

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

ÉRYKA COSTA DE ALMEIDA

**Análise ecotoxicológica da fração inorgânica do efluente da deslignificação do línter na
produção de nitrocelulose**

Lorena

2013

ÉRYKA COSTA DE ALMEIDA

**Análise ecotoxicológica da fração inorgânica do efluente da deslignificação do línter na
produção de nitrocelulose**

Monografia apresentada como requisito parcial para a conclusão de Graduação no Curso de Engenharia Bioquímica na Escola de Engenharia de Lorena – USP.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Teixeira da Silva.

Lorena

2013

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE
TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA
FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO
Chefia Técnica de Serviço de Biblioteca
Escola de Engenharia de Lorena

Almeida, Éryka Costa.

Análise ecotoxicológica da fração inorgânica do efluente da deslignificação do línter na produção de nitrocelulose / Éryka Costa de Almeida; orientador Flávio Teixeira da Silva. Lorena - 2013.

63 f.

Monografia apresentada como requisito parcial para a conclusão de Graduação do Curso de Engenharia Bioquímica. Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo.

1. Efluentes sintéticos 2. Compostos inorgânicos 3. Ecotoxicologia 4. *Daphnia similis*. 5. *Pseudokirchneriella subcaptata* I. Título. II. Silva, Flávio Teixeira da, Orient.

Aos meus pais Júlio César de Almeida e Cláudia Costa de Almeida pelo apoio e incentivo durante todo o meu curso de graduação.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Flávio, pela atenção e apoio durante o processo de definição, pesquisa e orientação.

À Profa. Dr. Teresa Cristina Brazil de Paiva, pelo apoio durante o processo de pesquisa no Laboratório de Ecotoxicologia.

À técnica Lúcia Aparecida Bernardes de Almeida Castro, que no período de convivência, muito me ensinou e ajudou, contribuindo para o meu crescimento científico e intelectual.

Ao técnico Cleber Mateus Tomazi de Oliveira, pelo apoio durante o processo de pesquisa no Laboratório de Caracterização de Materiais Lignocelulósicos.

À Universidade de São Paulo, pela oportunidade de realização do curso de graduação e pela bolsa concedida durante o período de pesquisa.

Ao Fundo Estadual de Recursos Hídricos, pelo financiamento ao projeto de pesquisa realizado.

O futuro pertence àqueles que acreditam na
beleza de seus sonhos.

Eleanor Roosevelt

RESUMO

ALMEIDA, E. C. **Análise ecotoxicológica da fração inorgânica do efluente da deslignificação do línter na produção de nitrocelulose.** 2013. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2013.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade da fração inorgânica do efluente da deslignificação do línter na produção de nitrocelulose de uma indústria de explosivos do Vale do Paraíba - SP. Para isso, foi feita uma caracterização química do efluente para determinação de pH, condutividade, carbono total, carbono orgânico total, carbono inorgânico total, dentre outros parâmetros. A partir dos dados da análise, foi gerado um efluente sintético contendo NaCl, NaF, CaSO₄.2H₂O, Ca(OH)₂, KOH, Mg(OH)₂ e NaOH nas mesmas concentrações do efluente industrial. O efluente sintético foi, então, utilizado em testes ecotoxicológicos com organismos aquáticos. Esta análise foi feita mediante testes de toxicidade aguda e crônica, expondo organismos aquáticos a diferentes concentrações do efluente em períodos curtos (horas a dias) e longos (parte ou todo ciclo de vida do organismo) de tempo, respectivamente. O teste agudo foi realizado utilizando-se o microcrustáceo *Daphnia similis* e cinco concentrações diferentes do efluente num período de dois dias completos. Enquanto que o teste crônico foi feito com a alga *Pseudokirchneriella subcapitata* e, também, cinco concentrações diferentes do efluente durante quatro dias. Os resultados desse trabalho foram expressos em concentração efetiva para os testes de toxicidade aguda e concentração de efeito observado, concentração de efeito não observado e valor crônico, para os testes de toxicidade crônica. Os resultados mostraram que a fração inorgânica do efluente da deslignificação do línter tem papel significativo na toxicidade do efluente em questão.

Palavras-chave: Efluentes sintéticos. Compostos inorgânicos. Ecotoxicologia. *Daphnia similis*. *Pseudokirchneriella subcaptata*.

ABSTRACT

ALMEIDA, E. C. **Ecotoxicological analysis of the inorganic fraction of the effluent from lint's delignification in the nitrocellulose production.** 2013. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2013.

This study aim was to evaluate the toxicity of the inorganic fraction from nitrocellulose production in an industry of explosives at "Vale do Paraíba" - SP. A chemical characterization of the effluent was performed measuring pH, conductivity, total carbon, total organic carbon and total inorganic carbon among other parameters. Based on the analysis data a synthetic wastewater was generated containing NaCl, NaF, CaSO₄.2H₂O, Ca(OH)₂, KOH, Mg(OH)₂ and NaOH on the same concentration of the industrial effluent. The synthetic effluent was then used on ecotoxicological tests with aquatic organisms testing acute and chronic toxicity exposing aquatic organisms to different concentrations of the effluent at short (hours to days) and long (part or whole organism life cycle) periods of time respectively. Microcrustacean *Daphnia similis* was used at the acute test performed by using five different effluent concentrations within two full days. While the algae *Pseudokirchneriella subcapitata* was used at the chronic test performed also using five different concentrations of the effluent for four days. The results were expressed as effective concentration for acute toxicity tests, observed effect concentration, no observed effect concentration and chronic values, for chronic toxicity tests. The results showed that the inorganic fraction of the lint delignification effluent poses a significant role in the toxicity of the effluent.

Keywords: Synthetic effluent. Inorganic compounds. Ecotoxicology. *Daphnia similis*. *Pseudokirchneriella subcapitata*.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	09
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1.	Celulose	12
2.2.	Nitrocelulose	13
2.2.1.	<i>Processo industrial</i>	14
2.2.1.1.	Purificação do línter bruto	14
2.2.1.2.	Branqueamento	15
2.2.1.3.	Nitração da celulose	15
2.2.2.	<i>Efluentes da produção da nitrocelulose</i>	17
2.2.3.	<i>Efluentes das indústrias de explosivos</i>	17
2.3.	Ensaio ecotoxicológicos	18
2.4.	Testes de toxicidade	19
2.5.	Organismos testes e suas sensibilidades	20
2.6.	<i>Daphnia similis</i>	20
2.7.	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	21
3.	METODOLOGIA	23
3.1.	Caracterizações do efluente bruto	23
3.1.1.	<i>Determinação de pH</i>	23
3.1.2.	<i>Determinação de cor</i>	23
3.1.3.	<i>Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)</i>	24
3.1.3.1.	Determinação da DQO de baixo teor – Método Hach adaptado	24
3.1.3.2.	Determinação da DQO de alto teor – Método Hach adaptado	25
3.1.4.	<i>Determinação da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO₅^{20°C})</i>	26
3.1.5.	<i>Determinação de sólidos sedimentáveis - Método do cone de Inhoff</i>	28
3.1.6.	<i>Determinação da concentração de Sólidos Totais (ST)</i>	28
3.1.7.	<i>Determinação da concentração de Sólidos Totais Fixos (STF)</i>	29
3.1.8.	<i>Determinação da concentração de Sólidos Totais Voláteis (STV)</i>	29
3.1.9.	<i>Determinação da concentração de Sólidos Suspensos Totais (SST)</i>	29

3.1.10.	<i>Determinação da concentração de Sólidos Suspensos Fixos (SSF)</i>	30
3.1.11.	<i>Determinação da concentração de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)</i>	30
3.1.12.	<i>Determinação da concentração de Sólidos Dissolvidos Totais (SDT)</i>	31
3.1.13.	<i>Determinação da concentração Sólidos Dissolvidos Fixos (SDF)</i>	31
3.1.14.	<i>Determinação da concentração de Sólidos Dissolvidos Voláteis (SDV)</i>	32
3.1.15.	<i>Determinação de fenóis totais</i>	32
3.1.16.	<i>Determinação da turbidez</i>	33
3.2.	Preparo dos efluentes sintéticos	33
3.3.	Preparo dos testes	34
3.3.1.	<i>Preparo da água de cultivo de <u>Daphnia similis</u></i>	34
3.3.2.	<i>Cultivo dos organismos: <u>Daphnia similis</u></i>	35
3.3.3.	<i>Teste de sensibilidade com a <u>Daphnia similis</u></i>	36
3.3.4.	<i>Teste de toxicidade aguda com a <u>Daphnia similis</u></i>	37
3.3.5.	<i>Teste de sensibilidade com a <u>Pseudokirchneriela subcapitata</u></i>	38
3.3.6.	<i>Teste de toxicidade crônica com a <u>Pseudokirchneriela subcapitata</u></i>	38
3.4.	Parâmetros físico-químicos	41
3.5.	Tratamento estatístico dos dados de toxicidade	41
3.6.	Síntese dos aspectos metodológicos dos testes de toxicidade	43
4.	RESULTADOS	44
4.1.	Caracterização química	44
4.2.	Testes de sensibilidade	45
4.3.	Testes de toxicidade	46
4.3.1.	<i>Teste de toxicidade aguda</i>	46
4.3.2.	<i>Testes de toxicidade crônica</i>	49
5.	CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS	53
	ANEXOS	57

1. INTRODUÇÃO

A água é sem dúvida o recurso natural mais importante para a vida do planeta. Recurso o qual se vê cada vez mais escasso e em condições inapropriadas para uso devido às diversas formas de poluição geradas pela população no decorrer do desenvolvimento de nossa sociedade. A poluição atinge o ser humano seja de forma direta pelo contato com a água ou de forma indireta através do consumo de alimentos por ingestão dos poluentes previamente absorvidos por seres vivos mais próximos à base da cadeia alimentar.

Os poluentes atingem os ecossistemas aquáticos por despejos de diversos compostos e materiais, através de processos naturais ou antropogênicos, podendo ser citado como exemplo dejetos de animais, no primeiro caso e agrotóxicos, sedimentos e despejos industriais, no segundo. Essas substâncias oferecem grande risco à saúde da população, principalmente por se tratar muitas vezes de compostos recalcitrantes à biodegradação e à degradação química.

Com o avanço tecnológico, a poluição tornou-se um grande problema a ser enfrentado na atualidade. Novas tecnologias são desenvolvidas e produtos são produzidos mais rapidamente e em maior escala. No entanto, se os problemas daí decorrentes não forem mitigados ou resolvidos o ambiente não suportará o crescimento industrial e tecnológico.

A partir da década de 60 a poluição se tornou um fato reconhecido internacionalmente, pois os resíduos sólidos e líquidos, inerentes aos processos produtivos, passaram a causar doenças e risco aos seres humanos e aos demais seres vivos. Diversos compostos orgânicos e inorgânicos encontrados nas águas são resultantes do despejo de águas residuárias de uso doméstico, industrial e de solos agricultáveis (IERO et al., 2003).

Suspeita-se que muitos destes compostos tóxicos sejam potentes agentes carcinogênicos (BERTOLETTI, 1989, 1990). Além disso, como as águas residuais normalmente contêm na sua composição mais de um composto orgânico, deve-se levar em consideração o efeito sinérgico que agrava ainda mais a contaminação ambiental (VANEGAS et al., 1997; BERVOETS et al., 1996). Assim, o tratamento de efluentes domésticos ou industriais antes do lançamento em corpos d'água, é de extrema importância.

Com o desenvolvimento industrial, a contaminação das águas tem aumentado mundialmente. Em decorrência desse fato, a legislação tornou-se mais rigorosa e as indústrias

foram obrigadas a atender diversas normas de controle da qualidade da água. A caracterização de determinado efluente industrial é efetuada de duas formas distintas, embora complementares. Algumas delas são as análises física e química, responsáveis pela identificação e quantificação de substâncias presentes no efluente, a outra é a análise ecotoxicológica, cuja importância aumenta cada vez mais e se baseia nos efeitos produzidos por estas substâncias em organismos vivos.

O complexo industrial localizado na região do Vale do Paraíba está entre os maiores e mais importantes do país, incluindo setores produtivos altamente diversificados, como as indústrias químicas, farmacêuticas, de alimentos, de papel e celulose, de explosivos, petroquímicas, siderúrgicas, metal mecânico e têxtil, entre outras (BRANDÃO, 2010).

Na ausência de tratamento, as águas residuárias lançadas diretamente nos rios, contribuem cada vez mais com a poluição do meio ambiente. A indústria de explosivos possui grande potencial poluidor dos ambientes aquáticos e seus efluentes apresentam compostos de difícil degradação e altamente tóxicos como cloro, lignina, 2,4,6-TNT e seus metabólitos (BRANDÃO, 2010).

A sociedade industrializada assumiu que os ecossistemas naturais têm certa capacidade de assimilação dos despejos por ela produzidos (ZIOLLI; JARDIM, 1998). No entanto, os organismos vivos e suas funções podem ser alterados pela presença destes rejeitos, o que se reflete em modificações como frequentes mortandades de peixes, florações de algas, interferência na propagação das espécies, significativo decréscimo da qualidade das águas e, até mesmo, morte de rios (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Com isso, um intenso estudo para a caracterização e tratamento de efluentes vem sendo feito e muitos destes já se encontram implementados em indústrias. Contudo, nem sempre os resultados são satisfatórios. Muitas vezes há redução de parâmetros como DBO, DQO e cor, mas a toxicidade não é eliminada do efluente (SILVA et al., 2007).

Como os ensaios ecotoxicológicos não dependem da substância química estar ou não isolada, eles preenchem a lacuna deixada pelas análises químicas.

Em geral, a toxicidade dos efluentes tem sido atribuída principalmente a sua alta carga de compostos orgânicos. Entretanto, a caracterização físico-química do efluente de deslignificação do líter, usado para fabricação de nitrocelulose, mostrou que além da alta carga orgânica, o efluente continha concentrações significativas de íons inorgânicos, os quais

segundo nossas hipóteses poderia estar contribuindo para elevada toxicidade desse efluente. Com isso, o objetivo deste Trabalho de Conclusão de Curso foi determinar o efeito ecotoxicológico da fração inorgânica do efluente de deslignificação do linter, gerado a partir da produção da nitrocelulose em uma indústria de explosivos. Nesse relatório são mostrados os resultados dos testes de toxicidade (aguda e crônica) determinados a partir de um efluente sintético contendo NaCl, NaF, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, KOH, $\text{Mg}(\text{OH})_2$ e NaOH nas mesmas concentrações do efluente industrial.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Celulose

A celulose é a matéria-prima básica para produção de nitrocelulose. As principais fontes de celulose são a madeira e o algodão. Para a produção de nitrocelulose, utilizam-se polpas com mais de 98% de pureza.

A celulose é um polímero de alta massa molar, de cadeias lineares, que tem como unidades repetitivas a celobiose, que é um dímero de β -D-glicose ($C_6H_{10}O_5$)_n, podendo ter de 1.500 a mais de 10.000 unidades desse açúcar (Figura 1). As unidades de glicose adjacentes são ligadas entre si pela eliminação de uma molécula de água proveniente das hidroxilas, ligadas ao carbono 1 e ao carbono 4. A posição β do grupo OH força um giro entre as unidades de glicose em torno do eixo C1 - C4 do anel piranosídico, tornando a molécula linear (FENGEL; WEGENER, 1989).

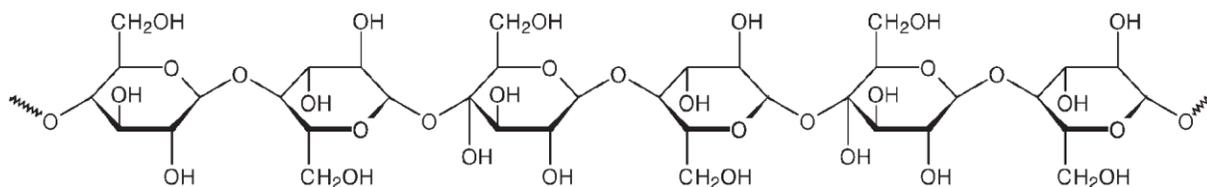


Figura 1 - Molécula de Celulose
Fonte: <http://qnint.s bq.org.br>

Devido à linearidade das cadeias, as moléculas adjacentes formam uma rede de agregados (microfibrilas) insolúveis em água, com comprimento e largura variados. As microfibrilas com diâmetro médio de 1 a 30 nm apresentam regiões cristalinas e amorfas (FENGEL; WEGENER, 1989).

A celulose não se dissolve em solventes comuns. Logo, os produtos derivados da celulose não podem ser preparados pelos métodos convencionais utilizados no tratamento de polímeros, como a formação a partir de fusões, soluções ou métodos de deformação plástica, dentre outros (FENGEL; WEGENER, 1989). Cada unidade de β -D-glicose contém uma hidroxila primária, representada pelo grupo $-CH_2-OH$, e duas hidroxilas secundárias, que

desempenharão um importante papel na transformação química da celulose em nitrocelulose, por reação com ácido nítrico. As hidroxilas primárias apresentam maior reatividade que as secundárias (VOTORANTIM, 2004).

Submetendo-se a celulose a tratamentos químicos, obtêm-se compostos com novas características e aplicações especiais, dentre os quais se citam os vários tipos de papel existentes e a nitrocelulose (TEMMING et al., 1973).

2.2. Nitrocelulose

A nitrocelulose (Figura 2) é considerada uma das mais antigas resinas sintéticas utilizadas na fabricação de tintas e vernizes. Produzida pela primeira vez há mais de 160 anos, passou a ser largamente empregada em tintas após a 1ª Guerra Mundial. Também representou um marco no desenvolvimento da indústria de tintas a nível mundial e foi responsável pela popularização das lacas automotivas e industriais, propiciando acabamentos de fácil aplicação, rápida secagem e alto desempenho. A sua rápida secagem foi o principal fator que tornou possível a produção em massa na indústria automobilística (BARCZA, apud BRANDÃO, 2010).

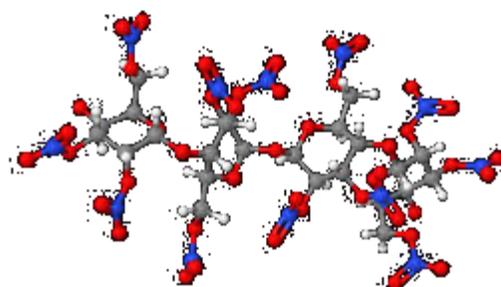


Figura 2 - Molécula de Nitrocelulose
Fonte: <http://qnint.sbq.org.br/>

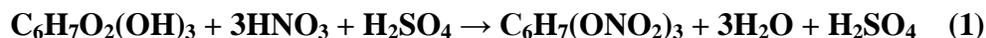
Há muito tempo foram detectadas propriedades explosivas do algodão nitrado. A descoberta de métodos para gelificar o material, transformando-o numa massa uniforme e densa, de aparência resinosa, reduziu a superfície e a rapidez da explosão. Com a descoberta de métodos apropriados de estabilização, para prolongar a vida em depósitos, a nitrocelulose logo deslocou a pólvora negra como propelente militar.

O grau de polimerização da nitrocelulose é determinado pelo número médio de unidades de β -D-glicose presentes nas moléculas de resina. O índice pode ser determinado pela viscosidade do produto em solução.

Durante o processo, algumas variáveis são controladas de acordo com a necessidade de aplicação. Os diferentes tipos de produto são caracterizados principalmente em relação ao teor de nitrogênio e à viscosidade (ou grau de polimerização). A nitrocelulose com alto teor de nitrogênio possui entre 11,8% a 12,3% do elemento em sua fórmula. O produto tem boa solubilidade em ésteres, cetonas e glicóis e é insolúvel em álcoois, exceto em metanol e quando em mistura com os solventes acima. É usada como solvente para tintas e vernizes. O produto com baixo teor de nitrogênio (10,8% a 11,3%) tem boa solubilidade em álcoois. Nitrocelulose com teor de nitrogênio, entre 12,5% e 13,6%, é praticamente insolúvel em álcoois e é destinada à fabricação de pólvoras e cargas para diversos explosivos de aplicações civis e militares (VOTORANTIM, 2004).

2.2.1. Processo industrial

Existem três grupos hidroxila por unidade fundamental de unidade de β -D-glucose que podem ser esterificados pelo ácido nítrico representada pela seguinte reação (1).



2.2.1.1. Purificação do línter bruto

Na etapa inicial, a purificação do línter de algodão ocorre através de dois tratamentos: o mecânico e o químico.

O línter bruto é estocado em fardos com aproximadamente 200 Kg, algodão bruto com coloração bege claro, contendo pequena presença de óleo. Inicialmente são retiradas as

impurezas *grossas* tais como: cascas, ramos, sementes, areia, pedras. Em seguida, o material é colocado na desfiadeira e transportado em esteira, que contém um imã, para a retirada de partículas metálicas; depois, segue para uma centrífuga que opera a pressão negativa, para eliminar os finos do línter.

O línter livre de impurezas segue para o tratamento químico. Em uma autoclave recebe uma solução de soda cáustica diluída (NaOH). Sob pressão e elevação de temperatura, há o processo de desgorduramento, onde são eliminadas proteínas, ceras, graxas e gorduras que envolvem as fibras. A soda ainda reage com a lignina do línter, solubilizando-a. Por último, o línter é lavado com água visando retirar a soda residual do línter (SANTOS, 2001, 2006).

2.2.1.2. Branqueamento

Após a polpação alcalina, a polpa celulósica é lavada exaustivamente com água, gerando um efluente rico em lignina que contém grupos hidroxilas formados pelo ataque dos grupos OH⁻ à molécula de lignina. A remoção da lignina e impurezas residuais é necessária para a obtenção de celulose com alto grau de alvura e pureza adequadas à nitração. Para tanto, a polpa é submetida ao processo de branqueamento, o que pode ser feito, por exemplo, pelo uso de NaClO.

2.2.1.3. Nitração da celulose

A celulose branqueada é colocada em silos para a alimentação dos reatores (nitradores). É transportada através de roscas sem fim para uma balança. Após a pesagem a celulose é colocada nos nitradores, normalmente em séries de cinco, junto com a mistura sulfonítrica (MSN) com composição aproximada e específica de acordo com tipo de nitrocelulose (NC) a ser preparada, segundo a Tabela 1.

Tabela 1 – Composição química da nitrocelulose (NC)

Tipo de NC	% N₂	% Ácido sulfúrico	% Ácido Nítrico	% Água
Baixa	11,3 - 12,3	57,3 - 57,6	26	16,4 – 16,7
Explosivo	12,5 - 13,6	59,0 – 66,0	26	8,0 – 15,0

A MSN é resfriada em trocadores de calor do tipo casco-tubo até uma temperatura próxima de 30° C. A reação de nitração ocorre nesta temperatura durante aproximadamente 25 minutos.

Os ácidos utilizados são parcialmente concentrados, para reutilização, ou são encaminhados para desnitrificação e concentração do ácido sulfúrico (SANTOS, 2001, 2006).

O produto nitrado segue para os refervedores sem pressão, onde é adicionada água para remover o ácido. Nesses refervedores dependendo do grau de nitração, o produto pode ficar de 2 horas (baixa nitração) até 70 horas (alta nitração).

Em toda reação de nitração ocorre também uma reação de sulfonação e por isso é necessária a remoção dos produtos sulfonados. A nitrocelulose que está nos refervedores sem pressão é mandada para autoclaves onde é feita a retirada desses produtos para garantir a sua estabilidade. Estas autoclaves trabalham a elevadas temperaturas ($\approx 142^{\circ}\text{C}$) e pressão acima da atmosférica.

Após a retirada dos compostos sulfonados, o ácido nítrico residual é retirado por lavagem, que pode ser à quente, frio ou alcalina (com carbonato de sódio ou cálcio) à pressão normal. A lavagem alcalina é usada para a nitrocelulose empregada na fabricação de explosivos. Na utilização como solvente ou fabricação de filmes, a nitrocelulose produzida é lavada apenas com água fria para retirar a acidez.

Para utilização na obtenção de explosivos o teor de água na nitrocelulose é reduzido a um valor mais baixo mediante a percolação com álcool (etanol). É colocada em centrífuga e o álcool é pulverizado para garantir uma distribuição uniforme e obter um produto homogêneo.

2.2.2. Efluentes da produção da nitrocelulose

A nitrocelulose é produzida em larga escala tanto a partir da celulose obtida pelas indústrias que produzem papel por polpação, que tem na madeira a principal matéria-prima, quanto pelas indústrias bélicas, que utilizam fibras de algodão como principal constituinte. A aplicação da nitrocelulose neste último setor industrial encontra-se em franca expansão no mercado brasileiro da produção de pólvoras, propelentes e dinamites à base de nitroglicerina (SANTOS, 2001, 2006).

Apesar destas indústrias utilizarem processos de características intrínsecas às suas cadeias produtivas, ambas geram efluentes da nitrocelulose, que são potencialmente poluidores ao ambiente nas etapas de deslignificação do línter e branqueamento da polpa de madeira e de algodão (SANTOS, 2001, 2006).

Segundo David et al. (1997), os despejos contendo resíduos de nitrocelulose (finos de NC) podem não apresentar uma ameaça toxicológica para os humanos, entretanto, a presença desses finos favorece a formação de lodo com características explosivas e requerem tratamento, pois podem prejudicar o meio ambiente.

O efluente da deslignificação do línter, também chamado lixívia é uma fonte constante de preocupação no que se refere à contaminação ambiental. No entanto, tem-se observado nas últimas décadas uma redução dos impactos ambientais, ainda que este continue alto, promovido principalmente pela criação de leis ambientais mais exigentes e pelo avanço tecnológico e científico no tratamento dos efluentes.

2.2.3. Efluentes das indústrias de explosivos

Muitos explosivos e componentes das misturas explosivas apresentam efeitos tóxicos. Podem-se detectar a toxicidade aguda, a crônica e o risco de câncer quando há contato prolongado com esses produtos. No meio ambiente, muitos explosivos e resíduos da sua queima podem persistir por longo tempo, outros se decompõem rapidamente. Essas são as

razões pelas quais os trabalhadores das indústrias de explosivos e as pessoas em contato com esses materiais precisam tomar cuidado quando os fabricam, manuseiam ou usam estes produtos.

Atualmente, uma das maiores preocupações durante o tratamento das águas residuárias contendo poluente, é com a sua toxicidade. A quantidade de agentes tóxicos encontrados nos ambientes aquáticos é alarmante e não se conhece exatamente o seu efeito na população (BLUM; SPEECE, 1990). Não se sabe ao certo se esses compostos podem ser removidos nas estações de tratamento convencionais, qual o seu impacto nos sistemas de tratamento biológico e que consequências eles trazem para as espécies aquáticas, quando lançados no ambiente.

2.3. Ensaio ecotoxicológicos

As indústrias, entre outras instituições, vêm adotando medidas de gerenciamento e monitoramento para a avaliação e controle dos agentes tóxicos presentes em efluentes líquidos. Segundo Gherardi-Goldstein et al. (1990) duas abordagens podem ser utilizadas com este objetivo: controle através de substâncias específicas e controle do efluente como um todo. O monitoramento através de substâncias específicas, também chamado de monitoramento químico, é realizado através da identificação e quantificação de substâncias potencialmente tóxicas no efluente, para as quais foram estabelecidos limites de emissão.

Ao se considerar a grande quantidade de substâncias lançadas no ambiente aquático por atividades industriais, entre outras, se torna analítica e economicamente inviável a identificação e estabelecimento de padrões de emissão para todas essas substâncias.

A ecotoxicologia aquática é definida como o estudo qualitativo e quantitativo dos efeitos adversos (toxicidade) de elementos químicos e outros materiais antropogênicos danosos à vida aquática (RAND; PETROCELLI, 1985).

Além das avaliações de efluentes industriais, os ensaios de toxicidade têm assumido um papel fundamental nas avaliações dos efeitos de substâncias químicas específicas, amostras de água e sedimentos sobre os organismos aquáticos. Arenzon (2004) verificou que

os ensaios de toxicidade com organismos aquáticos também podem ser aplicados no monitoramento de águas subterrâneas. Os ensaios de toxicidade constituem uma forma de biomonitoramento ativo, pois neles são utilizados organismos-teste.

2.4. Testes de toxicidade

De acordo com a duração da exposição ou em função da fase do ciclo vital, os testes de toxicidade são divididos em agudos e crônicos. Os testes de toxicidade aguda são testes de curta duração, utilizados para medir os efeitos dos agentes tóxicos em espécies aquáticas, durante uma parte do seu ciclo de vida. Esses testes avaliam efeitos na sobrevivência, entre outras funções vitais, em períodos de até 96 h (ADAMS; ROWLAND, 2003; RAND et al., 1995).

Para avaliar os efeitos dos testes de toxicidade aguda, determina-se a Concentração Efetiva Mediana (CE_{50}), concentração da amostra que causa algum tipo de efeito nas funções vitais ou até morte em 50% dos organismos-teste.

Há situações em que os testes de toxicidade aguda não podem assegurar níveis de proteção adequados. Nessa situação são indicados, então os testes de toxicidade crônica.

De modo geral, porém não exclusivo, esses efeitos subletais são observados em situações em que as concentrações do agente tóxico permitem a sobrevivência do organismo, embora afetem uma ou várias de suas funções biológicas, tais como reprodução, desenvolvimento de ovos, crescimento e maturação, dentre outras (CETESB, 1992; RAND et al., 1995). Normalmente, os efeitos crônicos causam alterações nos organismos, que precedem a sua morte. A duração dos ensaios de toxicidade crônica é função do ciclo de vida dos organismos em estudo. Em um teste completo, um organismo pode ser exposto por todo o seu ciclo de vida, isto é, de ovo a ovo.

Para avaliar os efeitos dos testes de toxicidade crônica, determina-se a Concentração de Efeito Não Observado (CENO) - a maior concentração da amostra que não causa efeito deletério estatisticamente significativo, em relação ao controle na sobrevivência e reprodução dos organismos nas condições de ensaio, e a Concentração de Efeito Observado (CEO) - a

menor concentração da amostra que causa efeito deletério, estatisticamente significativo, em relação ao controle na sobrevivência e reprodução dos organismos. CEO e CENO são determinadas examinando-se os dados e comparando-os com o controle, a fim de se detectar diferenças significativas via teste de hipóteses. Os efeitos podem ser: mortalidade, imobilização, redução da contagem de células (algas e bactérias) ou observações de alterações comportamentais.

A média geométrica da CEO e do CENO tem sido referida como a máxima concentração aceitável do agente tóxico, sendo conhecida como Valor Crônico (VC).

2.5. Organismos testes e suas sensibilidades

Uma combinação de critérios é utilizada para a seleção das espécies, eles incluem aspectos, econômico / prático e facilidade de cultivo, sensibilidade, ampla distribuição geográfica, abundância, importância ecológica e relevância do organismo indicador para os propósitos do estudo a ser realizado.

Em 1990, foi desenvolvido pela CETESB um estudo para determinar se o lançamento de substâncias tóxicas estava afetando o sistema aquático do rio Paraíba do Sul - SP. Foram coletadas amostras de água superficiais e do sedimento do Rio Paraíba do Sul, desde o município de Paraibuna até o sul fluminense. Para os ensaios agudos foram utilizados *Spirillum volutans*, *Microtox*, *Daphnia similis* e *Danio rerio*, sendo que o organismo-teste mais sensível foi *D. similis*.

2.6. *Daphnia similis*

A seleção de cladóceros, especialmente os pertencentes à ordem Anomopoda, família Daphniidae, deve-se aos seguintes fatores: ampla distribuição em habitats dulciaquícolas; comportam-se como importantes herbívoros (através da ingestão de algas e bactérias),

constituindo uma fração significativa da dieta de numerosas espécies de peixes e outros predadores; estabilidade genética (a reprodução partenogenética é uma característica importante, pois reduz a variabilidade genética, aumentando a reprodutibilidade dos resultados).

Daphnia similis (Straus, 1820), Figura 3, é um microcrustáceo planctônico, com comprimento máximo de 3,5 mm, que atua como consumidor primário na cadeia alimentar aquática e se alimenta por filtração de material orgânico particulado em suspensão. Os organismos deste gênero são vulgarmente conhecidos como pulgas-d'água e têm larga distribuição no hemisfério norte (NBR 12713/09).



Figura 3 - Micrografia (40x) do microcrustáceo *D. similis* (Laboratório de Ecotoxicologia da EEL – USP)

2.7. Pseudokirchneriella subcapitata

A alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* (Figura 4) foi isolada pela primeira vez na Noruega, em 1959. É utilizada em testes de toxicidade crônica, em que, normalmente, são avaliados parâmetros como biomassa, taxa de crescimento e ainda modificações morfológicas na cor, tamanho e forma.



Figura 4 – Micrografia (100x) da alga verde *P. subcapitata*
(Laboratório de Ecotoxicologia da EEL – USP)

3. METODOLOGIA

3.1. Caracterizações do efluente bruto

O efluente oriundo do processo de deslignificação do algodão foi coletado em volumes individuais de 5 L e separados em lotes menores de 1 L, em recipientes de PVC. A coleta foi efetuada a partir da primeira descarga de cada etapa, ou seja, o efluente em sua condição mais crítica (mais concentrado) e foram armazenados em freezer a - 18°C até o momento de sua utilização.

3.1.1. Determinação de pH

O pH do efluente foi determinado através de leitura direta no pHmetro, marca MICRONAL, modelo B-374, conforme padrão ASTM D 1293 - 84.

3.1.2. Determinação de cor

A cor foi determinada de acordo com o método padrão CPPA (1975). As amostras foram previamente centrifugadas por 15 min, a 3500 rpm e o pH ajustado para 7,6 com tampão fosfato 0,1 mol.L⁻¹. A um balão volumétrico de 500 mL foram adicionados 5 mL da amostra e o seu volume foi completado com água destilada. A absorbância da solução no espectro visível foi determinada em 465 nm contra água destilada, em um equipamento UV/visível DYNAMICA mod. HALO DB-20. As determinações foram realizadas em triplicata.

Os valores de absorvância foram transformados em unidades de cor (UC) de acordo com a equação (1).

$$Cor = 500 \times \frac{A_2}{A_1} \quad (UC) \quad (1)$$

Em que: A_1 = Absorvância de uma solução padrão de platina-cobalto de 500 UC ($A_{465}=0,132$);

A_2 = Absorvância da amostra do efluente, medida a 465 nm.

3.1.3. Determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

3.1.3.1. Determinação da DQO de baixo teor – método Hach adaptado

A determinação da DQO de baixo teor foi determinada de acordo com a metodologia descrita no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Analysis* (APHA, 1999).

Foram adicionados 2 mL da amostra em um tubo de Hack, 1,2 mL da solução digestora (preparada com 1,022g de Dicromato de Potássio; 33,3g de Sulfato de Mercúrio II e 167 ml de H_2SO_4 , avolumados com água destilada para 1000 ml) e 2,8 mL da solução catalítica (preparada com 10,12g de Sulfato de Prata diluído para 1000 ml com H_2SO_4 concentrado). Os tubos foram bem fechados, homogeneizados e aquecidos em um bloco digestor, à temperatura de 150°C, por duas horas. Após esse período, a amostra foi mantida no escuro até atingir temperatura ambiente. Realizou-se a leitura da absorvância da amostra digerida em um espectrofotômetro UV-visível (HALO DB-20- MARCA DYNAMICA) a 420 nm.

Os resultados foram expressos em $mg.L^{-1}$ de O_2 , conforme a equação obtida na curva de calibração, construída com padrões de biftalato de potássio (Gráfico 1).

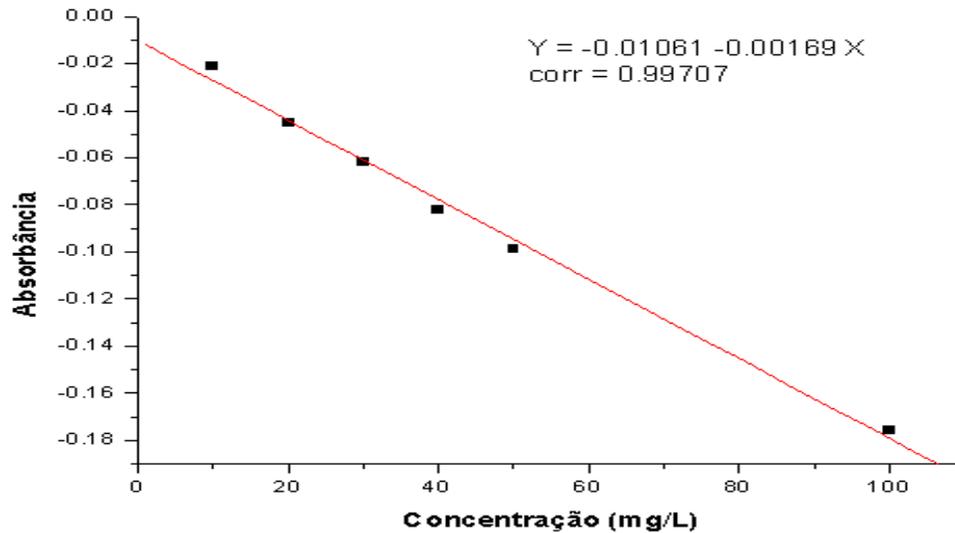


Gráfico 1 - Curva de calibração construída para a determinação da DBO de baixo teor.

3.1.3.2. Determinação da DQO de alto teor – Método Hach adaptado

A determinação da DQO de alto teor (conc. > 150 mg/l) foi determinada de acordo com a metodologia descrita no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Analysis* (APHA, 1999).

Foram adicionados 2,5 mL da amostra em um tubo de Hack, 1,5 mL da solução digestora (preparada com 10,122g de Dicromato de Potássio; 33,3g de Sulfato de Mercúrio II e 167 ml de H₂SO₄, avolumados com água destilada para 1000 ml) e 3,5 mL da solução catalítica (preparada com 10,12g de Sulfato de Prata diluído para 1000 ml com H₂SO₄ concentrado). Os tubos foram bem fechados, homogeneizados e aquecidos em um bloco digestor, à temperatura de 150°C, por duas horas. Após esse período, a amostra foi mantida no escuro até atingir temperatura ambiente. Realizou-se a leitura da absorbância da amostra digerida em um espectrofotômetro UV-visível (HALO DB-20- MARCA DYNAMICA) a 600 nm.

Os resultados foram expressos em mg.L⁻¹ de O₂, conforme a equação obtida na curva de calibração, construída com padrões de biftalato de potássio (Gráfico 2).

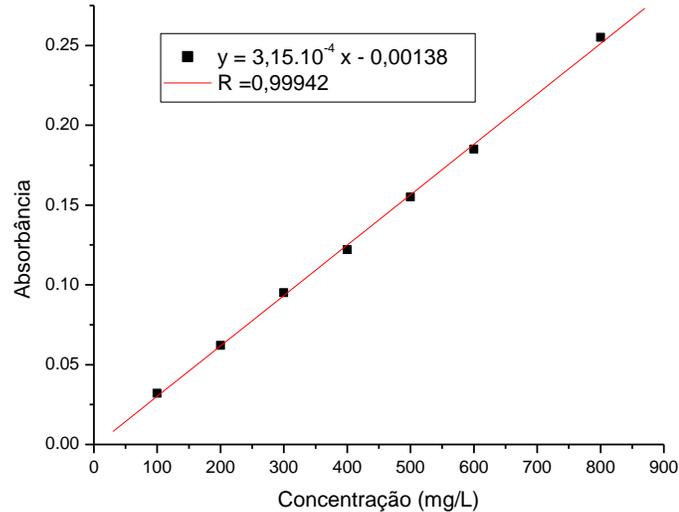


Gráfico 2 - Curva de calibração construída para a determinação da DBO de alto teor.

3.1.4. Determinação da Demanda Bioquímica de Oxigênio ($DBO_5^{20^\circ C}$)

As análises de DBO foram realizadas pelo método padrão APHA (1999).

A DBO foi determinada pela diferença entre a concentração de oxigênio dissolvido (OD), antes e após a incubação das amostras a $20 \pm 1^\circ C$, na ausência de luz, por um período de 5 dias. A diferença na concentração de oxigênio dissolvido se deve ao consumo do substrato contido na amostra pelos organismos nela existentes. A diferença do consumo de oxigênio nesse período, descontando-se o controle, foi a medida da demanda bioquímica de oxigênio em 5 dias (DBO) expressa como massa de oxigênio consumido por litro da amostra.

O oxigênio dissolvido foi determinado pelo método Winkler modificado.

Antes do início do ensaio, água destilada ou deionizada foi aerada por 24 h para garantir a saturação de oxigênio dissolvido entre 6 e 7 $mg.O_2.L^{-1}$.

A água de diluição foi preparada adicionando-se para cada litro 1 ml de solução tampão fosfato (preparada com 8,5 g de fosfato monobásico de potássio anidro, 21,75 g de fosfato de potássio dibásico anidro, 33,4 g de fosfato de sódio heptahidratado e 1,7 g de cloreto de amônio, solubilizado com água destilada para 1000 ml); 1 ml de solução de sulfato

de magnésio heptahidratado (22,5 g de sulfato de magnésio em 1L de água destilada); 1 ml de solução de cloreto férrico hexahidratado ($0,25 \text{ g.L}^{-1}$, em água destilada) e solução de cloreto de cálcio anidro ($27,5 \text{ g.L}^{-1}$, em água destilada).

A água de diluição foi suavemente homogeneizada e acondicionada, em uma câmara de DBO, por 1 a 2 horas, a $20 \pm 1^\circ \text{ C}$.

A diluição dos efluentes foi calculada a partir da concentração de DQO determinada inicialmente para cada amostra. Para $\text{DQO} > 500 \text{ mg.L}^{-1}$, $\text{volume} = 4000/\text{DQO}$. Para $\text{DQO} < 500 \text{ mg.L}^{-1}$, $\text{volume} = 3000/\text{DQO}$.

Para cada amostra, a DBO foi determinada a partir de 3 diluições. A primeira com o valor calculado, a segunda com o dobro do valor da primeira e a terceira com metade do valor da primeira diluição.

O pH das amostras foram ajustados para valores entre 6,5 e 7,5, corrigidos se necessário com solução de ácido sulfúrico 1N (28 ml de ácido sulfúrico concentrado p.a, avolumados para 1000 ml com água destilada) ou solução de hidróxido de sódio 1N (40 g.L^{-1} , em água destilada em banho de gelo).

Para cada frasco de DBO, foram adicionados cerca de 100 ml de água de diluição, o volume da amostra calculada (diluição) e 2 ml de semente sintética “B.O.D. seeds” fabricada pela Bio-Systems Corporation, usada como inóculo. O volume dos frascos foi completado vagorosamente até o selo d’água, através de um sifão, para que não ocorresse formação de bolhas de ar no interior dos frascos. Para cada diluição foram preparados 3 frascos. A concentração de oxigênio dissolvido em um dos frascos foi determinada imediatamente. Os outros dois restantes foram deixados na incubadora a $20 \pm 1^\circ \text{ C}$ no escuro durante 5 dias. Os frascos foram mantidos com o selo d’água preenchido para evitar a entrada de ar). Paralelamente, foram preparados 3 frascos para o controle, sem a adição de efluente e 3 frascos para o controle da água de diluição, sem adicionar a semente.

Após 5 dias determinou-se a concentração de oxigênio dissolvido para as duas amostras que foram incubadas.

A DBO foi calculada pela diferença de consumo de oxigênio dissolvido neste período, descontando-se o controle (DBO da semente) em 5 dias.

As determinações foram realizadas em triplicata.

3.1.5. Determinação de sólidos sedimentáveis - método do cone de Inhoff

Uma amostra de efluente foi agitada vigorosamente e em seguida transferida para um cone de INOFF graduado até a marca de 1 L. Após 45 min de repouso o cone foi suavemente girado, para deslocar os sólidos aderidos a suas paredes. Em seguida, o cone foi deixado em repouso por mais 15 min e o volume ocupado pelos sólidos sedimentados foi determinado e expresso $\text{mL.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

As determinações foram realizadas em triplicata.

3.1.6. Determinação da concentração de Sólidos Totais (ST)

A concentração de sólidos foi determinada pelo método padrão APHA (1999) modificado.

Uma alíquota de 100 mL do efluente foi colocada em uma cápsula de porcelana, previamente pesada, e seca em banho Maria até completa evaporação dos líquidos e então foi levada a uma estufa a $104 \pm 1^\circ\text{C}$ até massa constante. A amostra foi transferida para um dessecador, resfriada e pesada. A concentração de sólidos totais dos efluentes foi determinada de acordo com a equação (2).

As determinações foram realizadas em triplicata.

$$ST = \frac{(A - B) \times 1000}{Vol} \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} \quad (2)$$

Em que: A = massa da cápsula com a amostra seca a $104 \pm 1^\circ\text{C}$, em (g);

B = a massa da cápsula vazia, em g;

Vol = volume amostra, em L.

3.1.7. Determinação da concentração de Sólidos Totais Fixos (STF)

Após a pesagem da cápsula, a mesma foi colocada em uma mufla a $550 \pm 50^{\circ}\text{C}$, por uma hora. Após o resfriamento em dessecador, a cápsula foi pesada novamente. A concentração de STF foi determinada de acordo com a equação (3).

As determinações foram realizadas em triplicata.

$$STF = \frac{(C - B)}{\text{Vol}} \times 1000 \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} \quad (3)$$

Em que: C = peso da cápsula mais sólidos, após ignição a 550°C , em g;

B = peso da cápsula, seca e limpa, em g;

Vol. = volume da amostra, em L.

3.1.8. Determinação da concentração de Sólidos Totais Voláteis (STV)

A concentração de STV é representada pela fração volatilizada na calcinação do efluente e foi calculada a partir da diferença entre as concentrações de ST e STF, equação (4).

As determinações foram realizadas em triplicata.

$$STV = ST - STF \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} \quad (4)$$

3.1.9. Determinação da concentração de Sólidos Suspensos Totais (SST)

Uma alíquota de 100 mL de efluente foi filtrada em filtro de fibra de vidro previamente tarado e seco em estufa a $104 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Em seguida, o filtro contendo a fração retida do efluente foi secada em estufa a $104 \pm 1^{\circ}\text{C}$, por 1 h, transferida para um dessecador, resfriada até a temperatura ambiente e pesada em balança analítica, com precisão de 1 mg. A concentração de SST foi calculada através da equação (5).

As determinações foram realizadas em triplicata.

$$SST = \frac{(D - F) \times 1000}{Vol} \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} \quad (5)$$

Em que: D = massa do filtro contendo os sólidos retidos, em mg;

F = massa do filtro seco, em mg;

Vol = volume da amostra, em L.

3.1.10. Determinação da concentração de Sólidos Suspensos Fixos (SSF)

O filtro de fibra de vidro pesado no item 3.1.6, contendo os sólidos retidos após secagem em estufa a $104 \pm 1^\circ\text{C}$, por 1 h, foram levados para uma mufla a $550 \pm 50^\circ\text{C}$, por 1 h. Em seguida foi transferido e resfriado em um dessecador, e então pesado em balança analítica com precisão de 1 mg. O valor das concentrações de SSF foi calculado a partir da equação (6).

As determinações foram realizadas em triplicata.

$$SSF = \frac{(E - F) \times 1000}{Vol} \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} \quad (6)$$

Em que: E = massa do filtro contendo os sólidos, após a ignição a $550 \pm 50^\circ\text{C}$, em mg;

F = massa do filtro seco, em mg;

Vol = volume da amostra, em L.

3.1.11. Determinação da concentração de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)

A concentração de SSV é representada pela fração volatilizada na calcinação do efluente e foi calculada a partir da diferença entre as concentrações de SST e SSF, equação (7).

As determinações foram realizadas em triplicata.

$$SSV = SST - SSF \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} \quad (7)$$

3.1.12. Determinação da concentração de Sólidos Dissolvidos Totais (SDT)

Uma alíquota de 100 mL de efluente foi filtrada em filtro de fibra de vidro previamente tarado e seco em estufa a $180 \pm 1^\circ\text{C}$, por 1 h. O filtrado foi transferido quantitativamente para uma cápsula de porcelana seca e previamente tarada, a qual foi aquecida em banho-maria até a secura. Em seguida, a cápsula foi colocada em uma estufa a 180°C , por 1 h e posteriormente foi resfriada em dessecador até atingir a temperatura ambiente. A massa foi determinada em balança analítica, com precisão de 1 mg. A concentração de SDT foi calculada através da equação (8).

As determinações foram realizadas em triplicata.

$$SDT = \frac{(D - F) \times 1000}{Vol} \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} \quad (8)$$

Em que: D = massa do filtro contendo os sólidos retidos, em mg;

F = massa do filtro seco, em mg;

Vol = volume da amostra, em L.

3.1.13. Determinação da concentração Sólidos Dissolvidos Fixos (SDF)

A cápsula de porcelana pesada, contendo os sólidos presentes após secagem em estufa a $180 \pm 1^\circ\text{C}$, por 1 h, foi levada para uma mufla a $550 \pm 50^\circ\text{C}$, por 1 h. Em seguida foi transferida e resfriada em um dessecador, e então pesada em balança analítica com precisão de 1 mg. O valor das concentrações de SDF foi calculado a partir da equação (9).

As determinações foram realizadas em triplicata.

$$SDF = \frac{(E - F) \times 1000}{Vol} \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} \quad (9)$$

Em que: E = massa do filtro contendo os sólidos, após a ignição a $550 \pm 50^\circ\text{C}$, em g;

F = massa do filtro seco, em g;

Vol = volume da amostra, em L.

3.1.14. Determinação da concentração de Sólidos Dissolvidos Voláteis (SDV)

A concentração de SDV é representada pela fração volatilizada na calcinação do efluente e foi calculada a partir da diferença entre as concentrações de SDT e SDF, equação (10).

As determinações foram realizadas em triplicata.

$$SDV = SDT - SDF \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} \quad (10)$$

3.1.15. Determinação de fenóis totais

A concentração de fenóis totais foi determinada calorimetricamente conforme descrito por APHA (1999). O princípio do método foi a reação entre os compostos fenólicos presentes na amostra e a solução de 4-aminoantipirina em pH de 7,9 na presença de ferricianeto de potássio.

Adicionou-se 0,25 mL de NH_4OH 0,5 mol L^{-1} a amostra de 10 mL de efluente. Ajustou-se o pH para 7,9 com tampão fosfato (pH 6,8). Adicionou-se 0,1 mL de 4-aminoantipirina a 2% (p/v) e 0,1 mL de ferricianeto de potássio 8% (p/v). Após 15 min de repouso, fez-se a leitura da absorbância a 500nm em um Espectrofotômetro de UV-visível (DYNAMICA mod. HALO DB-20).

A concentração de fenóis totais foi determinada a partir de curva de calibração (Gráfico 3).

As determinações foram realizadas em triplicata.

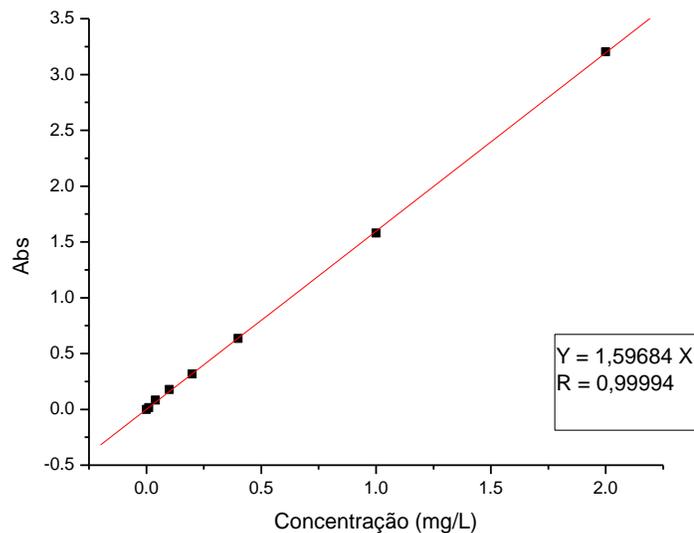


Gráfico 3 - Curva de Calibração construída para determinação de fenóis totais

3.1.16. Determinação da turbidez

A Determinação de turbidez foi realizada em um turbidímetro da marca TECNOPON, modelo TB 1000. Antes da leitura da turbidez das amostras de efluente, o equipamento foi calibrado com a utilização de padrões de 0,1; 0,8; 8; 80 e 100 NTU (Unidade Nefelométrica de Turbidez).

3.2. Preparo dos efluentes sintéticos

O efluente da deslignificação do línter, analisado neste trabalho, foi coletado em uma indústria de explosivos localizada no Vale do Paraíba/SP.

A caracterização detalhada dos compostos presentes no efluente foi efetuada previamente (BRANDÃO, 2010).

A partir dos dados dessa análise, foi gerado um efluente sintético contendo NaCl, NaF, CaSO₄.2H₂O, Ca(OH)₂, KOH, Mg(OH)₂ e NaOH (Tabela 2) nas mesmas concentrações do efluente industrial.

Tabela 2 - Concentrações dos reagentes utilizados na preparação do efluente sintético

Reagente Concentração	NaCl	NaF	CaSO ₄ .2H ₂ O	Ca(OH) ₂	KOH	Mg(OH) ₂	NaOH
	mg/L	4589	72,8	134,4	69,71	26,8	54,22
mmol/L	78,5	1,73	0,78	0,94	0,48	0,93	182,7

3.3. Preparo dos testes

3.3.1. Preparo da água de cultivo de *Daphnia similis*

Tabela 3 - Composição das soluções-estoque

Solução estoque 1: NaNO ₃ 10,0g Na ₂ SiO ₃ 1,7183g KH ₂ PO ₄ 1,8125g K ₂ HPO ₄ 2,0g Água processada 1000mL	Solução estoque 2: KCl 2,0g MgSO ₄ .7H ₂ O 5,1455g Água processada 1000mL	Solução estoque 3: CaCl ₂ .2H ₂ O 24,4269g Água processada 1000mL
Solução estoque 4: EDTA 2,5g H ₃ BO ₃ 2,8g FeCl ₃ .6H ₂ O 0,966g MnCl ₂ .4H ₂ O 0,36g LiCl 0,3035g RbCl 0,071g SrCl ₂ .6H ₂ O 0,1517g NaBr 0,0321g Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O 0,063g CuCl ₂ .2H ₂ O 0,0336g ZnCl ₂ 0,026g CoCl ₂ .6H ₂ O 0,0101g KI 0,0033g Água processada 1000mL	Solução estoque 5: SeO ₂ 0,0014g Água processada 1000mL Solução estoque 6: NH ₄ VO ₃ 0,0011g Água processada 1000mL	Solução estoque 7: Vitamina B ₁₂ 0,0010g Água processada 1000mL

Para preparar o meio MS (meio com sais inorgânicos e vitamina B12), no qual os organismos foram cultivados, utilizou-se 7 soluções-estoque. Para cada 982,0 mL de água destilada usou-se 5,0 mL de cada uma das soluções-estoque 1 e 2; 1,0 mL de cada uma das soluções-estoque 3,5,6 e 7; 4,0 mL da solução-estoque 4. A composição de cada uma das soluções-estoque esta apresentada na Tabela 3.

A solução preparada foi mantida sob aeração e utilizada após 24 horas do seu preparo.

3.3.2. Cultivo dos organismos: *Daphnia similis*

Os organismos *Daphnia similis* foram alimentados todos os dias com exceção dos finais de semana, quando ficavam dois dias sem alimentos (tempo limite que estes podiam ficar sem serem alimentados). A alimentação dos mesmos foi realizada através da alga *Pseudokirchneriella subcapitata* e de um complemento alimentar produzido a partir de ração de truta fermentada Tetramin®.

A troca dos microorganismos também foi necessária para a manutenção de um cultivo satisfatório. Nesse procedimento os organismos foram trocados de seus cristalizadores, reservatórios nos quais eram criados, para cristalizadores com nova água de cultivo preparada. Os microorganismos foram transferidos através da pipeta de Pasteur previamente lavada com água destilada. Nos cristalizadores foram mantidos cerca de 45 organismos.L⁻¹. A troca foi realizada duas vezes por semana, às segundas-feiras, e quintas-feiras, sendo que esta última era chamada “troca de idade”.

A “Troca de idade”, realizada sempre às quintas-feiras, teve por fim o controle a idade dos microorganismos. Esse controle foi necessário, pois de acordo com a NBR 12713, os testes de toxicidade devem utilizar neonatos dos organismos citados com duas a três semanas de vida. Sendo assim, na Troca de Idade, organismos com idade de uma semana foram transferidos para novos cristalizadores, nomeados organismos de duas semanas. Da mesma forma, organismos de duas semanas eram transferidos para novos cristalizadores nomeados de três semanas, e os cristalizadores de uma semana deveriam ser criados a partir de neonatos,

filhotes dos organismos. Lembrando que a nova água utilizada nesses cristalizadores continha para alimentação, alga e alimento composto.

3.3.3. Teste de sensibilidade com a *Daphnia similis*

A avaliação da sensibilidade das culturas de *D. similis* foi feita mensalmente, utilizando-se como substância de referência o cloreto de sódio (NaCl), de acordo com os procedimentos descritos na NBR 12713/09.

As concentrações-teste foram preparadas com água de cultivo, a partir de uma solução-estoque de NaCl 6,0 g.L⁻¹ em água destilada, para os testes com a *D. similis*. A CE_{50, 48 h} foi calculada pelo método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977), e resultados expressos em g.L⁻¹.

Tabela 4 - Preparação de teste de sensibilidade da *Daphnia similis*

Concentrações	Volume da Solução	Volume Água de
(g/L)	(mL)	Cultivo (mL)
3,6	60,0	40,0
3,0	50,0	50,0
2,3	38,3	61,7
2,0	33,0	67,0
1,6	26,7	73,3
Controle	0,00	100,0

As soluções foram preparadas em balões de 100 mL, de acordo com as concentrações e volumes mostrados na Tabela 4.

O volume final das soluções em todos os recipientes deve ser o mesmo (100 mL).

3.3.4. Teste de toxicidade aguda com a *Daphnia similis*

Os ensaios de toxicidade com o microcrustáceo *Daphnia similis* foram realizados conforme a NBR 12713/09. Os exemplares iniciais para o cultivo deste organismo foram obtidos na CETESB, onde são mantidos rotineiramente.

Neonatos com 6 a 24 h de vida foram expostos a cinco concentrações dos efluentes estudados mais o controle com água de diluição, por 48 h. Os testes foram realizados em recipientes com capacidade de 30 mL contendo 10 mL de solução-teste (Tabela 5). No ensaio preliminar foram utilizados 10 organismos distribuídos em 2 réplicas e no ensaio definitivo 20 organismos distribuídos em quatro réplicas com 5 organismos em cada. O teste preliminar foi conduzido nas mesmas condições do teste definitivo, exceto pelo tempo de duração que foi de 24 h no ensaio preliminar. Os organismos foram mantidos em câmaras incubadoras com fotoperíodo, sem alimentação, a $20 \pm 2^\circ \text{C}$.

Tabela 5 - Modo de preparo das soluções-teste com águas e efluentes para o ensaio com *D. similis*

Solução-teste (%)	Volume da amostra (mL)	Volume de água de diluição (mL)	Volume final (mL)
100	100	0	100
50	50	50	100
25	25	75	100
12,5	12,5	87,5	100
6,2	6,2	93,8	100
3,1	3,1	96,9	100
Controle	-	100	100

Após o período de exposição de 48 h, realizou-se a contagem dos organismos imóveis, sendo considerados imóveis aqueles que não conseguirem nadar dentro de um intervalo de 15 segundos, após leve agitação do recipiente. A CE_{50} foi calculada pelo método Trimmed Spearman – Karber (HAMILTON et al., 1977). Os resultados foram expressos em porcentagem para efluentes líquidos e, considerados válidos, se no término do período de ensaio a porcentagem dos organismos imóveis no controle não excedeu 10%.

3.3.5. *Teste de sensibilidade com a Pseudokirchneriella subcapitata*

A avaliação da sensibilidade da cultura algácea de *P. subcaptata* foi feita mensalmente utilizando sulfato de zinco ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) como substância de referência, de acordo com os procedimentos descritos na NBR 12648/11.

Foram utilizadas as concentrações-teste de 0,03; 0,06; 0,12; 0,25 e 0,50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, preparadas com água processada a partir de uma solução-estoque de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. O ensaio foi realizado nas mesmas condições que o ensaio com as amostras. Os resultados foram expressos em concentração de inibição (CIP) à 50% dos organismos ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) e calculados conforme o programa ICP (the inhibition concentration program) versão 2.0 (1993).

3.3.6. *Teste de toxicidade crônica com a Pseudokirchneriella subcapitata*

O método para determinação da toxicidade crônica com a alga verde *Pseudokirchneriella subcaptata* foi realizado conforme a metodologia NBR 12648/11.

Este método permite avaliar os efeitos tóxicos do efluente sobre o crescimento de uma cultura específica de algas, em fase exponencial de crescimento. A cultura foi exposta a pelo menos cinco diferentes concentrações dos efluentes avaliados mais o controle, tudo em triplicata, por 96 h, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, intensidade luminosa de 3500 Lux e agitação de 130 rpm. Como recipientes-teste foram utilizados frascos erlenmeyer de 250 mL, contendo um volume final de 100 mL de solução-teste. Para cada efluente foi realizado um ensaio preliminar, para definir as concentrações a serem utilizadas no ensaio definitivo, e o ensaio definitivo para a determinação da CEO, CENO e do VC.

Tabela 6 - Composição do meio L.C.Oligo (NBR 12648/11)

Solução	Reagente	Quantidade (mg)	Preparo
1	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	4 000	Dissolver e diluir a 100 mL com água processada
2	KNO ₃	10 000	
3	MgSO ₄ .7H ₂ O	3 000	
4	K ₂ HPO ₄	4 000	
5	CuSO ₄ .5H ₂ O	30	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	60	
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	60	
	CoCl ₂ .6H ₂ O	60	
	Mn(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	60	
6	C ₆ H ₈ O ₂ .H ₂ O	60	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada
	H ₃ BO ₃	60	
	C ₆ H ₅ FeO ₇ .5H ₂ O	1 625	
	FeCl ₃ .6H ₂ O	625	
7	FeSO ₄ .7H ₂ O	625	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada
	NaHCO ₃	15 000	

A alga *P. subcaptata* foi adquirida junto à unidade da EMBRAPA de Jaguariúna/SP. O inóculo algal utilizado no ensaio foi preparado adicionando-se 100 µL da cultura algácea mantida em estoque no meio líquido, em 100 mL do meio de cultivo L.C.Oligo (Tabela 6), previamente autoclavado a 120°C, por 15 minutos. O inóculo algal foi iniciado 3 a 7 dias antes do ensaio, sendo mantido em incubação na mesa agitadora nas mesmas condições de temperatura, luminosidade e agitação utilizadas no ensaio. No dia do ensaio, o inóculo, já em fase exponencial de crescimento, foi utilizado para inocular as soluções-teste em um volume compreendido entre 0,1 e 1,0 mL, de forma que a concentração inicial de algas estivesse entre 10⁴ células.L⁻¹ e 10⁵ células.L⁻¹ no volume final de 100 mL das soluções-teste.

O número de células algáceas foi determinado pelo método de contagem celular em câmara de Neubauer no microscópio óptico. Tanto a preparação dos inóculos como a montagem dos ensaios ocorreu na câmara de fluxo laminar para evitar contaminações.

Os recipientes-teste foram dispostos aleatoriamente na mesa agitadora e suas posições alteradas diariamente, diminuindo assim possíveis interferências espaços-temporais. Os ensaios foram montados usando-se os efluentes sem ajuste de pH. Os esquemas de preparo das soluções-teste com o meio L.C.Oligo pode ser visto na Tabela 7.

Tabela 7 - Modo de preparo das soluções-teste com águas e efluentes utilizando o meio L.C.Oligo e amostra enriquecida

Solução-teste (%)	Volume da amostra enriquecida (mL)	Volume do meio de cultura (mL)	Volume final (mL)
100	100	-	100
50	50	50	100
25	25	75	100
12,5	12,5	87,5	100
6,2	6,2	93,8	100
3,1	3,1	96,9	100
Controle	-	100	100

A medida do crescimento algáceo final, também, foi realizada através do método de contagem celular em câmara de Neubauer em microscópio óptico. A densidade algácea foi determinada nos controles no início do ensaio e em todos os recipientes-teste no final do ensaio. As densidades médias produzidas em 96 h foram obtidas pela subtração das densidades finais pelas iniciais. Essas médias foram utilizadas para obtenção da CEO e CENO e cálculo do VC através do programa Toxstat (GULLEY, 1994). Os resultados foram expressos em porcentagem (%) para os efluentes líquidos e, considerados válidos quando ao término do período de ensaio, o crescimento da densidade algácea média do controle fosse pelo menos 100 vezes superior à densidade inicial, para 96 h de exposição, e o coeficiente de variação da densidade algácea das replicatas do controle, no término do ensaio, for menor ou igual a 20%.

3.4. Parâmetros físico-químicos

Em todos os testes, foram determinados o pH, a condutividade e a dureza no início e término dos experimentos.

O pH e a condutividade foram medidos em pHmetro e condutivímetro, respectivamente. Já a dureza, foi medida através de titulação.

Para medir a dureza, colocou-se em um erlenmeyer 50 ml da solução a ser titulada, 5 a 7 gotas do indicador negro de eriocromo e 1 ml da solução tampão $\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4\text{Cl}$. Como padrão utilizou-se o EDTA, Ácido etilenodiamino tetra-acético, na bureta. A dureza foi calculada segundo a seguinte equação (11).

$$\text{Dureza} = \frac{\text{Volume EDTA} \times 1000 \times F}{\text{Volume amostra}}$$

Unidade de Dureza --> mg/L CaCO_3

(11)

Em que: F é o fator de correção do EDTA.

3.5. Tratamento estatístico dos dados de toxicidade

Os resultados dos testes de toxicidade crônica com a alga *P. subcaptata* foram submetidos a vários testes estatísticos que compõem o Programa Toxstat 3.4 (GULLEY, 1994, sendo eles: análise de normalidade dos dados __ teste de Chi-quadrado __ e homogeneidade das variâncias __ teste de Bartlett). Quando verificado que os dados apresentavam distribuição normal, estes foram analisados através do teste de Dunnett, o qual compara cada tratamento com o controle experimental. Porém, quando não verificada a normalidade dos dados e homogeneidade das variâncias, foi aplicado o teste Many-One de Steel (semelhante ao de Dunnett). Em caso de experimentos que apresentaram número desigual de réplicas foi utilizado o método de Benferroni que é semelhante ao de Dunnett.

Após seguir o procedimento descrito acima, pelo teste de Dunnett, determinou-se a menor concentração que causou efeito significativamente diferente do controle, CEO (concentração de efeito observado) e, a maior concentração que não causou nenhum efeito em relação ao controle, CENO (concentração de efeito não observado). A partir destes dados, calculou-se o VC em porcentagem para as amostras dos efluentes.

Para a elaboração da carta-controle de sensibilidade dos organismos com dados obtidos ao longo do período amostral, utilizou-se o programa Microcal Origin 5.0, onde foram obtidos gráficos com os valores de CE_{50} e CL_{50} com a média obtida para cada organismo-teste ± 2 desvios.

Na comparação de sensibilidade dos organismos foi utilizado o tratamento estatístico mais adequado para os dados obtidos conforme referências (BARROS NETO et al., 2007; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006) que levou em consideração os limites de confiança obtidos para os valores de CE_{50} ou CL_{50} que se quis comparar segundo as equações (12), (13) e (14).

$$G = \left(\log \left(\frac{UL_{(1)}}{CE_{50(1)}} \right) \right)^2 + \left(\log \left(\frac{UL_{(2)}}{CE_{50(2)}} \right) \right)^2 \quad (12)$$

Em que: $UL_{(1)}$ = intervalo de confiança superior para o teste 1;

$UL_{(2)}$ = intervalo de confiança superior para o teste 2;

$CE_{50(1)}$ = concentração efetiva para o teste 1;

$CE_{50(2)}$ = concentração efetiva para o teste 2;

$$H = 10^G \quad (14)$$

$$Z = \frac{CE_{50 \text{ maior}}}{CE_{50 \text{ menor}}} \quad (13)$$

Se $Z > H$: há diferença significativa entre os valores de CE_{50} .

3.6. Síntese dos aspectos metodológicos dos testes de toxicidade

Na Tabela 8 pode ser vista uma síntese das metodologias utilizadas no presente trabalho para os ensaios ecotoxicológicos utilizados na avaliação do efluente sintético da deslignificação na produção da nitrocelulose.

Tabela 8 - Síntese dos principais aspectos metodológicos utilizados nos ensaios de toxicidade

Organismo	Toxicidade A = aguda C = crônica	Nº de organismos por teste ou concentração	Nº de réplicas	Temperatura	Duração
<i>P. subcaptata</i>	C	$10^4 - 10^5$ céls . L ⁻¹	3	$25 \pm 2^\circ\text{C}$	96 h
<i>D. similis</i>	A	20 organismos	4	$20 \pm 2^\circ\text{C}$	48 h

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização química

As características do efluente de deslignificação do línter, usado como referência nesse trabalho, são mostradas na Tabela 9.

Tabela 9 - Características do efluente de deslignificação do línter

Parâmetros	Valores Obtidos
pH	12,7 ± 0,4
Cor verdadeira UC	54.167 ± 1071
DBO _{5/20} (mg O ₂ .L ⁻¹)	5.865 ± 128
DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	23.405 ± 230
S.T (mg.L ⁻¹)	37.048 ± 917
STV (mg.L ⁻¹)	15.522 ± 772
STF (mg.L ⁻¹)	21.524 ± 7151
S.S.T (mg.L ⁻¹)	851 ± 60
S.S.V (mg.L ⁻¹)	624 ± 82
S.S.F (mg.L ⁻¹)	226 ± 84
SDT (mg.L ⁻¹)	36.197 ± 919*
SDV (mg.L ⁻¹)	14.898 ± 776*
SDF (mg.L ⁻¹)	21.524 ± 7171*
CT (mg.L ⁻¹)	4.576
COT (mg.L ⁻¹)	3.469
CIT (mg.L ⁻¹)	1.108
Fenóis totais (mg.L ⁻¹)	3,8 ± 0,1

(*) valores calculados por diferença

O efluente apresentou alta concentração de compostos inorgânicos, como mostrado pelo teor de STF (21.524 ± 7151) mg.L⁻¹ (Tabela 9). A análise dessa fração, por cromatografia

de íons, revelou a presença de diferentes cátions e ânions (Tabela 10), cujas concentrações foram utilizadas para a obtenção do efluente sintético, usado nos testes de toxicidade.

Tabela 10 - Composição iônica do efluente da deslignificação do línter

Concentração \ Íon	Na ⁺	Ca ²⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	F ⁻
mg/L	6045	69	18,7	22,6	2784	75	32,95
mmol/L	262,95	1,72	0,48	0,93	78,53	0,78	1,73

4.2. Testes de sensibilidade

Os resultados dos testes de sensibilidade feitos no período da pesquisa com a *D. similis* e a *P. subcaptata* encontram-se nas cartas-controlé dos Gráficos 4 e 5, respectivamente.

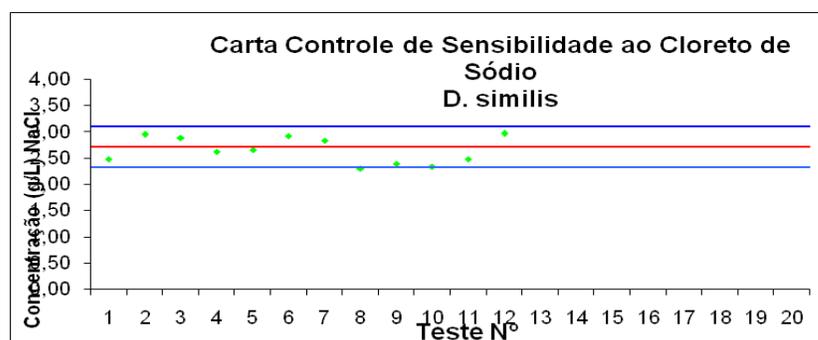


Gráfico 4 - Carta controle de sensibilidade da *D. similis*

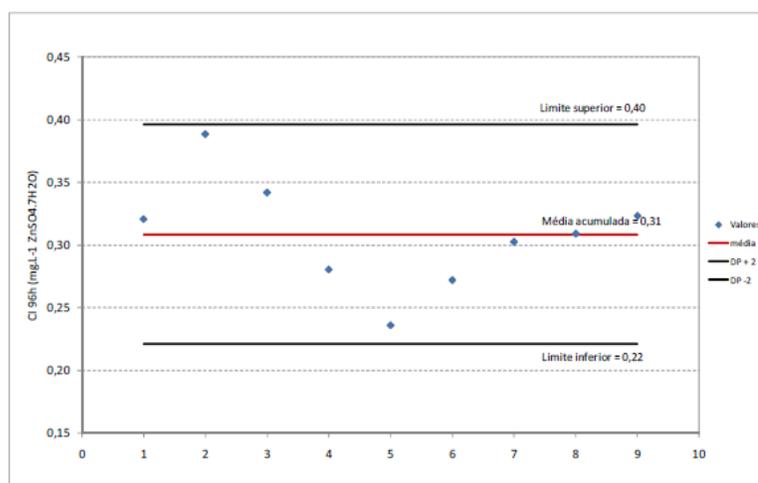


Gráfico 5 - Carta controle de sensibilidade da *P. subcaptata*

As cartas-controlê mostraram que a sensibilidade dos três organismos analisados, *D. similis* e *P. subcaptata*, apresentou-se estável durante o período dos testes.

4.3. Testes de toxicidade

Os resultados para todos os testes de toxicidade são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Resultados dos testes de toxicidade crônica e aguda realizados com a alga *Pseudokirchneriella subcaptata* e com o microcrustáceo e *Daphnia similis* para o efluente sintético de deslignificação do línter com o pH corrigido e original e para o efluente bruto da deslignificação do línter

EFLUENTE	Teste Crônico <i>P. subcaptata</i>			Teste Agudo <i>D. similis</i>
	CEO (%)	CENO (%)	VC (%)	CE _{50, 48h} (%)
Efluente Sintético da Deslignificação pH ~ 8	0,8	0,4	0,6	27,74
Efluente Sintético da Deslignificação pH ~ 13	nd	nd	nd	2,26
Efluente Bruto da Deslignificação pH ~7	0,2	0,1	0,15	0,23

nd = Não Detectado

4.3.1. Testes de toxicidade aguda

Os resultados dos testes com a *D. similis*, mostraram que o efluente sintético foi altamente tóxico para esse organismo (CE_{50,48h} = 2,26%). Quando esse efluente foi

neutralizado com H_2SO_4 concentrado a toxicidade foi reduzida ($CE_{50,48h} = 27,74\%$), porém ainda permaneceu alta. A comparação desses resultados com aqueles obtidos com o efluente original, após neutralização, $CE_{50,48h} = 0,23\%$ (RIBEIRO, 2008), Gráfico 8 e Tabela 12, revelaram que a toxicidade aguda do efluente foi causada tanto pelos compostos orgânicos como pelos inorgânicos. A porcentagem de imobilidade da *D. similis* nos ensaios de toxicidade com o efluente sintético com pH 13, com pH 8 e do efluente bruto da deslignificação podem ser visualizadas nos Gráficos 6, 7 e 8.

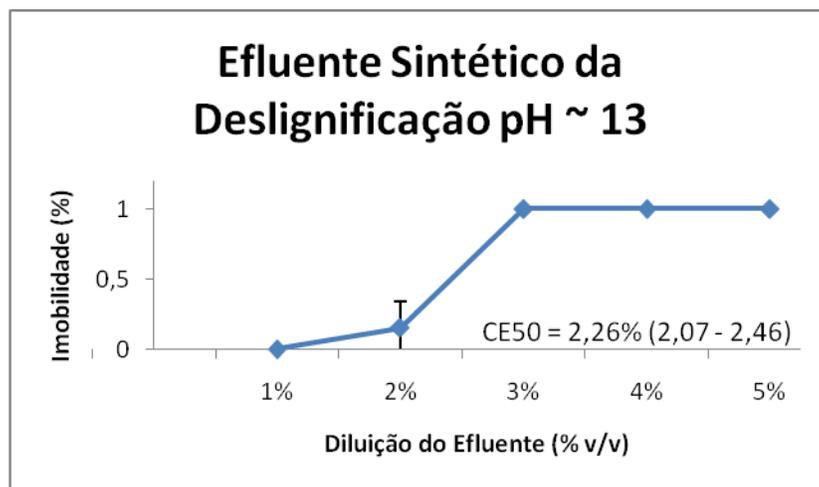


Gráfico 6 - Imobilidade (%) obtida nos ensaios de toxicidade aguda para *D. similis* com valores de $CE_{50,48h}$ e respectivos intervalos de confiança para o efluente sintético da deslignificação do linter na produção de nitrocelulose (pH 13)

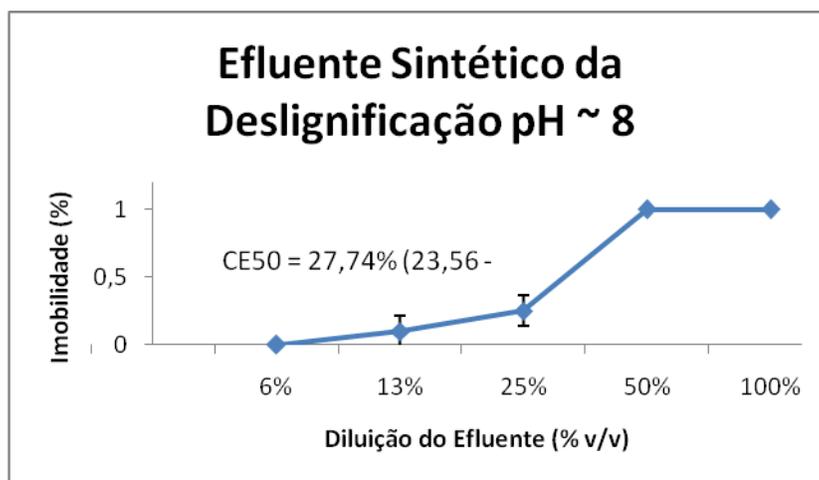


Gráfico 7 - Imobilidade (%) obtida nos ensaios de toxicidade aguda para *D. similis* com valores de $CE_{50,48h}$ e respectivos intervalos de confiança para o efluente sintético da deslignificação do linter na produção de nitrocelulose (pH 8)

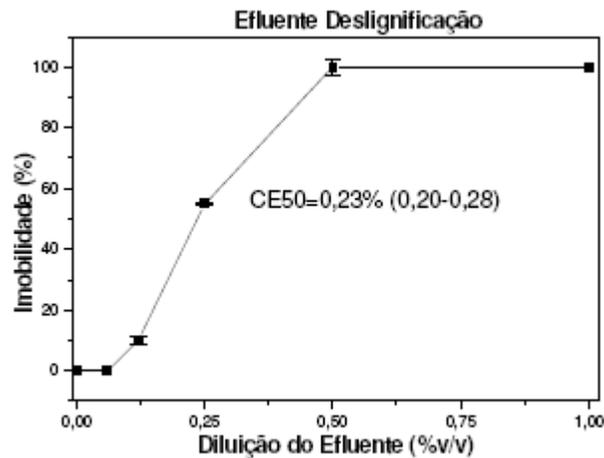


Gráfico 8 - Imobilidade (%) obtida nos ensaios de toxicidade aguda para *D. similis* com valores de $CE_{50, 48h}$ e respectivos intervalos de confiança para o efluente bruto da deslignificação do linter na produção de nitrocelulose

Tabela 12- Resultados da determinação dos parâmetros físico-químicos (pH, condutividade, dureza e OD inicial e final) realizados durante os ensaios de toxicidade aguda com *D. similis* para o efluente bruto da deslignificação do linter

Efluente (%)	pH		Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)		Dureza ($\text{mgL}^{-1} \text{CaCO}_3$)		OD (mg/L)	
	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>f</i>
0	7,20	7,30	140,3	142,6	43,00	44,00	7,7	7,5
0,06	7,84	7,94	192,1	156,2	68,30	75,75	7,4	8,3
0,12	7,87	7,91	180,3	170,8	68,30	74,30	6,0	7,8
0,25	7,50	7,86	212,5	214,1	68,30	75,75	7,3	8,7
0,50	7,43	7,85	287,5	279,5	69,30	73,75	6,3	5,8
1,00	7,27	7,90	436,2	428,0	69,30	73,90	6,9	6,3

i: inicial; *f*: final

Apesar do organismo utilizado no presente trabalho ser *D. similis*, alguns resultados aqui obtidos foram comparados a toxicidade de *D. magna*. Buratini et al. (2004), com objetivo de validar o uso de *D. similis* como espécie teste, fizeram um estudo comparativo utilizando dados obtidos em testes de toxicidade aguda com essa espécie e *D. magna*. Baseado nos resultados de toxicidade aguda, testes com compostos químicos e efluentes industriais, as duas espécies exibiram sensibilidade similar à maioria das amostras avaliadas. A CE_{50} da *D. similis* ao fenol e aos efluentes de uma indústria papeleira foram 52,13 e 637,07 mg/L, respectivamente.

Compostos presentes nos efluentes da deslignificação, como os extrativos, inclusive a lignina, podem estar relacionados à elevada toxicidade encontrada para este efluente, CE_{50} de 0,23%. Santos (2001) avaliou a composição do algodão utilizado para produção de

nitrocelulose e encontrou $4,2 \pm 0,3\%$ de extrativos e $6,6 \pm 0,2\%$ de lignina Klason insolúvel e $2,34 \pm 0,3\%$ de lignina Klason solúvel. Esses dados confirmam que a toxicidade encontrada nos efluentes analisados pode realmente estar relacionada com a presença dos compostos identificados.

Bentley et al. (1977) avaliaram a CE_{50} de várias espécies de macroinvertebrados aquáticos, inclusive *D. magna*, utilizando resíduos de nitrocelulose coletados em um tanque de uma indústria produtora de munições, com 11,8% de nitrocelulose ativa. Em todos os testes os autores utilizaram concentrações de 0; 560; 750 e 1000 mg/L. A maior concentração representa um nível com três ordens de magnitude, maior do que aqueles esperados nos corpos receptores associados a esta indústria. Os resultados obtidos foram negativos para todos os organismos testados, inclusive *D. magna*, até a concentração testada de 1000 mg/L.

Assim, conclui-se que o efluente sintético da deslignificação do línter na produção de nitrocelulose é tóxico para *D. similis*.

4.3.2. Testes de toxicidade crônica

Os resultados dos testes com a *P. subcaptata*, mostraram que o efluente sintético foi tóxico em todas as concentrações testadas (0,2; 0,4; 0,8; 1,6 e 3,2). Quando esse efluente foi neutralizado com H_2SO_4 concentrado a toxicidade foi reduzida (CENO = 0,4%; CEO = 0,8% e VC = 0,6%), porém ainda permaneceu alta. A comparação desses resultados com aqueles obtidos com o efluente original, após neutralização, CENO = 0,1%; CEO = 0,2% e VC = 0,15%, (RIBEIRO, 2008), revelaram que a toxicidade crônica do efluente foi causada tanto pelos compostos orgânicos como pelos inorgânicos. A porcentagem de imobilidade da *P. subcaptata* nos ensaios de toxicidade com o efluente sintético com pH 13, com pH 8 e do efluente bruto da deslignificação podem ser visualizadas nos Gráficos 9, 10 e 11.

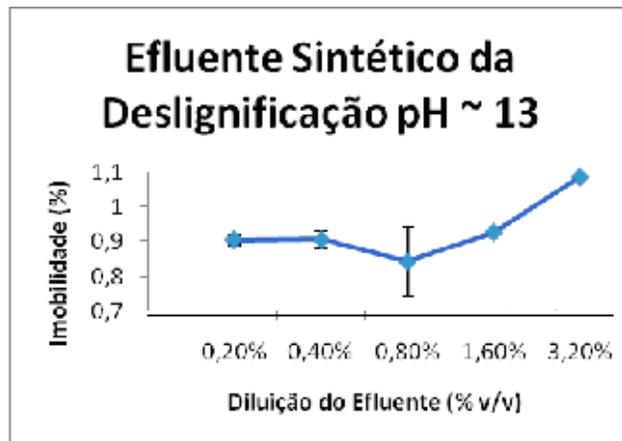


Gráfico 9 - Inibição (%) do crescimento de *P. subcaptata* 96 h nos ensaios de toxicidade crônica com amostras do efluente sintético da deslignificação do linter produção de nitrocelulose (pH 13)

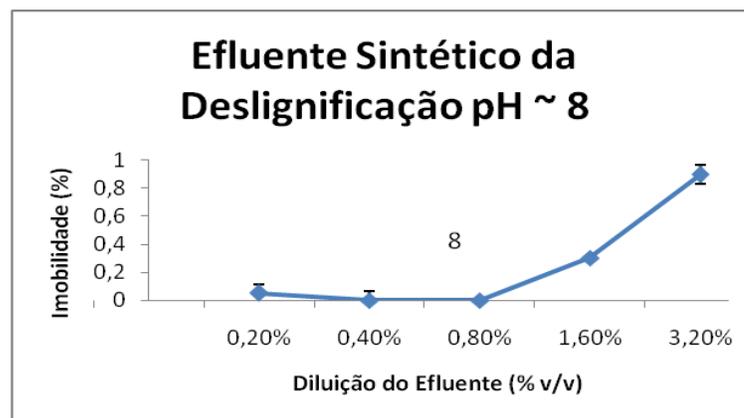


Gráfico 10 - Inibição (%) do crescimento de *P. subcaptata* 96 h nos ensaios de toxicidade crônica com amostras do efluente sintético da deslignificação do linter produção de nitrocelulose (pH 8)

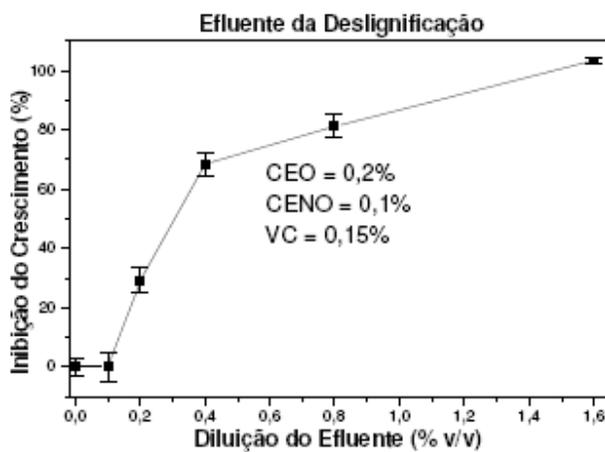


Gráfico 11 - Inibição (%) do crescimento de *P. subcaptata* 96 h nos ensaios de toxicidade crônica com amostras do efluente da deslignificação do linter produção de nitrocelulose

Os dados da literatura sobre impactos ecotoxicológicos dos efluentes da nitrocelulose é bastante escassa. Devido à semelhança desses efluentes com os da indústria de papel e celulose que utiliza o processo de branqueamento com cloro, dados desses trabalhos foram utilizados para comparação de resultados.

Bentley et al. (1977) expuseram 4 espécies de algas *P. subcaptata*, *Mycrocystis aeruginosa* e *Navícula pelliculosa* por 96 h a nitrocelulose e observaram um decréscimo no número de células.L-1 nas concentrações de 100 e 1000 mg/L, particularmente para a alga *P. subcaptata* cuja CE₅₀ foi de 579 mg/L. Para as demais algas, os valores de CE₅₀ foram maiores que 1000 mg/L.

Cooper et al. (1975) relataram que o lançamento de águas residuárias contendo nitrocelulose foi prejudicial ao perifiton e às comunidades de algas associadas a sistemas aquáticos. Para as comunidades de algas os efeitos incluíram: baixo número de indivíduos e baixa diversidade de espécies. Esses efeitos foram associados com níveis de nitrocelulose de 1 a 10 mg/L na água, embora o sedimento associado pudesse conter altos níveis de nitrocelulose.

Ryon (1986) concluiu que a nitrocelulose parece produzir significantes efeitos abióticos no ambiente, quando ocorre o seu lançamento. Devido a sua natureza fibrosa, a nitrocelulose tende a cobrir o habitat bêntico, talvez privando os organismos de oxigênio e preenchendo os espaços intersticiais usados como abrigo pelos invertebrados e perifiton. Esse potencial para alteração do habitat é um componente adicional da aparente falta de degradação ambiental. Quando contrastado à baixa toxicidade do composto, essa alteração do habitat se torna um aspecto significativo para o controle regulatório.

Yakovleva et al. (2004) estudaram a genotoxicidade de compostos da lignina, isolados das águas residuárias de uma indústria de papel e celulose após o tratamento biológico, utilizando espécies endêmicas de moluscos e milho da região de Baikal na Rússia. Os testes revelaram a toxicidade e a atividade mutagênica dos compostos da lignina, sendo que os níveis eram dependentes das características físico-químicas das substâncias da lignina, do organismo-teste e das condições experimentais. Esses resultados forneceram evidências de que esses compostos, quando despejados nos corpos aquáticos, possuem um potencial de risco genético para este ambiente.

Assim, conclui-se que o efluente sintético da deslignificação do línter na produção de nitrocelulose é tóxico para *P. subcaptata*.

5. CONCLUSÕES

Pode-se concluir, através dos dados obtidos nos ensaios de toxicidade com o efluente sintético da deslignificação do línter na produção de nitrocelulose, que os mesmos são tóxicos para *D. similis* e para *P. subcaptata*.

Verificou-se também que o pH interfere de forma significativa na toxicidade do efluente, pois, com a sua correção para os padrões permitidos para o seu lançamento em cursos d'água, a $CE_{50,48h}$ aumentou em aproximadamente 10 vezes e a toxicidade em relação à *P. subcaptata* diminuiu significativamente. A fração inorgânica do efluente da deslignificação do línter representa, portanto, um papel significativo na toxicidade deste, indicando que o mesmo precisaria passar por um tratamento rigoroso para a eliminação não só dos compostos orgânicos, como também da fração inorgânica presente nesse tipo de efluente industrial, evitando assim forte impacto ambiental no corpo receptor.

REFERÊNCIAS¹

ADAMS, W. J.; ROWLAND, C. D. Aquatic Toxicology Test Methods. In: autores. Quantifying and Measuring Ecotoxicological Effects. 2nd. Boca Raton, Florida: CRC Press. 2003. Cap. 2.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION AND POLLUTION CONTROL FEDERATION. **Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater Analysis**. 20 ed. Washington: American Public Health Association, 1999.

ARENZON, A. Ensaio ecotoxicológicos no monitoramento da qualidade de águas subterrâneas potencialmente impactadas. 2004. 112 f. Tese (Doutorado em Ecologia) – Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713**: ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro. 2009.

- **NBR 12648**: ecotoxicologia aquática – toxicidade crônica – método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro. 2011.

BARCZA, M.V. (data desconhecida). **Apostila de processos unitários orgânicos**.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. Campinas: Editora Unicamp, 2007. p. 25-98.

BENTLEY, R. E.; LEBLANC, G. A.; HOLLISTER, T. A.; SLEIGHT, B. H. **Laboratory evaluation of the toxicity of nitrocellulose to aquatic organisms**: Final Report. Wareham, Massachusetts: US Army Medical Bioengineering Research and Development Laboratory, 1977. 34 p. (ADA 037749).

BERTOLETTI, E. (1989). **Tratabilidade e Toxicidade de Efluentes Industriais**. Engenharia Sanitária, 2891: 38-41.

BERTOLETTI, E. (1990). **Toxicidade e Concentração de Agentes Tóxicos em Efluentes Industriais na Grande São Paulo**. Ciência e Cultura, 42 (3/4): 271 – 277.

BERVOETS, L.; BAILLIEUL, M.; BLUST, R.; VERHEYEN, R. (1996). **Evaluation of effluent toxicity and ambient toxicity in a polluted lowland river.** *Environmental Pollution*, 91(3): 333-341.

BLUM, D. J. W.; SPEECE, R. E. Determining chemical toxicity to aquatic species. **Environmental Science and Technology**, v.24, n.3, p. 284-293, 1990.

BRANDÃO, Sameila C. S. Caracterização química de efluente da deslignificação do línter. Lorena, 2010.

BURATINI, M. S. V.; BERTOLETTI, E. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática Princípios e Aplicações.** São Carlos: Rima Editora, 2006. p. 221-249, 2004.

Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB). **Procedimentos para utilização de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos.** São Paulo, 1992. 17p.

- **Aplicação de microrganismos e culturas celulares na avaliação da toxicidade de efluentes industriais na região da Grande São Paulo: Relatório Final.** São Paulo, 1987a. 147 p.

- **Avaliação da toxicidade de efluentes líquidos de algumas indústrias localizadas na bacia do Rio Piracicaba.** São Paulo, 1987b. 8p.

COOPER, D. C.; EISCHEN, M. A.; HOLZWORTH, D. A.; JAKOBSEN, R. J.; SHERWOOD, B. E.; STILWELL, J. M. e STRUP, P. E. **Aquatic field surveys at Badger, Joliet, and Lake City Army Ammunition Plants: Final Phase I Report.** Columbus: Battelle Columbus Laboratories, 1975. 169 p. (DAMD17-74-C-4123).

DAVID, L.F.; BRYAN, M.C.; BYUNG, J.K. (1997). **Biotransformation of nitrocellulose under methanogenic conditions.** *Wat. Sci. Tech.*, v. 34, n. 5 – 6, p. 327 – 384.

FENGEL, D.; WEGENER, G. (1989). **Wood: chemistry, ultrastructure and reactions.** Walter de Gruyter. 2 ed. Berlin: 613p.

GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; BERTOLETTI, E. ZAGATTO, P. A. ARAÚJO, R. P. A.; RAMOS, M. L. L. C. Procedimentos para utilização de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos. São Paulo: CETESB/PROCOP, 1990.

GULLEY, D. **Toxstat Program**. University of Wyoming. Western EcoSystems Technology, Inc. Version 3.4. 1994.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Karber method for estimating lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science and Technology**, v.11, p. 714-718, 1977.

IERO, A.; MANENTE, S.; PERIN, G.; BRAGADIN, E. Frozen mitochondria as rapid water quality bioassay. **Chemosphere**, v.52, p. 1115-1123, 2003.

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; McCARTHY, L. S. Introduction to aquatic toxicology. In: Rand, G. M. **Fundamentals of Aquatic Toxicology. Effects, environmental fate and risk assessment**. 2nd. Washington D. C.: Taylor & Francis, 1995. C. 1, p. 3-67.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. Introduction. In: RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R., **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**, New York: Hemisphere, 1985. p.1-28.

RIBEIRO, E. N.. **Avaliação da sensibilidade dos organismos utilizados em testes de toxicidade nos efluentes das indústrias de explosivos: seleção de uma bateria de testes na busca dos “organismos ideais”**.2008. 165 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2008.

RYON, M. G. **Water quality criteria for nitrocellulose**: Final Report. Fort Frederick, Frederick: Oak ridge National Laboratory, 1986.216 p. (AD-A145 417).

SANTOS, L. F. **Caracterização e tratamento de efluentes da fabricação de nitrocelulose**. 2006. 102 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial).- Departamento de Biotecnologia, Lorena, 2006. SÃO PAULO.

SANTOS, L. F. **Sistemas de lodos ativados aplicados no tratamento de efluentes oriundos das etapas de fabricação de nitrocelulose**. 2001. 103 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial).- Departamento de Biotecnologia, Lorena, 2001.

SILVA, F. T., MATTOS L. R., PAIVA T. C. B. **Water Science & Technology. Forest Industry Wastewaters VIII**. Volume 55, número 6. Treatment of na ECF effluent by combined use of activated sludge and advanced oxidation process. Pag.151, 2007.

TEMMING, H.; GRUNERT, H.; HUCKFELDT, H. (1973). **Linters: Technical Information on cottoncellulose**. English Translation of the 2. ed. Revised and Augmented German Edition.

VANEGAS, C., ESPINA, S., BOTELO, A.V., VILLANUEVA, S. (1997). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 58: 87-92.

VOTORANTIM (2004). **Nitrocelulose: Manual técnico de aplicações**. São Paulo/SP: Cia. Nitro Química Brasileira.42 p.

YAKOVLEVA, Y. N.; OSTROVSKAYA, R. M.; NOVIKOVA, L. N. Assessment of genotoxicity of lignin substances as risk factors for aquatic ecosystems. **Russian Journal of Ecology**, v. 35, n. 4, 2004.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (ed.) (2006). **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações. Cap 1. Ecotoxicologia**. Rima, São Carlos. Sensibilidade de *Daphnia similis*: controle de qualidade das culturas. **Ambiente**, v. 2, n. 2, p. 79-83, 1988.

ZIOLLI, R. L.; JARDIM, W. F. (1998). **Ensaio de toxicidade na avaliação da qualidade de águas: o estado da arte no Brasil**. Revista Engenharia Sanitária e Ambiental. n.1, p.10 – 15.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

ANEXOS

ANEXO A - Registro de dados do teste de toxicidade aguda do efluente sintético da deslignificação do línter com a *D. similis*

Organismo teste: <i>Daphnia similis</i>								Teste nº 1							
(x) estático / 48 h				() Semi-estático / h				() fluxo contínuo / h							
Início (data/hora): 24/04/13 17:50						Final (data/hora): 26/04/13 17:50									
Operador: Éryka															
Água de diluição						Amostra: Efluente Sintético da Deslignificação do Línter									
Lote: 42						Coletor: Éryka									
pH	OD (mg/mL)	Cond. (μ S/cm ²)	Dureza (mg/L CaCO ₃)		Data de coleta:	pH	OD (mg/mL)	Cond. (mS/cm ²)	Dureza (mg/L CaCO ₃)						
6,25	-	207	44		23/04	~13	-	NA	NA						
Amostra	Variáveis da amostra				Organismos imóveis/mortos				Efeito		Variáveis finais				
	pH	OD	Cond.	Dur.	1	2	3	4	total	%	pH	OD	Cond.	Dur.	
controle	6,54	-	NA	NA	0	0	0	0	0	0%	NA	NA	NA	NA	
1%	9,92	-	NA	NA	0	0	0	0	0	0%	NA	NA	NA	NA	
2%	10,71	-	NA	NA	2	1	0	0	3	15%	NA	NA	NA	NA	
3%	11,39	-	NA	NA	5	5	5	5	20	100%	NA	NA	NA	NA	
4%	11,58	-	NA	NA	5	5	5	5	20	100%	NA	NA	NA	NA	
5%	11,73	-	NA	NA	5	5	5	5	20	100%	NA	NA	NA	NA	
Resultado: CE(I)50,48h: 2,26%						Intervalo de confiança 95%: 2,07% - 2,46%									

ANEXO B - Registro de dados do teste de toxicidade aguda do efluente sintético da deslignificação do línter (pH corrigido com H₂SO₄ concentrado) com a *D. similis*

Organismo teste: <i>Daphnia similis</i>					Teste n° 3									
(x) estático / 48 h		() Semi-estático/ h			() fluxo contínuo/ h									
Início (data/hora): 07/08/13 15:40				Final (data/hora): 09/08/13 15:45										
Operador: Éryka														
Água de diluição					Amostra: Efluente Sintético da Deslignificação do Línter									
Lote: 50					Coletor: Éryka									
pH	OD (mg/mL)	Cond. (µS/cm ²)	Dureza (mg/L CaCO ₃)	Data de coleta:	pH	OD (mg/mL)	Cond. (mS/cm ²)	Dureza (mg/L CaCO ₃)						
6,25	-	207	45,36	25/07	8,56	-	23,34	NA						
Amostra	Variáveis da amostra				Organismos imóveis/mortos				Efeito		Variáveis finais			
	pH	OD	Cond.	Dur.	1	2	3	4	total	%	pH	OD	Cond.	Dur.
controle	NA	NA	NA	NA	1	1	0	0	2	10%	NA	NA	NA	NA
6,25%	NA	NA	NA	NA	0	0	0	0	0	0%	NA	NA	NA	NA
12,50%	NA	NA	NA	NA	1	1	0	0	2	10%	NA	NA	NA	NA
25%	NA	NA	NA	NA	2	2	1	0	5	25%	NA	NA	NA	NA
50%	NA	NA	NA	NA	5	5	5	5	20	100%	NA	NA	NA	NA
100%	NA	NA	NA	NA	5	5	5	5	20	100%	NA	NA	NA	NA
Resultado: CE(I)50,48h: 27,74%					Intervalo de confiança 95%: 23,56% - 32,66%									

NA = Não Analisado

ANEXO C – Dados de imobilidade dos ensaios de toxicidade aguda do efluente da deslignificação do línter com *D. similis*

Deslignificação 04 a 06/10/06		
Diluições (%)	Imobilidade (%)	DP
0	0	0,0
0,06	0	0,0
0,12	10	1,0
0,25	55	0,5
0,50	100	2,5
1,00	100	0,0

ANEXO D - Dados relativos aos ensaios de toxicidade aguda do efluente sintético da designificação do línter (pH 8) com *P. subcaptata*

Diluições (%)	Biomassa Inicial	Biomassa Final	Biomassa Produzida	Desv. Pad.	Média da Biomassa	% Inibição	D.P. % Inibição	Média % Inib.
3,2%	7,50E+04	4,38E+05	3,63E+05	3,59E+05	7,46E+05	94,95%	5,01%	89,61%
3,2%	7,50E+04	1,15E+06	1,08E+06	3,59E+05	7,46E+05	85,02%		
3,2%	7,50E+04	8,75E+05	8,00E+05			88,85%		
1,60%	7,50E+04	5,48E+06	5,40E+06			24,74%		
1,60%	7,50E+04	4,70E+06	4,63E+06	3,88E+05	5,01E+06	35,54%	5,40%	30,14%
1,60%	7,50E+04	5,09E+06	5,01E+06			30,14%		
0,80%	7,50E+04	8,60E+06	8,53E+06			-18,82%		
0,80%	7,50E+04	8,68E+06	8,60E+06	7,50E+04	8,60E+06	-19,86%	1,05%	-19,86%
0,80%	7,50E+04	8,75E+06	8,68E+06			-20,91%		
0,40%	7,50E+04	7,88E+06	7,80E+06			-8,71%		
0,40%	7,50E+04	8,50E+06	8,43E+06	4,21E+05	7,95E+06	-17,42%	5,86%	-10,80%
0,40%	7,50E+04	7,70E+06	7,63E+06			-6,27%		
0,20%	7,50E+04	6,50E+06	6,43E+06			10,45%		
0,20%	7,50E+04	6,83E+06	6,75E+06	4,29E+05	6,82E+06	5,92%	5,98%	4,99%
0,20%	7,50E+04	7,35E+06	7,28E+06			-1,39%		
Controle 1	7,50E+04	7,40E+06	7,33E+06			-2,09%		
Controle 2	7,50E+04	6,80E+06	6,73E+06	3,97E+05	7,18E+06	6,27%	5,53%	0,00%
Controle 3	7,50E+04	7,55E+06	7,48E+06			-4,18%		

ANEXO E - Dados relativos aos ensaios de toxicidade aguda do efluente sintético da deslignificação do linter (pH 13) com

P. subcaptata

Diluições (%)	Biomassa Inicial	Biomassa Final	Biomassa Produzida	Desv. Pad.	Média da Biomassa	% Inibição	D.P. % Inibição	Média % Inib.
3,2%	4,63E+05	7,50E+04	-3,88E+05			108,59%		
3,2%	4,63E+05	7,50E+04	-3,88E+05	2,74E+05	-2,29E+05	108,59%	6,08%	105,08%
3,2%	4,63E+05	5,50E+05	8,75E+04			98,06%		
1,60%	4,63E+05	4,63E+06	4,16E+06			7,76%		
1,60%	4,63E+05	8,00E+05	3,38E+05	2,14E+06	2,80E+06	92,52%	47,42%	37,86%
1,60%	4,63E+05	4,38E+06	3,91E+06			13,30%		
0,80%	4,63E+05	4,95E+06	4,49E+06			0,55%		
0,80%	4,63E+05	8,50E+05	3,88E+05	2,20E+06	1,97E+06	91,41%	48,83%	56,33%
0,80%	4,63E+05	1,50E+06	1,04E+06			77,01%		
0,40%	4,63E+05	8,00E+05	3,38E+05			92,52%		
0,40%	4,63E+05	9,75E+05	5,13E+05	8,92E+05	9,38E+05	88,64%	19,77%	79,22%
0,40%	4,63E+05	2,43E+06	1,96E+06			56,51%		
0,20%	4,63E+05	8,50E+05	3,88E+05			91,41%		
0,20%	4,63E+05	8,50E+05	3,88E+05	7,22E+04	4,29E+05	91,41%	1,60%	90,49%
0,20%	4,63E+05	9,75E+05	5,13E+05			88,64%		
Controle 1	4,63E+05	5,90E+06	5,44E+06			-20,50%		
Controle 2	4,63E+05	4,35E+06	3,89E+06	8,17E+05	4,51E+06	13,85%	18,11%	0,00%
Controle 3	4,63E+05	4,68E+06	4,21E+06			6,65%		

ANEXO F - Dados relativos aos ensaios de toxicidade aguda do efluente bruto da deslignificação do línter com *P. subcaptata*

<i>Efluente deslignificação</i>									
Diluições %	Biomassa inicial	Biomassa final	Biom. produzida	Desv. Pad	Média da biomassa	% Inibição	D.P. % Inib.	Média % Inib.	
6,2	2,70E+05	1,00E+05	-1,70E+05	2,47E+05	-5,33E+04	103,6	5,3	101,1	
6,2	2,70E+05	5,00E+04	-2,20E+05			104,7			
6,2	2,70E+05	5,00E+05	2,30E+05			95,1			
3,1	2,70E+05	5,00E+04	-2,20E+05	6,34E+04	-1,93E+05	104,7	1,3	104,1	
3,1	2,70E+05	3,25E+04	-2,38E+05			105,1			
3,1	2,70E+05	1,50E+05	-1,20E+05			102,6			
1,6	2,70E+05	1,50E+05	-1,20E+05	5,20E+04	-1,62E+05	102,6	1,1	103,4	
1,6	2,70E+05	5,00E+04	-2,20E+05			104,7			
1,6	2,70E+05	1,25E+05	-1,45E+05			103,1			
0,8	2,70E+05	9,50E+05	6,80E+05	1,80E+05	8,80E+05	85,5	3,8	81,3	
0,8	2,70E+05	1,30E+06	1,03E+06			78,1			
0,8	2,70E+05	1,20E+06	9,30E+05			80,2			
0,4	2,70E+05	1,25E+06	9,80E+05	6,61E+05	1,48E+06	79,1	14,1	68,5	
0,4	2,70E+05	1,50E+06	1,23E+06			73,8			
0,4	2,70E+05	2,50E+06	2,23E+06			52,5			
0,2	2,70E+05	3,40E+06	3,13E+06	2,00E+05	3,33E+06	33,4	4,3	29,1	
0,2	2,70E+05	3,60E+06	3,33E+06			29,1			
0,2	2,70E+05	3,80E+06	3,53E+06			24,8			
0,1	esperado								
Controle 1	2,70E+05	4,90E+06	4,63E+06	1,40E+06	4,70E+06	1,4	19,6	0,0	
Controle2	2,70E+05	3,60E+06	3,33E+06			29,1			
Controle 3	2,70E+05	6,40E+06	6,13E+06			-30,5			

Este relatório foi elaborado por:

Éryka Costa de Almeida

Orientado e supervisionado por:

Professor Doutor Flávio Teixeira da Silva – Supervisor do Trabalho de Conclusão de Curso