

II-466 - AVALIAÇÃO DE EFLUENTES INDUSTRIAIS TRATADOS POR ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS E ANÁLISE COMPARATIVA DE SENSIBILIDADE EM TRÊS ORGANISMOS

Iara da Silva de Almeida⁽¹⁾

Bióloga pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e Mestre em Engenharia Ambiental pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Gandhi Giordano

Engenheiro Químico pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Especialista em Engenharia Sanitária e Ambiental pela UERJ, Mestre em Ciência Ambiental – PGCA/UFF, Doutor em Engenharia Metalúrgica e de Materiais – PUC-Rio, Prof. Adjunto no Depto. de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente e da FEN/UERJ e Diretor Técnico da TECMA- Tecnologia em Meio Ambiente Ltda.

Daniele Maia Bila

Engenheira Química pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Prof. Adjunto no Depto. de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente e da FEN/UERJ, Coordenadora do Mestrado em Engenharia Ambiental da UERJ

Endereço⁽¹⁾: Rua Abílio de Souza, 486 – Vila Santa Isabel – Resende - RJ - CEP: 27522-060 - Brasil - Tel: +55 (24) 81241064 - e-mail: iaralmeida@gmail.com

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar a qualidade de efluentes líquidos industriais, pela caracterização físico-química e ensaios ecotoxicológicos agudos com *Danio rerio*, *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*. Foram comparadas as toxicidades entre os organismos-teste aos efluentes de indústria alimentícia, papel e petroquímica, sendo que estes organismos pertencem a três níveis tróficos diferentes. Foi implementado o método de ensaio com bactérias luminescentes, o Microtox, de acordo com a NBR 15411 (ABNT, 2006). Este estudo pode ser uma contribuição para legislações estaduais do Rio de Janeiro e a legislação Federal. Na maioria dos ensaios, os efluentes apresentaram parâmetros físico-químicos dentro dos limites permitidos pela legislação. Mesmo assim, algumas vezes foram causadas toxicidades nos organismos-teste. Foram utilizados efluentes tratados das ETEI dessas indústrias, podendo ser avaliada a sensibilidade de cada organismo a cada efluente do estudo. Em algumas coletas desses efluentes tratados das ETEI da Indústria Alimentícia, de Papel e Celulose e Petroquímica, foram observadas respostas biológicas dos efluentes às bactérias, o efeito *Hormesis*, que indica que a amostra não possui toxicidade aguda, mas é muito provável que apresente toxicidade crônica. O organismo que se mostrou mais sensível aos efluentes das três matrizes industriais foi a bactéria *Vibrio fischeri*.

PALAVRAS-CHAVE: Toxicidade, efluentes industriais, *Danio rerio*, *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*.

INTRODUÇÃO

A água é um recurso finito, sendo que a taxa de exploração da água potável não permite a reposição em taxas compatíveis com o consumo. A degradação do meio aquático ocorre por decorrência das atividades humanas por meio de um crescimento acelerado da economia e do capitalismo, prejudicando a sobrevivência dos organismos, e assim gerando efeitos aos ecossistemas.

A preocupação com a poluição de ambientes aquáticos levou o setor industrial a investir em processos ecologicamente corretos, adotando medidas de gerenciamento e monitoramento.

A fim de prever o risco ambiental, são utilizadas análises físico-químicas e ecotoxicológicas com biomonitores padronizados em laboratórios, para avaliação do efluente, pois é inviável identificar todas as substâncias que possam estar causando toxicidade no efluente.

Legislações ambientais federais e estaduais necessitam de contribuições científicas da ecotoxicologia para definir valores de limites de emissão de substâncias que possam estar presentes nos efluentes líquidos.

O objetivo geral do trabalho foi avaliar efluentes tratados de segmentos industriais (Alimentícia, Papeleira e Petroquímica) quanto às suas características físico-químicas e ecotoxicológicas, investigando a toxicidade em organismos de três níveis tróficos quando expostos às amostras, e verificando se os valores limites descritos nas legislações estadual e federal para parâmetros físico-químicos possuem restrição suficiente para não causar danos aos organismos.

MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras foram coletadas das ETEI das indústrias, realizadas entre dezembro de 2011 e setembro ou outubro de 2012, com coletas mensais.

As amostragens foram compostas, e as amostras para análises de toxicidade não receberam preservação química, sendo congeladas ao chegar ao laboratório.

Foram realizadas as caracterizações físico-químicas das amostras, baseados nas metodologias descritas no APHA (APHA, AWWA, WEF, 2012). Alguns parâmetros analisados foram DQO, DBO₅, oxigênio dissolvido, óleos e graxas totais, óleos e graxas vegetais, pH, materiais sedimentáveis, detergentes (MBAS), índice de fenóis, nitrogênio total, fósforo total, sulfeto, zinco total, condutividade elétrica e sulfeto, dependendo da indústria em questão. Os ensaios de toxicidade foram realizados com organismos de três níveis tróficos: o peixe *Danio rerio*, o microcrustáceo *Daphnia similis* e a bactéria luminescente *Vibrio fischeri*.

ENSAIOS DE TOXICIDADE AGUDA COM *VIBRIO FISCHERI*

Vibrio fischeri é uma espécie de bactéria marinha gram-negativa, decompositor na cadeia trófica, anaeróbica facultativa, que apresenta luminosidade em condições ideais, devido ao funcionamento da sua cadeia respiratória. Quando a bactéria fica exposta a toxinas, sua bioluminescência perde a expressão.

Para a realização dos ensaios com *Vibrio fischeri* foi utilizada a Norma Técnica NBR 15411-3 (ABNT, 2006). Foi determinada a taxa de inibição metabólica, expressa como inibição da luminescência, de bactérias liofilizadas a diferentes diluições de uma amostra durante 30 minutos, por meio do equipamento MICROTOX, marca SDI, modelo 500 Analyser, o qual consiste em um luminômetro, com controle de temperatura.

Antes do ensaio, o pH foi ajustado e as amostras foram salinizadas, devido à espécie da bactéria ser salina. A concentração inicial dos ensaios foi 81,9% da amostra, por causa das diluições iniciais necessárias para realização dos ensaios. A bactéria liofilizada precisou ser reconstituída para o início dos ensaios. Foram realizadas diluições em série, com fator de diluição 2.

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA COM *DAPHNIA SIMILIS*

Daphnia similis é um microcrustáceo de água doce, filtrador, sendo consumidor na cadeia trófica. Suas pernas revestidas por cerdas possuem a capacidade de reter o alimento, e suas antenas permitem a natação em movimentos verticais.

Os ensaios com *Daphnia similis* foram realizados segundo a Norma NBR 12713 (ABNT, 2009). Indivíduos jovens foram expostos a várias concentrações da amostra por 48 horas, realizados em quatro replicatas. A amostra-controle foi a água de diluição preparada no laboratório com as condições ideais de temperatura, pH, condutividade, oxigênio dissolvido e dureza. No início dos ensaios, foram medidos pH, oxigênio dissolvido, condutividade e dureza da água de cultivo, e também pH, condutividade e oxigênio dissolvido da amostra bruta. Ao fim dos ensaios, em 48 horas, foram medidos o oxigênio dissolvido e o pH da amostra e suas diluições, logo após serem realizadas as leituras de imobilidade dos organismos nos tubos de ensaio.

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA COM *DANIO RERIO*

O peixe *Danio rerio* é um pequeno ciprinídeo de água doce, conhecido por peixe-zebra devido à sua coloração listrada com azul e marrom. É utilizado largamente no campo científico.

O ensaio com peixes da espécie *Danio rerio* foi realizado segundo metodologia descrita na Norma NBR 15088 (ABNT, 2004). Foram colocados 10 peixes em cada béquer de cada diluição onde foram expostos às amostras por 48 horas. A amostra-controle foi a própria água de diluição preparada no laboratório em condições ideais de sobrevivência aos organismos. O ensaio foi mantido em temperatura ambiente, e o pH, oxigênio dissolvido e condutividade foram medidos em 0, 24 e 48 horas.

OBTENÇÃO DOS ORGANISMOS

Os organismos foram obtidos de diferentes formas. Os peixes foram comprados por um fornecedor com certificação, os microcrustáceos foram obtidos na CETESB, e desde então cultivados no laboratório e as bactérias foram adquiridas comercialmente em forma liofilizada por uma empresa revendedora certificada.

VALIDAÇÃO DOS RESULTADOS

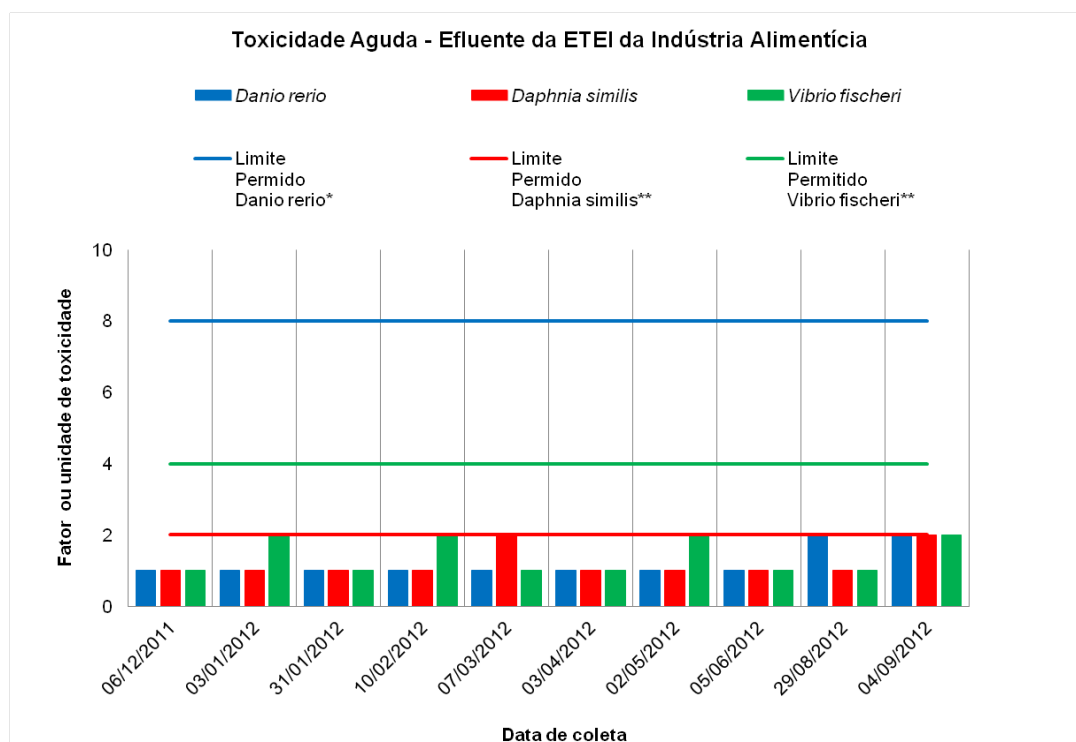
A fim de validar os resultados, foram realizados ensaios de sensibilidade utilizando substâncias de referência, de acordo com as normas ABNT para cada organismo, com construção de cartas-controle. Esses ensaios de sensibilidade têm a principal função testar a tolerância dos organismos-teste à substância de referência. Além disso, as Normas ABNT referentes aos organismos padronizados obtêm valores que validam o teste, como para a bactéria, a norma cede valores fixos de porcentagem de inibição em resposta a sulfato de zinco heptahidratado e valor de gama do controle. Para o peixe e o microcrustáceo, os ensaios são validados se a mortalidade ou imobilidade, respectivamente, no controle não exceder 10%. Os resultados puderam ser expressos em FT (fator de toxicidade), segundo as legislações pertinentes.

A NT 213R.04 (INEA, 1990) possui valor limite de FT para o *Danio rerio*, que é 8. A Portaria 017 (FATMA, 2002) possui valores limites de FT para *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*, dependendo do tipo de efluente. O trabalho foi baseado nos limites permitidos de FT para cada organismo por estas legislações.

RESULTADOS

INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

Dentre 10 coletas realizadas, para os três organismos o FT variou entre 1 e 2, estando dentro dos limites permitidos pelas legislações vigentes. O organismo que mostrou maior variação de toxicidade foi a bactéria, conforme observado na Figura 1.



*Limite Permitido pela NT 213 R. 04 (INEA, 1990)

** Limite Permitido pela Portaria Nº 017/02 (FATMA, 2002)

Figura 1: Valores de FT para *Danio rerio*, *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri* para a Indústria Alimentícia entre dezembro de 2011 e setembro de 2012

Segundo Menezes & Santos (1999), apresentar maior sensibilidade é poder conhecer os resultados verdadeiros-positivos e ter maior especificidade é poder distinguir os verdadeiros negativos. Ensaio sensível englobam grupos maiores de contaminantes, a fim de serem realizados ensaios mais específicos. O ensaio sensível é capaz de detectar o mínimo efeito de uma substância ou um efluente analisado. Neste trabalho, o ensaio de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* foi o que mais detectou toxicidade no efluente em questão por ele ser o mais sensível quando comparado ao ensaio com *Danio rerio* e *Daphnia similis*.

Em quatro dentre as dez coletas realizadas, determinou-se a resposta biológica *hormesis* para a bactéria luminescente. Esse efeito é um estímulo de luz do organismo a baixos níveis de contaminantes na amostra, sendo uma forma de reação, a qual indica toxicidade aguda nula e possível contaminação que só poderá ser confirmada a partir de ensaios crônicos (CALABRESE & BLAIN, 2011; NASCARELLA, 2003).

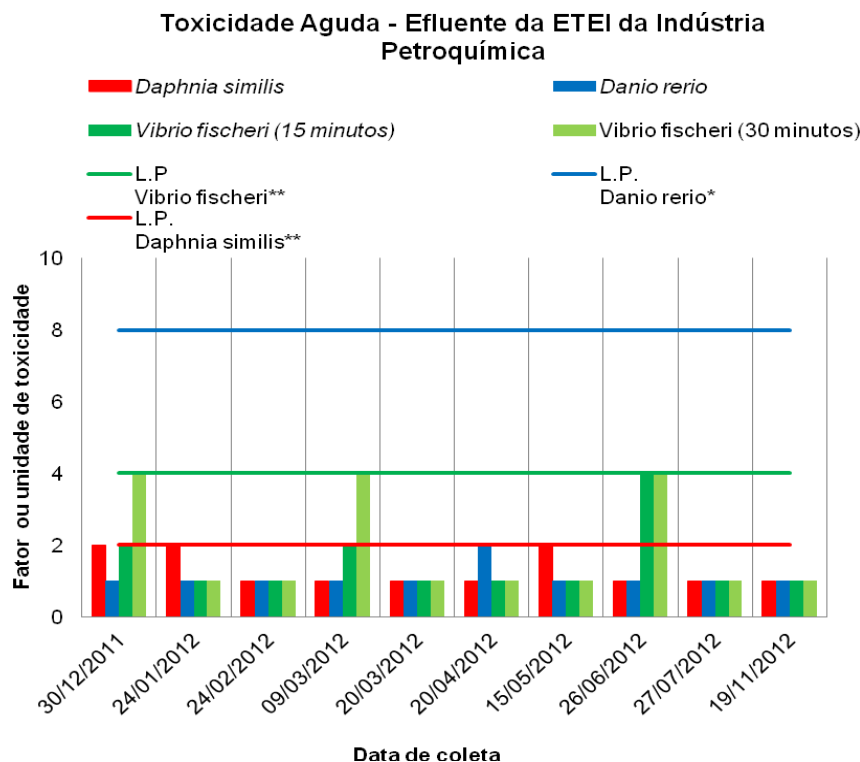
Em todo o período de coleta, os parâmetros físico-químicos estavam dentro dos limites permitidos pela legislação do Rio de Janeiro, a NT 202 R.10 (INEA, 1986) e a DZ 205 R.04 (INEA, 2007), conforme a Tabela 1.

Tabela 1: Valores de parâmetros físico-químicos do efluente final da Indústria Alimentícia

PARÂMETRO	Valores
DBO ₅ , mg L ⁻¹	3 - 21
DQO, mg L ⁻¹	15 - 164
Óleos e graxas totais, mg L ⁻¹	<6,0
pH a 25° C	6,84 - 8,1
Materiais sedimentáveis, mL L ⁻¹	<0,5 - 3
Detergentes (MBAS), mg L ⁻¹	<0,40

INDÚSTRIA PETROQUÍMICA

Foram realizadas dez coletas para o efluente final da ETEI da Indústria Petroquímica. A Figura 2 apresenta as sensibilidades relativas aos três organismos-teste.



*Limite Permitido pela NT 213 R. 04 (INEA, 1990)

** Limite Permitido pela Portaria Nº 017/02 (FATMA, 2002)

Figura 2: Valores de FT para *Danio rerio*, *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri* para a Indústria Petroquímica entre dezembro de 2011 e agosto de 2012

Os valores de FT para *Danio rerio* foi 1 em nove coletas e 2 em uma, no gráfico mostrado como ponto fora da curva. Para *Daphnia similis*, os valores oscilaram entre 1 e 2. Para *Vibrio fischeri*, em 15 minutos, os valores de FT estiveram entre 1 e 2, com um FT=4. Em 30 minutos de ensaio, os valores de FT variaram entre 1 e 4, mostrando que a sensibilidade para a bactéria em 15 minutos foi diferente da sensibilidade encontrada em 30 minutos. Quando em 15 minutos, a bactéria foi tão sensível quanto a *Daphnia similis*. Mas em 30 minutos de exposição à amostra, a bactéria foi mais sensível que a *Daphnia similis*. O *Danio rerio* não foi sensível. Em três das coletas realizadas foi determinado o efeito *hormesis*.

Em todo o período de coleta, os parâmetros físico-químicos estiveram dentro dos limites permitidos pela legislação do Rio de Janeiro, a NT 202 R.10 (INEA, 1986) e a DZ 205 R.04 (INEA, 2007), conforme pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 1: Valores de parâmetros físico-químicos do efluente final da Indústria Petroquímica

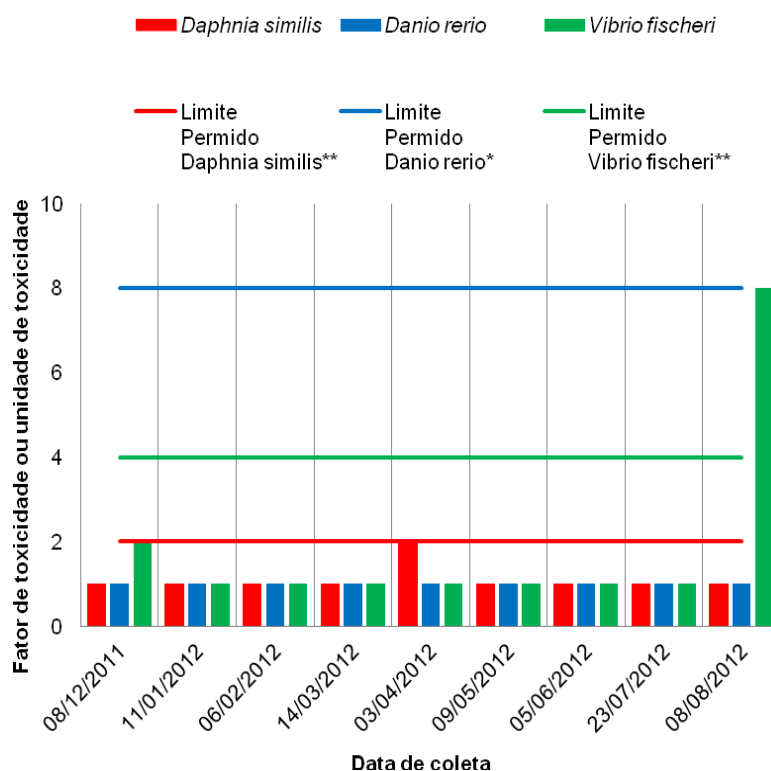
PARÂMETRO	Valores
DQO, mg/L O ₂	15 - 45
DBO ₅ , mg/L O ₂	<3 - 8
Detergentes (MBAS), mg/L	<0,40
Óleos e graxas totais, mg/L	<6,0
Materiais Sedimentáveis	<0,5
Sulfeto, mg/L S	<0,1
Zinco Total, mg/L Z	<0,17 - 0,28
Índice de Fenóis	<0,08

INDÚSTRIA DE PAPEL E CELULOSE

Para a Indústria de Papel e Celulose foram realizadas nove coletas para realização dos ensaios de toxicidade aguda com os três organismos-teste.

A Figura 3 apresenta um gráfico referente aos valores de FT do *Danio rerio*, da *Daphnia similis* e da *Vibrio fischeri* para o efluente final da Indústria de Papel e Celulose.

Toxicidade Aguda - Efluente da ETEI da Indústria de Papel e Celulose



*Limite Permitido pela NT 213 R. 04 (INEA, 1990)

** Limite Permitido pela Portaria Nº 017/02 (FATMA, 2002)

Figura 3: Valores de FT para *Danio rerio*, *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri* para a Indústria de Papel e Celulose entre dezembro de 2011 e agosto de 2012

Observa-se que a bactéria demonstrou maior sensibilidade à amostra quando comparada a outros organismos. Os valores da FT para o *Danio rerio* mantiveram constante em todo o período de amostragem, para *Daphnia similis* também, com apenas um dia gerando resultado diferente. O valor de FT para a *Vibrio fischeri* foi maior que 1 em duas das coletas realizadas.

Os valores de FT para o peixe e o microcrustáceo estiveram dentro dos limites permitidos, mas na última coleta, o FT da bactéria ultrapassou o limite permitido (FT=4). Isso pode ter sido devido ao alto valor encontrado nessa coleta para o Nitrogênio total, que foi 67 mg de N L⁻¹.

Os parâmetros físico-químicos de todas as coletas estiveram dentro dos limites permitidos pela NT 202 R.10 (INEA, 1986) e a DZ 205 R.04 (INEA, 2007), exceto na última coleta com valor acima de nitrogênio total. A Tabela 3 apresenta os valores dos parâmetros físico-químicos determinados durante o estudo com o efluente final da Indústria de Papel e Celulose.

Tabela 3: Valores de parâmetros físico-químicos do efluente final da Indústria de Papel e Celulose

PARÂMETRO	Valores
DBO ₅ , mg/L O ₂	3 - 31
DQO, mg/L O ₂	21- 162
Nitrogênio Total, mg/L N	0,28 – 66,4
Óleos e graxas vegetais, mg/L	<6,0
Fósforo Total, mg/L P	<0,1 – 0,8

CONCLUSÕES

Os três organismos foram considerados bons indicadores de toxicidade, por cada um ser sensível a pelo menos um efluente.

Nos três efluentes analisados, a bactéria *Vibrio fischeri* mostrou maior toxicidade nos efluentes de todas as indústrias estudadas.

Os valores determinados de FT para os organismos-teste podem ter variado bastante devido a mudança de matérias-primas utilizadas no mês, eficiência operacional, pois a toxicidade é um parâmetro que não analisa um composto somente, e sim uma mistura de substâncias.

Muitas dos resultados encontrados possuem FT>1, mesmo com todos os parâmetros físico-químicos estando dentro da NT 202 R.10 (INEA, 1986) e da DZ 205 R.04 (INEA, 2007), o que pode ser uma contribuição a essas legislações, a fim de se tornarem mais restritivas.

O efluente da Indústria Alimentícia e da Petroquímica apresentaram algumas coletas que foi detectada a resposta biológica *hormesis*, sugerindo provável toxicidade crônica naquelas amostras, confirmando a necessidade de um ensaio mais específico que o ensaio de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*.

A Resolução CONAMA 430 (Brasil, 2011) estabelece a que os ensaios ecotoxicológicos realizados no efluente líquido devem utilizar organismos aquáticos de pelo menos dois níveis tróficos diferentes, e essa importância pôde ser observada com os resultados obtidos neste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA, AWWA, WPCF. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. New York: 22th. Edition, 2012
2. ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS) NBR 15411. Ecotoxicologia Aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (Ensaio de bactéria luminescente), 2006.
3. ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS) NBR 12713. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Aguda – Método de Ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera), 2009.
4. ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS) NBR 15088. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Aguda – Método de Ensaio com peixes, 2011.
5. CALABRESE, E.J. & BLAIN, R.B. The hormesis database: The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 61, 73–81, 2011
6. CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). Resolução 430. Condições e padrões de lançamento de efluentes. Ministério do Meio Ambiente, 2011.
7. INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE. Diretriz 205 R.06. Diretriz de Controle de Carga Orgânica em Efluentes Líquidos de origem Industrial. Rio de Janeiro, 2007.
8. INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE., Norma Técnica 213 R.04. Critérios e Padrões para Controle da Toxicidade em Efluentes Líquidos Industriais. Rio de Janeiro, 1990
9. INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE – Diretriz 202 R.10. Critérios e Padrões para Lançamentos de Efluentes Líquidos. Rio de Janeiro, 1986
10. MENEZES, A.M.B & SANTOS, I. da S. Curso de Epidemiologia Básica para pneumologistas. *J Pneumol* 25(6), 1999.
11. NASCARELLA, M.A.; JR., J.G.S.; STANEK III, E.J.; KOSTECKI, P.T.; CALABRESE, E.J. Hormesis and stage specific toxicity induced by cadmium in an insect model, the queen blowfly, *Phormia regina* Meig. *Environmental Pollution* 124, 257-262, 2003.
12. <http://www.ou.edu/cas/botany-micro/faculty/dunn.html> (acessado em 03/03/2013 às 17:00)
13. <http://pt.wikipedia.org/wiki/D%C3%A1fnia> (acessado em 03/03/2013 às 17:15).