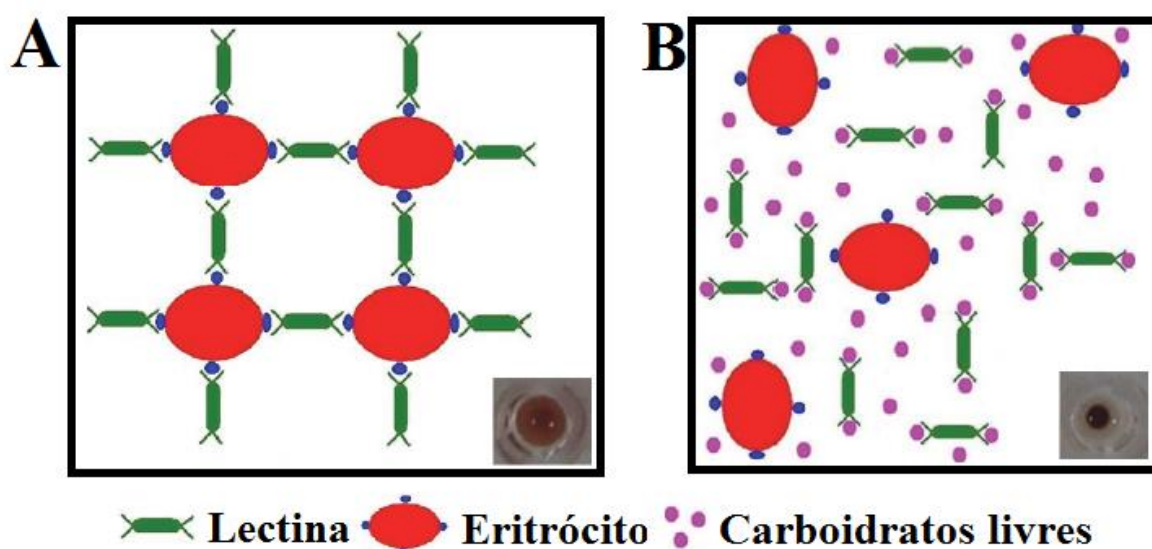


Figura 6. Atividade Hemaglutinante de lectina. (A) Representação esquemática da rede de eritrócitos formada pela ligação de lectinas aos carboidratos da superfície. (B) Inibição da atividade hemaglutinante pela adição de carboidratos livres. Fonte: Paiva et al. (2012).

1.7 MORINGA OLEIFERA

Moringa oleifera Lam pertence à família Moringaceae e é uma das espécies mais conhecidas mundialmente, sendo amplamente distribuída e naturalizada (Figura 6). A árvore varia entre 5-10 m de altura. Floresce melhor sob o clima insular tropical, e é abundante perto dos leitos arenosos de rios e córregos. Ela pode crescer bem nos trópicos úmidos ou terras quentes e secas, podendo sobreviver em solos carentes, e sendo pouco afetada pela escassez hídrica. Tolerar uma vasta gama de precipitação com requisitos mínimos de precipitação anual estimada em 250 mm e no máximo de 3.000 mm (Rangel, 1999; Moura, 2012).

M. oleifera é um importante produto alimentar que tem recebido enorme atenção como a "alimentação natural dos trópicos". As folhas, frutos, flores e vagens imaturas desta árvore são usadas como um vegetal altamente nutritivo em muitos países, particularmente na Índia, Paquistão, Filipinas, Havaí e muitas partes da África. As folhas de *M. oleifera* têm sido referidas como fonte rica de β -caroteno, proteínas, vitamina C, cálcio, potássio e, como uma

boa fonte de antioxidantes naturais – podendo aumentar a vida de alimentos de prateleira que contém gordura – devido à presença de vários tipos de compostos antioxidantes, tais como ácido ascórbico, flavonóides, compostos fenólicos e carotenóides. Nas Filipinas, é conhecida como "o melhor amigo da mãe" por causa de sua utilização para aumentar a produção de leite de mulher e é prescrita às vezes para anemia (Rangel, 1999; Nand et al., 2012; Rajanandh et al., 2012; Jaiswal et al., 2013).

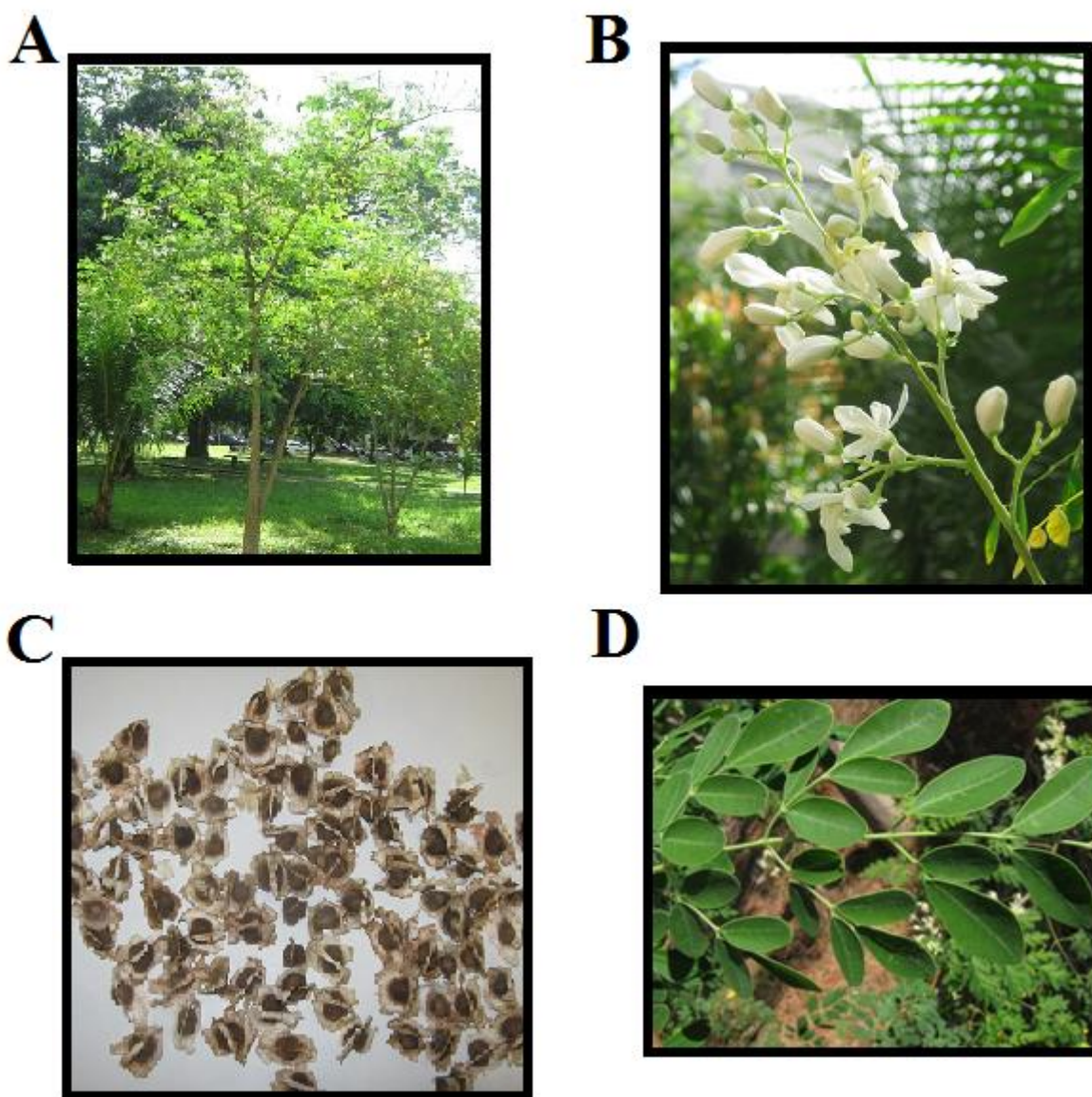


Figura 7. Aspectos de *M. oleifera*. A: Árvore; B: Flores; C: Sementes; D: Folhas. Fnte: Moura, 2012

Um número de propriedades medicinais (Tabela 3) tem sido atribuído a várias partes desta árvore. Quase todas as partes da planta: raiz, casca, goma, folha, fruto (vagem), flores,

sementes e óleo de semente são utilizados na medicina indígena do sul da Ásia, incluindo o tratamento de doenças inflamatórias e infecciosas, juntamente distúrbios cardiovasculares, gastrointestinais, hematológicos e hepatorreais (Anwar et al., 2007).

As sementes de moringa são consideradas antipiréticas, acres, amargas e são relatadas como agentes antimicrobianos. Uma propriedade singular dessas sementes é a presença de polipeptídeos que servem como coagulantes naturais para o tratamento da água. Estudos sugerem que sementes de *M. oleifera* podem ser usadas no tratamento industrial da água apenas após a purificação adequada das proteínas ativas, tornando a preparação mais segura e estável para o tratamento da água (Rangel, 1999; Nand et al., 2012).

O custo e os efeitos ambientais provocados pelos sais iônicos têm aumentado o interesse no uso de coagulantes orgânicos derivado de plantas, como as sementes de *M. oleifera*. Essa alternativa oferece vantagens em relação aos coagulantes inorgânicos ou polímeros orgânicos sintéticos que estão associados a processos patológicos em humanos. Adicionalmente, estes coagulantes produzem menos volume de lama comparado com água tratada com alumínio. A maior desvantagem no uso de *M. oleifera* para o tratamento da água é um significativo aumento no material orgânico, pois o extrato bruto produzido com sementes de *M. oleifera* pode desenvolver um forte odor devido à decomposição microbiana do material orgânico contido no extrato (Nand et al., 2012).

Tabela 3. Alguns usos medicinais comuns de diferentes partes da *Moringa oleifera*

Parte da planta	Usos medicinais	Referências
Raiz	Vesicante, carminativo, anti-fertilidade, anti-inflamatório, estimulante nas aflições paráliticas; tônico circulatório / cardíaco, laxante, abortiva, tratamento de reumatismo, inflamações, dores articulares, na parte inferior das costas ou dor nos rins e constipação;	The Wealth of India, 1962; Padmarao et al., 1996; Dahot, 1988; Ruckmani et al., 1998
Casca	Vesicante e usada para o tratamento de	

	doenças oculares e para o tratamento de pacientes delirantes, para impedir o alargamento do baço e a formação de glândulas tuberculosas do pescoço, para destruir tumores e para curar úlceras. O suco da casca da raiz é colocado no ouvido para aliviar dores e também colocado em uma cavidade do dente como um analgésico, e tem atividade anti-tuberculosa;	Bhatnagar et al., 1961; Siddhuraju and Becker, 2003
Goma	Usada para cárie, e é adstringente; misturada com óleo de gergelim, é usada para aliviar dores de cabeça, febres, problemas intestinais, asma e, por vezes, usado como abortivo, e para tratar a sífilis e reumatismo;	Fuglie, 2011
Flor	Estimulante de alto valor medicinal, afrodisíaco, abortivo; usado para curar inflamações, doenças musculares, histeria, tumores e aumento do baço; diminuir o colesterol sérico, fosfolipídios, triglicerídeos, VLDL, LDL colesterol à relação de fosfolipídios e índice aterogênico; diminuir perfil lipídico do fígado, coração e aorta de coelhos hipercolesterolémicos e aumento a excreção fecal de colesterol;	Nair and Subramanian, 1962; Bhattacharya et al., 1982; Dahot, 1998; Siddhuraju and Becker, 2003; Mehta et al., 2003
Semente	O extrato de semente exerce efeito hepatoprotetor, diminuindo os peróxidos lipídicos do fígado.	Faizi et al., 1998; Lalas and Tsaknis, 2002

Fonte: Anwar et al., 2007

1.7.1 Lectinas de sementes de *Moringa oleifera*

As sementes de *M. oleifera* possuem três diferentes lectinas identificadas:

a) WSMoL (do inglês *water-soluble M. oleifera lectin*) que foi identificada por Santos et al. (2005) em extratos aquosos de sementes de *M. oleifera*. Em seguida, o protocolo de isolamento desta lectina foi definido por Coelho et al. (2009) através da cromatografia de

coluna de quitina. WSMoL foi ativa em uma ampla faixa de pH (4,5 a 9,5), sendo caracterizada posteriormente como agente coagulante por Ferreira et al. (2011) que propuseram a utilização desta lectina em processos de tratamento de água; dentre as lectinas de moringa é a única inibida por frutose; apresenta atividades larvicida, ovicida e estimulante de oviposição contra *Aedes aegypti* (Coelho et al., 2009; Santos et al., 2012, 2014).

b) MoL (do inglês *M. oleifera* lectin), uma lectina catiônica formada por subunidades de 7,1 kDa unidas por ligação dissulfeto; foi isolada por cromatografia em DEAE-Celulose e CM-Sephadex por Katre et al. (2008). Sua atividade não foi alterada em extremos valores de pH e alta temperatura; a atividade hemaglutinante de MoL foi inibida pela adição de tiroglobulina, fetuina e holotransferina;

c) cMoL (do inglês *coagulant M. oleifera lectin*), uma lectina de natureza catiônica que constitui uma proteína monomérica com peso aproximado de 26,5 kDa. cMoL apresentou a propriedade coagulante e habilidade de se ligar a ácidos húmicos (Santos et al., 2009; 2011) e atividade inseticida contra operários *Nasutitermes corniger* e larvas e pupas de *Ephestia kuehniella* (Oliveira et al., 2011; Paiva et al., 2011). A atividade hemaglutinante de cMoL é inibida por vários carboidratos (glicose, rafinose, lactose, arabinose, trealose, ramnose e galactose). O procedimento do isolamento de cMoL foi definido por Santos et al. (2009) através de cromatografia de gel de guar. Essa lectina foi ativa entre pH 4,0 e 9,0.

1.8 Riacho Cavouco

O Riacho Cavouco (Figura 8) localiza-se nas coordenadas 8°2'52.05" latitude Sul e 34°57'10.33" longitude Oeste, tendo sua nascente ao lado do Colégio de Aplicação (CAp) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e após um percurso de aproximadamente

6000m, deságua num dos principais rios de Pernambuco: o Rio Capibaribe. No Campus da UFPE este riacho percorre um trecho que vai do Centro de Tecnologia e Geociências (CTG) até o Hospital das Clínicas (HC). Neste trecho que o riacho percorre na universidade, recebe um aporte de carga poluidora de esgoto doméstico oriundos da população circunvizinha ao Campus, bem como de substâncias tóxicas provenientes dos laboratórios de ensino e pesquisa e despejo hospitalar (Silva et al., 2001; Oliveira & Araújo, 2013).



Figura 8. Riacho Cavouco – “Laguinho do Colégio de Aplicação – UFPE”. Fonte: Próprio autor.

1.9 OBJETIVOS

1.9.1 Geral

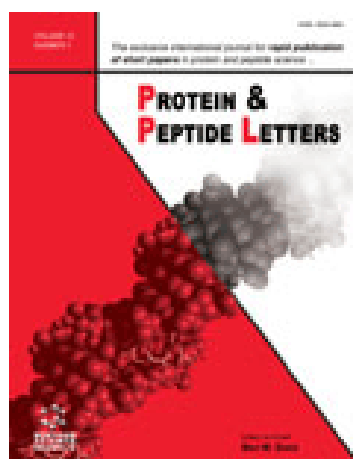
Investigar o potencial de WSMoL e sua associação com sulfato de alumínio na remoção de turbidez e metais contaminantes ou residuais presentes em água e a influência de íons metálicos nas atividades hemaglutinante e antibacteriana dessa lectina.

1.9.2 Específicos

- Isolar WSMoL seguindo procedimento previamente estabelecido;
- Determinar o potencial de WSMoL na remoção de metais previamente adicionados à água deionizada em diferentes concentrações;
- Avaliar as atividades hemaglutinante e antibacteriana de WSMoL antes e após a incubação com soluções de metais;
- Caracterizar diferentes amostras de água coletadas no Riacho Cavouco (campus da UFPE) quanto às propriedades físico-químicas, índices de qualidade e ecotoxicologia;
- Determinar o potencial de WSMoL na redução da turbidez de amostra de água do Riacho Cavouco, sendo aplicada isoladamente ou em conjunto com sulfato de alumínio;
- Avaliar a capacidade de WSMoL em reduzir a concentração de alumínio residual após utilização em conjunto com o sulfato de alumínio para tratamento de água do Riacho Cavouco;
- Avaliar toxicidade residual de amostras tratadas com sulfato alumínio e WSMoL em ensaios de ecotoxicologia.

2 EVALUATION OF *MORINGA OLEIFERA* SEED LECTIN AS A METAL REMOVER IN AQUEOUS SOLUTIONS

Publicado no periódico “Protein & Peptide Letters”



Fator de impacto: 1.039

Evaluation of *Moringa oleifera* seed lectin as a metal remover in aqueous solutions

José Henrique Edmilson Souza Freitas^{a,b}, Keissy Vanderley de Santana^b, Pollyanna Michelle da Silva^a, Maiara Celine de Moura^a, Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho^a, Aline Elesbão do Nascimento^b, Patrícia Maria Guedes Paiva^a, Thiago Henrique Napoleão^{a,*}

^a*Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brazil.*

^b*Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Biotecnologia, Universidade Católica de Pernambuco, 50050-590, Recife, Pernambuco, Brazil.*

*Corresponding author. Tel: +558121268540; fax: +558121268576.

E-mail address: thiagohn86@yahoo.com.br

Abstract

The efficacy of *Moringa oleifera* seed lectin (WSMoL) as a metal remover in water and the effects of metals on its hemagglutinating and antibacterial activities were determined. Aqueous metal solutions were incubated with WSMoL for 8 h at 4°C and the concentrations of metals were determined using atomic absorption spectroscopy. Hemagglutination and antibacterial assays were conducted with WSMoL and lectin exposed or not to the metals. The removal efficiency of WSMoL was 49.00%, 53.21%, 71.45%, 55.42%, 69.88%, 62.14%, and 49.36% for Cd^{+2} , Pb^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2} , Mg^{+2} , Mn^{+2} , and Al^{+3} , respectively. WSMoL showed bacteriostatic and bactericidal activities against *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. However, hemagglutinating and antibacterial activities were impaired after exposure to metals. In conclusion, WSMoL efficiently removed metals present in water but the interaction with metals impaired lectin carbohydrate-binding ability and antibacterial activity. This should be considered when properties of WSMoL other than metal removal are desired.

Keywords: lectin; *Moringa oleifera*; metal removal; antibacterial activity; hemagglutinating activity.

1. Introduction

Contamination with metals is a major environment-related health concern; metal contaminants may be of natural and anthropogenic origin, such as from the decomposition of mountains, industrial effluent leaks, and sewage runoff [1, 2]. The mobility of metal contaminants in solution correlates with the high contamination potential of them and high levels of metal residues in enclosed areas. In addition, metals have the capacity to biomagnify along the food chains [3].

Metal salts have been used in the treatment of wastewater or production of drinking water. However, there are increasing concerns regarding the use of metal salts owing to their contamination potential and several contraindications regarding human health, including the formation of potentially carcinogenic by-products such as trihalomethanes. Another issue is the release of metal contaminants from leaching of pipe materials, which can jeopardize the esthetic and economic aspects of water [4, 5].

Several chemical and physical processes, such as adsorption, crystallization, electrodialysis, electrolysis, ion exchange, precipitation, reduction, reverse osmosis, and ultrafiltration can generally remove metals. However, chemical and physical processes involving metal concentrations between 1 and 100mg/L are associated with drawbacks [6–8], such as incomplete metal removal, requirement of extensive reagents and energy, as well as generation of toxic byproducts and waste [3, 9].

Moringa oleifera Lam. is a plant widely used in the food, cosmetic, and pharmaceutical industries [10]. *M. oleifera* seeds have demonstrated coagulant property and have been effectively used to treat water for human consumption. The coagulant property of the seeds is attributed to the presence of organic polyelectrolytes, cationic proteins, and lectins [11–15]. The latter are carbohydrate-binding proteins that can agglutinate cells and precipitate glycoconjugates. The water-soluble *M. oleifera* lectin (WSMoL) is a chitin-

binding protein of anionic nature, and has demonstrated insecticidal activity against *Aedes aegypti* [16, 17], and antibacterial activity against pathogenic and corrosive bacteria [15, 18]. WSMoL has shown coagulant activity in a turbid water model, which was similar to that of aluminum sulfate, one of the most frequently used flocculating agents for water purification [15].

This study evaluated the effectiveness of WSMoL in removing metals from aqueous solutions and whether metals interfere with the carbohydrate-binding property (hemagglutinating activity) and antibacterial activity of WSMoL.

2. Materials and Methods

2.1. Plant material

Moringa oleifera seeds were collected from the campus of *Universidade Federal de Pernambuco* (8°02'58.0"S 34°56'48.2"W), Recife City, Brazil. The seeds were powdered using a blender and the flour was stored at -20°C. A voucher specimen was deposited under number 73,345 at the herbarium of the *Instituto Agronômico de Pernambuco* (Recife, Brazil). Seed collection was authorized by (number 36301) the *Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade* (ICMBio) of the Brazilian Ministry of Environment.

2.2. Isolation of WSMoL

WSMoL was isolated according to the method described by Coelho et al. [16]. The isolated lectin was dialyzed (4 h) against deionized water for use in the assays. Protein quantification was conducted according to the method of Lowry et al. [20] using a standard curve of bovine serum albumin (31.25 to 500 µg/mL).

2.3. Hemagglutinating activity

Carbohydrate-binding property of WSMoL was determined by evaluating its ability to agglutinate erythrocytes. The assays were performed in 96-well V-bottomed microplates. First, 50 μ L of 0.15 M NaCl was added to wells of a row. The sample (50 μ L) was added to the second well and serially diluted (two-fold) until the end of the row. Each well received 50 μ L of 2.5% (v/v) suspension of rabbit erythrocytes treated with glutaraldehyde [21]. Hemagglutinating activity was quantified as the reciprocal of the highest dilution of sample where full agglutination of erythrocytes was detected. Specific hemagglutinating activity was defined as the ratio between hemagglutinating activity and protein concentration (mg/mL).

2.4. Metal removal assay

Aqueous solutions (pH 6.0) containing 20 μ g/mL Mn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , or Cd^{2+} were prepared with deionized water. WSMoL (0.2 mg/mL) was added (2%, v/v) to flasks containing 5 mL of each solution and the assays were incubated for 8h at 4°C. Thereafter, the supernatant was separated by centrifugation (15,000 g for 5 min) and the concentration of metals ions was determined using a 932AA atomic absorption spectrometer (GBC Scientific Equipment, Australia).

The metal uptake (q), which corresponded to the amount of metal ions removed, and the removal efficiency (R%) were calculated using the following equations:

$$q = \frac{C_i - C_f}{m} V \quad (1)$$

$$R\% = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100 \quad (2)$$

where C_i and C_f are the initial and final concentrations (mg/mL) of the metal, respectively, m is the mass of WSMoL (mg) added to the assay and V is the volume of solution (mL) [22]. Activated charcoal 2% (w/v) was used as the positive control. Each assay was performed in triplicate.

2.5. Antibacterial activity

Antibacterial activity was determined against *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis MM 984, which were provided by the culture collection (WDCM 114) of the *Departamento de Antibióticos* of the *Universidade Federal de Pernambuco*. Stationary cultures were maintained in Mueller-Hinton Agar (MHA) and stored at 4°C. To determine the antibacterial activity, bacteria were cultured in Mueller-Hinton Broth (MHB) and incubated at 37°C overnight, under gentle shaking. The density of the cultures was adjusted turbidimetrically at a wavelength of 605 nm to 1.5×10^8 colony forming units (CFU) per ml (0.5 in McFarland scale).

Minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by using the microdilution broth assay. The tests were performed in 96-well microplates, which contained 80 µL of MHB in each well. WSMoL was serially diluted to obtain concentrations of 50, 100, 200, and 400 µg/mL. Next, the bacterial suspension was diluted to 2.5×10^6 CFU/mL in MHB and 20 µL of the dilution was added to each well. The 100% growth control well contained 80 µL of MHB and in distilled water (1:1) and 20 µL of diluted bacterial suspension. Chloramphenicol (Henrifarma) was used as the positive control and different concentrations (0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0, and 32.0 µg/mL) were evaluated. The assays were incubated at 37°C for 24 h. After this period, the absorbance was determined at 605 nm by using a spectrophotometer, model 550 (Bio Rad Laboratories, USA). The MIC was defined as the lowest concentration that inhibited $\geq 50\%$ of growth in comparison to the 100% growth control [23].

The minimum bactericidal concentration (MBC) was determined based on the results of the MIC determination assay. Inocula from the microplate wells and wells with 100% growth control were collected with sterile wooden rods and added to petri plates with MHA.

The plates were incubated at 37°C for 24 h, followed by subsequent CFU counting. MBC corresponded to the lowest concentration at which was not observed bacterial growth.

2.6. Effect of metal ions on the hemagglutinating and antibacterial activities of WSMoL

The assay was performed as described above. WSMoL (0.2 mg/mL) was incubated (2%, v/v) with 5 mL of 20 µg/mL solutions of Mn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , or Cd^{2+} for 8 h at 4°C. After this period, each solution was vortexed and the hemagglutinating and antibacterial activities were evaluated as described above.

2.7. Statistical analysis

The results were expressed as mean $\pm$ standard deviation. Analysis of variance was performed with the software R-3.2.2 (R Development Core Team).

3. Results and Discussion

The extensive use of *M. oleifera* seeds to treat water has resulted in several studies that investigated other effects of *M. oleifera* seeds, in addition to their ability to reduce water turbidity. WSMoL has previously demonstrated effects such as promoting the sedimentation of microorganisms present in water and acts as an insecticidal agent against mosquito *A. aegypti*, since their biological cycle includes aquatic stages [15, 16]. In this study, we investigated the property of WSMoL in removing metals from water as well as the effect of metals on lectin hemagglutinating and antibacterial activities.

WSMoL reduced the concentration of all metals, with metal uptake between 0.49 and 0.71 (Figure 1A), and removal efficiency between 49.0% and 71.45% (Figure 1B). Superior results were obtained for Mg^{2+} , Mn^{2+} and Cu^{2+} ions. During the metal removal process, the mechanism of adsorption to inorganic particles or materials involves the formation of bridges

between positively charged metal ions and the negative charge of the anionic adsorbent [24]. Since WSMoL is an anionic protein, it may interact with metal ions in a similar manner through negatively charged side chains of amino acids. The activated charcoal (positive control) showed removal potential higher or equal to 99.8% and metal uptake of 0.9 for all metals.

Natural compounds have been studied in several metal removal processes and have shown great metal biosorption potential. Malik et al. [25] investigated the sorptive potential of sunflower stem for Cr^{3+} , and reported a removal potential higher than 85%. Papaya wood has been evaluated for its metal removal ability and removal efficiency of 97.8, 94.9, and 66.8% for copper, cadmium, and zinc, respectively was reported [26]. Katsuya et al. [27] investigated the mechanism of coffee beans in the removal of metals and demonstrated that metals such as Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{2+} , and Cd^{2+} were adsorbed at low pH (3.0–5.0) and an ion exchange reaction between metal ions and coffee beans was responsible for the adsorption.

Nand et al. [28] studied the metal removal efficiency of seed flour from various plants, including *M. oleifera*. They reported that moringa seeds showed adsorption of 90%, 80%, 60%, and 50% for copper, lead, cadmium, and zinc, respectively. *M. oleifera* biomass was also effective in remove zinc ions from aqueous solutions at a biosorbent dosage of 0.5 g/L [29]. Meneghel et al. [30] reported that *M. oleifera* seed cake could be effective in removing metals from contaminated water. It has been suggested that this effect involves O–H bonds of the hydroxyl groups of carbohydrates, fatty acids, proteins, lignin, and cellulose; N–H bonds of amide groups of proteins; C–H bonds of alkane groups; and C–O bonds of amides, carboxylic groups, and phenols [30]. Santos et al. [31] demonstrated that WSMoL was easily solubilized, by soaking *M. oleifera* intact seeds in water, and therefore, WSMoL is most likely to be the active component associated with the metal removal property of seed flour. An important advantage of employing isolated WSMoL for metal removal instead of seed flour is

that a significantly lower amount of organic matter will be introduced into the system. Another advantage of WSMoL is that it could be simultaneously act as a coagulant, antibacterial, and insecticidal agent to reduce turbidity, and microbial contamination, and prevent the development of *A. aegypti* larvae, respectively.

However, it is known that the biological function of proteins could be altered in the presence of metal ions. Metals could exert different effects on the structure and stability of protein, thereby, modulating their activity positively or negatively (mainly heavy metals, which form complexes with proteins and cause denaturation and precipitation). In this sense, we evaluated whether the carbohydrate-binding ability and antibacterial activity of WSMoL would be affected in the presence of high concentration of metals ions. In the absence of metal ions, the WSMoL sample showed a specific hemagglutinating activity of 1,020. After incubation with the metals, the hemagglutinating activity reduced (Figure 1C) and Cu^{2+} ions promoted the highest inhibitory effect. It is interesting to note that the highest removal efficiency of WSMoL was detected for two of the metal ions that more reduced hemagglutinating activity (Cu^{2+} and Mn^{2+}) and the metals that were not removed as efficiently, were those that showed weaker inhibitory effect on agglutinating ability (Cd^{2+} and Al^{3+}).

In the study of Ferreira et al. [15], Mg^{2+} ions stimulated hemagglutinating activity of WSMoL at a higher concentration (20 mM) than that employed by us. However, in that study, no prior incubation period was reported, while in our study the lectin was exposed to metals for 8 h. During this period, metal ions may have interacted with lectin molecules, causing structural changes, blocking chemical groups important for carbohydrate binding, or formed insoluble complexes. Metals may react with proteins of functional groups, such as $-\text{OH}$, $-\text{COO}^-$, $-\text{SH}$, $-\text{S-S-}$, and $-\text{NH}_2$ [32].

Figure 2 shows the growth inhibition of the microorganisms after incubation with WSMoL. WSMoL inhibited the growth of *E. coli* and *S. enterica* serovar Enteritidis, with MIC of 50 and 200 µg/mL, respectively. The MBC were 200 µg/mL and 400 µg/mL for *E. coli* and *S. enterica* serovar Enteritidis, respectively. Chloramphenicol showed MIC and MBC of 1.0 and 8.0 µg/mL, respectively, for both *E. coli* and *S. enterica* serovar. Enteritidis. After the incubation period with metals, the antibacterial activity of the lectin against both species was not observed. Moura et al. [18] reported that the antibacterial effect of WSMoL was from inhibiting the growth of bacteria and damaging membrane integrity. The antibacterial mechanisms of lectins usually involve binding to teichuronic and teichoic acids, peptidoglycan, and lipopolysaccharide in the bacterial cell walls [33]. Our results indicate that the presence of metal ions reduced the antibacterial effects of WSMoL and may be partly attributed to the impairment of carbohydrate-binding property of the lectin when associated to the metals. It is important to consider this if WSMoL is used in water systems containing metal ions with other objective other than metal removal.

4. Conclusions

The results indicate that WSMoL can be used as an adsorption agent for the removal of metals, mainly magnesium and copper ions. However, after the exposure of WSMoL to metals, carbohydrate-binding ability and antibacterial activity were impaired, which should be taken in account in biotechnological applications of WSMoL.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq; 446902/2014-4) for research grants and fellowship (LCBBC and PMGP). We are also grateful to the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de*

Nível Superior (CAPES) and the *Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco* (FACEPE; APQ-0108-2.08/14; APQ-0318-2.08/13) for financial support. J.H.E.S. Freitas, P.M. Silva and M.C. Moura would like to thank FACEPE for graduate scholarships (IBPG-1197-2.08/13, IBPG-0467-2.08/14 and IBPG-0185-2.08/12, respectively).

References

- [1] El-Sorogya AS, Attiah A. Assessment of metal contamination in coastal sediments, seawaters and bivalves of the Mediterranean Sea coast, Egypt. *Mar Pollut Bull* 2015;101:867-871.
- [2] Ohar Z, Ostfeld A, Lahav O, Birnhack L. Modelling heavy metal contamination events in water distribution systems. *Procedia Eng* 2015;119:328–336.
- [3] Freitas JHES, Mahnke LC, Alves, MHME, Santana KV, Campos-Takaki GM, Nascimento AE. Evaluation of the potential biotechnological removal of the ion Cd(II) by *Rhizopus arrhizus* UCP 402. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 2015;4:157-166
- [4] Mani D, Kumar C. Biotechnological advances in bioremediation of heavy metals contaminated ecosystems: an overview with special reference to phytoremediation. *Int J Environ Sci Technol* 2014;11:843-872.
- [5] Fomina M, Gadd GM. Biosorption: current perspectives on concept, definition and application. *Bioresour Technol* 2014;160:3-14.
- [6] Kapoor A, Viraraghavan T. Fungal biosorption – an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review. *Bioresour Technol* 1995;53:195-206.
- [7] Sag Y, Kutsal T. Copper (II) and nickel (II) adsorption by *Rhizopus arrhizus* in batch stirred reactor in series. *Chem Eng J* 1995;58:265-273.

- [8] Souza JI, Schoenlein-Crusius IH, Pires-Zottarelli CLA, Schoenlein NC. Biossorção de cobre, manganês e cádmio por biomassas de *Saprolegnia subterranea* (Dissmann) R.L. Seym. e *Pythium torulosum* Coker & P. Patt. (Oomycetes). Acta Bot Bras 2008;22:217-223.
- [10] Santos AFS, Luz LA, Pontual EV, Napoleão TH, Paiva PMG, Coelho LCBB. *Moringa oleifera*: Resource management and multiuse life tree. Adv Res 2015;4:388-402.
- [11] Gassenschmidt U, Jany KD, Tauscher B, Nierbergall H. Isolation and characterization of a flocculating protein from *Moringa oleifera* Lam. Biochim Biophys Acta 1995;1243:477–481.
- [12] Ndabigengesere A, Narasiah KS, Talbot BG. Active agents and mechanism of coagulation of turbidwaters using *Moringa oleifera*. Water Res 1995;29:703–710.
- [13] Okuda T, Baes AU, Nishijima W, Okada M. Isolation and characterization of coagulant extracted from *Moringa oleifera* seed by salt solution. Water Res 2001;35:405-410.
- [14] Santos AFS, Luz LA, Argolo ACC, Teixeira JA, Paiva PMG, Coelho LCBB. Isolation of a seed coagulant *Moringa oleifera* lectin. Process Biochem 2009;44:504-508.
- [15] Ferreira RS, Napoleão TH, Santos AFS, Sá RA, Carneiro-da-Cunha MG, Morais MMC, Silva-Lucca RA, Oliva MLV, Coelho LCBB, Paiva PMG. Coagulant and antibacterial activities of the water-soluble seed lectin from *Moringa oleifera*. Lett Appl Microbiol 2001;53:186–192.
- [16] Coelho JS, Santos NDL, Napoleão TH, Gomes FS, Ferreira RS, Zingali RB, Coelho LCBB, Leite SP, Navarro DMAF, Paiva PMG. Effect of *Moringa oleifera* lectin on development and mortality of *Aedes aegypti* larvae. Chemosphere 2009;77:934-938.
- [17] Santos NDL, Moura KS, Napoleão TH, Santos GKN, Coelho LCBB, Navarro DMAF, Paiva PMG. Oviposition-stimulant and ovicidal activities of *Moringa oleifera* lectin on *Aedes aegypti*. PLoS ONE 2012;7:e0044840.

- [18] Moura MC, Napoleão TH, Coriolano MC, Paiva PMG, Figueiredo RCBQ, Coelho LCBB. Water-soluble *Moringa oleifera* lectin interferes with growth, survival and cell permeability of corrosive and pathogenic bacteria. J Appl Microbiol 2015;119:666-676.
- [19] Green AA, Hughes L. Protein fractionation on the basis of solubility in aqueous solution of salts and organic solvents. In: Colowick S, Kaplan N editors. Methods in Enzymology. New York: Academic Press; 1955. p. 67–90.
- [20] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 1951;193:265–275.
- [21] Bing DH, Weyand JGM, Stavitsky AB. Hemagglutination with aldehyde-fixed erythrocytes for assay of antigens and antibodies. Proc Soc Exp Biol Med 1967;124:1166-1170.
- [22] Göksungur, Y., Üren, S. and Güvenc, U. (2005) Biosorption of cadmium and lead ions by ethanol treated waste baker's yeast biomass. Bioresource Technology 96, 103-109.
- [23] Gudiña EJ, Rocha V, Teixeira JA, Rodrigues LR. Antimicrobial and antiadhesive properties of a biosurfactant isolated from *Lactobacillus paracasei* ssp. Paracasei A20. Lett Appl Microbiol 2010;50:419-424.
- [24] Da Silva JLBC, Pequeno OTBL, Rocha LKS, Araújo ECO, Marciel TAR, Barros AJM. Biossorção de metais pesados: Uma revisão. Revista Saúde e Ciência On Line 2014;3:137-149.
- [25] Malik UR, Hasany SM, Sabhani MS. Sorptive potential of sunflower stem for Cr (III) ions from aqueous solutions and its kinetic and thermodynamic profile. Talanta 2005;66:166-173
- [26] Saeed A, Akhtar MW, Iqbal M. Removal and recovery of heavy metals from aqueous solution using papaya wood as a new biosorbent. Sep Purif Technol 2005;45:25-31.

- [27] Katsuya K, Hoaki K, Sunada H, Prasad DR, Baba Y. Removal characteristics of metal ions using degreased coffee beans: Adsorption equilibrium of cadmium (II). *Bioresource Technology* 2007;98:2787-2791.
- [28] Nand V, Maata M, Koshy K, Sotheeswaran S. Water purification using *Moringa oleifera* and other locally available seeds in Fiji for heavy metal removal. *Int J Appl Sci Technol* 2012;2:125-129.
- [29] Bhatti HN, Mumtaz B, Hanif MA, Nadeem R. Removal of Zn(II) ions from aqueous solution using *Moringa oleifera* Lam. (horseradish tree) biomass. *Process Biochem* 2007;42:547-553.
- [30] Meneghel AP, Gonçalves Jr, AC, Strey L, Rubio F, Schwantes D, Casarin J. Biosorption and removal of chromium from water by using moringa seed cake (*Moringa oleifera* Lam.). *Química Nova* 2013;36:1104-1110.
- [31] Santos AFS, Argolo ACC, Coelho LCB, Paiva PMG. Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringa oleifera* seeds. *Water Res* 2005;39:975-980.
- [32] Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol* 2014;7:60–72.
- [33] Ratanapo S, Ngamjunyaporn W, Chulavatnatol M. Interaction of a mulberry leaf lectin with a phytopathogenic bacterium, *P. syringae* pv *mori*. *Plant Sci* 2001;160:739–744.

Figure captions

Figure 1. Interaction of WSMoL with metal ions. Metal uptake (A) and removal efficiency (B) of WSMoL after incubation with metal solutions for 8 h at 4°C. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between the treatments. The hemagglutinating activity of WSMoL was determined after exposure to metals (C).

Figure 2. Inhibition of the growth of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis with different concentrations of WSMoL.

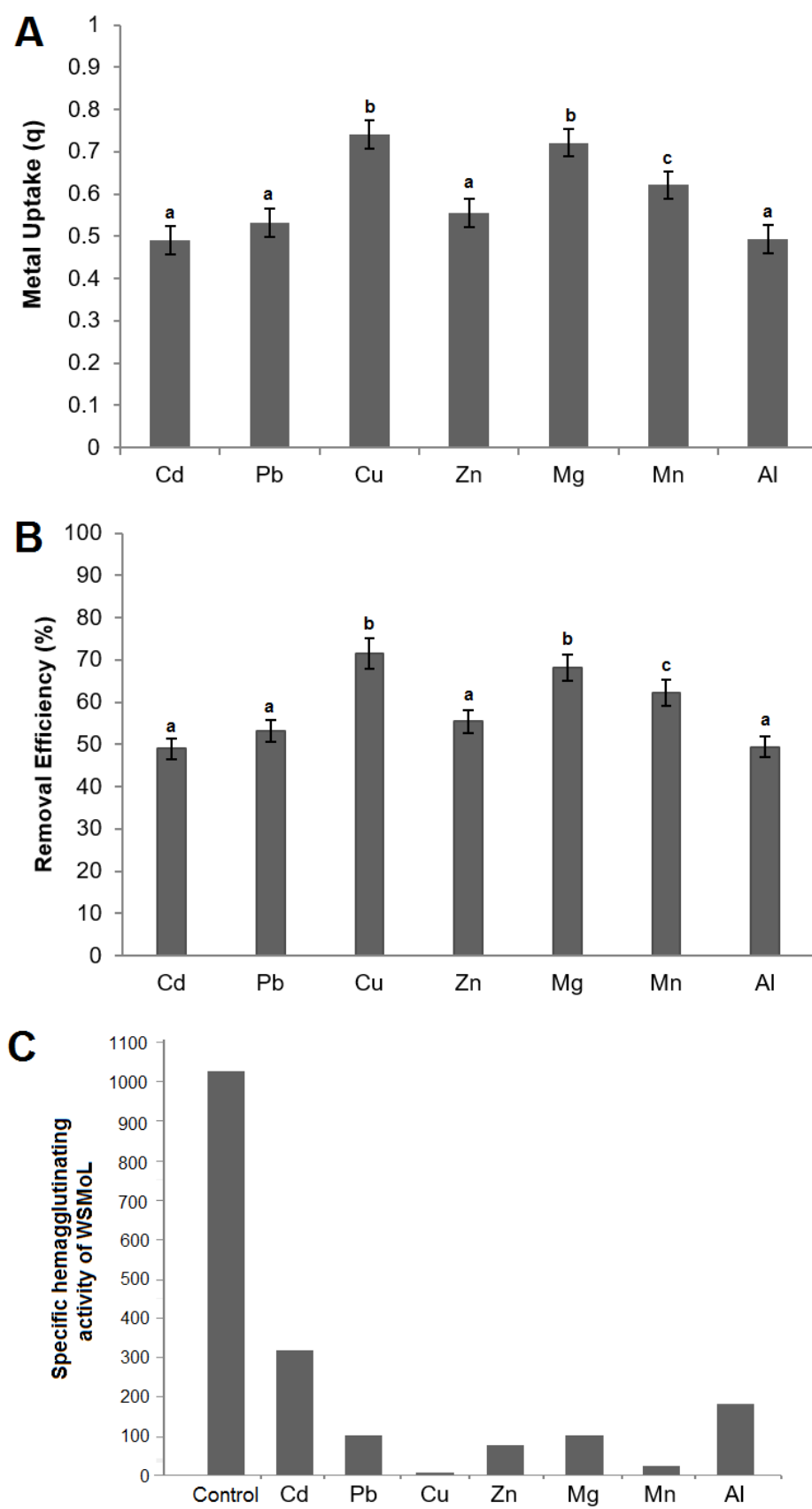
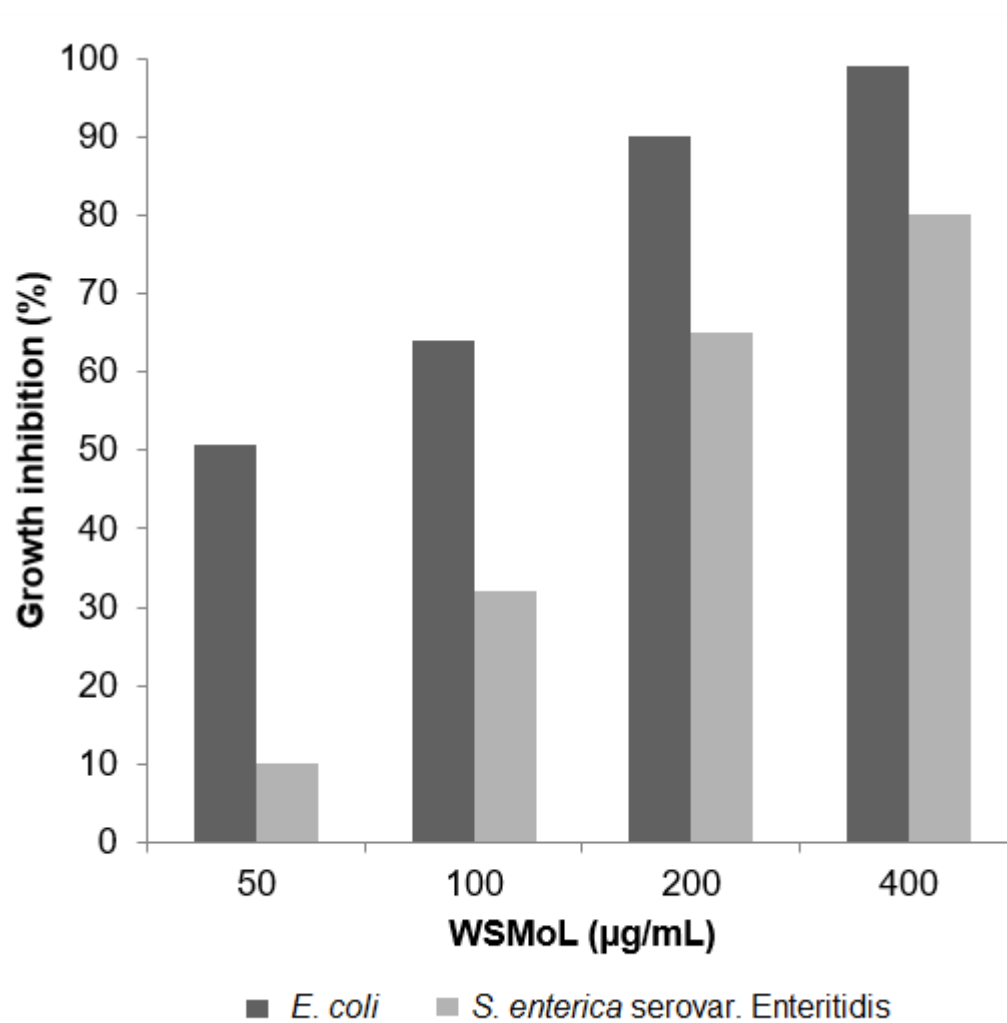
Figure 1

Figure 2.



**3 EVALUATION OF USING ALUMINUM SULPHATE AND WATER-SOLUBLE
MORINGA OLEIFERA SEED LECTIN TO REDUCE TURBIDITY AND TOXICITY
OF POLLUTED STREAM WATER**

Publicado no periódico “Chemosphere”



Volume 212, December 2018

ISSN 0045-6535

Chemosphere



Fator de impacto: 4.427

Evaluation of using aluminum sulphate and water-soluble *Moringa oleifera* seed lectin to reduce turbidity and toxicity of polluted stream water

José Henrique Edmilson Souza Freitas^{a,b}, Keissy Vanderley de Santana^b, Ana Cláudia Claudina do Nascimento^b, Sérgio Carvalho de Paiva^c, Maiara Celine de Moura^a, Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho^a, Patrícia Maria Guedes Paiva^a, Aline Elesbão do Nascimento^b, Thiago Henrique Napoleão^{a,*}

^a*Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brazil.*

^b*Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais e Biotecnologia, Universidade Católica de Pernambuco, 50050-590, Recife, Pernambuco, Brazil.*

^c*Laboratório de Análises Químicas, Universidade Católica de Pernambuco, 50050-590, Recife, Pernambuco, Brazil.*

*Corresponding author. Tel: +558121268540; fax: +558121268576.

E-mail address: thiagohn86@yahoo.com.br

Abstract

The coagulation-flocculation method is used to remove many types of organic and inorganic materials from water. Aluminum salts are broadly used as coagulants but the exposition to residual aluminum used in water treatment has been associated with brain lesions. The water-soluble *Moringa oleifera* lectin (WSMoL) has coagulant activity and is able to reduce the concentration of metal ions in aqueous solutions, including aluminum. This work evaluated the potential of treatments using aluminum sulphate and WSMoL in reduce the turbidity and toxicity of water from Cavouco stream (Recife city, Pernambuco, Brazil). The water sample used was that collected from stream source, since it was found to be the most polluted by physicochemical and quality analysis as well as ecotoxicity assays using *Artemia salina* and seeds of *Eruca sativa* and *Lactuca sativa*. The treatments combining WSMoL and aluminum sulphate were more efficient than those using these agents separately. Furthermore, the best result was obtained using aluminum sulphate followed by WSMoL (96.8% reduction in turbidity) than when they were applied simultaneously (91.3%). In addition, the use of aluminum sulphate plus WSMoL resulted in residual aluminum concentration (0.3 and 8.3 mg/L) very lower than in treatment using only the coagulant salt (35.5 mg/L). The ecotoxicity of P1 was also strongly reduced after the treatments. In summary, the combined use of the aluminum sulphate and WSMoL was efficient in promote strong reduction of turbidity and ecotoxicity of a polluted water sample from Cavouco stream, without result in a high residual aluminum concentration at the end of treatment.

Keywords: water quality; ecotoxicology; lectin; aluminum sulphate; water treatment.

1. Introduction

The release of large amounts of waste inadequately treated or even without treatment have multiple environmental impacts on aquatic ecosystems (Costa et al., 2008; Frinhani and Carvalho, 2010; Orias & Perrodin, 2013; Yagub et al., 2014). This usually implies in increase of the biological oxygen demand, leading to exhaustion of dissolved O₂, death of aerobic bacteria and thus disturbance of the entire aquatic ecosystem. Also, it can be observed changes in pH, the formation of suspended solids (that can harm the fish gills and cause asphyxiation) as well as the adherence of toxic substances (like heavy metals and pesticides) to the suspended particles (Schueler, 2000; Burton Jr. and Pitt, 2001; EPA, 2005; Ghaly et al., 2014; Dasgupta et al., 2015).

The environmental monitoring of water bodies was based for years on chemical analysis that quantify pollutant concentrations. However, only a chemical characterization is not enough to determine the quality of water and the degree of danger that it offers to plants and animals. The contaminants may suffer biotransformations resulting in more or less toxic forms that can migrate to the sediment and through food web (Espíndola et al., 2003; Zagatto and Bertoletti, 2006; Hwang et al., 2009). In this sense, studies are also conducted today to assess the toxicity of waters. Usually, it is not always possible to identify acute and chronic toxicity of water from large bodies even though this environment is already strongly affected by pollution. Thus, ecotoxicological studies are important parameters to characterize the ability of an environment to accumulate pollutants (Borrely et al., 2002; CETESB, 2007; Hwang et al., 2009).

The Cavouco stream is located at Recife city, Pernambuco, Brazil, and its source (8°2'52"S 34°57'10"W) is situated in the Campus of the *Universidade Federal de Pernambuco* (UFPE). According to Araújo and Oliveira (2013), the stream stretch that runs within the

university receives a pollution load of chemical waste resulting from the activity of research laboratories as well as the effluents from a hospital and domestic waste dumped by the surrounding population.

The coagulation-flocculation method is used to remove many types of organic and inorganic materials as oils, fats, metals, phosphorus and matter in suspension. This process is widely used in water treatment and some of the coagulants most used are aluminum or iron salts. The aluminum ion has a strong capability of complexation with organic molecules and neutralization of particle charges, promoting the formation of aggregates (Zouhri et al., 2015). However, the exposition to residual aluminum used in water treatment has been associated with the development of brain lesions in humans (Manivannan et al., 2015; Chen et al., 2016). The EPA (Environmental Protection Agency) has recommended a Secondary Maximum Contaminant Level (SMCL) of 0.05–0.2 mg/L of aluminum in drinking water. The FDA (Food and Drug Administration) has determined a limit for bottled water of 0.2 mg/L of aluminum (ATSDR, 2008).

Moringa oleifera Lam. is a plant used in various biotechnological fields, being applied in pharmaceutical, cosmetic and food industries, for example (Santos et al., 2015). The *M. oleifera* seeds have been popularly used to treat water, including for human consumption, and studies have confirmed their coagulant power. This property is attributed to the presence of organic polyelectrolyte, cationic proteins, and lectins (carbohydrate-binding proteins) (Gassenchmidt et al., 1995; Ndabigengesere et al., 1995; Okuda et al., 2001; Santos et al., 2009; Ferreira et al., 2011).

The water-soluble *M. oleifera* lectin (WSMoL) is a chitin-binding protein that demonstrated antibacterial and insecticidal activities (Coelho et al., 2009; Santos et al., 2012; Moura et al., 2015). The coagulant property of WSMoL was showed in turbid water model using kaolin and was linked to the anionic nature of this protein (Ferreira et al., 2011).

Another study showed that WSMoL was able to reduce the concentration of several metal ions in aqueous solutions, including aluminum, whose concentration decreased in 49.4% after treatment with this lectin (Freitas et al., submitted).

In this work, we investigated the efficacy of using aluminum sulphate and WSMoL in treatment of water sample from Cavouco stream employing these coagulant agents separated or together. In addition, it was investigated whether the use of WSMoL would be able to reduce the residual aluminum concentration in treated water. In order to choose the water sample to be treated, we collected samples at different points of Cavouco stream and submitted them to a screening of water quality and ecotoxicological assays. The most impacted and toxic sample was used in the assays of water treatment with WSMoL and/or aluminum sulphate as coagulant agents.

2. Materials and Methods

2.1. Collection of water samples from Cavouco stream

Water samples were collected in October 2015 at five points of Cavouco stream as described by Araújo and Oliveira (2013). All these points are located within the Campus of UFPE and were named P1, P2, P3, P4 and P5 (Figure 1), being numerated according to the course of the stream, with P1 corresponding to the stream source. The samples were taken at an average depth of about 10 cm from the surface. The collected samples were stored in PET bottles (2 L) and immediately forwarded to the laboratory, where the materials were stored at 4°C.

2.2. Plant material

Seeds of *M. oleifera* were collected at the Campus of UFPE, with authorization (36301) of the *Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade* (ICMBio) of the Brazilian Ministry of Environment. A voucher specimen is deposited (73,345) at the herbarium *Dárdano de Andrade Lima* of the *Instituto Agrônomo de Pernambuco* (Recife, Brazil). The seeds were powdered using a blender and the flour was stored at -20°C.

2.3. Physicochemical and quality analysis of water samples

Physicochemical parameters (turbidity, conductivity, total dissolved solids, pH, ammonia, nitrite, nitrate, apparent color, acidity, magnesium, sodium, potassium, chloride, calcium, dissolved oxygen, aluminum, cadmium, lead, copper, and zinc) were determined according to the methodologies described in the 21st edition of *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (2005). The metals concentrations were determined using a 932AA atomic absorption spectrometer (GBC Scientific Equipment, Australia), the pH was measured with a potentiometer Orion (model 310) and the others parameters were determined using a *Hanna HI 9828* Multiparameter Meter device for water quality. The results of the analysis were compared with the ceilings established for water bodies by the resolution number 357 (17 March 2005) of the *Conselho Nacional do Meio Ambiente*, a Brazilian regulatory agency.

Additionally, the subjective water quality index (WQI_{sub}) and the minimal water quality index (WQI_{min}) were calculated as follows:

$$WQI_{sub} = k \frac{\sum_i C_i \times P_i}{\sum_i P_i} \quad (1)$$

where k is a subjective constant that represents the visual impression of river contamination (as could be evaluated by an untrained person in environmental issues) regarding 25

parameters; C_i is the value assigned to each parameter after normalization; P_i is the relative weight assigned to each parameter. The normalization factors and relative weights are described by Fernandez-Vitora (1995). The k value may take the following values: 1.00 for water without apparent contamination (clear or with natural suspended solids); 0.75 for slightly contaminated water (apparently), indicated by slight non-natural color, foam and/or slight turbidity resulting from no natural reasons; 0.50 for contaminated water (apparently), indicated by non-natural color, slight to moderate odor, high turbidity (no natural), presence of suspended organic solids, etc.; 0.25 for highly contaminated water (apparently), indicated by blackish color, hard odor, and visible fermentation, among other features. This index corresponds to a number in a scale of 0 to 100 and is represented as the mean of the values attributed to each parameter.

$$WQI_{min} = \frac{C_{DO} + C_{cond} + C_{turb}}{3} \quad (2)$$

where C_{DO} is the value of dissolved oxygen after normalization; C_{cond} is the value of either conductivity or total dissolved solids after normalization; and C_{turb} is the value of turbidity after normalization.

2.4. Ecotoxicological assays

2.4.1. Phytotoxicity

The toxicity of water samples from Cavouco stream was evaluated using *Eruca sativa* (arugula) and *Lactuca sativa* (lettuce) seeds (both acquired by buying packages distributed by Isla Pak Ltda. containing 0.25 g of seeds) according to the methodology described by Tiquia et al. (1996). Mineral water was used as negative control and a solution of potassium dichromate (1%, w/v) was used as positive control. Each assay corresponding to a Petri dish

where ten seeds were placed on a filter paper soaked with 2 mL of the sample. The plates were wrapped with plastic to prevent evaporation and incubated for 72 h at $20\pm 2^{\circ}\text{C}$. After this period, it was counted the number of germinated seeds in each plate as well as the length of the seedling radicle. The assays were only considered valid when germination was higher or equal to 90% in the negative control. The relative growth index (RGI) and the germination index (GI) were calculated according to the following equations:

$$RGI = \frac{RLS}{RLC} \quad (3)$$

$$GI = \frac{GSS}{GSC} \times 100 \quad (4)$$

where RLS is the radicle length in the sample treatment; RLC is the radicle length in the negative control; GSS is the number of germinated seeds in the samples; and GSC is the number of germinated seeds in the negative control.

2.4.2. Toxicity to *Artemia salina*

Toxicity to *Artemia salina* was determined according to method described by Sales et al. (2012) with modifications. *Artemia* cysts (acquired by buying a package distributed by Maramar Pet Ltda. containing 250 g of cysts) were incubated for 24 h at $25\text{--}28^{\circ}\text{C}$ in synthetic seawater (salt concentration: 38 g/L) with aeration and constant illumination (1000 lux). The assays were performed in 24-wellplates. After hatching, 10 larvae were transferred to each well and incubated with 100 μL of a Cavouco water sample plus 3.5 mL of synthetic seawater for 24 h at 25°C in the absence of light. Aluminum chloride (1%, w/v) and synthetic seawater were used as positive and negative controls, respectively. After incubation, the number of dead larvae was counted. Larvae were considered dead when they did not exhibit any movement for 10 s of observation. For each sample, two independent assays were performed in triplicate.

2.5. Isolation of WSMoL

WSMoL was isolated according to the method described by Coelho et al. (2009). Ten grams of seed flour were homogenized with 100 mL of distilled water for 16 h at 25°C using a magnetic stirrer. Next, the mixture was passed through filter paper and the filtrate was centrifuged (3,000 *g* for 15 min). The supernatant corresponded to the extract and was then treated with ammonium sulfate at 60% saturation (Green and Hughes, 1955) for 4 h at 25°C. After centrifugation (9,000 *g*, 15 min at 4°C) the precipitate fraction was collected and dialyzed against distilled water (4 h) and 0.15 M NaCl (4 h). The dialyzed fraction was loaded onto a chitin column (7.5 × 1.5 cm) that was previously equilibrated with 0.15 M NaCl at a flow rate of 20 mL/h. The adsorbed protein (WSMoL) was eluted with 1.0 M acetic acid and exhaustively dialyzed against distilled water (6 h) for eluent elimination. Protein concentration was determined according to the method of Lowry et al. (1951) using a standard curve of bovine serum albumin (31.25 to 500 µg/mL).

2.6. Treatment of Cavouco stream water

After the previous tests with the water samples, P1 was characterized as a sample with low quality and caused ecotoxicological effects against the biological indicators tested. Then, this sample was used for the treatments using aluminum sulphate and WSMoL, separated or together. Four treatments were conducted, described as follows: **(I)** aluminum sulphate was added to P1 (1 L) to a final concentration of 2% (w/v) and the assay was incubated for 2 h; **(II)** P1 (1 L) was incubated with WSMoL (final concentration of 0.2 mg/mL) for 2 h; **(III)** aluminum sulphate was added to P1 (1 L) to a final concentration of 2% (w/v) and, after 2 h

of incubation, WSMoL was added (final concentration: 0.2 mg/mL) and the assay was incubated for another 2 h; **(IV)** aluminum sulphate and WSMoL (at the same concentrations used in the other treatments) were added simultaneously to water and incubated for 2 h. The incubation with aluminum sulphate was considered for aluminum sedimentation at 2 cm/min as suggested by Pavanelli (2001). After each treatment, the pH and turbidity were determined as described in section 2.3 and the residual aluminum concentration was determined using a 932AA atomic absorption spectrometer (GBC Scientific Equipment, Australia). The samples were also evaluated for ecotoxicity according to section 2.4. The reduction of turbidity was monitored and calculated as a percentage rate based on the following equation proposed by Lefebvre and Legube (1990):

$$\%Reduction = \frac{C_i(x) - C_f(x)}{C_f} \times 100 \quad (5)$$

Where C_i is the initial turbidity in the raw water and C_f is the final turbidity in treated water.

2.7. Statistical analysis

The results were expressed as mean $\pm$ standard deviation. Analysis of variance was performed with the software R-3.2.2 (R Development Core Team). Significant differences between treatment groups were analyzed using Tukey's test (significance at $p < 0.05$), using the Action 2.8.29.357.515 software.

3. Results and discussion

Based on previous studies that have demonstrated the coagulant activity of WSMoL and its ability to decrease the concentration of metal ions in aqueous solutions, we

investigated the potential benefits of using this lectin to treat polluted ambient water alone or together with aluminum sulphate.

A previous study conducted by Araújo and Oliveira (2013) identified a significant pollution charge along all the stretch of the Cavouco stream within the UFPE campus. Then, we choose this stream as place of study and collected water samples in the five points described above. The water samples were first characterized for physicochemical characteristics (Table 1). The comparative analysis of the results with the parameters described by the CONAMA resolution revealed that P1 and P5 samples had characteristics of water bodies of the class IV (water that may be used for navigation and landscaping); P2 fits as a waterbody class III (water that may be used for human consumption, after conventional or advanced treatment; irrigation of tree crops, cereals and forage; recreational fishing; secondary contact recreation; and watering livestock); and P3 and P4 can be classified as waterbodies class II (water that may be used for protection of aquatic communities; primary contact recreation such as swimming, water skiing and diving; irrigation of vegetables, fruit trees and parks, gardens, with which the public might have direct contact; and aquaculture and fishing activity). In according to this same resolution, the pH of all samples was adequate for aquatic species and the turbidity values were below of the standard of 100 NTU (Table 1).

The use of water quality indices is a simple practice that allows to assess changes in the quality and to identify water trends. These indexes have been used because they are easy to understand, being an index value of 100 corresponding to clean water while very contaminated water receives a zero value. In addition, they allow to analyze together 25 Environmental Performance Indicators (EPI) (Lumb et al., 2011; Nayyeri and Zandi, 2015). The sample from P1 had the lower quality indexes being WQI_{sub} 41.05% and WQI_{min} 53.33%. The WQI_{sub} values for P2, P3, P4 and P5 were 70.57%, 55.78%, 97.89% and 89.47%, respectively. Also, P2, P3, P4 and P5 showed WQI_{min} of 90.00%, 93.33%, 86.66% and

73.33%, respectively. The WQI values allowed classifying the samples according to their quality (Nayyeri & Zandi, 2015). P1 was considered a sample with rather bad quality, the samples P2, P3 and P5 were considered of middle quality while P4 is a sample with good quality. Thus, the classification based on the WQI mathematical model was similar to that obtained according to the CONAMA resolution.

Phytotoxicity is often associated to substantial economic or ecological damages (Yan et al., 2015; Rout et al., 2001) or alterations in ecosystem with natural or anthropogenic origin (Azevedo and Rodriguez, 2012). The most general symptoms are stunting, curling of young leaves, death of leaf tip, chlorosis, inhibition of root growth and indication of calcium and phosphorous deficiency (Rout et al., 2001; Azevedo and Rodriguez, 2012). The results of the phytotoxicity assays are shown in Figure 2 and indicate that there were significant differences ($p < 0.05$) between the indexes obtained for the negative controls and treatments with all the water samples. The germination index (Figure 2A) of *L. sativa* seeds was not higher than 50% in any treatment being P1 the most toxic sample. On the other hand, the germination of *E. sativa* seeds was mainly affected only by P1 and P2, with indexes lower than 60%, while in the treatments with P3, P4 and P5 the indexes were near to 90%. In regard to the seedlings growth (Figure 2B), the relative growth indexes of *L. sativa* seedlings were considerably reduced in treatments with all samples while *E. sativa* growth rate was not significantly ($p > 0.05$) different from negative control only in treatment with P5. Additionally, the incubation with Cavouco water samples resulted in changes in the morphology of seedlings, such as alterations in arrangement of the radicle and color of the leaves (Figure 2C), which was mainly observed in treatment with P1, and, is important to point that *E. sativa* is an important marginal crop grown on soil with reduced fertility and is preferred over other relative species for its tolerance and adaptability to unfavorable environmental conditions and *L. sativa* is a specie with high sensibility (Zhi et al., 2015).

The results from *A. salina* toxicity assays are shown in Figure 3 and reveal that P3 caused the lower mortality percentage (40%) while P1 was the most toxic sample, causing the death of 80% of the larvae. The *A. salina* toxicity assay is cheap, simple, and reliable, with great reproducibility, being routinely used for toxicity screening, industrial monitoring requirements or for regulatory purposes (Lu et al., 2012; Ates et al., 2013; Pretti et al., 2014). According to the results, the toxicity of samples varied according to water quality, being the *A. salina* exposure trial a bioassay adequate for determination of Cavouco water toxicity.

According to the data obtained, P1 sample was the most impacted from both physicochemical and toxicological standpoints. Araújo and Oliveira (2013) monitored the quality of the Cavouco stream water at rainy (June) and dry (December) seasons and found that P1 samples presented concentrations of iron and lead higher than the allowed values; the authors classified the water from P1 as of regular quality. Also according to them, P5 water was among the most impacted being classified as of poor quality. In our work, the sample from P5 was also considered of class IV (most impacted), similarly to P1. However, the sample from P5 showed WQI_{sub} and WQI_{min} much higher than P1 as well as lower toxicity. Thus, the water sample from P1 was chosen for treatments with aluminum sulphate plus WSMoL.

Table 2 shows physicochemical characteristics of the samples from P1 before and after the four different treatments employed: (I) aluminum sulphate; (II) WSMoL; (III) aluminum sulphate followed by WSMoL; (IV) simultaneous application of aluminum sulphate and WSMoL. The treated samples were analyzed directly after the treatment (following decantation) and after a filtration step. In all treatments, there was high reduction of turbidity, which ranged from 64.16% to 96.8% after the filtration step. The treatment using only WSMoL (II) promoted a lower turbidity reduction than that using only aluminum sulphate (I). However, a high residual aluminum concentration was detected after the treatment I.

Interestingly, when the water was treated with aluminum sulphate followed by WSMoL, the turbidity reduction was very higher than in both treatments using these coagulant agents separated as well as the residual aluminum concentration was strongly lower (118 times) than in treatment I. The simultaneous application of aluminum sulphate and WSMoL was also able to promoted high reduction in turbidity and residual aluminum concentration but was less efficient than the treatment III. It was also noticed that the pH suffered only little decrease after all the treatments.

The turbidity represents the degree of interference of suspended solids with the passage of light through the water, giving a turbid appearance. The turbidity is mainly originated from particulate materials such as clay, rock fragments and domestic and industrial sewage that include heavy metals (Vaz et al., 2010). Our results show that WSMoL is able to reduce turbidity from ambient water and remove aluminum ions after the water treatment, confirming the previous reports on the coagulant potential and the ability to remove metals of WSMoL demonstrated using laboratory models (Ferreira et al., 2011; Freitas et al., submitted). A possible explanation for the different results obtained with treatments III and IV is that, when used simultaneously, WSMoL interacts with both suspended particles and aluminum ions and then the turbidity reduction capacity of the coagulants are partially affected. On the other hand, when applied in sequence, the full potential of aluminum sulphate in reduce the turbidity can be tapped and the lectin is able to remove a higher amount of aluminum ions because there is a lower amount of suspended solids that will interact with it.

Several studies comparing the coagulation potential of aluminum sulphate and *M. oleifera* seeds were made. For example, Vaz et al. (2010) showed that *M. oleifera* seeds at 200 ppm reduced color and turbidity in 90.30% and 92.90% respectively, while aluminum sulphate showed highest values for color (98.13%) and turbidity (98.78%) removal at a

concentration of 40 ppm. Although the use *M. oleifera* seeds can reach results near to those obtained with aluminum sulphate, the main problem related is the introduction of considerable amount of organic matter in the system. For this reason, in our work we used a purified lectin from the seeds and reached good results in comparison with aluminum sulphate. Thus, it can be more interesting use the isolated WSMoL than crude preparations of *M. oleifera* seeds.

Although aluminum is the most common and economical salt used as coagulant in the water treatment (Sahu and Chaudhari, 2013), the need for greater reduction of turbidity requires increased concentrations of this inorganic coagulant, resulting in large amounts of residual aluminum in water. In this scenario, the use of WSMoL proves to be of great value due to two reasons: the coagulant property of WSMoL avoids the need to increase aluminum sulphate concentration and this protein possesses the additional ability of reducing the residual aluminum concentration.

After the treatments, the filtered samples were submitted to ecotoxicological tests. The mortality rates of *A. salina* larvae (Figure 3B) were 50%, 30%, 10% and 20% with the samples from the treatments I, II, III and IV, respectively. These results indicate that all treatments reduced the toxicity of P1 to *A. salina* larvae but those using aluminum sulphate plus WSMoL were more efficient. The toxicity to *L. sativa* and *E. sativa* of the treated water (Figure 4 A-B) was strongly reduced in comparison with untreated sample (Figure 2 A-B), being detected only decreased relative growth indexes while germination indexes were not significantly different from control. Additionally, it was not observed changes in the morphology of seedlings. Thus, the treatment combining aluminum sulphate and WSMoL reduced the potential toxicological effects, which were probably linked to suspended particles and molecules derived from pollution that were removed by these coagulant agents.

4. Conclusions

The combined use of the coagulant agents aluminum sulphate and WSMoL was efficient in promote reduction of turbidity and ecotoxicity of a polluted water sample from Cavouco stream. In addition, the use of WSMoL showed the additional advantage of promote a high decrease in the residual aluminum concentration at the end of treatment. The best results were obtained applying WSMoL in sequence of the aluminum sulphate and not using the two agents simultaneously.

5. References

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2008. Toxicological profile for Aluminum. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- Agra-Neto, A.C.; Napoleão, T.H.; Pontual, E.V.; Santos, N.D.L.; Luz, L.A.; Oliveira, C.M.F.; Melo-Santos, M.A.V.; Coelho, L.C.B.B.; Navarro, D.M.A.F.; Paiva, P.M.G. 2014. Effect of *Moringaoleifera* lectins on survival and enzyme activities of *Aedesaegypti* larvae susceptible and resistant to organophosphate. *Parasitology Research*, 113: 175-184.
- Araújo, M.C., Oliveira, M.B.M. 2013. Monitoring of water quality of a stream at the Federal University of Pernambuco, Brazil. *Rev. Ambient. Água*, vol. 8 n. 3 Taubaté.
- APHA, AWWA, and WEF, 2005. *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 21st ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Ates, M., Daniels, J., Arslan, Z., Farah, I.O. 2013. Effects of aqueous suspensions of titanium dioxide nanoparticles on *Artemiasalina*: assessment of nanoparticle aggregation, accumulation, and toxicity. *Environ Monit Assess.*, 185:3339–48.

Azevedo, R., Rodriguez, E. 2012. Phytotoxicity of Mercury in Plants: A Review. v. 2012, Article ID 848614, 6 pages

Borrely, S. I., Tornieri, P. H., Sampa, M.H. O. Avaliação da toxicidade aguda em efluentes industriais, afluentes e efluentes de estação de tratamento de esgotos. 395-406 p. In: Espíndola et al., Ecotoxicologia: perspectivas para o século XXI. RiMa, São Carlos, São Paulo. 2002.

Brasil. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Resolução 357/2005, Enquadramento de Corpos Hídricos Superficiais no Brasil. Diário Oficial [da] União, n. 53, de 17 de março de 2005, Seção 1, p. 58-63.

Burton, G.A., Jr., P. R. Stormwater Effects Handbook: A Toolbox for Watershed Managers, Scientists, and Engineers. New York: CRC/Lewis Publishers. ISBN 0-87371-924, 2001.

Cathalifaud, G., Ayele, J., Mazet, M. 1997. Etude de la complexation des ions aluminium par des molécules organiques: Constantes et stoechiométrie des complexes. Application au traitement de potabilisation des eaux. *Wat. Res.*, vol. 31, pp. 689-698

Chen, C., Chang, K., Pan, T. 2016. *Monascus purpureus* NTU 568 fermented product improves memory and learning ability in rats with aluminium-induced Alzheimer's disease. *Journal of Functional Foods*, 21, 167-177

Coelho, J.S., Santos, N.D.L., Napoleão, T.H., Gomes, F.S., Ferreira, R.S., Zingali, R.B., Coelho, L.C.B.B., Navarro, D.M.A.F., Paiva, P.M.G. 2009. Effect of *Moringaoleifera* lectin on development and mortality of *Aedesaegypti* larvae. *Chemosphere*, v. 77, p. 934–938

Companhia de Tecnologia de Saneamento Básico - CETESB, 2007. Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo (2006).

Companhia de Tecnologia de Saneamento Básico - CETESB. Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas de amostragem. São Paulo, 2008. 41 p.

- Conesa Fdez-Vitora V. 1995. In: Methodological Guide for Environmental Impact Evaluation (Guía Metodológica para la Evaluación del Impacto Ambiental), 2nd ed., p. 390. Mundi-Prensa, Madrid.
- Costa, C. R., Olivi, P., Botta, C. M. R., Espíndola, E. L. G. 2008. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. Química Nova, v. 31, n. 7, p 1820-1830.
- EPA. Protecting Water Quality from Agricultural Runoff, Fact Sheet No. EPA-841-F-05-001. March 2005.
- Dasgupta, J., Sikder, J., Chakraborty, S., Curcio, S., Drioli, E. 2015. Remediation of textile effluents by membrane based treatment techniques: A state of the art review. Journal of environmental management, 147, 55-72.
- Espíndola, E.L.G., Botta-Paschoal, C.M.R., Rocha, O., Bohrer, M.B.C., Oliveira-Neto, A.L. (eds.) Ecotoxicologia: Perspectivas para o Século XXI. 1. ed. São Carlos: RiMa, 2000. 564 p.
- Ferreira, K.C.D., Lopes, F.B., Andrade, E.M., Meireles, A.C.M., Silva, G.S. 2015. Adaptação do índice de qualidade de água da National Sanitation Foundation ao semiárido brasileiro. Revista Ciência Agronômica, v. 46, n. 2, p. 277-286
- Ferreira, R.S., Napoleão, T.H., Santos, A.F.S., Sá, R.A., Carneiro-Dacunha, M.G., Moraes, M.M.C., Silva-Lucca, R.A., Oliva, M.L.V., Coelho, L.C.B.B., Paiva, P.M.G. 2011. Coagulant and antibacterial activities of the water-soluble seed lectin from *Moringaoleifera*. Letters in Applied Microbiology, v. 53, p. 186-192
- Frinhani, E.M.D., Carvalho, E.F. 2010. Monitoramento da qualidade das águas do Rio do Tigre, Joaçaba, SC. Unoesc&Ciência – ACET, Joaçaba, v. 1, n. 1, p. 49-58
- Ghaly, A. E., Ananthashankar, R., Alhattab, M., Ramakrishnan, V. V. 2014. Production, characterization and treatment of textile effluents: a critical review. Journal of Chemical Engineering & Process Technology, 2014.

- Green, A.A., Hughes, L., 1955. Protein fractionation on the basis of solubility in aqueous solution of salts and organic solvents. In: Colowick, S., Kaplan, N. (Eds.), *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York, pp. 67–90.
- Hovsepyan, A., Bonzongo, J. J. 2009. Aluminum drinking water treatment residuals (Al-WTRs) as sorbent for mercury: Implications for soil remediation. *Journal of Hazardous Materials*, 164:73–80
- Hwang, H., Alegre, G.F., Borrelly, S.I., Flynn, M.N. 2009. Avaliação de Toxicidade em Sedimentos do Rio Juqueri (SP) com *Vibrio fischeri* e *Hyalomma azteca*. *Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, vol.2, n.2
- Lefebvre, E., Legube, B. 1990. Coagulation par Fe (III) de substances humiques extraites d'eaux de surface: Effet du pH et de la concentration en substances humiques. *Wat. Res.*, vol. 24, pp. 591-606
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275
- Lu, Y., Xu, X., Li, T., Xu, Y., Wu, X. 2012. The use of a brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay to assess the water quality in Hangzhou section of Beijing-Hangzhou Grand Canal. *Bull Environ Contam Toxicol.* 88(3):472-6.
- Lumb, A., Sharma, T. C., Bibeault, J. F. 2011. A Review of Genesis and Evolution of Water Quality Index (WQI) and Some Future Directions. Springer, *Water Quality, Exposure and Health*, vol 3, pp.11-24.
- Manivannan, Y., Manivannan, B., Beach, T.G., Halden, R.U. 2015. Role of Environmental Contaminants in the Etiology of Alzheimer's Disease: A Review. *Curr. Alzheimer Res.* 12(2), 116-146

- Mortula, M., Walsh, M.E., Bard, S.M., Gagnon, G.A. 2013. Aluminum toxicity and ecological risk assessment of dried alum residual into surface water disposal. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 8(1), 1-10
- Nayyeri, H., Zandi, S. 2015. Water quality status of Tarwal River in Kurdistan province using IRWQIsc index and quality zoning based on IDW interpolation model. *Buletin Teknol. Tanaman*, 12, 242-248
- Orias, F., Perrodin, Y. 2013. Characterisation of the ecotoxicity of hospital effluents: a review. *Science of the Total Environment*, 454, 250-276.
- Pagga, U. 1997. Testing biodegradability with standardized methods. *Chemosphere*, 35:2953-2972
- Pavanelli, G. 2001. Efficiency of different types of coagulants in the coagulation, flocculation and sedimentation of water high turbidity or color. São Carlos, 2001. 216p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- Penatti, F., Guimarães, S. 2011. Avaliação dos riscos e problemas ambientais causados pela disposição incorreta de resíduos de laboratórios. *Geografia Ensino & Pesquisa*, v. 15, n.1, p. 43-52
- Pesce, S.F., Wunderlin, D.A. 2000. Use of Water Quality Indices to Verify the Impact of Córdoba City (Argentina) on Suquía River. *Wat. Res.* Vol. 34, No. 11, pp. 2915-2926
- Pretti, C., Oliva, M., Pietro, R.D., Monni, G., Cevasco, G., Chiellini, F. 2014. Ecotoxicity of pristine graphene to marine organisms. *Ecotoxicol Environ Saf.*, 101:138–45.
- Rajabi¹, S., Ramazani¹, A., Hamidi, M., Naji¹, T. 2015. Artemiasalina as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23:20
- Rout, G., Samantaray, S., Das, P. 2001. Aluminium toxicity in plants: a review. *Agronomie, EDP Sciences*, 21 (1), 3-21

- Sahu, O.P., Chaudhari, P.K. 2013. Review on chemical treatment of industrial waste water. J Appl Sci Environ Manage. 17(2), 241-257
- Sales, P. T. F., Campos, L. C., Schmidt, F., Valadares, M. C., Santiago, M. F. 2012. Estudo da Tratabilidade de Efluente da Indústria Farmacêutica por meio dos Fungos *Pycnoporus sanguineus*, *Schizophyllum commune* e Fotocatálise. Revista Eletrônica de Engenharia Civil; v. 5, n. 1, pp. 56-72.
- Santos, N.D.L., Moura, K.S., Napoleão, T.H., Santos, G.K.N., Coelho, L.C.B.B., Navarro, D.M.A.F., Paiva, P.M.G. 2012. Oviposition-stimulant and ovicidal activities of *Moringaoleifera* lectin on *Aedesaegypti*. PLoS ONE, v. 7, artigo e44840
- Santos, A.F.S., Argolo, A.C.C., Coelho, L.C.B.B., Paiva, P.M.G. 2005. Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringaoleifera* seeds. Water Research, v.39, p.975-980
- Schueler, T.R. Cars Are Leading Source of Metal Loads in California Reprinted in The Practice of Watershed Protection. Center for Watershed Protection. Ellicott City, MD: 2000.
- Srinivasan, P. T., Viraraghavan, T., Subramanian, K. S. 1999. Aluminium in drinking water: An overview. Water SA v. 25, n. 1
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A. 2006. Commercial applications of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering.101: 87-96
- Tamada, I.S., Montagnolli, R.N., Lopes, P.R.M., Bidoia, E.D. 2012. Toxicological Evaluation of Vegetable Oils and Biodiesel in Soil During the Biodegradation Process. Brazilian Journal of Microbiology, 1576-1581
- Tipping, E., Backes, C.A., Hurley, M.A.1988. The complexation of protons, aluminium and calcium by aquatic humic substances: A model incorporating binding site heterogeneity and macroionic effects. Wat. Res., vol. 22, pp. 597-611

- Tiquia S.M., Tam N. F. Y., Hodgkiss I. J. 1996. Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter. *Environ. Pollut.*, 93, 249-256
- Vaz, L.G.L., Klen, M.R.F., Veit, M.T., Silva, E.A., Barbiero, T.A., Bergamasco, R. 2010. Avaliação da eficiência de diferentes agentes coagulantes na remoção de cor e turbidez em efluente de galvanoplastia. *Eclética química*, 34(4), 45-54
- Yagub, M. T., Sen, T. K., Afroze, S., Ang, H. M. (2014). Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: a review. *Advances in colloid and interface science*, 209, 172-184.
- Yan, Z., Wang, W., Zhou, J., Yi, X., Zhang, J., Wang, X., Liu, Z. 2015. Screening of high phytotoxicity priority pollutants and their ecological risk assessment in China's surface waters. *Chemosphere*, 128, 28-35
- Zagatto, P. A., Bertolotti, E. *Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações*. 1. ed. São Carlos: RiMa, 2006. 478 p.
- Zhi, Y., Deng, Z., Luo, M., Ding, W., Hu, Y., Deng, J., Li, Y., Zhao, Y., Zhang, X., Wu, W., Huang, B. 2015. Influence of Heavy Metals on Seed Germination and Early Seedling Growth in *Eruca sativa* Mill. *American Journal of Plant Sciences*, 6, 582-590
- Zouhri1, N., El Amrani, M., Taky, M., Hafsi, M., Elmidaoui, A. 2015. Effectiveness of Treatment of Water Surface with Ferric Chloride and Aluminium Sulphate. *Review of Catalysts*, 2(1): 1-13

Figure captions

Figure 1. Satellite image of the stretch of Cavouco stream within the UFPE campus, indicating the five points (P1 to P5) where water samples were collected. Source: Google Earth, January 2016.)

Figure 2. Evaluation of phytotoxicity of water samples collected at five points (P1 to P5) from Cavouco stream. (A) Germination indexes (%) of *L. sativa* and *E. sativa* seeds. (B) Relative growth indexes of *L. sativa* and *E. sativa* seedlings. Potassium dichromate and mineral water were used as positive and negative controls, respectively. (C) Aspects of *L. sativa* and *E. sativa* seedlings. (-) Negative control. Different uppercase or lowercase letters indicate significant ($p < 0.05$) differences between treatments.

Figure 3. Mortality of *Artemia salina* larvae. A- Larvae incubated with water samples collected at five points (P1 to P5) from Cavouco stream; B- Larvae incubated with water samples after treatment. Different letters indicate significant ($p < 0.05$) differences between treatments. Aluminium chloride (1%) and synthetic seawater were used as positive and negative controls, respectively.

Figure 4. Phytotoxicity assays using P1 water sample after treatments with aluminum sulphate and WSMoL followed by filtration. Treatment **I**: aluminum sulphate 2% (w/v) for 2 h. Treatment **II**: WSMoL (0.2 mg/mL) for 2 h. Treatment **III**: aluminum sulphate 2% (w/v) for 2 h followed by WSMoL (0.2 mg/mL) for 2 h. Treatment **IV**: aluminum sulphate 2% (w/v) plus WSMoL (0.2 mg/mL) added simultaneously and incubated for 2 h. (A) Germination indexes (%) of *L. sativa* and *E. sativa* seeds. (B) Relative growth indexes of *L. sativa* and *E. sativa* seedlings. Sodium dichromate and mineral water were used as positive and negative controls, respectively. Different uppercase or lowercase letters indicate significant ($p < 0.05$) differences between treatments.

Table 1. Physicochemical characterization of the water samples from Cavouco stream.

Parameter	Units	<i>P1</i>	<i>P2</i>	<i>P3</i>	<i>P4</i>	<i>P5</i>
		Classification following CONAMA's resolution				
		IV	III	II	II	IV
Ph		7.39	7.4	7.9	7.93	7.86
Turbidity	NTU	37.95	17.5	9.95	1.81	0.63
Conductivity	Micro μ S	182.8	344.8	439.3	514.7	544.0
Ammonia	mg/L	0	0	0	0	0.005
Nitrite	mg/L	0	0	0	0	0.005
Nitrate	mg/L	0	0	0	0	0
Aluminum	mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Cadmium	mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Lead	mg/L	ND	ND	0.6	ND	0.3
Copper	mg/L	0.5	ND	ND	ND	0.08
Zinc	mg/L	ND	ND	ND	ND	ND
Apparent color	mg/L Pt-Co	100.0	33.0	35.0	20.0	10.0
Acidity	mg/L CaCO_3	1.0	1.0	0.6	0.5	0.8
Sodium	mg/L Na^+	13.51	23.15	43.18	62.37	71.46
Calcium	mg/L Ca^{2+}	8.02	13.44	18.2	24.05	20.04
Magnesium	mg/L Mg^{2+}	7.30	9.0	11.30	14.58	17.02
Chloride	mg/L Cl^-	12.14	21.4	32.71	40.47	50.18
Potassium	mg/L K^+	1.20	6.3	8.20	9.24	10.25
Solids: total	mg/L SiO_2	236	255	316	340	310
Dissolved oxygen	mg/L	2.6	4.6	6.6	6.2	3.0

*ND – not detected

Table 2. Evaluation of pH, turbidity and residual aluminum concentration of P1 water sample after four different treatments.

Parameters	<i>Untreated water</i>	Treated water							
		After decantation				After filtration			
		(I)	(II)	(III)	(IV)	(I)	(II)	(III)	(IV)
pH	7.39	7.29	7.35	7.21	7.30	7.21	7.34	7.10	7.19
Turbidity (NTU)	37.95	16.5	19.9	6.5	7.9	10.2	13.6	1.2	3.3
Turbidity reduction (%)	-	56.52	47.56	82.9	79.2	73.12	64.16	96.8	91.3
Residual aluminum (mg/L)	-	35.5	-	0.3	8.3	35.5	-	0.3	8.3

Treatment **I**: aluminum sulphate 2% (w/v) for 2 h. Treatment **II**: WSMoL (0.2 mg/mL) for 2 h. Treatment **III**: aluminum sulphate 2% (w/v) for 2 h followed by WSMoL (0.2 mg/mL) for 2 h. Treatment **IV**: aluminum sulphate 2% (w/v) plus WSMoL (0.2 mg/mL) added simultaneously and incubated for 2 h.

Figure 1

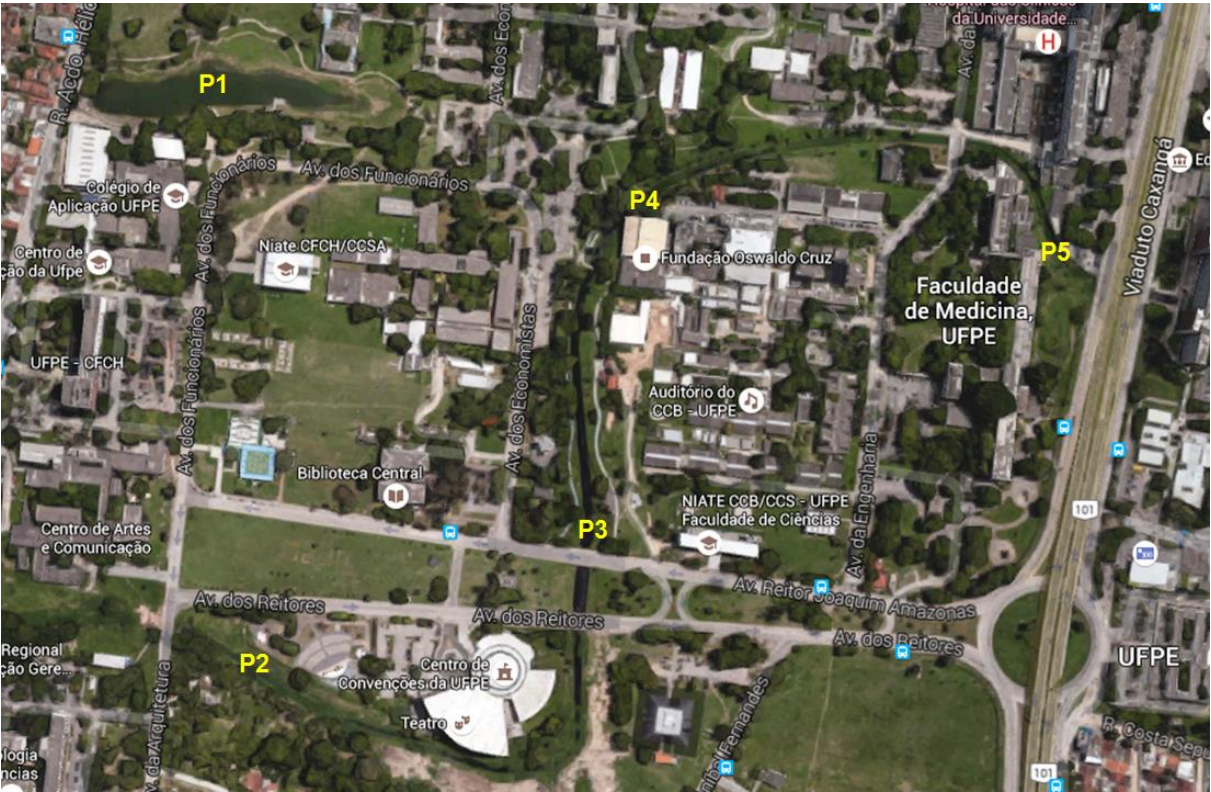


Figure 2

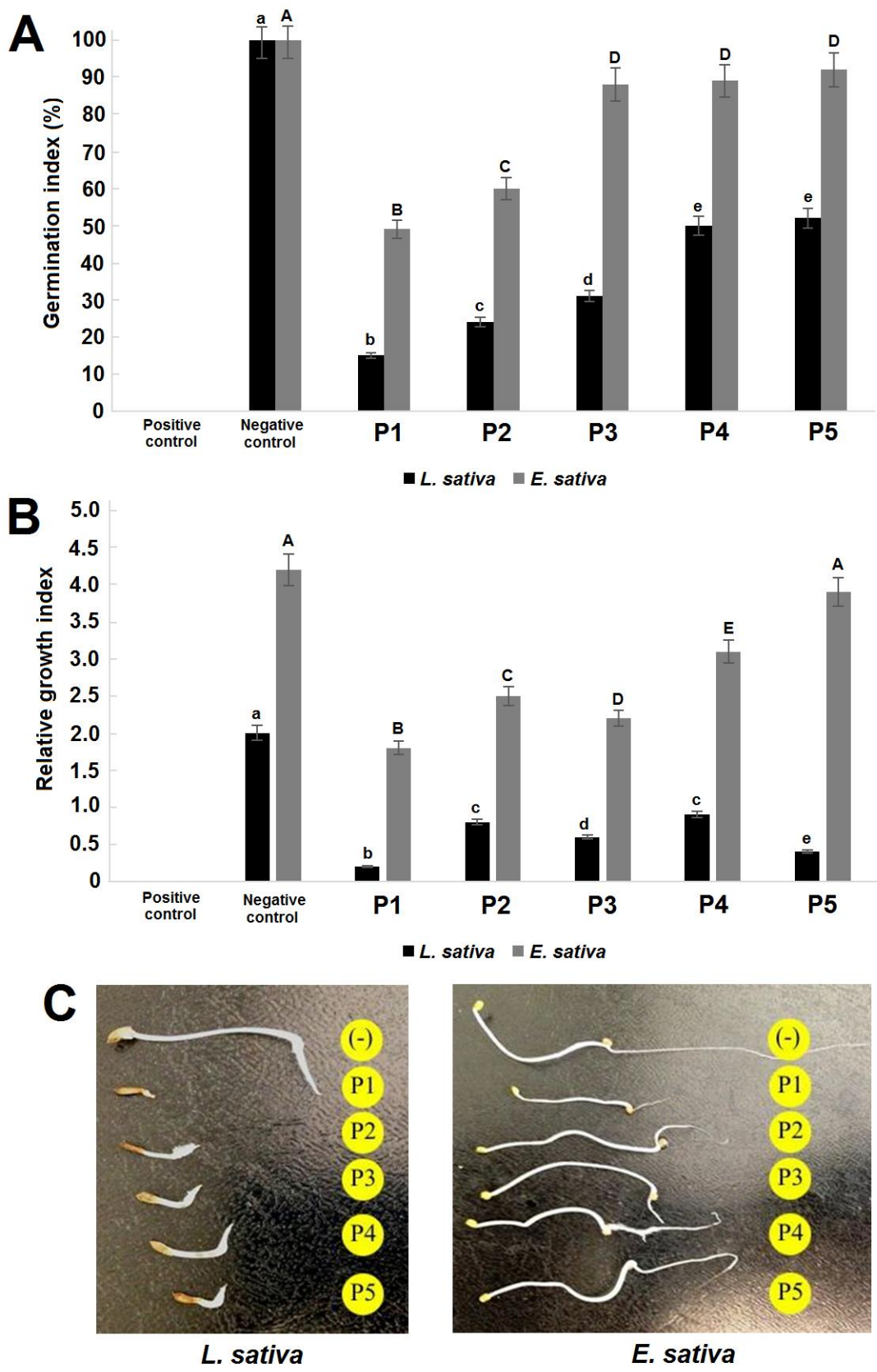


Figure 3

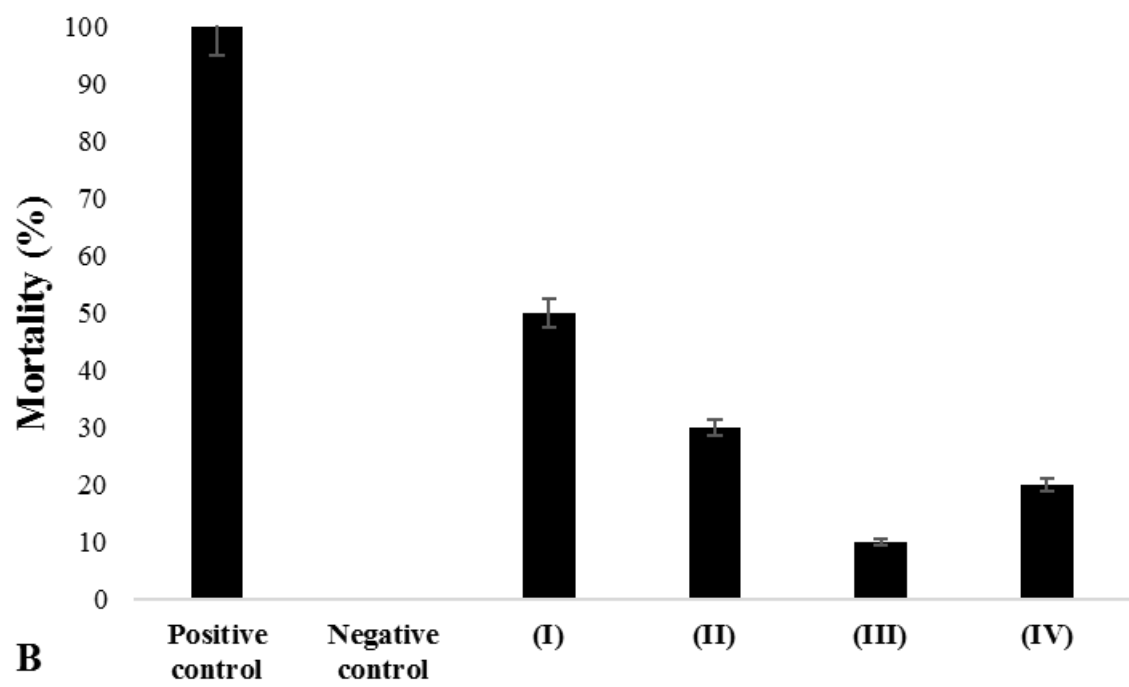
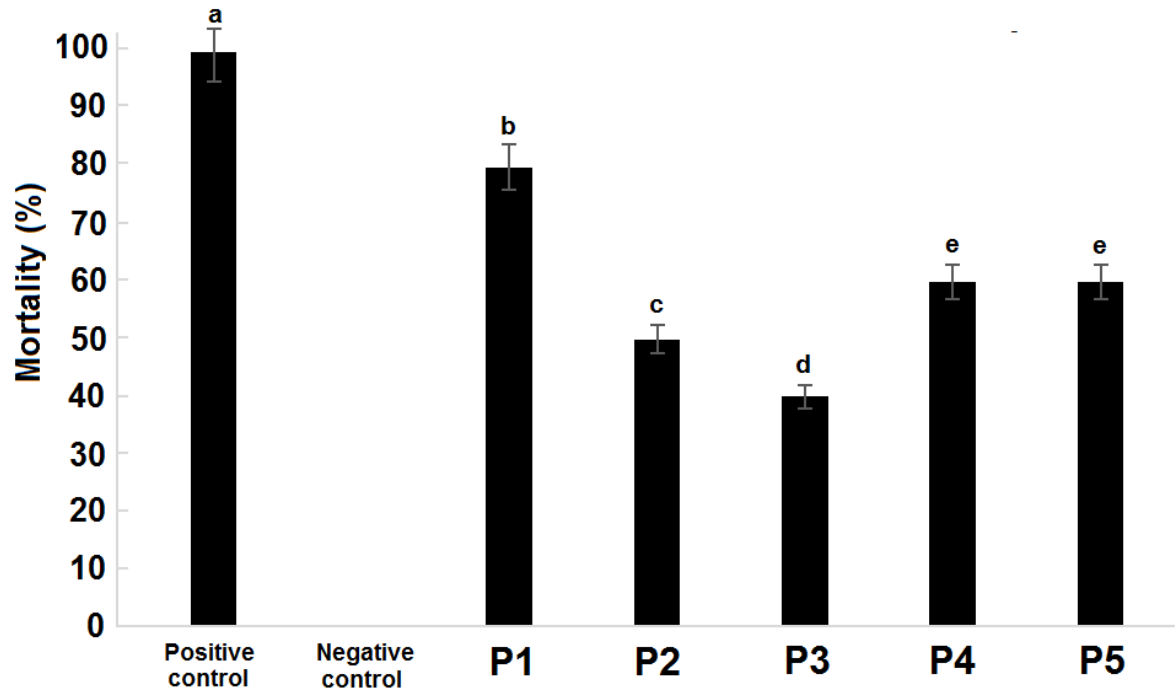
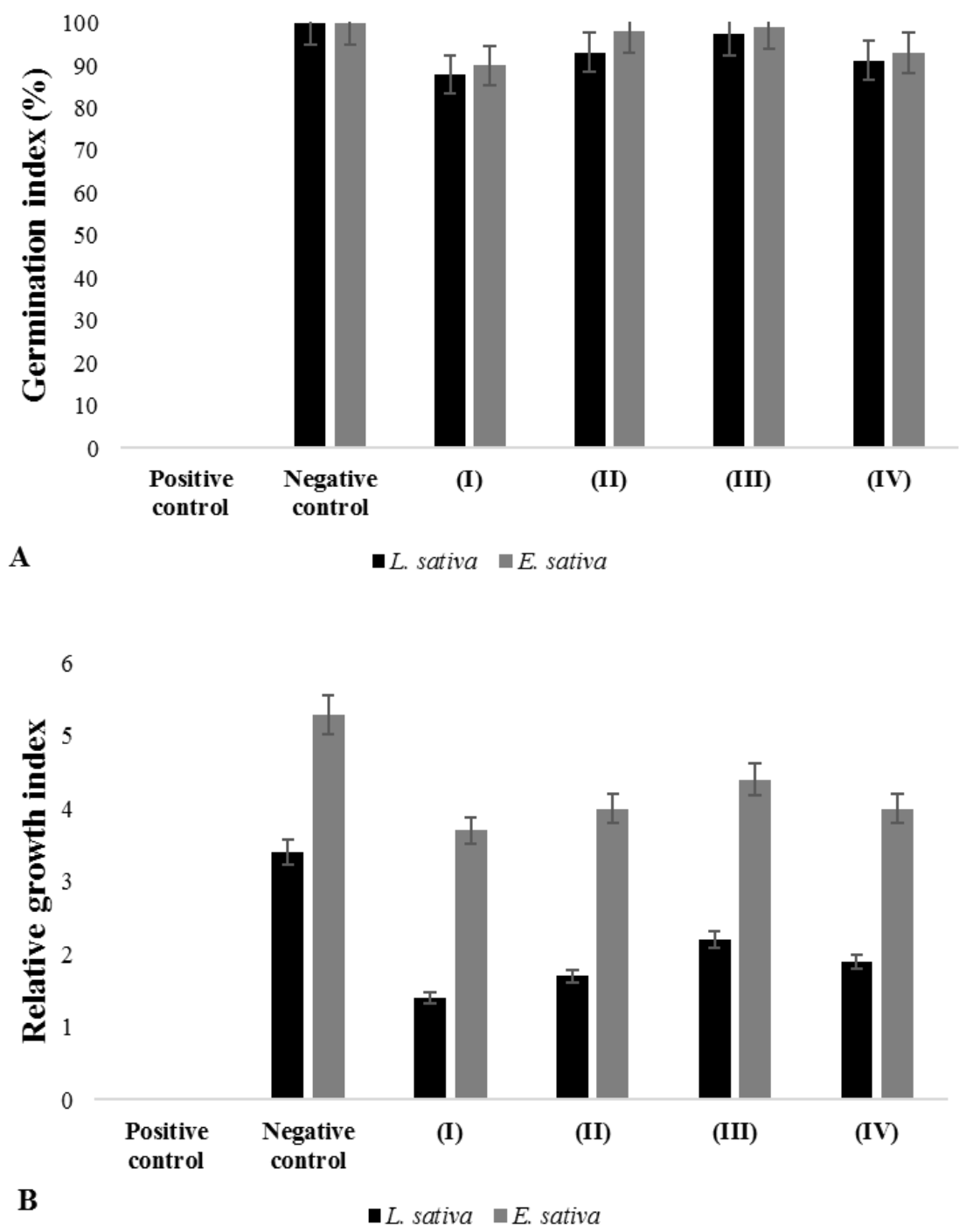


Figure 4



4 CONCLUSÕES

- WSMoL é capaz de promover remoção de íons metálicos em soluções aquosas, principalmente magnésio e cobre.
- A exposição aos metais leva à perda de atividade antibacteriana da lectina contra *E. coli* e *S. enteridis*, o que deve ser levado em conta se WSMoL estiver sendo usada como um agente desinfetante.
- A utilização de WSMoL em conjunto com sulfato de alumínio é um método eficiente para promover forte redução da turbidez e ecotoxicidade em água do ambiente, sem resultar em uma elevada concentração residual de alumínio.

REFERÊNCIAS

- AHALYA, N., RAMACHANDRA, T.V., KANAMADI, R.D. Biosorption of heavy metals. **Res. J. Chem. Enviro** n. 7, p. 71-78, 2003.
- AL-NAIMI, H.A. **Spatial and Temporal Distribution of Heavy Metals in Marine Sediment along the Doha Bay**. Qatar University, Qatar. 130 f. Dissertação de Mestrado (Ciências), 2013.
- ALATON, I. A.; TEKSOY, S. Acid dye bath effluent pretreatment using Fenton's reagent: process optimization, reaction kinetics and effects on acute toxicity. **Dyes and Pigments**. v. 73, p. 31-39, 2007.
- ALLURI, H.K. et al. Biosorption: An eco-friendly alternative for heavy metal removal. **Afr. J. Biotechnol.** n. 6, v. 11, p. 2924-2931, 2007.
- AMIRTHARAJAH A., M. K. Rapid-mix Design for Mechanisms of Alum Coagulation. **AWWA**, n. 74, v. 4, p. 210-216, 1982.
- ANWAR, F. et al. *Moringa oleifera*: A Food Plant with Multiple Medicinal Uses. **Phytother. Res.** n. 21, p. 17-25, 2007.
- ARAÚJO, M.C., OLIVEIRA, M.B.M. Monitoramento da qualidade das águas de um riacho da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. **Rev. Ambient. Água**. n. 3, vol. 8, Taubaté, 2013.
- ASHRAF, M. A. et al. Effects of Polluted Water Irrigation on Environment and Health of People in Jamber, District Kasur, Pakistan, **International Journal of Basic & Applied Sciences**, n. 10, v. 3, pp: 37-57, 2010.
- ATSDR, **Toxicological Profile for Cadmium (Draft for Public Comment)**. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, 2008.
- BARBOT, E. et al. Coagulation in Ultrafiltration; Understanding of the Key Parameters of the Hybrid Process. **Journal of Membrane Science**, n. 325, v. 2, p. 520-527, 2008.
- BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Biochemistry. 5th edition**. New York: W H Freeman; 2002. Section 11.4, Lectins Are Specific Carbohydrate-Binding Proteins. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22545/>
- BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J. G. L.; BARROS, M. T. L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. **INTRODUÇÃO À ENGENHARIA AMBIENTAL** - São Paulo: Prentice Hall, 2002.
- BRASIL. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Legislação para águas de consumo humano. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 de mar. 2004. Seção 1.

BRASIL - Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências. **Diário Oficial da União, Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA**. Brasília, DF. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2016.

BURTON G.A.; JR., PITT R., Stormwater Effects Handbook: **A Toolbox for Watershed Managers, Scientists, and Engineers**. New York: CRC/Lewis Publishers. ISBN 0-87371-924, 2001

CALLENDER, E. Heavy Metals in the Environment – Historical Trends. **Treatise on Geochemistry**, v.3, p.67-105, 2007.

CARTWRIGHT, P.S. Membranes Separations Technology for Industrial Effluent Treatment - A Review, **Desalination**, n. 56, v. 17, 1985.

Central Pollution Control Board, Guidelines for Water Quality Monitoring, **MINARS/27/2007-08**

CERQUEIRA, M.B.R.; CALDAS, S.S.; PRIMEL, E.G. New sorbent in the dispersive solid phase extraction step of quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe for the extraction of organic contaminants in drinking water treatment sludge. **Journal of Chromatography A**, v. 1336, p. 10-22, 2014.

CHANDER, M.; ARORA, D. S.; BATH, H. K. Biodecolourisation of some industrial dyes by with the fungi. **Journal Ind. Microbiol. Biotechnology**. v. 31, p. 94-97, 2004.

CHARUNGCHITRAK, S. et al. Antifungal and antibacterial activities of lectin from the seeds of *Archidendron jiringa* Nielsen. **Food Chem.**, v. 126, p. 1025-1032, 2011

COELHO, J. S. et al. Effect of *Moringa oleifera* lectin on development and mortality of *Aedes aegypti* larvae. **Chemosphere**, v. 77, p. 934-938, 2009.

CONSTANTINO, V.R.L. et al. PREPARAÇÃO DE COMPOSTOS DE ALUMÍNIO A PARTIR DA BAUXITA: CONSIDERAÇÕES SOBRE ALGUNS ASPECTOS ENVOLVIDOS EM UM EXPERIMENTO DIDÁTICO. **Quím. Nova**, v. 25 n. 3, 2002

CRITTENDEN, J. et al. **MWH's Water Treatment: Principles and Design**. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 2005.

DURÁN, N.; MORAIS, S. G.; FREIRE, R. S. Degradation and toxicity reduction of textile effluent by combined photocatalytic and ozonation processes. **Chemosphere**. v. 40, p. 369-373, 2000.

ECHA. Potential Health Effects from Exposure to Aluminium and Aluminium Compounds, **Fact Sheet No. 20110728**. December 2010

EDZWALD, J. **Water Quality and Treatment: A Handbook on Drinking Water**. Denver: McGraw-Hill. 2011.

EPA. Protecting Water Quality from Agricultural Runoff, **Fact Sheet No. EPA-841-F-05-001**. March 2005

European Public Health Alliance, Air, Water Pollution and Health Effects. 2009
<http://www.epha.org/r/54>

Évaluation d'un procédé de coagulation-floculation au chitosane pour l'enlèvement du phosphore dans les effluents piscicoles, **Dossier No. 710.149**, Rapport Commandité Par la SODIM Février, 2008.

FANG, E.F. et al. A lectin with anti-HIV-1 reverse transcriptase, antitumor, and nitric oxide inducing activities from seeds of *Phaseolus vulgaris* cv. extralong autumn purple bean. **J Agric Food Chem**. v. 58, p. 2221–2229, 2010.

FENGLIAN, F.; WANG, Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review, **Journal of Environmental Management**. v. 92, p. 407-418, 2011.

FEREIDOUN, H. ET AL. The Effect of Long-Term Exposure to Particulate Pollution on the Lung Function of Teheranian and Zanjanian Students, **Pakistan Journal of Physiology**, v. 3, n. 2, p. 1-5, 2007.

FERREIRA, R. S. et al. Coagulant and antibacterial activities of the watersoluble seed lectin from *Moringa oleifera*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 53, p. 186-192, 2011.

FU, L. L. et al. Plant lectins: targeting programmed cell death pathways as antitumor agents. **Int J Biochem Cell Biol**. v. 43, n. 10, p. 1442-1449, 2011.

GADD, G.M. Metals and microorganisms: a problem of definition. **FEMS microbiology letters**, v. 100, p.197-203, 1992.

GADD, G.M. Interactions of fungi with toxic metals. **New Phytologist**, v.124, p.25-60, 1993.

GADD, G.M. Metals, mineral and microbes: geomicrobiology and bioremediation. **Microbiology**, v. 156, p. 609-643, 2010.

GARCÍA-VALLEJO, J. J. et al. The Consequences of Multiple Simultaneous C-Type Lectin–Ligand Interactions: DCIR Alters the Endo-Lysosomal Routing of DC-SIGN. **Front Immunol**. v. 6, p. 87, 2015.

GHABRIS, A.; ABDEL-JAWAD, M.; ALY, G. Municipal Wastewater Renovation by Reverse Osmosis, **State of the Art. Desalination**, v. 75, p. 213, 1989.

GHAZALI, F. M. et al. Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium. **International Biodeterioration & Biodegradation**. v. 54, p. 61-67, 2004.

GOLOMBIESKI, J.I. et al. Qualidade da água no consórcio de peixes com arroz irrigado. **Cienc. Rural**, v. 35 n. 6, 2005.

GOPALRATNAM, V.C. et al. The Simultaneous Removal of Oil and Heavy Metals from Industrial Wastewater by Joint Precipitation and Air Flotation. **Environ. Prog.**, v. 7, p. 84, 1988.

GOTTIPATI, R.; MISHRA, S. Application of response surface methodology for optimization of Cr(III) and Cr(VI) adsorption on commercial activated carbons, **Research Journal of Chemical Sciences**, v. 2, n. 2, p. 40-48, 2012

HALL, J.L. Cellular mechanism for heavy metal detoxification and tolerance. **J. Exp. Bot.** v. 53, n. 366, p.1-11, 2002.

JAISWAL, D. et al. Role of *Moringa oleifera* in regulation of diabetes-induced oxidative stress. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p. 426-432, 2013.

JÄRUP, L.; AKESSON, A. Current status of cadmium as an environmental health problem. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 238, n. 3, p. 201-208, 2009.

JARVIS, P. et al. Comparison of coagulation performance and floc properties using a novel zirconium coagulant against traditional ferric and alum coagulants. **Water research**, v. 46, n. 13, p. 4179-4187, 2012.

KAMIMURA, C.T. et al. Possibilidades de reuso de efluentes gerados na suinocultura visando à economia de água e fertilizantes químicos. **Atas de Saúde Ambiental**. v. 3, n. 2, p. 74-79, 2015.

KAN, C.; HUANG, C. Coagulation Monitoring In Surface Water Treatment Facilities. **Water Science Technology**, p. 237-244, 1998.

KATRE, U.V. et al. Structure-activity relationship of a hemagglutinin from *Moringa oleifera* seeds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 42, p.203-207, 2008.

KHAN, F.; KHAN, M.I. Fungal lectins: Current molecular and biochemical perspectives. **Int. J. Biol. Chem.**, v. 5, p. 1-20, 2011.

KIMANI, N. G. Environmental Pollution and Impacts on Public Health: Implications of the Dandora Dumping Site Municipal in Nairobi, Kenya, **United Nations Environment Programme**, p. 1-31, 2007.

KOSITZI, M. et al. Solar photocatalytic treatment of simulated dyestuff effluents. **Solar Energy**. v. 77, p. 591-600, 2004.

KWON J.S. et al. Removal of divalent heavy metals (Cd, Cu, Pb, and Zn) and arsenic (III) from aqueous solutions using scoria: kinetics and equilibrium of sorption, **J. of Hazard Mater**, v. 74, p. 307–313, 2010.

LAM, S.K.; NG, T.B. Lectins: production and practical applications. **Appl Microbiol Biotechnol**. v. 89, n. 1, p. 45-55, 2011.

LANNOO, N.; VAN DAMME, E. J. M. Lectin domains at the frontiers of plant defense. **Front. Plant Sci**. v. 5, p. 397, 2014.

LIMA, A.L.R. et al. Histochemical evaluation of human prostatic tissues with *Cratylia mollis* seed lectin. **J. Biomed. Biotech.**, v. 2010, p. 1-6, 2010.

- LIN, L. et al. Sorption of metals and metalloids from reverse osmosis concentrate on drinking water treatment solids. **Separation and Purification Technology**. v. 134, p. 37-45, 2014.
- LICHTENSTEIN, R. G.; RABINOVICH, G. A. Glycobiology of cell death: when glycans and lectins govern cell fate. **Cell Death and Differentiation**. v. 20, p. 976-986, 2013.
- LOPES, J.M.; SILVA, L.V.F.; BALDISSEROTTO B. Survival and growth of silver catfish larvae exposed to different water pH. **Aquaculture International**, v. 9, n. 1, p. 73-80, 2001.
- MALAGOLI, D.; SACCHI, S.; OTTAVIANI, E. Lectins and cytokines in celomatic invertebrates: two tales with the same end. **ISJ**, v. 7, p. 1-10, 2010.
- MANZOURI, M.; SHON, H. K. Rectification Methods for the Fouling of Ultrafiltration Hollow-fibre Membranes as a Result of Excessive Soluble Iron. **Desalination and Water Treatment**, p. 437-434, 2011.
- MARGUTI, A.L.; FERREIRA FILHO, S.S.; PIVELI, R.P. Otimização de processos físico-químicos na remoção de fósforo de esgotos sanitários por processos de precipitação química com cloreto férrico. **Eng. Sanit. Ambient.** v. 13, n. 4, 2008.
- MATILAINEN, A.; VEPSÄLÄINEN, M.; SILLANPÄÄ, M. Natural organic matter removal by coagulation during drinking water treatment: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**. v. 159, p. 189-197, 2010.
- MELO, C. M. L. et al. Immunomodulatory response of Cramoll 1,4 lectin on experimental lymphocytes. **Phytotherapy Research**, v. 24, p. 1631-1636, 2010.
- Metcalf & Eddy, Inc. Constituents in wastewater. In: _____ **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4a ed., rev. G. Tchobanoglous, F. L. Burton, H. D. Stensel. New York: McGraw-Hill, p. 29-51, 2003
- MORAES, L. C. K. et al. Avaliação da eficiência de remoção de cor e turbidez, utilizando como coagulante os taninos vegetais, com a finalidade de obtenção de água tratada. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 24., 2007. Belo Horizonte, **Anais ...** CD-rom (I-178), 2007
- MOURA, M. C. **LECTINA SOLÚVEL EM ÁGUA DE SEMENTES DE *Moringa oleifera* (WSMoL): AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE INSETICIDA SOBRE *Ephestia* (Anagasta) *kuehniella* (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) E *Callosobruchus maculatus* (COLEOPTERA: BRUCHIDAE)** Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife. 70 f. Dissertação de Mestrado (Bioquímica e Fisiologia), 2012.
- NAND, V. et al. Water Purification using *Moringa oleifera* and Other Locally Available Seeds in Fiji for Heavy Metal Removal. **International Journal of Applied Science and Technology**, v. 2, n. 5, 2012.
- NAPOLEÃO, T. H. et al. Termiticidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* against *Nasutitermes corniger* and its mechanisms. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 65, p. 52-59, 2011.

OLIVEIRA, C. F. R. et al. Evaluation of seed coagulant *Moringa oleifera* lectin (cMoL) as a bioinsecticidal tool with potential for the control of insects. **Process Biochemistry**, v. 46, p. 498-504, 2011.

OLIVEIRA, S.L.A.; FILHO, O.B.; GIORDANO, G. ANÁLISES DE RISCO E CONFIABILIDADE APLICADAS À GESTÃO DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE EFLUENTES INDUSTRIAIS (ETEIs): UMA REVISÃO CRÍTICA. **Revista Tecnologia e Ambiente**, v. 21, p. 189-206, 2014.

PAIVA, P. M. G. et al. Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. In: Méndez-Vilas, A. (Ed.), **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, p. 396-406, 2010.

PAIVA, P. M. G. et al. Effect of lectins from *Opuntia ficus indica* cladodes and *Moringa oleifera* seeds on survival of *Nasutitermes corniger*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, p. 982-989, 2011.

PAIVA, P. M. G. et al. Insecticide activity of lectins and secondary metabolites. In: Perveen, F. (Ed.), **Insecticides – Advances in Integrated Pest Management**. In Tech, p. 579-598, 2012.

PAJIC, I. et al. A novel lectin from the sponge *Haliclona cratera*: isolation, characterization and biological activity. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v. 132, p. 213-221, 2002.

PEDINI, V. et al. Glycoconjugate characterization in the intestine of *Umbrina cirrosa* by means of lectin histochemistry. **Journal of Fish Biology**, v. 61, p. 1363-1372, 2002.

PEIXOTO, F.P.; MARINHO, G.; RODRIGUES, K. CORANTES TÊXTEIS: UMA REVISÃO. **Holos**. v. 5, p. 98-106, 2013.

PERNITSKY, D. J.; EDZWALD, J. K. Selection of Alum and Polyaluminum Coagulants: Principles and Applications. **Journal of Water Supply: Research and Technology - AQUA**, v. 55, n. 2, p. 121-141, 2006.

POLLARD S.J.T. et al. Lowcost adsorbents for waste and wastewater treatment, *a review*, **Sci. of Total Environment**, v. 116, p. 31–52, 1992.

RAJANANDH, M. G. et al. *Moringa oleifera* Lam. A herbal medicine for hyperlipidemia: A preclinical report. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, S790-S795, 2012.

RANDTKE, S. J. Organic contaminant removal by coagulation and related process combinations, **J. AWWA**, v. 80, n. 5, p. 40-56, 1988.

RANGEL, M. S. A. ***Moringa oleifera*: uma planta de uso múltiplo**. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 1999. 41p. (Embrapa-CPATC. Circular Técnica, 9)

RATANAPO, S.; NGAMJUNYAPORN, W.; CHULAVATNATOL, M. Interaction of a mulberry leaf lectin with a phytopathogenic bacterium, *P. syringae* pv *mori*. **Plant Science**, v.160, p. 739–744, 2001.

REGINATTO, C.; COLLA, L. M.; THOMÉ, A. Biorremediação de resíduos oleosos em solos. **Revista CIATEC-UPF**, v. 3, n. 2, p. 19-31, 2012.

ROSA, K.K.; VIEIRA, R.; SIMÕES, J.C. Dinâmica glacial e características sedimentares resultantes na zona proglacial da geleira Ecology - Baía do Almirantado, ilha Rei George, Antártica. **Revista Brasileira de Geomorfologia**, v. 7, n. 2, p. 51-60, 2006.

SAHU, O. P.; CHAUDHARI, P. K. Review on Chemical treatment of Industrial Waste Water. **J. Appl. Sci. Environ. Manage.** v. 17, n. 2, p. 241-257, 2013.

SANTANA, G. M. S. et al. Isolation of lectin from *Opuntia ficus-indica* cladodes. **Acta Horticulturae**, v. 43, p. 352-358, 2009.

SANTOS, A. F. S. et al. Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringa oleifera* seeds. **Water Research**, v. 39, p. 975-980, 2005.

SANTOS, A. F. S. et al. Isolation of a seed coagulant *Moringa oleifera* lectin. **Process Biochemistry**, v. 44, p. 504-508, 2009.

SANTOS, A. F. S. et al. Interaction of *Moringa oleifera* seed lectin with humic acid. **Chemical Papers**, v. 65, p. 406-411, 2011.

SANTOS, A.F.S. et al. Coagulant properties of *Moringa oleifera* protein preparations: application to humic acid removal. **Environmental Technology**. v. 33, n. 1, p. 69–75, 2012.

SANTOS, J.O. et al. A qualidade da água para o consumo humano: Uma discussão necessária. **Rev. Bras. Gest. Amb.** v. 7, n. 2, p. 19-26, 2013.

SANTOS, A.F.S. et al. **Coagulation, flocculation, agglutination and hemagglutination: similar properties?** In James C. Taylor, *Advances in Chemistry Research*, Vol. 20, Nova Science Publishers, 2014.

SANTOS, T.R.T. et al. Development of a magnetic coagulant based on *Moringa oleifera* seed extract for water treatment. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-9, 2016.

SATAPATHY D., NATARAJAN G.S. Potassium bromated modification of the granular activated carbon and its effect on nickel adsorption. **Adsorption**, v. 12, p. 147-154, 2006.

SCHELL, L. M. et al. Effects of Pollution on Human Growth and Development: An Introduction, **Journal of Physiological Anthropology**, v.25, n. 1, p. 103-112, 2006.

SCHUELER, T.R., **Cars Are Leading Source of Metal Loads in California Reprinted in The Practice of Watershed Protection**. Center for Watershed Protection. Ellicott City, MD: 2000

SCIPEEPS, **Effects of Water Pollution**, 2009: <http://scipeeps.com/effects-ofwaterpoUution/>

SCURACCHIO, P.A. **QUALIDADE DA ÁGUA UTILIZADA PARA CONSUMO EM ESCOLAS NO MUNICÍPIO DE SÃO CARLOS - SP**. Universidade Estadual Paulista

"Júlio de Mesquita Filho", UNESP - Araraquara. 59p. Dissertação de Mestrado (Alimentos e Nutrição), 2010

SILVA, P.T.S. et al. **Aplicação do índice de qualidade da água em um trecho do Riacho Cavouco no Campus da UFPE**. In: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental; AIDIS. Saneamento ambiental: desafio para o século 21. Rio de Janeiro, ABES, 2001. p.1-4, Tab.

SIMEONOV, L. I.; KOCHUBOVSKI, M. V.; SIMEONOVA, B. G. (Eds.). **Environmental Heavy Metal Pollution and Effects on Child Mental Development. Risk Assessment and Prevention Strategies**. Series: NATO Science for Peace and Security Series C: Environment Security. 1st, XX, 361 p., Hardcover, 2011.

SLATER, C.; AHLERT, R.; UCHRIN, C. Applications of Reverse Osmosis to Complex Industrial Wastewater Treatment, **Desalination**, v, 48, p. 171, 1983.

SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e o tratamento de esgotos**. 3a ed. Belo Horizonte: UFMG, 2005, 452p.

SPOSITO, G. (Ed.). **The Enviromental Chemistry of Aluminum** (2 ed.). Boca Raton: CRC Press LLC. 1996.

TOLKOU, A.; ZOUBOULIS, A.; SAMARAS, P. PSiFAC-poly-aluminum-ferric-silicate-chloride: Synthesis and coagulation performance of a novel composite coagulant in water and wastewater treatment. In: **Proceedings of the 4th International Conference SWAT**. 2013. p. 25-27.

TOLKOU, A. K.; ZOUBOULIS, A. I. Synthesis and coagulation performance of composite poly-aluminum-ferric-silicate-chloride coagulants in water and wastewater. **Desalination and Water Treatment**, v. 53, n. 12, p. 3309-3318, 2015.

VARROT, A.; BASHEER, S. M.; IMBERTY, A. Fungal lectins: structure, function and potential applications. **Current Opinion in Structural Biology**. v. 23, n. 5, p. 678–685, 2013.

VASTA, G. R.; AHMED, H.; ODOM, E. W. Structural and functional diversity of lectin repertoires in invertebrates, protochordates and ectothermic vertebrates. **Curr Opin Struct Biol**. v. 14, n. 5, p.617-30, 2004.

WAÏS MOSSA, M. T.; MAZET, M. Influence des sels minéraux sur l'adsorption des acides humiques sur floes d'hydroxydes préformés, **Environ. Technol.**, v. 12, p. 725-730, 1991.

WANG S., ANG H.M.; TADE M.O. Novel applications of red mud as coagulant, adsorbent and catalyst for environmentally benign processes, **Chemosphere**, v.72, p.1621–1635, 2008.

WANG, Y. et al. Removal of As (III) and As (V) by ferric salts coagulation–Implications of particle size and zeta potential of precipitates. **Separation and Purification Technology**, v. 135, p. 64-71, 2014.

WHO, **Report on Water, Sanitation and Hygiene Links to Health**, Geneva: WHO 2004.

WILLIAMS, M., DESHMUKH, R., BHATTACHARYYA, D. Separation of Hazardous Organics by Reverse Osmosis Membranes, **Environmental Progress**, v.9, p.118, 1990.

WILSON K. et al., Select metal adsorption by activated carbon made from peanut shells, **Bioresource Tech.**, v.97, p. 2266–2270, 2006.

WUA, S.C. et al. Adsorption kinetics of Pb and Cd by two plant growth promoting rhizobacteria, **Bioresource Technology**, v.100, p.4559-4563, 2009.

XU, W. D., CHELLAM, S., CLIFFORD, D. A. Indirect Evidence for Deposit Rearrangement During Dead-end Microfiltration of Iron Coagulated Suspensions. **Journal of Membrane Science**, p. 243-254, 2004.

YABE, R.; IWAKURA, Y.; SAIJO, S. C-Type Lectin Receptors in Host Defense Against Microbial Pathogens. **Glycoscience: Biology and Medicine**. p. 1319-1329, 2014.

YADANAPARTHI S.K.R.; GRAYBILL D.; WANDRUSZKA R. Adsorbents for the removal of arsenic, cadmium, and lead from contaminated waters, **J. of Hazard Mater.**, v. 171, p. 1-15, 2009.

ZANONI, M.V.B.; CARNEIRO, P.A. O descarte dos corantes têxteis. **Ciencia Hoje**. n. 29, p. 62-63, 2001.

ZENAITIS, M. G.; SANDHU, H.; DUFF, S. J. B. Combined biological and ozone treatment of log yard run-off. **Water Research**. v. 39, p. 2053-2061, 2002.

ZHANG, L.; ZHOU, D.; GUO, S. L. Mechanisms of lead biosorption on cellulose chitin beads. **Water Research**, v. 39, n. 16, p. 3755-3762, 2005.

ZOUHRI, N. et al. Effectiveness of treatment of water surface with ferric chloride and aluminium sulphate. **Review of Catalysts**. v. 2, n. 1, p. 1-13, 2015.

ZHU, G. et al. Preparation of a composite coagulant: Polymeric aluminum ferric sulfate (PAFS) for wastewater treatment. **Desalination**, v. 285, p. 315-323, 2012.