

II-257 - MONITORAMENTO ECOTOXICOLÓGICO DE EFLUENTES DO SISTEMA INTEGRADO DISTRITO INDUSTRIAL (SIDI), UTILIZANDO ENSAIOS AGUDO E CRÔNICO COM O MICROCRUSTÁCEO *Daphnia magna*

Márcia Rodrigues de Sousa⁽¹⁾

Química pela Universidade Estadual do Ceará. Mestre em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Doutoranda em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental pela UFC.

Germana de Paiva Pessoa

Química Industrial pela Universidade Federal do Ceará. Mestre em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Doutoranda em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental pela UFC.

Patrícia Moreira Silveira

Aluna de graduação do curso de Engenharia Química pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Bolsista IC CNPQ.

André Bezerra dos Santos⁽¹⁾

Doutor em Saneamento Ambiental pela Wageningen University - Holanda. Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará.

Endereço⁽¹⁾: Campus do Pici, bloco 713. Pici. Fortaleza-Ceará-Brasil. CEP: 60.455-900 - Tel: (85) 3366-9490 - e-mail: andre23@ufc.br

RESUMO

Este trabalho avaliou o uso de ensaios ecotoxicológicos com o organismo-teste *Daphnia magna*, no biomonitoramento do efluente industrial real SIDI (Sistema Integrado do Distrito Industrial). Foram realizados ensaios de toxicidade agudo segundo metodologia NBR 12713 / 2004 e para o ensaio de toxicidade crônico foi utilizada metodologia adaptada de Brentano (2006). Os resultados do ensaio agudo demonstraram um caráter muito tóxico para o afluente SIDI, CE_{50} 18,05. O efluente tratado pelo sistema de lagoas SIDI apresentou um CE_{50} de 61,90, isso mostra que o sistema de lagoas de estabilização da ETE SIDI foi capaz de diminuir a toxicidade do esgoto para a classificação “moderadamente tóxico” com uma eficiência de 70,76% na remoção de toxicidade aguda. Os resultados do ensaio crônico mostraram nas concentrações 2 e 2,5% organismos com pequenas rupturas na carapaça e encurtamento do espinho apical e nas demais concentrações não foram observadas modificações morfológicas. Como conclusão deste trabalho é possível esclarecer que o efluente SIDI, com as características de toxicidade encontradas representa um sistema com uma carga poluidora preocupante quanto ao seu descarte no rio Maranguapinho. Foi possível mostrar também a grande importância dos testes ecotoxicológicos agudos e crônicos no biomonitoramento de efluente como uma alternativa de avaliar os processos de tratamento de esgotos.

PALAVRAS-CHAVE: Organismo-teste *Daphnia magna*, Efluente industrial, ensaios de toxicidade agudo, ensaios de toxicidade crônica.

INTRODUÇÃO

Sistemas de tratamento de efluentes apresentam-se como uma alternativa de diminuir os níveis de contaminantes que chegam aos corpos hídricos. Eles são utilizados não só com o objetivo de tratar os efluentes, mas também, adequá-lo aos padrões ambientais e garantir a proteção da biota e a qualidade da água.

A avaliação do atendimento da legislação ambiental vigente no estado do Ceará se dá pela utilização de análises físico-químicas e microbiológicas, onde as concentrações abaixo do limite estabelecido pela legislação são consideradas não impactantes no corpo receptor. Entretanto, sabe-se que isso nem sempre é verdade face à grande quantidade de compostos presentes em esgotos industriais que não possuem limite fixado nas legislações ambientais. Os parâmetros físico-químicos não demonstram os reais efeitos adversos aos organismos aquáticos presentes no corpo receptor bem como, o efeito sinérgico dos contaminantes.

Para isso os testes de ecotoxicidade apresentam-se como uma alternativa de monitoramento ambiental, pois os organismos vivos são importantes indicadores da ação dos poluentes na biota aquática. O resultado de bioensaios além de poder ser utilizado na determinação de padrões de lançamento e avaliação das eficiências das ETEs, pode também ser utilizado como ferramenta de análise de corpos receptores, complementando assim as análises tradicionais de controle da poluição (FILSER, 2008).

Este trabalho propõe a utilização de ensaios de ecotoxicidade aguda e crônica com o organismo-teste *Daphnia magna* para a avaliação da eficiência de Estações de tratamento de esgoto, tendo como estudo de caso o biomonitoramento da ETE SIDI (Sistema Integrado do Distrito Industrial) localizada na Região Metropolitana de Fortaleza.

MATERIAIS E MÉTODOS

CULTIVO DO ORGANISMO TESTE

O microcrustáceo *Daphnia magna* (Figura 1), utilizado neste trabalho como organismo teste, foi cultivado no Laboratório de Saneamento (Labosan), do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (DEHA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), segundo metodologia descrita na NBR 12.713 (ABNT, 2004).



Figura 1 - Organismo teste *Daphnia magna* cultivada no Labosan (imagem ampliada - 40x). Fonte: Labosan (2010)

Os organismos eram cultivados na forma de lotes sendo que cada lote comportava 30 indivíduos em 2L de meio de cultivo. Estes lotes eram formados exclusivamente por fêmeas. As fêmeas se reproduzem por partenogênese, o que garantia que os indivíduos gerados eram clones.

Os lotes receberam manutenção três vezes por semana, onde era realizada a troca do meio de cultivo, eliminação das mudas e remoção dos filhotes. Descartava-se o lote quando era constatada a presença de machos ou efípio (ovos resistentes resultantes de reprodução sexuada).

Os microcrustáceos foram acondicionados em câmara de germinação da marca Tecnal TE-401 com temperatura de $\pm 20^{\circ}\text{C}$, e fotoperíodo de 16 horas-luz. As *D. magna* foram alimentadas com suspensão da alga *Pseudokirchneriella subcapitata* na concentração diária de $4,5 \times 10^6$ células por mililitro por organismo adulto. O alimento foi fornecido diariamente, ou com intervalo máximo de dois dias (nos finais de semana).

Foram monitorados os parâmetros químicos garantindo para o meio de cultivo de *D. magna* as seguintes características: pH entre 7 e 8, dureza entre 175 mg/L CaCO_3 e 225 mg/L CaCO_3 e OD acima de 7 mg/L.

Para avaliar as condições fisiológicas dos organismos cultivados, foram realizados, periodicamente, testes de sensibilidade. Para a realização desses testes utilizou-se dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), como substância de referência, nas concentrações de: de 0,0; 0,125; 0,25; 0,5; 0,8 e 1,0 mg/L, além de um controle sem a adição da substância de referência.

EFLUENTE SIDI

O sistema integrado do distrito industrial (SIDI) atende a sete conjuntos habitacionais, com mais de 100.000 residentes (Timbó, Jereissati I, Jereissati II, Novo Maracanaú, Acaracuzinho, Novo Oriente e Industrial) e a mais de oitenta empresas implantadas no Distrito Industrial. O SIDI é uma estação de tratamento de efluente composta por uma sequência de cinco lagoas de estabilização em série (Figura 2), sendo uma anaeróbia (LA), uma facultativa (LF) e três de maturação (LM). A área total do sistema é cerca de 82 hectares.



Figura 2 - Sistema de lagoas de estabilização do SIDI Fonte: Google Earth, 2011

A caracterização ecotoxicológica utilizada nessa pesquisa se deu pela coleta de amostras de esgoto bruto e de esgoto tratado, coletado na saída da última lagoa de maturação, antes do descarte no corpo receptor (rio Maranguapinho). Foram realizados testes de toxicidade aguda e crônica.

ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA COM *DAPHNIA MAGNA*

Os ensaios de toxicidade aguda *D. magna* foram realizados com base na metodologia descrita na NBR 12.713 (ABNT, 2004). Fêmeas jovens, entre 2 e 26 h, foram expostas durante 48 h a seis diluições do efluente.

Inicialmente foi feito um teste preliminar com seis diluições da amostra e um controle (água de diluição sem a presença da amostra), conforme Figura 3, para estabelecer um intervalo de concentração a ser utilizado no ensaio definitivo. Para este ensaio foi utilizado cinco organismos-teste por recipiente teste em um tempo de exposição de 48 h.

A partir do intervalo de concentrações conhecida no teste preliminar, prepararam-se diluições da solução-teste que foram as concentrações utilizadas no teste definitivo. Para este, em cada diluição e controle, foram adicionados 21 neonatos distribuídos em três replicatas. Os ensaios foram mantidos em câmara de germinação com temperatura entre 18°C e 22°C por 48 h sem fotoperíodo (escuro) e sem alimentação. Cada diluição teste foi colocada em béqueres de 50 mL, com 25 mL de solução-teste.

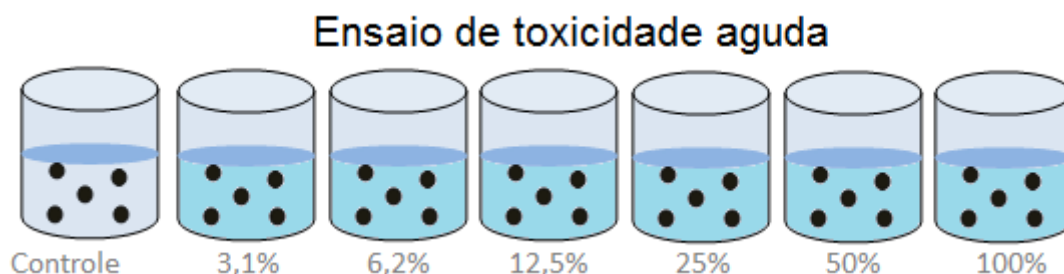


Figura 3 - Recipientes-testes com as diferentes diluições utilizadas no teste agudo com efluente SIDI frente ao organismo *Daphnia magna*.

A partir do número de organismos imóveis observados em cada diluição, calculou-se a CE_{50} (Concentração real da amostra que causa efeito agudo a 50% dos organismos em 48h no tempo de exposição, nas condições de ensaio) após o período de exposição de 48h. O valor de CE_{50} foi calculado por meio do programa estatístico *Trimmed Spearman-Kärber*.

ENSAIO DE TOXICIDADE CRÔNICA COM DAPHNIA MAGNA

Para os ensaios de toxicidade crônica em *Daphnia magna*, utilizou-se uma metodologia adaptada de Brentano (2006). Foram utilizados organismos jovens de 2 a 26 horas de vida. O ensaio foi realizado com 5 diluições (solução-teste) da amostra acrescido do controle. Em cada recipiente-teste foi adicionado 50 mL de solução-teste e 1 neonato (figura 4), sendo que todas as diluições foram feitas em 10 replicatas, totalizando 10 organismos para cada diluição.

O ensaio crônico foi mantido em câmara de germinação com temperatura entre 18°C e 22°C por 21 dias com fotoperíodo 16 horas de luz difusa e alimentação diária de $4,5 \times 10^6$ células da alga *Pseudokirchneriella subcapitata* por mililitro por organismo adulto.

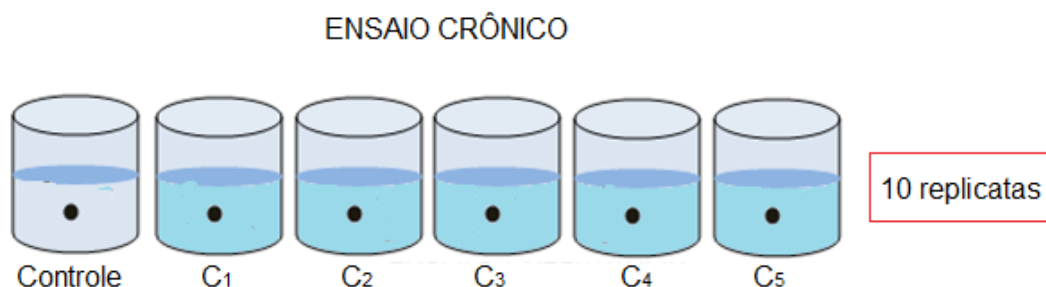


Figura 4 – Béqueres com as diferentes diluições-teste utilizadas no teste agudo com efluente SIDI frente ao organismo *Daphnia magna*.

A higienização e renovação da solução teste foram realizadas três vezes por semana. Nos dias de renovação da solução teste registravam-se os organismos adultos sobreviventes e o número de neonatos gerados. Os organismos jovens gerados foram descartados e apenas os organismos adultos foram recolocados na nova solução-teste.

Foram monitorados os seguintes parâmetros: Fecundidade e Modificações morfológicas.

RESULTADOS

Os resultados apresentados na tabela 1 mostram que o esgoto bruto apresentou um CE_{50} de 18,05. Segundo a classificação descrita pelo IBAMA (1987) este esgoto apresenta-se como muito tóxico. Tal natureza tóxica é devido ao fato de o SIDI receber esgotos industriais de várias indústrias, entre as quais indústrias de papel, refrigerante, eletrodomésticos, tecidos, latas, couro, tinturaria, entre outras, que são conhecidas pelo seu caráter poluidor.

O efluente tratado pelo sistema de lagoas SIDI produz um efluente de CE_{50} 61,90 (moderadamente tóxico), ou seja, em termos de efeito agudo o esgoto tratado ainda apresenta-se tóxico. Para melhor visualização da eficiência do sistema analisado os resultados de toxicidade foram expressos, também, em U.T (Tabela 1), onde mostra que o esgoto bruto possui U.T 5,54 e efluente ao sistema de lagoas SIDI apresentou U.T 1,62. A partir dos valores de Unidade Tóxica pode-se calcular que o sistema de lagoas SIDI apresentou uma eficiência de 70,76% na remoção de toxicidade. Entretanto, o sistema estudado ainda possui toxicidade remanescente que representa risco ambiental ao corpo receptor.

O efluente tratado pelo sistema SIDI é descartado no rio Maranguapinho e este rio é um dos principais afluentes do Rio Ceará. Os resultados apresentados sugerem que os contaminantes lançados pelo SIDI representam uma importante fonte secundária de poluição do rio Ceará. Diante disto, vale ressaltar que a avaliação da toxicidade de efluentes industriais pode ser complementada pelo estudo da toxicidade dos corpos hídricos que recebem esse descarte.

Tabela 1- Valores de CE₅₀ de ensaios de toxicidade aguda com o organismo *Daphnia magna*, limites de confiança, Unidade tóxica e classificação do nível de toxicidade para esgoto bruto e efluente ao sistema de lagoas SIDI.

Amostra		48 horas			Classificação quanto ao CE ₅₀ (IBAMA, 1987)
		CE ₅₀ (%)	Limite de confiança	U.T	
SIDI	Bruto	18,05	13,17 – 24,73	5,54	Muito tóxico
	Efluente	61,90	54,34 – 72,54	1,62	Moderadamente tóxico

De acordo com a tabela 2 é possível observar que a média de filhotes na concentração 0,5; 1 e 2,5% apresentaram um número médio de filhotes inferior ao controle, o que pode nos levar a concluir que a exposição provocou a diminuição na fecundidade das *Daphnias*.

A concentração de 2% curiosamente apresentou uma média de neonatos por fêmea superior à média de neonatos determinada no controle, entretanto nesta concentração restaram apenas 3 fêmeas adultas ao final do teste. Esta situação foi observada no trabalho de Brentano (2006) em que ocorreu um aumento reprodutivo, para uma determinada amostra, bem como um número expressivo de mortes. Este fenômeno, também é citado por Finkler (2002), que observou num teste crônico com *Daphnia magna*, um incremento na reprodução e conseqüente redução da longevidade. Segundo os autores citados, uma menor longevidade pode ser recompensada por um incremento reprodutivo, como uma estratégia de manutenção da população. A exposição a substâncias tóxicas provocaria um aumento da produção de filhotes para compensar a diminuição populacional provocada pela perturbação ambiental.

Tabela 2 - Número total de filhotes nascidos e a média de neonatos por fêmea no período de 21 dias do teste crônico para cada diluição do efluente SIDI.

Número total de neonatos	Controle	Solução-teste %				
		0,5 %	1 %	1,5 %	2 %	2,5 %
	528	399	492	403	200	112
<i>Daphia</i> adulta	10	8	10	7	3	3
Neonatos/ <i>Daphnia</i>	52,8	49,9	49,2	57,6	66,7	37,3
Desv. Pad.	6,8	26,9	14,9	12,2	5,86	7,5

Na figura 5 percebe-se visualmente que nas concentrações 2 e 2,5% os organismos-teste apresentaram pequenas rupturas na carapaça (Figura 5 - A1) e encurtamento do espinho apical (Figura 5 - B2), estas modificações não foram observadas nas demais diluições analisadas.

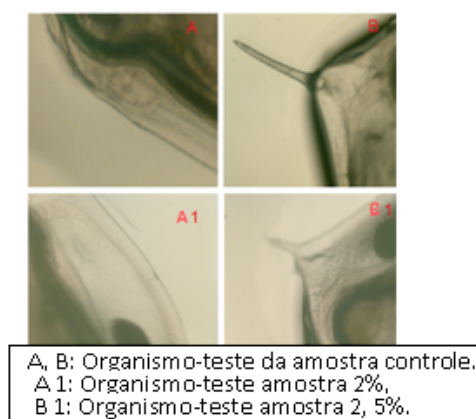


Figura 5 - Foto das modificações morfológicas observada nas *Daphnia*, após os 21 dias de teste crônico quando expostas a concentração 2 e 2,5% de efluente do SIDI. Fonte: Labosan (2010)

Os testes de toxicidade indicaram efeito agudo e crônico que foram evidenciados, na concentração de 2,5%, tanto pela presença de rupturas quanto por uma menor produção de neonatos em relação ao controle e as demais diluições, sendo então, a menor concentração de efeito deletério (CEO= 2,5%). A menor concentração de efeito deletério as *Daphnia* é confirmado pelo valor- p. Na concentração de 2,5% o valor-p encontrado foi

de 0,00603 que por ser inferior a 0,05 demonstra que esta concentração apresenta ser estatisticamente diferente ao controle.

O estudo apresentado, tanto em termos agudo como crônico apontaram o caráter tóxico do efluente SIDI. Tal fato é devido à elevada vazão de esgotos tratados que é destinada a este sistema, tornando o efluente, deste sistema, uma carga poluidora impactante para a biota do corpo receptor (Rio Maranguapinho).

A partir dos resultados ecotoxicológicos agudo e crônico é possível esclarecer que o sistema SIDI, por receber despejos de diversas indústrias, e algumas destas empresas possivelmente não estarem destinando seu esgoto de acordo com o enquadramento permitido na legislação, o sistema pode estar atuando acima da sua capacidade e não realizando o tratamento de forma efetiva.

O esgoto industrial não apresenta composição definida e a legislação não determina níveis para todos os compostos químicos presentes neste tipo de efluente. Assim, vale ressaltar que ensaios físico-químicos são insuficientes para demonstrar as diferentes formas em que estes compostos atuam sobre os organismos vivos, algumas substâncias podem apresentar efeitos tóxicos a organismos vivos mesmo quando em concentrações inferiores aos limites de detecção analítica. Logo, os ensaios de toxicidade aguda e crônica apresentam-se como uma ferramenta bastante atrativa para ser utilizada no biomonitoramento da qualidade deste efluente bem como de avaliação da eficiência de tratamentos empregados.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste estudo, pôde-se concluir que o tratamento aplicado na estação de tratamento SIDI apresenta-se ineficientes na redução de toxicidade aguda frente ao organismo-teste *Daphnia magna*. Os resultados do teste crônico demonstram que o efluente SIDI é potencialmente poluidor ao rio Maranguapinho, comprometendo a qualidade da água e do sedimento deste corpo receptor, o que é preocupante tendo em vista o volume de efluente que é destinado diariamente ao corpo hídrico. Foi possível concluir, ainda, que os testes ecotoxicológicos agudos e crônicos utilizando o microcrustáceo *Daphnia magna* são importantes ferramentas de biomonitoramento de cargas poluidoras que são destinadas aos corpos de água, assim como, para um melhor entendimento dos processos biológicos e não biológicos de tratamento de esgotos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Processo nº. 577000/2008-2), à Companhia de Água e Esgotos do Ceará (CAGECE) pelo apoio financeiro para realização da pesquisa, e a FUNCAP, CAPES e CNPq pela concessão da bolsa de doutorado, mestrado e IC, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). 2004. Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp* (Crustacea, Cladocera). ABNT NBR 12713. 21p
2. BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente – IBAMA. Avaliação da toxicidade de agentes químicos para microrganismos, microcrustáceos, peixes, algas, organismos do solo, aves animais silvestres e plantas. Manual do Ibama - parte D. 1987.
3. BRENTANO, M. D. Desenvolvimento e aplicação do teste de toxicidade crônica com *Daphnia magna*: avaliação de efluentes tratados de um aterro sanitário. 2006. 145f. Dissertação (Mestrado em engenharia ambiental) Universidade de Santa Catarina, SC, 2006.
4. FILSER, J. Ecotoxicology and ecosystems: Relevance, restrictions, research needs. Basic and Applied Ecology. V. 9, p333–336, 2008.
5. FINKLER, R. Avaliação do efeito tóxico de líquidos percolados sobre o sistema reprodutivo de *Daphnia magna*. 2002. 105p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade federal de Santa Catarina, 2002.