

IX-063 – OS EFEITOS CAUSADOS NA MICROALGA *Scenedesmus subspicatus* PELAS ÁGUAS DE ESCOAMENTO SUPERFICIAL DE UMA ÁREA UTILIZADA PARA ESTOCAGEM DE MADEIRA**Fabio Kaczala** ⁽¹⁾

Bolsista CAPES de doutorado pleno no Exterior em Engenharia Ambiental na Linnaeus University, Kalmar, Suécia. Engenheiro Civil-Ênfase em Engenharia Sanitária pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro-UERJ, MSc em Saúde Pública pela Escola Nacional de Saúde Pública-ENSP/FIOCRUZ Membro do Grupo de Pesquisa *BioProcess*

Paulo S Salomon

Formado em Oceanologia pela Universidade Federal do Rio Grande (1996), graduação em Ciências pela Fundação Educacional de Brusque (1990), mestrado em Oceanografia Biológica pela Universidade Federal do Rio Grande (1999) e doutorado em Ecologia Aquática - University of Kalmar (2004). Atualmente é pesquisador da Linnaeus University, Kalmar – Suécia.

Marcia Marques

Marcia Marques (Gomes) é Prof. Adjunto do Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente, Universidade do Estado do Rio de Janeiro-UERJ. BSc e MSc em Biologia (Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ), PhD em Engenharia Química pelo Royal Institute of Technology (Estocolmo), Docente pela Chalmers Technical University e Pós-Doutorado pela University of Kalmar, Suécia. Orienta alunos de iniciação científica, especialização, mestrado e doutorado e é Líder do Grupo de Pesquisa *BioProcess*

Edna Graneli

Edna Graneli é Professora Catedrática e Diretora Científica do Departamento de Ecologia Marinha da Linnaeus University, Kalmar-Suécia, PhD em Ecologia Aquática pela Lund University, Lund-Suécia e BSc em Biologia Marinha (Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ).

William Hogland

Prof. Titular de Engenharia Ambiental e Reciclagem da University of Kalmar, Suécia. Engenheiro Civil, MSc em Engenharia Civil e DSc em Engenharia de Recursos Hídricos pela Lund University, Suécia. Desenvolve pesquisas em sistemas de tratamento de chorume, recuperação energética a partir de resíduos sólidos, tratamento de águas residuárias industriais e aspectos econômicos de gerenciamento de resíduos sólidos. Membro do Grupo de Pesquisa *BioProcess* UERJ/CNPq.

Endereço ⁽¹⁾: Landgängen 3, Kalmar. SE 39182. Suécia. Tel: + 46 (480) 44 6994. e-mail: fabio.kaczala@lnu.se

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo investigar a magnitude e variabilidade dos efeitos causados por águas de escoamento superficial gerados em uma área de estocagem de madeira bruta na microalga *Scenedesmus subspicatus* ao longo de um hidrograma. A área de drenagem é localizada em uma região ao sul da Suécia e tem aproximadamente 117.000 m². O escoamento superficial proveniente de dois eventos de chuva no verão do ano de 2009 (18 de Junho e 1º de Julho) foi coletado em amostras simples em diferentes pontos do hidrograma. As células de *Scenedesmus subspicatus* foram expostas às diferentes concentrações (% v:v) - 0,4, 1,58, 6,25, 25 e 100 – águas de escoamento superficial por um período de 96 h. Os efeitos observados foram determinados através de uma análise comparativa entre as taxas de crescimento dos organismos-teste expostos às águas industriais e o controle (microalga exposta à água destilada). Enquanto que as águas de escoamento superficial decorrentes do evento de chuva do dia 18 de junho (evento 1) causaram na maioria das vezes estímulo ao crescimento de *S. Subspicatus*, as águas de escoamento superficial coletadas após o evento de chuva de 1 de julho (evento 2) causaram efeitos inibitórios significativos ($p < 0.05$). A hipótese do “first flush” tóxico foi confirmada uma vez que 42, 51 e 50% dos efeitos tóxicos totais causados após os tempos de exposição de 24, 48 e 72h respectivamente estiveram associados aos primeiros 4% do volume total de escoamento lançados ao corpo receptor. Os efeitos opostos (inibição e estímulo) obtidos no presente estudo sugerem que as características físico-químicas das águas estudadas e os fatores hidro-meteorológicos associados a cada evento coletado sejam os principais fatores responsáveis por este resultado. Convém enfatizar que os possíveis efeitos estimulatórios ao causados por estas águas indicam a necessidade de um tratamento antes que estas águas sejam lançadas aos corpos receptores reduzindo e/ou evitando, assim, sérios problemas ambientais como por exemplo a eutrofização.

PALAVRAS-CHAVE: toxicidade, first flush, inibição de crescimento, escoamento superficial

INTRODUÇÃO

Atualmente, os problemas decorrentes do lançamento de águas de escoamento superficial provenientes de áreas urbanas em corpos receptores e seus respectivos efeitos em organismos aquáticos são largamente documentados na literatura. Por um outro lado, pouco se sabe à respeito das águas de escoamento superficial em áreas industriais e os seus respectivos impactos nos corpos aquáticos.

Dentre as diversas atividades industriais existentes nos dias de hoje, a poluição difusa originária de áreas externas utilizadas para a estocagem e o manuseamento de madeira bruta podem causar sérios impactos devido à presença de diversos compostos orgânicos e inorgânicos. A presença de aldeídos, taninos, lignina, ácidos resinosos, pH's ácidos, cobre e zinco tem sido reportados como as principais causas de efeitos tóxicos causados por estas águas (Bailey et al., 1999).

Apesar destas águas já terem sido caracterizadas do ponto de vista físico-químico, de acordo com Hedmark & Scholz (2008) estas características podem sofrer grandes variações que dependem de fatores como: (i) as espécies de madeira estocadas, (ii) a quantidade de água que entra em contato direto com a madeira estocada, (iii) o tamanho da área externa em questão, (iv) o tempo em que as madeiras estão estocadas, (v) a razão entre a área utilizada para a estocagem propriamente dita e a área total externa, dentre outros.

Mesmo que os efeitos tóxicos destas águas já tenham sido investigados ainda que brevemente, ainda há uma falta de conhecimento em relação à magnitude e à variabilidade destes efeitos tóxicos em diferentes pontos de um hidrograma em eventos de chuva isolados. Os estudos existentes que levam em consideração diferentes pontos do hidrograma têm tido como principal foco as características físico-químicas. Já existem dados na literatura demonstrando que 90% dos efeitos tóxicos decorrentes de águas de escoamento superficial em rodovias estão associados aos primeiros 20% do volume total do escoamento superficial, caracterizando assim a ocorrência de um "first flush" tóxico (Kayhanian et al., 2008). Com isto o principal objetivo deste trabalho foi o de realizar uma investigação preliminar à respeito da magnitude e o quão variável ao longo de um hidrograma são os efeitos causados por águas de escoamento superficial em uma área de estocagem de madeira bruta localizada em Nybro, Suécia. Para o presente estudo, a microalga *Scenedesmus subspicatus* foi utilizada como organismo-teste uma vez que estes tipos de organismos aquáticos são produtores primários, tem um curto ciclo de vida e qualquer efeito negativo sobre eles poderá se manifestar ao longo de toda a cadeia trófica.

MATERIAIS E MÉTODOS

A área industrial – O estudo foi realizado em uma área industrial utilizada para estoque de madeira bruta localizada na cidade de Nybro, Suécia. A área de drenagem é de aproximadamente 117.000 m² (Figura 1) e a principal espécie de madeira estocada é o carvalho (*Quercus robur*).

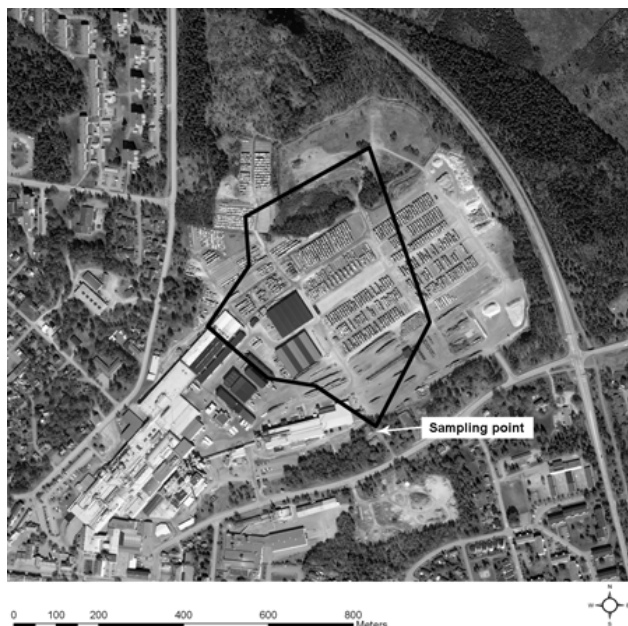


Figura 1: Vista aérea da área de estudos com os limites da bacia de drenagem. Escala 1:5000. (Kaczala et al., 2010).

Amostragem das Águas de Escoamento Superficial - O escoamento superficial proveniente de dois eventos de chuva no verão do ano de 2009 foi coletado em amostras simples em diferentes pontos do hidrograma: evento 1 (18 de junho); evento 2 (1 de julho). A amostragem foi feita através de um amostrador automático portátil SIGMA 900 MAX que foi instalado à juzante do sistema de drenagem (Figura 1 e Figura 2). O amostrador foi conectado a um pluviôgrafo e os valores de precipitação e vazão foram constantemente computados em intervalos de 5 minutos.



Figura 2: Amostrador automático instalado no poço de visita à juzante da bacia de drenagem e ao fundo o pluviôgrafo

Organismos teste e procedimentos experimentais - A microalga *Scenedesmus subspicatus* foi utilizada como organismo teste no presente trabalho. Os organismos foram cultivados em laboratório em meio de cultivo Jaworski's em temperatura de 20 ± 2 °C e intensidade de luz variando entre 5000-8000 lux com foto-período de 16:8 h iluminado: escuridão. Ao atingirem a fase de crescimento exponencial após 3-4 dias de cultivo os testes de toxicidade foram iniciados. Durante os testes de toxicidade as células de *Scenedesmus subspicatus* foram expostas por um período de 96 h às águas de escoamento superficial em concentrações (% v:v) de 0,4, 1,58, 6,25, 25 e 100. Todos os fatores de diluição foram testados em triplicata. Os testes foram realizados em tubos de 6 mL onde 2,5 mL de águas de escoamento superficial em diferentes concentrações eram colocados em contato com 2,5 mL de cultura de alga contendo 20.000 células mL⁻¹. Com isto, os valores

de concentração das águas em estudo foram reduzidos à metade atingindo então concentrações finais de 0,2, 0,79, 3,125, 12,5 e 50%, juntamente com 10.000 células mL⁻¹. Todos os procedimentos foram realizados em uma câmara esterilizada para evitar contaminação externa. Os testes foram realizados com temperatura, fotoperíodo e intensidade de luz similares ao dos procedimentos de cultivo. As respostas das células de *S. subspicatus* quando expostas a diferentes concentrações de águas de escoamento superficial foram medidas através da fluorescência *in vivo* de Clorofila *a* com o uso de um fluorômetro. A fluorescência foi medida nos tempos de exposição de 0, 24, 48, 72 e 96 h.

Análise dos dados - Os efeitos causados pelas diferentes concentrações de águas de escoamento superficial foram determinados através de uma comparação entre as taxas de crescimento dos organismos teste expostos às águas industriais e o controle (microalga exposta à água destilada). Através das taxas de crescimento das algas, o % de inibição em relação ao controle foi dado por:

$$I\% = \frac{(\mu_c - \mu_e)}{\mu_c} \times 100 \quad (\text{eq 1})$$

Onde *I%* é o percentual de inibição, μ_c and μ_e são as taxas de crescimento médio do controle e das algas expostas respectivamente. $I\% > 0$ and $I\% < 0$ foram considerados como inibição e estímulo respectivamente. As análises estatísticas utilizadas no presente estudo foram previamente descritas por Kaczala et al., (2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Evento 1 - 18 de junho 2009

As águas de escoamento superficial decorrentes do evento 1 causaram em sua maioria estímulo ao crescimento de *S. Subspicatus* (Figura 3). O estímulo ao crescimento das algas pode estar relacionado a presença de alguns compostos nestas águas tais como nutrientes e até mesmo metais. De acordo com as análises estatísticas, uma diferença significativa ($P < 0.05$) dos efeitos causados pelas diferentes amostras coletadas ao longo do evento de escoamento superficial foi observada. Amostras coletadas nos primeiros 100 minutos de escoamento superficial causaram um efeito estimulatório significativamente maior do que as amostras retiradas durante os últimos 110 minutos. Como era de se esperar, quanto menor as concentrações de águas de escoamento superficial, menores foram os efeitos de estímulo ou inibição observados.

Evento de chuva 2- 1 Julho 2009

Conforme pode-se observar na Figura 4, as águas de escoamento superficial coletadas após o evento de chuva de 1 de julho causaram efeitos de inibição significativos às microalgas ($p < 0.05$) alcançando em alguns casos valores de 100% de inibição em relação ao controle (Figura 4a1). Contudo os efeitos de inibição foram reduzidos ao longo do período de exposição e uma grande diferença entre os efeitos inibitórios causados nas primeiras 24 h e ao fim das 96 h de exposição foi observada. A redução dos efeitos inibitórios ao longo do tempo sugerem uma adaptação da *S. subspicatus* às condições iniciais desfavoráveis. Uma outra explicação pode ser o fato de que alguns compostos tóxicos presentes nas águas de escoamento superficial tornaram-se menos disponíveis para as microalgas devido à possíveis transformações químicas, mudanças nas condições externas (pH) e também degradação (Luz, bactéria).

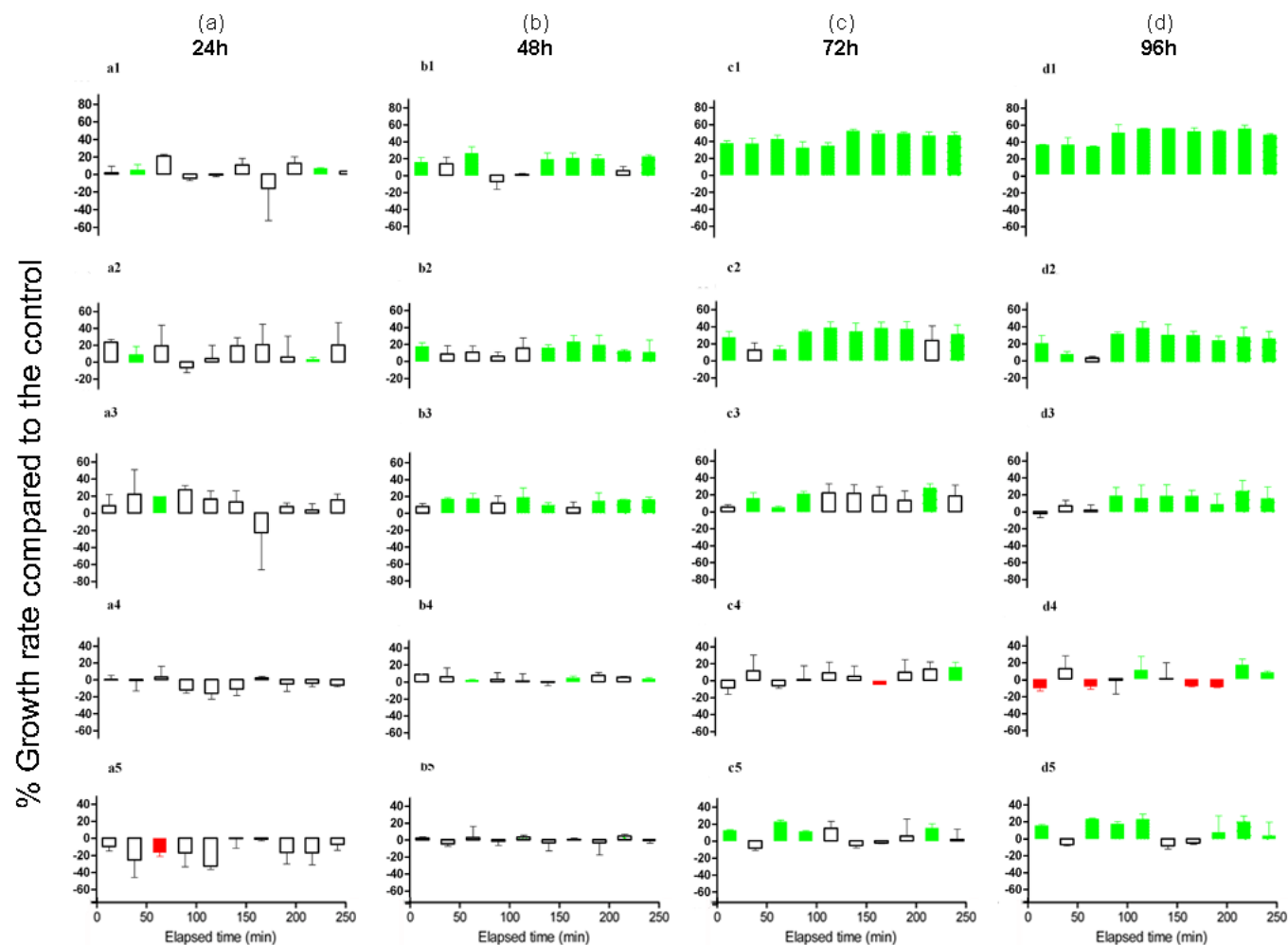


Figura 3: Taxa de crescimento de *S. subspicatus* em relação ao controle quando expostas às diferentes amostras de águas de escoamento superficial do evento de 18 de junho 2009 nos tempos de exposição (a) 24h; (b) 48 h; (c) 72h e; (d) 96h. As linhas representam as concentrações de (i) 50; (ii) 12.5; (iii) 3.13; (iv) 0.79 e; (v) 0.2 % (v:v). Whiskers – Desvio Padrão. Barras em branco – não significativo (one-sample t-test, $p > 0.05$). (Kaczala et al., 2010)

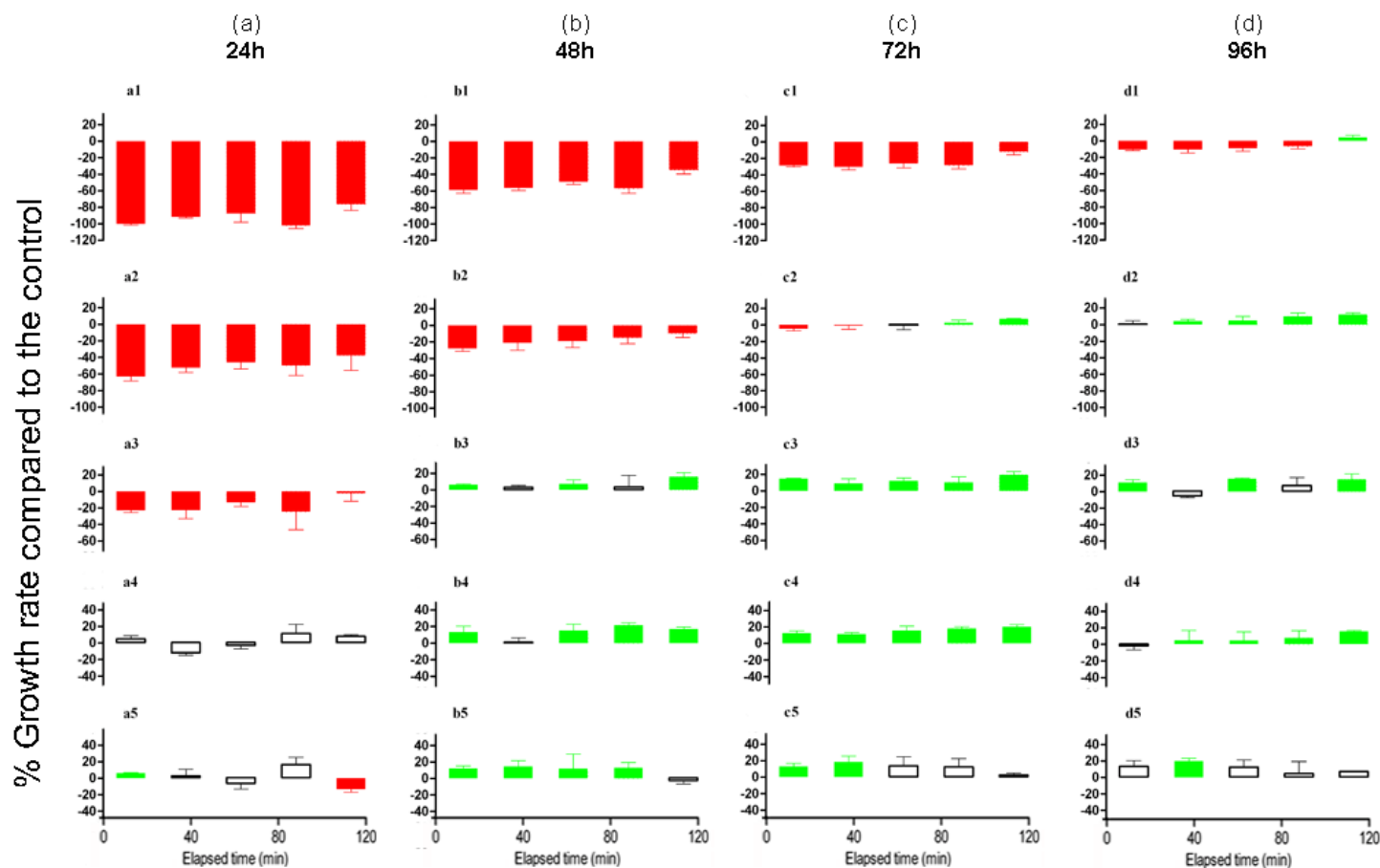


Figura 4: Taxa de crescimento de *S. subspicatus* em relação ao controle quando expostas às diferentes amostras de águas de escoamento superficial do evento de 1 de julho 2009 nos tempos de exposição (a) 24h; (b) 48 h; (c) 72h e; (d) 96h. As linhas representam as concentrações de (i) 50; (ii) 12.5; (iii) 3.13; (iv) 0.79 e; (v) 0.2 % (v:v). Whiskers – Desvio Padrão. Barras em branco – não significativo (one-sample t-test, $p > 0.05$). (Kaczala et al., 2010)

Avaliação do “first flush” tóxico. – Toxicidade normalizada Vs volume de escoamento normalizado

Para que os efeitos da vazão no sistema de drenagem não interferissem nas análises de toxicidade, uma avaliação do efeitos tóxicos em diferentes pontos do hidrograma com os dados normalizados juntamente com o volume de escoamento normalizado tem sido recomendado (Kayhanian et al., 2008). Os resultados mostraram que a ocorrência do “first flush” foi evidente levando em consideração os tempos de exposição de 24; 48 e 72-h. Como pode ser observado na Figura 5 abaixo, 42, 51 e 50% dos efeitos tóxicos totais causados após os tempos de exposição de 24, 48 and 72h respectivamente estiveram associados aos primeiros 4% do volume total de escoamento lançando ao corpo receptor.

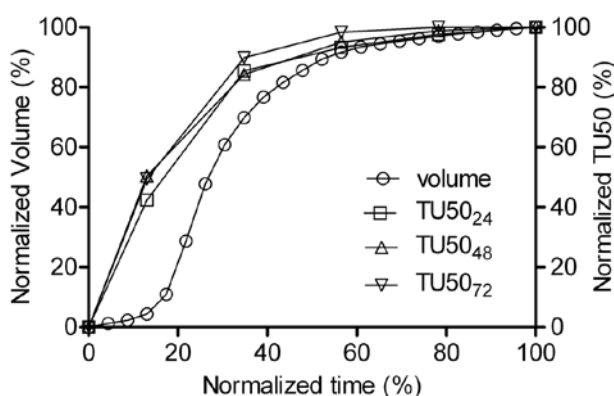


Figure 5: Valores normalizados do volume de escoamento superficial e unidades tóxicas (TU) em função do tempo transcorrido durante o evento de escoamento para os períodos de exposição de 24, 48 e 72 h. (Kaczala et al., 2010)

Características dos Eventos de Chuva – Conforme mencionado anteriormente, enquanto que as águas superficiais do evento 1 causaram em sua grande maioria estímulo ao crescimento de células de *S. Subspicatus*, o escoamento superficial decorrente do evento 2 inibiu o crescimento dos organismos-teste. Os resultados sugerem que os efeitos opostos observados no presente estudo – inibição e estímulo - foram influenciados tanto pelas características hidro-meteorológicas de cada evento (intensidade de chuva, precipitação, período de seca antecedente, duração) como também pelas características físico-químicas das águas coletadas. Tal afirmativa se baseia nas diferenças significativas (*t*-test, $p < 0.05$) observadas entre os dois eventos de chuva em relação às concentrações de metais tóxicos, e também valores de pH e condutividade. As águas coletadas ao longo do evento 2 apresentaram valor médio de pH significativamente mais baixo ($p < 0.05$) do que o evento 1 sendo possivelmente esta uma das causas dos efeitos inibitórios observados durante este evento. Existem estudos que relacionam os efeitos de toxicidade aguda causados por lixiviados de madeira com valores de pH na faixa ácida que por sua vez é resultante da presença de ácidos resinosos, característica comum em tais águas (Hedmark and Sholz, 2008; Bailey et al., 1999). No presente estudo também foram observadas diferenças significativas nas concentrações de metais tóxicos das águas de escoamento superficial quando comparados os eventos 1 e 2. Com exceção do cobre, as concentrações de cromo, níquel, vanádio, bário, e zinco foram significativamente maiores (*t*-test; $p < 0.05$) no evento 1 (Figura 6).

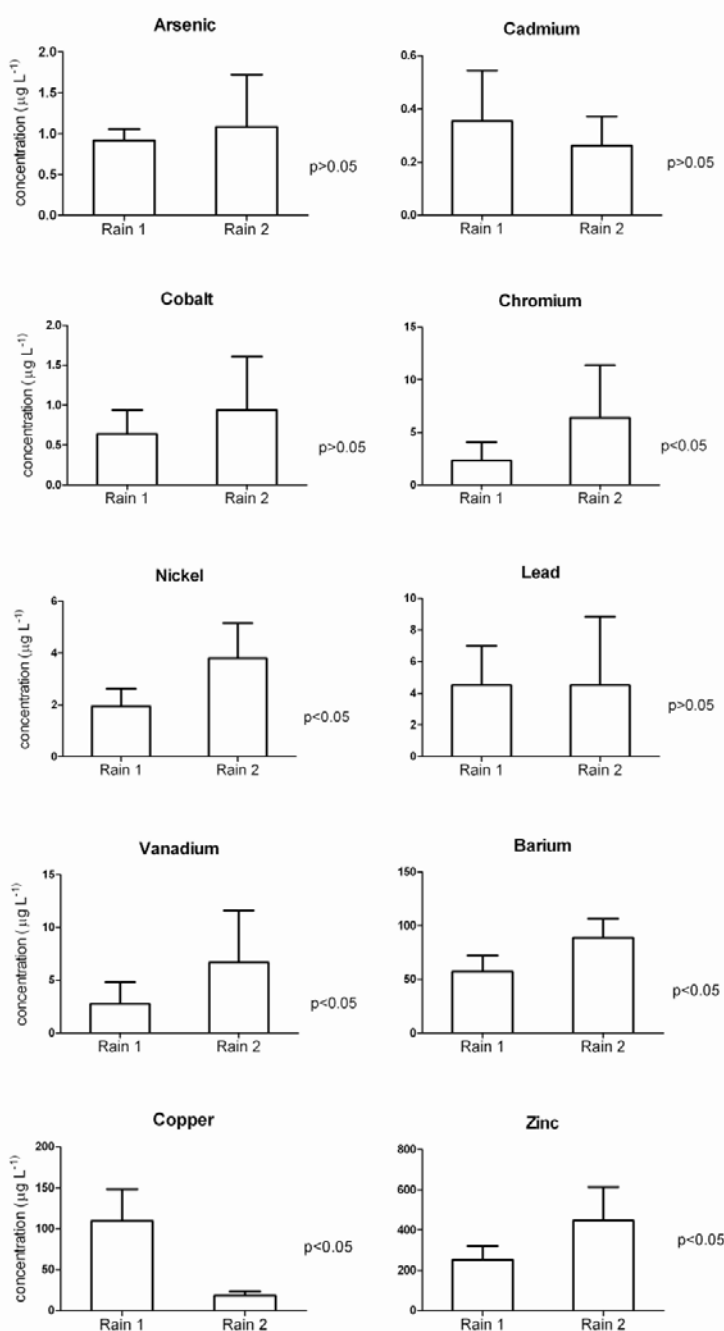


Figure 6: Valores médios e desvio padrão das concentrações de metais detectadas durante (a) evento 1 (n=10) e (b) evento 2 (n=5) (Kaczala et al., 2010)

Além das características físico-químicas, os fatores hidro-meteorológicos tais como duração do evento de chuva, altura de chuva e intensidade média também exerceram influência nas respostas dos organismos-teste. Enquanto que foram medidos 3 mm de chuva em 115 minutos no evento 1 (intensidade média de 1.56 mm/h), apenas 1.25 mm em um período de 45 minutos foi medido no evento 2 (intensidade média de 1.66 mm/h). Os dados sugerem que uma altura de chuva menor no evento 2 porém uma intensidade equivalente ao evento 1 possa ter causado a presença de maiores concentrações de metais e H⁺ detectadas nas águas de escoamento superficial deste evento. Assumindo que intensidades equivalentes de precipitação teriam a capacidade de carrear a mesma massa de poluentes da superfície da área de drenagem, é lógico afirmar que maiores concentrações seriam detectadas em menores volumes de água, causando assim, efeitos tóxicos e inibição de crescimento das algas, fato observado no evento 2. Os resultados observados estão de acordo com Greenstein

et al., (2004) que mencionam os efeitos tóxicos de águas de escoamento superficial como sendo inversamente proporcionais à duração do evento de chuva em condições de intensidades de chuva similares.

CONCLUSÕES

As águas de escoamento superficial decorrentes de dois eventos de chuva coletados em uma mesma área industrial causaram efeitos opostos na microalga *S. Subspicatus*. Enquanto que o primeiro evento causou em sua maioria das vezes, estímulo ao crescimento dos organismos-teste, o segundo evento inibiu o crescimento dos mesmos. Os efeitos opostos (inibição e estímulo) obtidos no presente estudo sugerem que as características físico-químicas das águas estudadas e os fatores hidro-meteorológicos associados a cada evento sejam os principais responsáveis por este resultado. Convém enfatizar que os efeitos estimulatórios ao crescimento de algas causados por estas águas indicam a necessidade de um tratamento antes que sejam lançadas nos corpos receptores reduzindo e/ou evitando, assim, sérios problemas ambientais como por exemplo a eutrofização.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAILEY, H.C., ELPHICK, J.R., POTTER, A., CHAO, E., KONASEWICH, D, ZAK, J.B. Causes of toxicity in stormwater runoff from sawmills, *Environmental Toxicology Chemistry*, 18(1999), 1485-1491.
2. GREENSTEIN, D., TIEFENTHALER, L., BAY, S. Toxicity of parking lot runoff application of simulated rainfall. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 47(2004), 199-206.
3. HEDMARK, Å., SHOLZ, M. Review of environmental effects and treatment of runoff from storage and handling of wood, *Bioresource Technology*, 99(2008), 5997-6009.
4. KACZALA, F., SALOMON, P.S., MARQUES, M., GRANELL, E., HOGLAND, W. Effects from log-yard stormwater runoff on the microalgae *Scenedesmus subspicatus*: Intra-storm magnitude and variability. *Journal of Hazardous Materials* 185(2011), 732-739.
5. KAYHANIAN, M., STANSKY, C., BAY, S., LAU, S-L., STENSTROM, M.K. Toxicity of urban highway runoff with respect to storm duration. *Science of the Total Environment* 389(2008), 386-406.