

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

**OZONÓLISE DE EFLUENTES TÊXTEIS - ESTUDO DA
EFICIÊNCIA E DA TOXICIDADE AMBIENTAL ATRAVÉS
DOS BIOTESTES**

Dissertação submetida à Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos para obtenção do Grau de "Mestre em Química"

Edson V. Cordova da Rosa

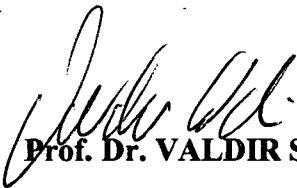
**Florianópolis
Santa Catarina - Brasil
Julho de 1999**

**OZONÓLISE DE EFLUENTES TÊXTEIS - ESTUDO DA EFICIÊNCIA
E DA TOXICIDADE AMBIENTAL ATRAVÉS DOS BIOTESTES**

Edson V. Cordova da Rosa

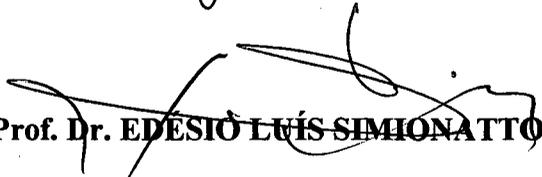
Esta dissertação foi julgada e aprovada em sua forma final pelo orientador, coordenador e membros da banca examinadora.


Prof. Dr. CLAUDEMIR MARCOS RADETSKI
Orientador


Prof. Dr. VALDIR SOLDI
Coordenador

BANCA EXAMINADORA:


Prof.^a Dr.^a MARIA MARIA DE SOUZA SIERRA
Co-orientadora


Prof. Dr. EDESIO LUÍS SIMIONATTO


Prof.^a Dr.^a VILMA E. F. HEIZEN


Prof. Dr. NITO ANGELO DEBACHER

Aos meus pais
Dimas (*in memoriam*)
e Vilma (*in memoriam*)

Agradecimentos

À professora Marta Sierra, por haver possibilitado e incentivado a realização deste trabalho.

Ao prof. Edésio pela colaboração e apoio no trabalho realizado.

À FATMA, na pessoa do Dr. Joachim Knie, pela cessão do Laboratório de Ecotoxicologia.

Aos colegas do Laboratório de Ecotoxicologia da FATMA : Ester, Anne, Beto e Márcia.

Ao pessoal da Biblioteca Setorial do CFM.

À dupla Jadir & Graça.

À UFSC e ao Departamento de Química.

À Indústria HERING Têxtil S.A.

Ao CNPQ, pelo apoio financeiro na realização deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório 216: Renato, Beatriz, Marcelo Rosa, Marcelo Giovanella,

Adaiana, Fabricio, Mauricia, Fábio, Vanderlei, Vanica, Viviam, Inês e Eduardo.

Ao professor Claudemir Marcos Radetski, pelo exemplo e orientação.

A minha família, pelo incentivo e apoio.

ÍNDICE GERAL

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	1
Capítulo I - GENERALIDADES	6
I.1 - INDÚSTRIA TÊXTIL - PANORAMA SÓCIO-ECONÔMICO.....	7
I.2 - A INDÚSTRIA TÊXTIL E O MEIO AMBIENTE	8
I.3 - PROCESSO DA PRODUÇÃO TÊXTIL.....	10
I. 4 - CORANTES.....	15
I.5 - EFLUENTES.....	18
I.6 - TRATAMENTO DOS EFLUENTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL.....	23
I.6.1 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	23
I.6.2 - PRINCIPAIS ETAPAS DO PROCESSO DE TRATAMENTO.....	23
I.7 - OZONÓLISE.....	27
I.7.1 - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO OZÔNIO.....	27
I.7.2 - PRODUÇÃO DE OZÔNIO.....	29
I.7.3 - DECOMPOSIÇÃO DO OZÔNIO.....	31
I.7.4 - REAÇÕES DO OZÔNIO.....	32
I.8 - APLICAÇÕES DA OZONÓLISE.....	35
I.8.1- TRATAMENTO DE ÁGUA.....	35
I.8.2 - TRATAMENTOS DE EFLUENTES INDUSTRIAIS.....	35
I.9 - ECOTOXICOLOGIA (BIOTESTES).....	36
I.9.1 - ASPECTOS METODOLÓGICOS DOS BIOTESTES.....	38
I.9.2 - UTILIDADE DOS BIOTESTES.....	39
I.9.3 - APRESENTAÇÃO DOS PRINCIPAIS BIOTESTES.....	40
I.9.4 - APLICAÇÕES DOS BIOTESTES.....	45
Capítulo II - MÉTODOS E MATERIAIS	48
II.1 - OZONÓLISE.....	50
II.2- ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	51
II.2.1 - EFLUENTES BRUTOS E OZONIZADOS.....	51
II.2.2 - SOLOS.....	52
II.3 - BIOTESTES.....	54
II.3.1 -TESTE DE FITOTOXICIDADE.....	54
II.3.1.1 - SELEÇÃO DAS ESPÉCIES VEGETAIS PARA OS FITOTESTES.....	54
II.3.1.2 - TESTE DE VALIDAÇÃO DAS METODOLOGIAS COM USO DE TÓXICOS DE REFERÊNCIA.....	57
II.3.1.3 - DESCRIÇÃO DO FITOTESTE COM EFLUENTES BRUTOS E OZONIZADOS.....	58
II.3.1.4- PARÂMETROS ANALISADOS.....	59
II.3.2 - TESTE COM ALGAS.....	64
II.3.2.1 - TESTE DE VALIDAÇÃO COM ALGAS.....	65
II.3.2.2 - TESTES DE ALGAS COM EFLUENTES BRUTOS E OZONIZADOS.....	66
II.3.3 - TESTE COM DÁFNIAS.....	67

II.3.3.1 - TESTE DE VALIDAÇÃO COM DÁFNIAS.....	67
II.3.3.2 - TESTES DE DÁFNIAS COM EFLUENTES BRUTOS E OZONIZADOS.....	68
II.3.4 - TESTE COM PEIXES.....	68
II.3.4.1 - TESTE DE VALIDAÇÃO COM PEIXES.....	68
II.3.4.2 - TESTES DE PEIXES COM EFLUENTES BRUTOS E OZONIZADOS.....	69
II.3.5 - TESTE COM BACTÉRIAS.....	69
II.3.5.1 - TESTE DE VALIDAÇÃO COM BACTÉRIAS.....	69
II.3.5.2 - TESTES DE BACTÉRIAS COM EFLUENTES BRUTOS E OZONIZADOS.....	70
II.3.6 - EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NOS BIOTESTES.....	70
II. 4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	71
Capítulo III - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	74
III. 1 – EVOLUÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DOS EFLUENTES TÊXTEIS EM FUNÇÃO DO TEMPO DE OZONÓLISE.....	75
III. 2 – EFICIÊNCIA DA OZONÓLISE BASEADA NOS PARÂMETROS TOXICOLÓGICOS DOS BIOTESTES.....	79
III.2.1 – BIOTESTE DE FITOTOXICIDADE.....	80
III.2.1.1 – ESCOLHA DAS ESPÉCIES VEGETAIS PARA OS TESTES DE FITOTOXICIDADE.....	82
III.2.1.2 – TESTES DE VALIDAÇÃO COM TÓXICOS DE REFERÊNCIA (TRICLOROACETATO DE SÓDIO E CÁDMIO).....	86
III.2.1.3 – FITOTESTES DEFINITIVOS COM EFLUENTES BRUTOS E TRATADOS.....	89
III.2.2 – BIOTESTE COM BACTÉRIAS.....	101
III.2.2.1 – TESTE DE VALIDAÇÃO COM TÓXICO DE REFERÊNCIA ($K_2Cr_2O_7$).....	102
III.2.2.2 – TESTES DEFINITIVOS COM BACTÉRIAS EM EFLUENTES BRUTOS E TRATADOS.....	102
III.2.3 – BIOTESTE COM ALGAS.....	104
III.2.3.1 – TESTE DE VALIDAÇÃO COM TÓXICO DE REFERÊNCIA ($K_2Cr_2O_7$).....	104
III.2.3.2 – TESTES DEFINITIVOS COM ALGAS EM EFLUENTES BRUTOS E TRATADOS.....	105
III.2.4 – BIOTESTE COM DÁFNIAS.....	107
III.2.4.1 – TESTE DE VALIDAÇÃO COM TÓXICO DE REFERÊNCIA ($K_2Cr_2O_7$).....	107
III.2.4.2 – TESTES DEFINITIVOS COM DÁFNIAS EM EFLUENTES BRUTOS E TRATADOS.....	108
III.2.5 – BIOTESTES COM PEIXES.....	109
III.2.5.1 – TESTE DE VALIDAÇÃO COM TÓXICO DE REFERÊNCIA ($K_2Cr_2O_7$).....	110
III.2.5.2 – TESTES DEFINITIVOS COM PEIXES EM EFLUENTES BRUTOS E TRATADOS.....	111
III.3 - DISCUSSÃO GERAL.....	113
Capítulo IV- CONCLUSÕES.....	121
Referências Bibliográficas.....	124
Anexos.....	131

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Maiores exportadores mundiais de produtos têxteis - 1994.....	8
Tabela 2: Produtos químicos, auxiliares e corantes presentes em efluente têxtil de uma grande industria catarinense.....	20
Tabela 3: Potencial de oxidação de espécies químicas comumente empregados como oxidantes.....	28
Tabela 4: Avaliação da eficiência da ozonólise no tratamento de água contaminada.....	36
Tabela 5: Revisão bibliográfica sobre o uso de moléculas biomarcadoras em estudos ambientais.....	44
Tabela 6: Análise físico-química-microbiológica do solo argiloso utilizado nos Testes de Fitotoxicidade.....	53
Tabela 7: Espécies vegetais e cultivares testadas para escolher as espécies utilizadas nos Fitotestes definitivos.....	59
Tabela 8: Parâmetros físicos-químicos-microbiológicos avaliados em uma amostra de efluente têxtil bruto coletado na entrada da estação de tratamento de efluentes de uma indústria têxtil.....	76
Tabela 9: Taxas de Germinação medidas em 8 variedades de plantas expostas à diferentes diluições do efluente têxtil bruto.....	83
Tabela 10: Crescimento da Biomassa medida em 8 variedades de plantas expostas à diferentes diluições do efluente têxtil bruto.....	84
Tabela 11: Respostas da biomassa das espécies vegetais <i>Glycine max</i> , <i>Oryza sativa</i> e <i>Triticum aestivum</i> expostas à diferentes concentrações de Tricloroacetato de Sódio (mg/Kg solo).....	87
Tabela 12: Respostas da biomassa das espécies vegetais <i>Glycine max</i> , <i>Oryza sativa</i> e <i>Triticum aestivum</i> expostas à diferentes concentrações de Cd ²⁺ (mg/Kg solo).....	87
Tabela 13: Análise estatística sobre as variações dos resultados do estudo de validação nos Testes de Fitotoxicidade usando tóxicos de referência (TCA e Cd ²⁺).....	88
Tabela 14: Resumo dos resultados de fitotoxicidade de <i>glycine max</i> exposta aos efluentes brutos e tratados em suporte sólido e em solução.....	89
Tabela 15: Resumo dos resultados de fitotoxicidade de <i>Oriza sativa</i> exposta aos efluentes brutos e tratados em suporte sólido e em solução.....	93
Tabela 16: Resumo dos resultados de fitotoxicidade de <i>Triticum aestivum</i> exposta aos efluentes brutos e tratados em suporte sólido e em solução.....	96
Tabela 17: Quadro recapitulativo das CICEOs dos Testes de Fitotoxicidade.....	99
Tabela 18: Porcentagem de inibição da luminescência das bactérias <i>Vibrio fischeri</i> expostas à diferentes concentrações de K ₂ Cr ₂ O ₇ durante 30 minutos.....	102
Tabela 19: Inibição da luminescência das bactérias <i>Vibrio fischeri</i> expostas à diferentes diluições do efluente bruto e tratado durante 30 minutos.....	103
Tabela 20: Teste de Inibição de Crescimento das Algas <i>Scenedesmus subspicatus</i> , baseado na variação de fluorescência (72 horas), utilizando como tóxico de referência K ₂ Cr ₂ O ₇ (mg/L).....	105
Tabela 21: Fluorescência das Algas (<i>Scenedesmus subspicatus</i>) expostas à diferentes diluições do efluente bruto e tratado durante 72 horas.....	106
Tabela 22: Teste de Imobilização de 24 horas com <i>Daphnia magna</i> , utilizando como tóxico de referência o K ₂ Cr ₂ O ₇ (mg/L).....	108
Tabela 23: Dáfnias (<i>Daphnia magna</i>) expostas à diferentes diluições do efluente bruto e tratado durante 48 horas.....	109
Tabela 24: Letalidade e porcentagem de letalidade dos peixes <i>Poecilia reticulata</i> expostos à diferentes concentrações de K ₂ Cr ₂ O ₇ durante 48 horas.....	111
Tabela 25: Peixes (<i>Poecilia reticulata</i>) expostos à diferentes diluições do efluente bruto e tratado durante 48 horas.....	112
Tabela 26: Resultados do potencial tóxico dos efluentes têxteis obtidos com diferentes Biotestes.....	113

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Quadro sinóptico dos trabalhos realizados nesta dissertação.....	5
Figura 2. Estimção do consumo de água no mundo atual.....	9
Figura 3: Fluxograma padrão das diferentes etapas do beneficiamento têxtil.....	12
Figura 4: Estruturas químicas de alguns corantes mutagênicos.....	18
Figura 5: Etapas do processo têxtil onde é gerado efluente.....	19
Figura 6: Possíveis formas do Ozônio devida a ressonância eletrônica	28
Figura 7: Configuração básica de um Gerador de Ozônio	30
Figura 8: Decomposição do Ozônio em água pura	31
Figura 9: Esquema da sequência de reações/produtos que ocorrem ao se reagir Fenol com Ozônio	33
Figura 10: Reações Diretas ou Indiretas do Ozônio em soluções aquosas.....	33
Figura 11: Organismos essenciais dos níveis tróficos do ecossistema aquático.....	37
Figura 12. Variação na DQO e na toxicidade ao longo de um processo de tratamento de rejeitos químicos	47
Figura 13. Quadro sinóptico da parte experimental deste trabalho de dissertação.....	49
Figura 14. Esquema do equipamento de Ozonólise.....	51
Figura 15: Etapas para a realização dos Testes de Fitotoxicidade.....	55
Figura 16. Esquema experimental de um Teste de Fitotoxicidade.....	57
Figura 17. Esquema experimental de um Fitoteste com efluente (bruto ou ozonizado).....	58
Figura 18: Etapas realizadas para as análises de proteínas e enzimas.....	60
Figura 19: Metodologia utilizada na preparação das soluções padrões do Soro de Albumina Bovina (SAB), as quais serviram para fazer a curva analítica para a análise de proteínas.....	61
Figura 20: Etapas gerais dos Testes realizados com Algas.....	64
Figura 21: Valores do pH em função do tempo de um efluente têxtil submetido à Ozonólise.....	77
Figura 22 Valores da DQO em função do tempo de um efluente têxtil submetido à Ozonólise.....	78
Figura 23. Valores da Absorbância (523 nm) em função do tempo medidas no efluente têxtil submetido à Ozonólise.....	79
Figura 24: Esquema sinóptico dos Fitotestes localizando os resultados em função do tipo de teste realizado.....	81
Figura 25: Esquema sinóptico dos Testes com Bactérias localizando os resultados em função do tipo de teste realizado.....	101
Figura 26: Esquema sinóptico dos Testes com Algas localizando os resultados em função do tipo de teste realizado.....	104
Figura 27: Esquema sinóptico dos Testes com Dáfnias localizando os resultados em função do tipo de teste realizado.....	107
Figura 28: Esquema sinóptico dos Testes com Peixes localizando os resultados em função do tipo de teste realizado.....	110

ACRÔNIMOS, ABREVIações e SÍMBOLOS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas
- AFNOR - Association Française de Normalisation (França)
- ANOVA - Análise de Variância
- AOX - Haletos Orgânicos Adsorvíveis
- APHA - American Public Health Association
- ASTM - American Society For Testing And Materials (EUA)
- CE_{x%} - Concentração Efetiva a "x" por cento
- CI_{x%} - Concentração Inibidora a "x" por cento
- CL_{x%} - Concentração Letal a "x" por cento
- CICEO - Concentração Inferior Com Efeito Observado
- COT - Carbono Orgânico Total
- CSSEO - Concentração Superior Sem Efeito Observado
- CV - Coeficiente de Variação.
- DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio
- DQO - Demanda Química de Oxigênio
- DL_{x%} - Dose Letal a "x" por cento
- EAA - Espectroscopia de Absorção Atômica
- EPAGRI (ex EMPASC) - Empresa de Pesquisas Agropecuárias de Santa Catarina
- FATMA - Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina
- IPAGRO - Instituto de Pesquisas Agropecuárias
- ISO - International Standard Organization
- OD - Oxigênio Dissolvido
- pH - Potencial Hidrogeniônico
- SAB - Soro de Albumina Bovina
- SGA - Sistema de Gestão Ambiental
- TCA - Tricloroacetato de Sódio
- USEPA - United States Environmental Protection Agency (EUA).
- X - Média dos Resultados
- σ - Desvio Padrão

RESUMO

O ramo têxtil necessita grandes quantidades de água em seus processos industriais, acarretando uma enorme quantidade de rejeitos que devem ser convenientemente tratados antes de serem rejeitados nos corpos de água receptores. Entre os métodos disponíveis, mas não muito utilizado, para tratar os efluentes têxteis está a oxidação via Ozonólise. Neste contexto, o **Objetivo** deste trabalho de dissertação foi o de avaliar de uma forma parcial a eficiência da Ozonólise em tratar efluentes têxteis. Esta análise da eficiência foi avaliada por parâmetros físico-químicos (pH, DQO e Cor), bem como por parâmetros ecotoxicológicos (biotestes com Bactérias, Algas, Dáfnias, Peixes e Vegetais) através da comparação entre os resultados obtidos nos testes realizados com efluentes brutos e efluentes tratados.

O processo de tratamento do efluente se fez em coluna recheada sendo o ozônio gerado por descarga elétrica. O efluente bruto entra na coluna pela parte superior, com uma vazão de 1000 ml/hora e vai ao encontro do fluxo de Ozônio ($[O_3] = 0,34 \text{ g/h}$), o qual é injetado por um difusor na parte inferior da coluna. O efluente tratado deixa a coluna pela parte inferior e o Ozônio que não reagiu é exaurido na parte superior da coluna. Os efluentes têxteis foram considerados como sendo tratados e disponíveis para os Biotestes após 30 horas de Ozonólise. As metodologias dos Biotestes foram baseadas nos projetos de normas da ISO (International Standard Organization).

Os **resultados** obtidos com a comparação dos parâmetros físico-químicos foram os seguintes: redução da DQO em 88,4 %, redução da Cor em 80,9 % e diminuição do pH de 10,9 para 6,9. Com relação aos Biotestes, os efluentes têxteis brutos apresentaram toxicidade para os 5 tipos de Biotestes realizados (*i.e.*, Fitotestes, Bactérias, Algas, Dáfnias e Peixes), enquanto que o efluente Ozonizado apresentou toxicidade para somente 3 tipos de Biotestes (Fitotestes, Bactérias e Algas), e em concentrações bem mais altas (diluições pequenas) do que o efluente bruto. O efluente têxtil bruto afetou diferentes espécies pertencentes a níveis tróficos distintos, o que pode ser interpretado como sendo um rejeito de impacto ambiental considerável. Observamos uma escala relativa de sensibilidade decrescente entre os diferentes parâmetros estudados na mesma espécie ou entre as diferentes espécies de organismos testados:

Enzimas Vegetais > Proteínas > Bactérias > Biomassa Vegetal ≈ Germinação ≈ Algas ≈ Dáfnias > Peixes.

Como **conclusão geral** podemos afirmar que este trabalho contribuiu para demonstrar *i)* que a Ozonólise é um método eficiente para tratar efluentes têxteis; *ii)* a necessidade/utilidade de se incluir parâmetros Ecotoxicológicos (bateria de Biotestes) na legislação ambiental e nos estudos envolvendo problemas relacionados à poluição ambiental.

ABSTRACT

Textile mills represent an important sector of the economy of Santa Catarina State. Textile processing generates many waste streams, including water-based effluent. Several treatment strategies are available to clean up or renovate water for reuse. Among advanced photochemical oxidation processes ozonation has been widely studied, but surprisingly few commercial operations have adopted this practice in Brazil. In this context, the aim of the present work was to evaluate the effectiveness of ozonation treatment (bench-scale system) to reduce pollution load and toxicity of textile effluents. Pollution load reduction was evaluated by comparing physico-chemical parameters (pH, COD, Color) in both raw and treated effluents. The toxicity assessment involved a battery of biological tests with species representing the major trophic levels of ecosystems (bacteria, algae, daphnids, fish, and higher plants). Textile effluents are generally complex mixtures of unknown composition containing relatively insidious and hazardous ingredients. Analytical methods for environmental monitoring of these mixtures can be expensive and time-consuming and are often targeted toward a limited group of chemicals. Furthermore, chemical analyses alone provide little information on the toxicity of the large number of chemicals present in complex mixtures. One attractive approach to better evaluate the hazard posed by exposures to complex mixtures of chemicals is the use of bioassays. Bioassays are intended to detect the presence of toxic chemicals based on their ability to cause certain biological effects. Chemicals can exert their toxicities via many different mechanisms, and suitable bioassays need to be designed accordingly.

Concerning **experimental design**, electric generator was used to produce ozone. Treatment process was a flow-through reactor operated at a flow rate of 1,000 mL/h with a countercurrent O₃ dose of 0.34 g/l. The retention time of effluent in the reactor was 20 minutes. After 30 h of ozonation effluents were considered as treated for testing. Bioassays were carried out according to ISO Environmental draft guidelines.

Our **results** showed that physico-chemical parameters were significantly reduced after ozonation: COD (88.4 %), Colorless (80.9 %), and pH (from 10.9 to 6.9). Bioassay tests showed that, while the raw effluent was relatively toxic to all 5 species tested, the treated effluent was fairly toxic to only 3 species (higher plants, bacteria and algae). The relative sensitivity of biological parameters (or species) to textile effluents in decreasing order was:

Plant enzymes > Proteins > Bacteria > Plant Biomass ≈ Germination rate ≈ Algae ≈ Daphnids > Fish.

We **concluded** that: *i*) ozonation was effective to reduce pollution load and toxicity of textile effluents, and *ii*) bioassays used in this study proved to be sensitive and reliable tools for determining the toxicity of textile effluents, therefore they can be recommended for integrated ecotoxicological evaluations.

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A indústria têxtil gera muitos tipos de rejeitos (*e.g.*, gasosos, líquidos e sólidos), sendo que a natureza do rejeito gerado depende de vários fatores: qualidade da matéria-prima, qualidade dos produtos químicos utilizados, grau do desenvolvimento dos processos tecnológicos envolvidos no processamento têxtil e nos processos de tratamento dos rejeitos.

Com relação aos processos de tratamento de efluentes, estes estão bem desenvolvidos, fruto de um aperfeiçoamento contínuo ao longo de décadas, porém, ainda existem alguns aspectos/parâmetros particulares dos efluentes que não são tratados satisfatoriamente pelas tecnologias/processos atuais. Como exemplo destes aspectos/parâmetros podemos citar a coloração, a presença de eletrólitos, as emissões voláteis tóxicas, as baixas concentrações de metais de transição e a toxicidade dos efluentes frente aos organismos aquáticos e terrestres. Estes aspectos/parâmetros merecem ser estudados e melhor compreendidos para que se possa desenvolver metodologias capazes de tratá-los de uma forma satisfatória. Assim, o presente trabalho de dissertação analisa a viabilidade técnica em utilizar a Ozonólise como um processo de tratamento dos rejeitos têxteis líquidos. Esta análise é feita em função de alguns aspectos/parâmetros tais quais: coloração, demanda química de oxigênio (DQO), pH e toxicidade do efluente, sendo que estes aspectos/parâmetros são comparados entre efluentes brutos e tratados por Ozonólise. Esta comparação dos aspectos/parâmetros pré e pós tratamento permite avaliar a eficiência do processo de Ozonólise em tratar os efluentes têxteis.

A Ozonólise já é empregada em muitos ramos industriais, mesmo no tratamento dos efluentes industriais. Esta dissertação procura ligar aspectos químicos e ecotoxicológicos relacionados aos rejeitos têxteis, *i.e.*, a análise da eficiência de um processo de tratamento de efluentes por ozonólise através da utilização de testes ecotoxicológicos aquáticos e terrestres.

Com efeito, existem muitos métodos para se avaliar o grau de poluição ou de toxicidade dos efluentes industriais. O conhecimento prévio dos compostos (ou famílias de compostos) presentes nos efluentes, juntamente com o conhecimento das toxicidades

respectivas destes compostos podem ajudar na predição do impacto potencial que este efluente pode provocar no ambiente. Uma outra abordagem para avaliar este impacto potencial consiste em realizar biotestes, os quais nada mais são do que a exposição de organismos vivos a uma gama de concentrações do efluente, observando efeitos tóxicos agudos ou crônicos. Nesta abordagem, o objetivo é determinar se o efluente é tóxico ou não, e se o é, em quais concentrações/diluições.

A indústria têxtil gera efluentes com centenas de compostos químicos, o que torna a identificação e a determinação da toxicidade de cada composto impraticável do ponto de vista técnico e econômico. Assim, a realização de Biotestes com efluentes têxteis para determinar seu impacto ambiental é de suma importância em estudos ambientais. Esta prática também vai ao encontro das políticas ambientais internacionais ora em implantação, onde as indústrias terão que implantar um Sistema de Gestão Ambiental (SGA) com as diretrizes da ISO 14000. Em outros termos, a indústria deve implantar uma política de gerenciamento ambiental, reconhecida por norma internacional, onde os Biotestes serão instrumentos para avaliar o impacto ambiental causado pela atividade industrial (e.g. toxicidade dos efluentes rejeitados no ambiente).

Desta forma, o objetivo principal deste trabalho de dissertação foi o de avaliar de uma forma parcial a eficiência da ozonólise em tratar efluentes têxteis. Esta análise da eficiência foi avaliada por fatores físico-químicos (pH, DQO e Cor), bem como por parâmetros ecotoxicológicos (Biotestes com Bactérias, Algas, Dáfnias, Peixes e Vegetais).

Os objetivos específicos foram:

- demonstrar o potencial do ozônio em tratar efluentes têxteis através da redução da DQO, pH e coloração;
- testar a toxicidade ambiental dos efluentes têxteis brutos;
- testar a toxicidade ambiental dos efluentes têxteis tratados por Ozonólise;
- comparar as toxicidades dos efluentes brutos e tratados por Ozonólise;
- estabelecer os organismos mais sensíveis aos efluentes têxteis (brutos e/ou ozonizados);

- demonstrar a viabilidade de utilizar Fitotestes (em solução ou em solo) nas avaliações toxicológicas dos efluentes têxteis;
- estabelecer critérios de efeitos mais convenientes nos Fitotestes;
- propor uma bateria simples de Biotestes para avaliar o impacto ambiental dos efluentes têxteis.

Esta dissertação foi dividida em 4 capítulos.

No Capítulo I - GENERALIDADES dissertou-se inicialmente sobre os panoramas sócio-econômico e ambiental da indústria têxtil, bem como sobre os processos/produtos utilizados neste ramo industrial. Em seguida teceu-se algumas considerações sobre os efluentes e os principais modos de tratá-los antes de ocorrer a rejeição para o meio ambiente. Após discorre-se sobre a Ozonólise e suas aplicações e encerra-se este capítulo com uma abordagem genérica da Ecotoxicologia.

No Capítulo II - MÉTODOS E MATERIAIS descreveu-se sucintamente os procedimentos, protocolos, materiais, produtos e tipos de análises que foram utilizados no desenvolvimento desta dissertação.

No Capítulo III - RESULTADOS E DISCUSSÕES apresentou-se os resultados experimentais obtidos na forma de tabelas, os quais foram comentados, discutidos e relacionados à bibliografia pertinente.

No Capítulo IV - CONCLUSÕES dissertou-se sobre as conclusões relativas aos trabalhos realizados. As conclusões estão relacionadas com os objetivos propostos, e na medida do possível, são apresentadas as perspectivas pertinentes ao tema abordado nesta dissertação. Para finalizar a obra, apresentou-se a bibliografia e os anexos citados no corpo da dissertação.

Em virtude do grande número de trabalhos realizados, mostra-se na página seguinte um quadro sinóptico (**Figura 1**) objetivando panoramizar os trabalhos realizados nesta dissertação.

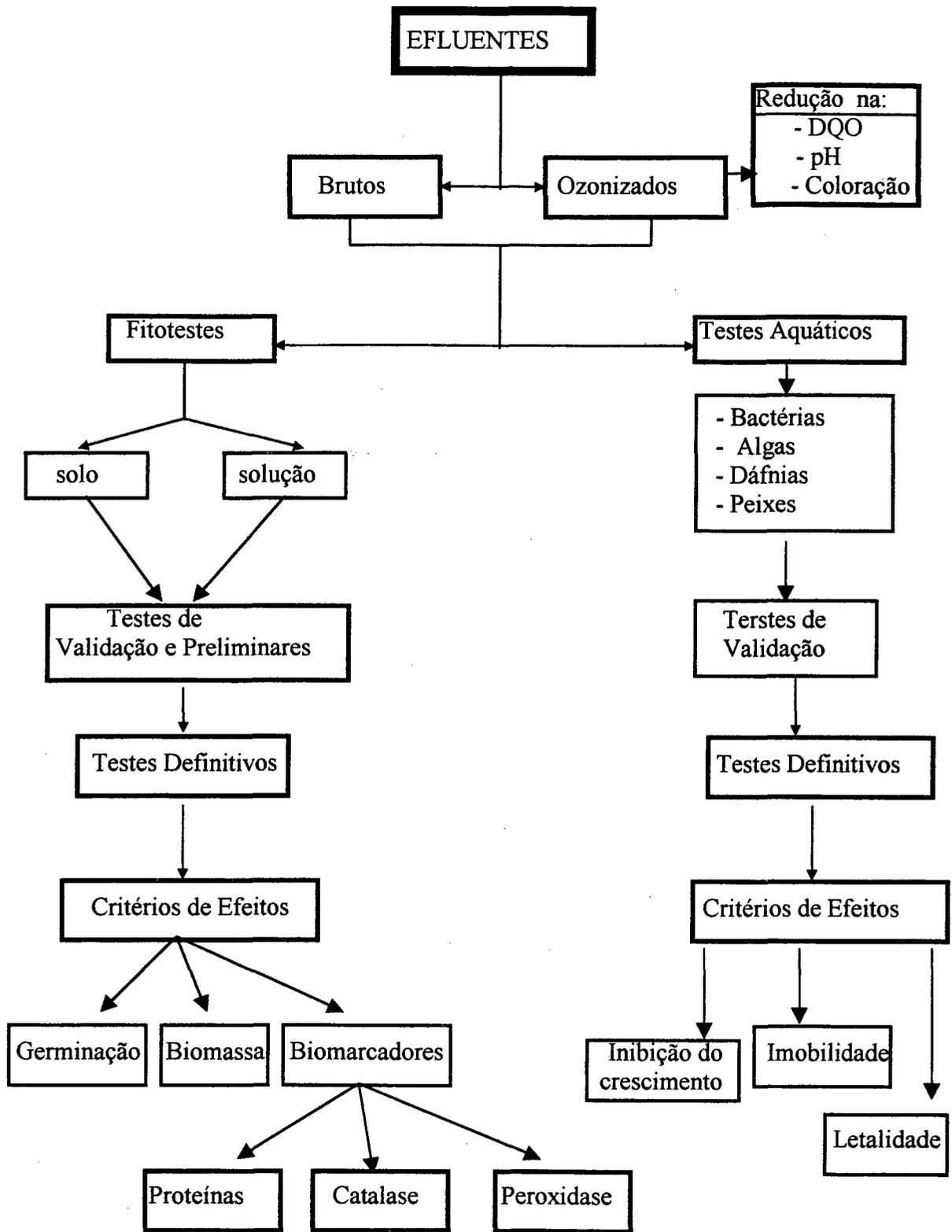


Figura 1. Quadro sinóptico dos trabalhos realizados nesta dissertação.

Capítulo I
GENERALIDADES

Capítulo I - GENERALIDADES

L1 - INDÚSTRIA TÊXTIL - PANORAMA SÓCIO-ECONÔMICO

A indústria têxtil é uma das maiores do mundo em termos de produção e em número de trabalhadores empregados. No Brasil a sua implantação teve início em 1844 e se estendeu até o final da 1ª Guerra Mundial (1918). Inicialmente este ramo industrial apresentava aspectos meramente artesanais, mas já se observava um crescimento econômico devido à garantia da matéria-prima nativa ou de fácil adaptação às condições locais. Esta atividade industrial estava ligada diretamente às culturas de fibras naturais, como o algodão, a juta, a lã, o rami, o linho, a seda, o sisal e outros.

Dados recentes mostram que no Brasil, o setor é composto por aproximadamente 3.700 empresas têxteis e de 14.700 confecções (OLIVEIRA e MEDEIROS, 1996). Em 1994, uma grande instabilidade foi responsável por 510 mil demissões, o que representa uma queda de 53% na empregabilidade do setor. Isto porque houveram investimentos em equipamentos novos, principalmente nas empresas líderes do setor têxtil. Outra razão para a grande instabilidade das indústrias têxteis é a importação de manufaturados têxteis de baixo custo provenientes dos países asiáticos. O salto nas importações se deu devido à abertura comercial, passando de US\$ 557 milhões em 1991 para US\$ 2.287 bilhões em 1995, com crescimento de 42% ao ano no período (OLIVEIRA e MEDEIROS, 1996).

Devido à mão-de-obra barata, isenção para importação de matérias primas e unidades fabris com grande escala produção, a China aparece como o maior exportador mundial de produtos têxteis, sendo que o Brasil aparece em nono lugar (**Tabela 1**) (OLIVEIRA e MEDEIROS, 1996).

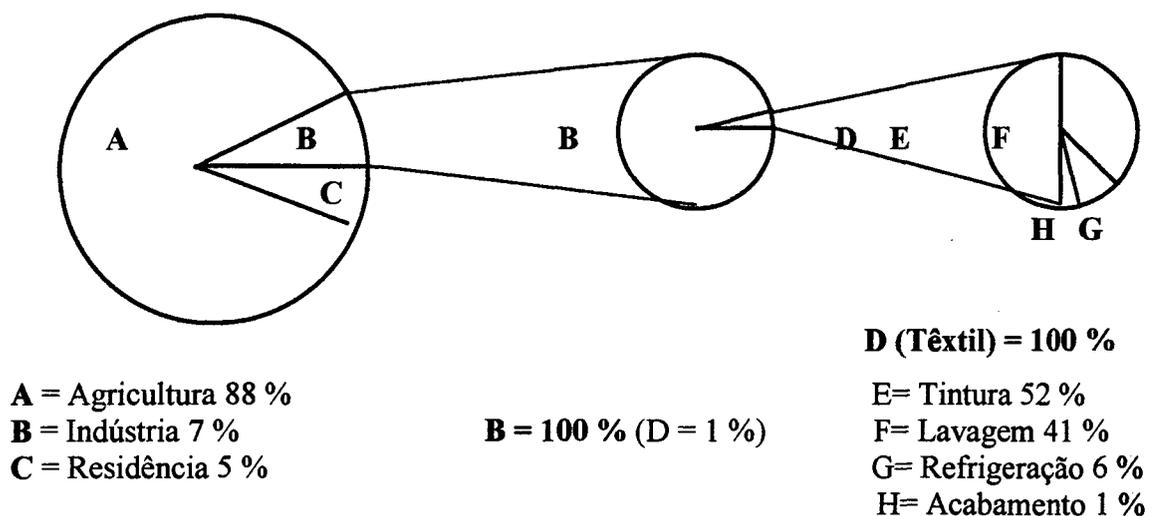
Tabela 1: Maiores exportadores mundiais de produtos têxteis - 1994.

Países	US\$ Bilhões
China	28,0
Itália	23,2
Alemanha	18,3
Coréia	17,0
Taiwan	14,0
Estados Unidos	11,5
França	10,9
Índia	8,4
Brasil	1,4

Depois de São Paulo, o segundo maior polo têxtil em volume de produção no Brasil está localizado em Santa Catarina, sendo que este setor é o maior em arrecadação de ICMS no estado.

I.2 - A INDÚSTRIA TÊXTEL E O MEIO AMBIENTE

A indústria têxtil utiliza uma parte importante da água disponível para a indústria em geral. Na **Figura 2** vemos que os maiores consumidores de água são as atividades agrícolas e a indústria. Do total gasto pela indústria, o setor têxtil consome 1% da água, rejeitando-a ao meio-ambiente, muitas vezes contaminada.



Total = 2,85 bilhões de m³ Indústria = 250 milhões de m³ Têxtil = 2,5 milhões de m³

Figura 2. Estimação do consumo de água no mundo atual.

A maior parte da carga contaminante está constituída por impurezas inerentes à matéria-prima têxtil, produtos adicionados para facilitar os processos de fiação e tecelagem, auxiliares e corantes eliminados durante as diferentes etapas do acabamento. A indústria de acabamento têxtil é exposta à sensibilidade pública, atentamente observada e submetida a críticas. Desse modo, não se deve considerar somente a questão de como obter os efeitos finais desejados sobre o tecido, mas também, utilizar os recursos que apresentam um menor impacto ambiental, aplicando a estratégia de evitar a geração da poluição, otimizar os processos têxteis envolvidos e tratar os rejeitos produzidos.

No momento, a importância do aspecto ecológico é uma realidade para os países industrializados e uma necessidade a curto e médio prazos para aqueles que se encontram em vias de desenvolvimento. Isso significa que todo investimento realizado na proteção do meio ambiente supõe uma garantia para o futuro, além de permitir:

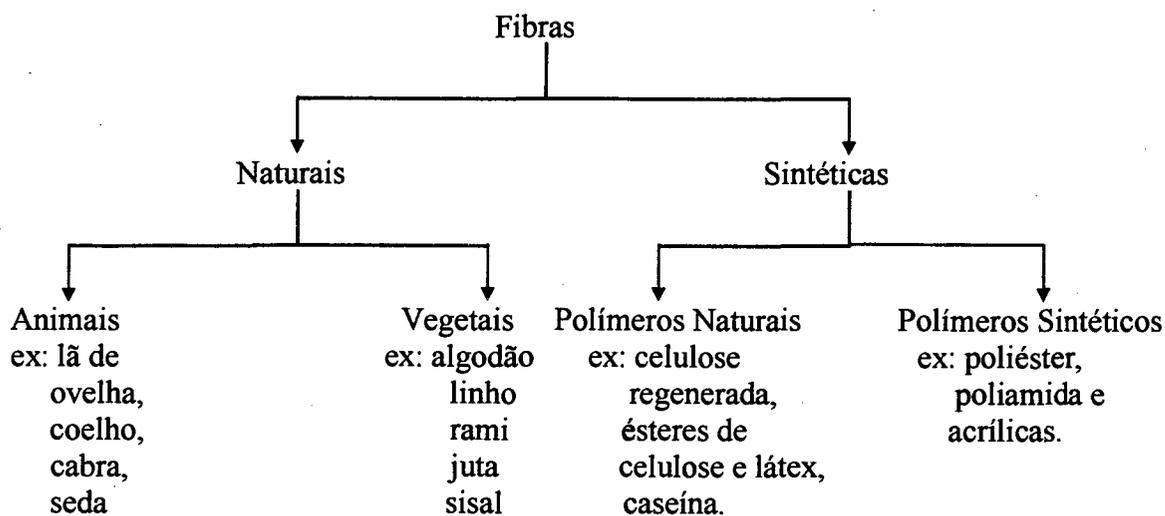
- alcançar os mercados internacionais por ser uma indústria ecologicamente “saudável”;

- aumentar a competitividade em termos de propaganda ecológica;
- evitar problemas com o público, com o governo e com as entidades financeiras internacionais;
- controlar os riscos de acidentes que causam impactos ambientais;
- diminuir as sanções por contaminação ambiental.

Assim sendo, percebe-se que o interesse pela questão ambiental perpassa o aspecto puramente ecológico, visto que o interesse econômico é preponderante sob a ótica do mercado/indústria.

I.3 - PROCESSO DA PRODUÇÃO TÊXTIL

O beneficiamento têxtil consiste em melhorar as propriedades da matéria prima, tais como a lã e o algodão, e da manufatura de fibras sintéticas, tais como o poliéster, o nylon, o rayon e o acetato. As fibras têxteis podem ser classificadas como naturais e sintéticas.



Segundo BRAILE e CAVALCANTI (1979), o processo de beneficiamento têxtil constitui-se de várias etapas, como pode ser visto na **Figura 3**.

- **Matéria-prima:** A matéria-prima vem acondicionada em fardos de algodão, rayon-viscose, poliéster ou de nylon.
- **Preparação de fiação e fição:** A matéria-prima é processada nos abridores, batedores, cardas, passadores, penteadeiras, maçaroqueiras, filatórios, retorcedeiras e conicaleiras.
- **Tingimento dos fios:** Esta etapa do processo consiste em ferver os fios, em rolos ou em bobinas, em solução de soda cáustica ou detergente (cozimento), seguindo-se a lavagem em água corrente (lavagem) e posterior imersão em solução contendo corantes. Os fios tingidos em bobinas, seguem direto para a tecelagem, enquanto que os tingidos em rolos seguem para a engomagem. Os despejos gerados nesta etapa são principalmente corantes, soda cáustica, detergentes e sabões.

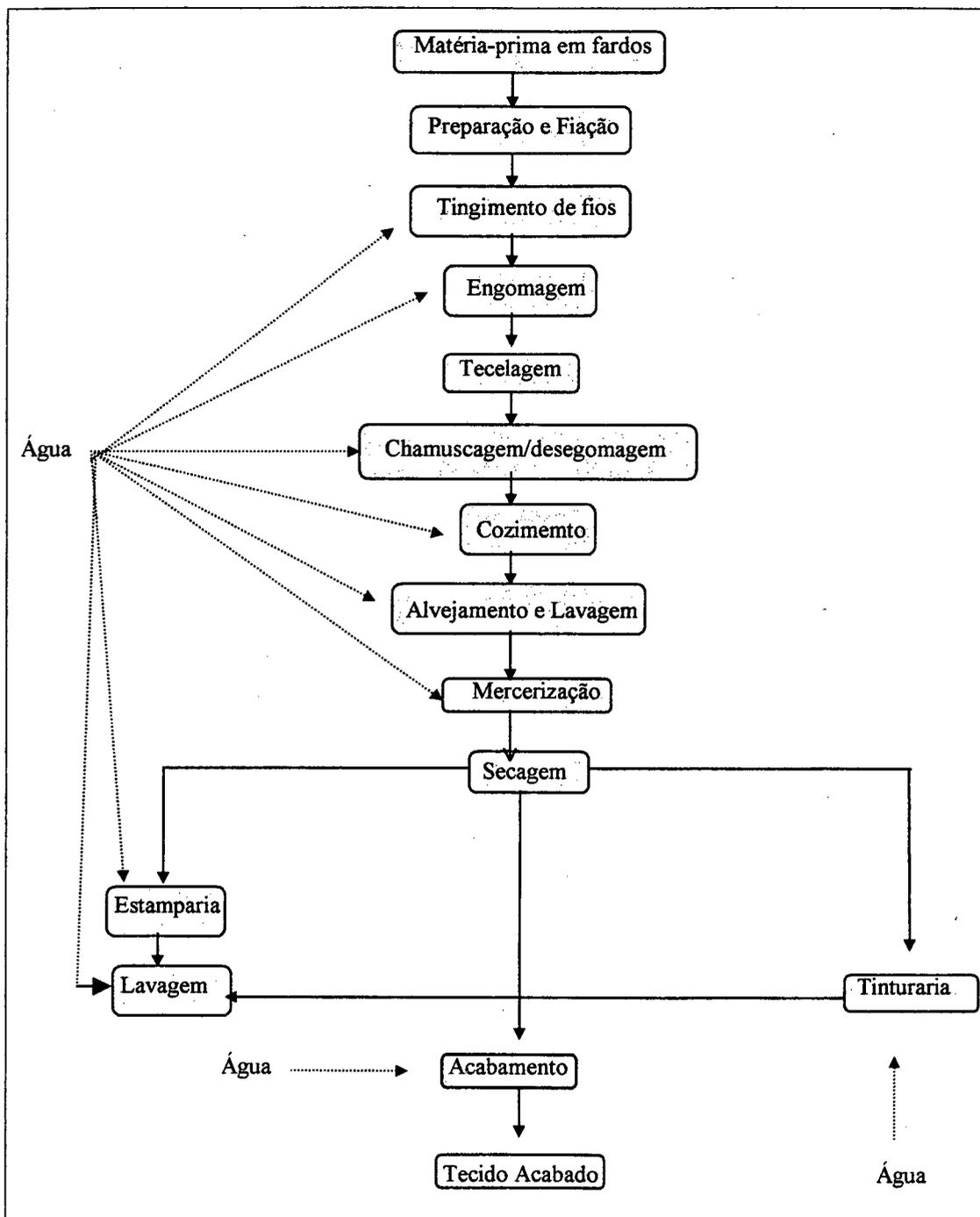


Figura 3: Fluxograma padrão das diferentes etapas do beneficiamento têxtil.

As etapas constituintes do processamento genérico podem ser assim descritas:

- **Engomagem:** É o processo pelo qual os fios são envoltos por gomas visando aumentar a sua resistência mecânica para resistir aos esforços nos teares. Dois tipos de goma são os mais usados: i) goma de fécula de mandioca e ii) gomas sintéticas (poli- acrilatos, carboximetilceluloses e álcool polivinílico). A engomagem resulta em um tecido mais incorporado para a etapa da confecção. Portanto, esta etapa é indispensável e é feita antes da tecelagem. Os fios chegam às unidades de engomagem em rolos de urdume; são submetidos a uma solução de goma de fécula fervida, da onde serão formados rolos engomados da tecelagem. Os efluentes gerados nesta etapa constituem-se da água de lavagem dos reservatórios e cozinhadores de goma e pelas descargas das engomadeiras. Apresentam elevada DBO, principalmente devido a presença de amido.

- **Tecelagem:** Este é o processo pelo qual os fios são transformados em tecidos nos teares. Nesta etapa não há geração de efluentes líquidos.

- **Chamuscagem e Desengomagem:** A chamuscagem é a queima de penugem do pano, obtida pela passagem do mesmo sobre as grelhas acesas. A desengomagem é a remoção, através de produtos químicos, da goma aplicada ao tecido antes da tecelagem. Após a chamuscagem o pano é enviado a um saturador, o qual destina-se a embeber o pano com enzimas, detergentes alcalinos quentes ou sabões dissolvidos em água, com a finalidade de destruir as gomas. Após o período de embebição (entre 2 e 10 horas com temperatura superior a 120 °C) as enzimas destroem os amidos. A seguir, os tecidos passam por lavadeiras especiais. Os despejos são constituídos, principalmente, por produtos da decomposição da goma de amido e do reagente de hidrólise. O volume é relativamente baixo e a DBO elevada, podendo contribuir com 50% da carga orgânica total . O efluente de resfriamento da chamuscadeira pode ser totalmente recirculado.

- **Cozimento:** O cozimento se dá através da ação de um meio alcalino e detergentes onde óleos orgânicos da matéria-prima são removidos para que não haja interferência no processo de tingimento. Este pode ser realizado por meio de processo contínuo ou por cargas.

- **Alvejamento:** O alvejamento consiste no branqueamento do pano. Nessa operação utiliza-se o peróxido de hidrogênio e/ou cloro. O Hipoclorito de Sódio e o Peróxido de Hidrogênio são alguns dos produtos químicos bastantes usados nesta etapa. A DBO dos efluentes pode contribuir em até 10% da carga total, as águas residuárias geradas apresentam matéria orgânica proveniente da matéria-prima utilizada e ácidos.

- **Tinturaria e Lavagem:** O tecido passa por uma solução de tinta, é fixado e elevado. O tingimento pode ser realizado por processos contínuos e descontínuos. No processo contínuo, após impregnação do tecido em um banho contendo tinta e produtos químicos, este é prensado entre dois rolos e secado. A seguir passa por um processo de vaporização. No processo descontínuo, o tecido é submetido a um movimento de vai-vém, enrolando-se e desenrolando-se entre dois cilindros, e simultaneamente passando por um tanque contendo tintas e produtos auxiliares. Os despejos do tingimento são variados, devido aos diferentes tipos de corantes, e diferentes maneiras com que são aplicados, apresentam volume elevado, forte coloração e alguns podem apresentar toxicidade. A DBO geralmente é baixa, mas pode atingir 37% da carga total em algumas unidades fabris. Em alguns casos, estes despejos apresentam uma demanda imediata de oxigênio significativa, dependendo dos reagentes de redução usados em alguns banhos de tingimento.

- **Mercerização:** O tecido acabado é submetido a um banho alcalino concentrado sob tensão por meio de corantes, o que faz com que as fibras adquiram brilho e resistência à tração. Se não houver recuperação da soda cáustica, o efluente gerado nesta etapa apresentará um pH muito elevado.

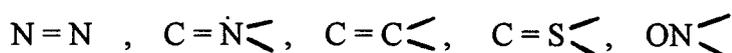
- **Estamparia:** Nesta etapa os tecidos já estão quase que acabados no seu beneficiamento. O processo é automático e envolve cilindros perfurados semelhante a um “silk screen”, de onde as imagens são transferidas para o tecido com uma aplicação de corantes e pigmentos. Os efluentes gerados contêm corantes e pigmentos e em alguns caso soda cáustica e goma.

- **Acabamento:** Esta é a ultima etapa no processamento do tecido. O tecido recebe tratamentos para satisfazer o consumidor. Consiste na aplicação de gomas e resinas, as

quais são secadas ou fixadas sob temperatura controlada. Os efluentes são provenientes das lavagens do fular (cilindros), das máquinas e do piso, e contêm uréia, formol, trifosfato, amido, estearato, óleo sulfurizado, emulsões de resinas polivinílicas e sais de Magnésio.

I. 4 - CORANTES

Corantes são substâncias que absorvem seletivamente radiações luminosas de comprimento de onda correspondente à região do visível. Esta absorção de luz está relacionada a um estado não saturado da molécula da substância. Os grupamentos químicos não saturados responsáveis pelo aparecimento da cor são chamados de cromóforos e alguns exemplos são:



No entanto, para que uma substância possa ser classificada como corante, além de grupos cromóforos ela precisa ter também grupamentos adicionais que irão lhe conferir afinidade com as fibras. Tais grupamentos são chamados de auxocromos e os principais são:



Dos elementos que contribuem para as altas cargas poluidoras nos despejos têxteis, destacam-se os corantes, com uma diversidade de especificações. As principais categorias de corantes são:

- Reativos

São usados principalmente para o tingimento e estamparia de fibras celulósicas. São os mais usados e os mais populares na indústria têxtil, devido principalmente as suas características de rapidez na reação de tingimento, facilidade de operação e baixo consumo de energia na aplicação. O maior problema com relação a esses corantes está na competição entre a reação de tingimento com o substrato têxtil e a reação do corante com água. Segundo CAMP and STORRUCK (1990), as taxas de fixação do corante variam entre 60 a 90 %, liberando grandes concentrações de corantes não fixados para os despejos. Infelizmente, os processos de tratamento de despejos atualmente empregados, não removem estes corantes de forma satisfatória.

- Básicos

São na sua maioria derivados amino ou aminosubstituídos, freqüentemente da classe dos triarilaminas ou dos xantenos. Sob forma sulfonada, alguns tipos especiais de corantes básicos são utilizados nos tingimentos de seda e lã.

- Ácidos

São corantes que possuem em suas moléculas um (ou mais) grupamento sulfônico, ou ainda, outros grupos ácidos. Quimicamente, os corantes ácidos consistem de antraquinona, trifenilmetano, azina, xanteno, xetonimine, compostos nitro e nitrosos. São corantes aniônicos solúveis em água, aplicados em fibras nitrogenadas tais como: lã, seda, nylon e fibras acrílicas modificadas de banhos neutros ou ácidos.

- Azo Pigmentos

Os mais comuns são os naftóis que possuem a ligação “azo” (-N=N-), geralmente são usados em cores vermelho, amarelo e laranja. São empregados em fibras celulósicas, apresentam um grau de difícil remoção no tratamento do efluente.

- Dispersos

Foram especialmente desenvolvidos para tingir o acetato de celulose e algumas fibras sintéticas. São divididos em dois grupos gerais, compreendendo os corantes azo

simples (insolúveis) e os corantes aminoantraquinonas insolúveis; os dois tipos são amplamente dispersos e podem, por isso, penetrar na fibra tingindo-a. Os corantes destes dois grupos gerais contêm usualmente a etanolamina ou um radical semelhante, que contribui para torná-los mais dispersíveis em água e mais facilmente absorvidos.

- Diretos

Pertencem freqüentemente à classe azo, e são usados para tingir algodão e fibras vegetais. Alguns são usados para tingir tecidos mistos (algodão e lã ou algodão e seda). Como o tingimento é geralmente auxiliado pela adição ao banho de um sal comum, os corantes são conhecidos como corantes ao sal. O sal diminui a solubilidade do corante e, por isso, provoca uma melhor extração da solução de tingimento. Estes corantes possuem moléculas longas e anéis aromáticos capazes de adquirir configuração coplanar. Vários corantes diretos, com grupos amino livres, podem ser acoplados na fibra, o que aumenta a respectiva insolubilidade e realça a resistência à lavagem. Este procedimento envolve a diazotação do grupo amino livre e o acoplamento com a substância acopladora, que pode ser o beta-naftol.

- Enxofre

São compostos orgânicos complexos, insolúveis em soluções de sulfato de sódio, o qual é um agente redutor e “quebra” as moléculas em compostos mais simples, que são solúveis em água, tendo grande afinidade com a celulose. Em seguida, os componentes solúveis são oxidados na fibra para o corante original sulforoso. Estes apresentam excelente resistência à lavagem, mas não apresentam muita resistência à luz, e nem muito brilho. É utilizado predominantemente, nas fibras celulósicas. Produzem odor desagradável no efluente, além de dificultarem na remoção final da cor do mesmo.

Também são usadas enzimas, as quais funcionam como catalisadores biológicos auxiliando nas reações químicas. Ao contrário dos catalisadores químicos, estas enzimas são produzidas por e em associação com processos biológicos (normalmente são um subproduto de bactérias e fungos). A enzima celulósica (celulase) utilizada nas lavanderias age basicamente na superfície da fibra, deixando seu interior intacto.

Atualmente faz-se pesquisa para desenvolver corantes baseados em intermediários desprovidos de toxicidade. Para o desenvolvimento de novos manufaturados têxteis, deve-se considerar o impacto ambiental dos corantes usados. Algumas exemplos de corantes considerados mutagênicos estão apresentados na **Figura 4** (USEPA, 1996).

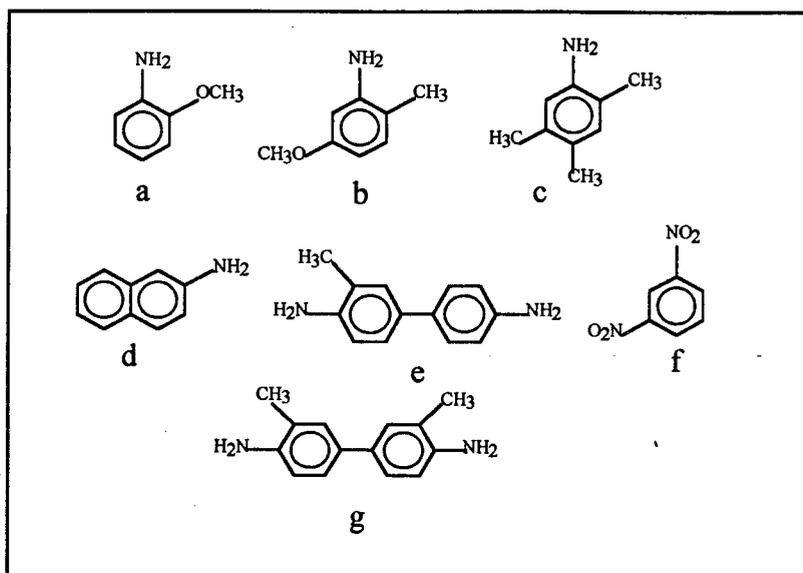


Figura 4: Estruturas químicas de alguns corantes mutagênicos (a: 2-metóxi-anilina; b: 2-metil-5-metóxi-anilina; c: 2,4,5-trimetilanilina; d: 2-aminonaftaleno; e: 2-metilbenzidina ; f: 1,3-dinitrobenzeno; g: 2,2'-dimetilbenzidina).

I.5 - EFLUENTES

O efluente é gerado em várias etapas com grande diversidade em termos de volume e composição. A caracterização dos rejeitos é muito difícil, uma vez que o volume e a composição do efluente é muito variável. Apesar do processo de beneficiamento ser relativamente periódico, ele é descontínuo em termos de vazão. A **Figura 5** apresenta as etapas do processo de beneficiamento têxtil onde são gerados os efluentes.

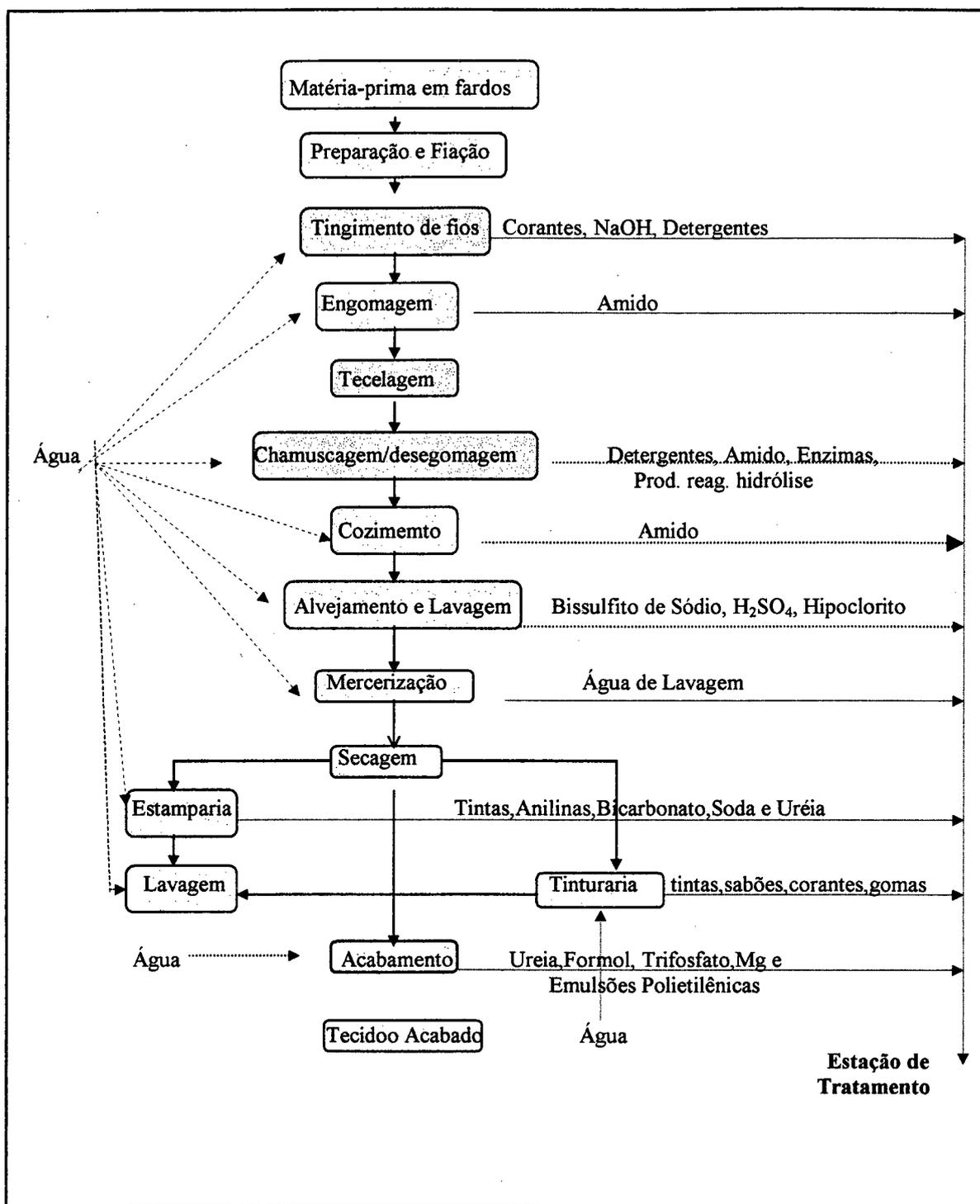


Figura 5: Etapas do processo têxtil onde é gerado efluente.

Inúmeros tipos de corantes, produtos químicos e auxiliares são usados no processo têxtil completo. Apresentamos na Tabela 2 um perfil da composição química de um

Inúmeros tipos de corantes, produtos químicos e auxiliares são usados no processo têxtil completo. Apresentamos na Tabela 2 um perfil da composição química de um efluente bruto a ser tratado em uma estação de tratamento de efluente de uma indústria têxtil.

Tabela 2: Produtos químicos, auxiliares e corantes presentes em efluente têxtil de uma grande indústria catarinense.

Produto	%	Produto	%
Corantes à Tina	0,5	Corantes Reativos	2,2
Corantes Azóides	0,4	Corantes Diretos	0,05
Corantes Dispersos	0,005	Corantes Enxofre	0,2
Pigmentos	0,7	Cloreto de Sódio	14,0
Hidróxido de Sódio	12,0	Peróxido de Hidrogênio	7,0
Uréia	3,0	Silicato de Sódio	2,0
Hidrossulfato de Sódio	2,0	Carbonato de Sódio	1,0
Ácido Acético Glacial	1,0	Bicarbonato de Sódio	0,6
Etanol	0,3	Sulfato de Sódio	0,3
Acetato de Sódio	0,3	Ácido Muriático	0,3
Nitrito de Sódio	0,06	Sulfato de Magnésio	0,02
Engomantes	14,0	Amaciantes	8,0
Aguarás	1,0	Detergentes	4,0
Pasta de estamperia	3,0	Sequestrantes	2,0
Ligante	2,0	Umectante	1,0
Fécula de mandioca	0,7	Fixador de Corantes	0,6
Dispersante	0,4	Branco Ótico	0,4
Anti Espumante	0,3	Colóide Protetor	0,3
Igualizante	0,3	Glicerina Branca	0,2
Anti Migrante	0,2	Emulgador	0,2
Lubrificante de Engomagem	0,2	Espessante	0,1
Anti Oxidante	0,07	Emulsionante	0,06
Catalisador	0,04	Anti Redutor	0,04
Espumante	0,02	Carrier	0,0005

Independente da matéria prima utilizada, as cargas poluidoras são variáveis segundo a etapa do processo produtivo. Estes efluentes são caracterizados por elevada carga orgânica, assim como elevada vazão e alta carga de sólidos, presença de metais pesados e cor.

Segundo LAPOSY (1995), para um maior controle destes poluentes e a mitigação dos efeitos que os mesmos possam causar no corpo d'água receptor, devem-se considerar algumas de suas características:

- **Regularidade da vazão** para evitar choques no meio receptor e tratamento biológico.
- **Temperatura** - A temperatura muito elevada leva a depleção da concentração de oxigênio dissolvido (OD).
- **A Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)** expressa a matéria orgânica contida nos efluentes que será consumida pelos microrganismos presentes, os quais consumirão oxigênio dissolvido no processo de oxidação. Esta diminuição do OD pode alcançar valores próximos de zero, prejudicando assim toda a vida aquática aeróbia pertencente ao ecossistema receptor.
- Os **Sólidos** contribuem para o assoreamento dos lagos e rios, podendo interferir nos nichos ecológicos dos organismos presentes, interferindo na biodiversidade do ecossistema. O aumento da turbidês da água pelos sólidos pode diminuir a luminosidade da água, o que acarreta uma diminuição da produção primária do ecossistema em questão. Um outro aspecto que deve ser levado em consideração é que concentrações elevadas de sólidos podem causar o entupimento das vias respiratórias em peixes (guelras).
- Os **Metais Pesados** interferem de maneira decisiva na atividade enzimática dos microrganismos. Estes devem ser removidos dos efluentes, e quando há tratamento biológico, estes devem ser removidos a montante para não afetarem a biota do mesmo.

- Os **Óleos e Graxas** interferem na oxigenação do meio aquático receptor formando películas na interface ar/água e podem causar entupimentos das vias respiratórias dos peixes. Se houver tratamento biológico, estas substâncias devem ser removidas através de tratamentos físico-químicos.

Outros parâmetros de extrema importância são o pH, a Demanda Química de Oxigênio, a Cor e Oxigênio Dissolvido.

pH - A concentração hidrogeniônica é um importante parâmetro de qualidade dos rejeitos industriais. A faixa adequada para a existência de vida é muito estreita e crítica. Os despejos com concentração inadequada do íon hidrogênio são difíceis de se tratar por métodos biológicos.

Demanda Química de Oxigênio (DQO) - Este teste também é utilizado para medir o conteúdo de matéria orgânica de águas residuárias e águas naturais. O oxigênio equivalente da matéria orgânica que pode ser oxidado é medido usando um oxidante em meio ácido (Dicromato de Potássio). A DQO geralmente é mais alta do que a DBO pelo fato de que um maior número de compostos podem ser oxidados por via química do que por via biológica. Para muitos tipos de despejos é possível correlacionar a DQO com a DBO (relação DQO/DBO varia geralmente entre 3 - 7). Isto é vantajoso, pois a DQO é determinada em apenas três horas, ao passo que a determinação da DBO leva 5 dias.

Cor - A cor nas águas superficiais (rios, canais, lagos) é um problema não tanto por sua toxicidade, mas por ser altamente visível (questão estética). O problema da cor, com respeito a indústria têxtil, está associado principalmente aos corantes solúveis em água. Outros corantes solúveis, como os diretos, básicos, muitos ácidos e pré-metalizados, são adsorvidos pelo lodo ativado e portanto, não criam na prática, problemas posteriores. Esse fenômeno é conhecido como “bioeliminação”.

Sem dúvida, alguns corantes reativos e ácidos são adsorvidos em quantidade insignificante (menos de 25%) e, portanto, saem no efluente da planta. A situação dos corantes reativos é especialmente crítica, devido a baixa fixação sobre a fibra.

Oxigênio Dissolvido (OD) - Ele é necessário para a respiração de microorganismos aeróbios bem como para outras formas aeróbicas de vida. A presença de oxigênio nas águas residuárias é desejável por prevenir formação de substâncias mal cheirosas.

Em virtude da composição e da grande quantidade dos efluentes gerados pela indústria têxtil, fica evidente a necessidade de um tratamento adequado para reduzir o seu potencial poluidor sobre o meio ambiente aquático.

Segundo a FATMA (Fundação do Meio Ambiente S/C), esses rejeitos industriais devem ser tratados e se enquadrar dentro de alguns parâmetros exigidos pela legislação ambiental, parâmetros estes apresentados no **ANEXO 1**.

I.6 - TRATAMENTO DOS EFLUENTES DA INDÚSTRIA TÊXTIL

I.6.1 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Atualmente, os poluentes industriais que mais preocupam são os metais pesados e os compostos orgânicos, especialmente os sintéticos .

A escolha do processo de tratamento dos efluentes ou a seqüência dos processos, depende de uma série de fatores, tais como: característica do efluente; DBO, concentração de sólidos em suspensão, pH e presença de substâncias tóxicas, qualidade do efluente requerida após o tratamento, custo, disponibilidade de superfície (para plantas de tratamento) e disponibilidade tecnológica.

I.6.2 - PRINCIPAIS ETAPAS DO PROCESSO DE TRATAMENTO

BRAILE e CAVALCANTI (1979) descrevem resumidamente as etapas mais utilizadas no processo de tratamento dos efluentes têxteis, como segue:

1- Tratamento Primário:

- **Gradeamento** - Destina-se a reter sólidos de grosso diâmetro presentes em suspensão. Esta etapa previne entupimentos de tubulações e equipamentos, preservando as etapas subsequentes do tratamento.
- **Remoção de areia** - As caixas de areia são utilizadas para a retenção de areia e outros detritos pesados inertes que estão presentes em suspensão nos efluentes. São utilizados com o objetivo de proteger bombas e tubulações contra abrasão e entupimento.
- **Remoção de óleos e gorduras** - Utilizam-se retentores de óleos, os quais são recipientes que provocam a redução da velocidade do efluente, originando uma superfície sem turbulência. Enquanto os sólidos mais densos se depositam no fundo formando lodo, os corpos menos densos sobem à superfície formando escumas, as quais são retiradas mecanicamente ou manualmente.
- **Equalização** - Os despejos são bobeados para um tanque de equalização com tempo de retenção de 24 horas, podendo ocorrer sedimentação de sólidos e produção de maus odores. Em casos assim, é recomendável fornecer aeração para evitar condições anaeróbias.
- **Neutralização** - Os efluentes têxteis são geralmente alcalinos, o que acarreta a necessidade de abaixamento do pH a fim de satisfazer as necessidades exigidas pelo tratamento biológico. Despejos ácidos são neutralizados por produtos como cal, Carbonato de Sódio ou soda. A cal é mais barata, mas apresenta a dificuldade de manuseio e produz uma grande quantidade de lodo. Despejos alcalinos podem ser neutralizados usando-se ácidos fortes.
- **Coagulação e Floculação** - Pode ser utilizado como um tratamento primário, ou então, como um tratamento terciário. Nesta fase, produtos químicos são adicionados ao efluente para remoção de colóides e material suspenso (orgânico ou inorgânico).

Geralmente são utilizados produtos como o Sulfato de Alumínio, sais de ferro e cal. Corantes dispersos podem ser removidos através da coagulação.

- **Sedimentação** - É a remoção de sólidos por gravidade. A sedimentação pode ser utilizada nos processos de tratamento para equalizar e remover compostos orgânicos e inorgânicos depois da coagulação química. O tempo de retenção é da ordem de 3 horas. Os decantadores têm sido utilizados para promover equalização parcial, remoção de fibras e escumas, ajuste de pH, remoção do Cromo, coagulação química e tratamento de sulfetos, ou então, de fenóis.
- **Flotação** - É um processo usado para separar a fase sólida da fase líquida, tendo portanto, os mesmos objetivos da decantação por gravidade. No entanto, a separação das duas fases é aumentada através da pressurização do efluente na unidade de flotação para permitir a liberação de bolhas que se agregam às partículas em suspensão. As partículas sólidos-ar emergem para a superfície da unidade de flotação, de onde são removidos através de raspadores de lodo.

2- Tratamento Secundário

Este consiste na remoção da matéria orgânica dissolvida e sólidos suspensos presentes nos efluentes industriais por bioxidação, são os chamados tratamentos biológicos. Dentre os microrganismos, as bactérias são as mais úteis, pois constituem a principal parte da biomassa em todos os estágios dos tratamentos biológicos. Os tratamentos biológicos empregados no tratamento de efluentes têxteis são:

- **Lodos Ativados**

É o processo biológico mais utilizado no tratamento de efluentes têxteis. O sistema de lodo ativado pode ser definido como um sistema no qual uma massa biológica é colocada em contato com a matéria orgânica do despejo, na presença de oxigênio dissolvido fornecido por borbulhamento de ar ou oxigênio puro através de aeradores mecânicos ou difusores. O sistema possui uma unidade de aeração seguida por uma unidade

de separação sólido/líquido, de onde o lodo é separado, sendo uma porção descartada e outra retorna ao tanque de aeração, que constitui um inóculo permanente e aclimatado. As principais desvantagens do processo são o seu custo relativamente alto, particularmente para o fornecimento de oxigênio dissolvido, geração de grande quantidade de lodo e uma ineficiência na remoção de cor. A eficiência de remoção de DBO neste processo pode atingir valores entre 90 e 98%.

- **Filtros Biológicos**

No processo de filtros biológicos, o despejo líquido é aspergido sobre pedras e escoado através do leito filtrante. O filtro biológico consiste de um leito filtrante de meio altamente permeável onde os microrganismos são fixados, e através do qual o despejo líquido é percolado. O meio filtrante usualmente é constituído por pedras ou plásticos. O despejo é percolado sobre o leito filtrante e a matéria orgânica é oxidada pelos microrganismos aderidos ao meio filtrante. O oxigênio necessário é obtido através do ar existente nos interstícios da estrutura. Os filtros biológicos, por serem muito sensíveis à variações dos despejos, não permitem flexibilidade de operação, devendo existir um afluxo relativamente constante de efluente.

- **Lagoas de Estabilização**

As lagoas de estabilização podem ser classificadas em lagoas de oxidação (aeróbias), facultativas, de maturação ou polimento e as mecanicamente aeradas. As lagoas de oxidação têm pequena profundidade, entre 0,30 a 0,45 metros, elevados tempos de retenção do efluente (na ordem de meses) e ocupam grandes áreas. As taxas de aplicação variam de 60 a 220 kg DBO/há.dia em uma profundidade que varia entre 0,90 a 2,5 metros. A remoção de matéria orgânica é da ordem de 70 a 95%. As lagoas mecanicamente aeradas têm sido usadas com sucesso no tratamento de despejos da indústria têxtil, requerendo apenas 3 a 5% da área necessária para uma lagoa de oxidação. As profundidades variam entre 2,5 a 5,0 metros e os tempos retenção do efluente variam entre 2 e 10 dias. O oxigênio necessário ao processo biológico é introduzido mecanicamente e, para se garantir um efluente de boa qualidade, é comum utilizar um tanque de sedimentação após a lagoa. A

remoção da DBO e dos sólidos em suspensão depende basicamente do tempo de retenção, da temperatura e do grau de mistura, podendo variar entre 50 e 90%.

- **Combinações de Processos**

Para efluentes têxteis pode-se usar combinações de processos, tais como: lodos ativados de dois estágios, filtro biológico de alta taxa seguido de lodos ativados de biodisco. Consegue-se remoção de DBO acima de 90%, mas a um custo bem mais elevado.

I.7 - OZONÓLISE

I.7.1 - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO OZÔNIO.

O ozônio é um gás instável no ar, com temperatura de ebulição de $-112\text{ }^{\circ}\text{C}$ (1 atm); é parcialmente solúvel em água e tem um cheiro penetrante. Este gás é detectável em concentrações baixas, de 0,01 à 0,05 ppm (RICE, 1981). Quanto à estabilidade do Ozônio, pode-se afirmar que no ar é muito maior do que na água. Na atmosfera, o tempo de meia vida é 12 horas, já na água destilada (20°C), este tempo se reduz para 165 minutos (RICE, 1981). A solubilidade do Ozônio é aproximadamente 13 vezes menor do que a do Oxigênio (em uma faixa de temperatura de 0° à $30\text{ }^{\circ}\text{C}$).

A principal característica deste gás é o seu forte potencial de oxidação em solução alcalina, o qual é excedido apenas pelo potencial do Flúor, situando o Ozônio entre os melhores oxidantes químicos (Tabela 3). Com este potencial, o Ozônio tem a capacidade de oxidar a grande maioria dos compostos orgânicos e inorgânicos encontrados nos efluentes de vários ramos industriais.

Tabela 3: Potencial de oxidação de espécies químicas comumente empregados como oxidantes.

Elementos/Compostos	Potencial de Oxidação (Volts)
Flúor	3.06
Oxigênio atômico	2.80
Ozônio	2.07
Permanganato	1.67
Cloro	1.36
Bromo	1.09
Iodo	0.54
Oxigênio	0.40

O Ozônio apresenta estrutura de ressonância híbrida, com as configurações eletrônicas apresentadas na **Figura 6** (NEBEL, 1981).

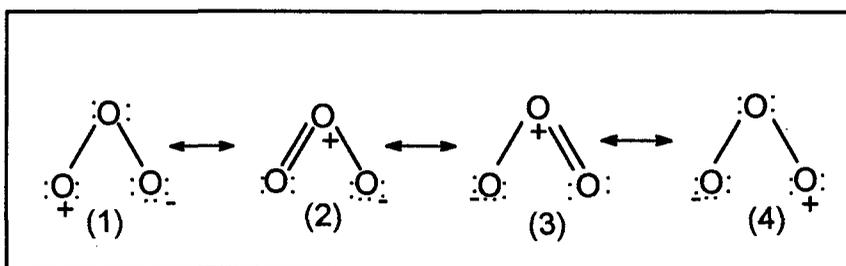


Figura 6: Possíveis formas do Ozônio devida a ressonância eletrônica (NEBEL, 1981).

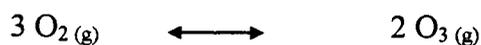
As ligações das moléculas de Oxigênio são do tipo σ e uma ligação do tipo π no qual o orbital alonga-se sobre os três átomos de Oxigênio. As formas de ressonância que mais contribuem nas reações são a (1) e (2), devido às mesmas apresentarem um Oxigênio na extremidade com seis elétrons. Baseado na observação das estruturas de ressonância, percebe-se que o Ozônio possui características nucleofílicas, eletrofílicas e um momento dipolar, portanto, o Ozônio poderá participar de reações eletrofílicas ou de adição sobre os compostos orgânicos insaturados .

1.7.2 - PRODUÇÃO DE OZÔNIO

O Ozônio pode ser gerado de diversas maneiras, sendo que a maioria delas requerem que as ligações estáveis da molécula de Oxigênio sejam divididas em dois átomos de Oxigênios atômicos. Estes átomos reagem quase que instantaneamente com a molécula do Oxigênio para formar o Ozônio (NEBEL, 1981).

A tecnologia da Descarga da Corona deve ser aplicada quando precisa-se de grande quantidade de Ozônio ou maiores concentrações deste gás. Esta tecnologia consiste em uma descarga elétrica silenciosa que fornece aos elétrons energia cinética suficiente para dividir a dupla ligação do O_2 . Os dois átomos de Oxigênio, produtos desta colisão, reagem com outra molécula de Oxigênio molecular para formar Ozônio.

Segundo SCHULHOF and SMITH (1988) em 1857, Werner Von Siemens, mostrou que o Ozônio é produzido a partir do oxigênio, através da seguinte reação:



Um gerador típico para este processo requer cerca de 16,5 kWh para produzir 1,0 kg de Ozônio a partir do ar. Os geradores de Ozônio operam basicamente sob o mesmo princípio anterior. O Oxigênio é introduzido em uma célula onde ocorre a descarga elétrica, produzida por uma fonte elétrica de alta voltagem. Esta descarga ocorre em uma abertura

de dimensões apropriadas, entre dois eletrodos (um de alta voltagem e o outro aterrado), ocupado por duas substâncias dielétricas, uma o Oxigênio e a outra, vidro ou cerâmica (geralmente utilizado para limitar a descarga e evitar a formação de arco), conforme mostra a **Figura 7** (GLAZE, 1989).

A energia cinética necessária para a dissociação da molécula de O_2 está em torno de 6 à 7 eV. As etapas para formação do Ozônio são as seguintes:

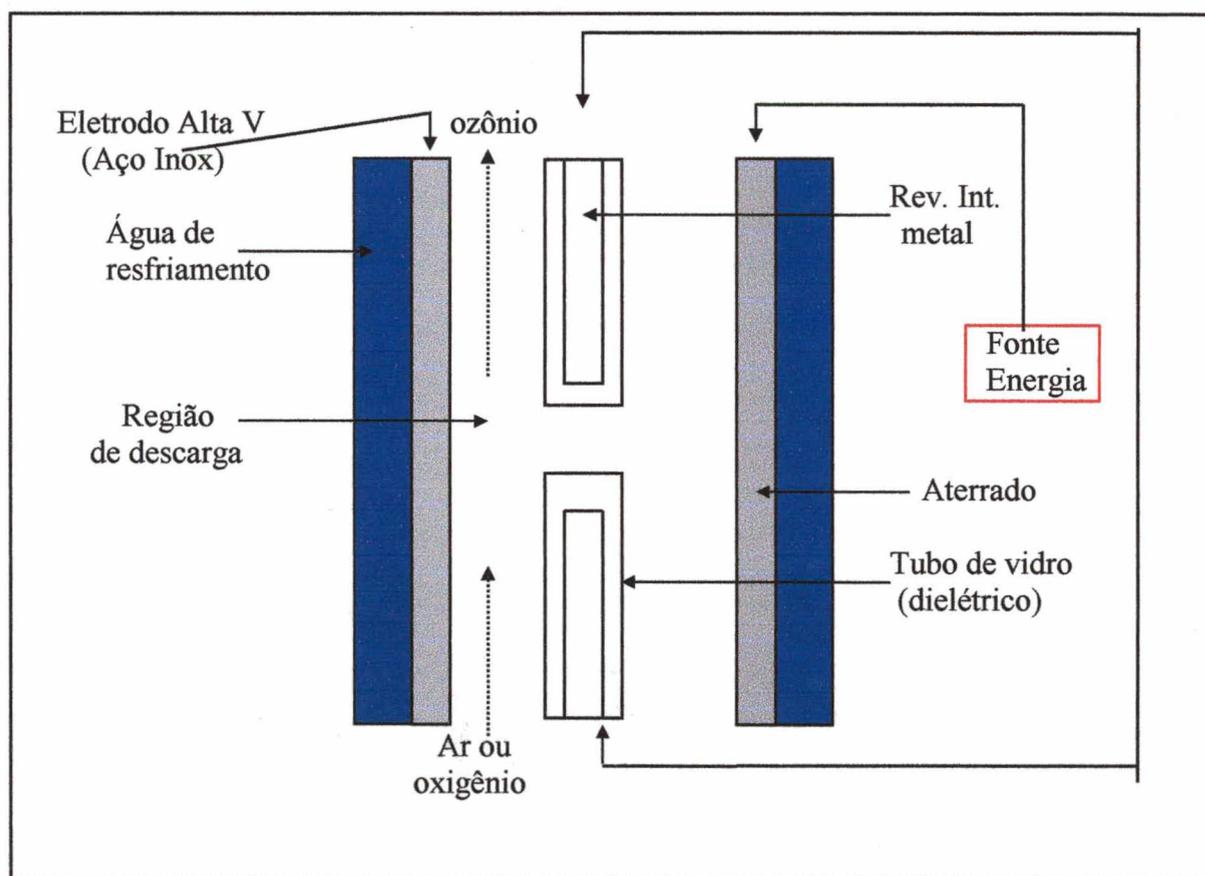
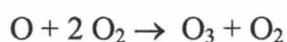


Figura 7: Configuração básica de um Gerador de Ozônio (GLAZE, 1989).

O mecanismo de decomposição do Ozônio em águas contendo Ácidos Húmicos, Carbonatos, Ácidos Carboxílicos, Ferro e Álcoois primários é bem mais complexo do que a decomposição em água pura (STAEHELIN and HOIGNE, 1985). Isto porque estas espécies citadas acima podem atuar como iniciadores, promotores ou inibidores de reações radicalares (LANGLAIS *et al.*, 1991).

I.7.4 - REAÇÕES DO OZÔNIO.

Os mecanismos da reação de compostos químicos com Ozônio têm sido estudados em solventes que não participam da reação e em água (solvente participante).

Como exemplo podemos citar a reação do Ozônio com alcenos, a qual envolve adição 1,3 - dipolar do Ozônio na dupla ligação Carbono-Carbono, formando um intermediário conhecido como molozonídeo, o qual em presença de água se decompõe rapidamente formando aldeídos, cetonas e/ou ácidos orgânicos (PRYDE *et al.*, 1968).

Compostos aromáticos em contato com Ozônio podem formar produtos aromáticos polihidroxiados, alifáticos insaturados (incluindo álcoois, ácidos dicarboxílicos e ésteres), alifáticos saturados, quinóides e finalmente CO₂ e H₂O (LEGUBE, 1983). A **Figura 9** mostra as reações e produtos da oxidação do fenol (MILLER, 1978).

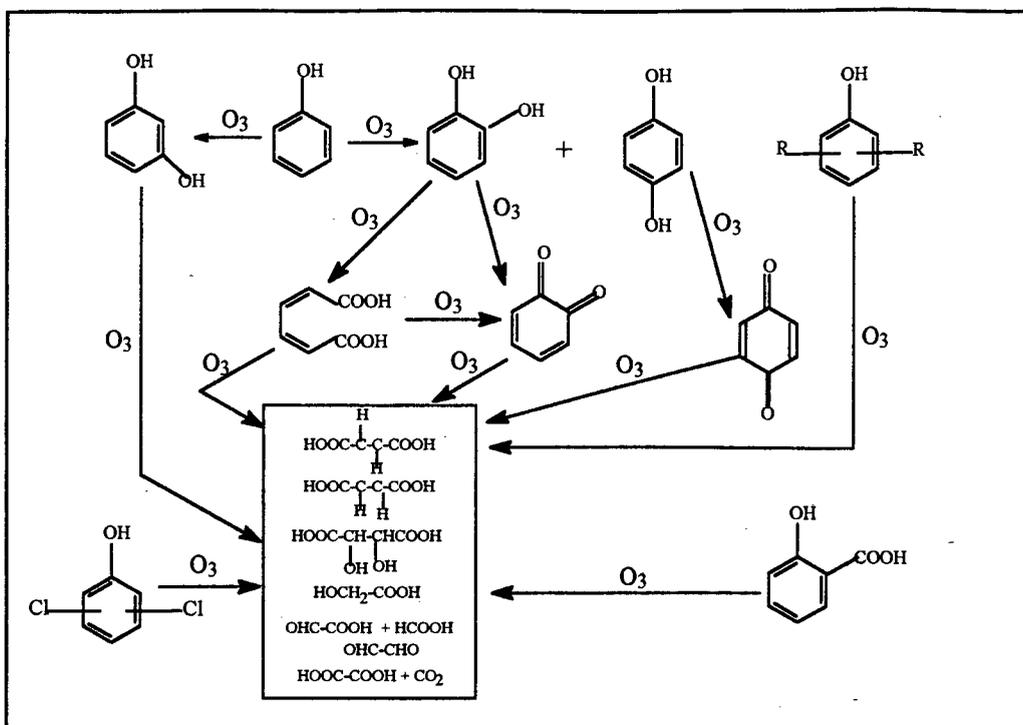


Figura 9: Esquema da sequência de reações/produtos que ocorrem ao se reagir fenol com ozônio (MILLER, 1978)

Segundo THONPSON *et al.* (1989), os mecanismos da reação do Ozônio com compostos orgânicos podem ser: i) diretos, envolvendo Ozônio molecular ou ii) indiretos, envolvendo intermediários como os radicais hidroxilas (OH^\bullet). A reação direta é altamente seletiva e relativamente lenta, e a reação indireta é rápida com muitos compostos presentes na água, *via* radical OH^\bullet (**Figura 10**) (LANGLAIS *et al.*, 1991).

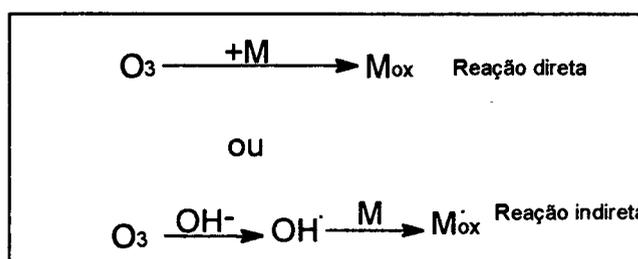


Figura 10: Reações Diretas ou Indiretas do Ozônio em soluções aquosas (LANGLAIS *et al.*, 1991).

Em condições de pH ácido ou neutro, o Ozônio molecular dissolvido reage com materiais orgânicos, e em pH alcalino, ele decompõe-se rapidamente para formar radicais OH[•], os quais reagem rapidamente com a maioria dos compostos orgânicos (BOLLYKY and SILER, 1989).

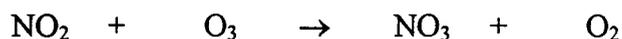
As cinéticas de Ozonização têm sido estudadas extensivamente com vários tipos de compostos orgânicos (LANGLAIS *et al.*, 1991). Por exemplo, em solução aquosa, a velocidade de reação do Ozônio é maior nas moléculas com grupos doadores de elétrons do que com as moléculas com grupos retiradores de elétrons (velocidade é maior com fenol > toueno > clorobenzeno > nitrobenzeno) (HOIGNÉ and BADER, 1983). As constantes de velocidades para as cinéticas de ozonização de compostos fenólicos substituídos, à pH constante, são de primeira ordem (GOULD, 1987).

O Ozônio também se presta para oxidar compostos inorgânicos, tais como cianetos, sulfetos e nitritos (MANLEY and NIEGOWSKI, 1967). Os íons cianetos são oxidados a íons cianatos, conforme a reação:



Os íons sulfetos são oxidados a enxôfre, depois a sulfíto e finalmente a sulfato, sendo que a quantidade de Ozônio empregada e outros fatores é que determinarão o grau de oxidação alcançado.

Os íons nitritos são oxidado a nitratos segundo a reação:



Nitrilas orgânicas, nitritos, compostos nitrosos, hidroxilaminas e similares podem ser oxidados aos seus nitrocompostos correspondentes, os quais podem se decompor liberando íons nitratos e compostos carbonáceos.

I.8 - APLICAÇÕES DA OZONÓLISE

I.8.1- TRATAMENTO DE ÁGUA

O ozônio tem sido usado no tratamento de águas (potável e residuária), uma vez que o mesmo possui um grande potencial de oxidação e apresenta ação bactericida.

O uso da Ozonização como um processo de tratamento da água potável iniciou-se em Nice (França) em 1907, objetivando a desinfecção da água potável local (MASTEN and DAVIES, 1994). A Ozonização tem muitas aplicações específicas na questão de tratamento da água, tais como: oxidação do Ferro e Manganês, remoção da cor, remoção de odor e sabor, controle de algas, oxidação de cianetos e sulfetos, oxidação de nitritos, eliminação de fenol e detergentes, remoção de sólidos suspensos e para finalizar, microfloculação (MILLER, 1978).

I.8.2 - TRATAMENTOS DE EFLUENTES INDUSTRIAIS

O desenvolvimento industrial fez com que surgissem novos compostos químicos. Para tratar estes compostos, métodos convencionais de tratamentos biológicos muitas vezes não são suficientes, pois muitos tóxicos podem não ser biodegradáveis e sim biocidas. Conseqüentemente, processos avançados de oxidação tem sido aplicado como métodos químicos de tratamento (RUPERT and HUBERT, 1997). A maior parte dos processos avançados de oxidação encontrados, incluem o tratamento com ozônio (combinado com H_2O_2 e/ou U.V.), U.V./ H_2O_2 e reações do tipo Foto-Fenton. Estes processos de oxidação podem ser usados no tratamento de efluentes industriais de diversas origens, como por exemplo, nos efluentes de indústrias têxteis, tratamentos de rejeitos líquidos de pesticidas, tratamento do solo e tratamentos de rejeito de industria de polpa e papel .

O Ozônio tem sido muito usado na descoloração de soluções coloridas. Segundo LIAKOU *et al.* (1997), a ozonólise é um método de grande potencial para oxidação de azo-corantes, obtendo-se uma maior degradação desses compostos.

GOUGH (1993), efetuou ensaios pilotos de descoloração em um efluente de estação de tratamento misto. A estação tratava uma mistura de esgoto doméstico e efluentes industriais, especialmente de tinturarias. Após a fileira clássica da estação, uma fraca concentração de ozônio (15g/m^3) permite baixar a cor até a um valor inferior à 100 mg Co-Pt em 30 minutos. Além disso, segundo este mesmo autor, o Ozônio permitiu obter um melhor rendimento na eliminação da DQO e da DBO_5 .

A Tabela 4 mostra a alteração das características de uma água contaminada tratada por Ozonização (RAZUMOVSKII and ZAIKOV, 1984).

Tabela 4. Avaliação da eficiência da ozonólise no tratamento de água contaminada (RAZUMOVSKII and ZAIKOV, 1984).

Antes do Tratamento			Depois do Tratamento			
DBO	Composição (mg/L)		Consumo de O_3 (g/L)	DBO	Composição (mg/L)	
	Fenol	Cianeto			Fenol	Cianeto
1582	270	25	2,4	165	3,6	12,0
872	146	5,0	3,1	114	0,7	6,5
2370	249	32	1,4	360	2,5	66,2
2224	706	23,0	2,2	192	traços	10,6
2224	786	23,0	2,2	-	0,1	10,4
1568	141	6,8	2,5	152	0,1	28,3
1877	97	3,6	2,0	664	5,0	42,2

I.9 - ECOTOXICOLOGIA (BIOTESTES)

A avaliação do grau de impacto causado por rejeitos industriais se faz de duas maneiras, as quais podem e devem ser integradas:

- i) análise química;
- ii) utilização de Biotestes.

Um Bioteste consiste em colocar um organismo vivo em contato com uma substância química (ou mistura complexa) com o intuito de observar um efeito tóxico. A toxicidade será evidenciada pela observação da morte ou por uma modificação no crescimento ou na fisiologia do organismo.

Em Ecotoxicologia, os Biotestes são utilizados para mostrar os níveis (concentrações) de produtos químicos ou misturas complexas que não produzem efeitos adversos nas populações, comunidades ou ecossistemas.

No estudo de uma mistura complexa (*i.e.*, efluente têxtil) vários tipos de biotestes podem ser utilizados para evidenciar uma possível toxicidade. Entre estes testes podemos citar aqueles realizados com macrófitas, com microcrustáceos, com peixes, com moluscos, com bactérias, com algas, com nematóides, com protozoários, etc..

Como não existe um único organismo representativo para um ecossistema, a literatura descreve o uso de várias espécies de organismos vivos para poder avaliar impactos ambientais. Atualmente, predominam os Biotestes com 4 organismos essenciais ao meio ambiente aquático **Figura 11**.

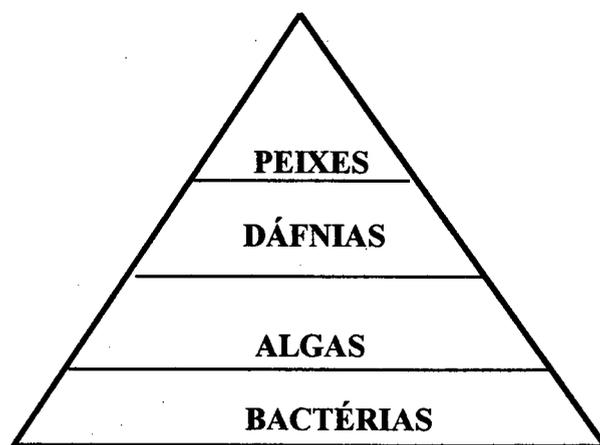


Figura 11: Organismos essenciais do nível trófico do ecossistema aquático.

O objetivo dos Biotestes é monitorar e/ou prever os efeitos tóxicos de elementos simples, compostos ou misturas em termos de saúde dos organismos, tanto ao nível individual ou em níveis de populações, comunidades e ecossistemas.

Em termos práticos, existem várias abordagens com relação à aplicação dos Biotestes:

a) abordagem regulamentadora:

- classificação do potencial tóxico das substâncias químicas;
- fixação de limites de rejeitos no ambiente.

b) abordagem preditiva:

- previsão das consequências ambientais devidas aos rejeitos;
- proteção das espécies consideradas de maior interesse;
- proteção da estrutura e do funcionamento dos ecossistemas.

c) abordagem avaliativa:

- eficiência de um sistema de despoluição;
- controle da qualidade ambiental pré e pós rejeição de poluentes;
- ecotoxicomonitoramento.

L9.1 - ASPECTOS METODOLÓGICOS DOS BIOTESTES

Existe uma variação muito grande dos resultados quando o mesmo tipo de Bioteste é realizado com protocolos diferentes. Para que isto não se torne um problema de difícil equacionamento, houve um esforço internacional no desenvolvimento de normas padronizadas para possibilitar uma maior homogeneidade e consequentemente, uma comparatividade dos resultados obtidos em diferentes laboratórios. O Brasil (via ABNT), bem como todos os países que participam do comércio internacional, adotou a utilização destas normas que foram elaboradas pela ISO (International Standard Organization). Assim, uma série de normas (ISO 14000) passarão a vigorar futuramente com o objetivo de avaliar (e diminuir) os impactos ambientais causados pelos rejeitos industriais que resultam da fabricação dos produtos industrializados.

I.9.2 – UTILIDADE E TIPOS DE BIOTESTES

Estima-se que 50.000 à 100.000 substâncias são suspeitas de existirem em águas poluídas, sendo que muitas delas são classificadas como perigosas para o meio ambiente (CHAPMAN, 1995).

As substâncias podem ser detectadas individualmente e designadas por valores limites permitidos, mas em uma mistura complexa, isto torna-se muito difícil de ser realizado, assim, estas substâncias são resumidas em parâmetros totais (*e.g.*, DBO, DQO, AOX, COT). No entanto, na avaliação do impacto ambiental provocado por um efluente complexo, a análise físico-química apresenta alguns inconvenientes, tais como:

- custo elevado;
- problemas com amostragem e amostras;
- morosidade;
- não é exaustiva;
- muitas vezes não possibilita a especificação das substâncias químicas presentes na amostra;
- limites de detecção relativamente elevados para as concentrações ambientais de muitos compostos.

A quantificação de uma substância química (*e.g.* micropolvente) em uma amostra não nos indica a forma na qual esta substância se encontra (especificação); ela pode estar na forma iônica ou livre, pode estar complexada ou ainda na forma de um composto insolúvel. É a especificação quem condiciona a biodisponibilidade, sendo que a biodisponibilidade é um dos principais parâmetros que condicionam a toxicidade. Além do mais, os efluentes sempre são misturas complexas de micropoluentes que interagem entre si e com o meio receptor; estas interações podem gerar substâncias mais tóxicas do que seus precursores. Assim, uma análise ecotoxicológica é necessária e complementar a análise físico-química na avaliação do impacto ambiental causado por uma mistura complexa.

Atualmente, todo estudo ecotoxicológico compreende uma bateria de testes que utilizam diferentes organismos, representantes dos diferentes níveis tróficos dos ecossistemas. A importância dos Biotestes pode ser depreendida quando se analisa o número de testes normalizados ou em vias de normalização nas diferentes instituições responsáveis pela gestão ambiental. Podemos citar como exemplos as normas

desenvolvidas pela ISO - International Standard Organization (1990,1993 e 1994), ASTM - American Society For Testing And Materials (1994), USEPA - United States Environmental Protection Agency (1985a, 1994) e a AFNOR - Association Française De Normalisation (1982, 1986).

I.9.3 - APRESENTAÇÃO DOS PRINCIPAIS BIOTESTES

Os testes mais utilizados para avaliar o potencial tóxico dos efluentes abrangem organismos pertencentes aos diferentes níveis tróficos de um ecossistema (THOMAS *et al.*, 1986, BLAISE *et al.*, 1987). Por exemplo, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA, 1985b) também recomenda a utilização de várias espécies pertencentes à diferentes níveis tróficos quando da realização de Biotestes. Isto porque a toxicidade de um mesmo tipo de efluente pode variar segundo o organismo testado. MOUNT *et al.* (1984) também constataram que são necessários vários tipos de Biotestes para poder avaliar os riscos ambientais dos rejeitos em um meio aquático.

Os Biotestes mais utilizados que aparecem na literatura científica são:

- Teste com Bactéria marinha (*Photobacterium phosphoreum* e *Vibrio fischeri*).

Este teste consiste a medir a luminescência da bactéria na ausência e na presença do efluente a ser testado. A toxicidade do efluente se traduzirá por uma diminuição da luminescência da bactéria (BULICH, 1979; ISO, 1993). Bem que estas bactérias marinhas não sejam representativas do meio aquático doce, este tipo de teste apresenta uma boa relação custo/eficiência, fornecendo uma informação rápida sobre a toxicidade do efluente (VASSEUR *et al.*, 1984).

- Teste com Algas

As algas são consideradas como a base das cadeias tróficas aquáticas e a estabilidade da biomassa dos níveis superiores destas cadeias frequentemente dependem do equilíbrio fitoplanctônico (CHRISTENSEN and SCHERFIG, 1979). A fitotoxicidade

(redução da produtividade primária) é considerada como um dos efeitos ecotoxicológicos dos mais nefastos (NEUHOLD and RUGGERIO, 1976).

Uma população de algas em fase exponencial de crescimento é exposta a uma série de diluições de um efluente sob condições definidas. Trata-se de um teste de inibição do crescimento da população algal; após um período definido, o crescimento das populações expostas às diversas diluições é comparado ao crescimento das algas não expostas ao efluente (ISO, 1990). Este teste faz parte de uma bateria constituída de 3 biotestes reconhecidos e utilizados pela USEPA (1994); é o tipo de ensaio crônico mais breve de que se dispõe com relação aos dois testes da bateria.

- Teste com Microcrustáceos

Este tipo de ensaio tem por objetivo medir as concentrações tóxicas de um efluente utilizando a espécie *Daphnia magna* ou *Ceriodaphnia dubia* (ISO, 1994; USEPA, 1994). São organismos que filtram a água para se alimentar; ao nível da cadeia trófica, eles são considerados consumidores primários. Se alimentam essencialmente de algas e de organismos unicelulares (bactérias, protozoários), bem como de matéria orgânica em suspensão.

- Teste com Peixes

Os testes crônicos consistem em acompanhar o desenvolvimento embrionário e larvário, bem como o estado juvenil dos peixes expostos ou não aos tóxicos (USEPA, 1994). Os peixes são igualmente utilizados para estabelecer a toxicidade aguda das substâncias e de efluentes (ISO, 1993).

- Teste com Vegetais (Fitotoxicidade)

As plantas são componentes essencial para o meio o ecossistema aquático e terrestre. Além disso, as plantas servem como abrigo e suporte para os ciclos de vida dos insetos, peixes, pássaros, anfíbios e mamíferos.

O uso de plantas em testes de toxicidade apresenta algumas vantagens sobre os outros tipos de testes:

- pode-se avaliar a toxicidade de amostras de ar, líquidos (*e.g.*, efluentes, lixiviados), solos e sedimentos;
- pode-se avaliar vários critérios de efeitos (*e.g.*, biomassa, germinação, conteúdo em clorofila, trocas gasosas, atividades enzimáticas, problemas genéticos, etc.);
- dispondo das sementes, pode-se iniciar um teste a qualquer momento;
- o custo de manutenção e realização dos testes é baixo;
- pode-se aplicar o teste *in locus*;
- os protocolos dos testes de fitotoxicidade são relativamente simples de serem executados.

Porém, a principal vantagem é que neste tipo de teste, o efluente pode ser usado *in natura*, sem necessidade de corrigir pH ou eliminar a matéria em suspensão, o que deixa a amostra a ser testada íntegra. Duas revisões bibliográficas recentes sobre a utilização dos Biotestes com vegetais foram publicadas por WANG and FREEMARK (1995) e LEWIS (1995).

- Testes Bioquímicos (Moléculas Biomarcadoras)

O estudo das respostas bioquímicas dos organismos (*e.g.*, proteínas, enzimas e metabólitos) frente aos contaminantes é uma área de interesse crescente no campo da Toxicologia Ambiental (DI GIULIO *et al.*, 1989; STEGEMAN *et al.*, 1992). As razões deste interesse repousam: *i*) na necessidade de se obter dados bioquímicos de base com organismos intoxicados ou não; *ii*) de encontrar moléculas biomarcadoras altamente sensíveis que respondam a doses de tóxicos extremamente baixas e que permitam um monitoramento simples e confiável quanto aos resultados obtidos.

Com relação aos vegetais, um grande número de moléculas bioquímicas estão sendo usadas para melhor entender as interações tóxico-contaminantes em estudos ambientais (VAN ASSCHE *et al.*, 1988). A **Tabela 5** mostra alguns trabalhos relativos às moléculas biomarcadoras em vegetais.

As enzimas Peroxidase e Catalase fazem parte do complexo sistema anti-oxidante presente nos vegetais (ELSTNER, 1982). A função destas enzimas pode ser compreendida dentro do contexto bioquímico do fenômeno chamado Estresse Oxidativo (SIES, 1991), o

qual pode ser resumido da seguinte maneira: quando as plantas são submetidas a fatores estressantes (*e.g.*, expostas a um tóxico), pode ocorrer a formação de espécies reativas oxigenadas (oxidantes) em grandes quantidades, as quais são nefastas para o metabolismo do organismo (FOYER, 1994). Entre muitas enzimas que apresentam propriedades antioxidantes, a Catalase e a Peroxidase atuam inativando estas espécies oxigenadas de alto poder oxidante. Alterações significativas nas atividades destas enzimas geralmente são interpretadas como sendo respostas a uma condição estressante que o organismo está sendo submetido.

Tabela 5. Revisão bibliográfica sobre o uso de moléculas biomarcadoras em estudos ambientais.

Espécie (Tecido)	Agente Indutor	Duração	Enzima analisada (% indução)			Expressão dos Resultados	Autores
<i>Lactuca sativa</i>	Cu (solução 5 mM)	8 dias	Cat (90)	Per (80)		Ativ. Espec.	MUKHERJI and DAS GUPTA, 1972
<i>Lemna minor</i> (raízes)	Hg (solução 0,7 µg/L)	5 dias	Cat (78)	Per (56)		Atividade/ Peso úmido	SUBHADRA <i>et al.</i> , 1991
<i>Allium cepa</i>			(48)	(46)			
<i>Triticum aestivum</i> (folha)	Paclobutrazol (solução 100 mh/L)	18 horas	Cat (45)	Per (29)	GR. SOD (21) (16)	Atividade/ Peso úmido	KRAUS and FLETCHER, 1994
<i>Eichhornia crassipes</i> (folhas)	Pentaclorofenol (solução 2 µM)	2 dias	GR (60)	Per (11)	SOD (39)	Ativ. Espec.	ROY and HANNINEM, 1994
(raízes)			-	(46)	(35)		
<i>Triticum aestivum</i> (folhas)	Frio e Iluminação	20 horas	Per (43)	SOD (63)		Atividade/ Clorofila	MISHRA <i>et al.</i> , 1993
<i>Triticum aestivum</i> (planta)	Seca	4 dias	Cat (10)	Per (30)	SOD (20)	Ativ. Espec.	ZHANG and KIRKHAM, 1994
<i>Hordeum vulgare</i> (folha)	SO ₂ (350 µg/m ³)	34 dias	Cat (80)	GR (15)	SOD (37)	Ativ. Espec.	NAVARI-IZZO and IZZO, 1994

Cat (Catalase), Per (Peroxidase), GR (Glutathione reductase), SOD (Superóxido dismutase), Ativ. Espec. (Atividade Específica).

I.9.4 - APLICAÇÕES DOS BIOTESTES

As aplicações dos Biotestes tem se tornado uma ferramenta muito importante para avaliar a toxicidade de rejeitos industriais e assegurar a proteção do meio ambiente (CAIRNS and NIEDERLEHNER, 1990; USEPA, 1989).

Para que o leitor tenha uma idéia das variações dos resultados dos Biotestes, mostramos a seguir os resultados publicados por PARKHURST *et al.* (1992). Estes autores fizeram uma comparação dos resultados de vários Biotestes realizados com uma única amostra química e um efluente baseando-se em resultados de 23 publicações. À título de esclarecimento, o Coeficiente de Variação (CV) é definido como sendo a relação entre o Desvio Padrão (σ) e a Média (X) dos Resultados vezes 100 ($CV = \sigma/X \cdot 100$). Os autores observaram que a média dos coeficientes de variação (CVs) dos resultados para os estudos intralaboratório (7 - 33%) era menor do que a média dos CVs dos estudos interlaboratórios (34 - 36%). Contudo, a média dos CVs intra e interlaboratório para os testes crônicos (7 - 38%) era geralmente igual ou menor do que os testes agudos (17 - 46%). Estes mesmos autores também constataram que o Coeficiente de Variação dos resultados dos Biotestes para um único composto químico (32 - 34%) foi maior do que a amostra de efluente (7 - 34%).

Apresentamos a seguir alguns estudos publicados referentes ao uso dos Biotestes nos estudos ambientais.

MILLER *et al.* (1985), usaram vários organismos representantes dos diferentes níveis tróficos (bactérias, algas, dáfnias, anelídeos e vegetais) para avaliar rejeitos perigosos contendo metais pesados, herbicidas e inseticidas. Os autores observaram que frente aos metais pesados e inseticidas a ordem de sensibilidade decrescente foi: algas \geq dáfnias $>$ bactéria (*Photobacterium phosphoreum*) $>$ germinação de sementes $>$ minhocas. As plantas altas foram mais sensíveis frente ao Ácido 2,4-Diclorofenóxidoacético (herbicida), seguido em sensibilidade por algas, bactérias, dáfnias, e minhocas. Neste mesmo estudo, os autores discutem a importância do monitoramento biológico e a tendência de se usar parâmetros

biológicos para definir o potencial tóxico de uma substância em um organismo ou ecossistema. Os autores atribuem esta tendência de usar biotestes ao aumento crescente de elementos traços no meio ambiente, os quais podem causar efeitos ecotoxicológicos e não serem detectados pela análise química. Os autores sugerem que para alguns casos, dados obtidos por monitoramento biológico podem substituir as quantificações químicas.

COSTAN *et al.* (1993) compararam os efeitos tóxicos de efluentes de diferentes origens. Eles perceberam que o efluente de uma indústria de galvanoplastia inibia a reprodução das dáfias (microcrustáceo), mas não apresentavam efeitos tóxicos nas algas (*Selenastrum capricornutum*). No mesmo estudo, os autores também verificaram que o efluente de uma indústria de celulose inibia acentuadamente a reprodução das dáfias (*Ceriodaphnia dubia*), assim como a reprodução das algas (*Selenastrum capricornutum*). Após um tratamento de biodegradação deste tipo de efluente, a toxicidade dele frente às dáfias diminuiu, mas continuou sendo extremamente tóxico para as algas, além do que, este efluente tratado aumentou sua toxicidade frente às bactérias (*Photobacterium phosphoreum*).

BRENNER *et al.* (1994), utilizaram biotestes realizados com bactérias bioluminescentes (*Photobacterium phosphoreum*) para avaliar um sistema de tratamento para rejeitos químicos complexos oriundos de vários ramos industriais. Os resultados obtidos indicaram que os rejeitos contém uma fração tóxica e outra fração de material orgânico não biodegradável. Os resultados obtidos podem ser vistos na **Figura 12**.

A **Figura 12** mostra uma redução gradual da DQO ao longo do processo de tratamento, junto com uma mudança na toxicidade. Pode-se perceber que uma redução significativa na DQO acarretou um aumento da toxicidade. Este fenômeno indica que a degradação das moléculas presentes no rejeito pode formar metabólitos intermediários com maior potencial tóxico e conseqüentemente, mais agressivos ao meio ambiente.

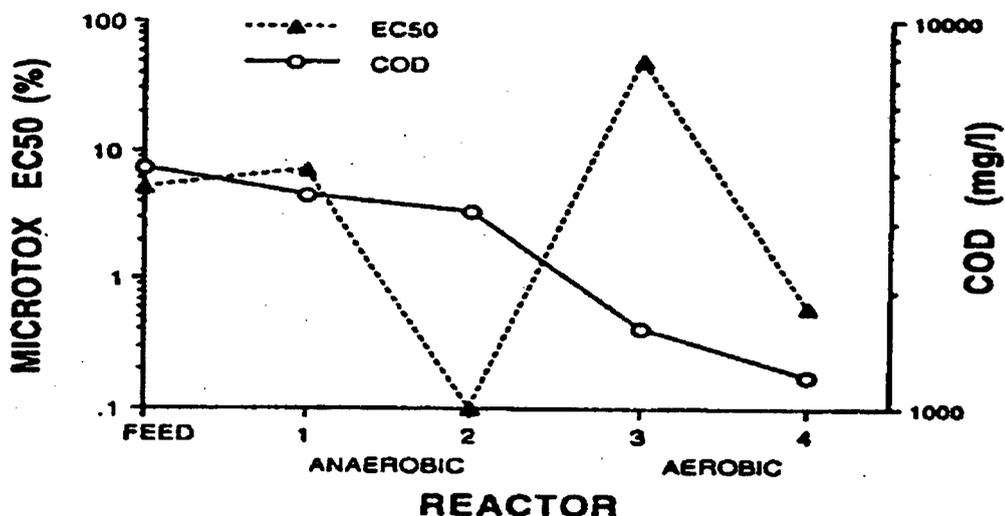


Figura 12. Variação na DQO e na toxicidade (Microtox) ao longo de um processo de tratamento de rejeitos químicos (BRENNER *et al.*, 1994).

Com relação à Fitotoxicidade, WANG and KETURI (1990), compararam a sensibilidade relativa de 10 espécies vegetais (couve, cenoura, pepino, alface, cevada, aveia, arroz, tomate e trigo) frente a um efluente extremamente tóxico originário de uma indústria de metais de gravuras. As espécies mais sensíveis foram (em ordem decrescente): arroz > alface > tomate. Em um outro estudo (WANG, 1987), vinte e uma amostras de efluentes industriais foram testadas e a toxicidade deles para a alface e o arroz foram comparadas: sem exceção, o arroz sempre foi mais sensível do que a alface. Estes resultados mostram que arroz pode ser considerado como um candidato particularmente interessante para testes gerais de Fitotoxicidade. Outros estudos mais específicos concernem a utilização dos Biotestes nas avaliações toxicológicas dos efluentes industriais. À título de exemplo podemos citar os trabalhos de: TARALDSEN and NORBERG-KING, 1990; WANG, 1990a, 1990b, 1991; WALSH *et al.*, 1991a, 1991b; WANG and WILLIAMS, 1989; VASSEUR *et al.*, 1991, WHITTON, 1979; BEHERA and MISRA, 1982 e HULZEBOS *et al.*, 1993.

Capítulo II
MÉTODOS E MATERIAIS

II - MÉTODOS E MATERIAIS

A parte experimental desta dissertação envolveu muitos métodos físico-químicos e biológicos. Mostra-se sinopticamente na **Figura 13** as principais etapas experimentais e os tipos de análises realizadas.

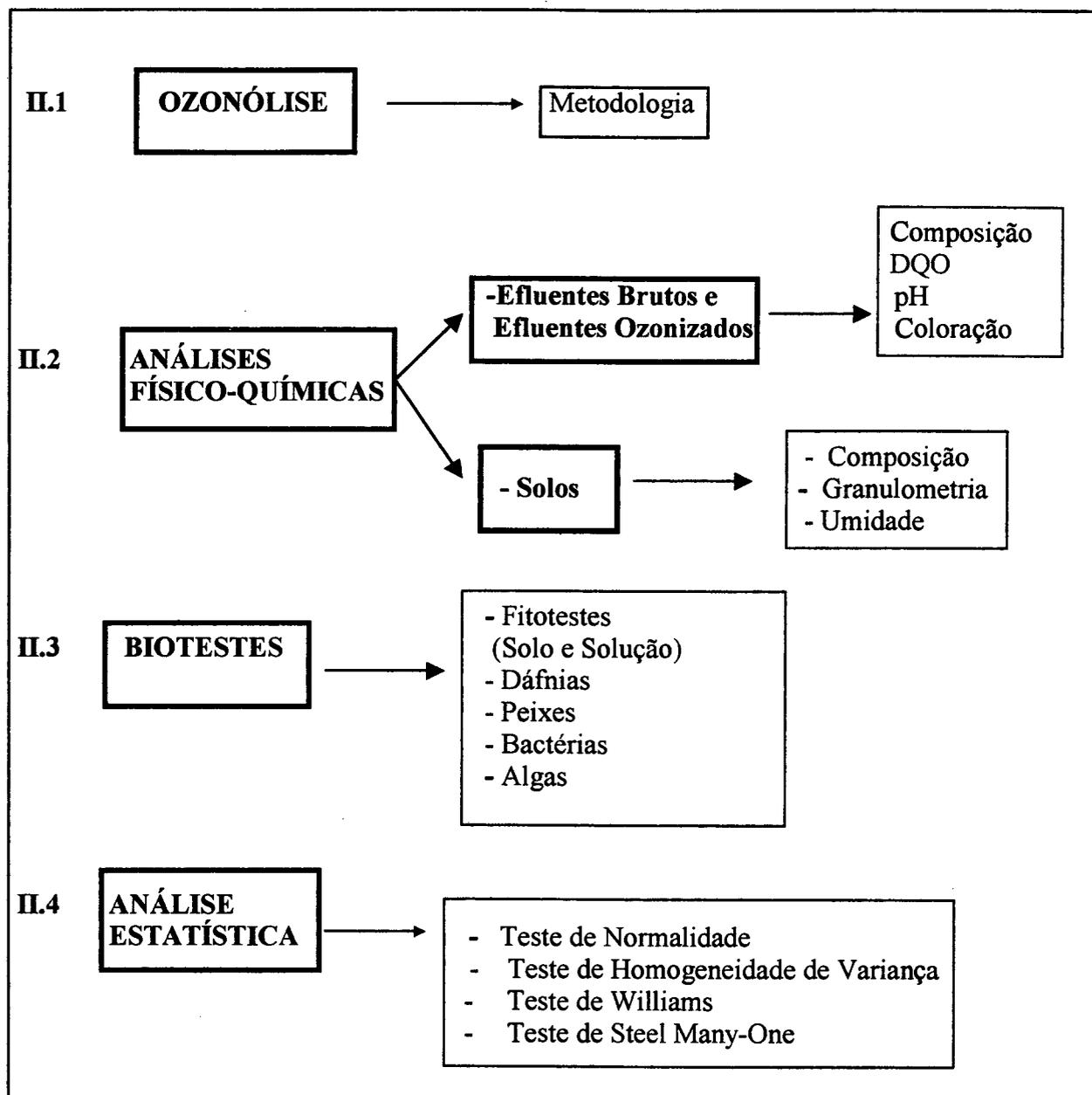


Figura 13. Quadro sinóptico da parte experimental deste trabalho de dissertação.

II.1 - OZONÓLISE

O sistema de tratamento do efluente por Ozonólise consiste basicamente em duas partes: a) um gerador de ozônio e b) um reator em forma de coluna com 0,2 m de diâmetro por 2,0 m de altura recheada no seu interior com anéis de Raschig. Os anéis adicionados objetivam uma maior eficiência na reação de oxidação, já que operando a coluna com estes anéis haverá uma maior transferência de massa entre os fluídos envolvidos no processo. A **Figura 14** mostra o sistema de Ozonólise usado para tratar os efluentes têxteis utilizados nesta dissertação. Preliminarmente, as amostras de efluentes foram filtradas para reduzir a quantidade de sólidos em suspensão, evitando assim, o acúmulo dos mesmos no interior do reator. A quantidade de recheio utilizado foi 4/5 da altura da coluna.

Em termos funcionais, a Ozonólise foi feita da seguinte maneira: o Oxigênio molecular proveniente de um compressor de ar recebe uma descarga elétrica, gerando então o Ozônio (VOGEL, 1971). A concentração de Ozônio gerado em nosso sistema corresponde à $0,34\text{g.h}^{-1}$. As amostras dos efluentes têxteis foram coletadas na canalização final da indústria, antes de entrarem na Estação de Tratamento de Efluentes. O efluente bruto entra na coluna pela parte superior, com uma vazão de 1000 mL.h^{-1} e vai ao encontro do fluxo de Ozônio, o qual é injetado por um difusor na parte inferior da coluna. O tempo de residência do efluente na coluna foi de 20 minutos. O efluente tratado deixa a coluna pela parte inferior e o Ozônio que não reagiu é exaurido na parte superior da coluna. Os efluentes têxteis foram considerados como sendo tratados e disponíveis para os Biotestes após 30 horas de Ozonólise.

A qualidade dos efluentes ozonizados foi avaliada pelos seguintes parâmetros: pH, DQO e Coloração. As metodologias empregadas para estas avaliações serão descritas na seção II.2.1.

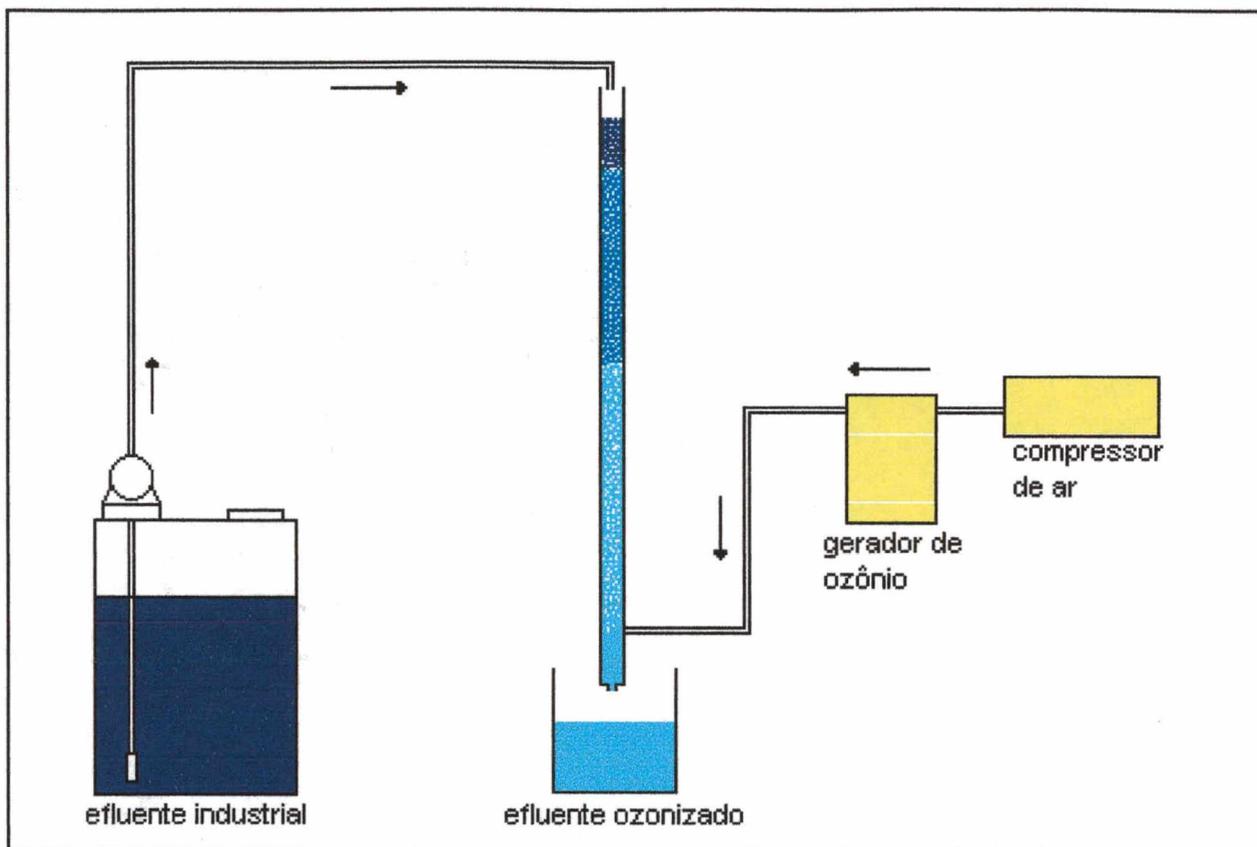


Figura 14. Esquema do equipamento de Ozonólise.

II.2- ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

II.2.1 - EFLUENTES BRUTOS E OZONIZADOS.

- **Metais pesados e resíduos orgânicos** foram monitorados de acordo com a norma padronizada da APHA (1992), utilizando a técnica de absorção atômica e espectrometria de massa.

- A **DQO** (Demanda Química de Oxigênio) foi feita de acordo com a norma padronizada da APHA (1992), utilizando-se o aparelho Espectrofotômetro HACH DR 12000.

- O pH das soluções foi determinado em pH-metros digitais marca Digimed DMPH-2 ou Micronal B 374, equipados com eletrodo duplo de vidro (Ingold) e previamente calibrados com soluções padrões.

- A Cor foi acompanhada pela variação da Absorbância em um comprimento de onda máximo do efluente na região do visível (400-700 nm) usando como fluido padrão (branco) a água destilada. Um espectrofotômetro UV-Visível Varian 634 e/ou Varian DMS 80 (nos quais foi acoplado um banho termostático programado para $25^{\circ}\text{C} \pm 0,1$) foram utilizados para este acompanhamento.

II.2.2 - SOLOS

O solo foi coletado no Horizonte Ap (entre 0 e 25 cm de profundidade) em um sítio no bairro Saco Grande, Florianópolis S.C. A topografia do solo corresponde a uma inclinação fraca e a rocha mãe do solo é classificada como sendo de origem basáltica. O solo coletado foi secado em estufa (48 horas, 120°C), peneirado e moído para que as partículas tivessem o diâmetro recomendado pela norma experimental seguida para realizar os Testes de Fitotoxicidade. A umidade mínima de infiltração foi determinada com 50 g de solo seco que foi introduzido em um funil, tomando a precaução de colocar um algodão no fundo; água destilada foi gotejada sobre o solo lentamente com uma pipeta. Finalizou-se a operação no momento em que apareceu a primeira gota de água no algodão. O volume de água utilizado foi medido e corresponde à umidade mínima de infiltração. Repetiu-se esta operação mais duas vezes. Para todos os Testes de Fitotoxicidade realizados, a umidade mínima de infiltração foi de 48 %, ou seja, 24,0 mL de água para 50 g de solo. Na realização do Fitoteste em fase sólida, o solo deve ser umidificado com 2/3 deste valor (proporcionalmente à quantidade de solo no pote) seja com água (controles) ou seja com solução tóxica.

Uma análise físico-química-microbiológica preliminar foi feita com o solo utilizado nos Testes de Fitotoxicidade para verificar se este solo preenchia os requisitos exigidos na

norma experimental adotada (ISO, 1993a). Os resultados desta análise aparecem na **Tabela 6**.

Observando os valores da **Tabela 6**, percebe-se que os parâmetros analisados estão dentro das especificações impostas pelo norma experimental, as quais são: pH entre 5 e 7,5 e não conter mais do que 3% de Matéria Orgânica.

Tabela 6. Análise físico-química-microbiológica do solo argiloso utilizado nos Testes de Fitotoxicidade. A análise dos elementos químicos se fez por Espectroscopia de Absorção Atômica.

Parâmetro analisado	Resultado
Matéria orgânica total (%)	3,0
pH	5,5
Textura	Argiloso
Al trocável (eq.mg Al ³⁺ /100 g)	250,3
Ca trocável (eq.mg Ca ²⁺ /100 g)	492,1
Mg trocável (eq.mg Mg ²⁺ /100 g)	225,5
P solúvel (ppm)	1,1
N total (%)	0,15
K solúvel (ppm)	132,8
Fe total (mg/g)	123,0
Mn (ppm)	286,4
Si (mg/g)	152,7
Bolores (ucf/g)*	2,0 x 10 ²

* Ufc/g - unidades de colônias formadas por grama de solo.

II.3 - BIOTESTES

II.3.1 -TESTE DE FITOTOXICIDADE

Os testes de Fitotoxicidade foram realizados segundo o projeto de norma experimental ISO (1993a), a qual precisa todos os parâmetros que devem ser observados/quantificados no solo utilizado para este fim.

A **Figura 15** apresenta um esquema das etapas seguidas na realização de um Teste de Fitotoxicidade. A seguir, descreve-se sucintamente a metodologia da norma experimental.

II.3.1.1 - SELEÇÃO DAS ESPÉCIES VEGETAIS PARA OS FITOTESTES.

Antes de realizar os Testes de Fitotoxicidade (Fitotestes) definitivos, foi feita uma seleção das espécies vegetais que seriam usadas posteriormente, visto que a norma experimental seguida recomenda a utilização de, no mínimo, 3 espécies. As sementes (não tratadas) das espécies vegetais utilizadas foram gentilmente doadas pela EPAGRI/SC. Desta forma, foram testadas 8 cultivares (7 espécies) vegetais em fase sólida (solo) com efluente bruto, a identificação das espécies é mostrada na **Tabela 7**. A metodologia para realizar estes Fitotestes será descrito em II.3.1.3.

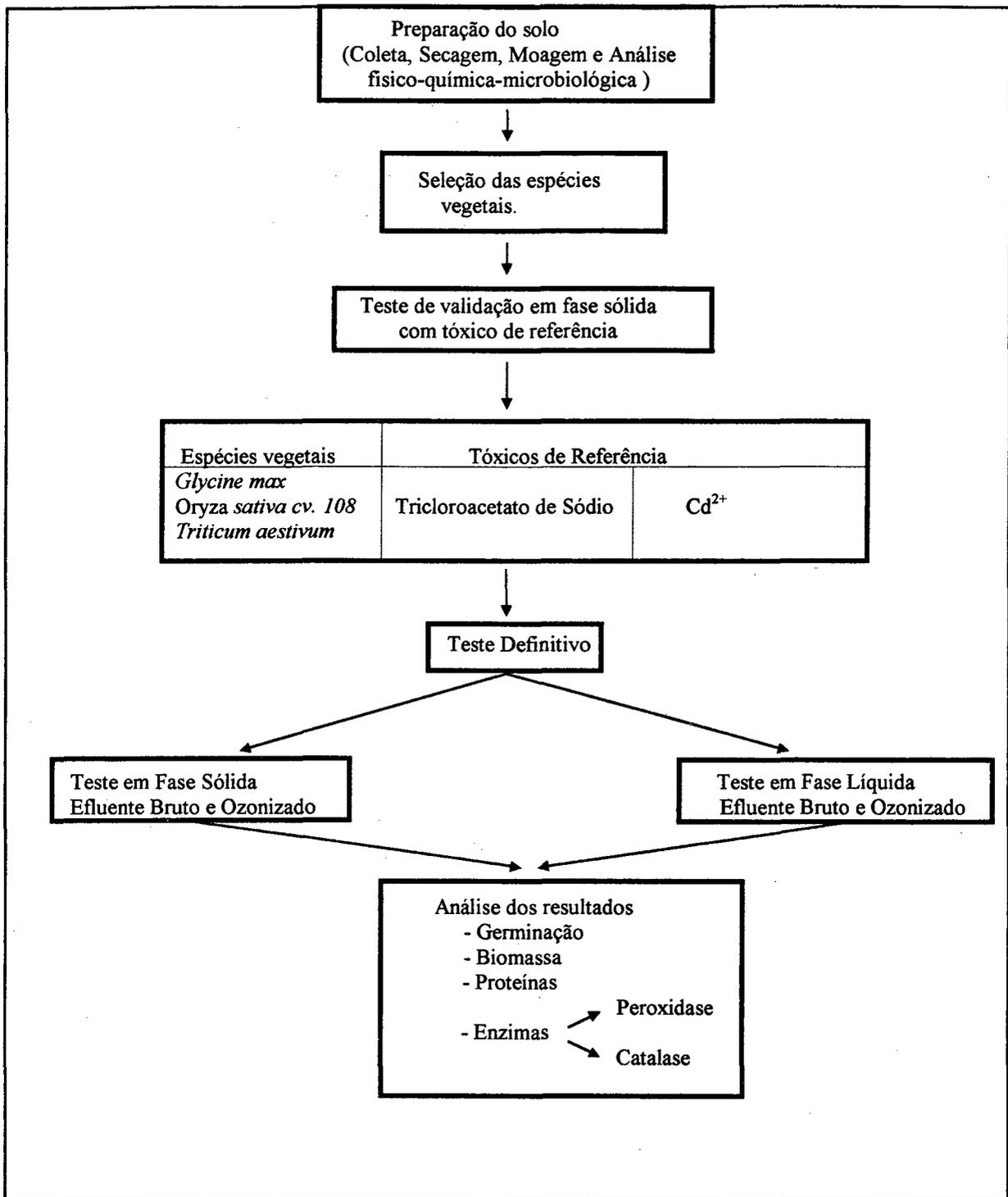


Figura 15: Etapas para a realização dos Testes de Fitotoxicidade.

Tabela 7. Espécies vegetais e cultivares testadas para escolher as espécies utilizadas nos Fitotestes definitivos.

Nome Científico	Cultivar	Nome Comum	Família
<i>Triticum aestivum</i>	BR3 Linhagem PF 72518	Trigo	<i>Gramineae</i>
<i>Oryza sativa</i>	EPAGRI 109	Arroz	<i>Gramineae</i>
<i>Oryza sativa</i>	EPAGRI 108	Arroz	<i>Gramineae</i>
<i>Mucuna aterrima</i>	BR6 Barriga Verde EMPASC	Mucuna preta	<i>Leguminosae- Papilionoideae</i>
<i>Glycine max</i>	CEP-112 Cambara	Soja	<i>Leguminosae- Papilionoideae</i>
<i>Vicia benghalensis</i>	IPAGRO 1	Ervilhaca	<i>Leguminosae- Papilionoideae</i>
<i>Avena sativa</i>	-	Aveia	<i>Gramineae</i>
<i>Phaseolus mungo</i>	EMPASC 201 Chapecó	Feijão mungo	<i>Leguminosae- Papilionoideae</i>

Destas 7 espécies vegetais testadas, 3 foram selecionadas (*Glycine max*, *Oryza sativa* cv. 109 e *Triticum aestivum*) para a realização dos Testes de Validação da metodologia experimental e para os Fitotestes definitivos com efluentes brutos e Ozonizados.

II.3.1.2 - TESTE DE VALIDAÇÃO DAS METODOLOGIAS COM USO DE TÓXICOS DE REFERÊNCIA.

Esta etapa do trabalho consistiu em validar a metodologia experimental do Teste de Fitotoxicidade. O estudo de validação consiste em repetir no mínimo 3 vezes, os testes com as espécies vegetais escolhidas anteriormente, utilizando substâncias de referência [Tricloroacetato de Sódio (ACROS ORGANICS, 18415-82) e Cd^{2+} , [como CdCl_2 (MERCK, 4864)] como tóxicos. As concentrações de tóxicos utilizadas foram: Tricloroacetato de Sódio (mg/kg solo) - 10,3; 20,7; 41,5; 83,0; e 166,0. Cd^{2+} (mg/kg solo) - 3,6; 7,2; 14,4; 28,8; e 57,6.

O esquema experimental para um Teste de Fitotoxicidade aparece na **Figura 16**. As plantas são expostas a uma gama crescente de concentração do tóxico; para cada espécie vegetal são realizados 2 testes em tempos diferentes. O total de dados é 6 potes por concentração para cada espécie vegetal exposta ao tóxico. Para cada pote há, no mínimo, 9 plantas.

Controles	C 1	C 2	C 3	C 4	C 5
Réplica 1					
Réplica 2					
Réplica 3					

Figura 16. Esquema experimental de um Teste de Fitotoxicidade.

Os resultados dos testes são analisados estatisticamente, observando-se a Normalidade ou não dos valores obtidos, a Homogeneidade ou não das Variâncias dos valores obtidos e os Coeficientes de Variação para cada conjunto de réplicas em um primeiro momento e para o conjunto todo de dados em um segundo momento. Em função desta análise, valida-se (aceita-se) ou não a metodologia experimental adotada. A metodologia da realização destes testes é descrita em II.3.1.3

II.3.1.3 - DESCRIÇÃO DO FITOTESTE COM EFLUENTES BRUTOS E OZONIZADOS

a - Teste em Fase Sólida

Cada pote teste (réplica) continha 200g de solo, 65 mL da solução de efluente (água nos controles) e, no mínimo, 9 sementes da espécie vegetal testada. Os potes testes (identificados) foram colocados de forma aleatória em uma câmara de cultivo, sob uma quantidade de luz fosforescente com luminosidade média de 4410 lux e um fotoperíodo de 16 h de iluminação por 8 h de obscuridade. A temperatura durante o teste oscilava entre 16 °C à noite e 25 °C de dia. Cada teste teve duração de 14 dias, com rodízio dos potes testes e reposição diária da água evaporada (pesagem em balança). No final do teste, o número de plantas germinadas por pote foi registrado e as plantas de cada pote foram cortadas ao nível do solo, sendo que o peso úmido do conjunto de plantas de cada pote foi determinado imediatamente. A biomassa de cada pote foi dividida pelo número de plantas germinadas no pote. Este peso úmido médio de cada pote é um valor (dado) estatístico.

Para cada espécie vegetal foram realizados 2 testes em tempos diferentes com efluente bruto e 2 testes em tempos diferentes com efluente ozonizado. O total de dados é 6 potes por concentração para cada espécie vegetal exposta ao efluente bruto e 6 potes por concentração para cada espécie vegetal exposta ao efluente ozonizado. Foram quantificados nos testes vários parâmetros biológicos (*e.g.*, inibição da germinação, biomassa vegetal, proteínas e enzimas).

Os dados obtidos eram sempre comparados com os dados dos potes controles. Os testes foram realizados em potes de plástico polivinílico de 10 cm diâmetro e 8 cm de altura. A **Figura 17** mostra o esquema experimental para um Fitoteste em fase sólida com efluentes e as diluições respectivas destes.

Controles	6,2 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
Réplica 1					
Réplica 2					
Réplica 3					

Figura 17. Esquema experimental de um Fitoteste com efluente (bruto ou ozonizado).

b - Teste em Fase Líquida

Para os testes em fase líquida foram usadas as mesmas espécies vegetais que foram usadas nos testes em fase sólida.

Neste tipo de teste, primeiramente as plantas foram germinadas em fase sólida (húmus) durante 10 dias em uma câmara de cultura sob luz fosforescente com uma iluminação média de 4410 lux. Após isto, as plantas são retiradas inteiras do meio sólido e divididas em 18 grupos que correspondem aos 18 potes de cada teste. Cada grupo continha uma quantidade de biomassa muito próxima, biomassa esta registrada. Os potes foram divididos segundo o esquema experimental da **Figura 17** e as plantas foram expostas à 250 ml de uma gama crescente de diluições dos efluentes (brutos e ozonizados) ou água (controles). Em seguida, os potes testes com as plantas em fase líquida foram colocadas novamente na câmara de cultura durante 72 horas, nas mesmas condições descritas para a fase sólida. Os potes foram distribuídos aleatoriamente quanto ao posicionamento, com rodízio diário destas posições e com substituição diária das diluições dos efluentes.

No final do teste, as plantas de cada pote foram secadas com papel toalha, pesadas e analisadas (biomassa, proteínas e enzimas) da mesma forma que as análises feitas com as plantas da fase sólida (solo) descritas anteriormente.

Para cada espécie vegetal foram realizadas 2 testes em tempos diferentes com efluente bruto e 2 testes em tempos diferentes com efluente tratado. O total de dados é 6 potes por concentração para cada espécie vegetal exposta ao efluente bruto e 6 potes por concentração para cada espécie vegetal exposta ao efluente tratado. Os testes foram realizados em potes de plástico de 10 cm diâmetro e 15 cm de altura.

II.3.1.4- PARÂMETROS ANALISADOS

Germinação: A germinação consiste na contagem do número de sementes germinadas por pote (em porcentagem). Neste trabalho, uma semente germinada é uma semente onde constatou-se a ruptura dos tegumentos e a aparição de um germe, sem presumir o seu desenvolvimento ulterior.

Biomassa Vegetal: A biomassa vegetal é obtida após a colheita das plantas, através da pesagem de todas as plantas (caule e folhas) por pote teste.

Proteínas e Enzimas (Catalase e Peroxidase)

Para quantificar as proteínas e as enzimas, fez-se uma preparação especial seguindo as etapas mostradas na **Figura 18**.

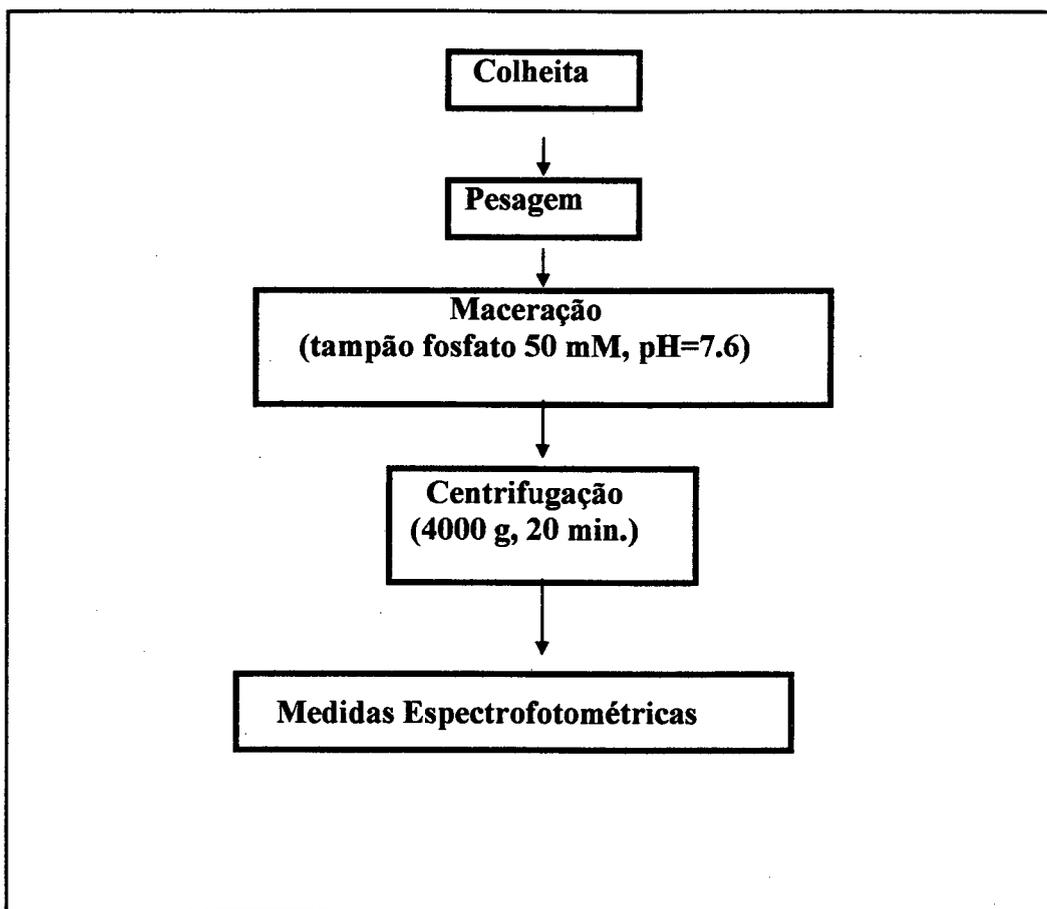


Figura 18: Etapas realizadas para as análises de proteínas e enzimas.

- Método de Análise das Proteínas

As proteínas foram analisadas pelo método de BRADFORD (1976), o qual é rápido e sensível (KRESZE, 1983). O método consiste na utilização do corante Azul de Coomassie "G" (SERVA, 35050) que passa de laranja para azul em presença de proteínas.

A cor azul resulta da interação dos grupos aniônicos do corante com os grupos aminos das proteínas que estão na forma NH_3^+ .

Uma amostra de 0,2 g de biomassa de cada pote teste foi misturada com 4 mL de tampão $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ (VETEC, 225 e 315) 0,05 M pH = 7.6 e macerada. As amostras maceradas de cada pote foram colocadas em tubos de centrifugação sob banho de gelo e depois centrifugadas a 4000 g durante 20 min. Após a centrifugação, o sobrenadante foi transferido para um tubo de plástico com tampa (cubetas Eppendorf) e deixado por 12 horas no freezer à - 20 °C.

Para quantificar as proteínas das amostras, utilizou-se uma curva analítica feita com uma solução padrão de Soro de Albumina Bovina - Fração V - (SAB) 0,1% (MERCK, 12018). Desta solução, retirou-se 80 μL e adicionou-se à 120 μL de solução tampão fosfato num primeiro tubo (com 5 mL de volume). Ao segundo tubo adicionou-se 100 μL de tampão e 100 μL do primeiro tubo e assim sucessivamente. Do quinto tubo, retirou-se 100 μL para que todos os tubos ficassem com o mesmo volume (**Figura 19**).

A cada tubo adicionou-se 4,5 mL da solução do Azul de Coomassie "G" e após 5 minutos, determinou-se a absorbância das soluções resultantes de SAB (40, 20, 10, 5, 2,5 $\mu\text{g/g}$) à 594 nm. Para cada Fitoteste foi feita uma curva padrão de proteínas.

Concentração final de SAB ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	40	20	10	5	2,5	
Volume (μL) Sol. padrão adicionada (100 $\mu\text{g}/100\mu\text{L}$)	80	100	100	100	100	100 (Rejeitados)
Solução tampão adicionada (μL)	120	100	100	100	100	

Figura 19: Metodologia utilizada na preparação das soluções padrões do Soro de Albumina Bovina (SAB), as quais serviram para fazer a curva analítica para a análise de proteínas.

Para a análise das proteínas nas amostras vegetais, a quantidade de proteínas em contato com o corante foi pré-determinada através de um estudo de diluição, o qual mostrou qual diluição deveria ser realizada (para cada espécie vegetal) para que a absorbância caísse na parte linear da curva padrão de SAB (*i.e.*, entre 5 e 40 µg proteína/100 µL). As diluições foram as seguintes: arroz 1/15; soja 1/10 e trigo 1/20.

As concentrações de proteínas encontradas nas amostras diluídas foram relacionadas com o peso úmido das plantas da amostra analisada.

- Método de Avaliação da Atividade da Peroxidase

As medidas das atividades peroxidásicas foram feitas segundo o método publicado por CHANCE (1970). O princípio deste método repousa na coloração desenvolvida por dois compostos cromóforos (Fenol e 4-Aminoantipireno) na presença de peroxidase. O método escolhido apresenta certas vantagens, tais quais: a grande solubilidade dos cromóforos, ausência de auto-oxidações entre estes cromóforos, a formação do indicador em fracas concentrações de peroxidase e a grande gama de linearidade da cinética (MICHAL *et al.*, 1983).

Protocolo

Para o seguimento da cinética, duas soluções são preparadas antecipadamente:

- Solução A: preparada pela mistura de 4-aminoantipireno (0,25 mM) (PROLABO, 21160) com fenol (17,2 mM) (VETEC, 387) em H₂O Milli-Q (MILLIPORE);
- Solução B: constituída de H₂O₂ à 3,2 mM (VETEC, 194) em H₂O Milli-Q (MILLIPORE).

O meio reacional é constituído de 0,7 mL da Solução A e 100 µL de amostra vegetal de cada pote. A reação é iniciada pela adição de 0,8 mL da Solução B. A cinética é acompanhada durante 1 minuto. A variação da absorbância de cada amostra medida à 510 nm foi transformada em unidades enzimáticas, sendo que uma unidade enzimática corresponde à variação de 0,01 unidades de absorbância.minuto⁻¹. As unidades enzimáticas

assim obtidas foram relacionadas às taxas de proteínas contidas nas respectivas amostras. As atividades enzimáticas específicas obtidas foram submetidas à análise estatística.

- Método de Avaliação da Atividade da Catalase

A atividade catalásica das amostras foram medidas pelo método publicado por BEERS and SIZER (1951). Este método é baseado no acompanhamento do desaparecimento do substrato da enzima, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) à 240 nm. Este método é simples e rápido, porém apresenta o inconveniente de produzir bolhas de O_2 no curso da reação. Entretanto, o fato de se utilizar os dados cinéticos nos tempos iniciais da reação evita este inconveniente.

Protocolo

Os reagentes necessários para medir a atividade catalásica são:

- Tampão Fosfato de Potássio 50 mM (VETEC, 225 e 315), pH 7,6;
- Peróxido de Hidrogênio 50 mM tamponado com o tampão acima. Esta solução deve ser conservada ao abrigo da luz.

O meio reacional é constituído da seguinte maneira:

	Volume de tampão	Volume de H_2O_2	Volume da amostra vegetal
Trigo	1 mL	1 mL	50 μ L
Soja	0,9 mL	0,9 mL	100 μ L
Arroz	0,9 mL	0,9 mL	100 μ L

Quando o Peróxido de Hidrogênio é adicionado inicia-se a reação. A diminuição da absorbância foi seguida a cada segundo durante 30 segundos. A variação da absorbância de cada amostra medida foi transformada em unidades enzimáticas, sendo que uma unidade enzimática corresponde à variação de 0,01 unidades de absorbância.minuto⁻¹. As unidades

enzimáticas assim obtidas foram relacionadas às taxas de proteínas contidas nas respectivas amostras. As atividades enzimáticas específicas obtidas foram submetidas à análise estatística.

II.3.2 - TESTE COM ALGAS

Os Testes com Algas (*Scenedesmus subspicatus*, Chodat) foram realizados segundo a norma experimental ISO (1990c). A sequência dos trabalhos realizados com as Algas está apresentada na Figura 20, a qual também é, válida para os outros organismos testados.

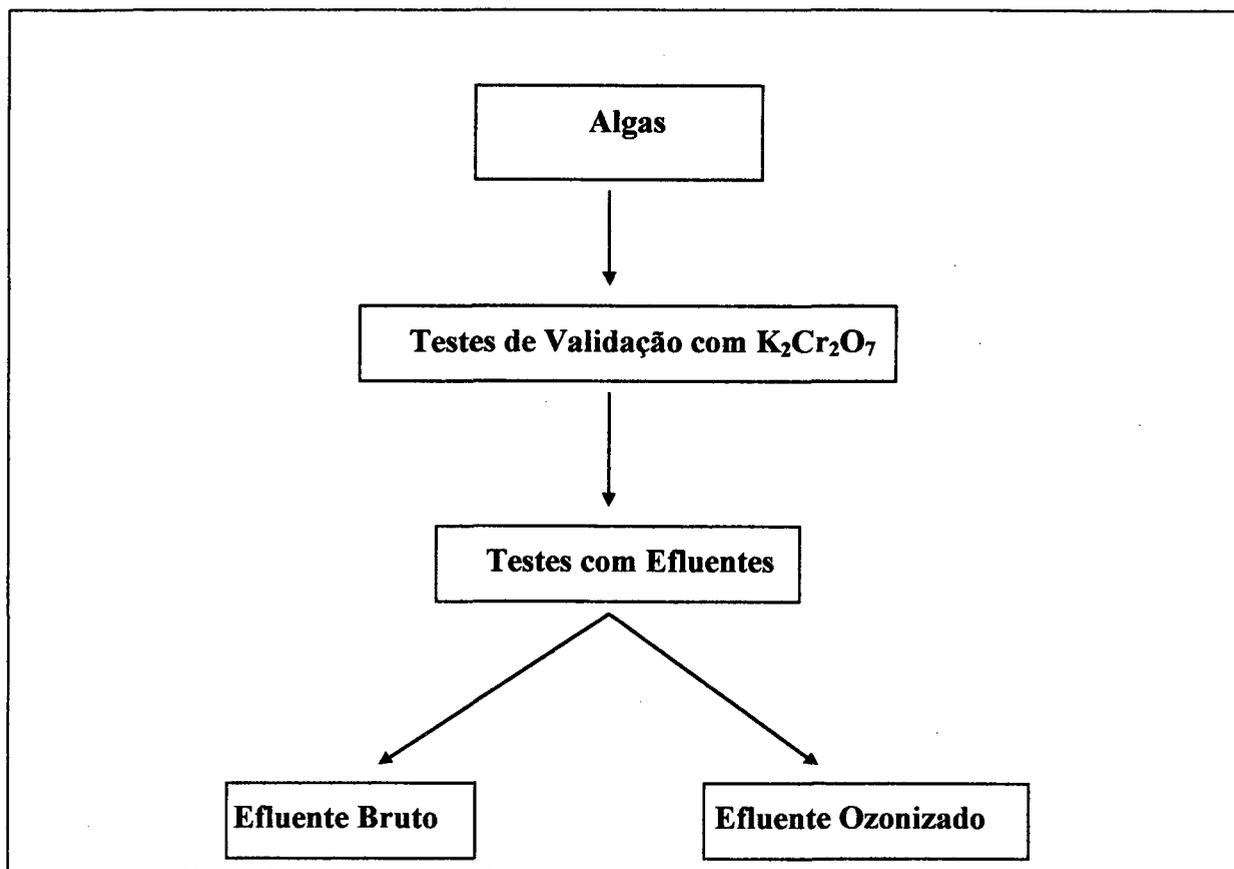


Figura 20: Etapas gerais dos Testes realizados com Algas.

II.3.2.1 - TESTE DE VALIDAÇÃO COM ALGAS

As algas são cultivadas no próprio Laboratório de Ecotoxicologia da FATMA/SC. Através de repiques desta cultura inicial foram preparadas as soluções testes. Tanto para o teste de validação como para o teste definitivo, foi realizada primeiramente uma pré-cultura durante 72 horas com concentração inicial de 10^4 células/mL. Após este tempo de incubação foi preparada uma solução de algas com concentração de 10^5 células/mL para a realização dos testes. A seguir descreve-se a realização da pré-cultura.

Pré-cultura

Setenta e duas horas antes de iniciar o teste foi repicado uma alíquota de algas da cultura permanente e preparou-se uma solução de algas de concentração 10^4 células/mL. Esta solução de algas é feita através da inoculação das algas repicadas em um 1 litro de solução contendo 10 mL de solução estoque I, 1 mL solução estoque II, 1 mL de solução estoque III e 3 g de Bicarbonato de Sódio (NaHCO_3). As composições destas soluções aparecem no ANEXO 2. As soluções I, II e III foram misturadas, completado seu volume para 1 litro e esterilizada em autoclave à 121°C durante 15 minutos. Após o resfriamento foi adicionado 3 g de Bicarbonato de Sódio. A pré-cultura resultante foi distribuída em dois frascos próprios para cultivo e inoculada durante 72 horas sob controle da luz e da temperatura e em agitação permanente.

Após as 72 horas de pré-cultura, retirou-se uma alíquota para medida da concentração naquele momento e depois, preparou-se uma nova solução de algas para os Testes de Validade ou com Efluentes, os quais exigem uma concentração inicial de 10^5 células/mL.

Para o Teste de Validação, primeiramente foi preparada uma solução nutriente contendo: solução estoque I,II,III, com volumes respectivos de 100 mL, 10 mL e 10 mL, 3 g de NaHCO_3 e completado o volume para 1000 mL com água destilada deionizada. Paralelamente, através de repiques da pré-cultura foi preparada uma solução de algas (algas e água destilada) de concentração 10^5 células/mL. Em seguida, um volume de 10 mL da solução nutriente e 10 mL da solução de algas 10^5 células/mL foram expostas à várias

concentrações de Dicromato de Potássio ($K_2Cr_2O_7$ - 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 e 1,2 $mg.L^{-1}$). Após preparada as soluções testes, cada concentração foi dividida em três frascos testes e incubados durante 72 horas em uma incubadora nas condições exigidas pela norma experimental. Os frascos testes foram colocados na incubadora de forma aleatória com rodízio diário na posição dos frascos. No final do teste foram realizadas as medidas de fluorescência e calculada a $CE_{50\%}$ (concentração efetiva do agente teste que causa inibição da fluorescência em 50 % da população analisada)

O critério de validade deste teste, é que os controles apresentem no final do teste uma fluorescência 30 vezes maior do que no início e que a $CE_{50\%}$ esteja de acordo com a literatura (0,70 - 1,15 $mg.L^{-1}$).

II.3.2.2 - TESTES DE ALGAS COM EFLUENTES BRUTOS E OZONIZADOS

O teste definitivo com efluente é semelhante ao procedimento do teste de validação. Neste caso, a amostra testada é o efluente bruto e ozonizado com as seguintes diluições: 50; 25; 12,5; 6,2; 3,1; 1,6 e 0,8 %. Algumas precauções foram tomadas antes de começar o teste, *i.e.*; medidas físico-químicas como pH, OD, condutividade e dureza da amostra foram realizadas nas amostras antes de iniciar o teste e, quando necessário, o pH das amostras foi corrigido para $7 \pm 0,2$ com HCl 1 N ou NaOH 1 N. No final do teste, medidas de pH e OD também foram realizadas nas concentrações onde a variação de fluorescência foi grande. As amostras também foram filtradas com papel filtro comum. Com este organismo teste (Algas) foram realizados 2 testes com Efluentes Brutos em tempos diferentes e 2 testes com Efluentes Ozonizados, também em tempos diferentes. Para cada concentração foram feitas 3 réplicas. No final do teste foram realizadas as medidas de fluorescência e determinada a $CE_{50\%}$.

II.3.3 - TESTE COM DÁFNIAS

Os Testes com Dáfnias (*Daphnia magna*, Straus, 1820) foram realizados segundo a norma experimental ISO (1994d). A sequência dos trabalhos realizados com as Dáfnias, similar a sequência da algas está apresentada na **Figura 20**.

II.3.3.1 - TESTE DE VALIDAÇÃO COM DÁFNIAS

As dáfnias também são cultivadas no Laboratório de Ecotoxicologia da FATMA/SC. Por diluição das soluções estoques A, B e C preparou-se uma solução nutriente contendo 4,0 mL da solução A; 1,0 mL da solução B; 1,0 mL da solução C e 1,0 mL da solução D, completando o volume para 1000 mL com água destilada deionizada (**ANEXO 3**). Esta solução nutriente é conhecida como meio ISO ou água de diluição. Após preparada a solução, esta é deixada sob aeração por 24 horas e no final deste tempo, parâmetros como pH e condutividade e OD foram medidos para ver se estavam dentro das condições exigidas pela norma para realizar o teste. A quantidade de nutriente desta solução é suficiente para manter as dáfnias vivas durante todo o período do teste. Posteriormente, foram preparadas várias concentrações (0,7; 0,85; 1,0; 1,15 e 1,30 mg.L⁻¹) de K₂Cr₂O₇ (diluído: meio ISO) a partir de uma solução mãe de 10 mg.L⁻¹ de K₂Cr₂O₇. As dáfnias de mesma idade e com no mínimo 2 horas de vida, foram expostas a esta faixa de concentrações e mantidas na incubadora a ± 21°C durante 24 horas. Para cada concentração foram preparadas duas réplicas contendo 10 organismos em cada uma. Os testes foram realizados em Béckers de 50 mL. No final do teste, foi realizada a contagem do número de organismos imóveis por concentração e calculada a CE_{50%}.

O critério de validade do teste do teste de dáfnias repousa no fato de que a CE_{50%} deve estar na faixa de concentração de 0,9 - 1,9 mg.L⁻¹ de K₂Cr₂O₇.

II.3.3.2 - TESTES DE DÁFNIAS COM EFLUENTES BRUTOS E OZONIZADOS

O procedimento do teste é semelhante ao teste de validação descrito anteriormente, sendo neste caso que a amostra é o efluente bruto ou ozonizado. Certas medidas físico-químicas foram feitas antes de se iniciar os testes, tais quais: pH, OD, condutividade e dureza do efluente. A solução nutriente também foi utilizada como diluente para o preparo das concentrações dos efluentes. As dáfias foram expostas a uma gama decrescente de concentrações dos efluentes (*i.e.*, 100; 75; 50; 25; 12,5; 6,1; 3,1; 1,5; 0,8 %) e mantidas a $\pm 21^{\circ}\text{C}$ em uma incubadora durante 48 horas. Leituras de imobilidade das dáfias foram feitas nos períodos de 24 e 48 horas. No final do teste foram realizadas medidas de pH e OD nas concentrações onde havia grande número de organismos imóveis. Para cada concentração foram feitas 3 réplicas com 10 organismos por réplica. Foram realizados 2 testes com efluentes brutos em tempos diferentes e 2 testes com efluentes ozonizados, também em tempos diferentes.

II.3.4 - TESTE COM PEIXES

Os Testes com Peixes (*Poecilia reticulata*) foram realizados segundo a norma experimental ISO (1993e). A sequência dos trabalhos realizados com os Peixes (similar a das algas está apresentada na **Figura 20**).

II.3.4.1 - TESTE DE VALIDAÇÃO COM PEIXES

Foi preparada uma faixa de concentrações de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (21,8; 43,7; 87,5; 175; 350 mg.L^{-1}). Os peixes foram expostos ao tóxico durante 48 horas. Os testes foram realizados em potes de polietileno de 500 mL de capacidade, sem alimentação durante estas 48 horas. Ao final do teste foi determinada a $\text{CE}_{50\%}$.

II.3.4.2 - TESTES DE PEIXES COM EFLUENTES BRUTOS E OZONIZADOS

Inicialmente foi preparada uma gama decrescente de concentrações dos efluentes (*i.e.*, 100; 75; 50; 25; 12,5; 6,1; 3,1; 1,5; 0,8 %). A água de diluição foi previamente filtrada. Em seguida, fez-se uma leitura de pH dos meios e corrigidos quando necessário com HCl 1 N ou NaOH 1 N. A diferença do pH entre os controles e as diluições dos efluente não pode exceder 0,2 unidades. Após a estabilização da temperatura ($\pm 22^{\circ}\text{C}$) foi iniciada a colocação dos peixes no recipientes testes. Leituras dos organismos mortos foi determinada em vários tempos (3, 6, 24 e 48 horas) após o início do teste. Foram realizados 2 testes com efluentes brutos e 2 testes com efluentes ozonizados, sempre em tempos diferentes. Para cada concentração foram preparadas 2 réplicas, cada uma contendo 10 organismos. No final do teste foi determinada a $CE_{50\%}$.

II.3.5 - TESTE COM BACTÉRIAS

Os Testes com Bactérias (*Vibrio fischeri*) foram realizados de acordo com a norma experimental ISO (1993b). A sequência dos trabalhos realizados com as Bactérias, similar a das algas está apresentada na **Figura 20**.

II.3.5.1 - TESTE DE VALIDAÇÃO COM BACTÉRIAS

- A solução de reconstituição foi descongelada e colocada no LUMIStherm por 15 min.
- As bactérias congeladas foram re-suspendidas em água corrente por 1 minuto, com posterior adição de 0,5mL da solução de reconstituição e colocadas no LUMIStherm por 15 min.
- Foi preparada uma faixa de concentrações de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (0,63; 1,25; 1,67; 2,50; 5,00 mg.L^{-1}).
- Após os 15 minutos de re-suspensão das bactérias passou-se todo o volume do Eppendorf para o frasco contendo a solução de reconstituição. Agitou-se o frasco.

- Distribuiu-se 0,5 mL da solução de bactérias nas cubetas de teste, controlando o intervalo de tempo entre as distribuições (30 s);
- As bactérias ficaram em suspensão por 15 minutos nas cubetas antes da adição da amostra-teste;
- Transcorrido este tempo, fez-se a leitura da luminescência da bactérias (a cada 30 s) e adicionou-se a amostra-teste;
- Aguardou-se o período de exposição e fez-se a leitura com posterior cálculo da $CE_{50\%}$.

II.3.5.2 - TESTES DE BACTÉRIAS COM EFLUENTES BRUTOS E OZONIZADOS

Os testes com efluentes seguiram o mesmo procedimento utilizado no Teste de Validação, mas substituindo-se o tóxico de referência pelas diluições dos efluentes brutos ou tratados. As diluições dos efluentes foram 0,4; 0,8; 1,6; 3,1; 6,2; 12,5; 25e 50 %.

II.3.6 - EQUIPAMENTOS UTILIZADOS NOS BIOTESTES

Para a realização dos biotestes foram usados os seguintes equipamentos:

- O **Oxigênio Dissolvido (OD)**, **Condutividade** e **pH** foram monitorados em um aparelho digital WTW Multilab. P4.
- As **Enzimas e Proteínas** foram analisadas pela variação da absorbância usando um Espectrofotômetro UV-Vis HEWLETT PACKARD 8452A .
- A **Fluorescência das Algas** foi acompanhada em $\lambda = 685$ nm por um Espectrofluorímetro RF - 551 SHIMADSU.
- A **Luminosidade**, foi medida por um LUXÍMETRO LI-COR 189 SPHERICAL SPQA 1901.

- Como **Incubadora** foi usada uma modelo JP. 1000 J. PROLAB.
- O **Autoclave** usado foi o modelo 103 FABBE-PRIMAR Vertical.

II. 4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Faremos inicialmente um esclarecimento sobre a análise estatística dos resultados obtidos em nosso estudo, pois esta é de fundamental importância para avaliar ou prever os efeitos tóxicos dos efluentes nos organismos vivos.

Com relação aos parâmetros analisados (*i.e.* alteração no crescimento, alteração da atividade enzimática, alteração na quantidade de proteínas, alteração da bioluminescência, imobilidade e letalidade), tivemos que escolher um método estatístico (paramétrico quando possível) para expressar numericamente os efeitos observados nos organismos. Existem duas alternativas, sendo que ambas foram usadas em nosso estudo.

A primeira alternativa é o Teste de Hipótese que determina se o efeito medido em um grupo (*e.g.*, tratado) difere de um outro grupo (*e.g.*, controle). A Hipótese Nula (H_0) é a de que não há diferença estatística entre os 2 grupos, enquanto que a Hipótese Não-Nula (H_n) postula que há uma diferença estatística entre os 2 grupos. Algumas vantagens em usar este teste são:

- a) a análise estatística mostra o grau de variabilidade dos resultados (*e.g.*, C.V.);
- a) pode-se calcular a CICEO e a CSSEO;
- b) esta análise estatística pode ser aplicada para vários parâmetros (critério de efeito) em vários tipos de biotestes;
- c) facilidade no uso destes testes (*i.e.*, programas estatísticos disponíveis).

O Teste da Hipótese é útil para minimizar as chances de tomar uma decisão incorreta em termos probabilísticos. Assim, um erro do tipo α resulta na falsa conclusão que um efluente é tóxico quando na verdade não o é. Um erro do tipo β resulta na falsa conclusão de que um efluente não é tóxico quando na verdade ele o é. Os valores aceitos de α

geralmente estão compreendidos entre 1 e 10%, sendo o valor de 5 % o mais utilizado em estudos ecotoxicológicos. De fato, a derivação de valores das CICEOs:

- a) depende das concentrações utilizadas nos testes (não há uma interpolação de valores);
- b) depende enormemente da “potência” do teste estatístico utilizado para derivá-la (grande variabilidade nos resultados reduz grandemente a sensibilidade do método);
- c) não fornece um intervalo de confiança (mas o C.V. fornece a informação sobre este intervalo);
- d) valores podem ser significativamente influenciados pelo fenômeno da Hormese.

A Segunda alternativa como método estatístico é a Estimção da Concentração, o qual determina qual a concentração do tóxico que causa um efeito adverso em uma percentagem “p” de organismos. Os resultados podem ser expressos como Concentração Efetiva - $CE_{p\%}$, Concentração Letal - $CL_{p\%}$ (ou Dose Letal - $DL_{p\%}$) ou Concentração Inibidora - $CI_{p\%}$. Usa-se CE para dados ditos quânticos (e.g., germinação, imobilização), CL (ou DL) para dados de mortalidade e CI para variação percentual de dados ditos não-quânticos (e.g., massa, comprimento). A Estimção da Concentração geralmente é derivada de modelos matemáticos onde assume-se que existe uma relação concentração-resposta. Algumas vantagens em usar este método são:

- a) uso de todos os dados gerados na relação concentração-resposta;
- b) quantifica a precisão *intra* e *inter* laboratório;
- c) pode-se obter intervalos de confiança.

Algumas críticas dirigidas a este método estatístico são:

- a) escolha do modelo apropriado para um estudo específico;
- b) a estimção da concentração tóxica é dependente do modelo, principalmente para valores pequenos de “p”;
- c) a Hormese pode dificultar a modelagem dos dados;
- d) respostas (efeitos) que não são dependentes das concentrações utilizadas.
- e) escolha do valor “p” é arbitrária.

Considerando todos os aspectos das duas alternativas, preferimos avaliar a toxicidade dos efluentes através da comparação das CICEOs entre os efluentes brutos e tratados, pois apesar das críticas que pesam sobre este critério, julgamos ser este critério o mais conveniente para nosso estudo. Quando isto não foi possível, como no caso das Bactérias por possuir uma análise estatística intrínseca ao método adotado, comparamos então os valores de $CE_{50\%}$.

Dados de biomassa, taxa germinação, proteínas, enzimas (catalase, peroxidase), números de indivíduos imóveis (dáfnias e peixes) e inibição da fluorescência (algas) foram gerados em triplicatas (ou duplicatas, ver descrição dos biotestes) para cada concentração (ou controle), sendo portanto $n = 6$ (ou 4). Valores de CICEO (Concentração Inferior Com Efeito Observado) [ou $CE_{50\%}$ (Concentração Efetiva 50%)] foram determinadas para cada parâmetro analisado. A CICEO é definida como sendo a mais baixa concentração de efluente (diluição) testada que produz uma diferença maior que 5% nos parâmetros medidos (*i.e.*, biomassa, taxa germinação, proteínas, enzimas (catalase, peroxidase), números de indivíduos imóveis (dáfnias e peixes), inibição da fluorescência (algas,) quando comparados com os parâmetros dos controles ($p \leq 0,05$). A $CE_{50\%}$ é a concentração efetiva que causa efeito em 50% da população de organismos quando comparada com a população controle. O Coeficiente de Variação em Porcentagem obtém-se pela relação : $\sigma/X \cdot 100$. O Teste χ^2 foi usado para verificar a Normalidade (Curva de Gauss) dos dados obtidos. O Teste de Hartley foi usado para verificar a Homogeneidade da Variância dos dados obtidos. O Teste de William's ou o Teste de Steel Many-One ($p \leq 0,05$) foram usados para estabelecer as CICEOs (ou $CE_{50\%}$) nos Biotestes. O software TOXTAT 3.0 foi usado para a análise estatística.

Capítulo III
RESULTADOS E DISCUSSÃO

III - RESULTADOS E DISCUSSÃO

III.1 – EVOLUÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DOS EFLUENTES TÊXTEIS EM FUNÇÃO DO TEMPO DE OZONÓLISE.

O primeiro estudo conduzido nesta dissertação contemplou a eficiência ou não da Ozonólise em tratar os efluentes têxteis. Esta eficiência pôde ser avaliada através da evolução dos parâmetros físico-químicos do efluente em função do tempo de Ozonólise a que foi submetida uma amostra do efluente.

A **Tabela 8** mostra os parâmetros físico-químico-microbiológicos de uma amostra de efluente têxtil bruto utilizada em nosso estudo. A composição de um efluente pode variar consideravelmente em função do tempo devido a muitos fatores, tais quais:

- variação na qualidade da matéria-prima usada;
- mudança de corantes utilizados no tingimento/estamparia;
- mudança de produtos químicos utilizados nos processos têxteis;
- processo têxtil que mais contribui na carga do efluente em um dado momento, etc...

Os valores de pH, Demanda Química de Oxigênio e Coloração mostrada na **Tabela 8** são superiores aos limites permitidos pela legislação ambiental vigente em Santa Catarina relativa ao despejo de efluentes industriais em corpos de águas receptores (ver **ANEXO I - Legislação Ambiental de SC**).

Tabela 8. Parâmetros físicos-químicos-microbiológicos avaliados em uma amostra de efluente têxtil bruto coletado na entrada da estação de tratamento de efluentes de uma indústria têxtil.

Parâmetros	Valores
Demanda Química de Oxigênio	1.512 mg O ₂ .L ⁻¹
pH	10,5
Condutividade	109 Mv
Dureza Total (CaCO ₃)	86,5 mg.L ⁻¹
Cianeto	2,5 mg.L ⁻¹
Cobre (EAA)	0,2 mg.L ⁻¹
Fenóis	0,015 mg.L ⁻¹
Ferro (total) (EAA)	0,77 mg.L ⁻¹
Nitrogênio (Nitrato)	2,0 mg.L ⁻¹
Fósforo	10,0 mg.L ⁻¹
Sulfato	345,3 mg.L ⁻¹
Alumínio (EAA)	nd* (0,01 ppm)
Cádmio (EAA)	nd* (0,0006 ppm)
Chumbo (EAA)	nd* (0,02 ppm)
Cobalto (EAA)	nd* (0,007 ppm)
Cromo (total) (EAA)	nd* (0,005 ppm)
Manganês (EAA)	nd* (0,003 ppm)
Mercúrio (EAA)	nd* (0,2 ppm)
Níquel (EAA)	nd* (0,008 ppm)
Bolor	2,5 x 10 ⁵ UFC.mL ⁻¹

nd* = não detectável no limite de detecção expresso nos parênteses

EAA = Espectrofotometria de Absorção Atômica

UFC = Unidades Formadoras de Colônias.

A **Figura 21** mostra o perfil de redução do pH em função do tempo de Ozonólise a que foi submetido o efluente bruto.

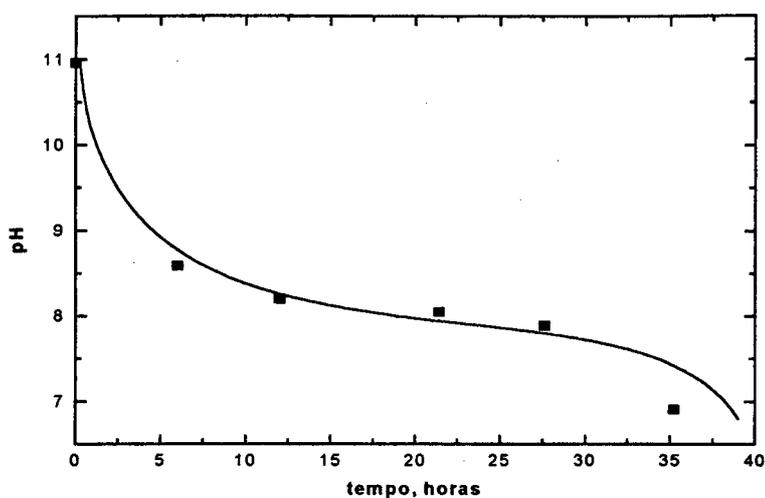


Figura 21. Valores do pH em função do tempo de um efluente têxtil submetido à Ozonólise.

A redução do pH é relativamente lenta para a concentração de Ozônio usada nos experimentos (0,34 g/h). Porém, outra razão que contribui para esta lentidão é o surgimento de sub-produtos ácidos durante a oxidação pelo Ozônio. Por exemplo, a degradação de fenóis gera ácido oxálico (SPACEK *et al.*, 1995), enquanto que a oxidação de efluentes das indústrias de papel e celulose gera entre os sub-produtos H_2SO_4 e ácido oxálico (OELLER *et al.*, 1997).

Podemos observar na **Figura 22** a redução da DQO do efluente em função do tempo de Ozonólise.

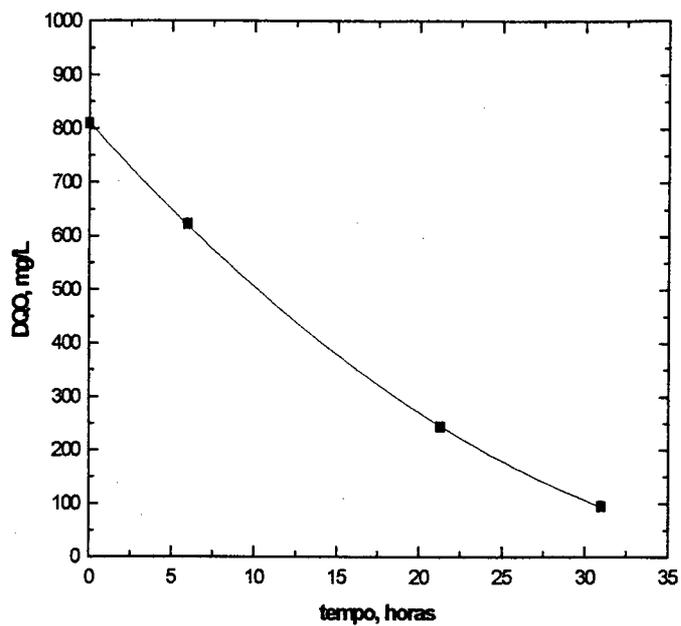


Figura 22. Valores da DQO em função do tempo de um efluente têxtil submetido à Ozonólise.

Em 31 horas de Ozonólise, obteve-se 88,4 % de redução na DQO, demonstrando assim, o potencial deste método em degradar substâncias orgânicas.

A diminuição da Coloração (Absorvância) do efluente têxtil em função do tempo de Ozonólise pode ser vista na **Figura 23**.

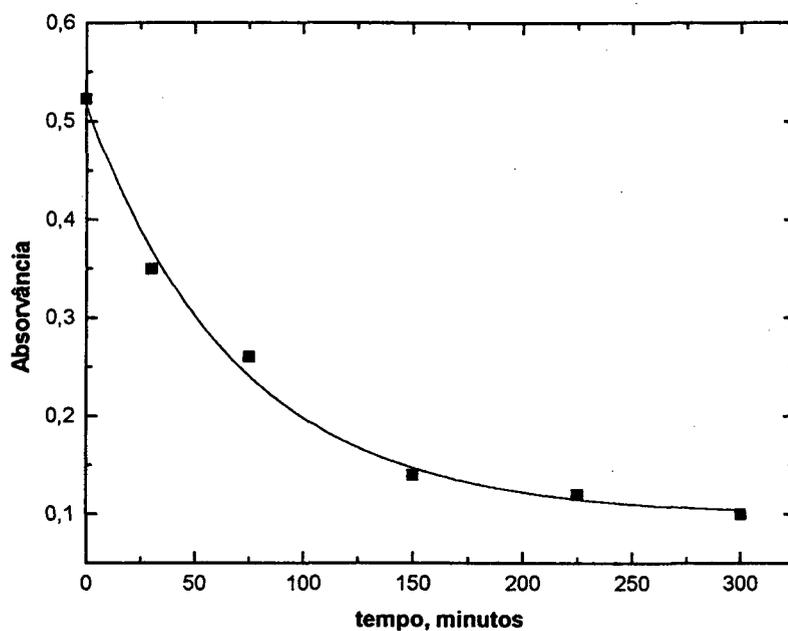


Figura 23. Valores da Absorvância (523 nm) em função do tempo medidas no efluente têxtil submetido à Ozonólise.

A diminuição na Absorvância do efluente têxtil foi de 80,9 %, demonstrando que a Ozonólise é eficiente na degradação dos corantes e pigmentos presentes nos efluentes.

III. 2 – EFICIÊNCIA DA OZONÓLISE BASEADA NOS PARÂMETROS TOXICOLÓGICOS DOS BIOTESTES.

O objetivo principal desta dissertação foi o de comparar parâmetros toxicológicos entre os efluentes têxteis brutos com os tratados por Ozonólise. Para tanto foram realizados vários tipos de Biotestes envolvendo organismos de diferentes níveis tróficos.

III.2.1 – BIOTESTE DE FITOTOXICIDADE

A **Figura 24** serve como referência na localização dos resultados obtidos nos Testes de Fitotoxicidade.

Nos Testes de Fitotoxicidade existe uma grande diferença de sensibilidade nas plantas segundo a forma em que elas são expostas a um tóxico (*i.e.*, em solução ou no solo) (ADEMA and HENZEN, 1989; HULZEBOS *et al.*, 1993). Para nos assegurarmos de que obteríamos uma resposta das plantas expostas ao efluente optamos por realizar os Fitotestes em solo (fase sólida) e em solução (fase líquida). Obviamente que a comparação dos resultados entre os testes realizados no solo e em solução é limitada ou mesmo difícil, pois as plantas testadas são organismos terrestres e a exposição em solução é mais breve (72 horas), além do que, existe toda uma inter-relação entre as plantas, o solo e os microorganismos terrestres quando o teste é realizado em fase sólida. Não obstante, a exposição direta dos efluentes nas raízes das plantas nos fornecem indicações valiosas quanto à toxicidade direta dos efluentes.

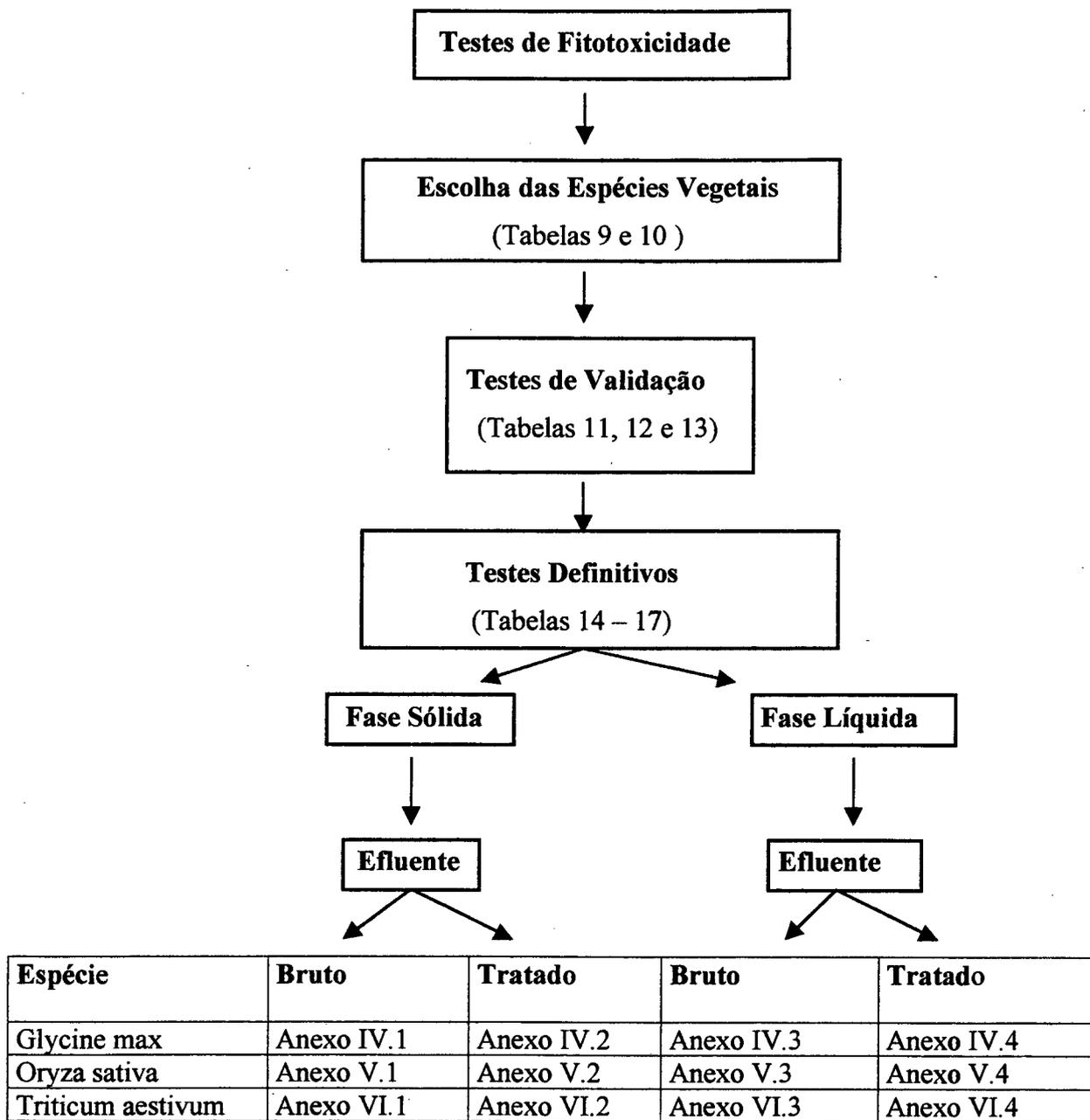


Figura 24. Esquema sinóptico dos Fitotestes localizando os resultados em função do tipo de teste realizado.

III.2.1.1 – ESCOLHA DAS ESPÉCIES VEGETAIS PARA OS TESTES DE FITOTOXICIDADE.

Um estudo preliminar foi realizado para escolher quais seriam as 3 espécies vegetais que seriam utilizadas nos Fitotestes com efluentes brutos e tratados. Para tanto, foram testadas 8 variedades (7 espécies) em fase sólida (solo) usando como tóxico o efluente têxtil bruto. Os parâmetros avaliados nestes testes foram a Taxa de Germinação e o Crescimento da Biomassa. Os resultados destes testes são mostrados nas **Tabelas 9 e 10**.

Tabela 9. Taxas de Germinação medidas em 8 variedades de plantas expostas à diferentes diluições do efluente têxtil bruto. Os dados apresentados são Média (X), Desvio Padrão (σ) e Coeficiente de Variação (C.V.) para n = 6 potes.

Espécies Vegetais (Família)		Taxa de Germinação (%)				
		Controle	Diluição do Efluente			
			25%	50%	75%	100%
Mucuna aterrima (<i>Leguminosae-Papilionoideae</i>)	X	88.9	87.0	87.0	66.7	87.0
	σ	9.9	13.0	17.8	29.0	10.9
	CV	11.2	14.9	20.5	43.4	12.5
Glycine max (<i>Leguminosae-Papilionoideae</i>)	X	79.9	68.5	71.3	72.5	76.2
	σ	16.3	16.7	16.3	20.9	17.8
	CV	20.4	24.4	22.8	28.8	23.4
Triticum aestivum (<i>Gramineae</i>)	X	81.3	86.5	83.3	75.0	62.2
	σ	13.3	11.1	5.3	7.2	20.1
	CV	16.3	12.8	6.3	9.6	32.3
Vicia benghalensis (<i>Leguminosae-Papilionoideae</i>)	X	74.2	65.0	74.2	50.8	62.5
	σ	19.8	20.5	17.4	24.4	22.1
	CV	26.7	31.5	23.5	47.8	35.3
Avena sativa (<i>Gramineae</i>)	X	71.8	78.1	77.1	83.3	81.2
	σ	15.7	11.0	12.3	13.5	13.7
	CV	21.9	14.1	15.9	16.2	16.9
Phaseolus mungo (<i>Leguminosae-Papilionoideae</i>)	X	66.6	56.0	50.0	56.7	53.3
	σ	16.3	16.7	16.7	19.7	20.6
	CV	24.5	29.9	33.5	34.7	39.0
Oryza sativa cv. 108 (<i>Gramineae</i>)	X	75.6	65.4	74.3	73.1	79.5
	σ	16.4	9.4	18.6	9.4	9.3
	CV	21.8	14.4	25.1	12.9	11.7
Oryza sativa cv. 109 (<i>Gramineae</i>)	X	91.0	87.2	80.7	80.7	87.2
	σ	9.0	12.6	16.0	10.6	11.6
	CV	9.9	14.4	19.8	13.1	13.3

Tabela 10. Crescimento da Biomassa medida em 8 variedades de plantas expostas à diferentes diluições do efluente têxtil bruto. Os dados apresentados são Média (X), Desvio Padrão (σ) e Coeficiente de Variação (C.V.) para n = 6 potes. O valor CICEO é mostrado para cada variedade vegetal.

Espécies Vegetais (Família)	Biomassa						CICEO
		Diluições do Efluente					
		Controle	25%	50%	75%	100%	
Mucuna aterrima (<i>Leguminosae-Papilionoideae</i>)	X	9.88	8.78	8.05*	8.87*	8.22*	50 %
	σ	1.52	0.90	1.23	1.42	1.50	
	CV	15.4	10.2	15.3	16.3	18.2	
Glycine max (<i>Leguminosae-Papilionoideae</i>)	X	3.22	2.87*	2.53*	2.25*	2.52*	25 %
	σ	0.23	0.16	0.20	0.29	0.23	
	CV	7.1	5.6	7.9	12.9	9.1	
Triticum aestivum (<i>Gramineae</i>)	X	0.73	0.74	0.74	0.66	0.55*	100 %
	σ	0.10	0.05	0.07	0.08	0.05	
	CV	13.7	6.8	9.4	12.1	9.1	
Vicia benghalensis (<i>Leguminosae-Papilionoideae</i>)	X	0.51	0.52	0.53	0.56	0.63*	100 %
	σ	0.09	0.11	0.06	0.05	0.12	
	CV	17.6	21.1	11.3	8.9	19.0	
Avena sativa (<i>Gramineae</i>)	X	0.42	0.40	0.45	0.46	0.48	-
	σ	0.07	0.04	0.07	0.05	0.06	
	CV	16.7	10.0	15.5	10.9	12.5	
Phaseolus mungo (<i>Leguminosae-Papilionoideae</i>)	X	5.07	3.47*	4.30*	4.28*	4.17*	25 %
	σ	0.73	0.18	0.72	0.48	0.49	
	CV	14.4	5.2	16.7	11.2	11.7	
Oryza sativa cv. 108 (<i>Gramineae</i>)	X	0.32	0.43*	0.44*	0.44*	0.42*	25 %
	σ	0.03	0.05	0.06	0.04	0.05	
	CV	9.4	11.6	13.6	9.1	11.9	
Oryza sativa cv. 109 (<i>Gramineae</i>)	X	0.41	0.49*	0.48*	0.48*	0.55*	25 %
	σ	0.04	0.03	0.03	0.04	0.04	
	CV	9.7	6.1	6.2	8.3	7.3	

* Diferença Estatisticamente Significativa ($p \leq 0.05$)

a) ($\times 10^{-1}$ g.planta⁻¹)

Com relação à Taxa de Germinação, os resultados obtidos (Tabela 9) mostram que nenhuma espécie vegetal foi afetada estatisticamente de forma significativa pela toxicidade do efluente adicionado ao solo. Cabe salientar que as variações nas Taxas de Germinação entre os potes foram relativamente grandes, afetando a análise estatística. Esta variação importante na Taxa de Germinação ocorreu devido a formação de bolores nos potes de cultivo, bolores estes oriundos do efluente bruto, pois percebeu-se que os potes que serviram de controles (sem efluente) não apresentavam formação de bolores. Os Coeficientes de Variação incluindo todas as variedades vegetais enquadraram-se na faixa de 6,3 à 47,8 %, com média de 21,7 %. Apesar da germinação ser um estágio crítico para o desenvolvimento das plantas terrestres, os resultados da Tabela 12 indicam que a Taxa de Germinação não é um bom parâmetro para demonstrar os efeitos tóxicos dos efluentes têxteis brutos. Esta conclusão vai ao encontro de vários trabalhos publicados (RATSCH, 1983; USEPA, 1982), onde foi demonstrado que este parâmetro é menos sensível que os parâmetros fitotóxicos clássicos (e.g., crescimento da biomassa).

Os resultados da Tabela 10 mostram um efeito tóxico de inibição do crescimento para as plantas *Mucuna aterrima*, *Triticum aestivum*, *Glycine max* e *Phaseolus mungo*. Contrariamente, *Vicia benghalensis* e *Oryza sativa* (cvs. 108 e 109) tiveram o crescimento estimulado. A espécie *Avena sativa* não foi afetada de forma estatisticamente significativa em seu crescimento na presença das diferentes diluições do efluente bruto. Os Coeficientes de Variação variaram entre 5,2 à 21,1 % sendo bem aceitáveis para este tipo de parâmetro.

A Tabela 10 mostra também que as famílias das plantas testadas não respondem de forma homogênea, pois em ambas as famílias (*Gramineae* e *Leguminosae-Papilionoideae*) podemos observar efeitos contrários: inibição e estimulação do crescimento. Cultivares da mesma espécie mostraram uma resposta diferenciada para um mesmo tóxico (GERAKIS *et al.*, 1980), correspondentemente em nosso trabalho, a comparação do crescimento dos cultivares 108 e 109 da espécie *Oryza sativa* também mostra uma resposta quantitativa bem diferenciada.

Entre as espécies testadas, *Glycine max* e *Phaseolus mungo* foram as mais sensíveis para demonstrar os efeitos tóxicos de inibição provocados pelo efluente bruto, pois ambas as espécies apresentaram uma CICEO de 25 %. Com relação ao estímulo do crescimento, *Oryza sativa* (cvs. 108 e 109) apresentou CICEO de 25 %.

A estimulação do crescimento apresentado por algumas espécies pode ser explicado em parte pela abundância de nutrientes presentes no efluente, ao passo que a inibição do crescimento foi provavelmente provocada por um efeito matriz dos constituintes do efluente, ou ainda, devido a uma perturbação causada pelo efluente nas relações simbióticas entre plantas e bactérias.

Considerando os resultados das Tabelas 9 e 10 e outros fatores experimentais (e.g., disponibilidade de sementes), dos 8 cultivares testados foram selecionadas 3 espécies vegetais (*Glycine max*, *Oryza sativa* e *Triticum aestivum*) com sensibilidade diferenciada (diminuição, aumento e inalteração da biomassa vegetal, respectivamente) para prosseguir o teste.

III.2.1.2 – TESTES DE VALIDAÇÃO COM TÓXICOS DE REFERÊNCIA (TRICLOROACETATO DE SÓDIO E CÁDMIO)

A realização dos Testes de Validação geram dados experimentais: *i*) que podem comparar o grau de toxicidade obtido na experiência com o grau de toxicidade encontrado na literatura; *ii*) que são analisados quanto a pertinência ou não de serem tratados estatisticamente em bases paramétricas. No nosso estudo de Validação com plantas nos interessamos principalmente pelo lado estatístico dos dados, ou seja, análise dos dados experimentais em termos de Normalidade e Homogeneidade da Variância.

Assim, dois tóxicos de referência foram usados nos Fitotestes: um herbicida orgânico – Tricloroacetato de Sódio (NaTCA) – e um tóxico inorgânico – Cloreto de Cádmio (CdCl_2). Os resultados obtidos nos Fitotestes com tóxicos de referência aparecem, respectivamente, nas Tabelas 11 e 12.

Tabela 11. Respostas da biomassa das espécies vegetais *Glycine max*, *Oryza sativa* e *Triticum aestivum* expostas à diferentes concentrações de Tricloroacetato de Sódio (mg/kg solo). X = Média do peso por planta (10^{-1} g); σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação ; n = 6 potes.

[NaTCA]	Controle	10,3	20,7	41,5	83	166
	X					
	σ					
	CV					
<i>Glycine max</i>	6.72	6.05	6.03	5.92	5.53	5.58
	0.53	0.49	0.16	0.50	0.53	0.78
	7,9 %	8,1 %	2,6 %	8,4 %	9,6 %	14,0 %
<i>Oryza sativa</i>	1.94	1.95	1.89	1.75	1.49	0.79
	0.16	0.12	0.20	0.11	0.12	0.15
	8.2 %	6.1 %	10.6 %	6.3 %	8.0 %	18.9 %
<i>Triticum aestivum</i>	1.33	1.30	1.10	0.86	0.71	0.33
	0.07	0.09	0.10	0.08	0.08	0.06
	5,3 %	6,9 %	9,1 %	9,3 %	11,3 %	18,2 %

Tabela 12. Respostas da biomassa das espécies vegetais *Glycine max*, *Oryza sativa* e *Triticum aestivum* expostas à diferentes concentrações de Cd^{2+} (mg/kg solo). X = Média do peso por planta (10^{-1} g); σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação ; n = 6 potes.

[Cd ²⁺]	Controle	3,6	7,2	14,4	28,8	57,6
	X					
	σ					
	CV					
<i>Glycine Max</i>	6.57	6.45	5.86	5.99	4.89	4.28
	0.43	0.42	0.32	0.56	0.30	0.24
	6,5 %	6,5 %	5,4 %	9,3 %	6,1 %	5,6 %
<i>Oryza sativa</i>	1.82	1.65	1.64	1.62	1.56	0.78
	0.15	0.06	0.13	0.15	0.15	0.10
	8,2 %	3,6 %	7,9 %	9,2 %	9,6 %	12,8 %
<i>Triticum aestivum</i>	1.47	1.37	1.34	1.33	0.97	0.48
	0.13	0.10	0.12	0.11	0.10	0.10
	7,3 %	7,3 %	8,9 %	8,3 %	10,3 %	20,8 %

Os resultados em termos de Normalidade e de Homogeneidade da Variância dos dados experimentais em função das variações extrínsecas e intrínsecas da metodologia empregada nos Testes de Fitotoxicidade são mostrados na **Tabela 13**.

Tabela 13. Análise estatística sobre as variações dos resultados do estudo de validação nos Testes de Fitotoxicidade usando tóxicos de referência (TCA e Cd²⁺).

		Teste χ^2 de Normalidade dos dados	Teste Hartley de Homogeneidade de Variância	Coefficiente de Variação Médio
TCA	<i>Glycine Max</i>	χ^2 calc.= 4.04 χ^2 tab.= 13.27 $\alpha= 0.01$	H calc.= 22.71 H tab.= 38.00 $\alpha= 0.01$	8,4 %
	<i>Oryza sativa</i>	χ^2 calc.= 1.10 χ^2 tab.= 13.27 $\alpha= 0.01$	H calc.= 3.54 H tab.= 38.00 $\alpha= 0.01$	9,7 %
	<i>Triticum aestivum</i>	χ^2 calc.= 2.77 χ^2 tab.= 13.27 $\alpha= 0.01$	H calc.= 2.57 H tab.= 38.00 $\alpha= 0.01$	10,0 %
Cd ²⁺	<i>Glycine Max</i>	χ^2 calc.= 0.39 χ^2 tab.= 13.27 $\alpha= 0.01$	H calc.= 5.16 H tab.= 38.00 $\alpha= 0.01$	6,6 %
	<i>Oryza sativa</i>	χ^2 calc.= 0.38 χ^2 tab.= 13.27 $\alpha= 0.01$	H calc.= 6.43 H tab.= 38.00 $\alpha= 0.01$	8,5 %
	<i>Triticum aestivum</i>	χ^2 calc.= 6.65 χ^2 tab.= 13.27 $\alpha= 0.01$	H calc.= 1.84 H tab.= 38.00 $\alpha= 0.01$	10,5 %

Os resultados da **Tabela 13** indicam que os dados gerados nos Testes de Fitotoxicidade seguem a Lei da Normalidade (Curva de Gauss) sem a necessidade de transformações para enquadrá-los nesta Curva. Estes mesmos dados apresentam também uma Homogeneidade de Variância, possibilitando a execução de Análise de Variâncias (ANOVA). Desta forma verifica-se que as exigências (pré-requisitos) para a realização de uma análise estatística paramétrica estão presentes no conjunto dos dados. Os Coeficientes de Variação são bem aceitáveis, visto que não ultrapassam os 20 %. No conjunto, a **Tabela 13** nos informa que a

metodologia experimental dos Testes de Fitotoxicidade gera dados que podem ser tratados estatisticamente em bases paramétricas.

III.2.1.3 – FITOTESTES COM EFLUENTES BRUTOS E OZONIZADOS.

Após a realização dos Testes de Validação passou-se a testar as toxicidades potenciais dos efluentes brutos e dos efluentes tratados por Ozonólise. A seguir são mostrados os resultados obtidos com as 3 espécies vegetais escolhidas em função das diferentes diluições feitas com os efluentes.

A – Fitotestes com *Glycine max* (Soja).

A **Tabela 14** resume os resultados obtidos na exposição das plantas de *Glycine max* aos efluentes testados.

Os resultados completos com *Glycine max* podem ser visto nos **Anexos IV.1, IV.2, IV.3 e IV.4**

Tabela 14. Resumo dos resultados de fitotoxicidade de *Glycine max* exposta aos efluentes brutos e tratados em suporte sólido e em solução .

CICEOs					
		SOLO		SOLUÇÃO	
		BRUTO	TRATADO	BRUTO	TRATADO
	Germinação	25 ↓	-	NR	NR
	Biomassa	25 ↓	100 ↓	50 ↓	-
	Proteínas (Folha)	-	-	6 ↑	100 ↑
<i>Glycine max</i>	Proteínas (Caule)	NR	NR	12 ↑	-
	Catalase	NR	NR	12 ↑	-
	Peroxidase (Folha)	6 ↑	-	25 ↑	-
	Peroxidase (Caule)	NR	NR	25 ↑	100 ↑

NR Não Realizado

↑ Aumento da quantidade ou atividade

↓ Diminuição da quantidade ou atividade

- Sem Diferença Estatisticamente Significativa

O Anexo IV.1 mostra os resultados obtidos com a exposição em fase sólida (solo) das plantas *Glycine max* ao efluente bruto.

A Taxa de Germinação e o Crescimento da Biomassa entre os potes controles e os potes com efluentes foi estatisticamente diferente, ambos os parâmetros apresentando CICEO de 25 % . A toxicidade do efluente frente à *Glycine max* ficou evidenciada pela redução em ambos os parâmetros acima citados. Quanto aos indicadores bioquímicos, não foi possível quantificar a atividade da Catalase, pois esta enzima devia estar presente em quantidades muito fracas, abaixo da sensibilidade do método analítico adotado. As Proteínas não apresentaram resposta significativa entre os potes controles e os intoxicados, enquanto que a Peroxidase aumentou significativamente sua atividade nas plantas expostas

ao efluente com uma CICEO de 6 %. Quanto aos Coeficientes de Variação, os valores apresentados em todos os parâmetros são bem aceitáveis, significando que os parâmetros analisados apresentaram boa reprodutibilidade (réplicas com respostas próximas) e boa repetibilidade (respostas congruentes nos testes realizados em tempos diferentes).

Os resultados obtidos com a exposição em fase sólida (solo) das plantas de *Glycine max* ao efluente tratado por Ozonólise são mostrados na **Anexo IV.2**.

Entre todos os parâmetros comparados entre os potes controles e os potes com o efluente tratado por Ozonólise, somente o Crescimento da Biomassa foi afetado de forma estatisticamente significativa, *i.e.*, o efluente tratado puro (CICEO 100 %) diminuiu o crescimento das plantas de *Glycine max*. Os Coeficientes de Variação não apresentaram valores elevados.

Apesar de não dispormos de uma análise da composição química do efluente tratado, podemos deduzir que a fitotoxicidade do efluente tinha como componente principal compostos orgânicos que ‘enriqueciam’ o substrato, os quais foram quase que completamente decompostos pela Ozonólise, o que explicaria então a diferença de toxicidade entre o efluente bruto e tratado.

A partir da comparação dos resultados dos **Anexos IV.1 e IV.2** podemos concluir que o efluente bruto apresenta um grau de toxicidade muito superior ao efluente tratado por Ozonólise em relação aos parâmetros analisados nos Fitotestes em fase sólida com as plantas de *Glycine max*.

Podemos observar no **Anexo IV.3** os resultados obtidos com a exposição em fase líquida (solução) das plantas de *Glycine max* ao efluente bruto.

A exposição das plantas de *Glycine max* ao efluente bruto em solução provocou respostas significativas e variadas. Assim, o Crescimento da Biomassa das plantas em contato com o efluente diminuiu significativamente com relação às plantas controle (CICEO de 50 %). Os parâmetros bioquímicos responderam de forma significativa em

diluições mais baixas; as Proteínas presentes nas folhas aumentaram em quantidade (CICEO de 6 %), enquanto que as Proteínas presentes nos caules aumentaram significativamente nas plantas expostas (CICEO de 12 %); esta mesma diluição de 12 % também aumentou significativamente a atividade da Catalase. A Peroxidase presente tanto nas folhas como nos caules aumentou a atividade nas plantas expostas ao efluente com CICEO de 25 %. Os Coeficientes de Variação estão dentro dos limites aceitáveis, sendo que o parâmetro Biomassa apresentou um C.V. médio de 19,9 (apesar do valor elevado para a última concentração).

No **Anexo IV.4** aparecem os resultados obtidos com a exposição em fase líquida (solução) das plantas de *Glycine max* ao efluente tratado por Ozonólise.

Podemos observar no **Anexo IV.4** que somente dois parâmetros foram alterados nas plantas expostas em solução ao efluente tratado por Ozonólise: as Proteínas nas folhas e a Peroxidase nos caules aumentaram em quantidade nas plantas expostas ao efluente tratado puro (100 %). Os valores dos Coeficientes de Variação são aceitáveis.

Concluimos que a planta *Glycine max* apresenta boa sensibilidade para testar os efluentes têxteis, tanto em testes realizados em fase sólida (solo), quanto os testes realizados em fase líquida (solução). Comparando os resultados dos **Anexos IV.1, IV.2** de um lado e **IV.3 e IV.4** do outro lado, podemos perceber claramente a diferença de toxicidade entre o efluente têxtil bruto e o efluente tratado por Ozonólise: dos 4 parâmetros analisados em plantas no solo, 3 foram afetados pelo efluente bruto, enquanto que somente 1 foi afetado pelo efluente tratado puro (**Anexos IV.1 e IV.2**); nos testes em solução, dos 6 parâmetros avaliados nas plantas, todos foram alterados pelo efluente bruto, enquanto só 2 foram afetados pelo efluente tratado (**Anexos IV.3 e IV.4**).

B – Fitotestes com *Oryza sativa* (Arroz).

A **Tabela 15** resume os resultados obtidos na exposição das plantas de *Oryza sativa* aos efluentes testados.

Os resultados completos com *Oryza sativa* podem ser vistos nos Anexos V.1, V.2, V.3, V.4.

Tabela 15. Resumo dos resultados de fitotoxicidade de *Oryza sativa* exposta aos efluentes brutos e tratados em suporte sólido e em solução .

		CICEOs			
		SOLO		SOLUÇÃO	
		BRUTO	TRATADO	BRUTO	TRATADO
	Germinação	-	-	NR	NR
	Biomassa	50 ↑	-	100 ↓	-
<i>Oryza sativa</i>	Proteínas	100 ↑	-	100 ↓	-
	Catalase	25 ↑	-	25 ↑	-
	Peroxidase	6 ↑	-	6 ↑	12 ↑

NR Não Realizado

↑ Aumento da quantidade ou atividade

↓ Diminuição da quantidade ou atividade

- Sem Diferença Estatisticamente Significativa

Os resultados obtidos com a exposição em fase sólida (solo) das plantas de *Oryza sativa* ao efluente bruto são apresentados no Anexo VI.

O efluente bruto não afetou de forma estatisticamente significativa a germinação das sementes da planta *Oryza sativa* Anexo V.1. Este parâmetro apresentou um CV médio de 21,1 %, talvez impossibilitando que a análise estatística mostre diferenças mais sutis nas taxas de germinação. Os outros parâmetros analisados responderam com um aumento, seja em quantidade (Biomassa e Proteínas), seja em atividade (Catalase e Peoxidase). Para as

Proteínas a CICEO foi de 100 %, para a Biomassa foi de 50 %, para a Catalase foi de 25 % e para a Peroxidase foi de 6 %, sendo esta ordem a representação hierárquica de sensibilidade. Os Coeficientes de Variação foram aceitáveis, sendo que a enzima Peroxidase apresentou o maior C.V. médio de 22,9 %.

O **Anexo V.2** apresenta os resultados obtidos com a exposição em fase sólida (solo) das plantas de *Oryza sativa* ao efluente tratado por Ozonólise.

Nenhum dos parâmetros avaliados nas plantas da espécie *Oryza sativa* variou de forma estatisticamente significativa entre as plantas controles e as plantas expostas ao efluente tratado por Ozonólise. Em outros termos, o efluente tratado não pode ser considerado como tóxico com efeitos inibitórios ou estimulantes para a espécie *Oryza sativa*. Os maiores C.V. médios foram apresentados pelos parâmetros Germinação (19,9 %) e Peroxidase (20,6 %), mas estes valores são aceitáveis.

Analisando os resultados dos **Anexos V.1 e V.2** podemos concluir que o efluente bruto é bem mais tóxico do que o efluente tratado por Ozonólise para as plantas de *Oryza sativa*. Dentre os parâmetros avaliados a atividade Peroxidásica foi o mais sensível, enquanto que a Taxa de Germinação não apresentou nenhuma sensibilidade.

Os resultados obtidos com a exposição em fase líquida (solução) das plantas de *Oryza sativa* ao efluente bruto são mostrados no **Anexo V.3**.

Podemos observar **Anexo V.3** que todos os parâmetros analisados nas plantas de *Oryza sativa* foram afetados de alguma maneira pela exposição em solução ao efluente bruto. O Crescimento da Biomassa e as Proteínas, ambos os parâmetros com CICEO de 100 %, diminuíram nas plantas expostas com relação às plantas controles. Catalase e Peroxidase aumentaram suas atividades, com CICEOs respectivas de 25 % e 6 %. Com relação aos Coeficientes de Variação, estes são relativamente baixos para todos os parâmetros analisados.

Apresentamos no **Anexo V.4** os resultados obtidos com a exposição em fase líquida (solução) das plantas de *Oryza sativa* ao efluente tratado por Ozonólise.

Somente a atividade da Peroxidase (CICEO de 12 %) aumentou de forma estatisticamente significativa nas plantas de *Oryza sativa* expostas em solução ao efluente tratado por Ozonólise. Os Coeficientes de Variação são baixos.

Considerando os dados dos **Anexos V.1 e V.2** e também **V.3 e V.4** podemos concluir que o efluente bruto apresenta, relativamente ao efluente tratado por Ozonólise, um grau de toxicidade superior. Em ambos os conjuntos, a quantidade de parâmetros alterados no efluente bruto foi bem maior do que no efluente tratado. Dentre os parâmetros analisados nas plantas da espécie *Oryza sativa* expostas em solução ou no solo, a enzima Peroxidase mostrou-se a mais sensível para avaliar o potencial tóxico do efluente têxtil.

C – Fitotestes com *Triticum aestivum* (Trigo).

A **Tabela 16** resume os resultados na exposição das plantas *Triticum aestivum* aos efluentes testados.

Os resultados completos com *Triticum aestivum* podem ser vistos nos **Anexos VI.1, VI.2, VI.3, VI.4.**

Tabela 16. Resumo dos resultados de fitotoxicidade de *Triticum aestivum* exposta aos efluentes brutos e tratados em suporte sólido e em solução .

CICEOs					
		SOLO		SOLUÇÃO	
		BRUTO	TRATADO	BRUTO	TRATADO
	Germinação	100 ↓	-	NR	NR
	Biomassa	100 ↑	-	100 ↓	-
<i>Triticum</i>	Proteínas	-	-	-	-
<i>Aestivum</i>	Catalase	-	-	6 ↑	-
	Peroxidase	-	-	50 ↑	-

NR Não Realizado

↑ Aumento da quantidade ou atividade

↓ Diminuição da quantidade ou atividade

- Sem Diferença Estatisticamente Significativa

O Anexo VI.1 apresenta os resultados obtidos com a exposição em fase sólida (solo) das plantas de *Triticum aestivum* ao efluente bruto.

A Taxa de Germinação das sementes do *Triticum aestivum* diminuiu de forma estatisticamente significativa nas plantas expostas ao efluente bruto (CICEO de 100 %). A Biomassa das plantas expostas à 100 % de efluente bruto aumentou significativamente com relação à Biomassa das plantas nos potes controles. Os outros parâmetros não foram alterados significativamente pela exposição ao efluente bruto. Os Coeficientes de Variação são aceitáveis. Dois parâmetros apresentaram C.V. médios acima de 20 %, Proteínas (20,3 %) e Peroxidase (20,4 %).

No ANEXO VI.2 são mostrados os resultados obtidos com a exposição em fase sólida (solo) das plantas de *Triticum aestivum* ao efluente tratado por Ozonólise.

Nenhum dos parâmetros mostrados do **Anexo VI.2** foram alterados de maneira significativa nas plantas de *Triticum aestivum* expostas em fase sólida ao efluente tratado por Ozonólise. Quanto aos Coeficientes de Variação eles estão dentro dos limites aceitáveis, a Catalase apresentou o maior C.V. médio de 20,5 %).

As plantas da espécie *Triticum aestivum* mostraram uma sensibilidade relativamente fraca ao efluente bruto nos testes realizados na fase sólida, pois somente a Germinação e a Biomassa foram alteradas de forma significativa. Os Coeficientes de Variação estão dentro dos limites aceitáveis para este tipo de Bioteste. Assim, quando comparamos os resultados dos **Anexos VI.1 e VI.2** podemos concluir que o efluente bruto é tóxico, enquanto que o efluente tratado não o é para as plantas da espécie *Triticum aestivum*.

Apresentamos no **Anexo VI.3** os resultados obtidos com a exposição em fase líquida (solução) das plantas de *Triticum aestivum* ao efluente bruto.

Segundo o **Anexo VI.3**, a exposição das plantas de *Triticum aestivum* em fase líquida ao efluente bruto diminuiu significativamente a Biomassa (CICEO de 100 %) e aumentou significativamente as atividades da Peroxidase (CICEO de 50 %) e da Catalase (CICEO de 6%). Os Coeficientes de Variação foram bons para todos os parâmetros, excetuando-se a Biomassa que apresentou um C.V. médio de 28,3 %, valor este relativamente elevado que pode dificultar a percepção de diferenças mais sutis nas respostas entre os grupos.

Os resultados obtidos com a exposição em fase líquida (solução) das plantas de *Triticum aestivum* ao efluente tratado por Ozonólise aparecem no **Anexo VI.4**.

Dos 4 parâmetros analisados nas plantas de *Triticum aestivum* expostas em solução ao efluente tratado por Ozonólise, nenhum deles apresentou uma alteração significativa do ponto de vista estatístico. Isto mostra que o efluente tratado não apresenta um grau de toxicidade suficientemente elevado para provocar alterações na Biomassa ou nas Proteínas, ou ainda, nas atividades enzimáticas da Catalase ou Peroxidase concernentes as plantas de *Triticum aestivum* expostas. Quanto aos Coeficientes de Variação, de um modo geral são

aceitáveis, embora os parâmetros Proteínas (C.V. médio de 21,5 %) e Peroxidase (23,8 %) terem ultrapassado os 20 %, o qual é um valor tido como limite normal para as variações de resultados.

No conjunto dos valores dos **Anexos VI.1 e VI.2** observa-se que o efluente bruto apresenta um potencial tóxico superior ao efluente tratado. A enzima Catalase aparece como sendo o parâmetro mais sensível quando se utiliza a espécie *Triticum aestivum* como organismo-teste. Esta conclusão também é válida para os valores apresentados nos **Anexos VI.3 e VI.4**.

A **Tabela 17** mostra um quadro recapitulativo das CICEOs obtidas nos Testes de Fitotoxicidade.

Tabela 17. Quadro recapitulativo das CICEOs dos Testes de Fitotoxicidade.

		CICEOs			
		SOLO		SOLUÇÃO	
		BRUTO	TRATADO	BRUTO	TRATADO
	Germinação	25 ↓	-	NR	NR
	Biomassa	25 ↓	100 ↓	50 ↓	-
	Proteínas (Folha)	-	-	6 ↑	100 ↑
<i>Glycine max</i>	Proteínas (Caule)	NR	NR	12 ↑	-
	Catalase	NR	NR	12 ↑	-
	Peroxidase (Folha)	6 ↑	-	25 ↑	-
	Peroxidase (Caule)	NR	NR	25 ↑	100 ↑
	Germinação	-	-	NR	NR
	Biomassa	50 ↑	-	100 ↓	-
<i>Oryza sativa</i>	Proteínas	100 ↑	-	100 ↓	-
	Catalase	25 ↑	-	25 ↑	-
	Peroxidase	6 ↑	-	6 ↑	12 ↑
	Germinação	100 ↓	-	NR	NR
	Biomassa	100 ↑	-	100 ↓	-
<i>Triticum</i>	Proteínas	-	-	-	-
<i>Aestivum</i>	Catalase	-	-	6 ↑	-
	Peroxidase	-	-	50 ↑	-

NR Não Realizado

↑ Aumento da quantidade ou atividade

↓ Diminuição da quantidade ou atividade

- Sem Diferença Estatisticamente Significativa

As plantas pertencem a um grande e diverso reino de organismos, assim, elas podem responder de forma bem diferenciada quando expostas a um efluente (WANG, 1992). Não obstante, a questão da sensibilidade dos organismos utilizados nos Biotestes é muito complexa, pois ela depende de vários fatores que se inter-relacionam: natureza do tóxico, condições ambientais, metodologia dos testes, etc... Mesmo quando estes fatores são controlados, variáveis intrínsecas dos organismos (*e.g.*, composição genética, fisiologia e metabolismo toxicológico) podem afetar suas sensibilidades (BURTON *et al.*, 1996; SOARES *et al.*, 1992). Podemos perceber esta diferenciação nas respostas toxicológicas quando analisamos os resultados apresentados pelos Testes de Fitotoxicidade (Tabelas 14 à 16).

Podemos ver nos resultados apresentados que a espécie vegetal mais sensível no que concerne os parâmetros Taxa de Germinação e Biomassa nos dois tipos de testes (solo e solução) foi *Glycine max*.

No que tange os parâmetros bioquímicos, os testes realizados no solo mostrou a atividade Peroxidásica como sendo o mais sensível; já para os testes realizados em solução, o parâmetro mais sensível depende da espécie vegetal: Peroxidase para *Oryza sativa*, Catalase para *Triticum aestivum* e Proteínas para *Glycine max*. De um modo geral, a enzima Peroxidase apresentou com maior frequência o maior C.V. médio dentre todos os parâmetros, confirmando dados bibliográficos que mostram ser esta classe de enzimas extremamente sensíveis às condições fisiológicas das plantas (ENDRESS *et al.*, 1980) e que respondem a uma grande variedade de fatores externos (ambientais) ou tóxicos (GASPAR *et al.*, 1982).

Como resumo dos resultados Fitotóxicos podemos escrever que: *i*) dos 14 parâmetros analisados nas 3 espécies vegetais dos testes em solo, 9 foram alterados significativamente quando expostos ao efluente bruto e 1 só parâmetro foi alterado no efluente tratado; *ii*) dos 14 parâmetros analisados nos testes em solução, 13 sofreram alterações estatisticamente significativas quando expostos ao efluente bruto e somente 3 parâmetros foram alterados pelo efluente tratado.

Os resultados apresentados nos Anexos IV à VI (resumidos na **Tabela 17**) permitem concluir seguramente que o tratamento por Ozonólise diminuiu o potencial fitotóxico dos efluentes têxteis, devido provavelmente à degradação dos compostos orgânicos tóxicos presentes neste tipo de efluente.

III.2.2 – BIOTESTES COM BACTÉRIAS

A **Figura 25** serve como referência na localização dos resultados obtidos nos Testes com Bactérias.

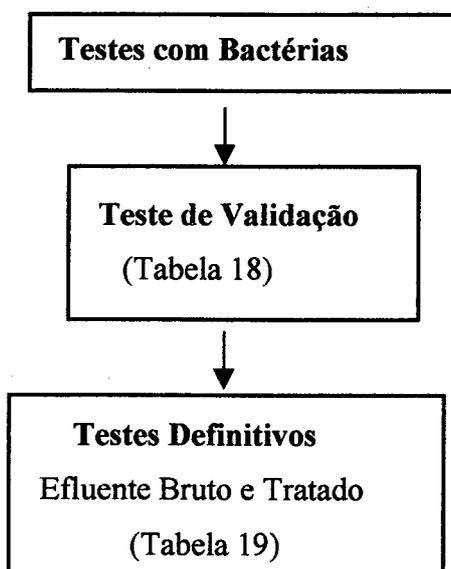


Figura 25. Esquema sinóptico dos Testes com Bactérias localizando os resultados em função do tipo de teste realizado.

III.2.2.1 – TESTE DE VALIDAÇÃO COM TÓXICO DE REFERÊNCIA (K₂Cr₂O₇).

O teste de validação com um tóxico de referência permite saber se o teste realizado satisfaz as condições exigidas pela norma experimental, exigências estas explicitadas pela norma utilizada para realizar os testes. A Tabela 18 mostra os resultados da inibição da bioluminescência das bactérias expostas à diferentes concentrações de K₂Cr₂O₇.

Tabela 18. Porcentagem de inibição da luminescência das bactérias *Vibrio fischeri* expostas à diferentes concentrações de K₂Cr₂O₇ durante 30 minutos.

[K ₂ Cr ₂ O ₇] (mg/L)		0,0	0,63	1,25	1,67	2,50	5,00	CE _{50%}
% Inibição	Réplica 1	0,0	17,2	27,2	31,1	32,5	37,2	46mg/L
	Réplica 2	0,0	22,5	26,7	30,6	33,6	37,2	

Baseado nos critérios de validação exigidos pela norma experimental (e.g., em 4,0 mg/L a porcentagem de inibição deve estar compreendida na faixa de 20 à 80 %), podemos admitir que o teste com a bactéria *Vibrio fischeri* é válido, sendo que esta validação deve ser posteriormente feita para cada teste realizado. Todos os resultados dos testes definitivos com os efluentes satisfizeram os critérios de validação.

III.2.2.2 – TESTES DEFINITIVOS COM BACTÉRIAS EM EFLUENTES BRUTOS E TRATADOS.

A Tabela 19 mostra as porcentagens de inibição da luminescência das bactérias *Vibrio fischeri* expostas à diferentes diluições dos efluentes brutos e tratados. Foram realizados 3 testes com efluentes brutos e 3 testes com efluentes tratados; também são mostradas as médias de CE₅₀ para cada tipo de efluente.

Tabela 19. Inibição da luminescência das bactérias *Vibrio fischeri* expostas à diferentes diluições do efluente bruto e tratado durante 30 minutos. X = Média da Porcentagem de Inibição (ou da CE_{50%}); σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação ; n = 3 testes.

% INIBIÇÃO	EFLUENTE (%)									
	0,0	0,4	0,8	1,6	3,1	6,2	12,5	25	50	CE _{50%}
	X									
	σ									
	C.V.									
BRUTO	0.0	17.0	21.3	26.0	36.3	51.7	64.0	76.7	86.7	5.4
	0.0	4.3	5.5	6.1	8.1	10.2	7.8	6.6	4.0	2.9
	0.0	25.6	25.8	23.4	22.2	19.8	12.2	8.7	4.7	53.0
TRATADO	0.0	7.3	12.0	15.7	22.3	29.3	36.3	45.7	57.3	33.0
	0.0	0.6	2.0	2.1	2.1	2.3	0.6	1.1	5.1	5.6
	0.0	7.9	16.7	13.3	9.3	7.9	1.6	2.5	8.9	16.9

Analisando os resultados da **Tabela 19** podemos constatar que os testes com efluentes brutos (C.V. médio = 17,8 %) apresentam uma variação maior dos resultados quando comparada com as variações dos resultados dos efluentes tratados (C.V. médio = 8,5 %). Estes valores são aceitáveis, como também é aceitável a grande variação (C.V.= 53 %) entre os valores das CE_{50%} obtidas com os efluentes brutos. Esta grande variação é possivelmente causada pela diferença de composição entre os efluentes brutos, coletados em épocas diferentes. Já os efluentes tratados, apesar de serem inicialmente diferentes uns dos outros, aparentemente tornam-se mais homogêneos após terem sido Ozonizados, como pode ser visto pela baixa variação (C.V.= 16,9 %) entre as CE_{50%} obtidas nos testes.

A comparação de maior interesse na **Tabela 19** é entre as CE_{50%} obtidas com os efluentes brutos e tratados. Percebe-se claramente que o efluente bruto (CE_{50%} = 5,4) apresenta um grau de toxicidade bem maior do que o efluente Ozonizado (CE_{50%} = 33,0), sendo que a relação média entre as CE_{50%} é igual a 6,1. Em outros termos, podemos afirmar então que o efluente bruto é 6 vezes mais tóxico que o efluente tratado para as bactérias *Vibrio fischeri*.

III.2.3 – BIOTESTE COM ALGAS

A **Figura 26** serve como referência na localização dos resultados obtidos nos Testes com Algas.

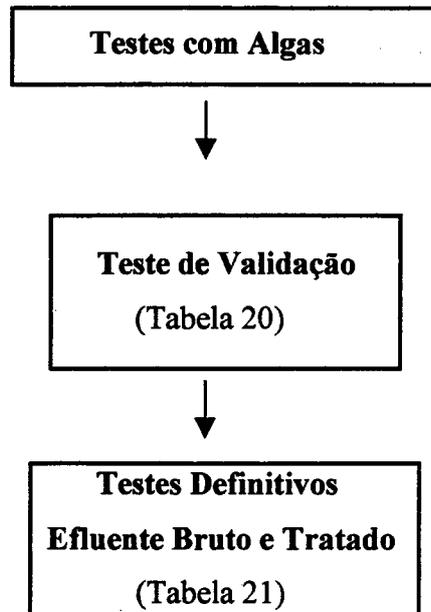


Figura 26. Esquema sinóptico dos Testes com Algas localizando os resultados em função do tipo de teste realizado.

III.2.3.1 – TESTES DE VALIDAÇÃO COM TÓXICO DE REFERÊNCIA ($K_2Cr_2O_7$).

Apresentamos na **Tabela 20** os resultados obtidos nos Testes de Validação do Teste com Algas utilizando como tóxico de referência o $K_2Cr_2O_7$.

Tabela 20. Teste de Inibição de Crescimento das Algas *Scenedesmus subspicatus*, baseado na variação de fluorescência (72 horas), utilizando como tóxico de referência $K_2Cr_2O_7$ (mg/L). X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 6 (2 testes com triplicatas por concentração).

[$K_2Cr_2O_7$] (mg/L)	Controle	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	CE _{50%}
X	95,8	101,0	96,3	95,7	84,2	55,1	30,6	18,4	
σ	7,1	5,2	7,8	6,2	5,0	7,0	2,1	5,2	0,92mg/L
C.V.	7,4	5,1	8,1	6,5	5,9	12,7	6,9	28,3	

Para que um teste com algas seja considerado válido, a norma experimental requer que a fluorescência nos frascos controles seja, depois de 72 horas, 30 vezes maior do que a fluorescência inicial (0 hora), sendo este fator de crescimento o principal critério de validade. Em ambos os testes este critério foi respeitado, com taxas de crescimento com fatores de 44,7 e 50,4. Os C.V. são aceitáveis, sendo o médio de 10,1 %.

O valor da CE_{50%} (0,92 mg/L) obtida está dentro da faixa aceita pela norma experimental adotada, a qual estipula que a CE_{50%} pode variar entre 0,60 à 1,03 mg/L).

III.2.3.2 – TESTES DEFINITIVOS COM ALGAS EM EFLUENTES BRUTOS E TRATADOS.

Na Tabela 21 são apresentados os valores de fluorescência das Algas expostas aos efluentes brutos e tratados durante 72 horas.

Tabela 21. Fluorescência das Algas (*Scenedesmus subspicatus*) expostas à diferentes diluições do efluente bruto e tratado durante 72 horas. X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 9 (3 testes com triplicatas por concentração).

EFLUENTE (%)	Controle	0,8	1,6	3,1	6,2	12,5	25	50
	X							
	σ							
	C.V.							
BRUTO	107	124	144	149	179*	199*	226*	196*
	28,6	46,5	46,6	40,8	55,4	57,9	63,6	78,0
	26,7	37,5	32,4	27,4	30,9	29,1	28,1	39,8
TRATADO	121	127	132	141	152	162	235*	399*
	21,4	38,0	43,9	38,7	43,5	37,9	64,1	46,7
	17,7	29,9	33,2	27,4	28,6	23,4	27,3	11,7

* Diferença Estatisticamente Significativa ($p \leq 0.05$)

Segundo os dados da Tabela 21, os Testes com Algas apresentaram C.V.s relativamente altos, porém aceitáveis quando se observam os C.V.s médios: 29,5 % para os efluentes brutos e 24,1 % para os efluentes tratados. Podemos atribuir estes C.V.s relativamente elevados ao fato da composição dos efluentes brutos serem diferentes (o mesmo poderia ser afirmado com relação aos efluentes tratados, porém esta diferença de composição deveria ser menor para este tipo de efluente devido ao processo de tratamento. Em termos ecotoxicológicos, houve uma diferença no grau de toxicidade entre os efluentes brutos e tratados frente as algas *Scenedesmus subspicatus*, diferença esta regida por um fator de 4, com CICEO de 6,2 % para o efluente bruto e 25 % para o efluente tratado. Os resultados dos Testes com Algas mostram um aumento da biomassa em função da concentração do efluente; o mesmo foi observado quando se testou o efluente bruto com as espécies vegetais *Oryza sativa* e *Triticum aestivum*. A provável explicação para estes resultados repousa na composição nutritiva do efluente, o qual contém compostos de Fósforo e Nitrogênio.

III.2.4 – BIOTESTE COM DÁFNIAS

A **Figura 27** serve como referência na localização dos resultados obtidos nos Testes com Dáfnias.

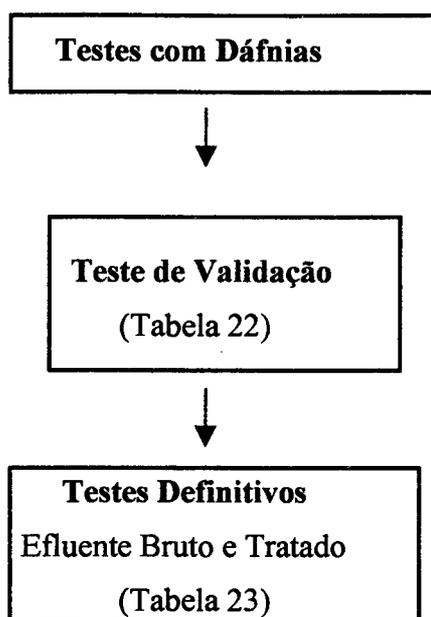


Figura 27. Esquema sinóptico dos Testes com Dáfnias localizando os resultados em função do tipo de teste realizado.

III.2.4.1 – TESTE DE VALIDAÇÃO COM TÓXICO DE REFERÊNCIA ($K_2Cr_2O_7$).

A **Tabela 22** apresenta os resultados obtidos nos 2 Testes de Validação realizados com as Dáfnias expostas ao tóxico de referência recomendado pela norma experimental.

Tabela 22. Teste de Imobilização de 24 horas com *Daphnia magna*, utilizando como tóxico de referência o $K_2Cr_2O_7$ (mg/L). Número de organismos por réplica = 10.

[$K_2Cr_2O_7$] (mg/L)			Controle	0.70	0.85	1.00	1.15	1.30
Teste 1	Réplica 1	Dáfnias	0	4	3	7	9	10
		Imóveis						
	Réplica 2	Dáfnias	0	1	4	7	8	10
		Imóveis						
		(%Imob.)	(0)	(25)	(35)	(70)	(85)	(100)
Teste 2	Réplica 1	Dáfnias	0	2	4	8	8	10
		Imóveis						
	Réplica 2	Dáfnias	0	3	4	6	10	10
		Imóveis						
		(% Imob.)	(0)	(25)	(40)	(70)	(90)	(100)

O Teste com Dáfnias é relativamente simples de ser realizado, não tendo muitos critérios de validação na realização dos testes. Estes testes de validação que realizamos serviram para comparar o grau de sensibilidade dos organismos utilizados nos testes com relação ao grau de sensibilidade descrito na literatura. Podemos observar que as CE_{50} s para ambos os testes se situam entre as concentrações de 0,85 à 1,0 mg/L de $K_2Cr_2O_7$, enquadrando-se dentro dos limites aceitos pela norma experimental adotada.

III.2.4.2 – TESTES DEFINITIVOS COM DÁFNIAS EM EFLUENTES BRUTOS E TRATADOS.

A Tabela 23 apresenta os resultados obtidos quando da exposição das Dáfnias aos efluentes brutos e tratados durante 48 horas.

Tabela 23. Dáfnias (*Daphnia magna*) expostas à diferentes diluições do efluente bruto e tratado durante 48 horas. X = Média das Dáfnias Móveis; n = 9 (3 testes com triplicatas por concentração).

	EFLUENTE (%)									
	Controle X	0.8	1.5	3.1	6.2	12.5	25	50	75	100
BRUTO	10.0	10.0	10.0	10.0	9.9	9.0	3.9*	0.1*	0.0*	0.0*
TRATADO	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	8.1

* Diferença Estatisticamente Significativa ($p \leq 0,05$; Steel's Many-One Rank Test)

Geralmente exprime-se os resultados dos Testes de Dáfnias em termos de Concentração Efetiva (20, 50 ou 80 %), calculada através de métodos específicos (regressão linear, escala Probit, ICP, etc...). Nós preferimos comparar os resultados destes testes através dos valores das CICEOs. Pelo fato dos resultados não seguirem a Lei da Normalidade e não apresentarem Homogeneidade da Variância, tivemos que usar um método Não-Paramétrico para obter os valores das CICEOs. Desta forma, o efluente bruto apresentou um efeito tóxico significativo já na diluição de 25 %, enquanto que o efluente tratado por Ozonólise não apresentou toxicidade significativa frente às Dáfnias.

III.2.5 – BIOTESTE COM PEIXES

A **Figura 28** serve como referência na localização dos resultados obtidos nos Testes com Peixes.

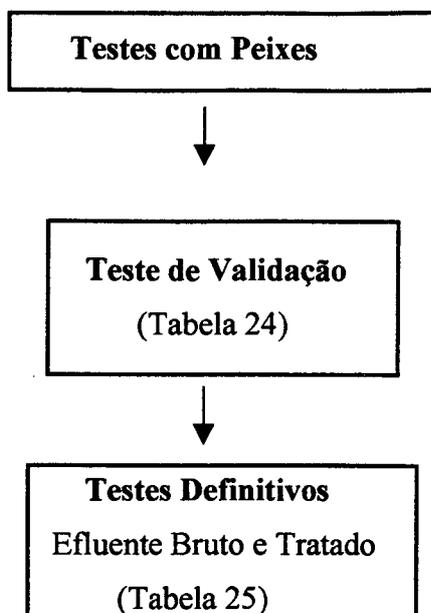


Figura 28. Esquema sinóptico dos Testes com Peixes localizando os resultados em função do tipo de teste realizado.

III.2.5.1 – TESTE DE VALIDAÇÃO COM TÓXICO DE REFERÊNCIA ($K_2Cr_2O_7$).

Os resultados obtidos com o Teste de Validação realizado com os peixes *Poecilia reticulata* expostos ao $K_2Cr_2O_7$ são mostrados na Tabela 24.

Tabela 24. Letalidade e porcentagem de letalidade dos peixes *Poecilia reticulata* expostos à diferentes concentrações de $K_2Cr_2O_7$ durante 48 horas. Foram utilizados 10 organismos por réplica.

[$K_2Cr_2O_7$] (mg/L)	Controle	21,8	43,7	87,5	175	350	CE _{50%}
Letalidade							161 mg/L
Réplica 1	0	1	1	5	4	10	
Réplica 2	0	1	2	2	7	10	
% Letalidade	(0)	(10)	(15)	(35)	(55)	(100)	

Os Testes com Peixes também são relativamente simples de serem realizados, pois a metodologia não requer muitos critérios de validade. A CE₅₀ encontrada neste teste de validação concorda com o valor obtido por FRELLO (1998), a qual obteve uma CL_{50%} de 171,2 mg/L com o mesmo tóxico de referência.

III.2.5.2 – TESTES DEFINITIVOS COM PEIXES EM EFLUENTES BRUTOS E TRATADOS.

Na **Tabela 25** são mostrados os resultados dos Peixes expostos à diferentes diluições dos efluentes brutos e tratados por Ozonólise.

Tabela 25. Peixes (*Poecilia reticulata*) expostos à diferentes diluições do efluente bruto e tratado durante 48 horas. X = Média dos Peixes Vivos; n = 4 (2 testes com duplicatas por concentração).

	Controle X	EFLUENTE (%)								
		0.8	1.5	3.1	6.2	12.5	25	50	75	100
BRUTO	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	5.5*	0.0*	0.0*
TRATADO	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0

* Diferença Estatisticamente Significativa ($p \leq 0,05$; Steel's Many-One Rank Test)

Pelo fato de haver variância igual a zero para várias concentrações tivemos que usar um teste estatístico Não-Paramétrico na análise dos resultados (Steel's Many-One Rank Test). Assim, para o caso dos efluentes brutos obtivemos uma CICEO de 50 %, enquanto que o efluente tratado por Ozonólise não apresentou nenhum grau de toxicidade para esta espécie de peixes. Isto significa que o tratamento dos efluentes diminuiu o grau de toxicidade por um fator mínimo de 2. Esta diferença de toxicidade entre os efluentes brutos e tratados frente aos peixes (*Poecilia reticulata*) pode ser explicada pela presença de compostos orgânicos que foram degradados pelo processo de Ozonólise, o que tornou o efluente tratado menos tóxico.

III.3 - DISCUSSAO GERAL

A **Tabela 26** resume os resultados obtidos com os diferentes Biotestes usados para avaliar o potencial tóxico dos efluentes têxteis (brutos e tratados), mostrando os valores das CICEOs para os Vegetais (Planta mais sensível ao parâmetro analisado), Algas, Dáfnias e Peixes e o valores das $CE_{50\%}$ para as Bactérias.

Tabela 26. Resultados do potencial tóxico dos efluentes têxteis obtidos com diferentes Biotestes. Os valores das CICEOs são mostrados para os Vegetais (Planta mais sensível ao parâmetro analisado), Algas, Dáfnias e Peixes, enquanto que os valores das $CE_{50\%}$ são mostrados para as Bactérias. O Fator de Toxicidade é a relação entre a toxicidade do efluente tratado e a toxicidade do efluente bruto para cada parâmetro (ou bioteste) analisado/realizado.

		Efluente		Fator de	
		Bruto	Tratado	Toxicidade	
Fitotestes	Solo	Germinação	25	-	≥ 4
		Biomassa	25	100	4
		Proteínas	100	-	≥ 1
		Catalase	25	-	≥ 4
		Peroxidase	6	-	≥ 16
	Solução	Biomassa	50	-	≥ 2
		Proteínas	6	100	16
		Catalase	6	-	≥ 16
		Peroxidase	6	12	2
		Bactérias	5,4	33	6
Algas	6	25	4		
Dáfnias	25	-	≥ 4		
Peixes	50	-	≥ 2		

Observando a **Tabela 26** podemos constatar que o efluente têxtil bruto apresenta um potencial tóxico muito importante, pois em todos os Biotestes realizados com este tipo de efluente foi possível estabelecer uma diluição a qual provocou alterações estatisticamente significativas entre os parâmetros analisados nas espécies controles com relação às espécies intoxicadas. Em outros termos, o efluente têxtil bruto afetou diferentes espécies pertencentes a níveis tróficos distintos, o que pode ser interpretado como sendo um rejeito de impacto ambiental considerável. Seu grau de toxicidade varia em função da espécie testada, mas pelos valores das CICEOs e $CE_{50\%}$ calculadas nos Biotestes pode-se concluir que o efluente têxtil bruto apresenta uma toxicidade situada entre média e baixa. Poderíamos considerá-lo muito tóxico se apresentasse alterações estatisticamente significativas já em fracas concentrações para todos os 13 parâmetros testados.

Por outro lado, o efluente têxtil tratado por Ozonólise pode ser considerado como tendo um grau de toxicidade baixo ou nulo, pois somente 5 dos 14 parâmetros analisados foram alterados de forma estatisticamente significativa durante os testes, e isto nas diluições relativamente fracas (concentração de efluente relativamente alta).

O Fator de Toxicidade apresentado na **Tabela 26** fornece uma indicação relativa da diferença de toxicidade entre o efluente bruto e o efluente tratado. Quanto maior o Fator de Toxicidade, maior a diferença de toxicidade entre os efluentes. Colocamos o símbolo “ \geq ” para denotar uma relação mínima, a qual poderia ser maior caso o efluente tratado fosse testado em concentrações superiores a 100 % (obtidas por liofilização, por exemplo).

Baseando-se principalmente no Fator de Toxicidade podemos estabelecer uma escala relativa de sensibilidade entre os diferentes parâmetros estudados na mesma espécie testada ou entre as diferentes espécies de organismos testados. Assim, a hierarquia de sensibilidade observada é a seguinte:

Enzimas > Proteínas > Bactérias > Biomassa \approx Germinação \approx Algas \approx Dáfnias > Peixes

As alterações enzimática pode ser registrada muito antes de aparecerem os sintomas clássicos de toxicidade nas plantas (*e.g.*, clorose, diminuição da biomassa, etc.), possibilitando assim que estas enzimas sirvam como sistema de alerta em casos de exposição a um tóxico ou mesmo que suas atividades sejam considerados como um critério de efeito tóxico (STEGEMAN *et al.*, 1992). Assim, não é surpreendente que estas enzimas apareçam como sendo os parâmetros mais sensíveis em nossa escala de sensibilidade, pois alterações ao nível molecular são usualmente as primeiras respostas biológicas a serem detectadas e quantificadas nos casos de exposição a um tóxico.

As Bactérias aparecem como sendo mais sensíveis frente aos efluentes do que as são as Algas, Dáfnias e Plantas (Biomassa e Germinação). Esta grande sensibilidade por parte das Bactérias pode ser explicada por duas razões. Primeira: as bactérias luminescentes são particularmente sensíveis à salinidade do meio (VASSEUR *et al.*, 1986) e sabe-se que os efluentes têxteis contém sais em altas concentrações (Tabela 8). Segunda: o parâmetro analisado no Teste com Bactérias é ao nível sub-crônico, enquanto que os parâmetros analisados nos outros testes são ao nível crônico (Plantas e Algas) e ao nível letal (Dáfnias e Peixes); esta diferença nos níveis ecotóxicos pode influenciar a ordem hierárquica estabelecida. Entretanto a diferença de sensibilidade das Bactérias com relação às Plantas, Algas e Dáfnias é muito pequena.

Com relação à posição intermediária de sensibilidade apresentada pelas Plantas, Algas e Dáfnias, devemos considerar que a sensibilidade das Plantas varia segundo a espécie testada, mas de uma maneira geral, esta sensibilidade é próxima daquela apresentada pelas Algas e Dáfnias. Observando os resultados das Algas, percebe-se que elas foram relativamente mais sensíveis do que as Dáfnias. Mesmo o efluente tratado apresentou um grau de toxicidade relativamente forte para as Algas, demonstrando assim que o Teste com Algas é um bom indicador de toxicidade para os efluentes têxteis.

Considerando o esquema experimental realizado, os Peixes apresentaram a menor sensibilidade entre todos os parâmetros analisados. As razões para justificar esta menor sensibilidade são muitas, como por exemplo:

- os Peixes são consumidores secundários, *i.e.*, não dependem diretamente da composição físico-química presente no meio aquoso;
- os Peixes possuem um sistema de detoxicação muito mais elaborado do que as Algas ou Dáfnias;
- os Peixes possuem reservas energéticas, aumentando a capacidade de resistência frente à condições adversas.

Apesar de podermos estabelecer uma escala relativa de sensibilidade dos organismos frente ao efluente têxtil, devemos considerar o aspecto ecológico representado pelos diferentes organismos testados quando analisamos os resultados. Efeitos tóxicos graves sobre organismos situados em um nível elevado da cadeia trófica podem ter um impacto ambiental muito menor do que efeitos tóxicos fracos sobre organismos situados em um nível inferior da cadeia trófica. Por exemplo, como já mencionado na Capítulo I, as Algas são organismos fundamentais para qualquer ecossistema aquático por serem um dos pilares das cadeias tróficas, assim, a estabilidade da biomassa dos níveis tróficos superiores dependem diretamente do equilíbrio fitoplanctônico. Portanto, a fitotoxicidade (redução da produtividade primária) nestes organismos é considerada como um dos efeitos ecotóxicos mais nefastos para o equilíbrio de um ecossistema aquático.

A grande sensibilidade das Algas frente ao efluente têxtil (bruto e tratado) pode ser explicada pela presença de nutrientes que estimulam o crescimento destas. Como pode ser observado na **Tabela 8**, o Nitrogênio e o Fósforo estão presentes em quantidades respectivas de 2,0 e 10,0 mg/L. Acrescente-se a isto a contribuição do fenômeno da Hormese (CALABRESE *et al.*, *in press*), a qual pode ser definida como a produção de efeitos benéficos em uma população exposta a baixas concentrações de um produto químico, seguido de efeitos adversos em altas concentrações deste mesmo produto.

Analisando os resultados globalmente podemos perceber a importância de se realizar uma bateria de Biotestes em uma avaliação ecotoxicológica. Os resultados obtidos não são

reduntantes, pois cada espécie de organismo responde toxicologicamente por razões distintas, ocasionando, como visto, respostas do efluente têxtil em concentrações/diluições diferentes.

Naturalmente que a tomada de decisões visando proteger o Meio-Ambiente seria muito mais efetiva se se pudesse identificar diretamente o tóxico responsável pelo impacto ambiental. Entretanto, para distinguir inicialmente os efeitos dos tóxicos (*e.g.*, compostos químicos, efluentes) dos efeitos das variações naturais nos ecossistemas complexos, o esquema experimental deve ser cuidadosamente elaborado, levando em consideração amostragens temporais e espaciais independentes. Se um efeito for observado, geralmente é muito difícil atribuí-lo a um composto químico particular. Não obstante, em alguns casos a análise físico-química é essencial para entender a causalidade dos efeitos biológicos e seguramente ela não pode ser excluída de uma investigação ecotoxicológica dos efluentes industriais.

No caso dos efluentes têxteis, a literatura nos informa que existem várias classes de compostos químicos presentes: corantes e pigmentos, polieletrólitos, metais, surfactantes, biocidas e outros compostos orgânicos. Isto torna a análise química individual praticamente impossível do ponto de vista prático e sem muita importância, pois faltam dados toxicológicos para a grande maioria dos componentes dos efluentes têxteis (USEPA, 1996).

A presença de metais de transição é uma das principais causas da toxicidade apresentada por estes efluentes. Porém, o uso de metais neste ramo industrial se faz necessário pelas razões seguintes: a) ação anti-fungicida (*e.g.*, Organo-Estanho); b) repelentes da água (*e.g.*, adutos de Ácido Esteárico-Cloreto de Crômio); c) compostos anti-ignição (*e.g.*, Óxido de Decabromodifenil-Óxido de Titânio).

Existem ainda outras fontes que podem contribuir para o aumento de metais nos efluentes: resíduos nas fibras naturais, catalisadores poliméricos nas fibras sintéticas, impurezas nos produtos químicos utilizados ou ainda que a água usada no processo têxtil esteja contaminada. Entretanto, nenhum dos metais analisados nos efluentes utilizados em nosso

estudo comparativo de toxicidade dos efluentes ultrapassa os limites legais permitidos (vide **Tabela 8**). Mesmo que se encontrasse metais em concentrações superiores aos limites legais, em termos toxicológicos poderia ser discutido a questão da especiação química ou da biodisponibilidade, pois muitos metais podem estar presentes nas moléculas dos corantes sob a forma quelatada ou em estados de oxidação não tóxicos, portanto, não biodisponíveis. Estudos tem mostrado a grande dependência entre o pH e a especiação química/biodisponibilidade (FLYHAMMAR, 1997; SAUVÉ *et al.*, 1998).

Quanto às outras classes de compostos químicos presentes nos efluentes têxteis, sabe-se que os corantes e pigmentos apresentam baixa toxicidade, além de serem usados em quantidades ínfimas. Os corantes catiônicos apresentam toxicidade relativamente importante, mas são muito pouco usados e quando isto acontece, eles são quase totalmente consumidos nos processos têxteis. Assim, os corantes podem ser considerados como poluentes estéticos.

Os surfactantes (detergentes, emulsificantes e dispersantes) são usados em quase todas as etapas do processo têxtil e contribuem grandemente na toxicidade e no aumento da DQO dos efluentes.

Os outros compostos orgânicos podem ser voláteis ou não, sendo na sua maioria Hidrocarbonetos clorados (solventes), os quais faltam dados relativos as suas ecotoxicologias.

Os biocidas são usados na indústria têxtil por duas razões principais (além de estarem presentes como resíduos nas fibras naturais): a) prevenção do crescimento de organismos durante o processamento do material têxtil; b) no acabamento para dar propriedade biocida a certos produtos (e.g., carpetes). Os pesticidas piretróides sintéticos são muito usados porque apresentam baixa toxicidade frente aos mamíferos, além de serem facilmente biodegradáveis.

Existem algumas abordagens ecotoxicológicas que procuram identificar os componentes tóxicos das misturas complexas a fim de proporcionar informações relevantes no controle e remediação dos problemas ambientais causados por estas misturas

(PARKHURST *et al.*, 1979; BURKHARD and ANKLEY, 1989; AMATO *et al.*, 1992). Esta identificação do componente tóxico envolve manipulações químicas das amostras para separar, ou tornar biologicamente indisponível, certas classes específicas de produtos químicos antes da realização dos Biotestes. Esta manipulação engloba variações no pH, oxidações, aeração, filtração, adsorção extrativa em fase sólida (tubos C18) e quelação pelo EDTA. Após a separação, cada fração é testada através de Biotestes para se chegar, de preferência, ao(s) composto(s) químico(s) responsável pela toxicidade. Entre as maiores limitações desta abordagem em combinar fracionamento químico e Biotestes estão a pequena quantidade de material fracionado disponível para realizar os Biotestes e a falta de integridade da amostra fracionada, desconsiderando assim questões toxicológicas importantes como a especiação química dos constituintes, biodisponibilidade e interações entre os componentes da mistura.

Em contraste com a caracterização estritamente físico-química dos efluentes, os Biotestes oferecem uma medida do potencial tóxico relativamente rápida e de menor custo. Esta medida da toxicidade considera aspectos temporais e espaciais do impacto ambiental provocado pela amostra tóxica, fornecendo informações sobre o grau de toxicidade, persistência, biodisponibilidade, bem como integrando os efeitos das interações (a)bióticas (aditivismo, sinergismo e antagonismo) passíveis de existirem em um processo toxicológico onde estão presentes vários compostos químicos. Os Biotestes tornam possível a redução nos custos e esforços relativos a uma análise físico-química exaustiva, indicando quais os tipos de efluentes que merecem investigações mais aprofundadas.

Uma avaliação ecotoxicológica de efluentes deve ser realizada com o máximo de Biotestes disponíveis, considerando aspectos técnicos tais quais a facilidade de execução do teste, o custo, a não-redundância dos resultados, bem como aspectos ecológicos onde os efeitos ecotóxicos sejam representados tanto ao nível da toxicidade (*e.g.*, aguda, sub-crônica e crônica), como também ao nível trófico (*e.g.*, decompositores, produtores, consumidores).

Esta avaliação ecotoxicológica pode render informações relevantes para:

- estabelecer limites tóxicos de rejeição para efluentes industriais;
- quantificar a redução (ou aumento) da toxicidade dos efluentes submetidos a novas (ou antigas) tecnologias de tratamento;
- quantificar a toxicidade individual de diferentes efluentes dentro de um processo tecnológico;
- gerir a toxicidade ambiental de vários tipos de rejeitos (*e.g.*, sólidos, líquidos e gases) em vários compartimentos ambientais (*e.g.*, solo, água, sedimento, ar);
- mapear cursos de água para identificar fontes poluidoras.

Em suma, os Biotestes se mostram ferramentas sensíveis e confiáveis para evidenciar a toxicidade de efluentes em organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos. A utilização de uma bateria de Biotestes é essencial em uma avaliação do potencial tóxico integrado de uma mistura complexa rejeitada no Meio-Ambiente.

Capítulo IV
CONCLUSÕES

IV - CONCLUSÕES

Em vista dos resultados obtidos com as análises físico-químicas e com os Biotestes podemos concluir que a Ozonólise é um método eficiente para tratar efluentes têxteis, pois o efluente tratado por este método teve seus principais parâmetros físico-químicos (*i.e.*, pH, Cor e DQO) reduzidos de forma significativa, bem como apresentou um grau de toxicidade muito menor que o efluente bruto quando exposto à diferentes organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos.

Assim, o tratamento por Ozonólise diminui a DQO do efluente bruto em até 88,4 % da carga inicial, já o pH inicial de 11,0 foi abaixado para 7,0 e a Cor (Absorbância) foi reduzida até os níveis aceitáveis para a rejeição ambiental dos efluentes (redução de 80,9 %).

Os efluentes têxteis brutos apresentaram toxicidade para os 5 tipos de Biotestes realizados (*i.e.*, Fitotestes, Bactérias, Algas, Dáfnias e Peixes), enquanto que o efluente Ozonizado apresentou toxicidade para somente 3 tipos de Biotestes (Fitotestes, Bactérias e Algas), mas em concentrações bem mais altas (diluições pequenas) do que o efluente bruto.

Entre todas as espécies de organismos testadas, os Vegetais, Bactérias e Algas se mostraram mais sensíveis, tanto para os efluentes brutos, como para os efluentes tratados.

Com relação aos Testes de Fitotoxicidade, demonstramos que eles são viáveis para avaliar a toxicidade dos efluentes têxteis, pois todos os parâmetros analisados (critérios de efeito) foram alterados ao menos em uma das 3 espécies vegetais utilizadas em ambos os tipos de testes (solo ou solução). A espécie vegetal mais sensível foi a *Glycine max*, sendo que os parâmetros enzimáticos demonstraram ser os mais sensíveis. Porém, a um nível de triagem fitotóxica, os parâmetros Germinação e Biomassa podem ser considerados como os mais convenientes de serem realizados porque são simples na execução, relativamente rápido nas respostas e com um custo de realização muito reduzido.

Considerando aspectos de sensibilidade dos parâmetros analisados (critérios de efeitos), simplicidade do esquema experimental, custo de realização e importância ecológica dos organismos-testes, podemos propor como bateria mínima de Biotestes para avaliar a toxicidade dos efluentes têxteis:

- um Fitoteste em fase sólida ou em fase líquida com a espécie vegetal *Glycine max*;
- um Fitoteste com as algas *Scenedesmus subspicatus*;
- um teste com o microcrustáceo *Daphnia magna*;

Como conclusão geral podemos afirmar que este trabalho contribuiu para demonstrar que *i*) a Ozonólise é um método eficiente para tratar efluentes têxteis; *ii*) a necessidade/utilidade de se incluir parâmetros Ecotoxicológicos (bateria de Biotestes) na legislação ambiental e nos estudos envolvendo problemas relacionados à poluição ambiental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEMA D.M.M. and HENZEN L., 1989. A comparison of plant toxicities of some industrial chemicals in soil culture and soilless culture. *Ecotox. Environ. Safe.*, **18**, 219-229.
- AFNOR - Association Française de Normalisation. 1982. Norme Expérimentale X 31-201: Essai d'inhibition de germination de semences par une substance. Paris.
- AFNOR - Association Française de Normalisation. 1986. Norme Expérimentale X 31-202: Essai d'inhibition de la croissance des végétaux par une substance. Paris.
- AMATO J.P., MOUNT D.I., DURHAN E.J., LUKASIEWYCZ M.T., ANKLEY G.T., and ROBERT E.D. 1992. An example of the identification of diazinon as a primary toxicant in an effluent. *Environ. Toxicol. Chem.*, **11**: 209-216.
- APHA - American Public Health Association. 1992. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 18th edition, Washington, DC.
- ASTM - American Society for Testing and Materials. 1994. *Annual Book of ASTM Standards* Vol. 11.04, Pesticides, Resources Recovery, Hazardous Substances and Oil Spill Responses, Waste Managements, and Biological Effects. Philadelphia, PA.
- BEERS Jr R.F. and SIZER I.W., 1951. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J. Biol. Chem.*, **195**, 133-140.
- BEHERA B.K. and MISRA B.N. 1982. Analysis of the effect of industrial effluents on pigments, proteins, nucleic acids, 2,6-dichlorophenols indophenol Hill reaction of rice seedlings. *Environ. Res.*, **28**: 10-20.
- BLAISE C., VAN COILLIE R., BERMINGHAM N. and COULOMBE G. 1987. Comparaison des réponses toxiques de trois indicateurs biologiques (bactéries, algues, poissons) exposés à des effluents de fabriques de pâtes et papiers. *Revue Internationale des Sciences de l'Eau*, **3**: 9-17.
- BOLLYKY L.J. and SILER J. 1989. Removal of tributyl phosphate from aqueous solution by advanced ozone oxidation methods. *Proceedings of Ninth Ozone World Congress*, June, New York.
- BRADFORD M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254.
- BRAILE P.M. e CAVALCANTI J.E.W.A 1979. *Manual de Tratamento de Águas Residuárias Industriais*, CETESB, São Paulo, 764 p.
- BRENNER A, BELKIN S., ULITZUR S. and ABELIOVICH A, 1994. Utilization of a Bioluminescence Toxicity Assay for Optimal Design of Biological and Physicochemical Wastewater Treatment Processes. *Environ. Toxicol. Wat. Qual.*, **9**:311-316.
- BULICH A.A.. 1979. Use of luminescent bacteria for determining toxicity. *In: Aquatic toxicology*, ASTM STP 667. Eds: H.G. Eaton, P.R. Parish and A.C. Hendricks, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, pp. 171-180.
- BURKHARD L.P. and ANKLEY G.T. 1989. Identifying toxicants: NETAC's toxicity-based approach. *Environ. Sci. Tech.* **23**: 1438-1443.
- BURTON Jr G.A , ARNOLD W.R., AUSLEY L.W., BLACK J.A , DEGRAEVE G.M., FULK F.A , HELTSHE J.F., PELTIER W.H., PLETJ J.J., and RODGERS Jr. J.H. 1996. Effluent toxicity test

- variability: Discussion Synopsis. In: *Whole Effluent Toxicity Testing: An Evaluation of Methods and Prediction of Receiving System Impacts*. Eds: D.R. Grothe, K.L. Dickson and D.K. Reed-Judkins. SETAC Press, Pensacola, FL, pp. 131-156.
- CAIRNS J. Jr. and NIEDERLEHNER B.R. 1990. Biological monitoring of hazardous waste sites. *Comments Toxicolog.*, **3**:493-508.
- CALABRESE E.J., BALDWIN L.A., and HOLLAND C.D. Hormesis: a highly generalizable and reproducible phenomenon with important implications for risk assessment. *Risk Analysis*, (in press).
- CAMP S.R. and STORRUCK P.E. 1990. The Indutification sf the Derivate of C.I. Reactive Blue 19 in Textile Wastewater. *Water Research*, **10**: 1275-1278.
- CHAPMAN J.C. 1995. The role of ecotoxicity testing in assessing water quality. *Australian Journal of Ecology*. **20**: 20-27.
- CHRISTENSEN E.R. and SCHERFIG J. 1979. Effects of manganese copper and lead on *Selenastrum capricornutum*, *Chlorella stigmatophora*. *Water Research*, **13**: 79-82.
- COSTAN G., BERMINGHAM N., BLAISE C. and FERARD J.F. 1993. Potential ecotoxic effects probe (PEEP): a novel index to assess and compare the effluents. *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal*, **8**: 115-140.
- CHANCE B., 1970. The behavior of catalase and peroxidase in coupling reactions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **168**, 354-356.
- CHRISTENSEN, E.R. and SCHERFIG, J., 1979. Effects of manganese copper and lead on *Selenastrum capricornutum*, *Chlorella stigmatophora*. *Water Research* **13**: 79-82.
- DI GIULIO R.T., WASHBURN P.C. and WENNING R.J., 1989. Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress. *Environ. Toxicol. Chem.*, **8**, 1103-1123.
- ELSTNER E.F. 1982. Oxygen activation and oxygen toxicity. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **33**, 73-96.
- ENDRESS A.G., SUAREZ S.J. and TAYLOR O.C. 1980. Peroxidase activity in plant leaves exposed to gaseous HCl or ozone. *Environ. Pollut. Ser. A*, **22**, 47-58.
- FLYHAMMAR P. 1997. Estimation of heavy metal transformations in municipal solid waste. *Sci. Total Environ.* **198**: 123-133.
- FOYER C.H., DESCOURVIERES P. and KUNERT K.J. 1994. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant, Cell and Environment*, **17**, 507-523.
- FRELLO C.P. 1998. Avaliação da Toxicidade aguda do agrotóxico Carbofuran utilizando reativos biológicos: *Poecilia reticulada* e *Daphnia magna*. Tese de Mestrado em Engenharia Ambiental, UFSC, Florianópolis, SC.
- GASPAR T., PENEL C., THORPE T. and GREPPIN H. 1982. Peroxidases. 1970-1980. A survey of their biochemical and physiological roles in higher plants. Centre de Botanique, Université de Geneve, Geneva.
- GERAKIS P.A., VERESGLOU D.S., and SAKELLARIADIS S.D. 1980. Differential response of sugar beet *Beta vulgaris* L. cultivars to lead. *Environ. Pollut. (Ser A)*. **21**: 77-83.
- GLAZE W. H. 1989. Evaluation de Ozonation by Products from two California surface water. *Journal of American Water Works Association*, **81(8)**: 66-73.

- GOUCH A.J. 1993. The Use of Ozone to Remove Colour from Wastewater, II-2, *Wasser Berlin*.
- GOULD J.P. 1987. Correlation between chemical structure and ozonation kinetics: Preliminary observations. *Ozone Sci. Eng.*, **9**:207-216.
- HOIGNÉ and BADER H. 1983. Rate constants of direct reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water. I. Non-dissociating compounds. *Water Research*, **17**: 173-183.
- HULZEBOS E.M., ADEMA D.M.M., DIRVEN-VAN BREEMEN E.M., HENZEN L., VAN DIS W.A., HERBOLD H.A., HOEKSTRA J.A., BAERSELMAN R. and VAN GESTEL C.A.M., 1993. Phytotoxicity studies with *Lactuca sativa* in soil and nutrient solution. *Environ. Toxicol. Chem.*, **12**, 1079-1094.
- ISO - International Standard Organization
- (a) Soil Quality - Determination of the effects of chemicals added to the soil on emergence and growth of higher plants. ISO Committee Draft ISO/DIS 112689-2, 1993
 - (b) Water Quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test). ISO/TC 147/SC5, 107, 1993.
 - (c) Water Quality - Fresh water algal growth inhibition test with *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum*. ISO/DIS 8692, 1990.
 - (d) Water Quality - Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (*Cladocera, Crustacea*). Acute toxicity test. ISO/TC 147/SC5, 1994.
 - (e) Water Quality - Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish (*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan, *Teleostei, Cyprinidae*).
Part 1 - Static method. ISO/DIS 7346-1, 1993.
- KRAUS T.E. and FLETCHER R.A., 1994. Paclobutrazol protects wheat seedlings from heat and paraquat injury. Is detoxification of active oxygen involved? *Plant Cell Physiol.*, **35**, 45-52.
- KRESZE G.-B., 1983. Methods for protein determination. In: *Methods of enzymatic analysis*, Vol. II. Eds: H.U. Bergmeyer, J. Bergmeyer and M. Graßl, Verlag Chemie, Weinheim, GER., pp. 84-100.
- LANGLAIS B., RECKHOW D.A and BRINK D.R. 1991. *Ozone in water treatment - Application and Engineering*. Lewis Publishers, Chelsea, MI.
- LAPOSY C.B. 1995. *Tratamento de águas residuárias de indústrias têxteis*. Monografia (Pós-Graduação em Saneamento Ambiental) São Paulo. Universidade Mackenzie.
- LEGUBE B. 1983. *Contribution à l'étude de l'ozonation de composés aromatiques en solution aqueuse*. Thèse de Doctorat, Université de Poitiers, France.
- LEWIS M.A. 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. *Environ. Pollut.*, **87**:319-336.
- LIAKOU S., PAVLOU S. and LYBERATOS G. 1997. Ozonation of azo dyes. *Water Sci. Tech.*, **35**: 279-286.
- MANLEY T.C. and NIEGOWSKI S.J. 1967. *Basic Manual of Applications and Laboratory Ozonation Techniques*. The Welsbach Corporation, Philadelphia, PA
- MASTEN S.J. and DAVIES S.H.R. 1994. Use of ozone and other strong oxidants for hazardous waste management. In: *Environmental Oxidants*, p.517-548. Eds: J. O.Nriagu and M.S. Simmons. Wiley Interscience, New York.

- MICHAL G., MÖLLERING H. and SIEDEL J., 1983. Chemical design of indicator reactions for the visible range. *In: Methods of enzymatic analysis*, Vol. I. Eds: H.U. Bergmeyer, J. Bergmeyer and M. Graßl, Verlag Chemie, Weinheim, GER., pp. 197-232.
- MILLER G. W. 1978. An Assessment of Ozone and Chlorine Dioxide Technologies for Treatment of Municipal Water Supplies. EPA Report.
- MILLER W.E., PETERSON S.A., GREENE J.C. and CALLAHAN C.A. 1985. Comparative toxicology of laboratory organisms for assessing hazardous waste sites. *J. Environ. Qual.*, **14**, 569-594.
- MISHRA N.P., MISHRA R.K. and SINGHAL G.S., 1993. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visible light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors. *Plant Physiol.*, **102**, 903-910.
- MOUNT D.I., THOMAS N.A., NORGERG T.J., BARBOUR M.T., ROUSH T.H. and BRANDES W.F. 1984. Effect of ambient toxicity testing and in stream community response on the Ottawa River, Lima, Ohio. OWEP8401. U.S. Environmental Protection Agency, Permits Division, Washington, DC.
- MUKHERJI S. and DAS GUPTA B. 1972. Characterization of copper toxicity in lettuce seedlings. *Physiol. Plant.*, **27**: 126-129
- NAVARI-IZZO F. and IZZO R., 1994. Induction of enzyme activities and antioxidant production in barley plants as a result of SO₂ fumigation. *Plant Sci.*, **96**, 31-40.
- NEUHOLD J. and RUGGERIO L. 1976. Ecosystem processes and organic contaminants. National Science Foundation, NSF-RA-760008, Washington, D.C., 41 p.
- NEBEL C. 1981. Ozone. *In: Encyclopedia of Chemical Technology*, 3rd edition, vol. 16, Eds. R.E. Kirk and D.F. Othmer, Wiley, New York, 683-713.
- OELLER H.J., DEMEL I. and WEINBERGER G. 1997. Reduction in residual COD in biologically treated paper mill effluents by means of combined ozone and ozone/UV reactor stages. *Water Science & Technology*. **35**: 269-276.
- OLIVEIRA M.H. e MEDEIROS L.A.R. 1996. Investimentos necessários para modernização do setor têxtil. BNDES Setorial/FINAME - BNDESPAR. Março.
- PARKHURST B.R, GEHRS C.W., and RUBIN I.B. 1979. Value of chemical fractionation for identifying the toxic components of complex aqueous effluents. *In: Aquatic Toxicology (Second Conference)*, Eds: L.L. Marking and R.A Kimerle, STP 667, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, pp. 122-130.
- PARKHURST B.R., WILLIAM W.H. and LYNN E. N. 1992. Performace characteristics of effluent toxicity tests: sumarization and evaluation of data. *Enviromental Toxicology and Chemistry*, **11**: 771-791.
- PRYDE E.H., MOORE D.J. and COWAN J.C. 1968. Hydrolytic, reductive and pyrolytic decomposition of selected ozonolysis products. Water as an ozonization medium. *J. Am. Oil Chem. Technol. Soc.*, **45**: 888-894.
- RATSCH H.C., 1983. Interlaboratory root elongation testing of toxic substances on selected plant species. EPA-600/S3-83-051. *United States Environmental Protection Agency*, Environmental Research Laboratory, Corvallis, OR.
- RAZUMOVSKII S. D. and ZAIKOV G. E. 1984. *Ozone and its Reaction with Organic Compounds*. Holanda, Elsevier.

- RICE, R. G. 1981. Journal American Water Works Association, January.
- ROY S. and HÄNNINEN O. 1994. Pentachlorophenol: uptake/elimination kinetics and metabolism in an aquatic plant, *Eichhornia crassipes*. *Environ. Toxicol. Chem.*, **13**, 763-773.
- RUPERT B. and HUBERT F. 1997. The Photo-Fenton Oxidation - A Cheap and Efficient Wastewater Treatment Method. *Res. Chem. Intermed.*, **23**:341-354.
- SAUVÉ S., DUMESTRE A., McBRIDE M., and HENDERSHOT W. 1998. Derivation of soil quality criteria using predicted chemical speciation of Pb^{2+} and Cu^{2+} . *Environ. Toxicol. Chem.*, **17**: 1481-1489.
- SCHULHOF P. and SMITH P.D. 1998. Generation of Ozone. *Proceedings of the International Ozone Symposium*, September, Rio de Janeiro, Brazil.
- SIES H., 1991. Oxidative stress: introduction. In: *Oxidative stress, oxidants, and antioxidants*. Ed. H. Sies, Academic Press, San Diego, 312 pp.
- SOARES A M.V.M., BAIRD D.J., and CALOW P. 1992. Interclonal variation in the performance of *Daphnia magna* Strauss in chronic bioassays. *Environ. Toxicol. Chem.*, **11**: 1477-1483.
- SPACEK W., BAUER R. and HEISLER G. 1995. Heterogeneous and homogeneous wastewater treatment - Comparison between Photo-degradation with TiO_2 and the Photo-Fenton reaction. *Chemosphere*. **30**: 477-484.
- STAEHELIN J. and HOIGNÉ J. 1985. Decomposition of ozone in water in the of organics solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions. *Environ. Sci. Technol.*, **19**:1206-1213.
- STEGEMAN J.J., BROUWER M., DIGIULIO R.T., FÖRLIN L., FOWLER B.A., SANDERS B.M. and VAN VELD P.A., 1992. Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In: *Biomarkers*, Eds: R.J. Huggett., R.A Kimerle, P.M. Mehrle Jr., H.L. Bergman, Lewis Publishers, London, pp. 235-335.
- SUBHADRA A.V., NANDA A.K., BEHERA P.K. and PANDA B.B., 1991. Acceleration of catalase and peroxidase activities in *Lemna minor* L. and *Allium cepa* L. in response to low levels of aquatic mercury. *Environ. Pollut.*, **69**, 169-179.
- TARALDSEN J.E. and NORBERG-KING T.J. 1990. New method for determining effluent toxicity using duckweed (*Lemna minor*). *Environ. Toxicol. Chem.*, **9**, 761-767.
- THOMAS J.M., SKALSKI J.R., CLINE J.F., MCSHANE M.C., SIMPSON J.C., MILLER W.E., PETERSON S.A., CAILAHAN C.A. and GREENE J.C. 1986. Characterization of chemical waste site contamination and determination of its extent using bioassays. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **5**: 487-501.
- THOMPSON, D.M., *et al.* 1989. Testing and design considerations for ozone application at Forth Lauderdale, Florida. *Proceedings of Ninth Ozone World Congress*, June 3-9, New York.
- USEPA - United States Environmental Protection Agency. 1982. Seed germination/root elongation toxicity test. EG-12. Office of Toxic Substances, Washington, DC.
- USEPA - United States Environmental Protection Agency. 1985a. Toxic substance control act test guidelines: environmental effects testing guidelines, 40 CFR Part 797. Fed. Reg. 50(188), 39389.
- USEPA - United States Environmental Protection Agency. 1985b. Technical support document for water quality-based toxics control. EN-336, Office of Water, Washington, DC.

- USEPA - United States Environmental Protection Agency. 1989. Algal, *Selesnatrum capricornutum*, growth test. In: *Short-term methods for estimating the chronic toxicity, of effluents and receiving waters to freshwater organisms*. EPA 600/4-89/001,, Corvallis, OR, pp. 141-174.
- USEPA - United States Environmental Protection Agency. 1994. *Short-Term Methods For Estimating The Chronic Toxicity Of Effluents And Receiving Water To Freshwater Organisms*. 3rd. EPA 600/4-91/002,, Cincinnati, OH, 341 p.
- USEPA - United States Environmental Protection Agency. 1996. Manual: Best Management Practices for Pollution Prevention in the Textile Industry. EPA/625/R-96/004, Washington, DC, 299 p.
- VAN ASSCHE F., CARDINAELS C. and CLIJSTERS H., 1988. Induction of enzyme capacity in plants as a result of heavy metal toxicity: dose-response relations in *Phaseolus vulgaris* L., treated with zinc and cadmium. *Environmental Pollution*, **52**, 103-115.
- VASSEUR P., BOIS F., FERARD J.F., RAST C. 1986. Influence of physicochemical parameters on the Microtox Test response. *Toxicity Assessment*. **1**: 283-300.
- VASSEUR P., FERARD J.F., and BABUT M. 1991. The biological aspects of the regulatory control of industrial effluents in France. *Chemosphere*, **22**: 625-633.
- VASSEUR P., FERARD J.F., RAST C. and LARBAIGT G. 1984. Luminescent marine bacteria in acute toxicity testing. In: *Ecotoxicological testing for the marine environment*, Vol. 2, Eds: G.Persoone, E. Jaspers and C. Claus, State University Ghent and Inst. Mar. Scient. Res., Bredene, Belgium, pp. 381-396.
- VOGEL, A. I., 1971. *Química Orgânica*., Rio de Janeiro, Ao Livro Técnico e USP, vol. 3, pag. 993.
- WALSH G.E., WEBER D.E., NGUYEN M.T., and ESRY L.K. 1991a Responses of wetland plants to effluents in water and sediment. *Environ. Exp. Botany*, **31**, 351-358.
- WALSH G.E., WEBER D.E., SIMON T.L., and BRASHERS L.K. 1991b. Toxicity tests of effluents with marsh plants in water and sediment. *Environ. Toxicol. Chem.*, **10**, 517-525.
- WANG W., 1987. Root elongation method for toxicity testing of organic and inorganic pollutants. *Environ. Toxicol. Chem.*, **6**, 409-414.
- WANG W. 1990a Toxicity assessment of pretreated industrial effluents using higher plants. *Res. J. Wat. Pollut. Control. Fed.*, **62**, 853-860.
- WANG W. 1990b. Characterization of phytotoxicity of metal engraving effluent samples. *Environ. Monit. Asses.*, **14**, 59-69.
- WANG W. 1991. Higher plants (common duckweed, lettuce, and rice) for effluent sample. In: *Plants for toxicity assessment: Second Volume*, ASTM STP 1115, Eds: J.W. Gorsuch, W.R. Lower, W. Wang and M.A Lewis, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, pp. 68-76.
- WANG W. 1992. Use of plants for the assessment of environmental contaminants. *Environ. Contam. Toxicol.*, **126**, 87-127.
- WANG W. and FREEMARK K. 1995. The use of plants for environmental monitoring and assessment. *Ecotox. Environ. Saf.*, **30**: 289-301.
- WANG W. and KETURI P. 1990. Comparative seed germination tests using ten plant species for assessing effluent toxicity from a metal engraving sample. *Water Air Soil Pollut.*, **52**, 369-376.

- WANG W. and WILLIAMS J. 1989. Determination and removal of phytotoxicity of two industrial waste effluents. *Water Air Soil Pollut.*, **44**: 363-373.
- WHITTON B.A. 1979. Algae and higher plants as indicators of river pollution. *In: Biological Indicators of Water Quality*. Eds. A. James and L. Evison, John Wiley, Chichester.
- ZHANG J. and KIRKHAM M.B., 1994. Drought-stress induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. *Plant Cell Physiol.*, **35**, 785-791.

ANEXOS

ANEXO 1: PADRÕES DE EMISSÃO DE EFLUENTES LÍQUIDOS

(Legislação Ambiental Básica do Estado de Santa Catarina - Lei n 5.793 de 15 de outubro de 1980; Decreto n 14.250 de 05 de junho de 1981, atualizada em junho de 1998)

Capítulo II - Da Proteção das Águas, do Solo, da Atmosfera e do Controle Sonoro

Seção I - Da Proteção das Águas

Subseção IV - Dos Padrões de Emissão de Efluentes Líquidos

Artigo 19 – Os efluentes somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos de água interiores, lagunas, estuários e a beira mar desde que obedeçam as seguintes condições:

- I - pH entre 6,0 a 9,0;
- II - temperatura inferior a 40°C;
- III - materiais sedimentáveis até 1,0 mL/L em testes de 1 hora em “Cone imhoff”;
- IV - ausência de materiais sedimentáveis em testes de 1 hora em “Cone Imhoff” para lançamentos em lagos cuja velocidade de circulação seja praticamente nula;
- V - os lançamentos subaquáticos em mar aberto, onde se possa assegurar o transporte e a dispersão dos sólidos, o limite para materiais sedimentáveis será fixado em cada caso, após estudo de impacto ambiental realizado pelo interessado;
- VI - ausência de materiais flutuantes visíveis;
- VII - concentrações máximas dos seguintes parâmetros, além de outros a serem estabelecidos:

Óleos minerais	20,0 mg/L
Óleos vegetais e gorduras animais	30,0 mg/L
Cromo hexavalente	0,1 mg/L
Cromo total	5,0 mg/L
Cobre total	0,5 mg/L
Cádmio total	0,1 mg/L
Mercurio total	0,005 mg/L
Níquel total	1,0 mg/L
Chumbo total	0,5 mg/L
Zinco total	1,0 mg/L
Arsênio total	0,1 mg/L
Prata total	0,02 mg/L
Bário total	5,0 mg/L
Selênio total	0,02 mg/L
Boro total	5,0 mg/L
Estanho	4,0 mg/L
Ferro +2 solúvel	15,0 mg/L
Manganês +2 solúvel	1,0 mg/L
Cianetos	0,2 mg/L
Fenóis	0,2 mg/L
Sulfetos	1,0 mg/L
Fluoretos	10,0 mg/L
Subst. tensoativas que reagem ao azul de metileno	2,0 mg/L

Compostos organofosforados e carbamatos	0,1 mg/L
Sulfetos de carbono, tricloro etileno, clorifórmio, tetracloreto de carbono, dicloro etileno	1,0 mg/L
Outros compostos organoclorados	0,05 mg/L

VIII - nos lançamentos em trechos de corpos de água contribuintes de lagoas, lagunas e estuários, além dos itens anteriores, serão observados os limites máximos para as seguintes substâncias:

a) Fósforo total	1,0 mg/L
b) Nitrogênio total	10,0 mg/L
c) Ferro total	15,0 mg/L

IX - tratamento especial, se provierem de hospitais e outros estabelecimentos nos quais haja despejo infectados com microorganismos patogênicos, e forem lançados em águas destinadas à recreação primária e à irrigação, qualquer que seja o índice coliforme inicial;

X - a fim de assegurar os padrões de qualidade previstos para o corpo de água, todas as avaliações deverão ser feitas para as condições mas desfavoráveis;

XI - no caso de lançamentos em curso de água, os cálculos de diluição deverão ser feitos para o caso de vazão máxima dos efluentes e vazão mínima dos cursos de água;

XII - no cálculo de concentrações máxima permissíveis não serão consideradas vazões de efluentes líquidos obtidas de diluição dos efluentes;

XIII - regime de lançamento contínuo de 24 h/dia com variação máxima de vazão de 50% de vazão horária média;

XIV - DBO 5 dias no máximo de 60 mg/l (sessenta miligramas por litro). Este limite somente poderá ser ultrapassado no caso de efluente de sistema de tratamento de água residuária que reduza a carga poluidora em termos de

DBO 5 dias, 20°C do despejo em no máximo 80% (oitenta por cento); e

XV - os efluentes líquidos, além de obedecerem aos padrões gerais anteriores, não deverão conferir ao corpo receptor características em desacordo com os critérios e padrões de qualidade de água, adequados aos diversos usos benéficos previstos para o corpo de água.

ANEXO 2: MEIO NUTRIENTE PARA O TESTE COM ALGAS.

NUTRIENTES	CONCENTRAÇÃO DA SOLUÇÃO ESTOQUE	CONCENTRAÇÃO FINAL DA SOLUÇÃO TESTE
Solução I : Sais nutrientes		
Cloreto de Amônia (NH ₄ Cl)	1,5 g/L	15 mg/L
Cloreto de Magnésio (MgCl ₂ . 6H ₂ O)	1,2 g/L	12 mg/L
Cloreto de Cálcio (CaCl ₂ . 2H ₂ O)	1,8 g/L	18 mg/L
Sulfato de Magnésio (MgSO ₄ . 7H ₂ O)	1,5 g/L	15 mg/L
Fosfato Dihidrogenado de Potássio (KH ₂ PO ₄)	0,16 g/L	1,6 mg/L
Solução III: Complexo de Ferro		
Cloreto de Ferro III (FeCl ₃ . 6H ₂ O)	80 mg/L	80 µg/L
Dinitrotetracetato de Etileno - Dissódico (Na ₂ EDTA . 2H ₂ O)	100 mg/L	100 µg/L
Solução III: Elementos traço		
Ácido Bórico (H ₃ BO ₃)	185 mg/L	185 µg/L
Cloreto de Manganês II (MgCl ₂ . 4H ₂ O)	415 mg/L	415 µg/L
Cloreto de Zinco (ZnCl ₂)	3* mg/L	3 µg/L
Cloreto de Cobalto (CoCl ₂ . 6H ₂ O)	1,5* mg/L	1,5 µg/L
Cloreto de Cobre II (CuCl ₂ . 2H ₂ O)	0,01* mg/L	0,01 µg/L
Molibdato de Sódio (Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O)	7 mg/L	77 µg/L

* - O preparo destas soluções deve ocorrer através de uma diluição adicional.

Solução IV: Bicarbonato de Sódio (NaHCO₃) - 3 g

Nota: Adiciona-se ao meio nutriente no momento do teste

- Filtrar as soluções estoque através de membrana filtrante (porosidade igual a 0,2 µm) ou autoclavar a 120°C por 15 minutos. Guardar as soluções estoque a 4°C por no máximo 3 meses.

ANEXO 3: MEIO NUTRIENTE (IS0) PARA O TESTE COM DÁFNIAS.

A) Solução de Cloreto de Cálcio Dihidratado 29,38 g (CaCl ₂ . 2H ₂ O)	Dissolvido para 1L de água destilada
B) Solução de Sulfato de Magnésio Heptahidratado 112,93 g (MgSO ₄ . 7H ₂ O)	Dissolvido para 1L de água destilada
C) Solução de Cloreto de Potássio 0,58 g KCl	Dissolvido para 1L de água destilada
D) Solução de Bicarbonato de Sódio 6,48 g (NaHCO ₃)	Dissolvido para 1L de água destilada. Efetuar filtração esteril na solução.

ANEXO IV.1 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de *Glycine max* cultivadas em fase sólida (solo) expostas à diferentes concentrações de efluente têxtil bruto. X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 6 potes (2 testes).

	Controle	6,2 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
X						
σ						
CV						
% germ.	87.5 6.9 7.9	75.0 10.2 13.6	88.3 6.0 6.8	73.3* 11.7 16.0	77.5* 8.2 10.6	69.2* 16.5 2.4
Biomassa^a	4.4 0.64 14.5	3.9 0.35 9.0	4.2 0.34 8.1	3.9* 0.26 6.6	3.5* 0.45 12.8	4.0* 0.74 18.5
Proteínas^b	28.2 3.8 13.5	25.2 2.12 8.4	29.1 3.3 8.8	28.7 4.2 14.6	26.8 3.7 13.8	30.0 3.6 12.0
Peroxidase^c	179.2 31.8 17.7	282.6* 43.3 15.3	267.3* 18.5 6.9	228.8* 26.9 11.7	276.1* 47.0 5.9	192.1* 52.2 27.2

a) mg peso úmido/planta (X 10⁻¹) b) mg proteína /gr planta c) UE/mg proteínas

* Diferença Estatisticamente Significativa (p ≤ 0.05)

ANEXO IV.2 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de *Glycine max* cultivadas em fase sólida (solo) e expostas à diferentes concentrações de efluente têxtil tratado. X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 6 potes (2 testes).

	Controle	6,2 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
	X					
	σ					
	CV					
% germ.	87.0	80.0	85.8	87.0	80.8	75.0
	16.6	13.8	10.2	11.2	6.6	19.0
	19.0	17.2	11.9	12.9	8.2	25.3
Biomassa^a	4.95	4.74	4.89	4.98	4.62	4.28*
	0.36	0.32	0.74	0.55	0.45	0.99
	7.2	6.7	15.1	11.0	9.7	23.1
Proteínas^b	22.2	18.6	22.6	26.8	24.1	25.1
	3.6	4.8	4.0	3.0	6.1	4.9
	16.2	25.8	17.7	11.2	25.3	19.5
Peroxidase^c	230.9	279.8	255.0	239.4	285.5	259.5
	35.3	69.9	53.4	30.3	60.7	34.7
	15.3	24.9	20.9	12.6	21.3	13.4

a) mg peso úmido/planta ($\times 10^{-1}$) b) mg proteína /gr planta c) UE/mg proteínas

* Diferença Estatisticamente Significativa ($p \leq 0.05$)

ANEXO IV.3 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de *Glycine max* expostas em fase líquida (solução) à diferentes concentrações de efluente têxtil bruto. X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 6 potes (2 testes).

	Controle	6,2 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
	X					
	σ					
	CV					
Biomassa^a	10.92	10.30	10.35	9.40	8.95*	6.78*
	1.13	1.58	1.02	1.92	2.00	2.80
	10.3	15.3	9.8	20.4	22.3	41.2
Proteínas^b	49.6	58.7*	66.5*	56.2*	58.2*	57.1*
(Folha)	4.5	7.1	11.3	12.4	5.05	9.5
	9.1	12.1	16.9	22.1	8.6	16.6
Proteínas^b	50.2	50.4	67.0*	57.2*	68.8*	62.7*
(Caule)	5.5	9.7	7.7	6.2	12.8	6.6
	10.9	19.2	11.5	10.8	18.6	10.5
Catalase^c	42.4	35.5*	59.6*	66.9*	48.3*	63.2*
	1.7	4.4	7.6	6.6	8.7	9.9
	4.0	12.4	12.7	9.8	18.0	15.6
Peroxidase^c	26.4	28.8	30.6	34.9*	31.6*	36.5*
(Folha)	2.5	3.8	4.4	3.8	4.2	8.6
	9.5	13.2	14.4	10.9	13.3	23.6
Peroxidase^c	35.6	44.2	38.1	44.7*	45.6*	54.8*
(Caule)	6.7	7.1	8.5	6.1	9.0	5.2
	18.8	16.0	22.3	13.6	19.7	9.5

a) Δ biomassa (gr) b) μg proteína/100 μL amostra c) UE/mg proteínas

* Diferença Estatisticamente Significativa ($p \leq 0.05$)

ANEXO IV.4 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de *Glycine max* expostas em fase líquida (solução) à diferentes concentrações de efluente têxtil tratado. X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 6 potes (2 testes).

	Controle	6,2 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
	X					
	σ					
	CV					
Biomassa^a	10.06	10.4	10.5	10.45	10.36	10.36
	0.57	0.2	0.31	0.4	0.27	0.68
	5.6	1.9	2.9	3.8	2.6	6.5
Proteínas^b	53.5	50.4	53.9	56.8	60.2	67.8*
(Folha)	9.2	3.3	8.0	9.5	8.6	23.8
	17.2	6.5	14.8	16.7	14.3	35.1
Proteínas^b	60.2	51.4	62.4	56.1	48.8	55.9
(Caule)	11.5	7.8	12.2	11.0	8.5	6.7
	19.1	15.2	19.5	19.6	17.4	12.0
Catalase^c	31.6	34.1	30.6	26.6	28.6	25.7
	5.8	9.5	3.8	5.0	7.6	4.6
	18.3	27.8	12.4	18.8	3.8	5.6
Peroxidase^c	39.9	30.9	33.7	46.2	33.2	39.5
(Folha)	8.6	5.0	2.6	3.6	6.5	7.4
	21.5	16.2	7.7	7.8	19.6	18.7
Peroxidase^c	46.5	52.2	56.4	47.8	51.9	57.9*
(Caule)	5.2	4.5	8.7	4.3	7.7	6.9
	11.2	8.6	15.4	9.0	14.8	11.9

a) Δ biomassa (gr) b) μg proteína/100 μL amostra c) UE/mg proteínas

* Diferença Estatisticamente Significativa ($p \leq 0.05$)

ANEXO V.1 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de *Oryza sativa* cultivadas em fase sólida (solo) e expostas à diferentes concentrações de efluente têxtil bruto. X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 6 potes (2 testes).

	Controle	6,2 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
	X					
	σ					
	CV					
% germ.	80.8	80.0	80.8	69.2	69.2	71.7
	19.3	16.4	21.1	15.9	13.2	9.8
	23.9	20.5	26.1	23.0	19.1	13.7
Biomassa^a	2.15	2.32	2.70	2.67	3.40*	2.97*
	0.50	0.59	0.60	0.69	0.56	0.57
	23.3	25.4	22.2	25.8	16.5	19.2
Proteínas^b	45.5	48.2	49.7	48.0	49.1	56.4*
	8.6	3.6	10.4	7.4	5.1	10.3
	18.9	7.4	20.9	15.4	10.4	18.3
Catalase^c	43.5	38.6	50.1	55.2*	58.6*	50.9*
	3.9	5.9	10.1	6.3	7.7	5.4
	9.0	15.3	20.1	11.4	13.2	10.6
Peroxidase^c	68.6	124.2*	131.2*	121.8*	88.7*	115.0*
	12.6	32.9	33.2	37.3	17.8	18.7
	18.4	26.5	25.3	30.6	20.1	16.3

a) mg peso úmido/planta ($X 10^{-2}$) b) mg proteína /gr planta c) UE/mg proteínas
 * Diferença Estatisticamente Significativa ($p \leq 0.05$)

ANEXO V.2 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de *Oryza sativa* cultivadas em fase sólida (solo) expostas à diferentes concentrações de efluente têxtil tratado. X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 6 potes (2 testes).

	Controle	6,2 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
	X					
	σ					
	CV					
% germ.	84.2	77.5	72.5	76.7	76.7	70.0
	10.2	14.7	14.7	17.2	15.0	18.2
	12.1	19.0	20.3	22.4	19.5	26.0
Biomassa^a	2.32	2.25	2.52	2.43	2.42	2.27
	0.32	0.43	0.38	0.20	0.28	0.31
	13.8	19.2	14.9	8.1	11.5	13.6
Proteínas^b	57.5	53.7	61.4	50.9	50.7	57.6
	14.9	8.6	8.9	12.1	7.1	7.1
	25.9	6.2	14.5	23.7	14.0	12.3
Catalase^c	47.4	51.3	57.0	59.2	61.3	47.6
	7.8	9.4	9.2	12.8	7.2	12.9
	16.4	18.3	16.1	21.6	11.7	27.1
Peroxidase^c	88.7	105.6	101.9	98.6	108.6	86.1
	16.6	30.8	14.3	27.0	23.3	11.0
	18.7	29.2	14.0	27.4	21.4	12.8

a) mg peso úmido/planta ($X 10^{-2}$) b) mg proteína /gr planta c) UE/mg proteínas

Anexo V.3 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de *Oryza sativa* expostas em fase líquida (solução) à diferentes concentrações de efluente têxtil bruto. X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 6 potes (2 testes).

	Controle	6,2 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
X						
σ						
CV						
Biomassa^a	0.97	1.05	1.00	1.00	0.91	0.78*
	0.15	0.16	0.11	0.12	0.03	0.17
	15.5	15.2	11.0	12.1	3.3	21.8
Proteínas^b	73.8	62.6	58.0	76.9	81.6	57.3*
	13.1	8.7	7.9	10.9	13.2	5.2
	17.7	13.9	13.6	14.2	16.2	9.1
Catalase^c	66.1	72.0	73.4	84.1*	96.4*	117.2*
	6.1	12.9	8.8	14.9	12.7	31.3
	9.2	17.9	12.0	17.7	13.2	26.7
Peroxidase^c	70.3	85.9*	82.8*	99.6*	83.7*	104.5*
	7.0	17.0	19.3	9.51	13.1	10.7
	9.9	19.8	23.4	9.5	15.6	10.2

a) Δ biomassa (gr) b) μg proteína/100 μL amostra c) UE/mg proteínas

* Diferença Estatisticamente Significativa ($p \leq 0.05$)

Anexo V.4 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas de *Oryza sativa* expostas em fase líquida à diferentes concentrações de efluente têxtil tratado. X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 6 potes (2 testes).

	Controle	6,2 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
X						
σ						
CV						
Biomassa^a	0.98	0.88	0.89	0.93	0.97	0.94
	0.07	0.11	0.03	0.09	0.04	0.03
	7.1	12.5	3.4	9.6	4.1	3.2
Proteínas^b	70.7	65.6	73.0	69.2	62.4	70.3
	4.7	10.5	13.9	8.8	10.9	12.3
	6.6	16.0	19.0	12.7	17.5	17.5
Catalase^c	50.6	55.8	53.3	49.7	52.1	48.8
	5.3	8.2	7.3	4.2	9.1	12.4
	10.5	14.7	13.7	8.4	17.5	25.4
Peroxidase^c	72.2	86.1	113.4*	105.1*	118.6*	111.6*
	8.7	13.6	14.8	20.6	20.8	23.9
	12.0	15.8	13.0	19.6	17.5	21.3

a) Δ biomassa (gr) b) μg proteína/100 μL amostra c) UE/mg proteínas

* Diferença Estatisticamente Significativa ($p \leq 0.05$)

ANEXO VI.1 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas do *Triticum aestivum* cultivadas em fase sólida (solo) expostas à diferentes concentrações de efluente têxtil bruto. X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 6 potes (2 testes).

	Controle	6,2 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
X						
σ						
CV						
% germ.	83.3	85.8	88.3	77.5	82.5	65.8*
	8.7	4.9	4.1	8.8	8.2	14.3
	10.4	5.7	4.6	11.3	9.9	21.7
Biomassa^a	9.0	9.4	9.8	9.5	10.0	10.3*
	0.7	1.1	0.8	1.3	1.4	0.7
	7.7	11.7	8.1	13.7	14.0	6.8
Proteínas^b	32.75	33.87	32.20	30.57	35.47	39.43
	5.54	6.29	4.14	10.08	9.14	8.05
	16.9	18.6	12.9	33.0	25.7	20.4
Catalase^c	82.0	83.2	84.6	95.8	85.8	80.1
	11.5	12.9	8.3	11.7	7.1	8.4
	14.0	15.5	9.8	12.2	8.2	10.4
Peroxidase^c	38.6	34.6	33.4	53.5	34.1	32.0
	4.3	3.7	7.9	13.6	11.9	7.2
	11.1	10.7	23.6	25.4	35.0	22.6

a) mg peso úmido/planta ($X 10^{-2}$) b) mg proteína /gr planta c) UE/mg proteínas

* Diferença Estatisticamente Significativa ($p \leq 0.05$)

ANEXO VI.2 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas do *Triticum aestivum* cultivadas em fase sólida (solo) expostas à diferentes concentrações de efluente têxtil tratado.

X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 6 potes (2 testes).

	Controle	6,2 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
	X					
	σ					
	CV					
% germ.	83.3	80.0	83.3	78.3	75.8	76.7
	6.0	10.5	13.3	14.4	10.2	9.8
	7.3	13.1	15.9	18.3	13.4	12.8
Biomassa^a	10.3	10.4	10.2	10.3	11.1	11.0
	2.0	1.9	2.5	2.3	1.7	1.6
	19.6	18.4	24.3	22.7	15.7	15.0
Proteínas^b	57.1	53.3	50.7	55.6	55.6	64.3
	9.9	5.8	9.0	6.9	10.5	16.2
	17.3	10.9	17.7	12.4	18.9	25.2
Catalase^c	88.0	103.7	98.9	105.9	104.3	100.4
	17.9	16.2	24.7	22.4	17.5	24.2
	20.3	15.6	25.0	21.1	16.8	24.1
Peroxidase^c	40.2	33.0	41.2	40.1	36.5	33.7
	5.5	4.0	9.1	6.5	6.5	8.7
	13.7	12.1	22.1	16.2	17.8	25.8

a) mg peso úmido/planta ($\times 10^{-2}$) b) mg proteína /gr planta c) UE/mg proteínas

ANEXO VI.3 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas do *Triticum aestivum* expostas em fase líquida (solução) à diferentes concentrações de efluente têxtil bruto. X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 6 potes (2 testes).

	Controle	6,2 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
	X					
	σ					
	CV					
Biomassa^a	1.61	1.75	1.64	1.59	1.42	1.14*
	0.30	0.40	0.39	0.32	0.57	0.50
	18.9	22.8	23.9	20.1	40.2	44.1
Proteínas^b	30.7	31.2	32.5	35.6	30.9	32.0
	8.9	6.9	6.4	2.5	4.9	4.1
	29.0	22.1	19.7	70.2	15.8	12.8
Catalase^c	112.4	151.2*	157.4*	205.9*	174.7*	157.8*
	18.1	26.0	22.1	25.8	23.9	34.1
	16.1	5.8	14.0	12.5	13.7	21.6
Peroxidase^c	43.2	51.8	48.5	44.1	53.0*	58.0*
	7.6	8.3	8.3	9.0	14.5	4.3
	17.6	16.0	17.1	20.4	27.3	7.4

a) Δ biomassa (gr) b) μg proteína/100 μL amostra c) UE/mg proteínas

* Diferença Estatisticamente Significativa ($p \leq 0.05$)

ANEXO VI.4 - Parâmetros biológicos quantificados nas plantas do *Triticum aestivum* expostas em fase líquida (solução) à diferentes concentrações de efluente têxtil tratado. X = Média; σ = Desvio Padrão; CV = Coeficiente de Variação; n = 6 potes (2 testes).

	Controle	6,2 %	12,5 %	25 %	50 %	100 %
	X					
	σ					
	CV					
Biomassa^a	1.75	1.74	1.83	1.82	1.79	1.79
	0.09	0.05	0.09	0.1	0.08	0.1
	5.1	2.9	4.9	5.5	4.4	5.5
Proteínas^b	34.1	28.8	34.6	37.5	51.6	30.4
	5.7	3.7	5.2	7.6	13.7	11.4
	16.7	12.8	15.0	20.3	26.5	37.5
Catalase^c	88.4	100.1	100.2	91.0	95.9	72.5
	10.5	11.2	20.2	14.7	21.5	10.7
	11.9	11.1	20.1	16.1	22.4	14.7
Peroxidase^c	66.3	66.4	78.0	102.1	86.1	67.3
	10.8	14.5	10.7	23.9	18.4	31.2
	16.3	21.8	13.7	23.4	21.4	46.3

a) Δ biomassa (gr) b) μg proteína/100 μL amostra c) UE/mg proteínas