

Implantação de testes de ecotoxicidade para avaliação de tecnologias de tratamento visando a redução da toxicidade de efluentes da indústria minero-metalúrgica

Gisana de Freitas Pereira
Bolsista de Iniciação Científica, Ciências Biológicas, USU

Silvia Egler
Orientadora, Bióloga, M. Sc.

Zuleica Carmen Castilhos,
Co-orientadora, Farmacêutica, D. Sc.

Resumo

O setor minero-metalúrgico brasileiro tem organizado suas informações em sistemas de gestão ambiental, atendendo as atuais exigências dos órgãos de fiscalização e também demonstrando atitude pró-ativa, já que os despejos de efluentes industriais e domésticos constituem-se na maior fonte antrópica de compostos químicos que são lançados nos corpos d'água. O objetivo desse trabalho é avaliar a eficácia da aplicação de tecnologias de tratamento de efluentes gerados pela atividade minero-metalúrgica utilizando metodologias ecotoxicológicas. Será avaliado o potencial tóxico de efluentes para a vida aquática dos corpos receptores, antes e após a aplicação das tecnologias de tratamento, utilizando *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Pseudokirchneriella subcapitata* como organismos-teste. Os procedimentos laboratoriais adotados para os testes de toxicidade seguem as normas prescritas pela ABNT (2004, 2005), obedecendo todas as exigências para cultivo e testes. Foram realizados os protocolos, as tabelas e o cultivo da alga como fonte de alimento para os organismos-teste.

1. Introdução

A poluição dos corpos hídricos tem aumentado desde o implemento da revolução industrial no século 19. A quantidade e a complexidade dos resíduos tóxicos lançados nos ecossistemas aquáticos, terrestres e na atmosfera têm aumentado significativamente. As maiorias dos resíduos de origem urbanas, industriais e agrícolas são despejados nos rios e oceanos, considerados como os meios ideais para a limpeza e dispersão dos resíduos dos locais de despejo. Esta grande diversidade de atividades gera efluentes complexos que degradam o ambiente e interferem na saúde humana das gerações atuais e futuras. As situações críticas em que se encontram muitos corpos d'água revelam as relações entre causa-e-efeito das ações humanas sobre os ambientes aquáticos (Zagatto & Bertolotti, 2006). Os efluentes urbanos, esgotos e deflúvio superficial, contribuem com compostos orgânicos biodegradáveis, nutrientes, bactérias e tudo que se acumula no solo das cidades. Os efluentes industriais apresentam grande diversidade, relacionados aos tipos de matérias-primas e processos industriais utilizados (CETESB, 1998 *apud* CETESB, 2005). Os efluentes da indústria minero-metalúrgica mostram altos teores de metais associados ao metal principal e de compostos orgânicos utilizados nos processos de recuperação do metal de interesse, como por exemplo, nos processos de flotação. Com isso,

o setor minero-metalúrgico brasileiro tem organizado suas informações em sistemas de gestão ambiental, de modo não apenas a atender as atuais exigências dos órgãos de fiscalização, mas também de demonstrar atitude pró-ativa.

Medidas de prevenção e de uso racional dos ambientes aquáticos vêm sendo planejadas e implementadas em muitos países. A complexa composição dos efluentes gerou necessidades maiores sobre o conhecimento dos efeitos tóxicos dos diferentes poluentes sobre a biota aquática. A avaliação ecotoxicológica tornou-se uma ferramenta indispensável para a análise da qualidade desses efluentes, associando as concentrações de contaminantes no meio e seu risco ecotoxicológico, complementando os mecanismos tradicionais do controle da poluição. Através da avaliação ecotoxicológica é possível verificar se ocorre ou não redução de efeitos tóxicos com a utilização de determinada tecnologia para tratamento de efluentes.

Além de auxiliarem no entendimento das relações entre a poluição e suas consequências biológicas, os testes de toxicidade também são utilizados no estabelecimento de critérios de qualidade de águas e sedimentos para a proteção da biota aquática (Zagatto et al., 1999 *apud* CETESB, 2005), no enquadramento dos corpos hídricos (CONAMA 357, 2005) e no monitoramento de efluentes líquidos e áreas de influência (FEEMA, 1991 *apud* CETESB, 2005).

Durante as últimas décadas, vêm crescendo o emprego de microcrustáceos na avaliação da toxicidade de sistemas fluviais degradados. A utilização destes organismos se justifica, de uma forma geral, pelo papel que desempenham na cadeia alimentar, uma vez que se alimentam de algas e servem como alimento para consumidores secundários. Além disso, mudanças quantitativas na população e no comportamento destes organismos podem interferir nos outros níveis tróficos do ecossistema aquático (Zagatto & Bertolotti, 2006). Gêneros da família *Daphnidae* têm sido largamente utilizados em ecotoxicologia aquática, visto que são facilmente cultivados em laboratório, possibilitando assim a obtenção de populações homogêneas e com sensibilidade constante para uso em testes de toxicidade (Beatrice, 2004).

2. Objetivo

- Avaliar o potencial de aplicação de testes de toxicidade aguda e crônica, utilizando *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Pseudokirchneiriella subcaptata* (ex-*Selenastrum capricornutum*) como organismos-teste, na avaliação da toxicidade de efluentes da indústria minero-metalúrgica e da eficácia das metodologias de tratamento;
- Discutir o andamento da implementação de testes de toxicidade aguda e crônica no Laboratório de Ecotoxicologia Aplicada à Indústria Minero-Metalúrgica do CETEM, utilizando biondicadores aquáticos.

3. Materiais e Métodos

O procedimento laboratorial adotado para a implantação dos testes de toxicidade no CETEM segue as recomendações de ABNT-NBR 12713 (2004), ABNT-NBR 13373 (2005) e ABNT-NBR 12648 (2005), para *Daphnia similis* (Figura 1.A), *Ceriodaphnia dubia* (Figura 1.B) e *Pseudokirchneiriella subcaptata* (Figura 2), respectivamente. O teste de toxicidade aguda com crustáceos da espécie *Daphnia similis* baseia-se na exposição de fêmeas de seis a 24 horas de idade, a diferentes concentrações de uma amostra por um período de 24 a 48 h. Os testes com agente tóxico podem ser realizados em uma ou duas etapas (preliminar e definitivo). Os testes crônicos com *Ceriodaphnia dubia* e *Pseudokirchneiriella subcaptata* baseiam-se, no primeiro na exposição de fêmeas com seis a 30 horas de idade a diferentes concentrações de uma amostra, por um período de sete dias, e no segundo na avaliação do crescimento da população da alga exposta a diferentes concentrações de uma amostra.

Para o cultivo da alga, visando a obtenção de alimento para *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*, foram removidas células de *Pseudokirchneiriella subcaptata* da cultura sólida com o auxílio de uma alça de platina, através de técnicas assépticas, e transferidas para um erlenmeyer contendo 1000 mL de Meio L.C. Oligo, posteriormente autoclavado por 15 minutos a 121°C. Este frasco foi incubado a 22°C em agitação contínua e luminosidade de 3.000 lux. Após sete dias quando a cultura se apresentou em fase exponencial de crescimento foi distribuída em tubos Falcon e centrifugadas a 4.000 rpm por 20 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspensão em um só frasco com Meio Ms de manutenção.

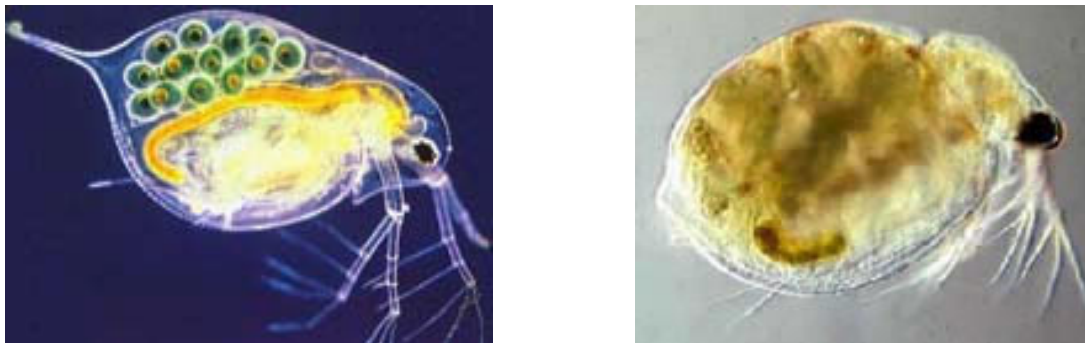


Figura 1 – Aspecto de *Daphnia similis* (A) e *Ceriodaphnia dubia* (B). Fonte: <http://www.ipen.br>

A toxicidade dos efluentes será testada antes do tratamento realizado pela Coordenação de Processos Minerais (COPM) do CETEM, e após tratamento. Os efluentes estudados serão provenientes de atividades variadas de mineração realizadas na região sudeste. A priori, efluentes de uma mineradora de carvão do Rio Grande do Sul serão analisados.

O potencial de aplicação dos testes de toxicidade na avaliação de efluentes foi avaliado através de pesquisa bibliográfica com artigos científicos.

4. Resultados e Discussão

Os ensaios de toxicidade só devem ser utilizados quando os procedimentos já foram validados e os dados obtidos em diferentes testes com substâncias de referência apresentarem boa repetibilidade e reprodutibilidade de resultados. Sendo assim, dois procedimentos laboratoriais consagrados (CETESB, 2005 e ABNT, 2004 e 2005) para testes de toxicidade com *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* foram comparados e analisados (Tabela 1 e 2).

As condições de cultivo foram semelhantes para as duas bibliografias estudadas, a exceção de CETESB (2005) que recomenda o uso de alimento extra, constituído de ração para peixes, para *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*. Outra diferença é que em CETESB (2005) a renovação da água de cultivo é realizada com maior frequência semanal do que na norma da ABNT (2004 e 2005). Uma razão provável para esta diferença, não considerando aspectos de rotina laboratorial, seria para evitar o acúmulo de produtos de excreção na cultura, o que poderia diminuir a qualidade do meio propiciando a ocorrência de indivíduos machos. Por fim, CETESB (2005) descarta culturas de *C. dubia* mais jovens do que ABNT (2005), de forma a garantir melhor qualidade dos nos organismos-teste utilizados.

Tabela 1: Condições de cultivo para *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*, segundo CETESB (2005) e ABNT (2004 e 2005).

PARÂMETROS DE CULTIVO	<i>Daphnia similis</i>		<i>Ceriodaphnia dubia</i>	
	<u>CETESB 2005</u>	<u>ABNT- 2004</u>	<u>CETESB 2005</u>	<u>ABNT- 2005</u>
Água	Reconstituída	Reconstituída	Natural	Natural
pH	7,2 – 7,6	7,0 – 7,6	7,2 – 7,6	7,0 – 7,6
Dureza da Água (mg CaCO ₃ /L)	40 - 48	40 - 48	40 - 48	40
Temperatura (°C)	18 - 22	18- 22	23 – 27	23 – 27
Fotoperíodo	16h de luz / 500 – 1000 lux	16h de luz	16h de luz / 500-1000 lux	16h de luz
Alimento (células por dia)	<i>P. subcaptata</i> (3,2 x 10 ⁶) + Ração (0,02 mL).	<i>P. subcaptata</i> (1 a 5 x 10 ⁶)	<i>P. subcaptata</i> (3,0 a 3,5 x 10 ⁷) + Ração (0,05 mL)	<i>P. subcaptata</i> (1 a 5 x 10 ⁵).
Organismo/Litro	50/2,5	25/1-2	1/0,015-0,02	70/0,5 a 1
Renovação Semanal de Água	2	1	3	2
Descarte dos Organismos (idade em dias)	26 – 30	28	14	21

Para se obter uma reprodução ótima de organismos-teste em condições laboratoriais é necessário o fornecimento de alimento adequado. O excesso pode acarretar a obstrução do aparelho filtrador dos mesmos, bem como a diminuição da concentração de oxigênio dissolvido na água. Por outro lado, alimento em quantidades menores que as necessárias pode causar a diminuição do número de jovens produzidos por fêmea adulta e o aparecimento de organismos esbranquiçados na cultura.

O cultivo do alimento do organismo-teste constitui o primeiro passo da implantação do teste de toxicidade. O cultivo de *Pseudokirchneriella subcaptata* (Figura 2) resultou em um bom crescimento das células, com boa morfologia, possibilitando assim a contagem para o fornecimento aos organismos.

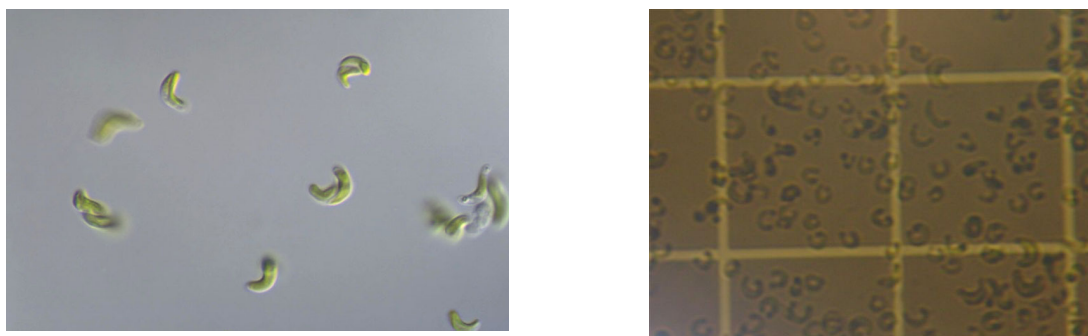


Figura 2 – Aspecto de *Pseudokirchneriella subcaptata* (A) e contagem de células na Câmara de Neubauer (B).

Fonte (A): www.nies.go.jp/.../mcc/images/PCD5008/0026L.jpg

5. Conclusão

O levantamento bibliográfico realizado neste trabalho evidenciou que as duas bibliografias estudadas não apresentaram diferenças significativas quanto ao procedimento laboratorial empregado na execução dos testes de toxicidade, utilizando microcrustáceos das espécies *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia* e a alga *Pseudokirchneriella subcaptata* como organismos-teste. Fatores abióticos, como pH, temperatura, dureza da água, entre outros (Tabela 1), são de fundamental importância para a realização dos testes, e estes devem ser realizados e monitorados de forma correta, evitando assim a perda de organismos e a rejeição do teste (Beatrici, 2004).

Espera-se que a implantação destes testes no CETEM possa servir como ferramenta inovadora na avaliação do potencial tóxico de efluentes da indústria minero-metalúrgica, subsidiando a tomada de decisão em medias de saúde e controle ambiental, já que testes de toxicidade são recomendados para o enquadramento dos corpos hídricos superficiais para a proteção da biota aquática.

6. Agradecimentos

Agradeço ao CNPq, que me concede a bolsa de Iniciação Científica, pela oportunidade de realização desse projeto, junto ao CETEM e a Universidade Santa Úrsula. A Silvia Egler e a Zuleica Castilhos pela orientação e confiança, e ao Ricardo César e todos os colegas de laboratório pelo apoio, paciência e força, colaborando para a conclusão dessa etapa do trabalho. Agradeço de forma especial a minha família e aos meus amigos pelo amor, carinho e compreensão.

7. Bibliografia

ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS) **NBR 12713**. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp.* (Crustácea, Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT 2004. 21 p.

ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS) **NBR 12648**. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro: ABNT 2005. 24 p.

ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS)- **NBR 13373**. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia spp.* (Crustácea, Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT 2005.

BEATRICI, A.C. **Avaliação da fertilidade e sensibilidade de *Daphnia similis* e *Daphnia magna* (Crustácea, Cladocera) submetidas a diferentes tipos de dietas e meios de cultivo.** 2004. 34f. Dissertação. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

CETESB (COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEAMENTO AMBIENTAL). **Métodos de Avaliação da toxicidade de Poluentes a Organismos Aquáticos. Cursos e Treinamentos.** CETESB Volume I. São Paulo, 2005. 312p.

CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). RESOLUÇÃO No. 357. 2005. Ministério do Meio Ambiente. 23 p.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações.** Ed. Rima. São Paulo, 2006. 464p.