

# **Avaliação da toxicidade aguda de *Daphnia similis* chorumes de diferentes origens e a soluções de metais pesados**

**Camila Bezerra de Araujo**

Bolsista de Iniciação Científica, Biologia, UFRJ

**Allegra Viviane Yallouz**

Orientadora, Farmacêutica, D. Sc.

**Silvia Egler**

Co-orientador, Bióloga, M. Sc.

## **Resumo**

Este trabalho tem por objetivo a avaliação da toxicidade aguda de *Daphnia similis* a chorumes de diferentes origens: aterro sanitário, aterro controlado e lixão e a soluções de metais pesados (As, Cu e Zn). Os testes ecotoxicológicos foram realizados seguindo a norma ABNT- NBR 12713/09. Foram realizados quatro testes para cada uma das amostras de chorume e dois para cada solução de metais pesados. Os valores de CE(I)50 dos testes com os chorumes foram comparados com a legislação disponível (FATMA, 2002) e a escolha das concentrações das soluções de metais pesados testadas basearam-se na resolução 357 (CONAMA, 2005). Os resultados obtidos para o aterro sanitário e controlado indicaram letalidade em 100% dos organismos para a concentração de 12,5% do chorume. Para o lixão, a concentração letal foi de 50%, o que indica ser este menos tóxico que os outros dois. Nos testes realizados com as soluções de As, Cu e Zn das CE(I)50 48h obtidas, apenas As apresentou valor acima do valor orientador da Resolução 357 (CONAMA, 2005).

## **1. Introdução**

O chorume é resultante da água que percola os resíduos sólidos dissolvendo componentes orgânicos e inorgânicos e produtos em decomposição, formando um líquido poluente de composição complexa. O processo de monitoramento e tratamento do chorume é muito importante para a conservação da qualidade do meio ambiente. Caso não seja tratado, pode atingir lençóis freáticos, rios e córregos, levando a contaminação para esses recursos hídricos, afetando os organismos aquáticos e os alimentos irrigados com água destas fontes.

A composição do chorume depende da fase em que se encontra o processo de decomposição dos resíduos. Na primeira fase, aeróbica, relativamente curta, o oxigênio é rapidamente consumido. A temperatura aumenta favorecendo a dissolução de sais com metais, como o chumbo. Na segunda fase, acetogênica, com duração de anos, compostos orgânicos simples são solubilizados, produzindo ácidos que diminuem o pH, provocando a solubilização dos metais. Nesta fase a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) também aumenta. Na terceira fase, metanogênica, bactérias anaeróbicas consomem os compostos orgânicos, aumentando o pH e diminuindo a DBO.

É importante realizar o monitoramento constante da qualidade do chorume e das águas subterrâneas, que são fonte de abastecimento para populações urbanas. Uma das formas de monitoramento é a realização dos testes

toxicológicos que utilizam organismos indicadores de contaminação ambiental para a avaliação da toxicidade de efluentes líquidos e de substâncias químicas solúveis em água.

A Ecotoxicologia estuda os efeitos tóxicos das substâncias químicas e dos agentes físicos sobre os organismos vivos, especialmente nas populações e nas comunidades de um ecossistema definido, incluindo os caminhos da transferência desses agentes e sua interação com o ambiente. Nos estudos de ecotoxicologia organismos representativos do ambiente são expostos a várias concentrações do efluente ou da substância potencialmente tóxica a ser testada, por um período determinado. Em testes agudos são observados letalidade e imobilidade em um curto período de tempo, geralmente de 24-48h. O resultado do teste é expresso em Concentração Efetiva Inicial Mediana - CE(I)50 48h, que corresponde à concentração da amostra no início do ensaio, que causa efeito agudo a 50% dos organismos expostos em 48 horas, nas condições de teste.

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), desde 2005 exige que cada órgão ambiental competente tenha sua própria legislação e critérios para os testes toxicológicos (CONAMA, 2005). No Brasil, apenas quatro estados possuem esse tipo de legislação: Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo. (Tabela 1).

Tabela 1: Legislações estaduais referentes a critérios de testes ecotoxicológicos no Brasil.

Estado	Tipo de Ensaio	Legislação
Rio de Janeiro	Toxicidade aguda ( <i>Brachydanio rerio</i> - peixe)	FEEMA - NT-213.R-4 - Critérios e Padrões para Controle da Toxicidade em Efluentes Líquidos Industriais.1990. 5p.
Rio Grande do Sul	Toxicidade aguda, crônica e genotoxicidade	Resolução CONSEMA n° 129/2006
Santa Catarina	Toxicidade aguda ( <i>Daphnia magna</i> )	Portaria n° 017/02 – FATMA de 18/04/2002.
São Paulo	Toxicidade aguda e crônica	São Paulo, Resolução SMA n. 3 de 22/02/2000.

Além dos testes ecotoxicológicos com misturas de substâncias ou efluentes *in natura*, estudos com os contaminantes isolados também estão sendo utilizados (Dyer et al., 2008). Valores de Concentrações Efetivas (CE) ou de Inibição (CI) para diferentes substâncias químicas são amplamente utilizados em análises de risco ecológico e para registro, avaliação e autorização de novas substâncias químicas Este parâmetro pode ser obtido na literatura ou através da realização de testes de laboratório com espécies substitutas representativas de níveis tróficos em testes que relacionam causa-e-efeito. A distribuição ampla de valores observados pode ter origem em diferenças físico-químicas (dureza, temperatura, pH, alcalinidade, carbono orgânico dissolvido), na origem dos organismos, sensibilidade, técnicas de cultivo e na realização dos testes. Porém, este tipo de dado desconsidera possíveis interações entre diferentes contaminantes, como sinergia ou adição (Cooper et al., 2009).

## 2. Objetivo

O presente trabalho tem por objetivo realizar estudos preliminares utilizando testes ecotoxicológicos para avaliação da toxicidade aguda ao microcrustáceo *Daphnia similis* exposto a amostras complexas (chorumes de três origens distintas) e substâncias individuais (soluções de As, Cu e Zn).

## 3. Materiais e Métodos

As amostras de chorume foram coletadas em três áreas com disposição diferentes de resíduos sólidos no município do Rio de Janeiro:

Lixão – resíduos sólidos municipais descarregados de forma simples sobre o solo, sem medidas de proteção ao meio ambiente ou à saúde pública.

Aterro controlado – resíduos sólidos municipais descarregados de forma simples sobre o solo, confinados com cobertura de material inerte ao final da jornada de trabalho.

Aterro sanitário – aterro com impermeabilização de base e lateral, sistema de cobertura, sistema de coleta, drenagem e tratamento de líquidos percolados, sistema de coleta e tratamento dos gases, sistema de drenagem superficial e monitoramento.

### 3.1 Coleta e preservação das amostras de chorume:

As amostras de chorume foram coletadas em bacias de armazenagem nas três áreas: aterro sanitário, aterro controlado e lixão. Para os dois primeiros testes ecotoxicológicos foram utilizadas amostras coletadas em 25 de setembro de 2009 e para os dois últimos testes amostras coletadas em 16 de outubro de 2009. No laboratório as amostras foram armazenadas em geladeira a temperatura de 4°C, sem adição de conservantes.

### 3.2 Testes Ecotoxicológicos

#### Cultivo de *Daphnia similis*

Os organismos foram cultivados em meio MS (meio com sais inorgânicos e vitamina B<sub>12</sub>), em pH entre 7,0 e 7,2 e dureza entre 40-48 mg CaCO<sub>3</sub>/L, em câmaras de germinação (incubadoras) com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro e temperatura de 20°C ± 2°C. Os organismos foram alimentados com suspensão algácea de *Pseudokirchneriella subcapitata*, diariamente.

### 3.3 Procedimento Experimental

Os testes foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM (Lecomín) e seguiram a norma ABNT NBR 12713/09. Para a preparação das soluções-teste as amostras de chorume e as soluções padrões de arsênio, cobre e zinco foram diluídas com meio de cultura MS de acordo com as concentrações previamente definidas e colocadas na incubadora-teste para climatização na temperatura de cultivo. Após seis horas da separação dos indivíduos jovens de *Daphnia similis* da cultura, estes foram expostos às diferentes concentrações das soluções-teste por um período de 48 h. Após a realização de testes preliminares que determinaram a faixa de concentrações no intervalo de 100% e 0% de mortalidade, foram realizados os testes definitivos.

Os testes foram realizados com cinco organismos, em quatro réplicas, totalizando 20 organismos para cada concentração de chorume analisada, totalizando 120 organismos por teste/seis concentrações, incluindo o controle com água de diluição. Os organismos foram introduzidos nas soluções-teste com pipeta Pasteur. O pH das soluções foram medidos em aparelho Digimed DM-2 e o oxigênio dissolvido (OD) em aparelho Digimed DM-4P. A primeira coleta dos resultados foi realizada após 24 h do início do teste. Após 48 h, foi realizada a coleta final dos resultados, e medidos o pH e o oxigênio dissolvido (OD). Para o cálculo da concentração efetiva inicial mediana – CE(I)50 foi utilizado o programa estatístico Trimmed Sperman Karber (TSK)

A escolha das concentrações para os testes com solução dos metais foram baseados nos valores orientadores para o descarte de efluentes da Resolução 357 (CONAMA, 2005). Para a escolha das cinco concentrações de metais nos testes preliminares foi adotado intervalos de razão de diluição 2, partindo do valor orientador da Resolução 357 (CONAMA, 2005) como concentração mediana. Nos testes com Arsênio, além do controle com água de diluição foi testado paralelamente um controle com as soluções ácidas utilizadas para a preparação da solução-estoque.

#### 4. Resultados e Discussão

Segundo o Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT, 2000 *apud* Mangili, 2006), valores de pH podem ser usados para determinar a fase que se encontra o processo de decomposição do lixo. Os chorumes com valores de pH variando entre 4,5 a 7,5 são considerados como pertencentes a fase acetogênica e os com pH entre 7,5 a 9,0 a fase metanogênica. A fase acetogênica, pH mais baixo, facilita a solubilização de metais, enquanto na fase metanogênica, os metais não são facilmente lixiviados dos resíduos depositados. Os chorumes estudados apresentaram características de fases acetogênicas e metanogênicas (Tabela 2)

Tabela 2: Valores de parâmetros físico-químicos dos três chorumes estudados.

Coleta/Chorume	25/09/2009		16/10/2009	
	pH	OD (mg/L)	pH	OD (mg/L)
Aterro Sanitário	7,4 – 8,2	5,4 – 8,9	7,5 – 8,0	6,0 – 9,9
Aterro Controlado	7,4 – 8,0	3,4 – 8,8	6,6 – 7,7	6,4 – 10,1
Lixão	7,6 – 8,3	5,9 – 6,7	7,6 – 8,2	6,5 – 10,1

A análise dos resultados encontrados nos quatro testes para os chorumes provenientes dos aterros sanitário, controlado e lixão (Figura 1) indicaram imobilidade máxima para a concentração de 12,5% para os aterros controlado e sanitário (Tabela 3) e de 50% para o lixão (Tabela 4). Os valores de pH e OD variaram segundo Tabela 2.

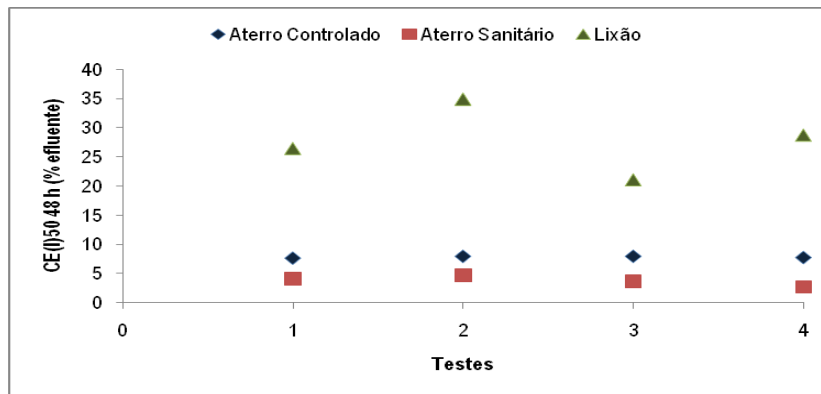


Figura 1: CE(I)50 48 h obtidas nos quatro testes realizados com amostras das três áreas estudadas.

Tabela 3: Resultados em porcentagem de fêmeas imóveis dos testes realizados com chorumes.

% efluente	Fator de Diluição	Aterro sanitário Testes				Aterro controlado Testes			
		1	2	3	4	1	2	3	4
12,5	8	100	100	100	100	100	95	100	100
6,25	16	95	80	100	100	45	40	15	10
3,12	32	40	10	25	55	0	0	0	10
1,56	64	0	0	5	15	5	0	0	0
0,78	128	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 4: Resultados em porcentagem de fêmeas imóveis dos testes realizados com chorume do Lixão.

% efluente	Fator de Diluição	Testes			
		1	2	3	4
50	2	100	100	100	100
25	4	10	0	65	20
12,5	8	35	5	10	10
6,25	16	0	5	0	0
3,12	32	0	5	0	0

Analisando os dados obtidos neste estudo através das legislações estaduais que estabelecem critérios ecotoxicológicos citadas na Tabela 1, a Portaria 017/02 (FATMA, 2002), para resíduos urbanos, tem como limite máximo de toxicidade o Fator de Diluição = 8 (FD - primeira de uma série de diluições de uma amostra na qual não mais se observa efeitos tóxicos agudos aos organismos-teste). Segundo as Tabelas 3 e 4, nenhum dos chorumes estudados se enquadraria nestas condições para o lançamento dos efluentes em corpos receptores, já que os chorumes dos aterros sanitário e controlado apresentaram FD = 128 e o lixão FD > 32.

De acordo com a Resolução SMA no. 3 (São Paulo, 2000), a D.E.R. (Diluição do Efluente no corpo Receptor) a toxicidade permissível é relacionada com a capacidade assimilativa do corpo hídrico receptor, ou seja, através de um balanço de massa de vazões do corpo receptor e do efluente com os resultados dos testes de toxicidade

aguda e crônica (Bertoletti, 2008). Para os chorumes estudados a CE(I)50 48h média calculada ficaram em 7,5% para o aterro controlado, 4,2% para o sanitário e 29,6% para o lixão. Neste caso, para o enquadramento destes chorumes na legislação paulista devem ser obtidos dados sobre a vazão máxima do efluente e crítica anual do corpo receptor para o cálculo de suas D.E.R..

Os valores das CE(I)50 acima mencionados e dos FDs (Tabelas 3 e 4) indicaram maior toxicidade para o chorume proveniente do aterro sanitário, seguido do aterro controlado e menor toxicidade para o chorume originário do lixão. Os resultados obtidos podem ser resultados da natureza dos resíduos despejados nos aterros/lixão estudados. Possivelmente os aterros sanitário e controlado recebem resíduos de origem industrial, civil, hospitalar, potencialmente mais tóxico do que os resíduos domésticos depositados no lixão.

Nos testes realizados com as soluções de As, Cu e Zn das CE(I)50 obtidas, apenas As apresentou valor acima do valor orientador da Resolução 357 (CONAMA, 2005). Os resultados dos testes utilizando metais pesados (Tabela 5) indicaram que a concentração do valor orientador para arsênio não provocou a imobilidade nos organismos-teste. O mesmo não foi observado para cobre e zinco, onde para o primeiro o valor orientador provocou imobilidade em 100% dos organismos e para o segundo, o valor orientador está bem acima do observado para 100% de mortalidade.

Tabela 5: Valores de CE(I)50 48 h obtidos para os testes com *D. similis* com soluções de metais (\* CONAMA, 2005).

Metal	CE(I)50 (mg/L)	Concentração de imobilidade (mg/L)		Intervalo de confiança de 95% (mg/L)	Condições do teste	Valor orientador (mg/L)*
		0%	100%			
As	1,66	0,5	2,6	1,47-1,87	Filhotes: 6- 24 h, 21°C, meio MS, 48 h, sem alimentação, escuro, dureza 41-43 CaCO <sub>3</sub> /L	0,5
Cu	0,05	0,009	0,144	0,40-0,60		0,1
Zn	0,36	0,045	0,72	0,30-0,43		5,0

## 5. Conclusão

Os testes preliminares demonstraram que ensaios de toxicidade podem ter grande aplicabilidade no monitoramento e gerenciamento de efluentes originários de resíduos sólidos, os quais podem apresentar grande potencial poluente, pois tendem a escoar superficialmente e chegar até rios e lagos ou infiltrar-se no solo e atingir lençóis freáticos. A CE(I)50 e os Fatores de Diluição, que indicam o nível de toxicidade do efluente, é de extrema importância pois permite avaliar as condições de descarte dos efluentes segundo legislações vigentes. Os testes de ecotoxicidade fornecem uma avaliação do potencial tóxico de substâncias ou de meios contaminados, permitindo a elaboração de deduções indiretas dos riscos para o meio ambiente e, com extremo cuidado, do seu perigo para o ser humano.

## 6. Agradecimentos

Agradeço as minhas orientadoras, pesquisadoras Allegra Viviane Yallouz e Silvia Egler pelos ensinamentos, dedicação, estímulo e apoio ao longo desse período de iniciação científica. A bolsista PCI Cristiane M. R. Pereira pelo auxílio e ensinamentos na realização dos testes de ecotoxicidade. Ao CNPq pela bolsa de iniciação científica e ao CETEM pela oportunidade de crescimento profissional.

## 7. Referências Bibliográficas

ABNT (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS) NBR 12713. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia ssp.* (Crustacea, Cladocera). 2009. 23p. Rio de Janeiro, RJ.

BERTOLETTI, E. **Controle Ecotoxicológico de Efluentes Líquidos no Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, Série Manuais. 2008, 36 pp.

CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). Resolução No. 357. Ministério do Meio Ambiente, 2005.

CONSEMA (CONSELHO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE). Resolução 129, de 24 de novembro de 2006. Secretaria do Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Sul, 2006.

DYER, S.D.; VERSTEEG, D.J.; BELANGER, S.E.; CHANEY, J.G.; RAIMOND, S.; BARRON, M.G. Comparison of Species Sensitivity Distributions Derived from Interspecies Correlation Models to Distributions used to Derive Water Quality Criteria. *Environ. Sci. Technol.*, v. 42, p. 3076-3083, 2008.

FATMA (FUNDAÇÃO DO MEIO AMBIENTE). Portaria 017/02, de 18 de abril de 2002. Fundação do Meio Ambiente do Estado de Santa Catarina, 2002.

FEEMA (FUNDAÇÃO ESTADUAL DE ENGENHARIA DO MEIO AMBIENTE). Norma Técnica 0213-R-4. Critérios e Padrões para Controle da Toxicidade em Efluentes Líquidos Industriais. Rio de Janeiro, RJ, 1990.

MANGILI, G.S. Análise dos Indicadores de Qualidade Ambiental na Operação do Aterro Sanitário do Município de Içara, SC. 2006. 125 p. Trabalho de Conclusão de Curso, Departamento de Engenharia Ambiental, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC (Brasil).

SÃO PAULO (ESTADO). Secretaria do Meio Ambiente. Resolução SMA n. 3, de 22 de fevereiro de 2000. Diário Oficial do Estado de São Paulo, Poder Executivo, São Paulo, v. 110, n. 39, 25/02/2000. Seção 1, p. 24.