

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM SANEAMENTO

MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS

**SELEÇÃO DE MÉTODOS BIOLÓGICOS PARA A
AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE EFLUENTES
INDUSTRIAIS.**

Carla Ferreira Rubinger

Belo Horizonte

2009

**SELEÇÃO DE MÉTODOS BIOLÓGICOS PARA A
AVALIAÇÃO TOXICOLOGIA DE EFLUENTES
INDUSTRIAIS.**

Carla Ferreira Rubinger

Carla Ferreira Rubinger

Seleção de Métodos Biológicos para Avaliação Toxicologia de Efluentes Industriais.

Dissertação de Pesquisa apresentada ao Programa de Pós - Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito à obtenção do título de Mestre em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de concentração: Meio Ambiente

Linha de pesquisa: Caracterização, Prevenção e Controle da Poluição.

Orientador: Prof. Dr^a Mônica Maria Diniz Leão (DESA/UFMG)

Carla Ferreira Rubinger

Belo Horizonte

2009

Ficha elaborada pelo Processamento Técnico da Biblioteca da EE/UFMG

R896s Rubinger, Carla Ferreira
Seleção de métodos biológicos para avaliação toxicológica de efluentes industriais [manuscrito] /
Carla Ferreira Rubinger .— 2009.
xiii, 90 f. , enc. : il.

Orientadora: Mônica Maria Diniz Leão

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Engenharia
Sanitária e Ambiental, Departamento de Engenharia Hidráulica e Recursos Hídricos.

Bibliografia: f.: 63-71

1. Engenharia sanitária – Teses. 2. Ecotoxicidade - Teses. 3. Efluentes industriais – Teses. 4. Meio
ambiente – Teses . I. Leão, Mônica Maria Diniz. II. Universidade Federal de Minas Gerais,
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. III. Universidade Federal de Minas Gerais,
Departamento de Engenharia Hidráulica e Recursos Hídricos. IV. Título.

CDU: 628.3 (043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Engenharia

Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos
Av. Contorno 842 – 7º andar 30110-060 Belo Horizonte – BRASIL
Tel: 55 (31) 3238-1882 Fax: 55 (31) 3238-1882 posgrad@desa.ufmg.br
www.smarh.eng.ufmg.br

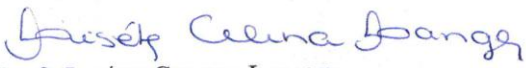
FOLHA DE APROVAÇÃO

Seleção de Métodos Biológicos para a Avaliação
Toxicológica de Efluentes Industriais

CARLA FERREIRA RUBINGER

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora constituída pelos Senhores:



Profª MÔNICA MARIA DINIZ LEÃO


Profª LISÉTE CELINA LANGE

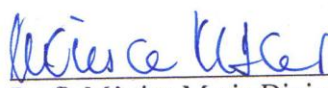

Prof. WILFRID KELLER SCHWABE


PESQ. HELENE MARIA PAULINY

Aprovada pelo Colegiado do PG SMARH


Prof. Mauro da Cunha Naghettini
Coordenador

Versão Final aprovada por


Profª. Mônica Maria Diniz Leão
Orientadora

Belo Horizonte, 09 de março de 2009.

“A ciência exercita a capacidade, não o saber.

O valor de praticar com rigor, por algum tempo, uma ciência rigorosa não está propriamente em seus resultados: pois eles sempre serão uma gota ínfima, ante o mar das coisas dignas de saber.

Mas isso produz um aumento de energia, de capacidade dedutiva, de tenacidade; aprende – se a alcançar um fim de modo pertinente.

Neste sentido é valioso, em vista de tudo o que se fará depois, ter sido homem de ciência.”

(NIETZSCHE, 1878 – 1886, *in* Humano, demasiado humano)

Dedico este trabalho de pesquisa aos meus primeiros orientadores nesta eterna busca por aprendizado, meus queridos pais *Alirio e Fátima*, que desde muito cedo me auxiliam nas minhas descobertas pela paixão a ciência e pelo ofício de lecionar.

Aos meus irmãos *Alirio e Gibran* pela compreensão, amizade e amor incondicional.

A minha avó materna *D^a. Mariinha* por me lembrar que existência da ciência humana é diminuta frente à magnitude da vida. E aquele que tem *Deus* como esteio não deve temer os obstáculos que por ventura surjam no meio da jornada.

Vocês foram e sempre serão meu refugio terno e firme a me guiar nos ladrilhos desta estrada a qual chamo de vida

Perseverança sempre!

Agradecimentos:

Deixo expressos meus sinceros agradecimentos às seguintes instituições e pessoas, sem as quais o presente trabalho teria sido impossível:

À minha orientadora Dra. *Mônica Maria Diniz Leão* e a Professora Dra. *Lisete Celina Lange*, por todo o ensinamento transmitido, orientação e incentivo em todo o desenvolvimento deste trabalho; foram as incentivadoras iniciais desta proposta de dissertação e me apoiaram em diversos momentos cruciais;

A professora Dra. *Helene Maria Paulinyi*, pesquisadora do Laboratório de Ensaio Biológicos do DESA / UFMG por seu desprendimento, incentivo, disponibilidade e amizade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade e contribuição à formação científica e pessoal;

Ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Minas Gerais pela receptividade, acolhida e apoio técnico e administrativo;

À CAPES pelo incentivo ao desenvolvimento deste trabalho através de uma Bolsa de Mestrado;

Aos colegas de pós-graduação, que sempre me acolheram com afeto e amizade, e me auxiliaram em problemas ligados as mais diversas ordens.

Às queridas Amigas *Camila Moreira de Assis e Giselle Saraiva de Melo*, sem nossas inúmeras incursões pela internet e programas sociais eu teria sucumbido. “*Meninas Muito Obrigada por terem me resgatado!*”

Aos queridos Amigos *Alisson Bragança Silva, Betânia Salermo Lara, Érika Ferreira de Abreu, Lourivaldo Lemos, Maria Eugênia Tavares*, obrigado pelo incentivo aos estudos e companhia constante na *Sala de Estudos* do DESA.

Aos queridos Amigos *Anderson Duarte, Denise Felício, Fábio Bianchetti, Filipe Dornelas, Juliana Fernandes, Magnus Caldeira, Wagner Moravia*, por sua amizade e afeto.

Aos Colegas e Novos Amigos *André Rosa, Carolina Moreira, Carolina Ventura, Cláudio Souza, Christiny Schuery, Cristiane Archanjo, Cynthia Fantoni, Fernanda Maria Nascimento, Fernando de Assunção, Fernando de Paula, Francisco da Fonseca, Glória Suzana de Souza, Jackson Pereira, João Gilberto Ribeiro, Louise Sampaio, Margarita Maria Dueñas, Miriam Amaral, Paulo Gustavo de Almeida, Uende Figueiredo, Sabrina Rubinger, Wesley Lima* queridos companheiros de festas (*Arraial no SMARH, Fantasia, Natal*, etc.) foram tantos momentos divertidos, aniversários, casamentos, defesas e conquistas importantes!

Aos meus orientadores de fé, *Padre Jorge Antônio de Castro* e Seminarista *Efferson Dionísio de Andrade*, por suas orações e desprendimento em me ouvir e aconselhar.

A minha Família por todo o apoio ao longo deste trabalho, desta fase de tormentas e puderam compreender minhas inquietações e ausências. “*Amo muito todos vocês!*”

E, a todos que me motivaram, para que minha fragilidade humana não me fizesse desistir, meu muito obrigado!

RESUMO

Os métodos biológicos para a avaliação de toxicidade de efluentes industriais constituem importantes ferramentas na prevenção, caracterização e controle da poluição que atinge os ecossistemas aquáticos.

A avaliação de toxicidade é realizada através da execução de ensaios biológicos diversos. O principal objetivo deste trabalho foi realizar a seleção de métodos de ensaio biológicos utilizados na avaliação toxicológica de efluentes industriais. Em especial visou-se a detecção de testes padronizados utilizados para o ensaio crônico. Buscou-se a identificação de organismos-teste que pudessem ser mais eficientes na detecção da toxicidade de efluentes em níveis sub-letais ou crônicos.

Dentre estes se faz destaque para os ensaios que utilizam microcrustáceos *Daphnia sp* e *Ceriodaphnia sp*; e os que utilizam bactérias fotoluminescentes como *Vibrio fischeri*.

Palavras-chave: Efluentes industriais; ecotoxicidade; ensaios crônicos.

ABSTRACT

Biological methods for evaluation of toxicity from industrial effluents represent an important tool in the prevention, characterization and control of pollution that reaches aquatic ecosystems. The toxicity evaluation carried through the execution of diverse biological assays.

The goal of this work was to integrate the existing information in a compact form as to provide new perspectives for the different toxicological methods.

The main objective of this research was to carry out by survey of selection of usually performed biological methods of assay of the toxicological evaluation from industrial effluents. In special, it aimed the detection of used standardized tests for chronic assays. It searched the identification of test-organisms that could be more efficient in the detection of the toxicities of effluent at sub-lethal or chronic levels.

Among these, has pointed out distinguished the assays, which deal with microcrustaceans *Daphnia* sp and *Ceriodaphnia* sp and the ones that use photoluminescence bacteria as *Vibrio fischeri*.

Keywords: Industrial Effluents; Ecotoxicity; Chronic Assays.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	XIII
LISTA DE TABELAS	XIV
LISTA DE SIGLAS E ABREVIações	XV
1 - INTRODUÇÃO	1
2- OBJETIVOS.....	3
2.1 - <i>Geral</i>	3
2.2 - <i>Específicos</i>	3
3 - REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1 - <i>Métodos biológicos</i>	4
3.2 - <i>Ecotoxicologia</i>	4
3.3 - <i>Ensaio ecotoxicológico</i>	7
3.4 - <i>Testes de toxicidade aquática</i>	8
3.4.1 - Teste de toxicidade aguda	12
3.4.2 - Teste de toxicidade crônica	12
4 - METODOLOGIA	15
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
5.1 - <i>Legislação e normalização pertinente</i>	16
5.2 - <i>Seleção de métodos de ensaio</i>	24
5.2.1 - Critérios para seleção de organismos aquáticos	24
5.2.2 - Testes ecotoxicológicos identificados	26
5.2.2.1 - Organismos aquáticos mais utilizados em ensaios ecotoxicológicos	28
5.3 - <i>Métodos de ensaio com organismos aquáticos mais utilizados em testes de avaliação de toxicidade de efluentes</i>	30
5.3.1 - Avaliação de toxicidade para algas	30
5.3.1.1 - Teste de inibição de crescimento algal para <i>Chlorella vulgaris</i> (toxicidade aguda)	30
5.3.1.2 - Teste toxicidade crônica por método de ensaio com algas (<i>Chlorophyceae</i>)	30
5.3.1.3 - Teste de inibição do crescimento e da fluorescência de <i>Scenedesmus subspicatus</i>	31
5.3.2 - Avaliação de toxicidade para microcrustáceos	31
5.3.2.1 - Teste de inibição da capacidade natatória de <i>Daphnia magna</i>	31
5.3.2.2 - Teste de toxicidade aguda para <i>Daphnia similis</i>	31
5.3.2.3 - Teste de toxicidade crônica para <i>Daphnia similis</i>	32
5.3.2.4 - Teste de avaliação da toxicidade crônica para <i>Ceriodaphnia dubia</i>	32
5.3.3 - Avaliação de toxicidade para peixes	33
5.3.3.1 - Testes de avaliação de toxicidade aguda para peixes	33
5.3.3.2 - Teste de avaliação da toxicidade crônica para peixes	33
5.3.3.3 - Teste de avaliação da bioconcentração em peixes	34

5.3.4 - Avaliação de toxicidade para bactérias.....	35
5.3.4.1 - Teste de inibição de bioluminescência de bactérias.....	35
5.3.4.2 - Teste de citotoxicidade (<i>Teste de Ames</i>).....	35
5.3.4.3 - Teste de genotoxicidade (<i>Umu teste</i>).....	36
5.4 - Análises de métodos de ensaios empregados na avaliação ecotoxicológica de efluentes industriais	36
5.5 - Efluentes industriais	39
5.5.1 - Efluente de origem mineira e metalúrgica.....	41
5.5.2 - Efluentes de origem petroquímica.....	41
5.5.3 - Efluentes de origem têxtil.....	41
5.5.4 - Efluentes de origem de papel e celulose.....	42
5.5.5 - Efluentes de origem frigorífica.....	42
5.5.6 - Efluentes de origem curtumeira.....	43
5.5.7 - Efluentes de origem de lixiviados de aterros sanitários urbanos ou industriais.....	43
5.5.8 - Efluentes de origem de escoamento superficial agrícola.....	44
5.6 - Avaliação da toxicidade de efluentes industriais	44
6 - CONCLUSÃO.....	59
7 - RECOMENDAÇÕES.....	61
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 3.1: PARÂMETROS NECESSÁRIOS PARA UM ESTUDO ECOTOXICOLÓGICO; ADAPATADO DE ZAGATTO, 2006.....8**
- FIGURA 3.2: DIAGRAMA REPRESENTATIVO DOS PRINCIPAIS PROCESSOS DE INVESTIGAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA EM SISTEMAS AQUÁTICOS. ADAPTADA DE *STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTE WATER* (2005).10**

LISTA DE TABELAS

TABELA 5.1 - MÉTODOS DE ENSAIO BIOLÓGICO PADRONIZADOS INTERNACIONALMENTE PARA AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE DE EFLUENTES INDUSTRIAIS.....	21
TABELA 5.2 - COLETÂNEA DE TESTES ECOTOXICOLÓGICOS COMERCIALIZADOS PARA BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DE ECOSISTEMAS AQUÁTICOS E DE EFLUENTES COMO UM TODO.....	27
TABELA 5.3 - MÉTODOS DE ENSAIO DE TOXICIDADE NORMALIZADO POR ENTIDADES DO BRASIL.....	27
TABELA 5.4 - COLETÂNEA DE ORGANISMOS-TESTE MAIS UTILIZADOS NOS BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE EFLUENTES INDUSTRIAIS.....	28
TABELA 5.5: COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS DE ENSAIO MAIS USUAIS NA AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE EFLUENTES INDUSTRIAIS.	38
TABELA 5.6: LISTA DE TIPOLOGIAS INDUSTRIAIS E MÉTODOS DE ENSAIOS APLICADOS À AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE DOS EFLUENTES INDUSTRIAIS.....	45
TABELA 5.7: RELAÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS E ÍONS METÁLICOS PRESENTES EM EFLUENTES INDUSTRIAIS E TIPOS DE MÉTODOS DE ENSAIO UTILIZADOS PARA SUA DETECÇÃO.	49

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas

AFNOR: Association Française de Normalisation

APHA: American Public Health Association

AOX: Haleto Orgânico

ASTM: American Society for Testing Materials

AWWA: American Water Works Association

C_a: Concentração de substância teste na água

CAE: Concentrações Ambientais Esperadas

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CE₅₀: Concentração efetiva média

CENO: Concentração de efeito não observado

CEO: Concentração de efeito observado

CETESB: Companhia Estadual de Tecnologia em Saneamento Básico do Estado de São Paulo.

CERH: Conselho Estadual de Recursos Hídricos

CI₅₀: Concentração de inibição média

CL: Concentração letal

CL₅₀: Concentração Letal média

CONAMA: Conselho Nacional de Meio Ambiente

CONSEMA: Conselho Estadual do Meio Ambiente

COPAM: Conselho Estadual de Política Ambiental

C_p: Concentração de substância teste no organismo

DBO: Demanda Bioquímica de Oxigênio

DCA: 3,4 - dicloroanilina

DDT: Dicloro Difenil Tricloroetano

DESA: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental

DIN: Deutsches Institut für Normung

DQO: Demanda Química de Oxigênio

EEA: European Environmental Agency

EOX: Hidrocarboneto Halogênico

ETE: Estação de Tratamento de Esgoto

FATMA: Fundação do Meio Ambiente do Estado de Santa Catarina

FESB – CETESB: Fundo Estadual de Saneamento Básico da Companhia Estadual de Tecnologia em Saneamento Básico do Estado de São Paulo.

GLP: Gás Liquefeito de Petróleo

GT02: Grupo de toxicidade da comissão técnica de qualidade das águas.

GTZ: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit GmbH

IAP: Instituto Ambiental do Paraná

IEMA: Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos hídricos

ISO: International Standard Organization

LABTOX: Laboratório de Toxicologia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina

MICROTOX®: Toxicity Test System with *Vibrio fischeri*

MMA: Ministério do Meio Ambiente

NBR: Norma Brasileira

OCPs: Pesticidas Organoclorados

OECD: Organization for Economic Co – operation and Development

OD: Oxigênio Dissolvido

P+L: Produção mais limpa

PAHs: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

PCBs: Polychlorinated biphenyls

POPs: Poluentes orgânicos persistentes

pH: Potencial hidrogeniônico

SCOPE: Scientific Committee on Problems of the Environment

SISEMA – MG: Sistema Estadual de Meio Ambiente de Minas Gerais

UASB: Upflow Anaerobic Sludge Blanket

USEPA: United States Environmental Protection Agency

VC: Valor Crônico

WEF: Water Environment Federation

WHG: Wasserhaushaltsgesetz

1 - INTRODUÇÃO

A crescente preocupação do setor industrial com as exigências de processos ecologicamente corretos e o desenvolvimento sustentável de suas atividades levam a um questionamento cada vez mais rígido da compatibilidade dos produtos utilizados no processo fabril com o meio ambiente. As certificações da qualidade de produção e a qualidade ambiental (p.e. ISO 9.000 e ISO 14.000), implementadas nas empresas com o objetivo de manter a competitividade no mercado nacional e externo, exigem amplos conhecimentos dos insumos utilizados e de seus impactos ambientais (SÄAR (a), 2005; DANNENBERG e SÄAR, 2007).

Dentre as maiores fontes de poluição do ambiente aquático encontram-se os lançamentos de efluentes líquidos domésticos e industriais de estações de tratamento de esgoto (ETE) ou o esgoto *in natura*, sem o devido tratamento.

Muitos efluentes são extremamente complexos, do ponto de vista físico e químico, e são fontes de grande diversidade de poluentes para o ambiente aquático, a estratégia mais eficiente é o uso integrado de análises físicas, químicas e ecotoxicológicas para avaliação e previsão do risco ambiental (BERTOLETTI, 1990; COSTAN *et al.*, 1993; *apud* ZAGATTO (a), 2006).

Para cada uso previsto, existe uma qualidade de água segundo padronização a ser exigida. O padrão de qualidade da água e efluentes exigidos está baseado em análises laboratoriais de parâmetros essencialmente físico-químicos.

Muitas vezes esses parâmetros são insuficientes, sendo que se tornaria impossível à determinação química de todos os componentes existentes em uma amostra de água, por exemplo, para avaliar seu efeito potencial aos seres. Para se avaliar o impacto de certas substâncias sobre a vida aquática são necessários ensaios complementares onde são utilizados seres vivos como bioindicadores.

Ademais, a análise química de efluentes é laboriosa, de elevado custo e não é capaz de garantir que todos os compostos tóxicos relevantes sejam detectados. Os testes de toxicidade empregados na análise de efluentes visam conseguir uma indicação sobre o efeito tóxico da totalidade das substâncias contidas nos efluentes e nos corpos d' água de maneira somatória (DANNENBERG, 1993; SÄAR(b), 2005).

A interação entre os métodos de biomonitoramento, somados aos dados das variáveis abióticas do sistema, proporciona um melhor diagnóstico da qualidade ambiental do ecossistema em estudo, sendo que ambas as informações são convergentes e se completam (CAIRNS e DICKSON, 1971; EXTENCE e FERGUSON, 1989).

Na avaliação da qualidade da água, por meio de análises biológicas, usualmente são empregados métodos fisiológicos que constituem na exposição dos organismos a uma amostra de água ou sedimento, avaliando - se a intensidade do efeito produzido na sobrevivência, crescimento e reprodução dos organismos, ou métodos ecológicos que partem do levantamento das comunidades presentes no corpo de água, cuja composição permite inferir condições ambientais prevalecentes (ROBERTO e ABREU, 1991).

As medidas de gerenciamento e monitoramento para a avaliação e controle dos agentes tóxicos presentes na água e no sedimento são ferramentas de mitigação de impactos antrópicos nos ecossistemas aquáticos.

Segundo Knie e Lopes (2004), os bioensaios têm sido aplicados em diversos países há muitos anos na rotina de órgãos ambientais, no âmbito do licenciamento e da fiscalização de atividades potencialmente causadoras de poluição, bem como do monitoramento da qualidade das águas. Particularmente estão sendo mais aplicados em ações preventivas, ou seja, para estimar riscos futuros devido à liberação de substâncias perigosas no meio ambiente e não apenas para avaliar danos já causados.

Neste sentido, a presença destes trabalhos é sumamente benéfica e importante, pois buscam identificar meios que permitem avaliar os efeitos de poluentes advindos do lançamento de efluentes industriais aos ecossistemas aquáticos, além de verificar a relação entre os tipos de tratamentos empregados e o grau de toxicidade dos efluentes sob a biota.

Os parâmetros ecotoxicológicos, quando comparados com os químicos são relativamente novos e, em parte, ainda desconhecidos por tomadores de decisões; é preciso divulgá-los e demonstrar sua relevância junto às ações preventivas e mitigadoras de impactos (KNIE e LOPES 2004).

O presente trabalho propõe a identificação de métodos biológicos existentes, bioensaios de toxicidade aguda e crônica, buscando uma comparação dos mesmos e sua aplicabilidade à avaliação da qualidade de tratamentos empregados aos efluentes industriais, bem como compreender suas vantagens e limitações.

2- OBJETIVOS

2.1 - Geral

Realizar levantamento das principais metodologias de testes de toxicidade empregadas na análise de efluentes industriais.

2.2 - Específicos

Identificar bioensaios existentes para a avaliação de toxicidade aguda e crônica em efluentes líquidos industriais;

Gerar comparações entre os principais métodos empregados à análise de toxicidade crônica de efluente industrial, a partir de sua aplicabilidade, contribuindo para a compilação de dados ao monitoramento ambiental.

3 - REVISÃO DA LITERATURA

3.1 - Métodos biológicos

Métodos Biológicos ou Bioensaios são testes que fazem uso de organismos vivos para elaborar informações sobre o desenvolvimento e as transformações, o efeito agudo ou crônico que uma determinada substância química possa exercer sobre a matéria viva.

Os métodos biológicos podem ser divididos em três grandes grupos de análise:

- Microbiológicos: os que se ocupam principalmente da detecção de microrganismos patogênicos;
- Limnológicos: fornecem informações sobre o desenvolvimento e as transformações em longo prazo da biocenose nos ecossistemas aquáticos;
- Ecotoxicológicos: revelam os efeitos agudos ou crônicos produzidos por uma ou compostos de substâncias químicas sobre organismos vivos.

De acordo com Knie e Lopes (2004), por volta dos anos 50, em vários países, como Alemanha, Estados Unidos, França, Inglaterra, começaram a ser selecionados, ainda do ponto de vista ecossistêmico, representantes típicos dos grupos mais importantes da biocenose aquática, levando em consideração os diferentes níveis tróficos (dos decompositores, as bactérias; dos produtores primários, as algas; dos consumidores primários, os protozoários; dos consumidores entre os metazoários, os microcrustáceos; e como consumidores finais, os peixes) para a realização de bioensaios tanto em campo quanto em escala laboratorial.

Ao mesmo tempo, foram desenvolvidos e continuamente aperfeiçoados procedimentos técnicos e metodológicos nesses países, a fim de facilitar e garantir a aplicação uniforme dos ensaios e sua divulgação.

3.2 - Ecotoxicologia

A Ecotoxicologia é uma ciência relativamente nova quando comparada a outras ciências, e foi reconhecida mundialmente a partir dos anos 60. O Dr. Rene Truhaut, membro da Academia de Ciências da França foi o criador do termo “Ecotoxicologia” em 1969 para definir “o estudo dos efeitos adversos de substâncias químicas com o objetivo de proteger espécies naturais e populações” (TRUHAUT, 1977).

Estudos Ecotoxicológicos compreendem de maneira geral:

- Estudo das emissões e entradas de poluentes no ambiente abiótico, distribuição e destino nos diversos compartimentos.
- Estudo da entrada e destino dos poluentes nas cadeias biológicas e suas formas de transferência como alimento via cadeia trófica;
- Estudo qualitativo e quantitativo dos efeitos toxicológicos dos poluentes ao ecossistema com conseqüências ao homem.

De acordo com SCOPE (1978) a ecotoxicologia é a ciência que estuda os efeitos tóxicos de agentes químicos e físicos nos organismos vivos, particularmente sobre as populações e comunidades dentro de ecossistemas definidos; esses estudos incluem as vias de entrada e transporte dos agentes em causa e a sua interação com o ambiente.

Ecotoxicologia é a ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos, que constituem a biosfera, incluindo assim a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem num contexto integrado (PLAA, 1982).

A ecotoxicologia, por Bertoletti (1990), é o estudo do comportamento e as transformações de agentes químicos no ambiente, assim como seus efeitos e respostas sobre a biota.

De acordo com o Fillmann e Yunes (1992), a ecotoxicologia é uma ciência que estuda as modalidades de contaminação do ambiente pelos agentes poluentes naturais ou artificiais produzidos pela atividade humana, assim como seus mecanismos de ação e seus efeitos sobre o conjunto de seres vivos que povoam a biosfera.

As considerações sobre a ecotoxicologia feitas por Rand, 1995, apresentam os avanços e limitações desta ciência tais como:

- Proteção às populações e comunidades (aves, plantas, mamíferos e outros organismos) aquáticos e terrestres.
- Utilização dos próprios animais que se pretende proteger.
- Não utilização dos testes para todas as espécies existentes, pois o número de organismos existentes é maior e, conseqüentemente, o grau de incerteza na extrapolação dos dados também é maior.

- A extrapolação dos dados de toxicidade é mais difícil devido às variações dos fatores ambientais (por exemplo, dureza das águas, temperatura, pH, etc.).
- A concentração do agente químico no meio (ar, água, solo ou alimento) é mais variável.
- Menor quantidade de pesquisa na área, e a maior ênfase são dadas à medida da concentração do agente químico no meio, com vistas às necessidades reguladoras, mecanismos de ação e relação estrutura / atividade.
- A utilização de métodos mais novos, alguns padronizados outros ainda em desenvolvimento.

A ecotoxicologia lida com os efeitos de poluentes ambientais na saúde e no meio ambiente. Poluentes ambientais são agentes relacionados em geral ao meio ambiente e podem causar efeitos adversos na saúde de organismos vivos, incluindo humanos, animais e plantas. O estudo da ecotoxicologia parte da redefinição de que (i) sobrevivência humana depende do bem estar de outras espécies e da disponibilidade de ar puro, água e comida; (ii) químicos antropogênicos assim como os que ocorrem naturalmente podem causar efeitos prejudiciais em organismos vivos e processos ecológicos. O estudo da ecotoxicologia, desta maneira, se refere como os poluentes ambientais, a partir de suas interações com seres humanos, animais e plantas, influenciam a saúde e bem estar destes organismos (YU, 2005).

Segundo Zagatto (2006), a ecotoxicologia implica em uma visão mais ampla do que a simples avaliação de efeitos das substâncias sobre os organismos. A toxicidade ou ecotoxicidade pode não ser o resultado da ação de apenas uma substância isolada, mas da interação e magnitude de vários agentes presentes num determinado ambiente. Assim, a avaliação ecotoxicológica de um determinado ambiente passa pelo conhecimento das fontes de emissão dos poluentes, bem como de suas transformações, difusões e destinos no ambiente.

A ecotoxicologia é uma ciência multidisciplinar que engloba várias áreas de estudo, tais como biologia, química (orgânica, analítica e bioquímica), anatomia, genética, fisiologia, microbiologia, ecologia, ciências dos solos, das águas e atmosféricas, epidemiologia, estatística e direito.

Deste modo a ecotoxicologia descreve um cenário mais elaborado de referência. Ordena questionamentos que integram diversas variáveis de qualidade ambiental, como por exemplo: Como são transformados os poluentes após sua chegada ao meio ambiente? Como são expostos os organismos, e como se dão os impactos fisiológicos na dinâmica de populações e estruturas de comunidades? Que impactos indiretos ocorrem a um organismo não exposto

quando sua presa ou predador ou competidor é afetado? Como distinguir o impacto de compostos múltiplos da ação de um único composto?

A cronologia das pesquisas ecotoxicológicas no Brasil tem seus primórdios no trabalho de Rocha et. al. em 1971 descritos no relatório da FESB-CETESB (1971); quando estes autores iniciaram o desenvolvimento de testes de toxicidade, utilizando a tilápia, com um efluente de uma indústria na região do rio Atibaia (SP), local com freqüentes mortandades de peixes supostamente causadas pelo lançamento de efluentes líquidos industriais com concentrações elevadas de agentes químicos.

Já em termos metodológicos, foi a partir de 1975 que se deu o desenvolvimento e a adaptação de vários métodos de ensaios de toxicidade aguda e crônica, de curta duração, utilizando outros grupos e espécies de organismos, dentre os quais estão presente as algas, os microcrustáceos e os peixes de águas continentais e marinhas, além de testes com sedimentos, para avaliação da poluição hídrica.

Em 1987 à Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT, por meio dos trabalhos desenvolvidos pelo GT02(Grupo de Toxicidade) da Comissão Técnica de Qualidade das Águas, começa a publicar suas primeiras normas relativas a testes ecotoxicológicos com organismos aquáticos.

A pesquisa ecotoxicologia crescentemente revela a importância das interações complexas entre organismos individualmente, nas espécies, processos fisiológicos, fatores ambientais, e multiplicidade de substâncias químicas antrópicas. Suas ferramentas incluem métodos biológicos, ora denominados de testes de toxicidade, tais como os ensaios para estudos de crescimento individual, mortalidade, reprodução, taxa metabólica, indução enzimática, etc.

3.3 - Ensaio ecotoxicológico

Os testes de toxicidade para avaliar os efeitos causados à (s) espécie (s) teste, consistem na exposição dos organismos aquáticos representativos do ambiente a várias concentrações de uma ou mais substâncias, ou a fatores ambientais, durante um determinado período de tempo. Estes testes são denominados de bioensaios ou ensaios biológicos.

O uso dos testes ecotoxicológicos integra os conceitos da ecologia, no que diz respeito à diversidade e representatividade dos organismos e seu significado ecológico nos ecossistemas,

e da toxicologia, em relação aos efeitos adversos dos poluentes sobre as comunidades biológicas (PLAA, 1982).

A observação do comportamento e das reações de animais e plantas no contato com contaminantes da natureza levou, já no século XIX, a se considerar o emprego de organismos como indicadores de impactos ambientais. Naquele tempo, as primeiras aplicações isoladas na avaliação de contaminantes por atividades industriais utilizando *Daphnia* sp e peixes foram bem sucedidas, por mais rudimentares que os métodos ainda fossem (PENNY e ADAMS, 1863 apud KNIE e LOPES, 2004).

A Figura 3.1, adaptada de Zagatto (2006), apresenta um esquema representativo do conjunto de parâmetros necessários para um estudo ecotoxicológico à avaliação integrada do destino e efeitos das substâncias tóxicas no meio ambiente.

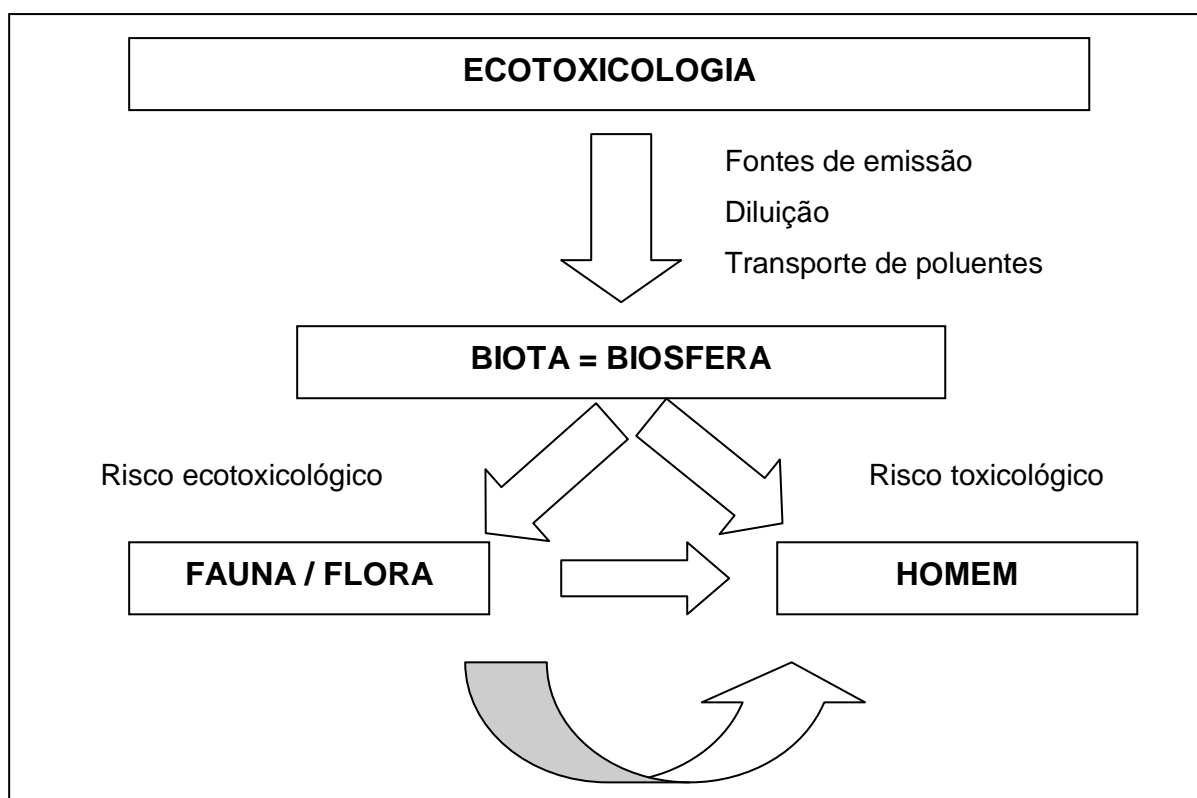


Figura 3.1: Parâmetros necessários para um estudo ecotoxicológico; adaptado de Zagatto, 2006.

3.4 - Testes de toxicidade aquática

Os ensaios de toxicidade aquática, segundo APHA, AWWA e WEF (2005), são utilizados a uma variedade de propósitos dentre os quais incluem se:

- As condições ambientais do meio ambiente para a vida aquática;

- Variáveis ambientais favoráveis ou não favoráveis tais como oxigênio dissolvido (OD), potencial hidrogênionico (pH), temperatura, salinidade ou turbidez;
- Efeitos das variáveis ambientais em presença resíduos tóxicos;
- A toxicidade de resíduos a determinadas espécies;
- A sensibilidade relativa de organismos aquáticos a um efluente ou a um composto e / ou substância tóxica;
- Tipo e extensão que um tratamento de resíduos necessita para alcançar os limites ou requerimentos do controle de poluição aquática;
- Eficácia de métodos de tratamento de resíduos;
- Estimar o descarte permissivo de um efluente;
- Compilação dos parâmetros para a qualidade de águas e padrões de lançamento de efluentes.

Os testes de toxicidade são classificados de acordo com a duração (curta; intermediária, e de longa duração), método de adicionar a solução teste (sistema estático, semi-estático e de fluxo contínuo) e propósito (monitoramento da qualidade de efluente; teste de composto isolado; toxicidade relativa; sensibilidade relativa; sabor ou odor, taxa de crescimento, etc.).

Segundo DANNENBERG, 1993; são exemplos de métodos de testes toxicológicos aplicáveis à análise de amostra de efluentes:

- Efeito letal para peixes (*Leuciscus idus*);
- Testes com células de peixes;
- Detecção da mobilidade de daphnias com *Daphnia magna*;
- Teste com pólipos de água doce (*Hydra littoralis*): critério de avaliação de modificações morfológicas dos organismos teste;
- Inibição da emissão de luz de bactérias luminescentes.

A base de dados sobre Toxicidade Aquática pode ser resumida como o esquema apresentado na Figura 3.2, segundo APHA, AWWA e WEF (2005):

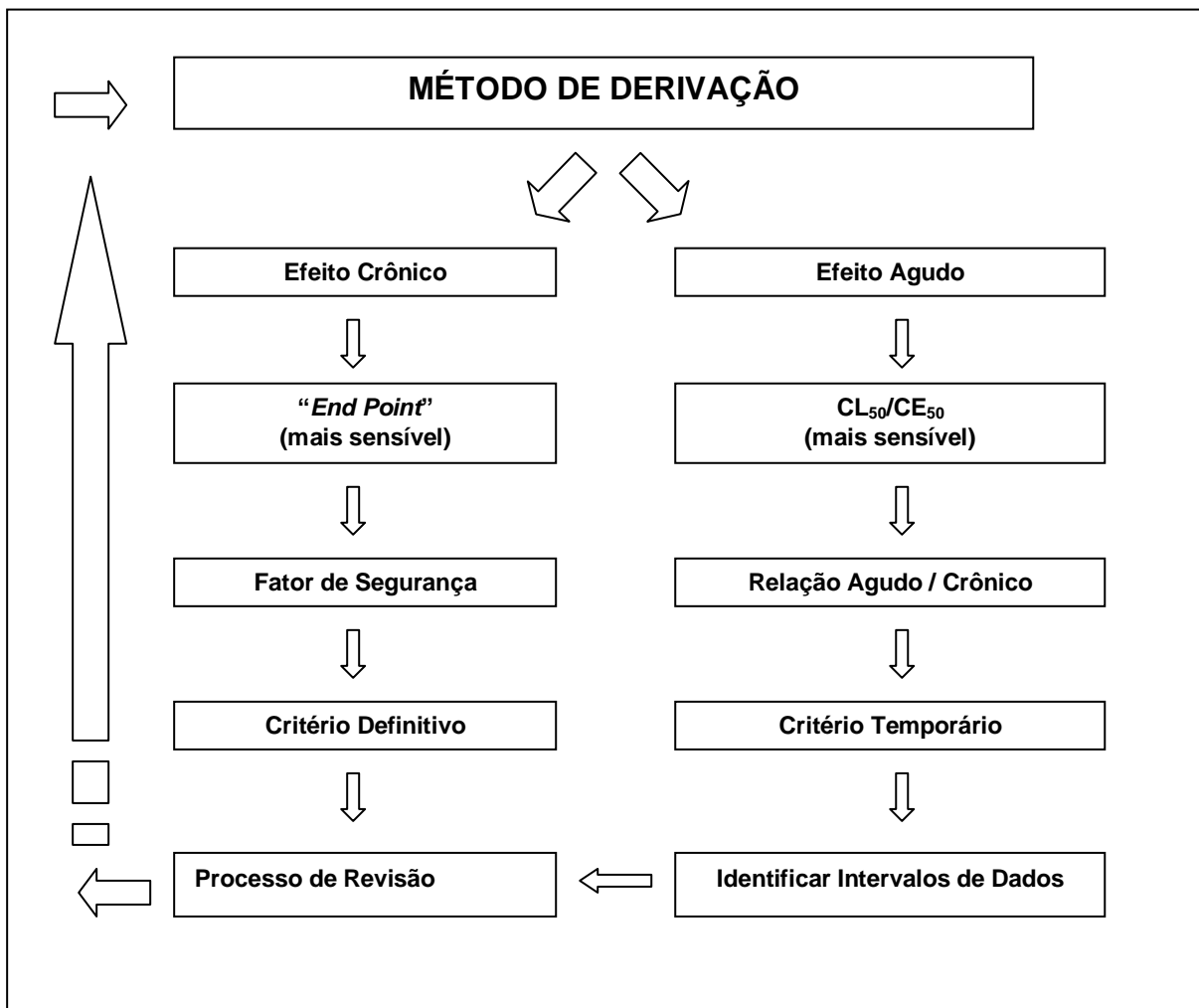


Figura 3.2: Diagrama representativo dos principais processos de investigação ecotoxicológica em sistemas aquáticos. Adaptada de *Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water* (2005).

Assim, compreendemos como “método de derivação” o ensaio biológico selecionado para a realização de uma análise.

Efeito agudo é o resultado de uma exposição isolada a uma substância tóxica, geralmente como duração menor do que 24 horas, resultando em danos biológicos severos ou a morte do organismo-teste. Trata-se de uma resposta severa e rápida dos organismos-testes a um estímulo da substância em análise, que se manifesta, em geral, em um intervalo de 0 a 96 horas.

Os resultados dos testes de efeito agudo são expressos em CE_{50} e / ou CL_{50} , concentração efetiva média ou concentração letal média, isto é, a concentração da substância em análise, por exemplo, do efluente, que causa efeito agudo.

A relação entre efeito agudo e efeito crônico se dá a partir da CENO e da CEO. A CENO é a concentração de efeito não observado, ou seja, é a maior concentração que não causa efeito aos organismos-teste; já a CEO é a concentração de efeito observada, é a menor concentração que causa efeito estatisticamente significativo nos organismos-teste.

Os critérios temporários remetem aos efeitos observados sob os organismos-teste em um curto espaço de tempo que antecedem a letalidade.

A partir da interpretação dos critérios temporários e da relação efeito agudo e efeito crônico iniciam-se a tabulação de dados, a identificação das concentrações versus tempo de exposição. Assim dá início a retroalimentação do sistema de análise onde novos testes podem ou não ser iniciados. Caso afirmativo inicia-se o processo de análise para a identificação de efeitos crônicos aos organismos-teste.

Efeito crônico é um efeito adverso no organismo-teste em que sintomas repetem-se com frequência ou desenvolvem-se lentamente por um longo período de tempo. É interpretado pela resposta a um estímulo da substância em análise que continua por longo tempo, geralmente por períodos que podem abranger parte ou todo o ciclo de vida do organismo-teste.

“*End point*” é o estágio final após uma reação química ou biológica estar completa. Neste caso é o primeiro efeito adverso observado, ou seja, o mais sensível.

O fator de segurança é a interpretação das concentrações de “*end point*” e efeito crônico observado.

Os critérios definitivos remetem aos efeitos observados sob os organismos-teste ao longo do tempo que culminam na alteração de crescimento, do ciclo reprodutivo, e na letalidade.

Ao término do teste crônico faz-se as inferências acerca da ação efetiva da substância química em análise e a biocenose.

Testes de toxicidade aguda e crônica são utilizados para verificar a toxicidade de uma substância específica ou do efeito sinérgico de diversos poluentes identificados ou não na amostra, relacionando-se ao impacto sobre a biota do corpo receptor. (GIORDANO, 2004).

3.4.1 - Teste de toxicidade aguda

Teste de toxicidade aguda é um método de teste usado para determinar a concentração de uma substância de produzir efeito venenoso a um organismo por um curto tempo de exposição que resulta em danos biológicos severos ou a morte (PANKRATZ, 2001).

Toxicidade aguda é definida por Yu (2005) como a toxicidade de um determinado material no fim de 24 horas que causa danos ou morte de dose única ou exposição.

O ensaio de toxicidade aguda pode ser definido como aquele que avalia os efeitos, em geral severos e rápidos, sofridos pelos organismos expostos ao agente químico, em um curto período de tempo, geralmente de um a quatro dias (ARAGÃO e ARAÚJO, 2006).

Testes de toxicidade aguda são experimentos de curta duração que proporcionam rápidas respostas na estimativa dos efeitos tóxicos letais de produtos químicos sobre organismos aquáticos. Seu principal objetivo é determinar as concentrações letais médias (CL_{50}) em tempo reduzido de exposição, que geralmente varia entre 24 a 96 horas. A CL_{50} é definida e padronizada como a concentração do agente tóxico que causa 50% de mortalidade na população de organismos submetidos ao teste. Os testes desta natureza disponibilizam informações básicas para outros estudos mais criteriosos como os testes de toxicidade crônica e avaliação de risco ecotoxicológico (LOMBARDI, 2007).

Devido à facilidade de execução, curta duração e baixo custo, os ensaios de toxicidade aguda foram os primeiros a serem desenvolvidos e, portanto, constituem a base de dados ecotoxicológicos.

Segundo van Leeuwen (1988a *apud* Aragão e Araújo, 2006), nos ensaios de toxicidade aguda usualmente os critérios de avaliação são a mortalidade e a imobilidade dos organismos-teste; sendo que no geral, observa-se a mortalidade para peixes e a imobilidade para invertebrados, isto porque são critérios de fácil determinação e tem significado biológico e ecológico para o ambiente.

3.4.2 - Teste de toxicidade crônica

Na década de 1960, a necessidade de avaliar, mais acuradamente, o potencial de risco de substâncias tóxicas à biota aquática em longo prazo proporciona o desenvolvimento de testes de toxicidade crônica.

Um teste de toxicidade crônica compreende um método de teste usado para determinar a concentração de substância que produza um efeito adverso em um organismo teste após um extenso período de tempo (PANKRATZ, 2001).

Toxicidade crônica é definida por Yu (2005) como sendo a toxicidade de um determinado material em um período superior a 24 horas, usualmente, após várias semanas de exposição.

Testes de toxicidade crônica são experimentos de longa duração, que visam ao estudo dos efeitos não letais nos organismos aquáticos, a partir da sua exposição prolongada a concentrações sub-letais. Estes efeitos são geralmente avaliados através de análises específicas (histológicas, hematológicas, comportamentais, etc.), utilizadas para a detecção de alterações crônicas, tais como: distúrbios fisiológicos, deformidades em tecidos somáticos e/ou gaméticos, alterações no crescimento e reprodução do organismo, dentre outras. A avaliação de risco ecotoxicológico consiste basicamente na comparação entre as concentrações letais medias (CL_{50}) e/ou crônicas de um determinado xenobiótico para diversos grupos de organismos aquáticos e as suas concentrações ambientais esperadas (CAE) (LOMBARDI, 2007).

Em princípio os testes de toxicidade crônica baseavam-se na duração do ciclo de vida completo do organismo, o que implicava em ensaios muito onerosos. Fato este que levou ao desenvolvimento de novos tipos de ensaios como os que contemplavam parte do ciclo de vida ou os estágios iniciais de vida dos organismos-teste, tais como aqueles que contemplam períodos críticos da vida do organismo (embriões, larvas, jovens) e conseqüentemente gastam menos tempo de exposição tornando-os mais acessíveis (ARAGÃO e ARAÚJO, 2006).

Os ensaios de toxicidade crônica são descritos por van Leeuwen (1988b *apud* ARAGÃO e ARAÚJO, 2006) sob três variações:

- Testes com todo o ciclo de vida de uma espécie;
- Testes com parte do ciclo de vida de uma espécie, no qual geralmente se utilizam os estágios de vida mais sensíveis ou críticos;
- Testes funcionais, nos quais são feitas medidas dos efeitos de substâncias sobre várias funções fisiológicas dos organismos.

De acordo Cooney (1995), nos testes com ciclos de vida completos os organismos-teste são expostos a diversas concentrações da substância-teste. Os testes se iniciam com os ovos e

continuam até a reprodução desses organismos. Determina-se assim a faixa de concentrações da substância que causa efeitos adversos significativos na sobrevivência, crescimento e reprodução dos organismos comparados ao controle.

Os testes com parte de vida do organismo utilizam em geral as fases de vida mais sensíveis do organismo, que normalmente, são as fases iniciais do seu desenvolvimento. Estes consistem na exposição inicial de larvas ou jovens do organismo a uma série de concentrações da substância-teste, permitindo assim extrapolar os efeitos sobre o crescimento, sobrevivência e reprodução dos organismos (McKIM, 1977).

Os ensaios de toxicidade crônica mais difundidos mundialmente são os com *Daphnia sp*, com duração de 21 dias, e com *Ceriodaphnia sp*, de 7 dias de duração. Esse último tem sido mais utilizado para avaliação de toxicidade crônica de amostras ambientais (água e efluentes líquidos), enquanto o teste com *Daphnia* é mais utilizado para a avaliação da toxicidade de novas formulações químicas (ARAGÃO e ARAÚJO, 2006).

4 - METODOLOGIA

Esta pesquisa é de natureza aplicada, abordando o problema de forma qualitativa. Para a realização dos objetivos propostos neste projeto de pesquisa foram adotados os seguintes procedimentos:

- Revisão bibliográfica dos documentos balizadores da fiscalização ambiental de regulamentação de lançamentos de efluentes;
- Revisão da literatura apresentando o estado da arte dos ensaios de ecotoxicidade aplicados a efluentes industriais;
- Investigação de métodos com organismos e sua aplicabilidade à análise de efluentes industriais.

O estudo foi desenvolvido com base em informações secundárias disponíveis (bancos de dados oficiais, universidades, centros de pesquisas, entre outros). Um extenso levantamento bibliográfico foi realizado para apontar as espécies e grupos de organismos – testes utilizados com maior frequência nos laboratórios, demonstrando quais espécies já foram conduzidos e aquelas que possuem potencial para estudos ecotoxicológicos com efluentes industriais.

As bases de dados utilizadas foram o *Compendex on Engineering Village*, *Isi Web of Knowledge*, *Web of Science*, *Scopus TM* e *Portal CAPES*. Além disso, foram feitas visitas as bibliotecas da Escola de Engenharia, do Instituto de Ciências Biológicas e da Biblioteca Central da Universidade Federal de Minas Gerais. Outras fontes importantes de informação bibliográfica foram endereços eletrônicos da Agência Européia de Meio Ambiente (EEA), da Agência Americana de Proteção Ambiental (USEPA), da Agência Canadense de Meio Ambiente (Environmental Canada), da Organização para cooperação e desenvolvimento econômico (OECD) da MicroBio® Tests Inc. (Bélgica), do Ministério do Meio Ambiente (MMA - Brasil), e do Sistema Estadual de Meio Ambiente (SISEMA - MG).

Foram priorizados assuntos que abordavam testes agudos, testes crônicos, testes simples e eficazes para a detecção de substâncias poluentes em efluentes industriais.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - Legislação e normalização pertinente

Em decorrência dos inúmeros atos predatórios que o homem veio cometendo para com o meio ambiente, e no intuito de refrear tais atitudes, a partir das décadas de 70, 80 e 90, os Governos passaram a se preocupar com meios legais de defesa contra a degradação ambiental.

Na instância Federal do Brasil a Lei nº. 6.938, de 31 de agosto de 1981, propõe considerações para assegurar a preservação, melhoria e recuperação da qualidade ambiental através da racionalização dos usos do meio ambiente, do controle e zoneamento das atividades potencialmente poluidoras e o estabelecimento de padrões de qualidade ambiental.

Neste contexto, dando seqüência aos esforços internacionais para a preservação ambiental, o Governo do Brasil, de forma inovadora promulgou na Constituição Federal de 1988, todo um Capítulo ao Meio Ambiente, e impôs como obrigação da sociedade e do próprio Estado, a preservação e defesa do Meio Ambiente.

Em decorrência da publicação da Constituição Federal de 1988, todo um aparato legal para a proteção do meio ambiente e regulamentação de atividades potencialmente poluidoras foi iniciado.

Em 8 de janeiro de 1997, a Lei nº. 9.433 é publicada e instituída a Política Nacional de Recursos Hídricos no Brasil. Nos seus artigos 9º e 10º, mais especificamente, trata do enquadramento dos corpos de águas em classes, ratifica que cabe à legislação ambiental estabelecer as classes de corpos de água para proceder ao enquadramento dos recursos hídricos segundo os usos preponderantes.

Deste modo, as especificações dos limites de emissão de efluentes encontram-se na Resolução nº. 357 do Conselho Nacional de Meio Ambiente-CONAMA (BRASIL, 2005), através dos padrões para o enquadramento de corpos receptores; já a inclusão de critérios ecotoxicológicos aparece claramente na Resolução nº. 396 do CONAMA (BRASIL, 2008) que dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas, no seu artigo 2º, inciso II, que traz a definição de análise toxicológica remetendo ao emprego de ensaios com organismos vivos e também os ensaios químicos e bioquímicos como método de prevenir a poluição destes ambientes aquáticos; no inciso XVII a definição de teste de toxicidade, os métodos biológicos para detecção da toxicidade na biota aquática.

Bem como no seu artigo 13º, §4º, explicita que as avaliações de qualidade das águas subterrâneas devem ser complementadas com análises toxicológicas, assim a integridade ambiental destes ecossistemas pode ser atestada mais realisticamente.

O texto constitucional de 1988 dá competência legislativa da União, dos Estados e Municípios, quanto à matéria ambiental. Ela é concorrente, ou seja, a competência entre União e os Estados e os Municípios para legislar sobre a defesa do meio ambiente, cabendo à União estabelecer normas gerais e aos Estados e Municípios suplementá-las.

Assim as regulamentações dos demais entes federativos são realizadas a partir das Secretarias, Fundações ou Conselhos do Meio Ambiente, norteadas pelos critérios e ou resoluções nacionais.

São regulamentações que merecem destaque as resoluções dos estados de São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Paraná, Minas Gerais que de forma prática e real aplicam às diretrizes normativas os conceitos de avaliação ecotoxicológica como um dos critérios determinantes da regularização de um efluente industrial para ser lançado nas coleções hídricas.

No Estado de São Paulo, o monitoramento ambiental fica a cargo da CETESB. Nesta instituição o controle ecotoxicológico de efluentes líquidos foi implantado em meados dos anos 90. A resolução SMA 03/2000 impulsionou o aperfeiçoamento deste controle e os ensaios de toxicidade passaram a ser realizados também em casos de mortandade de peixes, em acidentes ambientais.

No estado de Santa Catarina, o emprego de análises ecotoxicológicas teve início em 1997, através da FATMA, no âmbito do Projeto FATMA/GTZ (1997/2003). O projeto foi desenvolvido no Município de Joinville, maior pólo industrial do Estado. Mais especificamente, a portaria nº. 017 de 18 de abril de 2002 da FATMA de Santa Catarina estabelece o limite máximo de toxicidade aguda para efluentes de diferentes origens, e resolve que as substâncias existentes em um efluente não poderão causar ou possuir potencial causador de efeitos tóxicos capazes de provocar alterações no comportamento e fisiologia dos organismos aquáticos presentes no corpo receptor, bem como, descreve a necessidade de utilização de testes ecotoxicológicos padronizados para expressar a toxicidade de um efluente, além de listar uma série de limites máximos de toxicidade aguda de efluentes de diferentes

categorias industriais para com dois tipos distintos de métodos de ensaio ecotoxicológicos: toxicidade aguda para *Daphnia magna* e toxicidade aguda para *Vibrio fischeri*.

No Paraná, os ensaios ecotoxicológicos e monitoramento ambiental são promovidos pelo IAP. Estes ensaios são utilizados para o automonitoramento industrial, segundo a portaria IAP nº019 de 10 de fevereiro de 2006; além também da utilização dos ensaios biológicos para o monitoramento da qualidade das águas superficiais, avaliação integrada da qualidade da água; como também no monitoramento de acidentes ambientais.

A avaliação ecotoxicológica no estado do Rio Grande do Sul iniciou-se em 1982. Já em 1984 a secretaria da Saúde e Meio Ambiente realizava ensaios biológicos para detecção de genotoxicidade, mas através do convênio firmado com a FEPAM e GTZ em 1992 foram implantadas quatro técnicas voltadas a avaliação da qualidade de efluentes industriais. A resolução de nº. 128 de 24 de novembro de 2006 do CONSEMA do Rio Grande do Sul dispõe sobre a fixação de padrões de emissão de efluentes líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul. Adota como princípio a necessidade de preservar a qualidade ambiental, a saúde pública e dos recursos naturais no Estado. Amplia as restrições e readequar formas de controle e fiscalização de atividades geradoras de efluentes passíveis de causar a poluição hídrica, conjugando os parâmetros da Resolução nº. 357 de 17 de março de 2005 do CONAMA e da Portaria nº. 518 de 25 de março de 2004 do Ministério da Saúde incluindo os testes ecotoxicológicos como métodos de detecção de novas formas de poluição e da ação acumulativa de poluentes nos ecossistemas.

Já a Resolução nº. 129 de 24 de novembro de 2006, também do CONSEMA do Rio Grande do Sul dispõe sobre a definição de critérios e padrões de emissão para toxicidade de efluentes líquidos lançados em águas superficiais do Estado do Rio Grande do Sul, uma forma, mas efetiva de aplicar as avaliações de ecotoxicidade de efluentes com a qualidade de efluente, distinção de tipos de efluentes, a ser lançado nas águas superficiais no território rio grandense.

Em Minas Gerais, a Deliberação Normativa Conjunta COPAM / CERH nº01 de 01 de maio de 2008, é que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Faz se menção de destaque ao Capítulo V, artigo 29, parágrafos 1º, 2º; os quais descrevem o emprego de métodos biológicos para a avaliação de toxicidade de efluentes e que devem ser

utilizados ensaios ecotoxicológicos já padronizados e indicados pelo órgão ambiental competente para assegurar o correto lançamento de efluentes nas coleções hídricas do estado.

Internacionalmente a regulamentação de métodos biológicos para a avaliação de toxicidade de um efluente não é muito clara. Ocorrem variações de acordo com a localização e com o grau de amadurecimento das políticas públicas em que se encontra cada país para com a questão ambiental.

O uso de testes com organismos vivos é amplamente utilizado em países da Europa e nos Estados Unidos, tendo por base a legislação ambiental. Em geral estes países adotam os testes que passaram por normalização e ou padronização de ensaios realizada por entidades e ou institutos nacionais de normalização.

Na Alemanha, por exemplo, a regulamentação do lançamento de efluentes industriais e municipais é definida na WHG (*Wasserhaushaltsgesetz*), a Lei do Balanço de Água, a qual segue a Regulamentação Geral Administrativa para os efluentes de diferentes ramos industriais. Ela aplica - se tanto para efluentes com descarga direta no corpo receptor, quanto para efluentes com descarga indireta na rede coletora de esgotos, sendo que no último caso, o efluente é direcionado para uma ETE municipal para tratamento em conjunto com o esgoto doméstico (SÄAR(b), 2005).

Ensaios de toxicidade encontram-se padronizados nacional e internacionalmente por associações ou organizações de normalização, como por exemplo:

- Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT);
- Associação Francesa de Normalização (AFNOR);
- Sociedade Americana para Materiais e Testes (ASTM);
- Associação Americana Trabalhos com Águas (AWWA);
- Instituto Alemão para Normalização (DIN);
- Organização Internacional para a Padronização (ISO);
- Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD).

O emprego da normalização e da padronização internacionalmente de bioensaios possibilita a aplicação uniforme dos métodos de teste mundialmente, assegurando resultados comparáveis dentre os diversos laboratórios.

De acordo com Ohio EPA-*Division of Surface Water* (1998), o biomonitoramento é destinado a avaliar um impacto ou impacto em potencial que o despejo de efluentes (esgotos) na vida aquática utilizando métodos biológicos. Deste modo os pressupostos de biomonitoramento podem vir a ser definidos de duas formas:

- Avaliação da toxicidade de um efluente por testes toxicológicos;
- Avaliação do impacto de um efluente através da investigação das comunidades de entorno aos pontos de lançamentos.

A Tabela 5.1, a seguir, retrata os métodos de ensaios biológicos padronizados por entidades internacionais mais utilizados no universo acadêmico.

Tabela 5.1 - Métodos de ensaio biológico padronizados internacionalmente para avaliação de toxicidade de efluentes industriais.

Entidade Normalizadora	Tipo de Teste
USEPA	Toxicidade Aguda: 2002.0 <i>Ceriodaphnia dubia</i>
	Toxicidade Aguda: 2021.0 <i>Daphnia pulex</i> e <i>Daphnia magna</i>
	Toxicidade Aguda: 2000.0 <i>Pimephales promelas</i> e <i>Cyprinella leedsii</i>
	Toxicidade Aguda: 2019.0 <i>Oncorhynchus mykiss</i> e <i>Salvelinus fontinalis</i>
	Toxicidade Aguda: 2007.0 <i>Mysidopsis bahia</i>
	Toxicidade Aguda: 2004.0 <i>Cyprinodon variegatus</i>
	Toxicidade Aguda: 2006.0 <i>Menidia beryllina</i> , <i>Menidia menidia</i> , e <i>Menidia peninsulae</i>
	Toxicidade Crônica: 1000.0 <i>Pimephales promelas</i> , sobrevivência larval e crescimento.
	Toxicidade Crônica: 1001.0 <i>Pimephales promelas</i> , sobrevivência embriolarval e teratogenicidade.
	Toxicidade Crônica: 1002.0 <i>Ceriodaphnia dubia</i> , sobrevivência e reprodução.
	Toxicidade Crônica: 1003.0 <i>Selenastrum capricornutum</i> , crescimento.
	Toxicidade Crônica: 1004.0 <i>Cyprinodon variegatus</i> , sobrevivência larval e crescimento.
	Toxicidade Crônica: 1005.0 <i>Cyprinodon variegatus</i> , sobrevivência embriolarval e teratogenicidade.
	Toxicidade Crônica: 1006.0 <i>Menidia beryllina</i> , sobrevivência larval e crescimento.
Toxicidade Crônica: 1007.0 <i>Mysidopsis bahia</i> , sobrevivência, crescimento, e fecundidade.	
Toxicidade Crônica: 1008.0 <i>Arbacia punctulata</i> , fertilização.	
OECD	Teste de Inibição do crescimento algal, espécies <i>Desmodesmus subspicatus</i> , <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> : OECD 201
	Teste de toxicidade aguda, espécie <i>Daphnia magna</i> STRAUS, <i>Daphnia pulex</i> : OECD 202
	Teste de toxicidade aguda, espécies <i>Danio rerio</i> , <i>Pimephales promelas</i> , <i>Cyprinus carpio</i> , <i>Orizias latipes</i> , <i>Poecilia reticulata</i> , <i>Lepomis macrochirus</i> , <i>Oncorhynchus mykiss</i> : OECD 203
	Teste de toxicidade prolongada, espécies <i>Danio rerio</i> , <i>Pimephales promelas</i> , <i>Cyprinus carpio</i> , <i>Orizias latipes</i> , <i>Poecilia reticulata</i> , <i>Lepomis macrochirus</i> , <i>Oncorhynchus mykiss</i> : OECD 204
	Teste Primeiro estágio de vida, espécie <i>Danio rerio</i> : OECD 210
	Teste reprodução, espécie <i>Daphnia magna</i> STRAUS: OECD 211
	Teste de toxicidade a curto prazo em embriões de peixes, espécies <i>Danio rerio</i> , <i>Oncorhynchus mykiss</i> , <i>Cyprinus carpio</i> , <i>Pimephales promelas</i> , <i>Orizias latipes</i> : OECD 212
	Teste de crescimento juvenil em peixes, OECD 215
	Teste de toxicidade de sedimento - água com Chinomídeos, usando sedimento cravado, OECD 218
	Teste de toxicidade de sedimento - água com Chinomídeos, usando a água cravada, OECD 219

Continua...

...Continuação

Entidade Normalizadora	Tipo de Teste
ISO	Teste de inibição do crescimento, <i>Lemna sp</i> ; espécies <i>Lemna minor</i> e <i>Lemna gibba</i> , OECD 221
	Teste de inibição do crescimento algal, espécies <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> e <i>Desmodesmus subspicatus</i> , ISO8692
	Teste de toxicidade Aguda, imobilização, <i>Daphnia sp</i> , espécie <i>Daphnia magna</i> , ISO6341
	Teste de toxicidade Aguda em peixes, espécies <i>Brachydanio rerio</i> , <i>Pimephales promelas</i> , <i>Orizias latipes</i> , <i>Poecilia reticulata</i> , <i>Lepomis macrochirus</i> , ISO7346, partes 1, 2, 3.
	Teste de toxicidade prolongada em peixes: 14 dias, espécie <i>Oncorhynchus mykiss</i> , ISO10229
	Teste de reprodução, <i>Daphnia magna</i> STRAUS, ISO10706
	Teste de toxicidade a curto prazo em embriões de peixes, espécie <i>Danio rerio</i> , ISO12890
	Teste de inibição de crescimento, <i>Lemna sp</i> , espécie <i>Lemna minor</i> , ISO20079
Environment Canadá	Teste de toxicidade aguda, letalidade, em peixes, espécie <i>Oncorhynchus mykiss</i> .
	Teste de toxicidade aguda, letalidade em microcrustáceos, espécies <i>Daphnia sp</i> .
	Teste de reprodução e sobrevivência usando cladoceros, espécie: <i>Ceriodaphnia dubia</i>
	Teste de crescimento larval e sobrevivência usando peixes, espécie: <i>Pimephales promelas</i> .
FDA	Teste de inibição de crescimento algal, espécie: <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> .
	Ensaio com algas
	Toxicidade aguda em <i>Daphnia sp</i>
	Toxicidade crônica em <i>Daphnia sp</i> .
	Teste de toxicidade aguda em <i>Hyalella azteca</i> .
Standard Methods(APHA)	Teste de toxicidade aguda em peixes de água doce
	Teste de toxicidade a curto prazo em larvas de moluscos,8610C.
	Teste de toxicidade aguda para <i>Daphnia</i> , <i>Daphnia magna</i> e <i>Daphnia pules</i> , 8711C-1.
	Teste de toxicidade a longo prazo com <i>Daphnia</i> , espécies: <i>Daphnia magna</i> , <i>Daphnia pulex</i> , 8711C-2.
Teste de toxicidade aguda com <i>Ceriodaphnia</i> , espécie: <i>Ceriodaphnia dubia</i> , 8712C.1.	
Teste de toxicidade crônica a curto prazo com <i>Ceriodaphnia</i> ., espécie: <i>Ceriodaphnia dubia</i> , 8712C.2.	

Continua...

...Continuação

Entidade Normalizadora	Tipo de Teste
	Teste de toxicidade com Misídios, curto prazo, espécies <i>Neomysis mercedis</i> , <i>Americamysis almyra</i> , 8714C-1.
	Teste de toxicidade com Misídios, ciclo de vida, espécies <i>Holmesimysis costata</i> , <i>Americamysis bahia</i> , <i>Americamysis bigelowi</i> , 8714C-2.
	Testes de toxicidade com Decápodos, usando larvas ou pós larvas de carangueijos ou camarões, 8740C-1
	Teste de toxicidade com Decápodos, estático, primeiros estagios de vida, 8740C-2.
	Teste de toxicidade com Decápodos, a longo prazo em sistemas defluxo de exposição, 8740C-3.
	Teste de toxicidade com Decápodos, usando larvas e pós larvas da lagosta americana, 8740C-4.
	Teste de toxicidade com insetos aquáticos, procedimentos para <i>Hexagenia</i> sp, espécies <i>Hexagenia bilineata</i> , <i>Hexagenia limbata</i> , <i>Hexagenia rigida</i> , 8750C-3.
	Teste de toxicidade com insetos aquáticos, procedimentos para <i>Chironomus</i> sp, espécies <i>Chironomus plumosus</i> , <i>Chironomus attenuatus</i> , <i>Chironomus tetans</i> , <i>Chironomus californicus</i> , 8750C-4
Standard Methods(APHA)	Teste de toxicidade aguda a curto prazo com peixes, espécie <i>Pimephales promelas</i> , 8921C-1.
	Teste de toxicidade crônica a curto prazo com peixes, espécie <i>Pimephales promelas</i> , 8921C-2.
	Teste de toxicidade primeiros estagios de vida em peixes, espécie <i>Pimephales promelas</i> , 8921C-3.
	Teste de toxicidade ciclo reprodutivo de vida em peixes, espécie <i>Pimephales promelas</i> , 8921C-4.
	Teste de citotoxicidade, teste de Ames, espécie: <i>Salmonella typhimuriu</i> , 8030B.
	Teste de inibição de bioluminescência em bactérias, <i>Vibrio fisheri</i> , 8050B.
	Teste de bioestimulação, produtividade algal, espécies: <i>Selenastrum capricornutum</i> , <i>Dunaliella tertioleca</i> , <i>Thalassiosira pseudonana</i> , 8111.
	Teste de toxicidade ao fitoplâncton, espécie: <i>Macroscystis pyrifera</i> , 8113C.
	Teste de toxicidade inibição de crescimento, <i>Lemna minor</i> , 8211C.
	Teste de inibição de crescimento em ciliados, espécie <i>Colpidium campylum</i> , 8310B.
	Teste quimiostático com ciliados, espécie <i>Tetrahymena thermophila</i> , 8310C.
	Teste de toxicidade aquática com rotíferos, espécies <i>Brachionus calyciflorus</i> , <i>Brachionus rubens</i> , <i>Brachionus patulus</i> , <i>Brachionus plicatilis</i> , <i>Asplanchna brightwelli</i> , <i>Philodina roseola</i> , <i>Philodina acutiocornis</i> , 8420C.
Conclusão	

5.2 - Seleção de métodos de ensaio

5.2.1 - Critérios para seleção de organismos aquáticos

De acordo com APHA, AWWA e WEF (2005), os requerimentos mais importantes para designar um programa de testes de toxicidade são a definições dos objetivos do estudo e o estabelecimento de práticas de controle de qualidade para assegurar que os dados são de qualidade suficiente para alcançarem os objetivos pré-definidos e promover sua credibilidade.

O primeiro princípio básico na escolha de organismos-teste refere-se à sensibilidade: é preciso que a espécie seja bastante sensível a uma diversidade de agentes químicos. Esta deve ser relativamente constante, de maneira que possibilite a obtenção de resultados precisos, garantindo, assim, boa exatidão e reprodutibilidade dos resultados. Portanto torna-se necessário o conhecimento prévio da biologia da espécie, como reprodução, hábitos alimentares, fisiologia e comportamento, tanto para o cultivo quanto para a realização dos testes. Além disso, o uso de espécies de pequeno porte e ciclo de vida não muito longo se mostra ideal aos estudos ecotoxicológicos em laboratório (DOMINGUES e BERTOLETTI, 2006).

Bioensaios com indicadores de ciclo de vida curtos são de interesse em todas as perspectivas ecológicas, particularmente quando testam amostras instáveis como efluentes. Existem diversos seres que podem ser utilizados como bioindicadores, sendo que a fácil manipulação e a rapidez na realização de um ensaio são pontos chave para sua aplicação principalmente no âmbito de mercado. Testes de toxicidade são desejáveis em avaliações da qualidade da água porque os métodos analíticos físico-químicos isolados não são suficientes para mensurar os efeitos potenciais de compostos sintéticos sobre a biota.

De acordo com Rand e Petroceli (1985) a espécie utilizada no teste deve ser sensível e ecologicamente representativa do ambiente; que o teste seja o mais realístico possível, de fácil realização, de baixo custo; que os resultados dos ensaios sejam facilmente quantificáveis através de interpolação gráfica e análise estatística; que os dados obtidos sejam úteis para a avaliação de risco; e que os resultados obtidos nos testes laboratoriais possam predizer, com a maior exatidão possível, os efeitos ambientais de determinado poluente.

Knie e Lopes (2004) afirmam que os critérios mais usuais de seleção de testes ecotoxicológicos envolvem a identificação de organismos que sejam, desde o ponto de vista ecossistêmico, representantes típicos dos grupos mais importantes da biocenose aquática,

levando em consideração os diferentes níveis tróficos. Segundo os mesmos autores, tem-se que os critérios de seleção de organismos indicadores são balizados por espécies presentes no país ou na região mais próxima, bem como, aspectos práticos tais como a facilidade de manejo e da cultura destes em laboratórios.

Para Domingues e Bertolotti (2006), um critério muito importante é a disponibilidade de organismos. As espécies presentes em épocas restritas e em pequeno número devem ser desconsideradas em favor daquelas abundantes e disponíveis ao longo do ano. Como os testes são realizados para avaliar o efeito de determinado poluente ao ambiente, deve-se dar preferência a espécies autóctones ou representativas do ecossistema em estudo, ou seja, a espécie deve exercer papel importante no que se refere à estrutura e funcionamento das biocenoses, além de ter, preferencialmente, importância comercial.

Os ensaios de toxicidade desenvolvidos em condições laboratoriais devem utilizar sempre espécies representativas da coluna d'água, uma vez que esses ensaios têm sido os mais utilizados em estudos para avaliação da toxicidade de substâncias químicas, efluentes e águas superficiais (ARAGÃO e ARAÚJO, 2006).

Não existe uma espécie que atenda a todos esses requisitos para todos os ecossistemas, no entanto, também se recomenda a utilização de um gênero do fitoplâncton, um do zooplâncton e outro do grupo dos peixes, níveis estes representativos de qualquer ambiente aquático (DOMINGUES e BERTOLETTI, 2006).

Embora detalhes específicos dos ensaios de toxicidade com diferentes espécies de organismos possam diferir entre si, o princípio básico para todos é semelhante e requer condições ambientais específicas, como pH, temperatura, oxigênio dissolvido, dureza da água, fotoperíodo, duração do teste, etc.

Nos métodos de ensaios biológicos, os organismos-teste (peixes, microcrustáceos, algas, dentre outros) são expostos a várias concentrações da amostra a ser testada (substância química, efluente, extratos aquosos) em soluções contidas nos frascos-teste (por exemplo, cubas de vidro, aquários, tubos de ensaios, béqueres, etc.), por determinado período de tempo. Em todos os ensaios são utilizados frascos-controle (somente com a água de diluição), nos quais se avalia a viabilidade do lote dos organismos expostos. Após o período de testes verifica (m)-se efeitos(s) da amostra sobre alguns parâmetros biológicos, como mortalidade, crescimento, reprodução, comportamento dos organismos, dentre outros. Os efeitos são

analisados estatisticamente e os resultados são expressos em unidades numéricas, tais como concentração letal inicial mediana (CL₅₀), concentração efetiva inicial mediana (CE₅₀) e concentração de efeito não observado (CENO) (ARAGÃO e ARAÚJO, 2006).

Os critérios decisivos da escolha das mesmas espécies são, sobre tudo, as boas experiências de seu manuseio e a sua importância na cadeia alimentar, bem como a sua ampla disseminação e fácil disponibilidade (KNIE e LOPES, 2004; APHA; AWWA e WPCF, 2005; ZAGATTO e BERTOLETTI, 2006).

Assim, a seleção de técnicas avaliadas procurou reunir o conjunto de informações obtidas segundo o melhor desenvolvimento e o contínuo aperfeiçoamento de processos técnicos e metodológicos; a facilidade e a aplicabilidade uniforme dos bioensaios e sua divulgação através das orientações normalizadas e descritivas sobre os métodos ecotoxicológicos destinados a análise de efluentes industriais.

5.2.2 - Testes ecotoxicológicos identificados

Os métodos de ensaio de toxicidade normalizados por entidades de padronização de ensaios são aqueles que apresentam maior difusão no meio científico, das quais se destacam a Sociedade Americana para Materiais e Testes-ASTM; o Instituto Alemão para Normalização-DIN; a Agência Canadense de Meio Ambiente-Environment Canada; a Organização Internacional para Padronização - ISO; a Organização para cooperação e desenvolvimento econômico-OECD e a Agência Americana de Proteção Ambiental-USEPA.

Dentre os ensaios biológicos comercializados a Tabela 5.2 apresenta um resumo dos testes ecotoxicológicos que apresentam os melhores resultados para a detecção e quantificação da toxicidade em amostras de ecossistemas aquáticos e para a avaliação de águas residuárias como um todo.

A Tabela 5.3 apresenta métodos de ensaio de toxicidade normalizados por entidades de padronização no Brasil.

Tabela 5.2 - Coletânea de testes ecotoxicológicos comercializados para bioensaios para avaliação de ecossistemas aquáticos e de efluentes como um todo

Nível Trófico	Tipo de teste	Critério teste	Duração	Organismos - teste
Consumidores	Agudo	Mortalidade	24h	<i>Brachionus calyciflorus</i>
	Agudo	Mortalidade	24 - 48h	<i>Brachionus plicatilis</i>
	Agudo	Mortalidade	24h	<i>Artemia salina</i>
	Agudo	Mortalidade	24h	<i>Daphnia pulex</i>
	Agudo	Mortalidade	24h	<i>Ceriodaphnia dubia</i>
	Agudo	Mortalidade	24h	<i>Thamnocephalus platyurus</i>
	Agudo	Imobilidade/Mortalidade	24 - 48h	<i>Daphnia magna</i>
	Agudo	Inibição parcial motilidade	15 - 60min	<i>Thamnocephalus platyurus</i>
Decompositores	Agudo	Inibição da luminescência	15 - 30 min	<i>Vibrio fischeri</i>
Produtores	Crônico curto	Inibição do Crescimento	72h	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>
	Crônico curto	Inibição do Crescimento	72h	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>
Consumidores	Crônico curto	Reprodutibilidade	48h	<i>Brachionus calyciflorus</i>
	Crônico curto	Mortalidade - Inibição do crescimento	6 dias	<i>Heterocypris incongruens</i>
Decompositores	Crônico curto	Inibição do Crescimento	24h	<i>Tetrahymena thermophila</i>

Fonte: adaptado de Microbio®, 2007.

Tabela 5.3 - Métodos de ensaio de toxicidade normalizado por entidades do Brasil.

Entidade normalizadora	Tipo de teste
ABNT	NBR15088. Toxicidade aguda - Método de ensaio com peixes.
	NBR12713. Toxicidade aguda - Método de ensaio com <i>Daphnia</i> spp (Crustacea, Cladocera).
	NBR13373. Toxicidade crônica - Método de ensaio com <i>Ceriodaphnia</i> spp (Crustacea, Cladocera).
	NBR12648. Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (Chlorophyceae).
	NBR 15308. Toxicidade aguda - Método de ensaio com misidáceos (Crustacea).
	NBR15350. Toxicidade crônica de curta duração - Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea).
	NBR12716. Ensaio de toxicidade aguda com peixes - Parte III - Sistema de fluxo contínuo
CETESB	L5.018. Teste de toxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> Claus, 1879 (Cladocera, Crustacea)
	L5.019. Teste de toxicidade aguda com peixes. Parte I - sistema estático.
	L5.019. Teste de toxicidade aguda com peixes. Parte II - sistema semi – estático.
	L5.019. Teste de toxicidade aguda com peixes. Parte III - sistema de fluxo contínuo.
	L5.020. Teste de toxicidade com <i>Chlorella vulgaris</i> .
	L5.022. Avaliação de toxicidade crônica, utilizando <i>Ceriodaphnia dubia</i> Richard, 1894 (Cladocera, Crustácea)
	L5.025. Água: teste para avaliação de toxicidade aguda de cianofíceas (algas azuis)
	L5.227. Teste de toxicidade com a bactéria luminescente <i>Vibrio fischeri</i> : método de ensaio
	L5.228. Teste de toxicidade aguda utilizando <i>Spirillum volutans</i> : método de ensaio.
	L5.250. Água do mar: teste de toxicidade crônica de curta duração com <i>Lytechinus variegatus</i> LAMARCK, 1816 (Echinodermata: Echinoidea)
L5.251. Água do mar: teste de toxicidade aguda com <i>Mysidopsis juniae</i> Silva, 1979 (Crustacea: Mysidacea)	

5.2.2.1 - Organismos aquáticos mais utilizados em ensaios ecotoxicológicos

Constituem-se organismos-teste utilizados em métodos de ensaios biológicos desde os anos 50 e 60 as bactérias *Pseudomonas putida* e a partir do final dos anos 70, as fotobactérias *Vibrio fischeri*, as algas *Scenedesmus subsicatus* e *Selenastrum capricornutum*, os microcrustáceos *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia* e peixes como *Danio rerio*, *Pimephales promelas*, *Leuciscus idus* ou *Poecilia reticulata*, dentre outros (KNIE e LOPES, 2004).

A Tabela 5.4 representa uma coletânea de organismos - teste que são utilizados em ensaios ecotoxicológicos de avaliação de efluentes industriais. Dentre estes organismos faz - se destaque aos que estão padronizados internacionalmente e no Brasil, além de serem os mais citados junto às referências pesquisadas, como as algas *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* e *Pseudokirchneriella subcaptata*, os microcrustáceos *Daphnia Similis*, *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia* e *Ceriodaphnia silvestrii*, os peixes *Danio rerio* e *Pimephales promelas* e a bactéria luminescente *Vibrio Fischeri*.

Tabela 5.4 - Coletânea de organismos–teste mais utilizados nos bioensaios para avaliação toxicológica de efluentes industriais.

Organismos – teste usados em bioensaios de toxicidade		
<i>Acanthocyclops robustus</i>	<i>Danio rerio</i>	<i>Placopecten magellanicus</i>
<i>Artemia salina</i>	<i>Daphnia ambígua</i>	<i>Poecilia reticulata</i>
<i>Asellus aquaticus</i>	<i>Daphnia magna</i>	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>
<i>Biomphalaria tenagophila</i>	<i>Daphnia pulex</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Brachionus calyciflorus</i>	<i>Daphnia similis</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Brachionus plicatilis</i>	<i>Daphnia spinulata</i>	<i>Scenedesmus quadricauda</i>
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Scenedesmus subspicatus</i>
<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	<i>Euglena gracilis</i>	<i>Selenastrum capricornutum</i>
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Gammarus pulex</i>	<i>Tetrahymena pyriformis</i>
<i>Chironomus riparius</i>	<i>Hyalella curvispina</i>	<i>Tetrahymena thermophila</i>
<i>Chlamydomonas reinhardi</i>	<i>Hydra oligactis</i>	<i>Thamnocephalus platyrus</i>
<i>Clorella sp</i>	<i>Lemna minor</i>	<i>Vibrio fisheri</i>
<i>Cnesterodon decemmaculatum</i>	<i>Onchorynchus mykiss</i>	<i>Vorticella sp</i>
<i>Coliformes e floco bacteriano</i>	<i>Oryzias latipes</i>	
<i>Crassostrea rhizophorae</i>	<i>Pimephales promelas</i>	

Fonte: adaptado de ANKLEY et. al. 2006; BRETANO, 2006; DI MARZIO et. al. 2005; LAITANO, et.al. 2006; FARRÉ et. al. 2004; FLOHR et.al. 2005; FRACÁCIO, 2006; GIRLING et.al. 2000; GUERRA, 2000; GUILHERMINO et.al., 1999; HARMEL, 2004; HARMON et.al. 2003; HARTMANN, 2004; HEMMING et.al. 2002; LAHR et.al. 2003; LANZER et.al. 2007; LEBLOND et.al. 2001; MAGRIS et.al. 2007; MARTINS et.al. 2007; MENDONÇA et.al. 2007; MOUNT et.al. 2000; MORRALL et.al. 2003; NETO, 2000; PANE et.al. 2003; PASCOE et.al. 2000; PEREIRA et.al. 2000; RADIX et.al. 2000; SARAQUINOS et.al. 1998; SCHMITT et.al. 2005; SPONZA, 2002; TAKENAKA et.al. 2007; TOTHILL et.al. 1996; VILLEGAS et.al. 1997; ZHA et.al. 2006

De acordo com nível trófico algumas espécies são mais usadas em testes de toxicidade, dentre estas se destacam:

- Algas de água doce: *Chlorella vulgaris*; *Scenedesmus quadricauda*; *Scenedesmus subspicatus*; *Pseudokirchnerilla subcapitata*.
- Algas de água marinha: *Phaeodactylum tricornutum*; *Asterionella japonica*; *Dunaliella tertiolecta*; *Champia parvula*.
- Microcrustáceos de água doce: *Daphnia magna*; *Daphnia similis*; *Ceriodaphnia dubia*; *Hyalella azteca*; *Hyalella meinerti*.
- Microcrustáceos de água marinha: *Mysidopsis Bahia*; *Mysidopsis juniae*; *Leptocheirus plumulosus*; *Tiburonella viscana*; *Artemia salina*.
- Moluscos de água marinha: *Mytilus edulis*; *Crassostrea rhizophorae*.
- Equinodermos: *Arbacia lixula*; *Arbacia punctulata*; *Lytechinus variegatus*;
- Peixes de água doce: *Pimephales promelas*; *Danio rerio*; *Poecilia reticulata*; *Oncorhynchus mykiss*; *Lepomis macrochirus*.
- Peixes de água marinha: *Menidia beryllina*; *Menidia menidia*; *Cyprinodon variegatus*.
- Insetos de água doce: *Chironomus sp*; *Hexagenia sp*.
- Bactérias de água doce: *Spirillum volutans*; *Pseudomonas fluorescens*. *Salmonella typhimurium*.
- Bactérias de água marinha: *Vibrio fischeri* (anteriormente denominada *Photobacterium phosphoreum*).

5.3 - Métodos de ensaio com organismos aquáticos mais utilizados em testes de avaliação de toxicidade de efluentes

5.3.1 - Avaliação de toxicidade para algas

As algas em um ecossistema aquático fazem parte do grupo de produtores primários, os seja, são à base do ciclo de vida aquático. Participam da manutenção do equilíbrio destes ambientes através de suas funções em ciclagem de nutrientes dos ciclos biogeoquímicos, em especial nos do carbono, oxigênio, nitrogênio, fósforo e silício. Também fazem parte da dieta de vários outros tipos de organismos, tanto aquáticos quanto terrestres.

5.3.1.1 - Teste de inibição de crescimento algal para *Chlorella vulgaris* (toxicidade aguda)

O objetivo deste método é avaliar a toxicidade de agentes químicos sobre o crescimento de cultura mono específica de algas.

Este método consiste na exposição de uma cultura de uma espécie específica de alga a várias concentrações do agente químico, por um período de exposição de 72 horas, nas condições prescritas no método. Tal procedimento permite determinar a concentração efetiva inicial média – CE (I)₅₀, 72h da substância teste.

O organismo - teste, em geral, utilizado neste método de ensaio é a *Chlorella vulgaris*, uma espécie de alga verde mantida em meio L.C. Oligo, em culturas axênicas¹ e condições controladas de temperatura e luminosidade.

5.3.1.2 - Teste toxicidade crônica por método de ensaio com algas (*Chlorophyceae*)

Este teste constitui um ensaio para a avaliação da toxicidade crônica de amostras de efluentes líquidos, águas continentais superficiais ou subterrâneas e substâncias químicas solúveis ou dispersas em águas para as microalgas *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* e *Pseudokirchneriella subcaptata*, anteriormente denominada de *Selenastrum capricornutum*.

Este método permite também determinar se a amostra exerce um efeito algicida ou algistático sobre as células.

O método de ensaio biológico consiste na exposição de organismos-teste a várias diluições da amostra, por um período de 96h. O efeito tóxico é determinado pela inibição do crescimento

¹ Cultura axênica: constituída por uma única espécie de microrganismo, independente do número de indivíduos, num ambiente livre de outros microrganismos (não implica em pureza genética).

da biomassa de algas nos recipientes - teste comparado com o controle, sob as mesmas condições de ensaio.

5.3.1.3 - Teste de inibição do crescimento e da fluorescência de *Scenedesmus subspicatus*

Este ensaio é de natureza crônica. Nele o efeito tóxico é determinado a partir da comparação da reprodução das algas nas diluições-teste em relação ao controle onde não há presença da amostra.

O método de ensaio biológico consiste na exposição de uma suspensão com densidade conhecida do organismo-teste, juntamente com um meio nutriente, a diversas diluições da amostra, por um período de 96h sob condições definidas.

O efeito observado é a redução da fluorescência das algas sob presença da substância teste, efluente diluído. Assim, é possível determinar a concentração efetiva inicial média-CE (I)₅₀, 96h em que a substância teste impede o desenvolvimento das algas.

5.3.2 - Avaliação de toxicidade para microcrustáceos

Microcrustáceos aqui citados são organismos planctônicos de água doce e salgada. Atuam como consumidores primários entre os metazoários, alimentando se por filtração de material orgânico particulado, principalmente algas unicelulares.

5.3.2.1 - Teste de inibição da capacidade natatória de *Daphnia magna*

Este ensaio apresenta se como teste de toxicidade aguda.

O método de ensaio consiste na exposição de indivíduos jovens do organismo-teste por um período de 24h a 48h a várias diluições de uma amostra. O efeito tóxico é dado a partir da verificação de efeito danoso para a capacidade natatória dos organismos, mobilidade.

5.3.2.2 - Teste de toxicidade aguda para *Daphnia similis*

O objetivo deste método de teste é avaliar a toxicidade aguda de agentes químicos para o microcrustáceo *Daphnia similis*.

Este método consiste na exposição de indivíduos jovens de *Daphnia similis* a várias concentrações do agente químico, por um período de 48 horas, nas condições prescritas. Tal procedimento permite determinar a concentração efetiva inicial média-CE₅₀, 48h, da substância teste.

Adota-se como CE_{50} , 48h, a concentração nominal do agente químico no início do teste, que causa efeito agudo (imobilidade) a 50% dos organismos em 48 horas de exposição, nas condições teste. Neste ensaio observa-se a motilidade dos organismos.

5.3.2.3 - Teste de toxicidade crônica para *Daphnia similis*

O objetivo deste teste é avaliar a toxicidade crônica de agentes químicos, durante a exposição de uma geração de *Daphnia similis* a diferentes concentrações das substâncias-teste.

Este método consiste na exposição de organismos jovens de *Daphnia similis* a várias concentrações do agente químico, por um período de 21 dias de exposição. Durante esse tempo avalia-se os efeitos da substância teste sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução dos organismos teste.

5.3.2.4 - Teste de avaliação da toxicidade crônica para *Ceriodaphnia dubia*

O objetivo deste método é avaliar a toxicidade crônica de agentes químicos à *Ceriodaphnia dubia*.

Sua fundamentação se dá a partir da exposição de fêmeas de *Ceriodaphnia dubia* a várias concentrações da substância em estudo, por sete dias, em condições definidas de teste. Ao término deste período determina-se o número médio de jovens produzidos partenogenicamente, por fêmea, e o número de fêmeas adultas sobreviventes. Os resultados incluem os efeitos cinéticos, antagônicos e aditivos de todos os componentes físicos, químicos e biológicos que afetam adversamente as funções fisiológicas e bioquímicas dos organismos testes.

Adota-se CENO como a concentração de efeito não observado, ou seja, é a maior concentração nominal do agente tóxico que não causa efeito deletério estatisticamente significativo na sobrevivência e reprodução dos organismos, em sete dias de exposição, nas condições de teste; e CEO como a menor concentração nominal do agente tóxico que causa efeito deletério, estatisticamente significativo, na sobrevivência e reprodução dos organismos, em sete dias de exposição, nas condições de teste.

A média geométrica dos valores de CENO e de CEO é chamada de valor crônico (VC).

5.3.3 - Avaliação de toxicidade para peixes

Os peixes são animais vertebrados, aquáticos de água doce e salgada que representam consumidores de ordens diversas (primários secundários e terciários).

Os ensaios com peixes como organismos-teste visam em geral compreender como um toxicante afeta organismos de maior grau de estruturação como os vertebrados e como estas alterações podem afetar ciclos mais complexos de bioconcentração, biomagnificação bioacumulação ao longo de ecossistemas aquáticos.

Freqüentemente peixes são utilizados como indicadores ambientais por serem organismos muito estudados, por se desenvolverem bem em cultivos de laboratório e serem de fácil observação.

5.3.3.1 - Testes de avaliação de toxicidade aguda para peixes

O objetivo deste teste é avaliar a toxicidade aguda de agentes químicos para espécies de peixes.

Este método consiste na exposição de peixes a várias concentrações do agente químico, em um sistema de fluxo contínuo, por um período de 96 horas de exposição, nas condições prescritas. Tal procedimento permite calcular a concentração letal inicial média, CL (I)₅₀, 96h da substância teste.

Os organismos testes mais freqüentemente utilizados são espécies autóctones pertencentes à família *Characidae*; as espécies *Pimephales promelas* e *Danio rerio*, *Brachydanio rerio* da família *Cyprinidae* e a espécie *Poecilia reticulata* da família *Poeciliidae*.

5.3.3.2 - Teste de avaliação da toxicidade crônica para peixes

O objetivo deste teste é avaliar a toxicidade crônica de agentes químicos durante os estágios larvais de peixes.

Este método consiste na exposição de larvas de peixes recém eclodidas a várias concentrações do agente tóxico, em sistemas de fluxo contínuo, por um período de 7 a 28 dias de exposição. No término deste período avaliam se os efeitos deletérios da substância - teste à sobrevivência e ou crescimento dos organismos-teste.

Em geral faz-se a utilização de organismos testes pertencentes às espécies *Pimephales promelas* e *Danio rerio*, *Brachydanio rerio*.

5.3.3.3 - Teste de avaliação da bioconcentração em peixes

O objetivo deste teste é avaliar o grau de bioconcentração de agentes químicos em peixes.

Este método consiste na exposição de espécies de peixes autóctones a diferentes concentrações da substância teste durante certo período de tempo. O sistema de exposição pode ser estático, sem renovação do meio, semi-estático; renovação periódica do meio, ou de fluxo contínuo, dependendo das características químicas da substância teste em estudo.

Intervalos regulares de amostras de água e de organismos testes devem ser coletados para compartilhar a assimilação da substância pelo organismo teste até a sua acumulação máxima, que é atingida no estado de equilíbrio. Após esta fase, os organismos teste devem ser transferidos para uma água de boa qualidade, isenta da substância teste, para avaliação do grau de depuração da substância teste bioacumulada.

A partir destes dados é calculado o fator de bioacumulação no estado de equilíbrio e as constantes de assimilação e depuração do agente em estudo.

Entende-se por bioconcentração o aumento da concentração do agente químico no organismo vivo em relação à concentração do agente químico na água; já a assimilação, é o processo de absorção do agente químico pelo organismo teste. E depuração é o processo de eliminação do agente químico do organismo teste para o meio.

O fator de bioconcentração é determinado a partir da razão entre a concentração de substância teste no organismo, C_p , e a concentração da mesma na água, C_a .

Estado de equilíbrio é a condição na qual a concentração da substância teste no organismo teste é constante em relação ao tempo de exposição.

A este método se aplica as espécies de peixes de águas continentais e marinhas. No Brasil faz-se a recomendação da utilização de espécies autóctones da família Characidae por ser esta representante de ambientes aquáticos de todo o país (ABNT, 2004b; CETESB, 2006).

5.3.4 - Avaliação de toxicidade para bactérias

Bactérias utilizadas como organismos-teste podem ser agrupadas com decompositores dentro da cadeia trófica de ecossistemas aquáticos. Atuam na degradação de substâncias orgânicas resultantes de organismos mortos ou de seus metabólitos em substâncias mais simples, de forma que estas possam ser facilmente reabsorvidas por organismos produtores e também pelos consumidores do tipo filtradores.

Por esta razão tornam-se bons indicadores da qualidade ambiental já que um poluente ambiental, mesmo em concentrações baixas, pode ser identificado por estes organismos e com respostas em um curto intervalo de tempo.

5.3.4.1 - Teste de inibição de bioluminescência de bactérias

O ensaio biológico de inibição de bioluminescência de bactérias é um teste de inibição metabólica que utiliza uma suspensão padronizada de bactérias luminescentes como organismo-teste sob condições padronizadas. Esta metodologia de teste proporciona um rápido, confiável e conveniente meio de determinar a toxicidade aguda.

O método de ensaio consiste na exposição de bactérias bioluminescentes vivas, *Vibrio fischeri* (anteriormente denominadas *Photobacterium phosphoreum*), a uma amostra teste por um período de 15 min à 2h. O efeito tóxico é mensurado pela medição comparativa de emissão de luz de bactérias reidratadas e liofilizado depois da exposição a uma série de diluições específicas de uma amostra e compara-se com a luz emitida de um controle branco (p.e, células bacterianas em suspensão em diluente apenas).

O organismo-teste (*Vibrio fischeri*) e equipamentos de método de ensaio encontram-se disponíveis comercialmente.

O teste de bioluminescência bacteriana tem sido validado para uma variedade de aplicações ambientais incluindo-se monitoramento de efluente, teste de águas subterrâneas, teste de sedimentos, teste de resíduos perigosos e avaliação de eficiência de procedimentos de bioremediação e em geral em processos de biomonitoramento.

5.3.4.2 - Teste de citotoxicidade (Teste de Ames)

O objetivo do método de ensaio biológico conhecido como teste de citotoxicidade ou teste de Ames é a detecção de efeitos tóxicos crônicos de um poluente ambiental sobre os organismos vivos expostos aos mesmos.

O método de ensaio consiste na exposição do organismo-teste, *Salmonella typhimurium* (TA1535; TA1537 ou TA97a ou TA97; TA98; e TA100), a diluições da amostra teste por um período de 2 a 3 dias.

O efeito tóxico pode ser detectado por uma redução no número de colônias, um clareamento ou por uma diminuição do halo de fundo, ou pelo grau de sobrevivência de culturas tratadas.

5.3.4.3 - Teste de genotoxicidade (*Umu teste*)

O *Umu teste* é baseado no uso da bactéria geneticamente projetada *Salmonella typhimurium* Ta 1535 pSK1002 (gram - negativo, enterobacteria anaeróbicas facultativas).

O método de ensaio consiste na exposição do organismo - teste a uma amostra por um período de 30h (1dia de preparo e 6h de exposição).

O efeito tóxico é mensurado pela medição da atividade de β -galactose nas culturas de teste comparadas com o controle.

5.4 - Análises de métodos de ensaios empregados na avaliação ecotoxicológica de efluentes industriais

Métodos de ensaio biológicos são aplicáveis aos requerimentos de monitoramento rotineiro bem como aos de pesquisas em efluentes industriais através da aplicação de testes de toxicidade.

A uniformidade regular de procedimentos e a precisão de dados são essenciais para a validação de resultados.

O uso de métodos padronizados anteriormente descritos visa garantir uniformidade adequada, reprodutibilidade, e em geral, utilidade de resultados sem demasiada interferência com a adaptação dos testes para as circunstâncias locais.

A garantia de qualidade dos procedimentos para testes de toxicidade inclui todos os aspectos do teste que afetam a qualidade do dado. Estas incluem a obtenção de amostras e manuseio, a fonte e a condição dos organismos teste, ao desempenho de testes de substâncias de referência, e testes de procedimentos. Garantia de qualidade ou diretrizes de controle de qualidade são disponíveis para teste de composto simples e em geral para práticas

laboratoriais e para avaliação de efluentes em manuais de diretrizes técnicas para condução de testes de toxicidade aguda e crônica de curta duração com efluentes.

Seja qual for o organismo teste selecionado estes devem pertencer a lotes homogêneos e de mesma idade, devendo ser mantidos em aclimatação por uma semana antes do início do teste, nas mesmas condições de água e temperatura a serem utilizadas no experimento. A alimentação deve ser interrompida 24 horas antes do início do teste. Os organismos devem estar livres de doenças ou malformações, não devendo receber tratamento contra doenças durante o teste ou nas duas semanas anteriores ao mesmo.

Os métodos de ensaios apresentados representam à base de testes toxicológicos empregados na investigação de efluentes industriais, visando à regulamentação de parâmetros de qualidade das águas e do lançamento de efluentes sem que os mesmos causem danos aos ecossistemas aquáticos receptores.

Além disso, auxiliam no processo de pesquisa e de compreensão dos caminhos de transformação e biomagnificação de substâncias químicas ao longo da cadeia trófica e suas interações com a biocenose.

Dentre os métodos de ensaio apresentados, a Tabela 5.5 descreve um paralelo, comparação, entre os testes empregados para a avaliação ecotoxicológica de poluentes ambientais, tais como, efluentes industriais e seus sub-compostos de degradação presentes em ambientes aquáticos.

Os métodos de ensaio de toxicidade sejam testes agudos ou crônicos, para um efluente como um todo, seguem geralmente diversos protocolos padronizados que incluem uma descrição de uso e da cultura da espécie indicada como organismo-teste. Uma espécie é considerada um organismo-teste quando é facilmente cultivada em laboratório e existem extensivos dados disponíveis sobre a concentração de um toxicante e as respostas ao toxicante estão relacionadas para esta espécie.

Tabela 5.5: Comparação entre os métodos de ensaio mais usuais na avaliação toxicológica de efluentes industriais.

Organismo – teste	Tipo	Duração do teste	Variável de resposta	Expressão de resultados
Algas verdes unicelulares	Agudo	72h	Taxa de crescimento específica média	CENO
	Crônico	96h	Diminuição de fluorescência	CE50
	Crônico	96h	Efeito algicida ou algistático	CE50
Microcrustáceos - Daphnia sp	Agudo	48h	Mobilidade(capacidade nadatória) em 24h e 48h	CE50
	Agudo	48h	Imobilidade de 50% ao término de 48h	CE50
	Crônico	21 dias	Número de prole, mortalidade entre os parentais	CENO, Cex(50, 20, 10%)
Microcrustáceos - Ceriodaphnia sp	Crônico	7 dias	Número de prole paternogenica,sobrevivência de fêmeas adultas	CENO
Peixes	Aguda	96h	Mortalidade de 100% a menor concentração de efeito	CL50
	Crônico	7-10 dias	Aparencia e comportamneto anormal	CL50
	Crônico	14-28 dias	Mortalidade e aparencia e comportamento anormal	CENO
	Crônico	10-14 dias	Choque e sobrevivência, aparencia e comportamento anormal	CENO
Barctérias	Agudo	15 min - 2h	Diminuição de bioluminescência	CENO
	Crônico	2-3 dias	Redução do número de colônias, sintese de histamina	CENO, Cex(50, 20, 10%)
	Crônico	30h	Redução do número de colônias, sintese de β - galactose	CENO, Cex(50, 20, 10%)

5.5 - Efluentes industriais

De acordo com a Norma Brasileira-NBR 9800/87, denomina-se efluente industrial todo e qualquer despejo líquido proveniente do estabelecimento industrial, compreendendo emanções do processo industrial, as águas de refrigeração poluídas, as águas pluviais poluídas e o esgotamento doméstico.

Os efluentes industriais apresentam uma composição complexa. Suas características físicas, químicas e biológicas são variáveis segundo a tipologia industrial e de acordo com o tipo de processo operacional adotado na indústria; com o tipo de matéria-prima utilizada para a fabricação de seus produtos, com a adoção de sistemas de gerenciamento de produção (por exemplo: implantação de sistema de certificação como ISO 9000 e ISO 14001); ou com a implantação de sistemas de tratamento de efluentes e programas para a redução de resíduos e ou emissões (por exemplo: aplicação de programas de produção mais limpa, P+L). Deste modo, o efluente industrial pode apresentar - se como um líquido homogêneo ou como um líquido com sólidos em suspensão; com ou sem coloração; de natureza orgânica ou inorgânica; de temperatura elevada ou baixa; de caráter ácido ou de caráter básico.

A toxicidade é uma propriedade inerente do agente químico que produz efeitos danosos a um organismo quando este é exposto, durante certo tempo, a determinadas concentrações (BRASIL, 1987).

Toxicidade é a propriedade de um material produzir um efeito danoso sobre um sistema biológico, e o agente que produz tal efeito biológico é denominado de tóxico.

Tóxicos são poluentes ambientais, entram no meio ambiente por uma variedade de rotas de muitas fontes diversas. Os poluentes ambientais introduzidos no meio ambiente podem vir de duas fontes básicas: fontes pontuais e fontes não pontuais.

Descargas de fontes pontuais incluem despejo de esgotos, efluentes industriais, de locais de disposição de resíduos perigosos, e derrames acidentais. Descargas pontuais são geralmente fáceis de identificar em termos de tipo, o modo de lançamento, e o total equivalente de materiais lançados. Em contraste, descargas não pontuais são muito difíceis de caracterizar. Estas incluem materiais lançados por emissões atmosféricas, escoamento superficial agrícola, solos contaminados e sedimentos aquáticos, e escoamentos superficiais urbanos como áreas de estacionamento e residenciais. Na maioria das situações, descargas de fontes não pontuais são compostas por misturas de materiais complexos.

Neste trabalho de investigação adotou-se como efluente industrial os líquidos provenientes de instalações industriais propriamente ditas, as águas residuárias municipais que recebem efluentes industriais tratados ou não; as águas de escoamento superficiais urbanas ou agrícolas; o lixiviado produzido em aterros sanitários urbanos ou industriais; as águas de drenagem de áreas mineradas e de preenchimento de minas e caves; as soluções lixiviadas de compostos orgânicos persistentes, e as amostras de água de corpos receptores e efluentes industriais.

Entre as determinações mais comuns para se caracterizar os efluentes industriais destacam-se as características físicas (temperatura, cor, turbidez, sólidos, etc.); as características químicas (potencial hidrogeniônico, pH; alcalinidade; acidez; dureza; teor de matéria orgânica; presença de metais, etc.) e as características biológicas (presença de microrganismo como bactérias, protozoários, vírus; toxicidade, etc.).

A caracterização biológica de um efluente a partir da presença ou ausência de toxicidade a organismos aquáticos é uma prática regulamentada na Europa e em países como o Canadá e os Estados Unidos da América e torna-se cada vez mais usual no Brasil.

Durante este estudo verificou-se que esta prática aplica-se aos mais diversos tipos de efluentes industriais e com grupos distintos de organismos-teste.

Dentre a bibliografia pesquisada destacam-se as seguintes tipologias industriais:

- Mineira e metalúrgica;
- Petroquímica;
- Têxtil;
- Papel e celulose;
- Frigorífica;
- Curtumeira;

Além destas tipologias industriais, merecem destaque os efluentes de estações de tratamento de águas residuárias municipais e efluentes de origens diversas como as águas de escoamento superficial agrícola e de lixiviados de aterros sanitários urbanos ou industriais.

5.5.1 - Efluente de origem mineira e metalúrgica

A indústria de atividade mineira e metalúrgica apresenta efluentes complexos e variáveis de acordo com o tipo de matéria a ser explorada, beneficiada e manufaturada; fase em que se encontra a operação e o tipo de tratamento dado aos líquidos gerados ao longo do processo industrial.

Os efluentes oriundos de operações mineiras e metalúrgicas contêm elementos de toxicidade variada. Dentre os seus constituintes podem ser citados líquidos contendo sólidos em suspensão e uma gama variada de reagentes utilizados fundamentalmente nos processos de tratamento de minérios e posteriormente no processo metalúrgico dos concentrados. Além destes, as águas de drenagem ácida de lavras, constituem em grande parte lixiviados tóxicos por poderem apresentar metais tóxicos como, por exemplo, o cobre, níquel, chumbo, zinco, mercúrio, além do ferro e ânions, tais como, sulfato, fosfato, arseniato, telurato, fluoreto, molibdato, cianeto. É também comum o derrame de óleos, graxas, solventes orgânicos; sólidos coloidais, espumantes, surfactantes (RÚBIO E TESSELE, 2002).

5.5.2 - Efluentes de origem petroquímica

A indústria petroquímica envolve operações que vão desde a extração do petróleo até o refino, com a obtenção de diferentes produtos, tais como gás liquefeito de petróleo (GLP), gasolina, óleo diesel, nafta petroquímica, solventes, entre outros.

De acordo com o produto que se pretende obter ocorre uma variação na composição dos efluentes gerados na indústria petroquímica bem como com o tipo de instalação em que se processam tais operações.

Os efluentes da indústria petroquímica apresentam os mesmos constituintes tóxicos e de difícil degradação (recalcitrantes) que o petróleo e seus derivados. São caracterizados pela presença de altas concentrações de compostos orgânicos como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, hidrocarbonetos alifáticos, compostos organoclorados, surfactantes, metais tóxicos. Apresentam alta variação da demanda química de oxigênio (DQO), da alcalinidade, do potencial hidrogeniônico (pH) (HARTMANN, 2004).

5.5.3 - Efluentes de origem têxtil

No beneficiamento têxtil, que compreende as operações de purga, mercerização, desengomagem, alvejamento e tingimento, estão presentes as etapas do processo onde é

gerado o maior volume de efluentes líquidos, com elevada quantidade de carga contaminante dependendo do tipo de processo operacional, matéria prima utilizada e do produto final.

Os efluentes líquidos da indústria têxtil são tóxicos e geralmente não biodegradáveis e também resistentes à destruição por métodos de tratamento físico-químico.

A não biodegradabilidade dos efluentes têxteis se deve ao alto conteúdo de corantes, surfactantes e aditivos que geralmente são compostos orgânicos de estruturas complexas.

A composição média dos efluentes da indústria têxtil pode ser dada por: sólidos totais na faixa de 1000 a 1600 mg/l; DBO, de 200 a 600 mg/l; alcalinidade total de 300 a 900 mg/l; sólidos em suspensão, de 30 a 50 mg/l. Essa caracterização do efluente apenas define as ordens de grandeza das características dos efluentes, pois a composição do efluente é dependente do processo e do tipo de fibra processada (LEÃO et al, 2002; LEDAKOWICZ e GONERA, 1999; SOARES, 1998; FREITAS; 2002).

5.5.4 - Efluentes de origem de papel e celulose

A indústria de papel e celulose possui cinco etapas características para a obtenção de seus produtos: moagem da madeira (formação de cavacos), extração da polpa de celulose, branqueamento da polpa, lavagem da polpa e acabamento (formação da folha de papel e derivados). De acordo com o tipo de fábrica ou tipo de produto que se pretende obter estas etapas sofrem variações, portanto, alterando também o tipo de efluente produzido em cada uma das fases e na totalidade da instalação industrial.

Os efluentes da indústria de papel e celulose apresentam grande demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), compostos clorados (medidos como haletos orgânicos adsorvidos, AOX), sólidos suspensos (na maioria fibras), ácidos graxos, taninos, resinas ácidas, ligninas e seus derivados, compostos sulfurados, fenóis, dioxinas, furanos, etc. (NETO, 2002).

5.5.5 - Efluentes de origem frigorífica

A indústria frigorífica ao longo de seu processamento produz grandes volumes de efluentes gerados a partir da lavagem de carcaças, remoção de peles, pêlos, penas; evisceração além daqueles gerados pela higienização de equipamentos e utensílios. Além disso, os efluentes sofrem alterações de sua formação a partir da concepção de planta industrial como a

utilização de recirculação de águas e tipos de tratamento dado aos efluentes gerados em cada etapa do processo produtivo.

Os efluentes da indústria frigorífica são caracterizados por uma variedade de componentes orgânicos biodegradáveis, primariamente gorduras e proteínas, presentes tanto na forma particulada quanto dissolvida, fezes, e podem conter, ainda, uma variedade de elementos minerais presentes na água utilizada no processamento, do sistema de abastecimento e também oriundos dos equipamentos utilizados no processo como cobre, molibdênio, níquel, titânio e vanádio. Por seu alto teor de proteína, a qual é responsável pela alta concentração de nutrientes, principalmente nitrogênio, em suas diferentes formas, apresenta altas concentrações de amônia (TEIXEIRA, 2006).

5.5.6 - Efluentes de origem curtumeira

A indústria curtumeira não apresenta uma uniformidade de processo, mas uma seqüência de fases para a obtenção de couros e peles pode ser identificada como característica no setor. Estas fases são descritas como cura ou conservação; remolho; caleiro; desencalagem; purga; piquelagem; curtimento; e pós-curtimento. Deste modo os efluentes gerados nesta tipologia industrial sofrem grandes variações.

Os efluentes da indústria curtumeira, em geral, são caracterizados pela alta carga de matéria orgânica e inorgânica, originadas das peles e dos produtos químicos adicionados durante o processo de curtimento, apresentam elevada demanda química de oxigênio-DQO. Dentre os compostos orgânicos destaca se a presença dos taninos, e quanto aos inorgânicos à presença da alta concentração de amônia, sulfatos, sulfetos e cromo (SCHRANK, 2003).

5.5.7 - Efluentes de origem de lixiviados de aterros sanitários urbanos ou industriais

Um aterro sanitário é uma obra de engenharia que utiliza técnicas de disposição final de resíduos sólidos urbanos ou industriais no solo, através de confinamento em camadas cobertas com material inerte, visando evitar danos ou riscos à saúde e à segurança, minimizando os impactos ambientais.

Os efluentes líquidos gerados em aterros sanitários são constituídos por águas de chuvas que percolam o maciço de resíduos, o líquido gerado pela degradação dos resíduos aterrados por processos físicos, químicos e biológicos, o qual se denomina de chorume. O lixiviado de aterros sanitários é constituído por águas de chuvas que percolaram o maciço e o chorume.

Apresenta elevada carga orgânica, substâncias tóxicas e recalcitrantes, além de alta demanda química de oxigênio (DQO) e de amônia (BRETANO, 2006).

5.5.8 - Efluentes de origem de escoamento superficial agrícola

O escoamento superficial agrícola é constituído pelas águas de chuvas que lixiviam as áreas agrícolas, pelas águas residuárias provenientes da aplicação de insumos e defensivos agrícolas e rega e irrigação de culturas.

Os efluentes gerados por escoamento superficial agrícola são ricos em nutrientes, compostos fenólicos, compostos orgânicos persistentes, sais, etc.

5.6 - Avaliação da toxicidade de efluentes industriais

A partir dos efluentes selecionados destaca se a utilização de métodos de ensaio biológicos com microcrustáceos e com bactérias bioluminescentes como os mais usuais, seguido pelo predomínio de ensaios com organismos-testes já descritos pelas normas técnicas e instruções normativas padronizadas.

A Tabela 5.6 apresenta a relação mais próxima entre organismos-testes, o método de ensaio e tipologia industrial a que foram analisados os efluentes quanto à capacidade de toxicidade, seja ela aguda e ou crônica, a teratogenicidade e a mutagenicidade por parte dos compostos e subprodutos da degradação dos mesmos.

Já a Tabela 5.7 traz uma relação de compostos químicos ou íons metálicos que constituem frequentemente, efluentes industriais e os métodos de ensaios e organismos-testes com os quais foram submetidos para a realização de avaliação toxicológica.

Tabela 5.6: Lista de tipologias industriais e métodos de ensaios aplicados à avaliação de toxicidade dos efluentes industriais.

Tipologias Industriais	Método de Ensaio	Organismo – teste	Referência
Ind. Mineira	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Pane et.al.; 2003
	Toxicidade Crônica	<i>Selenastrum capricornutum</i>	LeBlond,J.B. e Duffy,L.K.2001
	Toxicidade Crônica	<i>Placopecten magellanicus</i>	Cranford et.al.; 1999
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia magna</i>	Pereira et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Pereira et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Vibrio fisheri</i>	LeBlond,J.B. e Duffy,L.K.2001
Ind. Metalúrgica	Toxicidade Aguda	<i>Clorella sp</i>	Sponza, D.T.; 2002
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia similis</i>	Nieto,R.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Villegas et.al.; 1997
	Toxicidade Aguda	<i>Poecilia reticulata</i>	Sponza, D.T.; 2002
	Toxicidade Aguda	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Sponza, D.T.; 2002
	Toxicidade Crônica	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Randix et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Brachionus plicatilis</i>	Guerra et.al, 2001
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia magna</i>	Randix et.al.; 2000
Ind. Petroquímica	Toxicidade Crônica	<i>Vibrio fisheri</i>	Randix et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Flohr et.al.; 2005
	Toxicidade Crônica	<i>Selenastrum capricornutum</i>	Hartmann,C.C.; 2004
	Toxicidade Crônica	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Hartmann,C.C.; 2004
	Toxicidade Crônica	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Damato,M. e Sobrinho, P.A.; 1996
	Toxicidade Crônica	<i>Pimephales promelas</i>	Hartmann,C.C.; 2004
Toxicidade Crônica	<i>Vibrio fisheri</i>	Dalzell et.al.; 2002	

Continua...

Continuação...

Tipologias Industriais	Método de Ensaio	Organismo – teste	Referência
Ind. Têxtil	Toxicidade Aguda	<i>Vorticella sp</i>	Sponza, D.T.; 2002
	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Clorella sp</i>	Sponza, D.T.; 2002
	Toxicidade Aguda	<i>Hyalella curvispina</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Villegas et.al.; 1997
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia similis</i>	Nieto, R.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia spinulata</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Poecilia reticulata</i>	Sponza, D.T.; 2002
	Toxicidade Aguda	<i>Cnesterodon decemmaculatum</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Sponza, D.T.; 2002
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Lanzer et.al.; 2007
	Toxicidade Aguda	<i>Vibrio fisheri</i>	Wang et.al.; 2002
	Toxicidade Crônica	<i>Biomphalaria tenagophila</i>	Lanzer et.al.; 2007
	Ind. Papel e Celulose	Toxicidade Aguda	<i>Selenastrum capricornutum</i>
Toxicidade Aguda		<i>Lemna minor</i>	Mendonça et.al.; 2007
Toxicidade Aguda		<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Sarakinos e Rasmussen; 1998
Toxicidade Aguda		<i>Daphnia similis</i>	Nieto, R.; 2000
Toxicidade Aguda		<i>Pimephales promelas</i>	Sarakinos e Rasmussen; 1998
Toxicidade Aguda		<i>Vibrio fisheri</i>	Faré et.al.; 2004
Toxicidade Crônica		<i>Selenastrum capricornutum</i>	Sarakinos e Rasmussen; 1998
Toxicidade Crônica		<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Sarakinos e Rasmussen; 1998
Toxicidade Crônica		<i>Pimephales promelas</i>	Sarakinos e Rasmussen; 1998
Toxicidade Crônica		<i>Vibrio fisheri</i>	Mendonça et.al.; 2007
Toxicidade Crônica	<i>Vibrio fisheri</i>	Dalzell et.al.; 2002	

Continua...

Continuação...

Tipologias Industriais	Método de Ensaio	Organismo – teste	Referência
Ind. Frigorífica	Toxicidade Aguda	<i>Cnesterodon decemmaculatum</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia spinulata</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Hyalella curvispina</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Di Marzio et.al.; 2005
Ind. Curtumeira	Toxicidade Aguda	<i>Cnesterodon decemmaculatum</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia spinulata</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Hyalella curvispina</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia similis</i>	Nieto, R.; 2000
Ind. Alimentícia	Toxicidade Crônica	<i>Vibrio fisheri</i>	Dalzell et.al.; 2002
	Toxicidade Aguda	<i>Hyalella curvispina</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Villegas et.al.;1997
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia similis</i>	Nieto,R.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia spinulata</i>	Di Marzio et.al.; 2005
Ind. Laticínios	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Cnesterodon decemmaculatum</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia spinulata</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Hyalella curvispina</i>	Di Marzio et.al.; 2005
Ind. Purificação Enzimática	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Cnesterodon decemmaculatum</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia spinulata</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Hyalella curvispina</i>	Di Marzio et.al.; 2005
Ind. Purificação Enzimática	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Di Marzio et.al.; 2005

Continua...

Continuação...

Tipologias Industriais	Método de Ensaio	Organismo - teste	Referência
Ind. Química	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia smilis</i>	Nieto, R.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia spinulata</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Hyalella curvispina</i>	Di Marzio et.al.; 2005
	Toxicidade Aguda	<i>Vibrio fisheri</i>	Guerra,R.;2001
	Toxicidade Aguda	<i>Cnesterodon decemmaculatum</i>	Di Marzio et.al.; 2005
Farmaquímicos	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Wollenberger et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Villegas et.al.; 1997
	Toxicidade Crônica	<i>Vibrio fisheri</i>	Dalzell et.al.; 2002
Pintura automotiva e metalúrgica	Toxicidade Crônica	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Randrix et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia magna</i>	Randrix et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Randrix et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Vibrio fisheri</i>	Dalzell et.al.; 2002
Lixiviado de Aterro Sanitário	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Laitano, K.S e Matias,W.G.; 2006
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia magna</i>	Bretano,D.M.; 2006
	Toxicidade Crônica	<i>Vibrio fisheri</i>	Dalzell et.al.; 2002
Escoamento Superficial Agrícola	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Larh et.al.; 2003
	Toxicidade Aguda	<i>Vibrio fisheri</i>	Guerra, R.; 2001
	Toxicidade Aguda	<i>Vibrio fisheri</i>	Dizer et.al.; 2002
	Toxicidade Crônica	<i>Onchorynchus myskiss</i>	Dizer et.al.; 2002
	Toxicidade Crônica	<i>Salmonella typhimurium</i>	Dizer et.al.; 2002

Conclusão.

Tabela 5.7: Relação de compostos químicos e íons metálicos presentes em efluentes industriais e tipos de métodos de ensaio utilizados para sua detecção.

Tipo Composto/Íon	Método de Ensaio	Organismo - teste	Referência
Lindano	Toxicidade Aguda	<i>Chlamydomonas reinhardi</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Eulena gracilis</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Tetrahymena thermophila</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Gammarus pulex</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Chironomus riparius</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Chlamydomonas reinhardi</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Eulena gracilis</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Tetrahymena thermophila</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Gammarus pulex</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Gammarus pulex</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Chironomus riparius</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Chironomus riparius</i>	Girling et.al.; 2000

Continua...

Continuação...

Tipo de Composto/Íon	Método de Ensaio	Organismo – teste	Referência
Atrazina	Toxicidade Aguda	<i>Chlamydomonas reinhardi</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Eulena gracilis</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Tetrahymena thermophila</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Gammarus pulex</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Chironomus riparius</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Chlamydomonas reinhardi</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Eulena gracilis</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Tetrahymena thermophila</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Gammarus pulex</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Gammarus pulex</i>	Pascoe et.al.; 2000
Toxicidade Crônica	<i>Chironomus riparius</i>	Pascoe et.al.; 2000	
Toxicidade Crônica	<i>Chironomus riparius</i>	Girling et.al.; 2000	

Continua...

Continuação...

Tipo de Composto/Íon	Método de Ensaio	Organismo – teste	Referência
Cobre	Toxicidade Aguda	<i>Chlamydomonas reinhardi</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Eulena gracilis</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Tetrahymena thermophila</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Gammarus pulex</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Chironomus riparius</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Chlamydomonas reinhardi</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Eulena gracilis</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Tetrahymena thermophila</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Gammarus pulex</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Gammarus pulex</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Chironomus riparius</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Chironomus riparius</i>	Girling et.al.; 2000

Continua...

Continuação...

Tipo de Composto/Íon	Método de Ensaio	Organismo - teste	Referência
3-4 - Dicloroanilina(DCA)	Toxicidade Aguda	<i>Chlamydomonas reinhardi</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Eulena gracilis</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Tetrahymena thermophila</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Gammarus pulex</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Chironomus riparius</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Chlamydomonas reinhardi</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Eulena gracilis</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Tetrahymena thermophila</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Gammarus pulex</i>	Girling et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Gammarus pulex</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia magna</i>	Pascoe et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia magna</i>	Guilhermino et.al.; 1999
Toxicidade Crônica	<i>Chironomus riparius</i>	Pascoe et.al.; 2000	
Toxicidade Crônica	<i>Chironomus riparius</i>	Girling et.al.; 2000	

Continua...

Continuação...

Tipo de Composto/Íon	Método de Ensaio	Organismo – teste	Referência
Compostos Fenólicos	Toxicidade Aguda	<i>Artémia salina</i>	Guerra,R.; 2001
	Toxicidade Aguda	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Larh et.al.; 2003
	Toxicidade Aguda	<i>Brachionus plicatilis</i>	Guerra,R.; 2001
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Larh et.al.; 2003
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Guerra,R.; 2001
	Toxicidade Aguda	<i>Thamnocephalus platyurus</i>	Larh et.al.; 2003
	Toxicidade Aguda	<i>Vibrio fisheri</i>	Guerra,R.; 2001
	Toxicidade Crônica	<i>Chironomus riparius</i>	Larh et.al.; 2003
	Toxicidade Crônica	<i>Vibrio fisheri</i>	Larh et.al.; 2003
Surfactantes	Toxicidade Aguda	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Harmon et.al.; 2003
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia ambigua</i>	Harmon et.al.; 2003
	Toxicidade Crônica	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Randrix et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Randrix et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia magna</i>	Randrix et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Vibrio fisheri</i>	Randrix et.al.; 2000
Pesticidas e Inseticidas	Toxicidade Aguda	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Lahr et.al.; 2003
	Toxicidade Aguda	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Harmon et.al.; 2003
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia ambigua</i>	Harmon et.al.; 2003
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Lahr et.al.; 2003
	Toxicidade Aguda	<i>Thamnocephalus platyurus</i>	Lahr et.al.; 2003
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia magna</i>	Wollenberger et.al.; 2000
	Toxicidade Aguda	<i>Poecilia reticulata</i>	Fracácio, R.; 2006
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia magna</i>	Lahr et.al.; 2003
	Toxicidade Crônica	<i>Chironomus riparius</i>	Lahr et.al.; 2003
	Toxicidade Crônica	<i>Dabio rerio</i>	Fracácio, R.; 2006

Continua...

Continuação...

Tipo de Composto/Íon	Método de Ensaio	Organismo – teste	Referência
Pesticidas e Inseticidas	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia magna</i>	Guilhermino et.al.; 1999
	Toxicidade Crônica	<i>Vibrio fischeri</i>	Lahr et.al.; 2003
Clorito de Sódio	Toxicidade Aguda	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Harmon et.al.; 2003
	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia ambigua</i>	Harmon et.al.; 2003
	Toxicidade Crônica	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Harmon et.al.; 2003
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia ambigua</i>	Harmon et.al.; 2003
	Toxicidade Crônica	<i>Pimephales promelas</i>	Cardoso, L. e De Luca, S.J.; 2004;
	Toxicidade Crônica	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Harmon et.al.; 2003
Sulfato de Cobre	Toxicidade Aguda	<i>Daphnia ambigua</i>	Harmon et.al.; 2003
	Toxicidade Crônica	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Harmon et.al.; 2003
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia ambigua</i>	Harmon et.al.; 2003
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia magna</i>	Larh et.al.; 2003
Cromo	Toxicidade Crônica	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Mount et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Danio rerio</i>	Fracácio, R.; 2006
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia magna</i>	Guilhermino et.al.; 1999
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia magna</i>	Mount et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Daphnia pulex</i>	Mount et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Pimephales promelas</i>	Mount et.al.; 2000
	Toxicidade Crônica	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Mount et.al.; 2000
Extrato de Cianobactérias	Toxicidade Aguda	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Takenaka et.al.; 2007
	Toxicidade Aguda	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	Takenaka et.al.; 2007
	Toxicidade Crônica	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Takenaka et.al.; 2007
	Toxicidade Crônica	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	Takenaka et.al.; 2007

Conclusão

Como pode ser observado através de estudo da Tabela 5.6 e Tabela 5.7, não há conformidade entre o universo acadêmico de qual seria o melhor método de ensaio a ser empregado para análise de misturas complexas como são os efluentes industriais e sim que a mesma deva ser feita a partir de uma observação de efeitos toxicológicos dos mesmos, em níveis crônicos, a pelo menos três tipos distintos de organismos-teste de referência, que, os ensaios, sejam replicáveis e se possível já padronizado.

Espécies diferentes de organismos aquáticos não são igualmente susceptíveis para a mesma substância química nem são os organismos igualmente susceptíveis através do ciclo de vida. Além disso, organismos da mesma espécie podem responder diferentemente ao mesmo nível de uma substância tóxica de tempos em tempos, mesmo quando todas as outras variáveis são mantidas constantes (AWWA, APHA, WEF, 2005).

Chapmann et al. (1990) determinaram a toxicidade crônica de efluentes de duas refinarias de petróleo para *Ceriodaphnia dubia* e para uma espécie de peixe, *Pimephales promelas*. Os autores constataram que a espécie de microcrustáceo é mais sensível que a espécie de peixe.

Sarakinos e Rasmussen (1998), desenvolveram estudos através da avaliação de toxicidade provocada por efluentes de origem da fabricação de papel e celulose a comunidade bentônica exposta aos mesmos. Testes crônicos foram realizados para algas (*Selenastrum capricornutum*), cladóceros (*Ceriodaphnia dubia*) e peixes (*Pimephales promelas*). Todos os testes de toxicidade demonstraram um potencial tóxico letal e sub-letal do efluente. Dentre estes a espécie mais sensível a toxicidade crônica do efluente testado foi *Ceriodaphnia dubia*.

Pascoe et.al. (2000) realizaram um estudo comparativo entre os testes de toxicidade de detecção de poluentes em águas doce e sua validação em mesocosmos de lagos e córregos. Neste trabalho foram investigados as ações do cobre, lindano (gama-hexaclorociclohexano), atrazina (2-cloro-4-etilamino-6 isopropilamino-S-triazina), DCA (3,4-dicloroanilina) como poluentes ambientais. Vários organismos foram submetidos a distintas metodologias de teste de toxicidade desde os convencionais que avaliam as espécies isoladamente até os mais elaborados como os que avaliam as interações entre suas espécies. Dos organismos-testes descritos nesta pesquisa a espécie *Brachionus calyciflorus* apresentou maior sensibilidade ao cobre, enquanto que para o lindano as larvas da espécie *Chironomus riparius* demonstrou se mais sensível. Para a atrazina o teste que melhor descreveu a toxicidade foi o ensaio com *Scenedesmus subspicatus* e para DCA o teste com *Daphnia magna*.

Um ecossistema aquático impactado por efluente de drenagem acida de minas foi escolhido como local de teste para o desenvolvimento de protocolo para bioensaios crônicos *in Situ* com cladóceros por Pereira et.al. (2000). Neste trabalho utilizou se dos microcrustáceos *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia magna* como organismos-teste. A espécie que demonstrou maior sensibilidade foi *Daphnia magna* tanto nos testes de coluna d água como nos de solubilização de sedimentos.

Radix et.al.(2000) publicaram um estudo comparativo de quatro testes crônicos de toxicidade usando algas (*Pseudokirneriella subcapitata*), bactérias (*Vibrio fischeri*) e invertebrados (*Daphnia magna* e *Brachionomus calyciflorus*) com compostos orgânicos e inorgânicos (metais, surfactantes e pesticidas). Nesta comparação as algas apareceram como a espécie mais sensível apesar de dos quatro testes apresentarem uma mesma ordem de magnitude. Os autores afirmam que a utilização de *Vibrio fischeri* (MICROTOX test) constitui se ainda razoavelmente imprecisos a detecção de toxicidade a organismos mais complexos, o que pode limitar o uso deste ensaio em algumas situações.

Através do programa de pesquisa de meio ambiente da comissão européia, Girling et.al.(2000) desenvolveram métodos de avaliação de toxicidade de compostos químicos e efluentes industriais a ecossistemas aquáticos. Neste estudo, quatro substâncias químicas de referência (Lindano, atrazina, 3-4 dicloroanilina e cobre) foram avaliadas toxicamente através dos ensaios biológicos com *Chlamidomonas reinhardi*, *Scenedesmus subspicatus*, *Euglena gracilis*, *Tetrahymena pyriformis*, *Brachionus calyciflorus*, *Gammarux pulex* e *Chironomus riparius*. Os resultados apontaram que o organismo mais sensível a ação do lindano e 3-4 dicloroanilina foram as larvas de *Chironomus riparius* e para a atrazina foi detectada em *Chlamidomonas reinhardi* seguida por *Scenedesmus subspicatus*. A espécie *Brachionus calyciflorus* apresentou maior sensibilidade ao cobre.

Já estudos feitos por Dalzell et.al. (2002) afirmam que o método de ensaio com bactéria bioluminescentes (*Vibrio fischeri*) como a ferramenta mais eficaz na detecção de poluentes em efluentes industriais tratados em sistemas de lodos ativados.

Porém os testes de toxicidade baseados na inibição da bioluminescência de *Vibrio fischeri* são usados freqüentemente, por que apresenta um organismo-teste bem conhecido, bem introduzido e normalizado. Além de oferecerem uma resposta efetiva rápida e de fácil manipulação (ARBUCKLE e ALLEMAN, 1992; TOUSSAINT et.al.1995; FARRÉ et.al., 2004).

O grupo de estudos do Laboratório de Toxicologia Ambiental (LABTOX) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) desenvolveu novos protocolos para a utilização da espécie *Daphnia magna*, como organismo-teste de detecção de toxicidade para resíduos sólidos, de lixiviados proveniente de aterros sanitários, e de efluentes tratados por reatores do tipo anaeróbico de fluxo ascendente (UASB) como teste alternativo e de grande eficiência e de resposta rápida em relação aos métodos de ensaio de toxicidade crônica padronizados pela ABNT com a espécie *Ceriodaphnia dubia* e complementar aos métodos físico-químicos para a avaliação de toxicidade de resíduos sólidos e efluentes industriais segundo os trabalhos de FINKLER, 2002; LAITANO, 2003, FLOHR et.al. 2005; FLORH, 2007; BRETANO, 2006; E LAITANO E MATIAS, 2006.

Dizer et.al.(2002) analisaram o potencial citotóxico e genotóxico conferida pelo despejo de diversas tipologias indústrias ao ecossistema aquático na Alemanha por bioensaios utilizando os organismos-teste *Vibrio fischeri*, *Salmonella typhimurium* e *Onchorynchus mykiss*. Segundo os autores o ensaio com bactérias *Salmonella typhimurium* constituíram se os mais sensíveis.

Lahr et.al.(2003) analisaram os bioensaios empregados rotineiramente na avaliação de toxicidade em sedimentos e de material particulado de copos hídricos receptores de efluentes industriais nos países baixos. Nestes estudos os organismos-teste selecionados foram à bactéria *Vibrio fischeri*, o rotífero *Brachionus calyciflorus* e o crustáceo *Thammocephalus platyurus* para teste agudo; e o crustáceo *Daphnia magna* e a larva de inseto *Chironomus riparius* para teste crônico. Os poluentes detectados nesta pesquisa foram compostos de hidrocarboneto polinucleares aromáticos (PAH), metais pesados (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Ni e Zn), pesticidas organoclorados (OCP: DDT e derivados, dialdrin e compostos relacionados), bifenilpoliclorados (PCB), óleo mineral contendo extratos orgânicos de hidrocarbonetos halogênados (EOx). Para os testes de toxicidade aguda a espécie *Thammocephalus platyurus* e nos testes crônicos a espécie *Daphnia magna* mostraram-se mais sensíveis à detecção de poluentes.

Hartmann (2004) realizou ensaios de toxicidade com três espécies de organismo-teste distintas, *Selenastrum capricornutum*, *Ceriodaphnia dubia* e *Pimephales promelas*, para um efluente da indústria petroquímica. Os ensaios de toxicidade crônica revelaram que o efluente conferia toxicidade, mesmo com a grande maioria dos parâmetros físicos e químicos analisados estando de acordo com os limites de lançamento de efluentes em corpos receptores. Dentre as espécies analisadas, *Selenastrum capricornutum* mostrou-se mais

sensível à detecção de poluentes, mas *Pimephales promelas* apresentou toxicidade em concentrações mais baixas, se comparado com os outros dois organismos.

Efluentes da indústria têxtil e as águas de um arroio poluído, corpo receptor de efluentes industriais e de águas residuárias municipais, foram avaliados quanto à toxicidade por Lanzer et.al. (2007) através de bioensaios com os organismos-teste *Biomphalaria tenagophila* e *Daphnia magna*. O estudo previa a comprovação da toxicidade crônica destes efluentes sobre a biota aquática. A comparação entre os dois ensaios demonstrou que o teste de desenvolvimento embrionário de *Biomphalaria tenagophila* mostrou - se mais sensível que o teste de reprodução de *Daphnia magna* na determinação da toxicidade crônica de misturas presentes em arroios poluídos por despejos domésticos e industriais. Já os ensaios de toxicidade ao corante *Remazol Brilliant Blue R* presente nos efluentes de origem têxtil, a espécie *Daphnia magna* mostrou se mais sensível.

O trabalho de investigação de Martins et.al. (2007) comparou o uso de bioensaios com os organismos-teste *Daphnia magna* e *Danio rerio* para a avaliação de toxicidade de compostos químicos e efluentes industriais a ecossistemas aquáticos. Os estudos concluíram que os dois bioindicadores apresentam uma sensibilidade especial a metais e pesticidas, porém que a espécie *Daphnia magna* apresentou maior sensibilidade a metais, pesticidas, compostos nitrogenados e solventes.

Amostras de efluentes de origem na indústria têxtil e na indústria metalúrgica foram estudadas por Sponza (2002) através de protocolos de detecção de toxicidade aguda por bioensaios. Neste estudo os organismos-teste escolhidos foram *Vorticella sp*; *Chlorella sp.*, *Poecilia reticulata*, e *Enterobacter aerogenes*. Todos os testes de toxicidade aguda com exceção para *Vorticella sp*, mostraram resultados positivos para efluentes da indústria têxtil e metalúrgica. A espécie mais sensível mostrou ser a bactéria *Enterobacter aerogenes* para ambas as tipologias industriais.

Existe claramente uma tendência a utilizar organismos-teste que estejam regulamentados e normalizados em detrimento da utilização de espécies autóctones.

Dentre os organismos-teste considerados mais frequentes nas pesquisas se destacam os cladóceros *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia*, seguidos pela bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri*. Não menos expressiva é a utilização de algas como *Pseudokirchneriella subcapitata* e de peixes como a espécie *Pimephales promelas*.

6 - CONCLUSÃO

Os ecossistemas aquáticos recebem uma grande variedade e quantidade de poluentes, sejam esses lançados no ar, no solo ou diretamente nos corpos de água, ocasionando em muitos casos impactos irreversíveis. A presença de poluentes em ambientes aquáticos leva a alteração de sua composição química, atingindo sua biota, proporcionando perda no habitat, na função natural, nos usos e serviços dos recursos hídricos; além de perda de beleza cênica e afetar a saúde humana.

No que tange aos recursos hídricos, em especial, nos países de baixa renda ou em desenvolvimento, o gerenciamento de resíduos e de águas residuárias demanda recursos muitas vezes escassos. Para tal, é necessário agregar esforços e neste sentido, o desenvolvimento de ensaios de curta duração, que visem identificar efeitos crônicos de substâncias químicas presentes em efluentes, vem contribuir ao mecanismo de gestão e sustentabilidade ambiental, uma vez que as análises físico-químicas de efluentes são laboriosas, de elevado custo e não são capazes de garantir que todos os compostos tóxicos relevantes sejam detectados.

Deste modo, o uso de bioensaios pode ser descrito como uma informação adicional à análise de toxicidade dos produtos das descargas de efluentes industriais.

Os métodos de ensaios biológicos são procedimentos de ação preventiva, e indispensável na estimativa de impactos ambientais, utilizados pelos órgãos competentes.

Não há unanimidade de qual seria o melhor tipo de organismo-teste para determinado efluente e sim, qual conjunto de testes deveria ser desenvolvido para assegurar que os componentes e subprodutos da degradação de efluentes causem o menor impacto negativo possível à biota aquática e por consequência ao ser humano.

As pesquisas mais recentes apresentam variações dos métodos de ensaios padronizados como uma tentativa de ampliar o grau de seguridade dos mesmos frente às composições da biota específica dos locais em que se pretende desenvolver determinado estudo.

Existe uma tendência para investigações sobre as possíveis ações degradantes de compostos orgânicos presentes em efluentes oriundos de estações de tratamento de esgotos, de águas de abastecimento e de lixiviados provenientes de aterros sanitários.

É notório que os métodos de ensaio que utilizam como organismos-teste as bactérias estão a cada dia mais aperfeiçoados e com maior precisão de respostas devido aos recentes avanços da microbiologia e da engenharia genética.

Por serem ensaios padronizados e internacionalmente descritos a mais tempo do que os demais, os testes que utilizam cladóceros como os daphnideos estão mais amplamente difundidos nas pesquisas e nas regulamentações que visam à análise de toxicidade de efluentes e substâncias químicas complexas.

Ainda não se conhecem todas as ações dos componentes complexos de efluentes industriais, visto que são muito diversificados segundo o processo fabril. Deste modo, o emprego de métodos de ensaio com organismos-teste é de fundamental importância em estudos de prevenção e controle da poluição oriunda do descarte de efluentes. Tais estudos auxiliam na projeção de impactos e na delimitação de medidas mitigadoras.

Além disso, testes ecotoxicológicos estão sendo utilizados no monitoramento dos efluentes para avaliar o tipo e a extensão que um sistema de tratamento de resíduos necessita para alcançar os limites ou requerimentos do controle de poluição aquática; a eficácia dos sistemas de tratamento aplicados aos efluentes; estimar o descarte permissivo de efluentes; a compilação dos parâmetros para a qualidade de águas e padrões de lançamento de efluentes.

7 - RECOMENDAÇÕES

Na avaliação toxicológica de efluentes industriais, os métodos químicos analíticos devem ser suplementados por testes biológicos. Um teste ecotoxicológico deve permitir a avaliação do “grau de periculosidade” de um efluente, isto é, diferenciar entre “levemente tóxico” e “excessivamente tóxico”.

Aos estudos que propõem a avaliação toxicológica de ecossistemas aquáticos pela ação conjunta ou isolada de um poluente ambiental recomenda-se que sejam realizados ensaios biológicos em diferentes níveis tróficos deste ecossistema.

Os métodos de ensaio biológico, sejam quais forem os organismos-teste, necessitam de um extenso e solidificado conhecimento acerca do espécime a ser analisado, de sua manutenção em condições laboratoriais e de campo.

Em relação ao tempo de resposta de um organismo-teste à presença ou ausência de ação toxicante de um efluente ou de composto químico, recomenda-se o emprego de ensaios com bactérias, pois estas, em geral, apresentam um tempo de duração de 30 minutos a 2 dias apenas.

Em relação a precisão da resposta de um organismo-teste para a detecção de toxicidade em efluentes industriais e ou de seus subcompostos esta é diretamente proporcional à segurança de execução do ensaio, do real conhecimento do comportamento normal da espécie e dos efeitos antagônicos destes poluentes na biota.

Em relação à sensibilidade, a toxicidade de efluentes industriais e compostos químicos complexos não há uma definição de teste padrão ou espécie individualmente descrita como a mais ou menos sensível a ação dos poluentes.

Os ensaios crônicos são preferidos aos ensaios agudos, pois descrevem situações de dano mais profundas no organismo-teste e por conseqüência os impactos que tal toxicante pode causar à biocenose em que este poluente estiver inserido.

Não é grande a diferença observada entre o Brasil e o restante do mundo quanto às espécies utilizadas nos testes ecotoxicológicos. Essa, porém, pode ser devido às diferenças quanto à biodiversidade de cada local, independentemente da localidade, é de extrema importância seguir rigorosamente todos os critérios de escolha da espécie teste. Sendo que a análise

conjunta de dados obtidos em bioensaios, as proporcionadas através das respostas populacionais, além das análises químicas de amostras ambientais, devem condizer no auxílio de uma previsão de impacto e/ou estabelecimento de limites de lançamento de dados produtos nos corpos receptores.

No entanto faz-se necessário o desenvolvimento de testes com organismos típicos da biocenose aquática brasileira afim de melhor descrever os cenários e possibilitar uma maior difusão dos testes de toxicidade aplicáveis a análise de efluentes industriais e a detecção de novos poluentes ambientais dispersos no meio ambiente.

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT, 1993a. Associação Brasileira de Normas técnicas. NBR12714. Ensaio de toxicidade aguda com peixes - Parte I - Sistema estático. 15p. 1993.
- ABNT, 1993b. Associação Brasileira de Normas técnicas. NBR12715. Ensaio de toxicidade aguda com peixes - Parte II - Sistema semi - estático. 15p. 1993.
- ABNT, 1993c. Associação Brasileira de Normas técnicas. NBR12716. Ensaio de toxicidade aguda com peixes - Parte III - Sistema de fluxo contínuo. 15p. 1993.
- ABNT, 2004a. Associação Brasileira de Normas técnicas. NBR12713. Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia spp* (Crustacea, Cladocera). 21p. 2004.
- ABNT, 2004b. Associação Brasileira de Normas técnicas. NBR15088. Toxicidade aguda - Método de ensaio com peixes. 19p. 2004.
- ABNT, 2005a. Associação Brasileira de Normas técnicas. NBR13343. Toxicidade crônica - Método de ensaio com *Ceriodaphnia spp* (Crustacea, Cladocera). 15p. 2005.
- ABNT, 2005b. Associação Brasileira de Normas técnicas. NBR 15308. Toxicidade aguda - Método de ensaio com misidáceos (Crustacea). 17p. 2005.
- ABNT, 2005c. Associação Brasileira de Normas técnicas. NBR12648. Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). 24p. 2005.
- ABNT, 2006. Associação Brasileira de Normas técnicas. NBR15350. Toxicidade crônica de curta duração - Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea). 2006.
- ANKLEY, G. T.; VILLENEUVE, D.L. The fathed minnow in aquatic toxicology: Past, present and future. *Aquatic Toxicology*, 78, pp. 91 – 102, 2006.
- APHA - American Public Health Association, AWWA - American Water Works Association and WEF - Water Environment Federation. *Standard Methods for the Examination the Water and Waste Water*. Washington DC. 21^oed. 2414p. 2005.
- ARAGÃO, M. A. e ARAÚJO, R.P.A. 2006. Métodos de Ensaios de Toxicidade com Organismos Aquáticos. Cap. 6, p: 117 – 152. 2006. In: ZAGATO, P.A. e BERTOLETTI, E. 2006. *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações*. ZAGATTO e BERTOLETTI (org.) São Carlos: Rima; 2006.
- ARBUCKLE, W. A. e ALLEMAN, J. E.; Effluent toxicity testing using nitrifiers and Microtox. *Water Environ. Res.* 64. pp 263 – 267. 1992.
- BERTOLETTI, E.; 1990. *Toxicidade e Concentração de agentes tóxicos em efluentes industriais*. *Revista Ciência e Cultura*. 43 (3/4): p.271-277. 1990.
- BRASIL, 1981. Lei nº 6.938. Política Nacional de Meio Ambiente. Brasília, Diário Oficial da União, 2 de setembro de 1981.
- BRASIL, 1987. Manual do IBAMA – parte D: Avaliação da toxicidade de agentes químicos para microrganismos, microcrustáceos, peixes, algas, organismos do solo, aves, animais silvestres e plantas. 1987. Disponível eletronicamente em:
http://www.fcav.unep.br/download/deptos/fitossanidade/joaquim_machado/IBAMAPARTED_Microorganismos.pdf em 28 de abril de 2007.
- BRASIL, 1988. Constituição da República Federativa do Brasil, Brasília, Diário Oficial da União, 5 de março de 1988.
- BRASIL, 1997. Lei nº 9.433. Política Nacional de Recursos Hídricos, Brasília, Diário Oficial da União, 8 de janeiro de 1997.

- BRASIL, 2004. *Portaria nº. 518*. Ministério da Saúde - MS. Brasília, Diário Oficial da União, 25 de março de 2004.
- BRASIL, 2005. *Resolução nº. 357*. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Brasília, Diário Oficial da União, 17 de março de 2005.
- BRASIL, 2008. *Resolução nº. 396*. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Brasília, Diário Oficial da União, 12 de junho de 2008.
- BRETANO, D.M. Desenvolvimento e aplicação do teste de toxicidade crônica com *Daphnia magna*: Avaliação de efluentes tratados de um aterro sanitário. 2006. 104p. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade de Santa Catarina – UFSC. Florianópolis, SC. 2006.
- CAIRNS, J. e DICKSON, KL. *A simple method for the biological assessment of the effects of waste discharge on aquatic bottom – dwelling organisms*. Journal Water Pollute Control Fed, May; 43(5): 755- 72. 1971.
- CETESB, 1986. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Teste de toxicidade com *Chlorella vulgaris*. Norma técnica L5. 020. 1986.
- CETESB, 1987. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Teste de toxicidade com a bactéria luminescente *Vibrio fischeri*: método de ensaio. 203. Norma técnica L5. 227. 1987
- CETESB, 1988. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Teste de toxicidade aguda utilizando *spirillum volutans*: método de ensaio. Norma técnica L5. 228. 21p. 1988.
- CETESB, 1990. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Avaliação de toxicidade crônica utilizando *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894(Cladocera, Crustacea). CETESB, São Paulo. 25p. 1990.
- CETESB, 1991. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis* Claus, 1879(Cladocera, Crustacea). Norma técnica L5. 018. 1991.
- CETESB, 1992. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Água do mar: teste de toxicidade aguda com *Mysidopsis juniae* Silva, 1979 (crustacea: mysidacea) – método de ensaio. Norma técnica L5. 251. 19p. 1992.
- CETESB, 1993. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Água: teste para avaliação de toxicidade aguda de cianofíceas (algas azuis) – método de ensaio. Norma técnica L5. 025. 12p. 1993.
- CETESB, 1994a. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Teste de toxicidade aguda com peixes. Parte I - sistema estático. Norma técnica L5. 019. 1994.
- CETESB, 1994b. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Teste de toxicidade aguda com peixes. Parte II - sistema semi - estático. Norma técnica L5. 019. 1994.
- CETESB, 1994c. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Teste de toxicidade aguda com peixes. Parte III - sistema de fluxo contínuo. Norma técnica L5. 019. 1994.
- CETESB, 1994d. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Avaliação de toxicidade crônica, utilizando *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 (Cladocera, Crustacea). Norma técnica L5. 022. 1994.
- CETESB, 1994e. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 1990; 1994. Metodologia para avaliação da toxicidade crônica com o peixe *Brachydanio rerio*. São Paulo. 1994.

- CETESB, 1999. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Água do mar: teste de toxicidade crônica de curta duração com *Lytechinus variegatus* LAMARCK, 1816 (Enchinodermata: echinoidea) – método de ensaio. Norma técnica L5. 250. 1999.
- CETESB. 2006. Métodos de avaliação de toxicidade de poluentes a organismos aquáticos. CETESB, São Paulo, 95p. 2006.
- CHAPMAN, P BISHAY, F. POWER, E. HALL, K. HARDING, L. MCLEAY, D. NASSICHUK, M. e KNAPP, W. 1990. *Refinery effluent biomonitoring* In Proceedings of the seventeenth annual aquatic toxicology workshop: Vancouver, (1): p.106-206. 1990.
- CONSTAN, G.; BERMINGHAM, N.; BLAISE, G.; FERARD, J.F. 1993. Potential ecotoxic effects probe (PEEP): a novel index to assess and comparative the toxic potential of industrial effluents. *Environmental Toxicology and Water Quality: an International Journal*, 8:115-140; *apud* ZAGATTO (a), P. A. *Ecotoxicologia*. Cap. 1, p: 1 – 13. 2006. In: ZAGATO, P.A. e BERTOLETTI, E. 2006. *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações*. ZAGATTO e BERTOLETTI (org.) São Carlos: Rima; 2006.
- COONEY, J.D. 1995. Freshwater tests. In: RAND, G.M. Ed. *Fundamentals of aquatic toxicology*. 2th ed. 1125p. *apud* ARAGÃO, M. A. e ARAÚJO, R.P.A. 2006. *Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos*. Cap. 6, p: 117 – 152. 2006.
- DANNENBERG, R., Relatório de Aplicação: O uso de bioensaios na avaliação da toxicidade de efluentes. In: GWF Wasser-Abwasser 135. N°8, p 475-480. 1993. Disponível em: < <http://www.umwelt-sc.com.br> > em 26 de março de 2007.
- DANNENBERG, R. e SÄAR, J. Bioensaio com Bactérias Luminescentes Aplicado para a Estação de Tratamento de Efluentes. Relatório de Aplicação UW005; Disponível em: < <http://www.umwelt-sc.com.br> > em 26 de março de 2007.
- DALZELL, D.J. B.; ALTE, S.; ASPICHUETA, E.; DE LA SOTA, A.; ETXEBARRIA, J.; GUTIERREZ, M.; HOFFMANN, C. C.; SALES, D.; OBST, U.; CHRISTOFI, N. A comparison of five rapid direct toxicity assessment methods to determine toxicity of pollutants to activated sludge. *Chemosphere*, 47. pp 535 – 545. 2002.
- DI MARZIO, W.D.; SÁENZ, M.; ALBERDI, J.; TORTORELLI, M. E GALASSI, S. Risk assessment of domestic and industrial effluents. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 61. Issue 3. July 2005. pp. 380-391.
- DIN – Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser, Abwasser und Schlammuntersuchung. *Testverfahren mit Wasserorganismen – Bestimmung der Hemmwirkung von Abwasser auf die Lichtemission von Photobacterium phosphoreum*; DIN 38412 Teil 34 (1991).
- DIN – Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser, Abwasser und Schlammuntersuchung. *Testverfahren mit Wasserorganismen – Bestimmung der Wirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Kleinkrebse (Daphnien Kurzzeittest – L11)*; DIN 38412/L11 (1982).
- DIZER, H.; WITTEKINDT, E.; FISCHER, B.; HANSEN, P. –D. The cytotoxic and genotoxic potential of surface water and waster effluents as determined by bioluminescence, umu – assays and selected biomarkers. *Chemosphere*, 46. pp 225 – 233. 2002.
- DOMINGUES, D.F. e BERTOLETTI, E. Seleção, manutenção e cultivo de organismos Aquáticos. Cap. 7, p: 153 – 184. 2006. In: ZAGATO, P.A. e BERTOLETTI, E. 2006. *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações*. ZAGATTO e BERTOLETTI (org.) São Carlos: Rima; 2006.
- FILMANN, G. E YUNES, J.S. (eds). *Resumo do Encontro de Ecotoxicologia, 1992: Cassino, Rio Grande. RS. In ENCONTRO DE ECOTOXICOLOGIA, 1992. FURG; 1992. 102p. 1992.*

EXTENCE, CA. e FERGUSON, AJD. *Aquatic Invertebrate Surveys as a Water Quality Management Tool in the Anglican Region*. Regulated Rivers Research and Management – RRRMEP Vol. 4, nº. 2, p139 – 146, July 8, 1989.

FARRÉ, M.; ARRANZ, F.; RIBÓ, J.; BARCELÓ, D. Interlaboratory study of the bioluminescence inhibition tests for rapid wastewater toxicity assessment. *Talanta* 62, pp. 549-558. 2004.

FESB – CETESB. *Estudos efetuados na represa de Americana e no trecho do Rio Atibaia, a montante do reservatório*. Relatório Técnico. São Paulo. 67p. 1971.

FINKLER, R.. *Avaliação do Efeito Tóxico de Líquido Percolado Gerado em um Aterro Sanitário no Sistema Reprodutivo de Daphnia magna*. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade de Santa Catarina – UFSC. Florianópolis, SC. 2002.

FLOHR, L.; BRETANO, D.M.; CARVALHO - PINTO, C.R. S; MACHADO, V.G. E MATIAS, W. G. Classificação de resíduos sólidos industriais com base em testes ecotoxicológicos utilizando *Daphnia magna*: uma alternativa. *Biotemas*, 18 (2): pp.7-18, 2005.

FLOHR, L. *Ensaio Toxicológicos com Daphnia magna como Alternativa Para Classificação De Resíduos Sólidos Industriais: Resultados Preliminares*. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade de Santa Catarina – UFSC. Florianópolis, SC. 2007.

FRACÁCIO, R. *Estudos Limnológicos e ecotoxicológicos (laboratoriais e in situ). Com ênfase na avaliação da toxicidade de metais e de pesticidas organoclorados em peixes (Danio rerio e Poecilia reticulata) subbacia do rio Monjolinho*. Tese de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos/SP, 184p. 2006.

FREITAS, K.R. *Caracterização e reuso de efluentes do processo de beneficiamento da indústria têxtil*. Dissertação de mestrado em engenharia química. Programa de pós graduação em engenharia química da universidade federal de santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, fevereiro de 2002.

GIORDANO G., *Tecnologias de tratamento e controle de efluentes industriais*. Curso de Especialização em Saneamento Ambiental. Modulo II: Efluentes Industriais. UFTM, Cuiabá. 2004.

GIRLING, A.E.; PASCOE, D.; JANSSEN, R. C.; PEITHER,A.; WENZEL, A.; SCHÄFER, H.; NEUMEIER, B.; MITCHELL, G.C.; TAYLOR, E.J.; MAUND, S.I.; LAY, I.P.; JÜTTNER,L.; CROSSLAND, N.O.; STEPHENSON,R.R.; PERSOONE,G. Development of Methods for evaluating toxicity to freshwater Ecosystems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **48**, 148-176.2000.

GUERRA, R. *Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents*. *Chemosphere*: 44, pp.1737-1747. 2001.

GUILHERMINO, L. SOBRAL, O. CHASTINET, C. RIBEIRO, R. GONÇALVES, F. SILVA, M.C. SOARES, A.M.V.M. *A Daphnia magna first – brood chronic test: An alternative to the conventional 21-day chronic bioassay?* *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **42**, 67-74. 1999.

HARMEL, V.C., *Padronização de um teste de biotoxicidade crônica com a bactéria luminescente Vibrio fischeri para análise de qualidade de águas superficiais*. Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Regional de Blumenau. 2004.

- HARMON, S.M.; SPECHT, W.L.; CHANDLER, G.T. *A comparison of the Daphnids Ceriodaphnia dubia e Daphnia ambigua for their utilization in routine toxicity testing in the southeastern United States*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 45, pp. 79-85. 2003.
- HARTMANN, C.C. *Avaliação de um efluente industrial através de ensaios ecotoxicológicos e análises físicas e químicas*. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Ecologia, do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 90f. 2004.
- HEMMING, J.M.; TURNER, P.K.; BROOKS, B.W.; WALLER, W.T.; LAPOINT, T.W. *Assessment of toxicity reduction in wastewater effluent flowing through a treatment wetland using Pimephales promelas, Ceriodaphnia dubia e Vibrio Fisheri*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 42, pp. 9-16. 2002.
- KNIE, J.L.W. e LOPES, E. W. B. *Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações*. Florianópolis: FATMA / GTZ, 2004. 289p, 2004.
- LAHR, J.; MAAS - DIEPEVEEN, J.L.; STUIJFZAND, S.C.; LEONARDS, P.E.G.; DRÜKE, J.M.; LÜCKER, S.; ESPELDOORN, A; KERKUM, L.C.M.; VON STEE, L.L.P.; E HENDRIKS, H.J. *Responses in sediment bioassays used in the Netherlands: can observed toxicity be explained by routinely monitored priority pollutants?* Water Research. 37, pp. 1691-1710. 2003.
- LAITANO, K.S. E MATIAS, W.G. *Testes de toxicidade com Daphnia magna: uma ferramenta para avaliação de um reator experimental UASB*. Journal of The Brazilian Society of Ecotoxicology. Vol. 1, Nº 1, pp. 43-47. 2006.
- LAITANO, K.S. *Testes de Toxicidade com Daphnia magna: Uma ferramenta para avaliação de um reator experimental UASB*. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade de Santa Catarina – UFSC. Florianópolis, SC. 2003.
- LANZER, R.; MÜLLER, M.; DUNCKE, M. E RASERA, K. *Comparação de testes ecotoxicológicos com Biomphalaria tenagophila (oregny, 1835) e Daphnia magna (straus, 1820) utilizando Remazol Brilliant Blue R e água de arroio urbano*. Journal of The Brazilian Society of Ecotoxicology. Vol. 2, Nº 1, pp. 27-32. 2007.
- LEÃO, M. M. D; CARNEIRO, E.V.; SCHWABE, W.K.; RIBEIRO, E. D.L.; SOARES, A.F.S.; NETO, M. L. F.; TORQUETTI, Z.S.C. *Controle Ambiental na Indústria Têxtil: Acabamento de Malhas*. Projeto Minas Ambiente. Belo Horizonte, 356p. 2002.
- LEBLOND, J.B. E DUFFY, L.K. *Toxicity assessment of total dissolved solids in effluents of Alaskan mines using 22h chronic Microtox® and Selenastrum capricornatum assays*. The Science of the Total Environment, 271. pp.49-59, 2001.
- LEDAKOWICZ, S.; GONERA, M. *Optimisation of Oxidants Dose for Combined Chemical and Biological Treatment of Textile Wastewater*. Water Research, v. 33, n. 11, p. 2511 – 2516, 1999.
- LOMBARDI, J.V. *Fundamentos de Toxicologia Aquática*. Instituto de Pesca – SP. Fonte: http://www.aquicultura.br/conceitos_fundamentais.htm > disponível em 29 de março de 2007.
- MAGRIS, R.A.; PASSAMANI, F.; BINDA, F.P. E LOURERO FERNANDES, L. *Utilização de testes de toxicidade com embriões da Ostra Crassostrea rhizophorae (gülding, 1928) para avaliação da eficiência de uma estação de tratamento de esgotos de vitória (ES)*. Journal of The Brazilian Society of Ecotoxicology. Vol. 1, Nº 1, pp. 49 - 52. 2006.
- MARTINS, J.; OLIVA TELES, L.; VASCONCELOS, V. *Assays with Daphnia magna and Danio rerio as alert systems in aquatic toxicology*. Environment International. Vol. 33, Issue 3, pp. 414-425. 2007.

- MAYS, L. W. *Water Resources handbook*. McGraw-Hill, USA, 1996.
- McKIM, J.M. Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long – term toxicity. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 34: 1148 – 1154. 1977.
- MENDONÇA, E. PICADO, A. SILVA, L. AND ANSELMO, A.M. *Ecotoxicological evaluation of cork – boiling wastewaters*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 66, Issue 3, pp. 384-390. 2007.
- MICROBIO® TESTS INC. Bélgica. *ToxKit Application*. Disponível em: < <http://www.microbiotests.be/> > em 20 de setembro de 2007.
- MINAS GERAIS, 2008. Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH nº 01 de 01 de maio de 2008. *Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências*. Diário Oficial do Estado, Executivo. Publicado em 13 de maio de 2008.
- MOUNT, D.R.; E HOCKETT, J.R. *Use of toxicity identification evaluation methods to characterize, identify, and confirm hexavalent chromium toxicity in an industrial effluent*. *Water Research*, Vol. 34, Nº 4, pp. 1379-1385. 2000.
- MORRALL, D.D. BELANGER, S.E. AND DUNPHY, J.C. *Acute and chronic aquatic toxicity structure - activity relationships for Alcholethoxylates*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 56, pp. 381-389. 2003.
- NETO, 2000. NETO, R. *Caracterização Ecotoxicológica de efluentes líquidos industriais - ferramenta para ações de controle da poluição das águas*. XXVII – Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000, Porto Alegre, 2000.
- NETO, 2002. NETO, G.C. *Decomposição de fenol e efluente da indústria de papel e celulose por fotocatalise heterogenia*. Dissertação de mestrado em engenharia química. Curso de Pós Graduação em Engenharia Química do centro tecnológico da universidade federal de santa Catarina. Florianópolis, santa Catarina, fevereiro de 2002.
- OECD, 1981. *Standard Procedures* Guideline for testing of chemicals, Paris, France, 1981.
- OECD, 1996. *Standard Procedures: Guideline for testing of chemicals*, Paris, France, 1996.
- OECD, 1992. *Daphnia sp Acute immobilization test and reproduction test*. Guideline for testing of chemical, Nº202. OECD, Paris, France, 1992.
- OHIO EPA – Division of Surface Water. *Reporting and Testing Guidance for Biomonitoring Required by the Ohio Environmental Protection Agency*. October 1991. Revision 1, July 1998.
- PANE, E.F.; SMITH, C.; MOGGER, J.C. E WOOD, C.M. *Mechanisms of acute and chronic waterborne nickel toxicity in the freshwater cladoceran, Daphnia magna*. *Environmental Science e Technology*. Vol. 37, nº 19, pp. 4382-4389. 2003.
- PANKRATZ, Tom M. *Environmental engineering dictionary and directory*. Thomas M. Pankratz. Lewis Publishers, Boca Raton; Florida. 2001.
- PARANÁ, 2006. Portaria IAP nº019 de 10 de fevereiro de 2006. *Aprova e determina o cumprimento da Instrução Normativa DIRAM nº 002/2006, que estabelece o Sistema de Automonitoramento de Atividades Poluidoras no Paraná*. Paraná 10 de fevereiro de 2006.
- PASCOE, D.; WENZEL, A. JANSSEN, C.; GIRLING, A.E.; JÜTTNER, J.; FLEIEDNER, A.; BLOCKWELL, S.J. MAUND, S.J.; TAYLOR, E.J.; DIEDRICH, M.; PERSOONE, G.; VERHLST, P.; STEPHENSON, R.R.; CROSSLAND, N.O.; MICHELL, G.C.; PEAARSON, N.; TATTERSFIELD, L.; LAY, J.P; PEITHER, A.; NEUMEIER, B.; VELLETTI, A.E. *The*

- development of toxicity test for freshwater pollutants and their validation in stream and pond mesocosms*. Water Research. Vol. 34, Nº 8, pp. 2323-2329, 2000.
- PENNY, C. e ADAMS, C. (1863). *Forth Report. Royal Comission on Pollution of Rivers in Scotland*. Evidence, Vº. 2, London, 377 – 391. In: KNIE, J.L.W. e LOPES, E. W. B. *Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações*. Florianópolis: FATMA / GTZ, 2004. 289p, 2004.
- PEREIRA, A.M.M.; SOARES, A.M.V. M; GONÇALVES, F. E RIBEIRO, R. *Water - Colum, sediment and in situ chronic bioassays with cladocerans*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 47, pp. 27-38. 2000.
- PLAA, G.L. *Present status: toxic substances in the environment*. Can. J. Physiol. Pharmacol., 60: 1010 – 1016. 1982.
- RAND, G.M. E PETROCELLI, S.R. *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. 662p. 1985.
- RAND, G.M. *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, environmental fate and risk assessment*. Second Edition. Taylor e Francis, Washington, DC. 1125p. 1995.
- RADIX, P.; LEONARD, M.; PAPANTONIOU, C.; ROMAN, G.; SADUTER, E.; GALLOTTI - SCHMIH, S.; THIÉBAUD, H. E VASSEUR, P. *Comparison of four chronic toxicity test using Algae, Bacteria and Invertebrates assessed with sixteen chemicals*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 47, pp. 186-194. 2000.
- RIO GRANDE DO SUL, 2006a. Resolução de nº.128. CONSEMA do Rio Grande do Sul. Dispõe sobre a fixação de padrões de emissão de efluentes líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul. Publicada em 24 de novembro de 2006.
- RIO GRANDE DO SUL, 2006b. Resolução nº.129. CONSEMA do Rio Grande do Sul. Dispõe sobre a definição de critérios e padrões de emissão para Toxicidade de Efluentes Líquidos lançados em águas superficiais do Estado do Rio Grande do Sul. Publicada em 24 de novembro de 2006.
- ROBERTO, S. e ABREU, R. M. *Utilidade dos indicadores de qualidade das águas. Ambiente – Revista CETESB de Tecnologia*, 5 (1), pp.47-51. 1991.
- RUBIO, J. TESSELE, F. *Processos para o Tratamento de Efluentes na Mineração*. Rubio, J.; Tessele, F. In “Tratamento de Minérios”. Luz, A. B.; Sampaio, J. A.; Monte, M. B.; Almeida, S. L. (Editores), CETEM-CNPq-MCT, Cap.16, p.637-697, 3a Ed. 2002; disponível eletronicamente em:
< http://www6.ufrgs.br/ltn/attachments/175_Cap16.pdf > em 06 de janeiro de 2009.
- SÄAR(a), J. 2005. *Avaliação da Biodegradabilidade de Corantes e Auxiliares Têxteis Através de um Teste Microbiológico Rápido (“Screening Test”)*. Relatório de Aplicação UW-024. Disponível em: < <http://www.umwelt-sc.com.br> > em 26 de março de 2007.
- SÄAR(b), J. 2005. *Biotestes para Efluentes Industriais: Ameaça ou Solução?* Relatório de Aplicação UW-018. Disponível em: < <http://www.umwelt-sc.com.br> > em 26 de março de 2007.
- SANTA CATARINA, 2002. *Portaria Nº 17. Estabelece os Limites Máximos de Toxidade Aguda para efluentes de diferentes origens e dá outras providências*. Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina – FATMA. 18 de abril de 2002.
- SÃO PAULO, 2000. Resolução da Secretaria de Meio Ambiente nº 3. Implementa o controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no Estado de São Paulo. Publicado no Diário Oficial do Estado. Executivo de 23 de fevereiro de 2000.

SARAKINOS, H. C. E RASMUSSEN J. B. *Use of bioassay - based whole effluents toxicity (WET) tests to predict benthic community response to a complex industrial effluent*. Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery. **6**: 141-157, 1998.

SCHMITT, M.; GELLERT, G.; LICHTENBERG - FRATÉ, H. *The toxic potential of an industrial effluent determined with the Saccharomyces cerevisiae based assay*. Water Research. Vol. 39, pp. 3211-3218. 2005.

SCHRANK, S.G. *Tratamento de efluentes da indústria de couros através de processos avançados de oxidação*. Tese de doutorado em Engenharia Química. Programa de pós graduação em engenharia química do centro tecnológico da universidade federal de santa Catarina. Florianópolis, Santa Catarina, 2003.

SCOPE - Scientific Committee on Problems of the Environment. *Report 12: Principles of Ecotoxicology*. 1978. Edited by G.C. Butler, published on behalf of the Scientific Committee on Problems of the Environment (SCOPE) of the International Council of Scientific Unions (ICSU) by John Wiley e Sons. Chichester, New York, Brisbane, Toronto. Disponível em:

<http://globalecology.stanford.edu/SCOPE/SCOPE_12/SCOPE_12.html> em 08 de maio de 2008.

SOARES, J. L. *Remoção de Corantes Têxteis por Adsorção em Carvão Mineral Ativado com Alto Teor de Cinzas*. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 1998.

SPONZA, D.T. *Necessity of toxicity assessment in Turkish industrial discharges (examples from metal and textile industrial effluents)*. Environmental Monitoring and Assessment. **73**: pp. 41-66, 2002.

TAKENAKA, R.A.; DELLAMANO - OLIVEIRA, M.J.; ROCHA, O. *Toxicidade de extratos de flotações de cianobactérias de reservatórios do rio Tietê, SP, aos daphnideos Ceriodaphnia dubia e Ceriodaphnia silvestrii (Cladocera, Crustacea)*. Journal of The Brazilian Society of Ecotoxicology. Vol. 2, Nº 2, pp. 147-156. 2007.

TEIXEIRA, R.M. *Remoção de nitrogênio de efluentes da indústria frigorífica através da aplicação dos processos de nitrificação e desnitrificação em biorreatores utilizados em um sistema de lagoas de tratamento*. Tese de doutorado em engenharia química. Programa de pós graduação em engenharia química da universidade federal de santa Catarina. Florianópolis, SC, 2006.

TOTHILL, I.E. e TURNER, A.P.F. *Developments in bioassay methods for toxicity testing in water treatment*. Trends in analytical chemistry, Vol.15, Nº 5, pp. 178-188, 1996.

TOUSSAINT, M.W.; SHEDD, T.R.; VAN DER SCHAILE, W.H.; LEATHER, G.R. Environ. Toxicol. Chem. **14** (1995) 907.

TRUHAUT, R. *Ecotoxicology: Objectives, Principles and Perspectives*. Ecotoxicology and Environmental Safety. New York, V.1, p. 151-173, 1977.

US. EPA 1989. *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to fresh water organism*, EPA/600/4 - 89 - 001. Environmental Monitoring Systems Laboratory Cincinnati, Ohio. 1989.

US. EPA 1991a. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*, 4th. Ed. Pub. Nº600/4 -90/027. USEPA, Duluth, MN. 1991.

US. EPA 1991b. *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to fresh water organism*, EPA/600/4 - 90 - 027. US. Environmental Monitoring Systems Laboratory Cincinnati, Ohio. 1991.

- US. EPA 1991c. *Technical Support Document for Water Quality - based Toxics Control*, EPA/500/2- 90 - 001. Office of Water. 1991.
- US. EPA 1994. *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms*. EPA/ 600 / 4 - 91/ 002. 3th. Ed. Cincinnati, USEPA, 1994.
- US. EPA 2002. *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to fresh water organism*, NW. Washington, DC. US>EPA Office of Water. 2002.
- Van LEEUWEN, C.J. 1988a. Short – term toxicity testing. In: KRUIJF,H.A.M.; ZWART, D.; VISWANATHAN, P.N.; RAY, P.K. Eds. *Manual on Aquatic Ecotoxicology*. 332p. *apud* ARAGÃO, M. A. e ARAÚJO, R.P.A. 2006. *Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos*. Cap. 6, p: 117 – 152. 2006.
- Van LEEUWEN, C.J. 1988b. Long – term toxicity testing and GLP. In: KRUIJF,H.A.M.; ZWART, D.; VISWANATHAN, P.N.; RAY, P.K. Eds. *Manual on Aquatic Ecotoxicology*. 332p. *apud* ARAGÃO, M. A. e ARAÚJO, R.P.A. 2006. *Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos*. Cap. 6, p: 117 – 152. 2006.
- VILLEGAS - NAVARRO, A.; RODRIGUEZ SANTIAGO, M.; RUIZ PÉREZ, F.; RODRIGUEZ TORRES, R.; DIECK ABULARACH, T. E REYES, J. L. *Determination of LC50 from Daphnia magna in treated industrial wastewaters and no treated hospital effluents*. *Environment International*, Vol.23, Nº4, pp. 535-540, 1997.
- WANG, C.; YEDILER, A.; LIENERT, D.; WANG, Z. E KETTRUP, A. *Toxicity evaluation of reactive dyes tuffs auxiliaries and selected effluents in textile finishing industrial to luminescent bacteria Vibrio fischeri*. *Chemosphere*, 46: pp. 339-344, 2002.
- WOLLENBERGER, L.; HALLING - SORENSEN, B.; KUSK,K.O. *Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to Daphnia magna*. *Chemosphere*, 40:pp.723-730. 2000.
- YU, Ming-Ho. *Environmental toxicology: biological and health effects of pollutants*. Second Edition. Boca Raton; Florida. 2005.
- ZAGATTO (a), P. A. *Ecotoxicologia*. Cap. 1, p: 1 – 13. 2006. In: ZAGATO, P.A. e BERTOLETTI, E. 2006. *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações*. ZAGATTO e BERTOLETTI (org.) São Carlos: Rima; 2006.
- ZAGATO, P.A. e BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações*. ZAGATTO e BERTOLETTI org. São Carlos: Rima; 2006.
- ZHA, J. E WANG, Z. *Acute and early life stage toxicity of industry effluent on Japanese medaka(Oryzia latipes)*. *Science of the Total Environment*. 357, pp. 112-119. 2006.