

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA URBANA**

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E ECOTOXICOLÓGICA DE
EFLUENTES QUÍMICOS, VISANDO SEU REUSO.**

MAÍSA SANCHES GEORGETTI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Urbana da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Urbana.

Orientação: Prof. Dr. Nemésio Neves Batista Salvador.

São Carlos

2010

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

G351aq

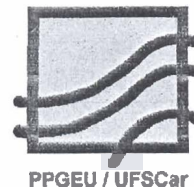
Georgetti, Maísa Sanches.

Avaliação química e ecotoxicológica de efluentes químicos, visando seu reuso / Maísa Sanches Georgetti. -- São Carlos : UFSCar, 2010.
168 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2008.

1. Engenharia urbana. 2. Ecotoxicologia. 3. Metais pesados. 4. Reuso. 5. Laboratórios químicos. 6. Surfactante.
I. Título.

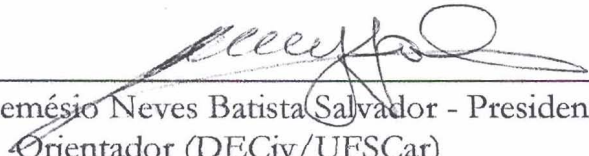
CDD: 711 (20^a)

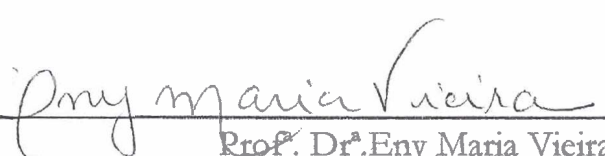


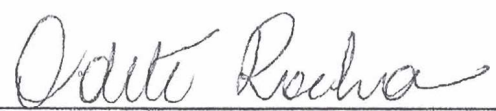
FOLHA DE APROVAÇÃO

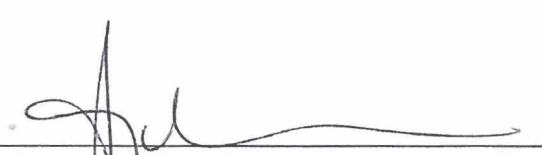
MAÍSA SANCHES GEORGETTI

Dissertação defendida e aprovada em 30/10/2008
pela Comissão Julgadora


Prof. Dr. nemésio Neves Batista Salvador - Presidente
Orientador (DECiv/UFSCar)


Prof. Dr.ª Eny Maria Vieira
(IQSC/USP)


Prof.ª Dr.ª Odete Rocha
(DEBE/UFSCar)


Prof. Dr. Archimedes Azevedo Raia Jr.
Presidente da CPGEU

À minha família pelo amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Nemésio Neves Batista Salvador, por me aceitar no Programa de Mestrado, pela orientação, confiança e respeito ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

À Profa. Dra. Odete Rocha, pela co-orientação, pelo respeito, carinho, valiosos ensinamentos e sugestões que muito enriqueceram este trabalho, e principalmente pela confiança a mim depositada.

Ao Prof. Dr. Bernardo Teixeira Arantes do Nascimento pela amizade, atenção e conselhos tanto em questões acadêmicas quanto pessoais.

A Dra. Ana Marta, por estar sempre pronta a me ajudar, sendo muito solícita.

Aos meus pais, Celso e Neide por me apoiarem, estimularem e acima de tudo, me amarem em todos os momentos de minha vida, buscando sempre minha felicidade. Por me ensinarem os verdadeiros valores: amor, respeito, humildade e honestidade.

Aos meus irmãos Enio e Cynthia, por estarem sempre ao meu lado, em especial a Cy, por cuidar de mim com muita dedicação e zelo, sendo essencial para que este trabalho pudesse ser concluído.

Aos queridos amigos: Fernanda Massaro, Denise Tiemi, Katiuscia Coelho, Renata Takenaka, Patrícia, Fábio Toshiro, Ana Lúcia Suriani, Roberta, Raphael, Zé e Magno por me ajudarem na realização deste trabalho, sempre com bom humor, respeito e incontáveis momentos de descontração. Enfim, pelos amigos que fiz e pelos ensinamentos que levarei por toda minha vida.

Aos técnicos Rodolfo, Paulo e Fábio da Unidade de Gestão de Resíduos por me ajudarem na coleta do efluente.

Aos alunos do Departamento de Química, pela colaboração nas coletas.

Ao Prof. Dr. Abílio Lopes de Oliveira Neto (*in memoriam*) por ter me “apresentado” à Ecotoxicologia e por tudo que fez por mim tanto na graduação quanto no mestrado.

A amiga Maria Julia de Lima Brossi por estar sempre ao meu lado, me apoiando, me estimulando desde a graduação, tornando o caminho menos árduo e mais alegre.

Ao querido Márcio José Celeri pela alegria, amizade, carinho, viagens, momentos de descontração e apoio em todos os aspectos de minha vida.

A Fernanda Corrêa pela amizade, companheirismo em todos os momentos, pelas longas conversas e por me ajudar sempre.

A CAPES pela concessão da bolsa.

“Sempre faço o que não consigo fazer para aprender o que não sei!”

Pablo Picasso

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	VI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	X
1.0 INTRODUÇÃO	1
2.0 OBJETIVO GERAL	4
2.1 Objetivos específicos	4
3.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. Reuso da água.....	8
3.1.1 Reuso Potável	9
3.1.2 Reuso Não Potável	9
3.2 Legislação Ambiental	13
3.3 Vantagens do reuso.....	17
3.4 Desvantagens do reuso	18
3.5 Reuso e Saúde Pública.....	21
3.6 Experiências em reuso	26
3.7 Ecotoxicologia.....	28
3.7.1 Testes de Toxicidade	30
3.7.2 Organismos-teste	33
4.0 OBJETO DE ESTUDO.....	38
5.0 MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
5.1 Coleta.....	40
5.2 Análises físicas e químicas	40
5.3 Cultivo dos organismos-teste.....	41
5.3 Ensaios de sensibilidade	44
5.4 Ensaios de Toxicidade Aguda com amostras do efluente	44
5.5 Ensaios de Toxicidade Crônica com amostras do efluente	46
5.6 Tratamento estatístico.....	47
5.7 Análises da germinação	47
6.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
6.1 Ensaios de Sensibilidade	49
6.2 Ensaios de Toxicidade dos Efluentes Coletados no Laboratório de Química de Produtos Naturais	52
6.2.1 Ensaios de toxicidade aguda.....	52
6.2.2 Ensaio de toxicidade crônica.....	55
6.2.3 Ensaio de Genotoxicidade utilizando Lactuca sativa	61
6.3 Ensaios de Toxicidade dos Efluentes Coletados no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais (LSPN).....	64

6.3.1 Ensaio de toxicidade aguda.....	64
6.3.2 Ensaio de Toxicidade Crônica.....	67
6.3.3 Ensaio de Genotoxicidade utilizando Lactuca sativa	72
6.4 Ensaio de Toxicidade dos Efluentes Coletados no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE.....	73
6.4.1 Ensaio de Toxicidade Aguda.....	73
6.4.2 Ensaio de Toxicidade Crônica.....	76
6.4.3 Ensaio de Genotoxicidade utilizando Lactuca sativa	80
6.5 Determinações de metais pesados	84
6.6 Determinações do surfactante aniônico LAS (Dodecil Benzeno Sulfonato de Sódio)	90
6.6.1 Laboratório de Química de Produtos Naturais.	90
6.6.2 Laboratório de Síntese de Produtos Naturais	92
6.6.3 Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE.....	94
6.7 Considerações finais sobre a viabilidade de reuso dos efluentes	96
7.0 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	99
8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
APÊNDICE A	108
APÊNDICE B.....	159

RESUMO

Em função da escassez de água que atinge todo o mundo, a reutilização de efluentes tem sido uma prática cada vez mais aceita e difundida em todos os segmentos, seja industrial, urbano ou agrícola. O presente trabalho avaliou a qualidade do efluente de três laboratórios químicos de ensino e pesquisa da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP quanto a viabilidade do reuso. Foram realizados ensaios ecotoxicológicos agudos e crônicos utilizando como organismos-teste os cladóceros *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia similis* e *Danio rerio*; ensaios de genotoxicidade com sementes de *Lactuca sativa* (alface); determinações de metais pesados e surfactantes. Os resultados mostraram que os efluentes causam efeitos tóxicos agudos e crônicos, afetando a sobrevivência e reprodução dos organismos. Em relação aos ensaios genotóxicos, os efluentes não inibiram a germinação das sementes e conseqüente crescimento das radículas, sendo que em muitos ensaios houve germinação e crescimento em amostras sem diluição. Quanto aos resultados da determinação dos parâmetros inorgânicos, os metais arsênio, boro, cobre e zinco e os surfactantes estavam acima dos valores máximos permitidos pela Resolução CONAMA 357/05. Recomenda-se a realização de mais ensaios ecotoxicológicos, principalmente terrestres, além de estudos sobre a bioacumulação de tais metais no solo, evitando contaminação ambiental e humana quando se pretende irrigar gramados e jardins com os efluentes utilizados.

Palavras – chave: Ecotoxicologia, Metais Pesados, Reuso, Laboratórios Químicos, Surfactantes.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

CCET – Centro de Ciências Exatas e Tecnologia

CE₅₀ – Concentração efetiva que causa imobilidade a 50% dos organismos testados

CENO – Concentração de Efeito Não Observável

CEO – Concentração de Efeito Observável

CL₅₀ – Concentração letal que causa mortalidade

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

DQ – Departamento de Química

EPA – Environmental Protection Agency

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

OMS – Organização Mundial de Saúde

ONG – Organização Não Governamental

UGR – Unidade de Gestão de Resíduos

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sementes de alface (<i>Lactuca sativa</i>) utilizadas nos ensaios de genotoxicidade. (Foto: M. S. Georgetti)	34
Figura 2 – (A) Fêmea de <i>Ceriodaphnia dubia</i> Richard e (B) fêmea de <i>Daphnia similis</i> Straus. (fotos: D. T. Okumura).....	36
Figura 3 – Fêmeas de <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae). (Foto: www.badmanstropicalfish.com).....	37
Figura 4 - Vista geral do cultivo da alga clorofícea <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> . (A) no início da aeração, (B) após 07 dias sob aeração e fotoperíodo de 12/12h.....	43
Figura 5 – Vista dos recipientes-testes utilizados nos ensaios de toxicidade aguda para o peixe <i>Danio rerio</i> com efluentes de laboratórios químicos. (Foto: M. S. Georgetti)...	46
Figura 6 – Vista das sementes no início do ensaio utilizando <i>Lactuca sativa</i> (A); Término do ensaio (B).....	48
Figura 7 - Faixa de sensibilidade para <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) ao Cloreto de Sódio (NaCl).	50
Figura 8 - Faixa de sensibilidade da <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) ao dicromato de potássio (K ₂ Cr ₂ O ₇).	50
Figura 9 - Faixa de sensibilidade do <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae) ao Dicromato de Potássio (K ₂ Cr ₂ O ₇).	51
Figura 10 - Concentração do efluente (%) e seus respectivos valores de CE ₅₀ – 48h (%), limite inferior e superior de acordo com a CE ₅₀ – 48h (%) médio para <i>Ceriodaphnia dubia</i> e <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) nos ensaios de toxicidade aguda (48 horas), com o efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos.....	53
Figura 11 - Concentração do efluente (%) e seus respectivos valores de CL ₅₀ – 96h (%), limite inferior e superior de acordo com a CL ₅₀ – 96h (%) médio para <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae) nos ensaios de toxicidade aguda (96 horas), com o efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos.	53
Figura 12 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (14 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 07.08.2007. A linha em destaque representa a diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.	56
Figura 13 - Número médio de neonatas produzidas pelo dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera), durante testes de toxicidade crônica (14 dias) com efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados no dia 07.08.2007. Barra de erros correspondem ao desvio padrão.....	57
Figura 14 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (12 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos , coletado em 14.08.2007. A linha em destaque representa a diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.	57

- Figura 15 - Número médio de neonatas produzidas pelo dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), durante testes de toxicidade crônica (12 dias) com efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados no dia 14.08.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão. O asterisco (*) representa a diferença estatisticamente significativa em relação ao controle..... 58
- Figura 16 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 05.09.2007. A linha em destaque representa diferença estatisticamente significativa em relação ao controle..... 58
- Figura 17 - Número médio de neonatas produzidas pelo dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), durante testes de toxicidade crônica (10 dias) com efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados no dia 10.09.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão..... 59
- Figura 18 - Concentração do efluente (%) e seus respectivos valores de $CE_{50} - 48h$ (%), limite inferior e superior de acordo com a $CE_{50} - 48h$ (%) médio para *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis*, nos ensaios de toxicidade aguda (48h) com o efluente do Laboratório de Síntese de Produtos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos. 65
- Figura 19 - Concentração do efluente (%) e seus respectivos valores de $CL_{50} - 96h$ (%), limite inferior e superior de acordo com a $CL_{50} - 96h$ (%) médio para *Danio rerio* nos ensaios de toxicidade aguda (96h) com o efluente do Laboratório de Síntese de Produtos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos. 65
- Figura 20 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 19.09.2007. As linhas em destaque representam diferença estatisticamente significativa em relação ao controle..... 68
- Figura 21 - Número médio de neonatas produzidas pelo dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), durante testes de toxicidade crônica (10 dias) com efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais Universidade Federal de São Carlos, coletados no dia 19.09.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão. O asterisco (*) representa a diferença estatisticamente significativa em relação ao controle..... 68
- Figura 22 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 02.10.2007. A linha em destaque representa diferença estatisticamente significativa em relação ao controle..... 69
- Figura 23 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 02.10.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão. 69
- Figura 24 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de

São Carlos, coletado em 04.10.2007. A linha em destaque representa diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.....	70
Figura 25 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 04.10.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão.	70
Figura 26 - Concentração do efluente (%) e seus respectivos valores de CE ₅₀ – 48h (%), limite inferior e superior de acordo com a CE ₅₀ – 48h (%) médio para <i>Ceriodaphnia dubia</i> e <i>Daphnia similis</i> , nos ensaios de toxicidade aguda (48 horas) com o efluente do Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE, da Universidade Federal de São Carlos....	74
Figura 27 - Concentração do efluente (%) e seus respectivos valores de CL ₅₀ – 96h (%), limite inferior e superior de acordo com a CL ₅₀ – 96h (%) médio para <i>Danio rerio</i> , nos ensaios de toxicidade aguda (96 horas) com o efluente do Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE, da Universidade Federal de São Carlos.	75
Figura 28 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 04.09.2007. As linhas em destaque representam diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.....	77
Figura 29 - Número médio de neonatas produzidas pelo dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera), durante testes de toxicidade crônica (10 dias) com efluente do Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletados no dia 04.09.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão. Os asteriscos (*) representam diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.	77
Figura 30 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 25.09.2007.	78
Figura 31 - Número médio de neonatas produzidas pelo dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera), durante testes de toxicidade crônica (10 dias) com efluente do Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletados no dia 25.09.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão.....	78
Figura 32 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 07.08.2007.	91
Figura 33 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 14.08.2007.	91
Figura 34 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 05.09.2007.	92
Figura 35 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 19.09.2007.	92
Figura 36 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 02.10.2007.	93
Figura 37 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 04.10.2007.	93
Figura 38 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 21.08.2007.	94

Figura 39 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 04.09.2007.94

Figura 40 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 25.09.2007.95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Padrões de lançamentos de efluentes em corpos d'água, estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05 (BRASIL, 2005).....	17
Tabela 2 – Padrões microbiológicos de potabilidade de água para consumo humano, conforme a Portaria do Ministério da Saúde nº 518/2004.....	22
Tabela 3 – Valores da concentração efetiva mediana CE ₅₀ -48h do efluente coletado no Laboratório de Química de Produtos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos, em %, obtidos nos ensaios de toxicidade aguda para os dafnídeos <i>Ceriodaphnia dubia</i> e <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) e valores de CL ₅₀ –96h (%) para o peixe <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae).	54
Tabela 4 – Valores médios de comprimento em (cm) das radículas de <i>Lactuca sativa</i> resultantes de cinco repetições em ensaios de genotoxicidade com exposição das sementes a diferentes diluições dos efluentes coletados no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e respectivas porcentagens de inibição do crescimento em relação ao controle.....	62
Tabela 5 - Valores da concentração efetiva mediana CE ₅₀ -48h do efluente coletados no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, em %, obtidos nos ensaios de toxicidade aguda para os dafnídeos <i>Ceriodaphnia dubia</i> e <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) e valores de CL ₅₀ –96h (%) para o peixe <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae).	66
Tabela 6 - Comprimento (cm), média das cinco réplicas do em cada coleta do Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e porcentagem de crescimento em relação ao controle das radículas de <i>Lactuca sativa</i>	72
Tabela 7 - Valores da concentração efetiva mediana CE ₅₀ -48h do efluente coletado no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, em %, obtidos nos ensaios de toxicidade aguda para os dafnídeos <i>Ceriodaphnia dubia</i> e <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) e valores de CL ₅₀ –96h (%) para o peixe <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae).	76
Tabela 8 - Comprimento (cm), média das cinco réplicas em cada coleta do Laboratórios de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, e porcentagem de crescimento em relação ao controle das radículas de <i>Lactuca sativa</i>	80
Tabela 9- Concentrações dos metais comparadas aos limites de corpos de água de Classe II estabelecidos pela Resolução CONAMA 375/05 (BRASIL, 2005), com a interferência de fosfato originados dos surfactantes.....	85
Tabela 10 – Concentrações dos metais comparadas aos limites de corpos de água de Classe II estabelecidos pela Resolução CONAMA 375/05 (BRASIL, 2005).	87
Tabela 11 - Escala de toxicidade	96
Tabela A 1– Valores da concentração efetiva mediana CE ₅₀ (48h) – de cloreto de sódio (NaCl) obtidos nos ensaios de sensibilidade para o dafnídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera).....	109

Tabela A 2 – Valores da concentração efetiva mediana CE ₅₀ (48h) – de dicromato de potássio (K ₂ Cr ₂ O ₇) obtidos nos ensaios de sensibilidade para o dafinídeo <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera).	109
Tabela A 3 - Valores da concentração efetiva mediana CL ₅₀ (48h) – de dicromato de potássio (K ₂ Cr ₂ O ₇) obtidos nos ensaios de sensibilidade para o peixe <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae)	110
Tabela A 4 - Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 07.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).	111
Tabela A 5 - Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 14.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).	112
Tabela A 6 - Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 05.09.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).	113
Tabela A 7 - Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 07.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).	114
Tabela A 8 - Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 14.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).	115
Tabela A 9 – Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 07.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).	116
Tabela A 10 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de CL ₅₀ – 96h (%) para o peixe <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 07.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).....	117
Tabela A 11 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de CL ₅₀ – 96h (%) para o peixe <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de	

amostras de efluentes coletados dia 14.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).....	118
Tabela A 12 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de CL ₅₀ – 96h (%) para o peixe <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 05.09.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).....	119
Tabela A 13 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera), exposta a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 07.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (14 dias).	119
Tabela A 14 - Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 14.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (12 dias).....	122
Tabela A 15 - Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 05.09.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (10 dias).....	125
Tabela A 16 - Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diversas concentrações de amostras de efluentes coletados dia 19.09.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).....	128
Tabela A 17 - Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diversas concentrações de amostras de efluentes coletados dia 02.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).....	129
Tabela A 18 - Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diversas concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).....	130
Tabela A 19 – Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diversas concentrações de amostras de efluentes coletados dia 19.09.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).....	131

Tabela A 20 – Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diversas concentrações de amostras de efluentes coletados dia 02.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).....	132
Tabela A 21 – Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diversas concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).....	133
Tabela A 22 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de CL ₅₀ – 96h (%) para o peixe <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 19.09.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).....	134
Tabela A 23 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de CL ₅₀ – 96h (%) para o peixe <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 02.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).....	135
Tabela A 24 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de CL ₅₀ – 96h (%) para o peixe <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).....	136
Tabela A 25 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 19.09.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (10 dias).....	137
Tabela A 26 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 02.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (10 dias).....	139
Tabela A 27 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (10 dias).....	141
Tabela A 28 – Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 21.08.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e	

CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).....	144
Tabela A 29 – Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).....	145
Tabela A 30 – Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 25.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).....	146
Tabela A 31 – Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 21.08.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).....	147
Tabela A 32 – Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).....	148
Tabela A 33 – Porcentagem de imobilidade e valor de CE ₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo <i>Daphnia similis</i> (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 25.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).....	149
Tabela A 34 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de CL ₅₀ – 96h (%) para o peixe <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 21.08.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).....	150
Tabela A 35 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de CL ₅₀ – 96h (%) para o peixe <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).....	151
Tabela A 36 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de CL ₅₀ – 96h (%) para o peixe <i>Danio rerio</i> (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 25.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).....	152

Tabela A 37 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 21.08.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (10 dias).....	153
Tabela A 38 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (10 dias).	154
Tabela A 39 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo <i>Ceriodaphnia dubia</i> (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 25.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (08 dias).....	156
Tabela B 1 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de <i>Lactuca sativa</i> expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 07.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos.	160
Tabela B 2 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de <i>Lactuca sativa</i> expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 14.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos.	161
Tabela B 3 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de <i>Lactuca sativa</i> expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 05.09.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos.	162
Tabela B 4 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de <i>Lactuca sativa</i> expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 19.09.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos.	163
Tabela B 5 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de <i>Lactuca sativa</i> expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 02.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos.	164
Tabela B 6 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de <i>Lactuca sativa</i> expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 04.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos.	165
Tabela B 7 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de <i>Lactuca sativa</i> expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 21.08.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos.	166

Tabela B 8 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de <i>Lactuca sativa</i> expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 04.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos.....	167
Tabela B 9 - Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de <i>Lactuca sativa</i> expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 25.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos.....	168

1.0 INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da industrialização ocorrido nos últimos 30 anos, juntamente com o aumento da demanda de produtos químicos, intensificaram-se os problemas relacionados com a liberação desses compostos no meio ambiente. Aproximadamente 70.000 novos compostos químicos são produzidos anualmente, os quais, de alguma forma serão descartados ou em efluentes domésticos, ou industriais (BLUM & SPEECE, 1991). Assim, um grande número de substâncias químicas são lançadas nos ecossistemas aquático, terrestre e na atmosfera (CETESB, 1999). Em muitos casos, estes efluentes não recebem nenhum tipo de tratamento antes de serem descartados nos compartimentos ambientais.

Este descaso com o meio ambiente, especialmente com os recursos hídricos, tem acarretado sérios problemas, principalmente em relação à falta d'água. Em muitas regiões, a escassez de água é uma dura realidade, e a tendência é que este quadro se alastre por todo o mundo, a não ser que medidas proteção e preservação ambiental sejam efetivamente praticadas, através de leis mais rigorosas, punições mais severas, aumento da fiscalização e conscientização de toda população sobre a importância dos recursos naturais para a manutenção da vida na Terra.

Embora algumas indústrias estejam começando a implantar políticas ambientalmente corretas em suas plantas, o descarte de efluentes in natura ainda é uma prática constantemente. Este problema agrava-se ainda mais quando os efluentes são compostos principalmente por contaminantes tóxicos, como metais pesados, surfactantes, solventes entre outros, com características físicas, químicas e toxicológicas complexas, dificultando seu tratamento e degradação pelas tecnologias convencionais. Várias técnicas vêm sendo desenvolvidas ao longo dos anos com o objetivo de tratar este tipo de efluentes, contudo, muitas delas são caras, dificultando sua utilização por indústrias de médio e pequeno porte.

Além do problema de contaminação ambiental, o lançamento de efluentes sem tratamento adequado pode ocasionar problemas à saúde humana, já que muitas substâncias têm potencial efeito mutagênico e cancerígeno podendo se bioacumular nos organismos,

atingindo a cadeia trófica, contaminando não apenas organismos aquáticos, mais como o próprio homem também, através de seus hábitos alimentares.

Contudo, por volta de 1960, os assuntos relacionados à contaminação ambiental passaram a ser discutido com maior seriedade, contando com a participação e comprometimento dos governantes, empresários e da população. Neste momento, projetos, leis e campanhas foram elaborados objetivando a minimização dos efeitos impactantes da industrialização aos recursos naturais.

Com o aprimoramento das ciências ambientais e da própria química, paulatinamente iniciou-se uma tendência de substituição de produtos tóxicos por menos ou não tóxicos. Entretanto ainda há segmentos produtivos que não substituíram ou por ignorância ou por não encontraram produtos similares menos tóxicos no mercado, acabando por descartar seus efluentes sem tratamento adequado nos corpos d'água e conseqüentemente parte destes produtos acabam atingindo os corpos d'água.

Dentre os geradores de efluentes líquidos, estão os laboratórios químicos das instituições de ensino e pesquisa, sendo estes descartados na rede pública de esgoto em sua grande maioria sem conhecimento de sua composição e sem tratamento preliminar. Segundo Mozeto & Jardim (2002) a preocupação dos órgãos governamentais com o tema sempre esteve muito mais centrada em resíduos/efluentes químicos industriais. Em casos de universidades e centros de pesquisa, porém, as iniciativas para gerenciar e tratar resíduos/efluentes em geral parte das próprias instituições. Estes efluentes são gerados nas várias etapas de enxágüe de vidrarias e materiais (utilizados na realização das análises). A lavagem dos materiais utilizados em laboratórios deve ser rigorosa, para que não fiquem traços de contaminantes ou substâncias aderidas a eles, interferindo nos resultados de análises futuras que utilizarão tais materiais. Para isso, após a lavagem com um detergente, deve-se realizar vários enxágües com água da torneira, para que seja retirado todo o excesso tanto dos contaminantes como do próprio detergente. Este processo é responsável pelo consumo de um grande volume de água.

No atual cenário, aonde os recursos hídricos vem sendo a cada dia mais poluídos e a água potável tornou-se limitada e escassa, uma preocupação maior deve ser dada quanto ao reuso e descarte desnecessário de um grande volume de efluentes líquidos, com características compatíveis a serem reutilizadas em outras finalidades, como irrigação de

jardins e gramados, lavagens de superfícies entre outras. Neste sentido, o reuso vem se tornando uma alternativa plausível para minimizar da demanda sobre os mananciais.

Embora seja detectado traço de poluentes como metais pesados e solventes, a possibilidade de reuso é aceitável, desde que as características do efluente não causem danos ao meio ambiente e a saúde humana. Para verificar tais danos ao meio ambiente, são utilizados ensaios de toxicidade agudos e crônicos, utilizando organismos-teste como bioindicador. Estes ensaios complementam as análises físicas e químicas e auxiliam na decisão sobre a viabilidade do reuso do efluente, especialmente quando o reuso pretendido refere-se a disposição do efluente em gramados, jardins, lavagens de pisos ou descargas sanitárias.

O presente trabalho pretende caracterizar e avaliar efluentes de laboratórios químicos de ensino e pesquisa, visando o reuso dos mesmos em irrigações de gramados e jardins, lavagens de pisos e descargas de sanitários, sem causar prejuízos ao meio ambiente ou a saúde humana. Para isso, foram realizadas análises de pH, dureza, metais pesados, surfactantes e ensaios ecotoxicológicos.

2.0 OBJETIVO GERAL

Avaliar a viabilidade de reuso de efluentes coletados em laboratórios químicos de ensino e pesquisa.

2.1 Objetivos específicos

- ❖ Avaliar a toxicidade de efluentes oriundos das lavagens de vidrarias de laboratórios químicos, através da realização de ensaios agudos utilizando diferentes espécies (*Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis* - Crustacea, Cladocera e *Danio rerio* – Teleostei, Cyprinidae);
- ❖ Avaliar os efeitos na germinação de sementes e no crescimento das radículas de *Lactuca sativa* quando expostas ao efluente;
- ❖ Determinar a concentração do surfactante dodecil benzeno sulfonato de sódio nas amostras dos efluentes;
- ❖ Verificar se as variáveis analisadas atendem as condições e padrões de qualidade da água estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05;
- ❖ Determinar a presença de metais pesados nas amostras do efluente.

3.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Um dos fatores condicionantes para que uma região fosse escolhida para a fixação das primeiras aldeias, era a disponibilidade de água. Muitas civilizações prosperaram devido à abundância deste recurso em suas dependências, possibilitando a pesca, a irrigação de suas plantações e o próprio consumo, enquanto que outras acabaram sendo desfeitas pelo fato de não conseguirem sustentar sua sobrevivência sem este elemento essencial à vida.

Segundo Tundisi (2003) a história da água sobre o planeta é complexa e está diretamente relacionada ao crescimento da população humana, aos graus de urbanização e aos usos múltiplos que afetam a quantidade e a qualidade. Para Cirelli (1998), a água doce é um recurso multifuncional podendo ser usada para abastecimento humano, para atividades agropecuárias, geração de energia, transporte, atividades recreativas entre outras. Contudo, o crescimento urbano e industrial tem acarretado uma série de conseqüências ambientais tanto na água e no solo quanto na atmosfera. Nesta pesquisa, será enfocada a questão da água, condizendo com o objetivo da mesma.

Muitos distúrbios causados nos recursos hídricos se devem às atividades antrópicas realizadas em seu entorno. Entre eles podem ser destacados a retirada da mata ciliar, as queimadas, o uso e a ocupação indevida do solo, práticas agrícolas inadequadas (principalmente monocultura) que acarretam grande consumo de água e incremento de nutrientes, alterações nas propriedades do solo que pode acarretar erosão, uso de adubos, fertilizantes e agrotóxicos. Pode-se citar ainda, o lançamento de efluentes industriais e domésticos *in natura* nos rios e córregos, os quais modificam as características da água, ocasionando alteração no funcionamento do ecossistema aquático além de onerar o abastecimento de água, visto a complexidade do tratamento para a potabilização indicada para consumo humano.

O descarte de efluentes líquidos acarreta sérios problemas ambientais quando estes não recebem tratamento ou são tratados de maneira incipiente. Grande parte das indústrias, independente de seu ramo de atividade, gera resíduos líquidos, sólidos e gasosos que acabam por atingir os compartimentos naturais (solo, água e ar) podendo impactá-los de acordo com suas características e o grau de tratamento sofrido. Neste sentido, uma gestão ambiental adequada destas fontes pontuais de poluição, poderá minimizar grande parte dos

problemas ambientais sofridos em todo o mundo. Com o intuito de serem certificadas com a série ISO 14000 muitas indústrias buscaram e buscam profissionais qualificados para realizar mudanças no processo produtivo e no próprio comportamento de seus colaboradores, a fim de obterem maior visibilidade no mercado ao propagar sua consciência ecológica. Entretanto, segundo Nolasco et al (2006) os profissionais que atuam nesse segmento, geralmente não receberam formação adequada para lidar com esses problemas nos bancos escolares, também porque as próprias instituições de ensino e pesquisa não tratavam seus resíduos até pouco tempo atrás.

As universidades são as principais responsáveis pelos avanços científicos e tecnológicos de um país, devido às inúmeras pesquisas realizadas nas mais diversas áreas do conhecimento buscando qualidade de vida aos seres humanos e sustentabilidade ao meio ambiente. Contudo, assim como a maioria das atividades humanas, os laboratórios onde são realizadas as pesquisas e o ensino acabam gerando uma quantidade de resíduos e efluentes que são despejados na rede pública de esgoto sem nenhum tipo de tratamento ou caracterização de sua composição, sendo desta forma agentes potenciais de poluição, por apresentarem significativa geração de resíduos e efluentes com composição muito diversificada e pouco conhecida.

Segundo Mozeto & Jardim (2002) a preocupação dos órgãos governamentais com o tema sempre esteve muito mais centrada em resíduos químicos industriais. Em casos de universidades e centros de pesquisa, porém, as iniciativas para gerenciar e tratar resíduos em geral parte das próprias instituições. Durante um longo período, uma prática muito comum nos laboratórios era o descarte indiscriminado dos resíduos nas pias dos laboratórios sendo então, lançados nas redes públicas de esgoto. Não havia preocupação na segregação, tratamento nem tampouco estudos sobre os possíveis efeitos sinérgicos que este coquetel de substâncias pudesse causar quando lançados no ambiente. Ao cogitarmos que estes resíduos poderiam ser compostos por substâncias químicas, o perigo de acidente ambiental e a própria saúde pública se eleva ainda mais. Neste sentido, algumas universidades conceituadas, preocupadas com seu papel na sociedade em formar não apenas profissionais mas cidadãos conscientes vêm desenvolvendo estudos e executando projetos com o objetivo de minimizar a contaminação ambiental por seus efluentes, principalmente os químicos. Além de contribuírem para a minimização da poluição, estas

atividades oferecem oportunidades de pesquisa e aprendizagem de metodologias voltadas para o tratamento e para a reutilização da água, um recurso cada vez mais escasso no planeta.

Segundo Jardim (1998) há basicamente dois tipos de resíduos gerados em laboratórios de ensino e pesquisa: o ativo, fruto das atividades rotineiras da unidade geradora, sendo o objeto desta pesquisa, e o passivo, que compreende o resíduo estocado, geralmente não caracterizado, aguardando destinação adequada.

Para Machado (2002) a principal regra a ser adotada para o gerenciamento dos resíduos (ativo ou passivo) é a da responsabilidade objetiva, isto é, quem gera o resíduo torna-se responsável por ele. A lei 6938, de 31 de agosto de 1981, mais conhecida como Política Nacional do Meio Ambiente, estabelece que a responsabilidade objetiva dispensa a prova de culpa no caso de um possível dano ao ambiente, ou seja, para que um potencial poluidor seja responsabilizado, basta que se prove uma conexão de causa e efeito entre a atividade desenvolvida por uma organização e um dano ambiental (BRASIL, 1981).

Contudo, deve sempre ser ressaltado que a redução na geração na origem do efluente é sempre o mais recomendado, já que evita medidas futuras de tratamento e possível contaminação ambiental. Porém, para que a geração de efluentes líquidos de laboratórios de ensino e pesquisa de universidades originados de lavagens de materiais e equipamentos seja minimizada uma modificação no processo ou método analítico deve ser realizada. Um exemplo citado por Singh et al (2002), é a substituição do uso de buretas de 20 e 50 mL de capacidade nas práticas de laboratório (principalmente em atividades de ensino) por técnicas em microescala, que proporcionam resultados com exatidão e precisão, apresentando ainda a vantagem de usar menos reagente e gerar menos resíduo.

Para a reutilização de águas residuárias, torna-se importante o conhecimento de suas características físicas, químicas, ecotoxicológicas e dependendo do reuso pretendido, microbiológicas, de maneira tal que sejam estabelecidas medidas adequadas de proteção do meio ambiente além de tecnologias apropriadas para sua disposição no meio. A tecnologia escolhida deve visar a maior eficiência no aproveitamento do resíduo e a minimização dos impactos negativos sobre o ambiente por ele causado.

3.1. Reuso da água

Segundo reportagem da Revista Brasileira de Saneamento e Meio Ambiente (2006), o Brasil trata, anualmente, 12,6 bilhões de metros cúbicos de água. Segundo dados do Ministério das Cidades, o país só fatura, no entanto, 7,6 bilhões de metros cúbicos. Ou seja, 4,9 bilhões de metros cúbicos de água são desperdiçados entre as estações de tratamento e a torneira do consumidor final por diversos problemas, sendo que os principais são as perdas operacionais, sejam de faturamento ou físicas (ABES, 2006).

A reportagem cita ainda que, se for considerado apenas o total da água que chega ao consumidor final – 7,6 bilhões de m³ – 80 % deste volume se transformam em esgoto – doméstico e/ou industriais. Esse caso, chega-se a um volume de 6,08 bilhões de m³ de esgotos produzidos anualmente no país, a maior parte deles jogada “in natura” nos corpos hídricos. Com poucos investimentos, 60% desses esgotos – um volume de 3,64 bilhões de metros cúbicos – poderiam ser tratados e reutilizados, suprimindo uma vasta gama de atividades econômicas que não necessitam de água potável: agricultura, processos industriais, lavagem de ruas e desentupimento de galerias de esgotos e pluviais (ABES, 2006).

O reuso de águas com baixa qualidade surge como uma alternativa para minimizar o problema de escassez de água em determinadas regiões e garantir a conservação dos corpos d'água em regiões com grande demanda de água. Segundo Rebouças (2004), em países desenvolvidos, o reuso não potável de água tem se desenvolvido muito, sobretudo, durante a última década do século passado, como alternativa mais barata para fins agrícolas, industriais, recreação, domésticos, aquíicultura, recarga de aquíferos para controle da interface marinha e produção de água potável de poços.

Hoje, a Organização Mundial de Saúde (OMS), recomenda o reuso de água só para fins não potáveis ou de uso potável indireto (HESPANHOL, 2002).

Alguns autores como Brega (2003) e Mancuso & Santos (2006) classificam o reuso da água em duas categorias: potável e não potável. A classificação adotada pela Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES, 1992) considera duas categorias: reuso potável direto e potável indireto. Assim, tem-se:

3.1.1 Reuso Potável

Reuso potável direto: quando o esgoto recuperado por meio de tratamento avançado, é diretamente reutilizado no sistema de água potável.

A ABES – SP não recomenda hoje o reuso potável direto porque:

1. Inexiste conhecimento em amplitude e profundidade necessárias sobre o rol de poluentes e contaminantes do recurso hídrico;
2. A tecnologia disponível torna o custo proibitivo;
3. A dificuldade em controlar a flutuação da qualidade da água processada, pode trazer riscos à população.

Reuso potável indireto: quando após o tratamento, a água é disposta no manancial superficial ou subterrâneo para diluição, depuração natural e subsequente captação, tratamento e finalmente utilização como água potável.

3.1.2 Reuso Não Potável

O reuso da água não potável foi impulsionado em todo mundo nas últimas décadas, devido a crescente dificuldade de atendimento da demanda de água para os centros urbanos, pela escassez cada vez maior de mananciais próximos e/ou de qualidade adequada para o abastecimento após tratamento convencional. Com a política do reuso, importantes volumes de água potável são poupados, usando-se água de qualidade inferior, geralmente efluentes secundários pós-tratados, para atendimento daquelas finalidades que podem prescindir da potabilidade (ABES, 1992).

São muitas as formas e configurações de reuso da água. A seleção de uma determinada alternativa deve considerar seus efeitos locais e sobre as regiões vizinhas, em cenários atual e estimado para o futuro (ABES, 1992).

A OMS estabelece alguns conceitos básicos que muito contribuem para o melhor entendimento do reuso da água (OMS, 1973 apud REBOUÇAS, 2004):

Reuso não potável indireto ou não planejado: quando a água previamente usada e descartada na forma de efluente nos rios e outros corpos d'água, sendo utilizada novamente a jusante, de forma diluída, principalmente. Segundo alguns autores, tendo em vista, no Brasil, que as populações vivem rio abaixo reusando os esgotos lançados nos rios pelas populações que vivem rio acima, esta forma de reuso seria, mais freqüente entre nós (REBOUÇAS, 2004).

Reuso indireto planejado de água: ocorre quando os efluentes, depois de convenientemente tratados, são lançados de forma planejada nos corpos d'água superficiais ou subterrâneos, para serem utilizados a jusantes em sua forma diluída e de maneira controlada, no intuito de algum uso benéfico (MANCUSO & SANTOS, 2003).

Segundo Mancuso & Santos (2003), o reuso indireto planejado da água pressupõe que, além do controle feito a jusante, na descarga, e a montante, na captação, existam também um controle das eventuais novas descargas de efluentes nesse percurso. Isso se dá, para garantir que, além das ações naturais do ciclo hidrológico, o efluente tratado esteja sujeito apenas a eventuais misturas com outros efluentes lançados no corpo de água, os quais também atendam aos requisitos de qualidade do reuso objetivado.

Reciclagem: quando o reuso da água se verifica internamente na mesma empresa, com o objetivo de economizar água (usuário/pagador) e reduzir os custos do controle da poluição de rios e do ambiente em geral. Também aqui, tem crescido o número de empresas que adotam a reciclagem da água como fator operacional e de imagem muito importante, em termos econômicos (REBOUÇAS, 2004).

Por não exigir níveis elevados de tratamento, o reuso não potável vem sendo utilizado com grande freqüência, principalmente devido a vantagens econômicas.

Há diversos modos de reuso não potável, destacando:

Reuso não potável na agricultura: A agricultura representa uma das maiores atividades econômicas consumidoras de água doce. Estima-se que em certos países o consumo chegue a 80%. Este cenário propicia condições de utilização de águas residuárias para a irrigação

de culturas, evitando prejuízos em épocas de escassez de água, além de contribuir para a fertilização do solo, já que em sua grande maioria, as águas de reuso apresentam em sua composição, nutrientes importantes ao crescimento da planta. O uso destas águas para irrigação dependerá exclusivamente da cultura a ser irrigada e das características físicas, químicas, biológicas e ecotoxicológicas da água residuária, evitando que a água utilizada contamine a cultura ou o meio ambiente. Pode-se a cultura ser não-alimentícia, como é o caso de pastagens, silviculturas, fibras, sementes entre outras, onde não há a ingestão direta da mesma pelo homem e culturas alimentícias ao homem que podem ser consumidas cruas ou cozidas.

Segundo Hespanhol (2003) e Bitton (1994), o aproveitamento dos esgotos para irrigação tem sido impulsionado devido aos aspectos:

- ❖ Disposição de uma água com grau de nutrientes importantes para a cultura, minimizando a utilização de fertilizantes e agrotóxicos;
- ❖ Tratamento adicional aos efluentes;
- ❖ Recarga indireta do lençol freático;
- ❖ Aceitação dos órgãos responsáveis pela gestão dos recursos hídricos;
- ❖ Redução dos gastos, já que o efluente não será lançado no corpo d'água.

Reuso não potável na indústria: o uso industrial pode ser realizado sob dois aspectos: denominado macro interno, quando a água a ser reutilizada vem dos processos internos da própria planta da indústria, podendo ela sofrer ou não pré-tratamento em instalações como refrigeração, alimentação de caldeiras, água de processo e lavagens em geral. Há também a utilização de águas originadas de estações de tratamento de esgoto, que possuem qualidade inferior, contudo apresentar condições de serem utilizadas nos processos industriais. Denominado macro externo, esta água é distribuída por uma rede paralela que alimenta as indústrias.

Independente da origem da água a ser reutilizada nos processos industriais, esta prática vem sendo amplamente aceita e empregada pelos diversos segmentos econômicos, de forma a reduzir à captação de água nos corpos hídricos a ao surgimento de um compromisso ambiental responsável.

Reuso não potável para fins recreacionais: Refere-se ao emprego de águas residuárias na irrigação de jardins ou plantas ornamentais, campos de esportes, gramados e também para o enchimento de lagoas ornamentais. Neste caso, deve haver a preocupação em relação ao grau de contato que o usuário terá com esta água, ou seja, em se tratando de contato primário, como mergulho ou natação, onde há a possibilidade de ingestão da mesma, as características devem ser bem conhecidas e atenderem aos padrões de qualidade, evitando o risco à saúde humana. Caso o contato seja secundário, onde a recreação é limitada a pesca ou prática de esportes náuticos o uso das águas residuárias torna-se mais amplo.

Reuso não potável para fins urbanos: O uso de águas residuárias destinadas à utilização em centros urbanos pode ser classificado sobre dois aspectos: *fins potáveis* e *não potáveis*. Segundo Hespanhol (1999) o reuso de água para fins não potáveis em áreas urbanas deve ser a primeira opção, já que oferece riscos bem menores aos seus usuários. Contudo, por se tratar de uma água com qualidade inferior, alguns cuidados devem ser tomados, principalmente quando há a possibilidade de ocorrer contato direto com a população, como é o caso da utilização para fins recreacionais, irrigação de gramados e jardins, reserva contra incêndio, descarga de sanitários, lavagem de trens e ônibus e sistemas decorativos.

Os usos para fins potáveis são menos utilizados, principalmente devido ao fato do alto risco da água de reuso estar contaminada por compostos químicos e/ou patogênicos, necessitando de tratamento avançado e eficaz, evitando a contaminação de seus usuários. Neste caso o alto custo inviabiliza o reuso.

Reuso não potável para fins domésticos: Os domicílios também podem contribuir para o uso consciente da água. A utilização de águas residuárias provenientes de várias atividades domésticas, como lavagem de roupas e de louças, possuem potencial de reuso, desde que haja um sistema de separação das mesmas evitando contato com o esgoto. Há diversas residências que instalaram reservatórios para armazenamento destas águas, utilizando-as para lavagens de superfícies, automóveis e irrigação de jardins.

Reuso não potável para manutenção de vazões mínimas de cursos de água: O lançamento de águas de reuso em curso d'água promove diluição dos eventuais efluentes e cargas poluidoras por ele carregado, além de propiciar uma vazão mínima no período de estiagem.

Reuso não potável para aquíicultura ou aquicultura: Consiste na produção de peixes e plantas aquáticas destinadas ao consumo, sendo os nutrientes presentes na água consumidos pelos mesmos. Neste emprego, uma atenção especial deve ser dada a determinados compostos que podem ser bioacumular nos tecidos dos peixes e plantas, principalmente metais pesados, evitando futura contaminação da população.

Reuso não potável para recarga de aquíferos subterrâneos: Segundo Bitton (1994), a água de reuso pode ser utilizada na recarga do lençol freático para aumento da água subterrânea, prevenindo a invasão de água salina em áreas costeiras. A recarga pode ser realizada através de aplicação intensa de água na superfície ou por injeção direta, através de poços construídos exclusivamente com esta finalidade, que vai do solo até o lençol freático. Neste caso, a água a ser injetada deve passar por tratamentos avançados, para que ela não comprometa a qualidade da água do lençol freático. É um processo oneroso, demandando instalações de poços e tratamento adequado.

3.2 Legislação Ambiental

A partir da Revolução Industrial, ocorrida na Inglaterra em meados do século XVIII, a demanda pela água aumentou vertiginosamente, e a idéia de que fosse um recurso infinito e renovável passou a ser paulatinamente debatida. Logo, áreas de escassez começaram a surgir, e junto, novas leis que regulamentavam o uso racional da água, evitando colapso no sistema de abastecimento. Este fato resultou na aprovação em 1934 no Código das Águas (Decreto Federal nº 24.643 de 10 de julho de 1934) (BRASIL, 1934). Apesar de representar um avanço, este decreto teve-se principalmente ao aproveitamento hidrelétrico das águas, marginalizando questões como a qualidade e os diversos usos que a mesma pode ter.

Após aprovação do Código das Águas, a legislação brasileira começa a se aperfeiçoar nas questões ambientais. Ela passa a estabelecer critérios para a disposição de efluentes em cursos d'água naturais e prevê punições aos infratores, que variam de acordo com a infração cometida.

Segundo Baracho Tr. (1995), a lei 6.938/81, que dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, no artigo 3º, inciso I, define “meio ambiente” como o conjunto de leis, influências e interações de ordem física, química e biológica, que permite, abriga e rege a vida em todas as suas formas. O autor esclarece ainda que um dos instrumentos básicos de gestão, empregados pelas normas jurídicas de caráter ambiental, consiste no controle da poluição/degradação ambiental. Por sua vez, este utiliza dispositivos de prevenção, de repressão e de reparação do dano ambiental.

A gestão do uso da água por bacias hidrográficas e o conceito do usuário pagador ganha novo enfoque a partir da aprovação da Política Nacional de Recursos Hídricos, instituída a partir da promulgação da Lei nº 9.433/97 (BRASIL, 1997). A ênfase legislativa incide na racionalização do uso da água, estabelecendo princípios e instrumentos como os comitês de bacias hidrográficas, porém, pouca preocupação legislativa ocorreu para definição de princípios e critérios para a reutilização da água no Brasil, demonstrando certa fragilidade.

A Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998 (BRASIL, 1998) regulamenta as atividades nocivas ligadas ao meio ambiente, como crimes contra a fauna e flora, poluição de qualquer natureza que venha a causar prejuízos a saúde humana ou aos animais entre outros. É conveniente esclarecer que existe, em nível federal, uma legislação pertinente que deve ser observada, embora em cada estado ou município possa haver legislações, decretos ou portarias complementares e mais restritivas que devem ser obedecidas.

Segundo Hespanhol (2001), embora não exista, no Brasil, nenhuma legislação relativa ao reuso da água, já se dispõe de uma primeira demonstração de vontade política e de instituições privada, direcionada para a institucionalização do reuso. A “Conferência Interparlamentar sobre Desenvolvimento e Meio Ambiente”, realizada em Brasília, em dezembro de 1992, recomendou, sob o item “Conservação e Gestão de Recursos para o Desenvolvimento”, que se evidenciassem esforços, em âmbito nacional, para

“institucionalizar a reciclagem e reuso sempre que possível e promover o tratamento e a disposição de esgotos, de maneira a não poluir o meio ambiente”.

A Resolução Constituição Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) nº 357 de 17 de março de 2005 dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. No artigo 4º, Seção I, a resolução classifica os corpos d’água, especialmente os de água doce, em 4 classes, sendo:

“Art. 4o As águas doces são classificadas em:

I - classe especial: águas destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção;*
- b) à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; e,*
- c) à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.*

II - classe 1: águas que podem ser destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado;*
- b) à proteção das comunidades aquáticas;*
- c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA no 274, de 2000;*
- d) à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película; e*
- e) à proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas.*

III - classe 2: águas que podem ser destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional;*
- b) à proteção das comunidades aquáticas;*

c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA no 274, de 2000;

d) à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; e

e) à aqüicultura e à atividade de pesca.

IV - classe 3: águas que podem ser destinadas:

a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado;

b) à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras;

c) à pesca amadora;

d) à recreação de contato secundário; e

e) à dessedentação de animais.

V - classe 4: águas que podem ser destinadas:

a) à navegação; e

b) à harmonia paisagística.”

(BRASIL, 2005)

A Resolução CONAMA 357/05 classifica não apenas os corpos d'água em relação aos seus usos, mas dá providências sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes específico para cada classe (Tabela 1).

“CAPÍTULO IV

DAS CONDIÇÕES E PADRÕES DE LANÇAMENTO DE EFLUENTES

Art. 24. Os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos de água, após o devido tratamento e desde que obedeçam às condições, padrões e exigências dispostos nesta Resolução e em outras normas aplicáveis.”

(BRASIL, 2005).

Tabela 1 - Padrões de lançamentos de efluentes em corpos d'água, estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05 (BRASIL, 2005).

PARÂMETROS INORGÂNICOS	VALORES MÁXIMOS (mg/L)
Arsênio total	0,5
Bário total	5,0
Boro total	5,0
Cádmio total	0,2
Chumbo total	0,5
Cianeto total	0,2
Cobre dissolvido	1,0
Cromo total	0,5
Estanho total	4,0
Ferro dissolvido	15,0
Fluoreto total	10,0
Manganês dissolvido	1,0
Mercúrio total	0,01
Níquel total	2,0
Nitrogênio amoniacal total	20,0
Prata total	0,1
Selênio total	0,3
Sulfeto	1,0
Zinco total	5,0
PARÂMETROS ORGÂNICOS	
Clorofórmio	1,0
Dicloroetano	1,0
Fenóis totais (substâncias que reagem com 4 – aminoantipirina)	0,5
Tetracloroeto de Carbono	1,0
Tricloroetano	1,0

Fonte: BRASIL, 2005.

3.3 Vantagens do reuso

Hespanhol (1999) destaca uma série de vantagens aos sistemas de reuso quando bem planejados:

- ❖ Minimização da descarga de efluentes nos corpos d'água;
- ❖ Preservação dos recursos subterrâneos, especialmente em áreas onde há grandes índices de utilização de aquíferos, o que pode levar a intrusão salina e a subsidência do terreno;

- ❖ Preservação do solo, com o acúmulo de húmus e ao aumento da sua resistência a erosão;
- ❖ Aumento da produtividade de alimentos, através da irrigação agrícola. Segundo Bahri (1999) a utilização da água de reuso aumenta a produtividade das culturas. A disposição no solo destas águas, através de irrigação de culturas e/ou gramados e jardins apresentam-se como uma alternativa promissora e rentável, para o tratamento de efluentes, principalmente os originados de estações de tratamento de esgoto.

Em relação às vantagens para fins industriais, destacam-se:

- ❖ Economia no tratamento dos efluentes;
- ❖ Retirada de menor quantidade de água nos corpos d'água, contribuindo para a melhoria da qualidade de água e preservação do ecossistema aquático.

3.4 Desvantagens do reuso

O emprego de águas de reuso pode apresentar riscos à saúde humana e ao meio ambiente quando utilizados de forma negligente.

De acordo com a EPA (2004a) a prática do reuso pode causar impactos relacionados ao uso da terra, a vazão dos rios, a qualidade da água subterrânea, mudanças na vegetação local ou modificações no ecossistema aquático pela alteração no balanço hídrico da área. Neste sentido, embora o reuso apresente como uma alternativa promissora, deve-se atentar para estes fatos, evitando que seja solucionado o problema de escassez de água, em detrimento da geração de outros problemas ambientais.

Contaminação da água

As águas superficiais não sofrem impactos significativos quanto ao reuso de águas residuárias, principalmente porque há uma redução no lançamento de efluentes nos corpos d'água e diminuição da captação, conseqüentemente. Contudo, esta redução no lançamento

de efluentes acaba por reduzir a disponibilidade hídrica, visto que há uma retirada inicial de água e em muitos casos, esta só será lançada novamente dias depois (em menor quantidade) ou então é transferida para outro usuário que poderá ou não descartá-la no mesmo corpo d'água. Neste sentido, percebe-se que a prática do reuso pode trazer benefícios na não retirada de água dos corpos d'água, porém reduz a vazão e pode comprometer a qualidade ecológica do manancial. Já as águas subterrâneas podem sofrer sérios danos quando há o emprego incorreto de técnicas de reuso. Segundo Rodrigues (2005) dependendo da profundidade do aquífero, há possibilidade da contaminação do solo, que com o tempo pode atingir as águas subterrâneas, comprometendo sua qualidade. Caso haja, no local, ou próximo a ele, poços de infiltração, o problema se agrava ainda mais, já que estes poços são considerados conexões diretas entre a superfície e o lençol freático, e podem carrear contaminantes consigo.

De acordo com Gerba & Bitton (1984) há ainda o risco de contaminação das águas subterrâneas por partículas virais devido à facilidade de penetração no solo, especialmente onde se faz uso de águas de esgoto não tratadas ou parcialmente tratadas na agricultura.

Contaminação do solo

As características da água de reuso juntamente com as do solo determinam o grau de contaminação do mesmo, já que muitos compostos químicos e/ou tóxicos podem estar presentes em sua composição das águas, ocasionando seu acúmulo na superfície e conseqüentemente a contaminação do solo.

Hespanhol (1999) destaca uma série de cuidados que devem ser tomados quando há a disposição de águas de reuso no solo:

- ❖ Utilização de esgotos de origem predominantemente doméstica, a fim de minimizar a ocorrência de compostos químicos tóxicos;
- ❖ Previsão de um sistema adequado de drenagem que evite a salinização do solo; e
- ❖ Controle de vetores que possam se desenvolver nas regiões irrigadas por longos períodos com a água de reuso (especialmente mosquitos e caramujos)

Comprometimento da fauna e flora

Água de reuso, geralmente possui em sua composição compostos atípicos à fauna e a flora da estrutura do solo ou da água. Processos de bioacumulação e/ou biomagnificação podem alterar as condições fisiológicas ou comportamentais dos seres vivos presentes no local da aplicação, ocasionando em últimos casos, modificações no ecossistema. Neste sentido, a composição da água a ser reutilizada precisa ser conhecida, evitando que haja um efeito crônico aos organismos e possível contaminação humana.

O quadro 1 apresenta de forma clara a relação entre os diversos tipos de reuso e seus riscos potenciais a saúde humana.

Quadro 1 – Formas de reuso e seus riscos potenciais a saúde

Formas de Reuso	Riscos à Saúde
Agrícola	Contaminação de consumidores por alimentos contaminados com organismos patogênicos e/ou substâncias químicas tóxicas; Contaminação direta dos trabalhadores; Contaminação do público por aerossóis; Contaminação dos animais que se alimentam de pastagens irrigadas ou que sejam criados em lagoas com água contaminada.
Industrial	Tubulações cruzadas entre redes de água potável e de reuso; Possível contaminação de produtos comestíveis quando a água é utilizada no processo.
Recreacional	Doença de veiculação hídrica; Ingestão de contaminantes químicos, ou irritação dos olhos e das mucosas; Contaminação direta dos trabalhadores.
Recarga de Aquífero	Contaminação de aquíferos utilizados como fonte de água potável; Contaminação direta dos trabalhadores.
Formas de Reuso	Riscos à saúde
Reuso Urbano Não Potável	Tubulações cruzadas entre redes de água potável e de reuso; Contato com água recuperada utilizada para irrigação de jardins e gramados ou lavagem de ruas; Contaminação direta dos trabalhadores.
Reuso Potável	Ingestão de contaminantes biológicos e químicos; Contaminação direta dos trabalhadores.

Fonte: RODRIGUES (2005).

3.5 Reuso e Saúde Pública

Para que uma determinada água possa ser reutilizada, para os diversos fins, sua composição deve ser conhecida, evitando contaminação das pessoas que as mantiverem contato.

Sousa & Leite (2003) destacam que a prática do reuso planejado de águas residuárias domésticas na agricultura, vem sendo apontada como excelente medida para atenuar o problema da escassez hídrica no semi-árido, especificamente nas áreas circunvizinhas às cidades. Segundo os autores nas últimas décadas, foi crescente a utilização de esgotos na agricultura, por ter se revelado como fonte natural de fertilizantes que garantem boa produtividade das culturas irrigadas. Contra isto, entretanto, pesam os aspectos sanitários dessas águas. Segundo EPA (2004b) a utilização da água de reuso na irrigação e em vários usos urbanos pode resultar em exposição humana a patógenos (contaminação biológica) e a produtos químicos (contaminação química), com alta potencialidade em gerar efeitos adversos à saúde humana e a qualidade do meio ambiente.

A contaminação biológica se dá quando há na composição da água de reuso, microrganismos capazes de causar disfunções no funcionamento do organismo humano. Ainda que o reuso possa não ser para consumo humano, eventualidades podem ocorrer de modo que haja contaminação de seus usuários.

A Portaria do Ministério da Saúde nº 518/2004 estabelece em seus capítulos e artigos, os padrões microbiológicos de potabilidade de água para consumo humano (relacionados na Tabela 2), as responsabilidades por parte de quem produz a água, no caso, os sistemas de água e também ressalta a responsabilidade dos órgãos de controle ambiental no que se refere ao monitoramento e ao controle das águas brutas de acordo com os mais diversos usos, incluindo o de fonte de abastecimento de água destinada ao consumo humano (BRASIL, 2004).

Tabela 2 – Padrões microbiológicos de potabilidade de água para consumo humano, conforme a Portaria do Ministério da Saúde nº 518/2004

PARÂMETRO	VMP ⁽¹⁾
Água para consumo humano⁽²⁾	
Escherichia coli ou coliformes termotolerantes⁽³⁾	Ausência em 100 mL
Água na saída do tratamento	
Coliformes totais	Ausência em 100 mL
Água tratada no sistema de distribuição (reservatórios e rede)	
Escherichia coli ou coliformes termotolerantes⁽³⁾	Ausência em 100 MI
Coliformes totais	Sistemas que analisam 40 ou mais amostras por mês: Ausência em 100 ml em 95% das amostras examinadas no mês. Sistemas que analisam menos de 40 amostras por mês: Apenas uma amostra poderá apresentar mensalmente resultado positivo em 100 mL.

Notas (1): Valor Máximo Permitido

(2): Água para consumo humano em toda e qualquer situação, incluindo fontes individuais como poços, minas, nascentes, dentre outras.

(3): A detecção de *Escherichia coli* deve ser preferencialmente adotada.

Fonte: (BRASIL, 2004)

O artigo 4º da Portaria 518/04 estabelece ainda, os padrões para água potável, referentes às substâncias químicas, apresentados no quadro 2:

Quadro 2 – Padrões de potabilidade referentes às substâncias químicas, estabelecidos pelo Ministério da Saúde artigo 4º da Portaria 518/04.

Parâmetro	Unidade	VMP ⁽¹⁾
Inorgânicas		
Antimônio	mg/L	0,005
Arsênio	mg/L	0,01
Bário	mg/L	0,7
Cádmio	mg/L	0,005
Cianeto	mg/L	0,07
Chumbo	mg/L	0,01
Cobre	mg/L	2
Cromo	mg/L	0,05
Fluoreto ⁽²⁾	mg/L	1,5
Mercúrio	mg/L	0,001
Nitrato (como N)	mg/L	10
Nitrito (como N)	mg/L	1
Selênio	mg/L	0,01
Orgânicas		
Acetilamida	µg/L	0,5
Benzeno	µg/L	5
Benzo[a]pireno	µg/L	0,7
Cloreto de Vinila	µg/L	5
1,2 Dicloroetano	µg/L	10
1,1 Dicloroetano	µg/L	30
Diclorometano	µg/L	20

Estireno	µg/L	20
Tetracloroeto de Carbono	µg/L	2
Tetracloroeteno	µg/L	40
Triclorobenzenos	µg/L	20
Tricloroeteno	µg/L	70
Agrotóxicos		
Alaclor	µg/L	20,0
Aldrin e Dieldrin	µg/L	0,03
Atrazina	µg/L	2
Bentazona	µg/L	300
Clordano (isômeros)	µg/L	0,2
2,4 D	µg/L	30
DDT (isômeros)	µg/L	2
Endossulfan	µg/L	20
Endrin	µg/L	0,6
Glifosato	µg/L	500
Heptacloro e Heptacloro epóxido	µg/L	0,03
Hexaclorobenzeno	µg/L	1
Lindano (γ -BHC)	µg/L	2
Metolacloro	µg/L	10
Metoxicloro	µg/L	20
Molinato	µg/L	6
Pendimetalina	µg/L	20
Pentaclorofenol	µg/L	9
Permetrina	µg/L	20
Propanil	µg/L	20

Simazina	µg/L	2
Trifluralina	µg/L	20
Cianotoxinas		
Microcistinas ⁽³⁾	µg/L	1,0
Desinfetantes e produtos secundários da desinfecção		
Bromato	mg/L	0,025
Clorito	mg/L	0,2
Cloro livre ⁽⁴⁾	mg/L	5
Monocloramina	mg/L	3
2,4,6 Triclorofenol	mg/L	0,2
Trihalometanos Total	mg/L	0,1

Notas: (1) Valor máximo permitido.

(2) Os valores recomendados para a concentração de íon fluoreto devem observar à legislação específica vigente relativa a fluoretação da água, em qualquer caso devendo ser respeitado o VMP desta Tabela.

(3) É aceitável a concentração de até 10 µg/L de microcistinas em até 3 (três) amostras, consecutivas ou não, nas análises realizadas nos últimos 12 (doze) meses.

(4) Análise exigida de acordo com o desinfetante utilizado.

Fonte: (BRASIL, 2004)

Os valores do quadro 2, embora não especifiquem as características para águas de reuso, norteiam a composição necessária para que não ocorra risco à saúde pública quando se deseja reutilizar águas residuárias. Embora para alguns reusos como recarga de aquífero e usos industriais, por exemplo, estes padrões podem ser flexibilizados, já que não há contato direto com as pessoas.

3.6 Experiências em reuso

Em todo o mundo, há iniciativas e projetos sendo desenvolvidos com o intuito de reutilizar águas residuárias, originadas dos mais diferentes processos. A seguir, serão apresentados alguns exemplos, nacionais e internacionais, de implantação de sistemas de reuso de efluentes, seus desafios e benefícios.

Irrigação e descarga sanitária

O parque temático, instalado próximo à cidade de São Paulo, implantou sistema de reuso de água devido ao fato de estar localizado junto a um córrego classificado como classe 2, que, de acordo com o Decreto Estadual nº 8.468 de setembro de 1976 pode servir como manancial para abastecimento público após tratamento convencional. Neste sentido, a construção do parque apenas foi autorizada, com a condição de não haver descarte de efluente no córrego (BRASIL, 1976).

O esgoto gerado nos sanitários, bares e restaurante é captado e conduzido a um tanque de homogeneização e posterior tratamento em uma estação de lodos ativados não convencionais. Depois de tratado na estação o efluente é filtrado e desinfetado, sendo enviado para um reservatório central de água de reuso, sendo posteriormente distribuído para utilização em descargas sanitárias e regas de jardins e gramados. Possíveis contatos dos usuários do parque às águas de reuso não foram descartados, sendo que os projetistas do sistema assumiram que ingestões acidentais da água poderiam ocorrer, contudo estas não poderiam constituir risco à saúde. Há também a possibilidade de salinização do solo, que foi minimizada na escolha de vegetações resistentes a ambientes salinos. O resultado do sistema de reuso vem sendo satisfatório, já que as análises feitas com amostras coletadas de água ao longo do sistema demonstram que os parâmetros monitorados atendem a legislação vigente. (MANCUSO & SANTOS, 2003).

Produção de alimento

O efluente de tratamento de esgoto sanitário, por possuir nutrientes essenciais ao crescimento de vegetais, pode ser empregado na irrigação de frutas e verduras desde que sejam realizadas análises relacionadas a possíveis contaminações tanto do alimento quanto do meio ambiente. Culturas de Pepino (*Cucumis sativus L.*) foram irrigadas com efluentes de tratamento de esgoto em sistema subsuperfície com o objetivo de verificar a possibilidade de contaminação bacteriológica externa e interna ao alimento, certificando a qualidade do produto final que será consumido pela população. Verificou-se também a quantidade dos elementos químicos: N; P; K; Ca; Mg; S; Cu; Fe; Mn; Zn; Na, presentes na água do efluente de tratamento de esgoto. O projeto obteve bons resultados de aproveitamento destes nutrientes, apresentando reflexos diretos na produtividade da cultura, quando comparado com a água potável utilizada para a irrigação, como forma de cultura controle. Outro aspecto pesquisado foi à possibilidade de contaminação bacteriológica, tanto internamente como externamente no fruto da cultura de Pepino, o que não ocorreu, comprovando a qualidade deste produto para consumo humano (OLIVEIRA et al, 2001).

Lavagem de veículos

Sendo a lavagem de veículos uma atividade consumidora de grande quantidade de água, e em sua grande maioria potável, torna-se necessário o estudo de formas alternativas e seguras de racionalização dos usos dos mananciais. Neste sentido, Morelli (2005) pesquisou a possibilidade de reuso da água dos postos de lavagens de automóveis e das empresas de passageiros ou de outros do setor. Um dos problemas apontados pelo autor refere-se à grande variação da composição da água entre os diferentes postos de lavagens que variam desde óleos e graxas até detergentes, o que dificultaria sua reutilização. Nestes casos deve-se realizar uma boa caracterização do efluente de forma que seja adotado o melhor tratamento (o autor aponta diversos tratamentos factíveis de serem empregados). Concluiu-se que o emprego desta água está demonstrando boa aceitação operacional e econômica nas empresas visitadas pelo autor. A utilização de tecnologias aplicadas resultou-se em rápida amortização dos investimentos e adequação quanto aos aspectos

legais envolvidos. Logo, o uso racional dos recursos hídricos, através de investimentos em reutilização e reuso de água, especialmente as de lavagens de veículos representa um inevitável caminho para contribuir com o melhor aproveitamento da água disponível no planeta.

3.7 Ecotoxicologia

As atitudes comportamentais do ser humano, desde que ele se tornou parte dominante dos sistemas, tem uma tendência em sentido contrário à manutenção do equilíbrio ambiental. Ele desperdiça energia e desestabiliza as condições de equilíbrio pelo aumento de sua densidade populacional, muito além da capacidade de tolerância da natureza, e de suas exigências individuais. Como não pode criar as fontes que satisfaçam suas necessidades fora do sistema ecológico, o homem impõe uma pressão cada vez maior sobre o ambiente. Os impactos exercidos por ele podem ser de dois tipos: primeiro, o consumo de recursos naturais em ritmo acelerado, dificultando sua renovação pelo sistema ecológico; segundo, pela geração de produtos residuais em quantidades maiores do que as que podem ser integradas ao ciclo natural de nutrientes. Além desses dois significativos impactos, o homem chega até a introduzir materiais tóxicos no sistema ecológico que tolhem e destroem as forças naturais (GRUPO DE TRABALHO, 1995).

Este desequilíbrio ambiental, causado pela ação antrópica, pode ser mensurado através de análises físicas (temperatura, turbidez); químicas (pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido). Contudo, estas análises não detectam os efeitos nocivos que os agentes poluidores causam sobre os seres vivos. Segundo Knie et al. (2004) estas análises abrangem sumariamente grupos de diferentes substâncias com comportamento e características químicas iguais, não distinguindo, no entanto, as substâncias individuais que constituem finalmente o resultado da análise.

Já no século XIX, começou a observar o comportamento de animais e plantas quando em contato com contaminantes. Apesar de incipiente, os ensaios apresentaram resultados satisfatórios, demonstrando acuidade e relevância ao se empregar organismos vivos no monitoramento ambiental. Neste primeiro momento, utilizaram-se peixes, visto a

facilidade de manuseio, captura no ambiente e cultivo do mesmo. Contudo, paulatinamente, os ensaios começaram a passar por modificações, sendo estudados e introduzidos organismos com graus tróficos distintos, afim de melhor caracterizar o ambiente, uma vez que algumas espécies de peixes mostraram mais resistentes a determinados poluentes. Neste sentido, algas, plantas, peixes, crustáceos, mamíferos e insetos foram testados com a finalidade de encontrar espécies que melhor indicassem a realidade ecológica.

O termo Ecotoxicologia foi sugerido pela primeira vez segundo Truhaut (1977) apud Zagatto & Bertoletti (2006) em junho de 1969 durante uma reunião do Committee of the International Council of Scientific Unions (ICSU), em Estocolmo, pelo toxicologista francês René Truhaut. Os ensaios ecotoxicológicos associam conceitos intrínsecos a duas ciências com estruturas específicas, a Ecologia que estuda a relação dos seres vivos com o ambiente e a Toxicologia cujo foco está na compreensão dos efeitos danosos de produtos tóxicos aos organismos vivos. Estas duas ciências apresentavam lacunas de conhecimentos quando seus conceitos eram aplicados a questões de poluição ambiental ou danos causados aos seres vivos quando expostos a agentes poluidores e suas conseqüências ecológicas. Questões referentes aos efeitos de contaminantes nos organismos, seu modo de ação e suas implicações no ecossistema e na biota permaneciam sem fundamentação científica. Embora aparentemente divergentes, a junção de conceitos da Ecologia e da Toxicologia contribuiu para a compreensão dos efeitos causados aos organismos vivos quando em contato com agentes tóxicos, assim como a transferência destes danos ao ecossistema e possível impacto na saúde humana.

A Ecotoxicologia baseia-se no estudo das modificações que sofrem os ecossistemas a curto ou a longo prazo, utilizando-se de conceitos gerais bem estabelecidos de ecologia, para entender os processos envolvidos, compreenderem os efeitos no ambiente e prever os prováveis riscos em caso de contaminação (BOUDOU & RIBEYRE, 1989).

Segundo SOARES (1990), a Ecotoxicologia pode ser definida, em termos gerais, como a "ciência que estuda os efeitos ou influência de agentes químicos tóxicos ao nível do indivíduo e suas conseqüências na estrutura e funcionamento das populações, comunidades e ecossistemas".

3.7.1 Testes de Toxicidade

A avaliação da saúde ou o monitoramento de um determinado ambiente através das análises físicas e químicas de poluentes nos reportam a quantidade e a qualidade desses poluentes em diferentes compartimentos do sistema, mas não trazem informações a respeito de efeito sobre as comunidades existentes e sobre o funcionamento do sistema exposto à poluição. Neste sentido, os testes de toxicidade, os quais utilizam organismos vivos como indicadores de efeitos tóxicos são ferramentas importantes para compreensão dos efeitos dos contaminantes sobre os ecossistemas, suprimindo as limitações e/ou complementando as informações obtidas pelas análises físicas e químicas.

Uma das principais vantagens da utilização dos ensaios de toxicidade sobre as análises químicas, é que aqueles levam em consideração as interações dos compostos analisados entre si e o meio ambiente.

Há um grande número de testes de toxicidade sendo desenvolvidos ou aperfeiçoados, devido a grande variedade de espécies e ecossistemas passíveis de estudo. Sistemas aquáticos, terrestres e sedimentares são factíveis de se empregar ensaios a fim de se verificar o grau de contaminação por agentes tóxicos e suas possíveis implicações ecológicas. Contudo, os ensaios toxicológicos em sistemas aquáticos mostram-se mais desenvolvidos e conseqüentemente, são mais aplicados, provavelmente em virtude de seu alto grau de degradação.

Com o conhecimento da toxicidade é possível controlar a exposição do homem e outros seres a agentes químicos contaminantes, protegendo-os dos riscos potenciais (CETESB, 1986). Além disso, as informações obtidas através dos testes de toxicidade podem ser aplicadas no controle da poluição de um efluente (OLIVEIRA NETO, 2002). Sua utilização como instrumento de controle avalia diretamente a condição de certo tipo de água de atender ou não à sua finalidade preponderante de preservação e proteção das comunidades aquáticas. Para efeito de enquadramento de um lançamento, que causa efeito tóxico em um corpo receptor, deve-se levar em consideração a Legislação Estadual, Regulamento da Lei n° 997, de 31/05/1976, aprovado pelo Decreto n° 8468, de 08/09/1976, artigo 7° (1981), a Legislação Federal, Resolução CONAMA 357/2005, artigo 1° (GOLDSTEIN et al., 1990) que estão definidas as classificações das águas, além dos artigos

2º e 3º, inciso V, do Decreto nº 8468/78, que sinteticamente, proíbem a liberação de poluentes nas águas, que tornem ou possam tornar o meio aquático impróprio, nocivo ou ofensivo à fauna e à flora. Por tanto, prioritariamente, os testes se aplicam ao controle da poluição das águas, em sistemas cujos efluentes são lançados direta ou indiretamente em corpos d'água de classe 2 ou 3 da Legislação Estadual (Decreto nº 10.755, de 22/11/1977 e Decreto nº 24.839, de 06/03/1986), e correspondentes da Legislação Federal (BASSOI et al., 1990).

Os ensaios de toxicidade podem ser divididos em dois grupos: agudos e crônicos. A diferença está no tempo de exposição dos organismos à amostra em cada ensaio. De acordo com Hoffman et al (1995) os testes de toxicidade de curta duração, são designados a mensurar, medir os efeitos dos agentes tóxicos em organismos durante uma curta parte de sua vida. Estes testes muito freqüentemente medem efeitos na sobrevivência num período que pode variar de 24 a 96 horas. Segundo Alves (1999), os testes de toxicidade aguda são relativamente simples, de baixo custo e podem ser realizados com uma grande variedade de organismos em diferentes estágios de vida, mas tem como principal desvantagem, não indicar qual é o contaminante, ou os contaminantes responsáveis pela toxicidade.

Os resultados medidos nestes testes incluem a determinação dos valores de CL_{50} (concentração que causa mortalidade a 50% dos organismos testados) ou CE_{50} (concentração efetiva, ou aquela que causa um efeito, que não a mortalidade como por exemplo a imobilidade, aos organismos expostos) (IBAMA, 1990; ABNT, 1993).

Há também os testes de efeito crônico, que se baseiam na exposição prolongada a um agente tóxico, em concentrações sub - letais ou intensidades as quais podem ocasionar alterações das funções biológicas dos organismos, como a reprodução e o crescimento, por exemplo (GOLDSTEIN et al., 1981; ADAMS, 1995). Para isso são testadas doses sub-letais e a partir dos resultados, calcula-se a Concentração de Efeito Não Observável (CENO), ou seja, a maior concentração do composto químico onde não se observam efeitos deletérios estatisticamente significativos, e Concentração de Efeito Observável (CEO), que significa a menor concentração desse composto químico onde se observam efeitos deletérios estatisticamente significativos. Após a obtenção desses dados calcula-se o Valor Crônico, que consiste na média geométrica dos valores de CENO e CEO (CETESB, 1986).

Apesar do teste de toxicidade crônica ser mais complexo que o agudo, os dados produzidos são úteis na predição da concentração sem efeito nos testes agudos. Reduções na sobrevivência, crescimento e sucesso reprodutivo, têm importância ecológica porque podem reduzir a diversidade (BUIKEMA et al., 1982).

Entretanto, anteriormente aos ensaios definitivos de toxicidade, devem ser realizados ensaios de sensibilidade, que fazem parte de uma outra categoria de testes, descritos na ABNT (1993), que têm o objetivo de avaliar as condições fisiológicas dos organismos que serão utilizados nos testes de toxicidade. Nestes ensaios são utilizados os mesmos procedimentos dos ensaios de toxicidade aguda, porém empregando substâncias tóxicas de referência como o NaCl, K₂Cr₂O₇, KCl, Cu ou Cd, que serão usadas para detectar mudanças na sensibilidade dos organismos. Segundo *Environment Canadá* (1992), recomenda-se que a sensibilidade dos organismos seja realizada dentro de 14 dias antes ou após a realização dos ensaios de toxicidade, ou ainda, paralelamente a estes. Este procedimento evita que sejam utilizados organismos debilitados nos ensaios, produzindo dados duvidosos. Outra vantagem ao se realizar ensaios de sensibilidade, refere-se ao fato dos mesmos servirem como forma de avaliar as condições do laboratório e a habilidade dos profissionais envolvidos no ensaio.

O sistema teste deve ser adequado, considerando as características da substância-teste (volatilidade, bioacumulação, solubilidade). Os sistemas testes podem ser divididos em: estático, semi-estático e fluxo contínuo.

Os **sistemas estáticos** são realizados sem a troca da água ou poluente durante o período de exposição, sendo o organismo exposto à mesma solução-teste durante todo o ensaio. Este ensaio é recomendado, segundo a ABNT (2005), para amostras que não causa depleção de oxigênio, amostras não volátil ou estável em meio aquoso.

Já nos **sistemas semi-estáticos** há a renovação periódica da solução-teste. Este ensaio é recomendado, segundo a ABNT (2005) para amostras que causem depleção de oxigênio ou acumulação de excretas ou compostos tóxicos em meio aquoso. Os **sistemas de fluxo contínuo** são recomendados para amostras voláteis ou instáveis com renovação contínua da solução-teste. Uma metodologia de fluxo contínuo usualmente envolve a aplicação de bombas peristálticas e fluxo medidor, para garantir uma correta concentração da solução testada (LANDIS et al., 1995), sendo por tanto uma prática pouco usual.

3.7.2 Organismos-teste

Várias espécies de organismos vêm sendo empregadas internacionalmente em testes de toxicidade, gerando subsídios importantíssimos para uma melhor avaliação e caracterização dos efeitos agudos e crônicos em diversos agentes tóxicos e corpos receptores (CESAR et al., 1997).

A escolha dos organismos-teste a serem utilizados nos bioensaios deve ser feita levando em consideração o objeto do estudo, ou seja, o organismo utilizado deve ser condizente com a amostra a ser analisada para que o resultado seja confiável e reflita as condições reais do meio.

Para a escolha do organismo-teste geralmente usam-se os seguintes critérios de seleção:

- ❖ Significativa representação ecológica dentro das biocenoses, ou seja, o organismo deverá ter significado ecológico ou econômico, devido à sua abundância, importância econômica ou importância na cadeia alimentar;
- ❖ Cosmopolitização da espécie;
- ❖ Ciclo de vida de curta duração: esta característica facilita o tempo de duração do teste;
- ❖ Conhecimento da biologia, fisiologia e hábitos alimentares;
- ❖ Estabilidade genética e uniformidade das populações;
- ❖ Baixo índice de sazonalidade;
- ❖ Reprodutibilidade dos resultados: a repetição dos experimentos deverá fornecer resultados uniformes, com limites de erros aceitáveis;
- ❖ Sensibilidade constante e apurada. O organismo deverá responder a uma ampla variedade de contaminantes, em concentrações que podem ser encontradas no ambiente natural e,
- ❖ Conhecimento de cultivo e manutenção em laboratório.

Lactuca sativa

Algumas espécies vegetais são utilizadas como bioindicadoras demonstrando a qualidade do meio quando o mesmo apresenta-se degradado ou contaminado. Através da inibição do crescimento de suas raízes ou problemas quanto ao desenvolvimento ou crescimento de suas folhas, tem-se uma quantificação do grau de toxicidade da água de reuso ou do local. Recentemente espécies de alface (*Lactuca sativa*) vêm sendo empregadas em ensaios para a verificação da toxicidade de solos, sedimentos e efluentes (figura 1).

Em casos de disposição de efluentes em solos, como é o caso de irrigação com águas de reuso, este ensaio contribui para avaliar e nortear o grau de contaminação sofrido pela área tratada assim como a saturação do solo frente aos compostos tóxicos.



Figura 1 - Sementes de alface (*Lactuca sativa*) utilizadas nos ensaios de genotoxicidade. (Foto: M. S. Georgetti)

Microcrustáceo

Espécies zooplanctônicas são consideradas muito importantes dentro dos ecossistemas aquáticos, devido ao seu papel na cadeia trófica, sendo classificados como consumidores primários, já que se alimentam diretamente de dos produtores primários. Neste sentido, há uma transferência de parte da energia da luz solar assimilada pelas algas, através da fotossíntese para os demais componentes da cadeia trófica.

De acordo com Bertolotti & Zagatto (2006) o crescimento dos dafinídeos ocorre imediatamente após a muda (ecdise). Fases pré-adultas mudam quase diariamente, enquanto adultos o fazem a cada 2 ou 3 dias. A fase reprodutiva é atingida, em condições favoráveis, do 3º ao 6º estágio (dependendo da espécie), podendo produzir de 4 a 65 jovens imediatamente antes de cada muda.

Segundo Knie et al (2004) a *Daphnia similis* STRAUS, 1820 (Cladocera, Crustácea) é um microcrustáceo planctônico de água doce, com tamanho médio de 4 mm que atua na cadeia alimentar aquática como consumidor primário entre os metazoários (figura 2 B). Sua alimentação basicamente compreende material orgânico particulado, especialmente algas unicelulares sendo ingeridas através de um sistema de filtração. Em condições favoráveis, a reprodução é assexuada, originando apenas fêmeas. Porém, em condições estressantes como falta de alimento ou superpopulação, surge na cultura machos, que após fecundar os ovos, dão origem aos *efípios*, ou seja, ovos envoltos por uma casca única de cor escura, altamente resistente às condições desfavoráveis. Este estágio permanece até que o meio retorne as condições propícias, possibilitando a eclosão do *efípio*, liberando as fêmeas que irão se reproduzir paternogeneticamente dando continuidade ao ciclo de vida do organismo.

A *Ceriodaphnia dubia* (figura 2 A), sendo uma espécie zooplanctônica da família Daphniidae, possui sistema filtrador, onde capta seu alimento suspenso na coluna d'água. Conforme ABNT (2003a) a *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 (Cladocera, Crustacea) é um microcrustáceo zooplanctônico, de 0,8 mm a 0,9 mm de comprimento, que atua como consumidor primário na cadeia alimentar aquática e se alimenta por filtração de material orgânico particulado. Estes organismos, vulgarmente conhecidos como pulga-d'água, são cosmopolitas. Possuem um desenvolvimento rápido, apresentam reprodução assexuada e o tempo necessário para o ovo se tornar um adulto leva alguns dias.



Figura 2 – (A) Fêmea de *Ceriodaphnia dubia* Richard e (B) fêmea de *Daphnia similis* Straus. (fotos: D. T. Okumura)

Peixe

A importância da utilização de peixes como bioindicadores está baseada em dois fatores básicos: o ecológico e o econômico. Na maturidade, certos peixes ocupam níveis superiores na cadeia trófica, como predadores, enquanto outros são detritívoros ou herbívoros, sendo que da fase de larva ao adulto apresenta um desenvolvimento que pode também envolver diferentes fases de alimentação trófica. Existem ainda espécies que são migratórias, enquanto outras são endêmicas, habitando quase todos os tipos de habitats do ambiente aquático (TONISSI, 1999).

Outro fator importante quanto à utilização de peixes em testes toxicológicos está no fato de que o mesmo é utilizado como fonte de alimento para o homem, e sendo assim, os estudos de bioacumulação tornam-se necessários, para que possa haver um monitoramento da qualidade do alimento e programas de proteção à saúde das populações.

Desde a década passada, o *Danio rerio* vem se tornando um importante modelo de organismo para pesquisas biológicas (NUSSLEIN-VOLHARD, 2002). Estes são particularmente susceptíveis a influência de substâncias tóxicas durante o período reprodutivo (gametogenese) e no desenvolvimento do período larval (embrião ou girino).

A família Ciprinidae é uma das grandes famílias de peixes de água doce, possui de 2000 a 2600 espécies. Vários membros desta família são importantes como fontes de alimentação, como peixe de aquário e em pesquisas biológicas (HOFFMAN et al., 1995).

O *Danio rerio* (figura 3) é um tipo de peixe tropical, nativo do Oeste da Índia e de Burma, sendo membro da família Ciprinidae (EPA, 2002). É uma espécie ovípara, ou seja, a fêmea libera os ovos que são rapidamente fecundados pelo esperma do macho; onívora, de comprimento médio de 4 cm a 51 cm, que atua como consumidor secundário na cadeia alimentar aquática (ABNT,2003b). É de fácil obtenção e se reproduz facilmente, garantindo elevado número de ovos imersíveis, visto que a mortalidade é alta, não aderentes e transparentes, propiciando praticidade na montagem dos testes. O desenvolvimento do ovo dura de 72h a 96h a 26 °C. Na fase adulta, seu corpo apresenta-se achatado (TONISSI, 1999).

O sexo dos organismos pode ser reconhecido facilmente: a fêmea é robusta, ligeiramente maior que o macho e prateada, normalmente apresenta o abdômen muito inchado devido ao desenvolvimento de ovos. As listras abdominais são incompletas sendo apenas evidente nos terços anterior e posterior do organismo. O macho é alongado, delgado e levemente dourado, especialmente no abdômen e nas nadadeiras peitorais e caudais e apresenta a listra abdominal completa (ABNT, 2003b).

Estes organismos podem ainda ser popularmente conhecido como paulistinha ou zebra-fish.



Figura 3 – Fêmeas de *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae). (Foto: www.badmanstropicalfish.com)

4.0 OBJETO DE ESTUDO

Fundada em 1968, a Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), única instituição federal de ensino superior localizada no interior do Estado de São Paulo, destaca-se pelo alto nível de qualificação de seu corpo docente: 98,92% são doutores ou mestres. Em sua maioria, os professores desenvolvem atividades de ensino, pesquisa e extensão em regime de dedicação exclusiva. As atividades da Universidade envolvem também cerca de 5.800 alunos em 28 cursos de graduação e aproximadamente 1.800 em 20 programas de pós-graduação.

A Universidade possui três *Campi*: o principal fica em São Carlos, município localizado a 235 km da capital do Estado (objeto de estudo desta pesquisa), que tem 230 hectares de extensão, sendo 25 mil m² de área construída, sendo o outro na cidade de Araras. Há também o campus na cidade de Sorocaba, ainda na fase de planejamento (UFSCar, 2006).

O Departamento de Química (DQ) é uma das unidades vinculadas ao CCET (Centro de Ciências Exatas e Tecnologia) da UFSCar. Seu corpo docente, com 38 doutores, é altamente qualificado e sua expressiva produção científica é reconhecida nacional e internacionalmente. O DQ tem exercido relevante papel para o desenvolvimento social do país colaborando, de forma efetiva, na resolução de problemas industriais e no desenvolvimento de novas tecnologias. Os diversos laboratórios do DQ dispõem de equipamentos modernos e sofisticados, que colocam ao alcance dos pesquisadores as técnicas mais modernas de análise química (UFSCar, 2007).

Entretanto, juntamente com produção científica, são gerados efluentes líquidos que acabam sendo lançados na rede pública de esgoto sem conhecimento sobre suas características e os possíveis impactos que os mesmos possam causar quando atingem o corpo d'água. Consciente deste problema, a Unidade de Gestão de Resíduos (UGR), responsável pelo tratamento e gerenciamento dos diversos resíduos gerados em atividades de ensino e pesquisa da universidade, elaborou em novembro de 2006 uma estimativa da quantidade de resíduos ativo em quilograma e em porcentagem de acordo com o tipo de resíduo produzido em cada laboratório do DQ. De acordo com este relatório, foram

selecionados os laboratórios que apresentaram a maior porcentagem de ativo em relação à geração de efluentes líquidos, para serem estudados.

Por tanto a quantidade de efluente gerado foi o critério utilizado para a escolha dos três laboratórios estudados, que são os maiores contribuintes do DQ.

A seguir, uma breve síntese de cada laboratório estudado.

Laboratório de Síntese de Produtos Naturais “Prof. Dr. José Tércio B. Ferreira” está localizado no Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. As duas áreas de pesquisa em desenvolvimento no laboratório são a Ecologia Química e a Química Medicinal. Um dos objetivos deste laboratório é o isolamento, identificação e síntese de semioquímicos (feromônios e cairomônios). Estes compostos podem ser usados de várias maneiras para reduzir a quantidade de pesticidas convencionais aplicados nas plantações. Outra linha de pesquisa é a síntese de produtos naturais e análogos com atividades fungicidas e/ou inseticidas (UFSCar, 2007)

Laboratório de Química de Produtos Naturais, (PN), iniciou suas atividades de pesquisa no Departamento de Química da UFSCar, em meados da década de 70, com a contratação do Prof. João Batista Fernandes. Sua linha de pesquisa compreende a busca de compostos Antichagásicos e Antileishmanioses em plantas brasileiras; busca de inseticidas em plantas da ordem Rutales usando como inseto modelo *Spodoptera frugiperda* e estudo de produtos naturais associado ao controle de formigas cortadeiras (UFSCar, 2007).

Laboratório de Síntese Orgânica possui sua linha de pesquisa voltada para a síntese de substâncias naturais bioativas e metodologia em Síntese Orgânica. Alguns projetos de pesquisa como polissacarídeos modificados para fase quiral em cromatografia líquida de alta pressão; em controle de medicamentos; oxidação assimétrica usando complexo de peroximoblidênio em presença de ciclodextrina; desenvolvimento e aplicações de colunas de polissacarídeo.

5.0 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Coleta

Foram coletadas águas de lavagens de vidrarias sendo que no dia da coleta, os usuários foram orientados a lavar suas vidrarias em uma única pia, para que a amostra final fosse representativa. As amostras foram coletadas ao longo do dia, ou de acordo com o procedimento de lavagem das vidrarias, respeitando as particularidades de cada laboratório. Para isso, procedeu-se da seguinte forma:

- ❖ A cuba da pia foi lavada com detergente, para que não ocorressem interferentes de outros compostos que possivelmente estivessem aderidos a ela;
- ❖ Retirou-se o sifão, conectando-se a ele uma bombona graduada de 20 (vinte) litros de capacidade;
- ❖ Ao atingir a capacidade limite, o efluente era homogeneizado e posteriormente alíquotas de 6 a 7 litros eram coletadas, sendo então transferidas para uma bombona de 50 (cinquenta) litros;
- ❖ Ao final do dia, o efluente contido na bombona de 50 litros foi utilizado nas análises.

Para que este estudo pudesse melhor representar a composição dos efluentes dos laboratórios do Departamento de Química, realizou-se um rodízio, para que cada laboratório pudesse ser analisado em situações diferentes, ou seja, um laboratório só seria amostrado novamente, após ter sido realizado a coleta nos outros dois. Neste sentido, as três coletas previstas em cada laboratório, aconteceram em momentos diferentes, o que possibilitou abranger efluentes com composições variadas.

Após a coleta das amostras, realizaram-se os ensaios ecotoxicológicos assim como as análises físicas e químicas.

5.2 Análises físicas e químicas

Utilizou-se o pHmetro modelo Q 400A marca Quimis® para medir o pH das amostras e as medidas de durezas dos efluentes foram realizadas utilizando o método de titulação com EDTA em presença do indicador negro de euriocromo. Utilizou-se a

cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) na determinação do dodecil benzeno sulfonato de sódio realizado em Sistema Shimadzu, com detector de fluorescência e metanol/água como fase móvel, em coluna C-8 de 15mm x 4,6mm x μm (Duarte et al., 2006).

Os metais pesados foram determinados através do método de espectrometria de emissão atômica com plasma de Argônio induzido – ICP-OES, seguindo as recomendações do fabricante do equipamento Espectrômetro de emissão atômica TJA – ICP modelo IRIS DUO. Para a determinação do mercúrio utilizou-se o método por espectrometria de adsorção atômica – Geração de vapor frio; seguindo as recomendações do fabricante – Espectrômetro de adsorção atômica Perkin Elmer, modelo Analyst 300 com gerador de vapor frio acoplado. Esta técnica de espectrometria de emissão explora o fato de que elétrons emitem energia a um determinado comprimento de onda quando retornam ao estado fundamental. A característica fundamental deste processo é a emissão de energia em comprimentos de onda específicos para cada elemento. Embora cada elemento emita energia em múltiplos comprimentos de onda, na técnica de ICP-OES é mais comum a seleção de um único comprimento de onda (ou alguns) para determinado elemento.

Utilizou-se a cromatografia líquida de alta eficiência para determinação de Alquilbenzeno Linear Sulfonado (LAS) em amostras de efluentes provenientes dos laboratórios. O padrão de LAS aplicado foi ácido dodecilbenzeno sulfônico-sal sódico, que apresentou 4 picos principais no cromatograma, relacionados aos diferentes homólogos da cadeia alquílica linear.

5.3 Cultivo dos organismos-teste

Lactuca sativa

A obtenção das sementes de alface (*Lactuca sativa*) deu-se através de estabelecimento comerciais com procedência. A marca utilizada foi a Topseed[®] sendo utilizada semente de alface crespa para verão. As sementes não sofreram nenhum tratamento preliminar.

Cladoceros

Os cladóceros, utilizados como organismos-teste, foram cultivados e mantidos segundo as normas padronizadas (ABNT, 2005). Os organismos foram cultivados em béquer de 2 L (cristalizadores) com água reconstituída sendo a dureza total de 40 – 48 mg CaCO₃/L e pH entre 7,0 – 7,6 e mantidos em incubadora a 25°C e fotoperíodo de 16h luz/8h escuro. Três vezes por semana as culturas foram alimentadas, sendo que um dia por semana realizou-se troca total da água dos cristalizadores e nos outros dois, houve apenas troca parcial. O número de indivíduos em cada béquer não excedeu 120 para *C. dubia* e 50 para *D. similis*, evitando assim superpopulação, disputa por alimento e estresse. Quando uma cultura atinge o 15º dia, uma nova cultura foi montada, descartando-se os organismos adultos e separando neonatas para que uma nova cultura fosse mantida. Por volta do 7º dia, esta cultura, provavelmente estará na 3º geração, podendo então, ser utilizada para os ensaios ecotoxicológicos.

Os organismos foram alimentados com 2,0 mL/L de alimento composto e suspensão de alga clorofícea (figura 4). O alimento composto foi preparado misturando partes iguais de ração para peixe (Tetramin[®]) e água destilada em aeração constante por uma semana. Após este período, cessa-se a aeração e deixou-se a ração decantar por 2 horas, sendo em seguida filtrada em rede de zooplâncton. Misturaram-se partes iguais desta ração fermentada com levedura de fermento biológico seco Fleishmann[®] dissolvido em 50 mL de água destilada). A alga clorofícea utilizada foi *Pseudokirchneriella subcapitata* (ex *Selenastrum capricornutum*), em fase exponencial de crescimento, cultivada em meio CHU-12, sob iluminação e aeração constantes. Após decantação em geladeira, o sobrenadante foi retirado, eliminando desta forma, nutrientes do meio não aproveitados pela alga, ou metabólitos da mesma, e o precipitado, ressuspendido com água reconstituída. A densidade de células da suspensão algácea foi, então, determinada por meio de contagem em Câmara de Neubauer, sob microscópio óptico. A partir desse dado, calculou-se o volume a ser adicionado às culturas-estoque, para que a concentração fornecida fosse de 1×10^5 células por organismo.

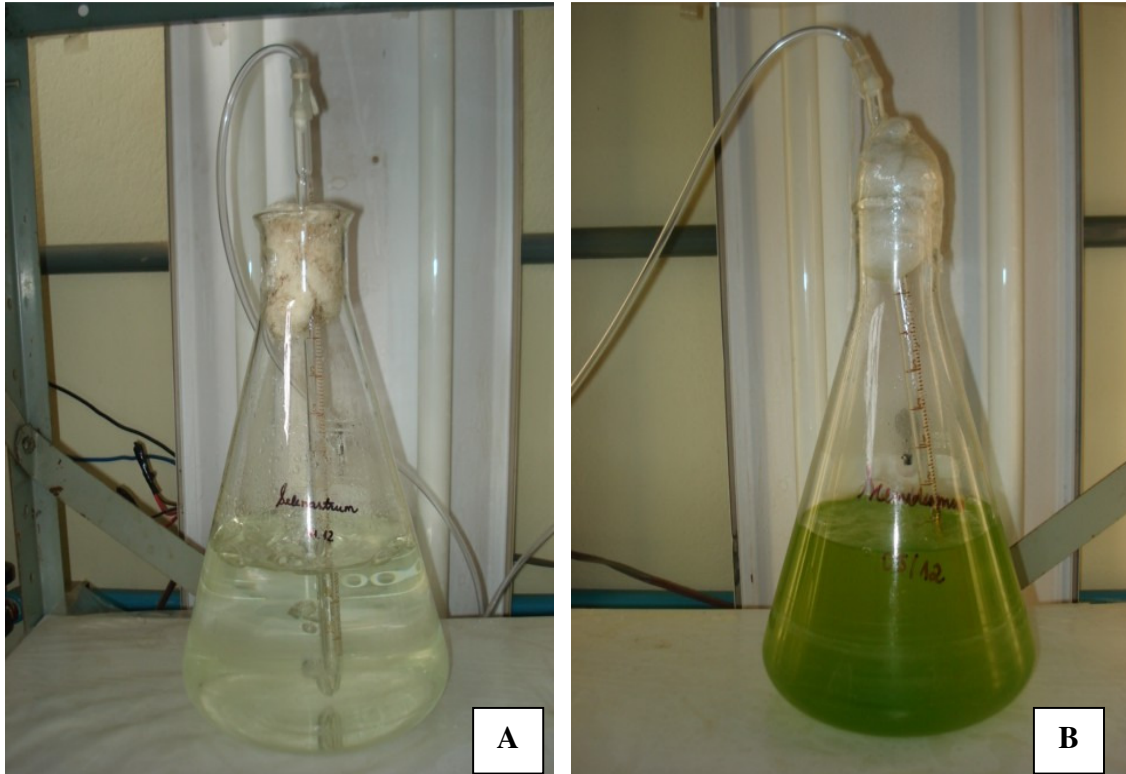


Figura 4 - Vista geral do cultivo da alga clorofícea *Pseudokirchneriella subcapitata*. (A) no início da aeração, (B) após 07 dias sob aeração e fotoperíodo de 12/12h.

Danio rerio

Os peixes foram obtidos de estabelecimentos comerciais idôneos sendo então aclimados por no mínimo uma semana, para que os doentes ou deficientes fossem detectados e separados dos demais, evitando sua utilização nos ensaios. Os organismos foram mantidos em água reconstituída (dureza total de 40 – 48 mg CaCO₃/L e pH entre 7,0 – 7,6) em temperatura ambiente, sendo alimentados uma vez por dia com ração seca em flocos de qualidade, sob aeração constante. A água dos aquários era trocada parcialmente toda semana ou sempre que necessário, evitando o acúmulo de ração ou fezes dos organismos no fundo.

5.3 Ensaio de sensibilidade

As condições fisiológicas dos organismos utilizados nos testes foram medidas periodicamente, através de ensaios de sensibilidade com uma substância de referência.

Nos ensaios com *Ceriodaphnia dubia*, diluições de 0 (controle), 0,6; 1,0; 1,3; 1,6 e 2,2 g/L de Cloreto de Sódio (NaCl) e com *Daphnia similis* utilizando Dicromato de Potássio (K₂Cr₂O₇) em diluições de 0,02; 0,04; 0,08; 0,16 e 0,32 mg/L, cinco neonatas com até 24 h de idade foram colocados em tubos de ensaio contendo 10mL de cada diluição a partir da solução estoque de 10g/L de NaCl e 0,1mg/L de K₂Cr₂O₇. O ensaio foi realizado em triplicata por um período de 48 h, sem alimentação e no escuro. Um controle foi feito, contendo apenas água reconstituída, também em triplicata. O efeito medido nestes ensaios foi a imobilidade. Ao início do ensaio as variáveis pH e dureza foram medidas. Ao término do ensaio, os valores de CE₅₀ – 48h foram calculados.

Para os ensaios de sensibilidade com peixes, organismos adultos com comprimento total de 2,0 cm ± 1,0 de *Danio rerio* foram expostos às diferentes concentrações da substância de referência, Dicromato de Potássio (50, 100, 150, 200, 300 mg/L), sendo um controle feito, utilizando apenas água reconstituída. Os experimentos foram realizados em triplicata para cada concentração sendo colocados doze organismos em cada. Durante o ensaio (48 horas), os organismos-teste foram mantidos em sala com temperatura ambiente, sem alimentação e sem aeração nos recipientes. Ao término, os valores de CL₅₀ - 48h foram calculados.

5.4 Ensaio de Toxicidade Aguda com amostras do efluente

Tanto nos ensaios agudos quanto nos crônicos, não foi possível estabelecer diluições padrões, visto a heterogeneidade do efluente.

Cladoceros

Nos ensaios de toxicidade aguda utilizando os cladóceros *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis*, foram preparados várias diluições em triplicata e um controle com o mesmo número de réplicas das soluções-teste, somente com água de diluição e com os organismos-teste. Para cada diluição e controle adicionaram-se 15 organismos. O ensaio foi mantido em temperatura controlada de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 48 h em ambiente escuro, sem alimentação dos organismos, sendo os recipientes-teste cobertos. Ao início do ensaio foram medidos o pH e a dureza das soluções-teste e após 48 h, e ao término observou-se o número de organismos móveis e determinou-se a $CE_{50} - 48h$ (%).

Os resultados só podem ser considerados válido se a porcentagem de organismos imóveis no controle não exceder 10% (ABNT, 2004c).

Danio rerio

Os ensaios de toxicidade com o peixe *Danio rerio* adulto foram realizados de acordo com a metodologia descrita na norma padronizada da ABNT (2003b). Variáveis como pH e dureza das diluições foram medidas no início e no final e a cada troca da solução-teste. Segundo as normas da CETESB, os testes serão válidos se a mortalidade no controle for inferior a 10% (CETESB, 1999).

O sistema de exposição dos organismos foi o semi-estático, ou seja, a solução-teste era renovada a cada 48 horas, sendo medida pH e dureza tanto da solução antiga quanto da recém preparada. A água utilizada tanto para o controle quanto para o preparo das diluições foi a reconstituída com dureza total de 40 – 48 mg CaCO_3/L e pH entre 7,0 – 7,6. Os ensaios foram realizados com organismos adultos do peixe *Danio rerio*, com comprimento total de $2,0 \text{ cm} \pm 1,0 \text{ cm}$, expostos de forma aleatória, por um período de 96 horas, com leituras parciais após 24 e 48 horas.

Recipientes plásticos foram utilizados (figura 5), tendo 10 organismos em cada diluição, respeitando a proporção de 1 grama de peixe para um litro de amostra, sendo as concentrações analisadas em triplicata. Os recipientes-teste foram cobertos com tela para evitar que os peixes saltassem e mantidos por 96 h, $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Após este período verificou-se o número de organismos mortos e determinou-se os valores de $CL_{50} - 96h$ (%).



Figura 5 – Vista dos recipientes-testes utilizados nos ensaios de toxicidade aguda para o peixe *Danio rerio* com efluentes de laboratórios químicos. (Foto: M. S. Georgetti).

5.5 Ensaios de Toxicidade Crônica com amostras do efluente

Ceriodaphnia dubia

Nos ensaios de toxicidade crônica, 10 neonatas com menos de 24 horas de vida do cladocera *Ceriodaphnia dubia* foram distribuídos em tubos de ensaios contendo 15 mL do efluente testado em concentrações sub-letais. Utilizaram-se 10 réplicas para cada diluições, inclusive para o controle. Os ensaios foram mantidos em incubadora a $24 \pm 2^\circ\text{C}$ por aproximadamente 15 dias, com fotoperíodo de 16h (claro) / 8h (escuro). As soluções-teste foram renovadas a cada 48 horas, sendo que a cada renovação os organismos adultos eram transferidos para uma solução nova, já com alimento (alga clorofícea e alimento composto). Na renovação das soluções-teste, registrou-se o número de organismos adultos sobreviventes e o número de jovens vivos em cada recipiente-teste. Variáveis como pH e dureza foram medidas a cada renovação da solução-estoque. Os resultados são considerados válidos se, ao término do período de ensaio a mortalidade dos organismos adultos no controle não exceda 20% e se a produção média de organismos jovens produzidos por fêmea no controle for maior ou igual a 10 (ABNT, 2005).

Foi realizado um ensaio crônico para cada efluente coletado, sendo as concentrações determinadas a partir dos ensaios de toxicidade aguda.

5.6 Tratamento estatístico

Para o cálculo da CL₅₀ - 96h e CE₅₀ - 48h, obtidos nos ensaios de sensibilidade e agudos, utilizou-se o método estatístico Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977). Nos ensaios de toxicidade crônica, os dados foram sumarizados utilizando o programa computacional TOXSTAT 3.3 (GULLEY et al., 1991). O teste de Fishers avaliou a sobrevivência dos organismos em relação ao controle. Em relação a reprodução, aplicou-se os testes de normalidade (χ^2) e o de homogeneidade (Teste de Hartley). Quando os dados apresentavam distribuição normal, os dados de reprodução eram submetidos aos testes paramétricos de Dunnett (número igual de réplicas em todos os tratamentos e irá comparar os tratamentos que são diferentes do controle) e o de Tukey (utilizado para comparação de cada grupo com todos os grupos); e, quando não apresentavam distribuição normal, eram aplicados testes não paramétricos como o Steel Many – One (utilizado para comparar tratamentos com o controle, quando não é observada a normalidade dos dados) e o Kruskal – Wallis (indicado na comparação da média de cada grupo com a média dos demais grupos) (BURATINI e BERTOLETTI, 2006).

5.7 Análises da germinação

Lactuca sativa

Para testar germinação e crescimento, sementes de *Lactuca sativa* foram distribuídas em placas de petri contendo papel filtro em locais pré-determinados (conforme figura 6 A), sendo expostas a 2mL do efluente em diluição de 25, 50, 75 e 100% além do controle feito apenas com água reconstituída (Dutka, 1997). Cada placa recebeu 20 sementes sendo as placas envolvidas por papel alumínio, armazenadas em caixa de isopor mantidas a 25°C por 72 h, em ausência de luz. Para a realização dos cálculos, mediram-se

as raízes da alface (figura 6 B) com o auxílio de um papel milimetrado e duas pinças, tomando o cuidado para não partir ou danificar as raízes. Os valores encontrados do comprimento das raízes foram lançados numa planilha do Excel para cálculo da porcentagem de inibição de germinação das sementes, e o crescimento das raízes, em relação ao controle.

Após a determinação da porcentagem de inibição, estes valores foram sumarizados e analisados, utilizando o método estatístico Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977).

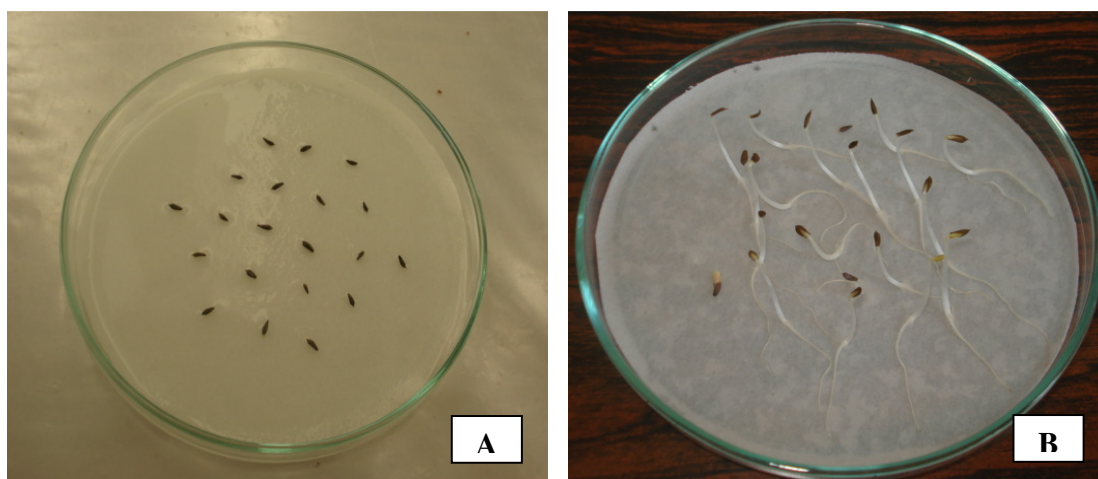


Figura 6 – Vista das sementes no início do ensaio utilizando *Lactuca sativa* (A); Término do ensaio (B).

6.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Ensaio de Sensibilidade

Os valores encontrados nos ensaios de sensibilidade indicaram que os organismos-teste estavam adequados a serem utilizados nos ensaios de toxicidade aguda e crônica realizados neste trabalho. Os resultados de CE_{50} - 48h ($mg.L^{-1}$) para *Ceriodaphnia dubia* (Tabela 01; Apêndice A) utilizando como substância de referência o cloreto de sódio (NaCl) e para *Daphnia similis* (Tabela 02; Apêndice A) utilizando dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) ficaram dentro da faixa de sensibilidade estabelecida para os mesmos nas condições da carta controle estabelecida para o laboratório de Ecotoxicologia da UFSCar: 1,07 a 2,23 $g.L^{-1}$ NaCl para *C. dubia* (Figura 7) e 0,02 a 0,32 $mg.L^{-1}$ $K_2Cr_2O_7$ para *Daphnia similis* (Figura 8). Estas faixas foram estabelecidas de acordo com estudos já realizados por Takenaka (2007), onde a faixa de sensibilidade ao cloreto de sódio para *C. dubia* foi de 1,06 a 1,64 $g.L^{-1}$ NaCl. Para a espécie *D. similis* utilizou-se a faixa de sensibilidade estabelecida por Coelho (2006) de 0,052 a 0,169 $mg.L^{-1}$ $K_2Cr_2O_7$, neste mesmo laboratório.

A sensibilidade do peixe *Danio rerio* (Tabela 03, Apêndice A) foi testada expondo-o ao dicromato de potássio. Os valores de CL_{50} - 48h ($g.L^{-1}$) permaneceram dentro da faixa de sensibilidade já estabelecida para o mesmo: 138,59 a 170,18 $g.L^{-1}$ para $K_2Cr_2O_7$ (Figura 9).

Os ensaios de sensibilidade foram realizados segundo procedimentos padronizados pela ABNT (2004c).

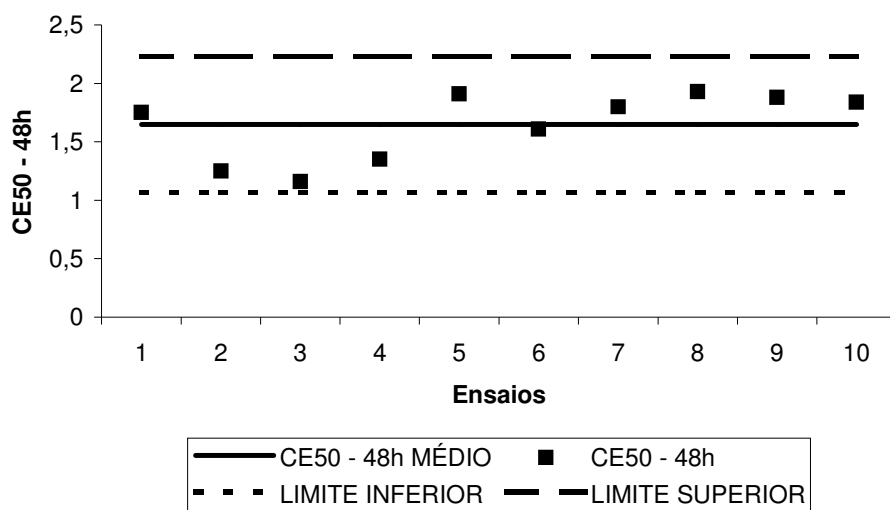


Figura 7 - Faixa de sensibilidade para *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) ao Cloreto de Sódio (NaCl).

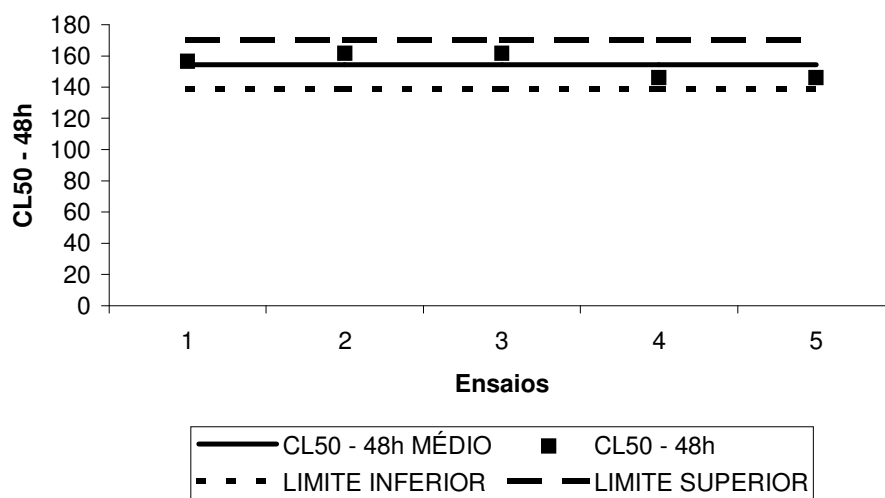


Figura 8 - Faixa de sensibilidade da *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) ao dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$).

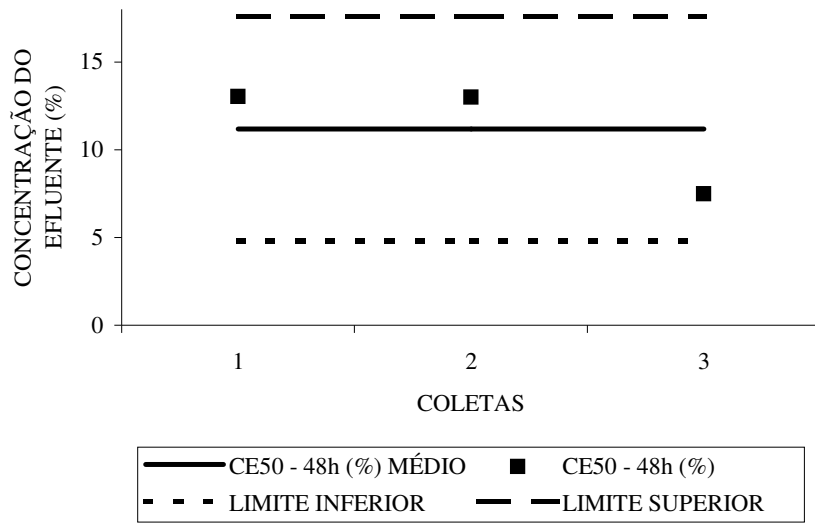
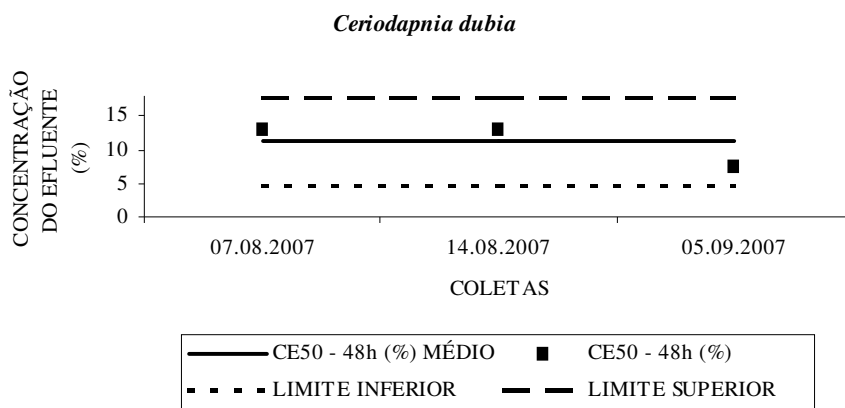


Figura 9 - Faixa de sensibilidade do *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) ao Dicromato de Potássio ($K_2Cr_2O_7$).

6.2 Ensaio de Toxicidade dos Efluentes Coletados no Laboratório de Química de Produtos Naturais

6.2.1 Ensaio de toxicidade aguda

Todas as amostras do efluente causaram efeito tóxico agudo aos cladoceros *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis* (Figura 10) e para o peixe *Danio rerio* (Figura 11). A terceira coleta, no entanto, apresentou maior toxicidade para ambos cladóceros, especialmente para o peixe, por ter causado a letalidade de todos os organismos expostos ao efluente já na primeira leitura, ou seja, 24 horas após o início do ensaio (Tabelas de 4 a 12; Apêndice A).



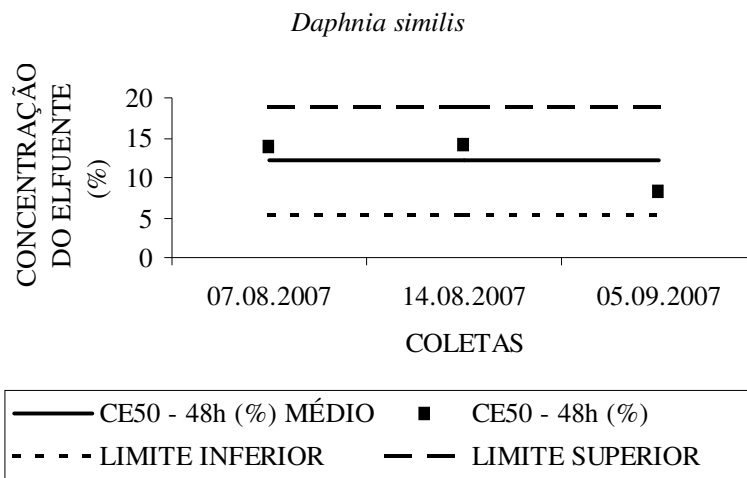


Figura 10 - Concentração do efluente (%) e seus respectivos valores de $CE_{50} - 48h$ (%), limite inferior e superior de acordo com a $CE_{50} - 48h$ (%) médio para *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) nos ensaios de toxicidade aguda (48 horas), com o efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos.

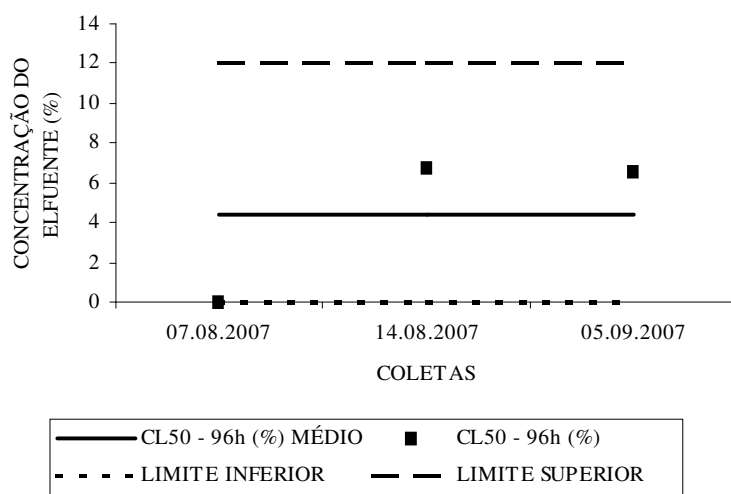


Figura 11 - Concentração do efluente (%) e seus respectivos valores de $CL_{50} - 96h$ (%), limite inferior e superior de acordo com a $CL_{50} - 96h$ (%) médio para *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) nos ensaios de toxicidade aguda (96 horas), com o efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos.

O efluente da coleta do dia 05.09.2007 causou maior toxicidade para a *C. dubia* (Tabela 6, Anexo A), uma vez que o valor de CE_{50-48h} foi o menor, especialmente para o peixe *Danio rerio*, não sendo possível o cálculo da CL_{50-96h} (%) (Tabela 3), já que todos os organismos morreram em apenas 24 horas de exposição ao efluente.

Tabela 3 – Valores da concentração efetiva mediana CE_{50-48h} do efluente coletado no Laboratório de Química de Produtos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos, em %, obtidos nos ensaios de toxicidade aguda para os dafnídeos *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) e valores de CL_{50-96h} (%) para o peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae).

Organismo-teste	Data da Coleta	CE _{50-48h} (%)	IC – 95%	Desvio Padrão	CE _{50-48h} (%) médio	Coefficiente de Variação (%)
Ceriodaphnia dubia	07.08.2007	13,05	12,75 – 15,05			
	14.08.2007	13,00	13,00 – 15,06	3,20	11,18	28,58
	05.09.2007	7,49	6,61 – 8,49			
Daphnia similis	07.08.2007	13,99	13,00 – 15,06			
	14.08.2007	14,10	13,19 – 15,07	3,36	12,11	27,73
	05.09.2007	8,23	7,31 – 9,27			
Danio rerio	07.08.2007	00	00			
	14.08.2007	6,73	3,16 – 14,36	3,83	4,42	86,7
	05.09.2007	6,54	3,62 – 11,81			

Os resultados dos ensaios de toxicidade aguda, realizados com o efluente do laboratório coletado no dia 05.09.2007 demonstram que houve toxicidade deste aos cladoceros, tendo-se obtido o valor para a CE_{50-48h} (%) do efluente com toxicidade aguda à espécie *C. dubia*, em que 73,33% dos organismos estavam imóveis ou mortos já na diluição de 9% (Tabela 06, Anexo A). A toxicidade dos efluentes das demais coletas apresentou-se semelhante, não havendo uma diferença significativa. O organismo *D. similis* também foi sensível ao efluente coletado no dia 05.09.2007, embora o valor de CE_{50-48h}

(%) 8,23 tenha sido superior quando comparado àquele obtido para a *C. dubia*, demonstrando ser esta espécie menos sensível. Em relação ao peixe *Danio rerio*, o efluente causou efeito tóxico quando os indivíduos foram expostos observando-se toxicidade já na primeira leitura, após 24 horas após o início do ensaio. Verificou-se a letalidade de todos os organismos, exceto naqueles do controle não sendo possível o cálculo da $CL_{50} - 96h$ (%) (Tabela 3).

As amostras coletadas nos dias 07.08 e 14.08.2007 apresentaram toxicidade semelhante para ambas as espécies, embora *C. dubia* tenha apresentado maior sensibilidade ao efluente.

Os valores de $CL_{50} - 96h$ (%) para o peixe nas coletas dos dias 07.08 e 14.08.2007 nos ensaios de toxicidade aguda foram similares, ou seja, os efluentes não causaram diferença significativa em relação aos valores obtidos nos ensaios anteriores.

Excetuando a terceira coleta (05.09.2007) as demais coletas apresentaram efeito tóxico semelhante não havendo valores discrepantes entre as $CE_{50} - 48h$ (%) e as $CL_{50} - 96h$ (%). Embora a composição do efluente seja inconstante, ficando os resultados condicionados às análises realizadas no laboratório assim como sua sazonalidade, o fato dos valores de toxicidade encontrada nos ensaios aguda terem sido relativamente próximos sugere que estes podem ser utilizados como um indicador do efeito tóxico constante causado pelo efluente.

6.2.2 Ensaio de toxicidade crônica

A sobrevivência dos cladóceros foram afetadas quando expostos a concentrações mais elevadas do efluente (Tabelas 13, 14 e 15; Apêndice A). Contudo, o número de neonatas produzidas e vivas não seguiu o esperado (efeito dose-resposta), onde o número de neonatas deveria diminuir conforme diminuísse a diluição do efluente. Em algumas amostras, o número de neonatas produzidas foi maior nas concentrações menos diluídas (figuras de 12 a 17). Este comportamento poderia ser atribuído a compostos orgânicos presentes no efluente que estimulariam a produção de neonatas, como por exemplo, os resíduos de extratos de plantas ainda aderidos às vidrarias lavadas. Segundo Zagatto &

Bertoletti (2006), este efeito, onde nas concentrações mais elevadas pode ocorrer um estímulo na reprodução ou no crescimento dos organismos expostos a um contaminante, denomina-se “hormesis”. Contudo, os autores ignoram este efeito, visto que o mesmo não é adverso.

Na análise dos dados, foram consideradas apenas as neonatas vivas, registradas ao longo dos ensaios (ABNT, 2005).

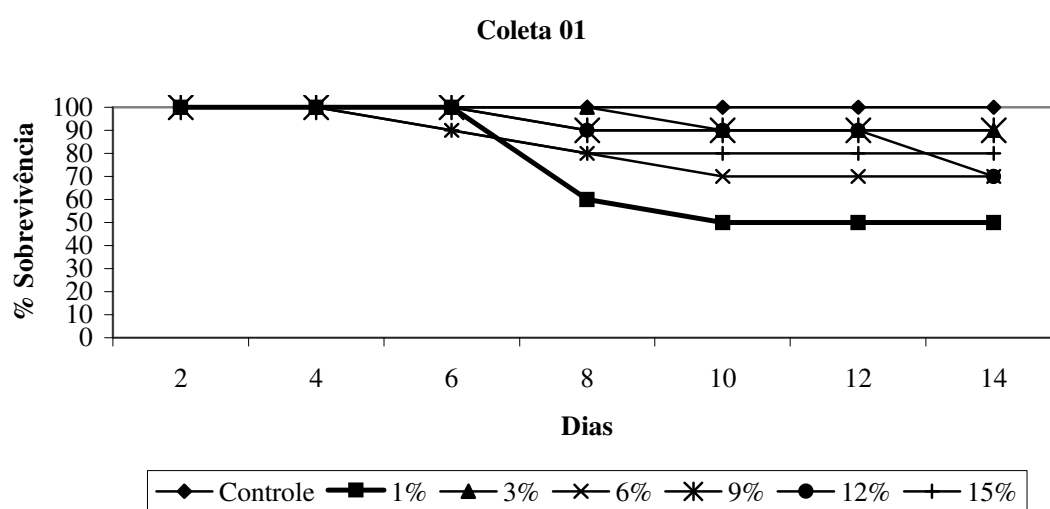


Figura 12 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (14 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 07.08.2007. A linha em destaque representa a diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

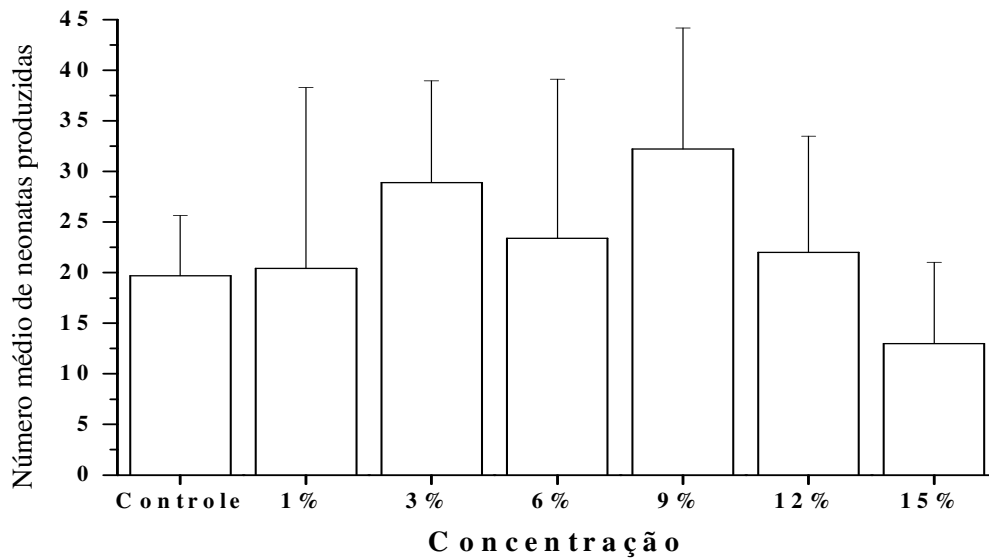


Figura 13 - Número médio de neonatas produzidas pelo dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), durante testes de toxicidade crônica (14 dias) com efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados no dia 07.08.2007. Barra de erros correspondem ao desvio padrão.

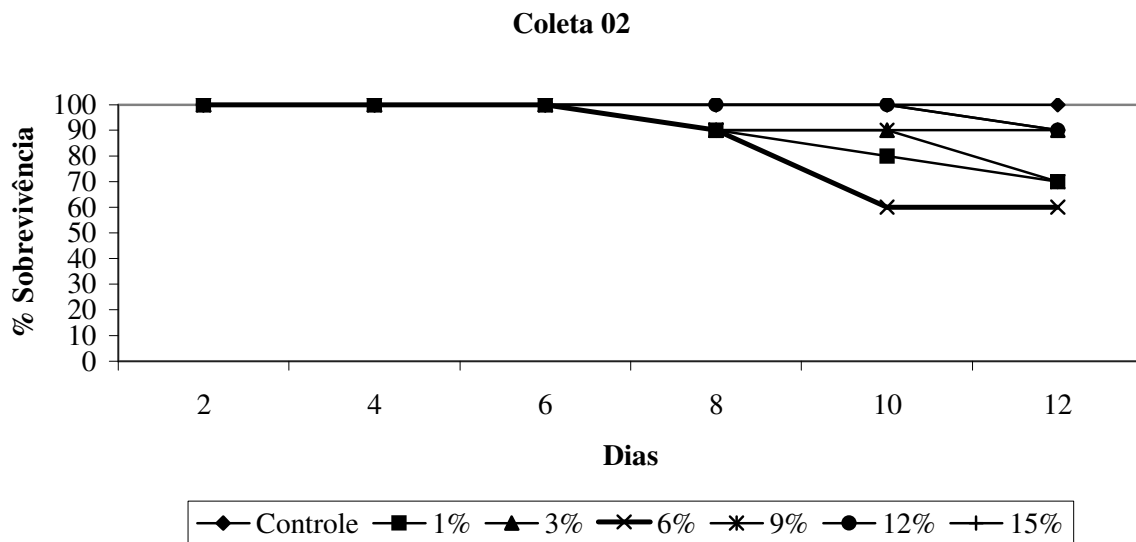


Figura 14 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (12 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 14.08.2007. A linha em destaque representa a diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

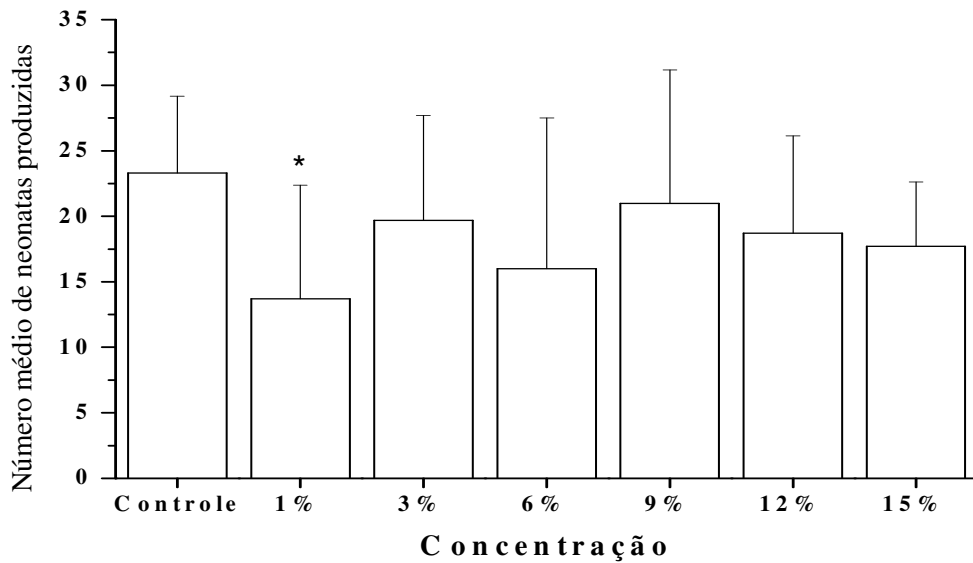


Figura 15 - Número médio de neonatas produzidas pelo dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), durante testes de toxicidade crônica (12 dias) com efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados no dia 14.08.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão. O asterisco (*) representa a diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

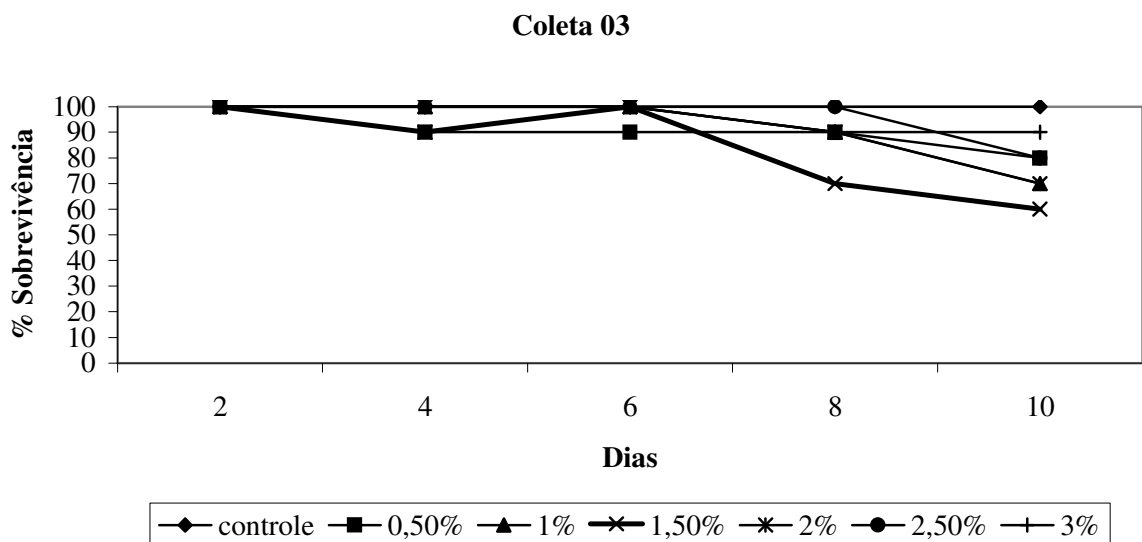


Figura 16 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 05.09.2007. A linha em destaque representa diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

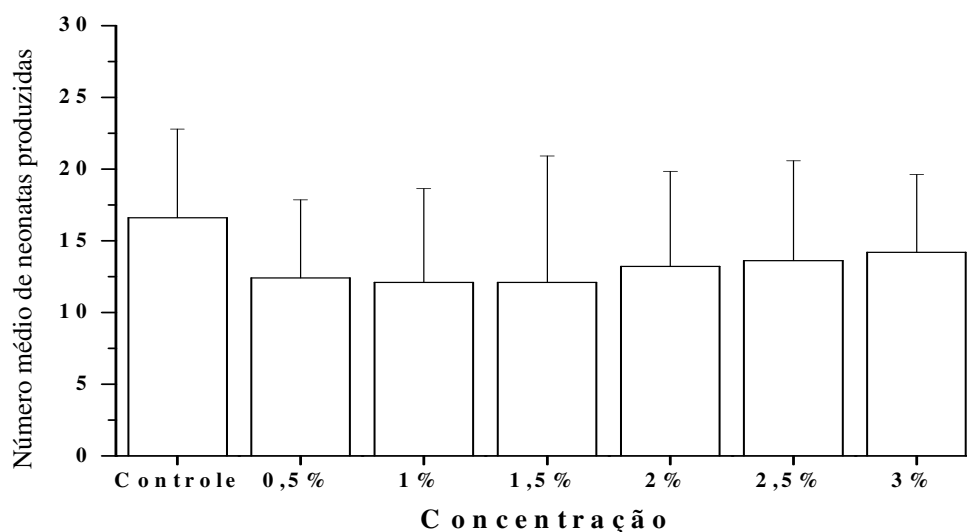


Figura 17 - Número médio de neonatas produzidas pelo dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), durante testes de toxicidade crônica (10 dias) com efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados no dia 105.09.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão.

Conforme os resultados dos ensaios de toxicidade crônica realizados com o efluente da coleta 01 (Tabela 13, Apêndice A), notou-se uma diferença estatística, de acordo com o teste de Fishers (Apêndice A1.1) entre a concentração de 1% em relação ao controle, onde nesta concentração houve maior letalidade dos cladóceros (Figura 12).

Em relação ao teste de Tukey, houve uma diferença estatisticamente significativa na produção de neonatas, entre as concentrações de 9% e de 15%, onde a primeira teve uma maior produção (Figura 13). Excetuando a concentração de 15%, onde a produção de neonatas foi afetada começando somente após o 9º dia de idade dos organismos, todas as demais concentrações produziram um número maior de neonatas quando comparadas a do controle (Apêndice A1.2).

Os resultados encontrados após exposição dos organismos às concentrações do efluente da coleta 2 (Tabela 14, Apêndice A), apontam para um comportamento semelhante à coleta 1, não havendo diferenças expressivas entre as concentrações em relação a produção de neonatas (Figura 15). Os resultados obtidos nos ensaios evidenciam que ocorreram danos a sobrevivência do cladóceros, afetando-a significativamente na

concentração de 6%, quando comparada o do controle (Figura 14). Entretanto, a concentração que obteve o menor número de neonatas produzidas, foi a de 1%. O número de neonatas produzidos na concentração de 1% manteve-se praticamente constante durante todo o ensaio.

Embora o número médio de neonatas no controle tenha sido de 23, as demais concentrações, excetuando a de 1% apresentaram valores próximos, entre 16 e 21, demonstrando que o efluente não exerceu efeito negativo na reprodução dos cladóceros (Apêndice A1.3 a A1.5).

Nos ensaios realizados com amostras de efluentes da 3^o coleta, a primeira ninhada inicia-se logo após 96 horas do início do ensaio, em todas as concentrações, incluindo o controle. A sobrevivência dos organismos expostos ao efluente foi afetada significativamente na concentração de 1,5% (Figura 16), em relação ao controle (Apêndice A1.7). Contudo, esta concentração não afetou a reprodução dos organismos sobreviventes, tendo uma média de 12 neonatas. Em relação à reprodução dos cladóceros nas demais concentrações, não foi observada diferença estatística na reprodução (Figura 17). Ao contrário do efeito dose-resposta, a produção de neonatas foi estimulada nas concentrações maiores, sendo o número de neonatas produzidos semelhantes ao do controle (Apêndice A1.8).

Ao se analisar os três ensaios de toxicidade crônica, realizados com efluentes do Laboratório de Química de Produtos Naturais, pode-se concluir que o efluente que mais causou efeito tóxico afetando a reprodução dos cladóceros, foi o da 3^o coleta. O número de neonatas produzidos (sem contar com as produzidas no controle) na 1^o e na 2^o coleta foram de 1399 e 1068, respectivamente, ambas com concentrações iguais (1; 3; 6; 9; 12 e 15%). Já na 3^o coleta, o número de neonatas foi de 776 sendo que as concentrações foram menores (0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; e 3%) para que pudessem ser observados efeitos sub-letais.

6.2.3 Ensaio de Genotoxicidade utilizando *Lactuca sativa*

Após 72 horas de exposição de sementes de *Lactuca sativa* a concentrações de 25, 50, 75 e 100% de amostras de efluente coletadas no Laboratório de Química de Produtos Naturais, mediu-se o comprimento das radículas de cada semente de cada tratamento (Tabelas 40, 41 e 42; Apêndice B). Os dados de germinação e crescimento das radículas de *L. sativa* expostas às amostras dos efluentes coletados nos dias 07, 14.08.2007 e 05.09.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais e no controle, expressos em valores médios e em porcentagem de inibição do crescimento das radículas em relação ao controle, podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores médios de comprimento em (cm) das radículas de *Lactuca sativa* resultantes de cinco repetições em ensaios de genotoxicidade com exposição das sementes a diferentes diluições dos efluentes coletados no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e respectivas porcentagens de inibição do crescimento em relação ao controle.

		Controle		25%		50%		75%		100%	
Réplica		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
07.08.2007	Média (cm)	2,05	1,86	1,91	1,86	2,69	1,81	1,79	2,48	1,85	2,19
	D.P	0,50	0,79	0,69	0,63	1,00	0,69	0,64	0,58	0,88	0,50
	C.V.	24,44	42,57	36,43	34,07	37,35	38,32	35,86	23,45	47,43	22,95
	Porcentagem de inibição do crescimento em relação ao controle	----	----	2,42	4,73	0	7,29	8,57	0	5,5	0
14.08.2007	Média (cm)	1,84	1,83	1,70	1,81	1,88	1,56	1,57	1,65	1,42	1,52
	D.P.	0,51	0,43	0,45	0,28	0,49	0,80	0,68	0,45	0,87	0,65
	C.V	27,86	23,46	15,62	25,81	51,34	51,34	43,65	27,29	61,42	42,79
	Porcentagem de inibição do crescimento em relação ao controle	----	----	7,5	1,5	0	15,14	14,59	10,23	22,51	17,32
05.09.2007	Média (cm)	1,58	1,84	1,95	1,96	1,99	1,81	1,59	1,89	1,92	1,72
	D.P.	0,80	0,70	0,34	0,57	0,57	0,68	0,79	0,57	0,58	0,79
	C.V.	50,78	38,04	17,49	29,07	28,74	37,51	49,89	30,43	30,41	45,85
	Porcentagem de inibição do crescimento em relação ao controle	----	----	0	0	0	0	7	0	0	0

Em relação aos testes com *Lactuca sativa*, o efluente coletado dia 07.08.2007 proporcionou maior crescimento das radículas nas diluições mais elevadas, de 50, 75 e 100%, onde o valor médio do tamanho das mesmas superou o do controle. Na diluição de 50% o valor médio das radículas medidas foi o maior, 2,96 cm contra 2,05 cm do controle tendo a diluição de 25%, o menor valor, 1,86 cm.

Na coleta do dia 14.08.2007, o efluente afetou o crescimento das radículas de *Lactuca sativa* à medida que sua concentração foi maior (menor diluição). Quando exposta ao efluente integral, sem diluição, registrou-se o menor valor de comprimento das radículas, 1,52 cm. Nas diluições de 25 e 50%, as médias do tamanho das radículas foram crescentes, atingindo o maior valor na diluição de 50%, 1,88 cm, enquanto que no controle, a média foi de 1,84 cm. Este comportamento sugere que, quando expostas a uma diluição

de 50% do efluente, a germinação das sementes de *L. sativa* são estimuladas, refletindo em radículas maiores.

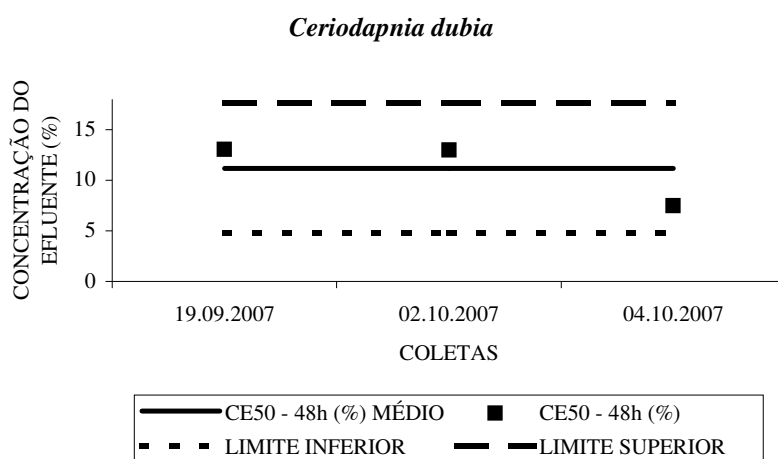
O comprimento médio das radículas na diluição de 50% da coleta do dia 05.09.2007, assim como o da coleta anterior, também apresentou o maior valor, quando comparado aos demais, 1,99 cm. Já o controle o comprimento foi o menor dentre os tratamentos, 1,84 cm. Nesta coleta, observou-se que a germinação e o comprimento das radículas não foi afetado quando as sementes eram expostas ao efluente menos diluído, pelo contrário, houve um aumento quando comparado os valores da diluição de 75% e 100%.

Dentre as coletas realizadas no Laboratório de Química de Produtos Naturais, o efluente que causou efeito tóxico a *Lactuca sativa* foi o coletado dia 14.08.2007, por apresentar um decréscimo no comprimento das radículas nas diluições de 75 e 100% ao longo do ensaio. As demais coletas não causaram toxicidade ao alface, uma vez que ambas apresentaram germinação e crescimento das radículas nas amostras do efluente integral (100%) superior ao controle, sugerindo que os efluentes contenham elementos que sirvam como nutrientes ao organismo-teste.

6.3 Ensaios de Toxicidade dos Efluentes Coletados no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais (LSPN)

6.3.1 Ensaios de toxicidade aguda

As amostras do efluente causaram efeito tóxico agudo aos cladoceros *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis* (Figura 18) e para o peixe *Danio rerio* (Figura 19). A coleta do dia 04.10.2007, terceira coleta, no entanto, resultou o menor valor de $CE_{50} - 48h$ (%), isto é, foi mais tóxico para ambos os cladoceros, causando um valor próximo a 0,8 (Tabelas 18 e 21; Apêndice A). Embora a $CL_{50} - 96h$ (%), obtida nos ensaios realizados com peixe, em amostras do efluente da 1ª coleta tenha sido a menor, 6,36; este valor não pode ser utilizado para concluir que esta tenha sido a coleta mais tóxica para o invertebrado, já os valores das demais coletas estão muito próximos a ele (Tabelas 22, 23 e 24; Apêndice A).



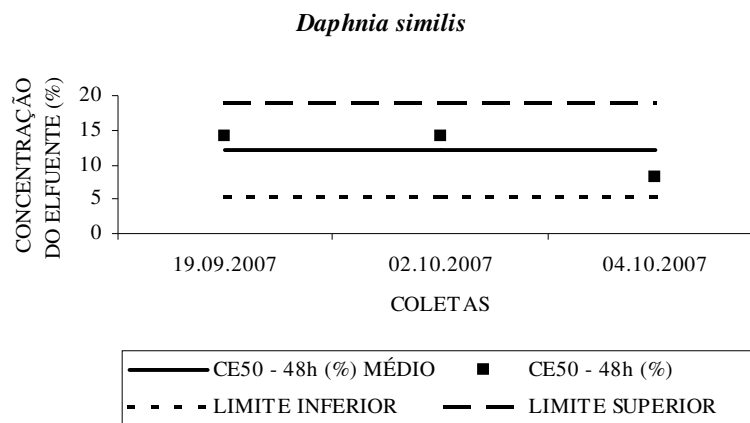


Figura 18 - Concentração do efluente (%) e seus respectivos valores de $CE_{50} - 48h$ (%), limite inferior e superior de acordo com a $CE_{50} - 48h$ (%) médio para *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis*, nos ensaios de toxicidade aguda (48h) com o efluente do Laboratório de Síntese de Produtos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos.

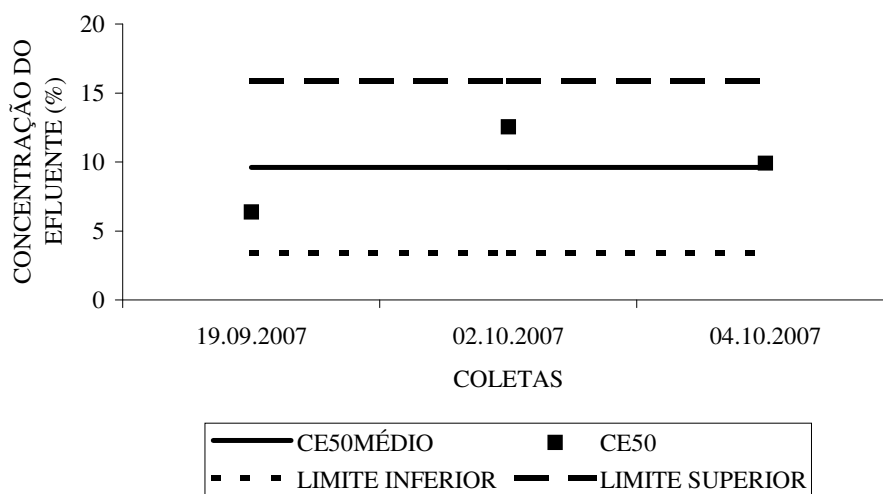


Figura 19 - Concentração do efluente (%) e seus respectivos valores de $CL_{50} - 96h$ (%), limite inferior e superior de acordo com a $CL_{50} - 96h$ (%) médio para *Danio rerio* nos ensaios de toxicidade aguda (96h) com o efluente do Laboratório de Síntese de Produtos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos.

Os resultados obtidos nos ensaios de toxicidade aguda realizados com os organismos-teste *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia similis* e *Danio rerio*, indicaram toxicidade, considerando-se que a porcentagem de imobilidade (para os cladoceros) e letalidade (para o peixe) foi crescente com o aumento da concentração do efluente, sendo

observado o efeito dose-resposta. O cladocero *Ceriodaphnia dubia* mostrou-se mais sensível quando exposto ao efluente (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores da concentração efetiva mediana CE_{50-48h} do efluente coletados no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, em %, obtidos nos ensaios de toxicidade aguda para os dafínideos *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) e valores de CL_{50-96h} (%) para o peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae).

Organismo-teste	Data da Coleta	CE _{50-48h} (%)	IC – 95%	Desvio Padrão	CE _{50-48h} (%) médio	Coefficiente de Variação
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	19.09.2007	8,06	7,45 - 8,72			
	02.10.2007	1,89	1,22 - 2,95	3,92	3,58	109,1
	04.10.2007	0,8	0,59 - 1,09			
<i>Daphnia similis</i>	19.09.2007	9,03	7,74 - 10,54			
	02.10.2007	4,63	3,9 - 5,49	4,09	4,84	84,5
	04.10.2007	0,85	0,37 - 1,94			
<i>Danio rerio</i>	19.09.2007	6,36	4,22 - 9,58			
	02.10.2007	12,56	10,70 - 14,75	3,11	9,61	32,36
	04.10.2007	9,92	8,45 - 11,65			

O efluente coletado no dia 19.09.2007, correspondente a primeira coleta, não apresentou toxicidade aguda elevada aos organismos, ocasionando valores de CE_{50-48h} (%) para os cladóceros próximos a 9 (%) e para os peixes a CL_{50-96h} (%) foi de 6,36 (%). Já o efluente do dia 02.10.2007 causou efeito tóxico agudo aos cladoceros *Daphnia similis* especialmente para *Ceriodaphnia dubia*. Os peixes, embora tenham sido afetados quando expostos ao efluente, acarretando toxicidade aguda, o valor de CL_{50-96h} (%) obtido foi o maior, quando comparadas às demais coletas realizadas no mesmo laboratório, 12,56.

A terceira coleta, ocasionou o menor valor de CE_{50-48h} (%) para ambas as espécies de cladoceros, demonstrando ser o efluente mais tóxico, causando 100% de

letalidade dos organismos já na concentração de 3% para *C. dubia* (Tabela 18, Anexo A). O valor de $CL_{50} - 96h$ (%) encontrado para o peixe na terceira coleta, manteve-se praticamente constante às coletas anteriores.

Os efluentes coletados no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais, excetuando a primeira coleta, afetaram significativamente e de maneira crescente a mobilidade dos cladóceros. Já aos peixes, não houve efeito tóxico pronunciado em relação à sobrevivência.

6.3.2 Ensaio de Toxicidade Crônica

Por não apresentarem distribuição normal, os resultados produzidos no ensaio de toxicidade crônica realizados com o efluente da 1° coleta não passaram nos testes de normalidade (teste χ^2) e homogeneidade (teste de Hartley). Neste caso, aplicou-se o método não paramétrico de Steels Many – One e o Kruskall Wallis (Apêndice A2.1). O efluente causou efeito tóxico em todas as concentrações, prejudicando a sobrevivência dos organismos (Figura 20). O efluente prejudicou, nas concentrações de 3,5; 5; 6; e 7% a reprodução dos cladóceros, em relação ao controle, especialmente na de 7%, onde a média de produção de neonatas foi de 1,3 e a do controle foi de 21,4. Ao comparar a reprodução dos organismos das concentrações entre si, verificou-se uma diferença estatística significativa entre a concentração de 7,5 e 3,5%, evidenciando a toxicidade do efluente na concentração de 7,5%. Excetuando o controle e a concentração de 1%, a reprodução dos organismos foi afetada consideravelmente, sendo a produção de neonatas decrescente a partir do sétimo dia de vida. Nota-se que, na concentração de 7,5%, a reprodução iniciou-se tardiamente, após 9° dia de idade (Figura 21).

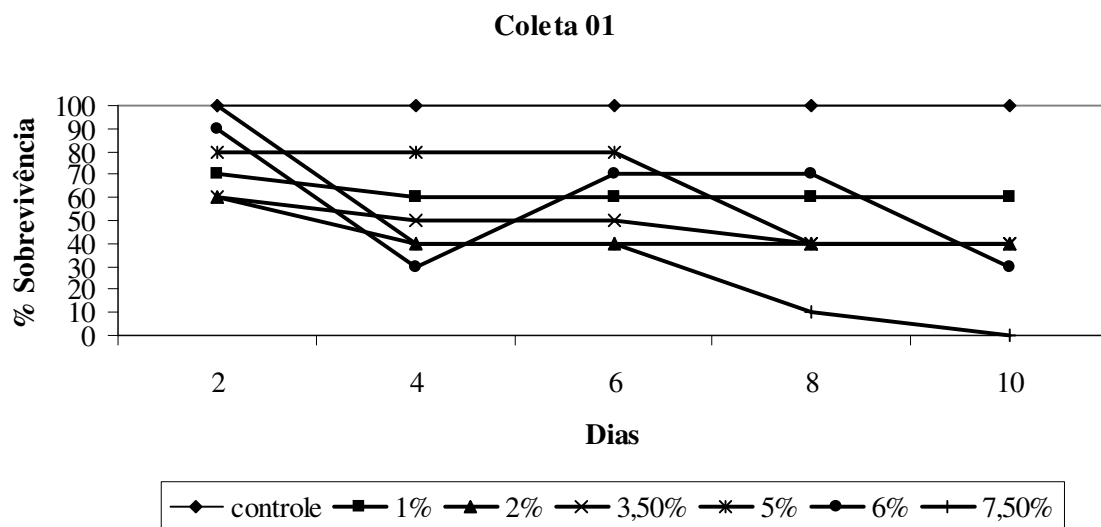


Figura 20 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 19.09.2007. As linhas em destaque representam diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

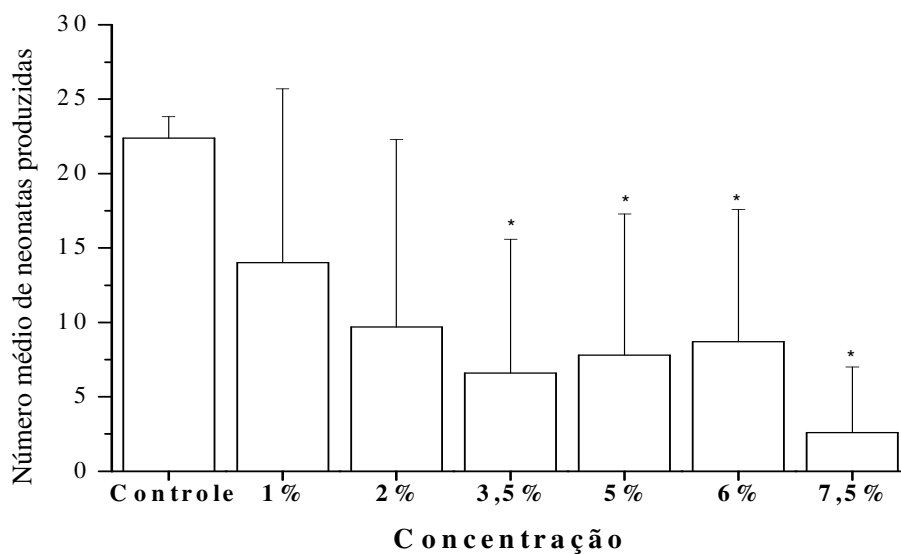


Figura 21 - Número médio de neonatas produzidas pelo dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), durante testes de toxicidade crônica (10 dias) com efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais Universidade Federal de São Carlos, coletados no dia 19.09.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão. O asterisco (*) representa a diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

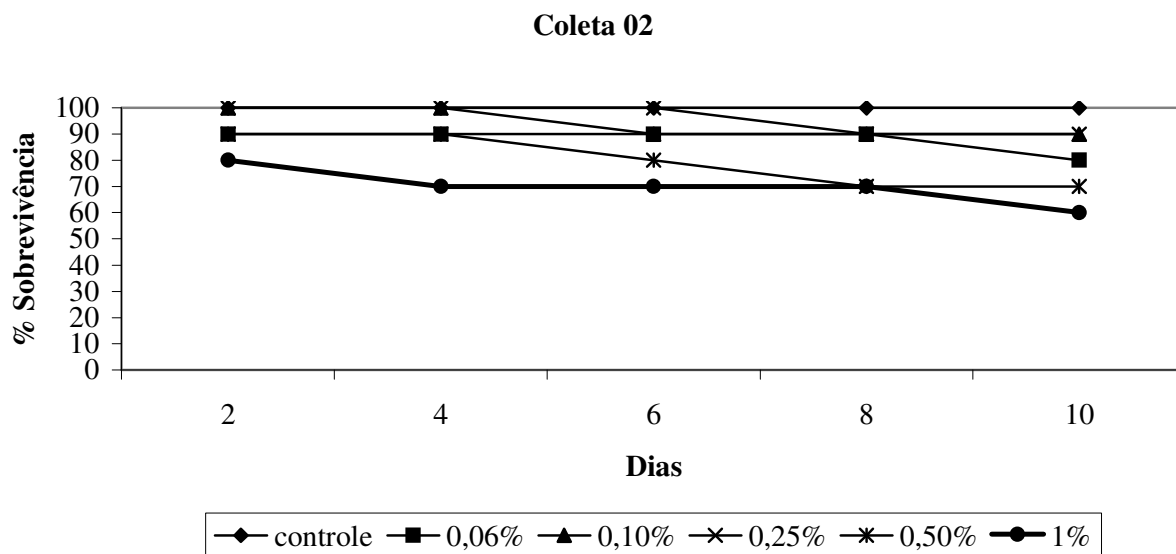


Figura 22 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 02.10.2007. A linha em destaque representa diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

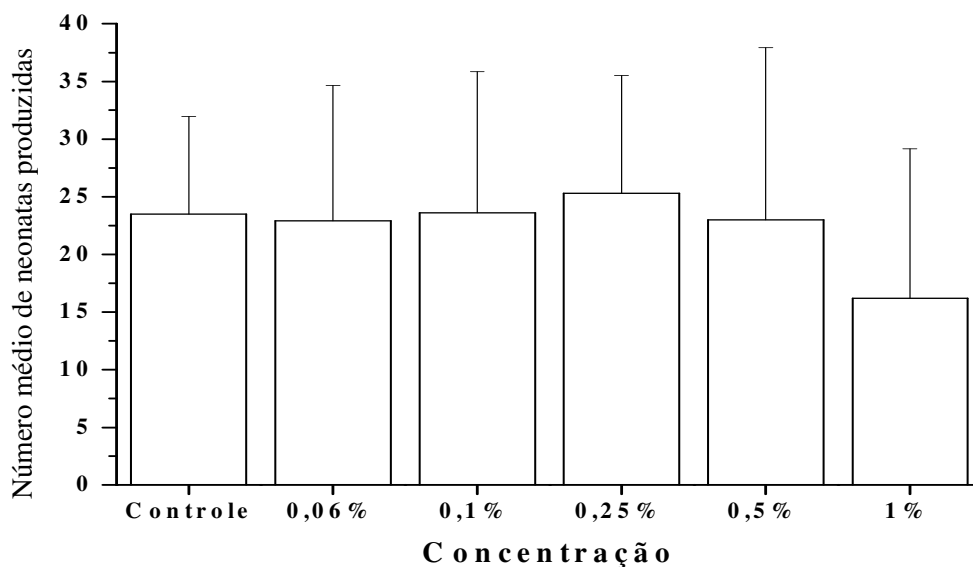


Figura 23 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 02.10.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão.

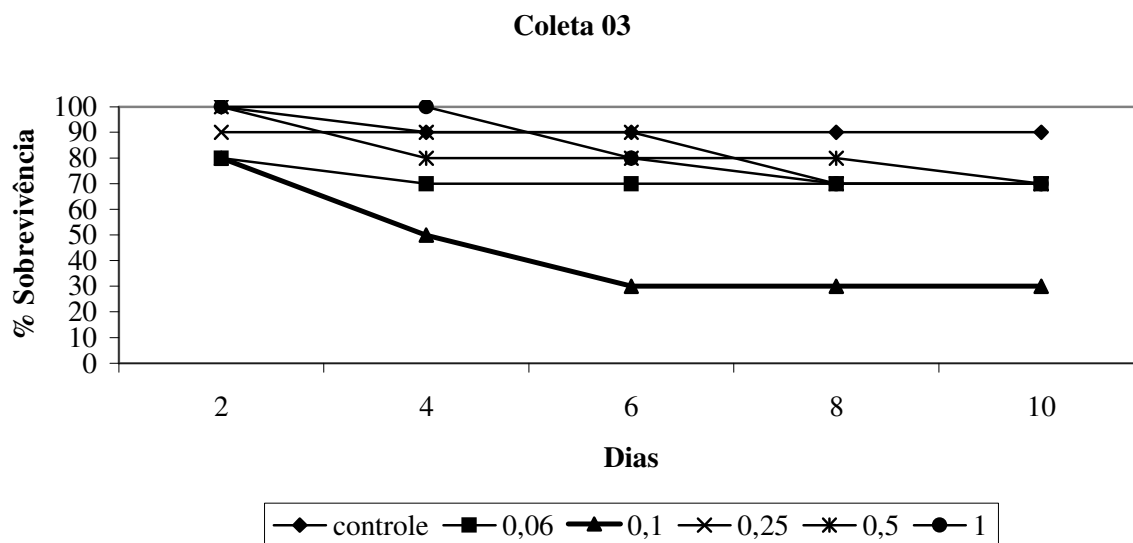


Figura 24 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 04.10.2007. A linha em destaque representa diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

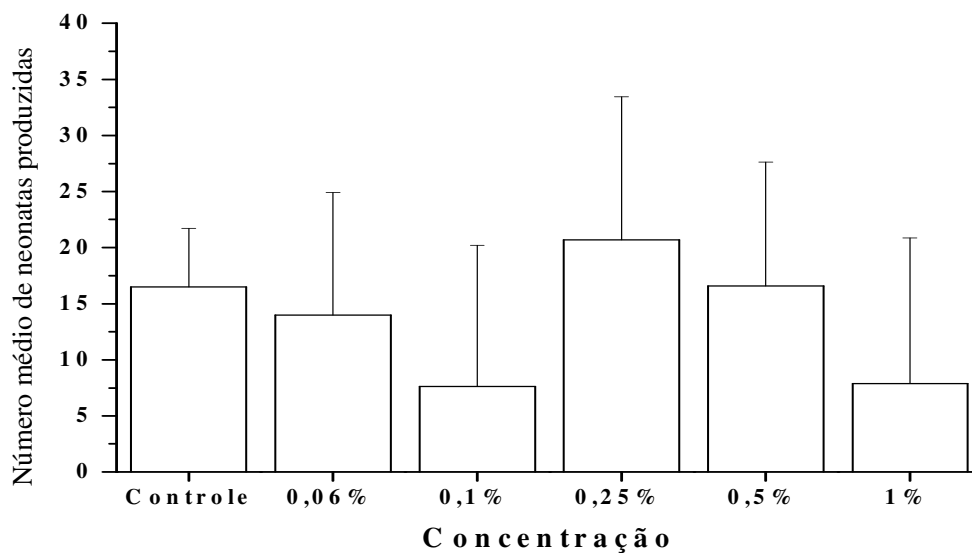


Figura 25 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 04.10.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão.

O ensaio realizado com o efluente da 1ª coleta ocasionou um efeito dose - resposta, onde os cladóceros do controle produziram maior número de neonatas em relação aos das demais concentrações (Tabela 25; Apêndice A).

Na coleta 2 (Tabela 26, Apêndice A), a reprodução dos cladóceros no controle deu-se logo após 96 horas do início do ensaio. Porém a sobrevivência foi afetada significativamente na concentração de 1% (Figura 22). As reproduções dos organismos expostos às demais concentrações não foram afetadas, especialmente na de 0,25%, onde o número médio de neonatas foi superior a do controle (Figura 23).

A sobrevivência dos cladóceros foi afetada significativamente na concentração de 0,1%, quando expostos ao efluente da 3ª coleta, causando 70% de letalidade aos organismos ao final do ensaio (Figura 24). A reprodução dos demais organismos expostos às concentrações de 0,06; 0,1 e 0,5% do efluente não foram afetadas pela exposição ao efluente (Figura 25), sendo que na de 0,25% houve um estímulo à reprodução dos cladóceros, ocasionando um possível efeito “hormesis” (Tabela 27; Apêndice A).

A heterogeneidade das concentrações dos efluentes coletados no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais, utilizadas nos ensaios de toxicidade crônica demonstra que a toxicidade pode variar, estando condicionada as atividades realizadas no laboratório. Embora as concentrações na 3ª coleta sejam as mais baixas (0,06; 0,1; 0,25; 0,5 e 1%), percebe-se que reprodução não foi afetada, tendo produzido 668 neonatas. Já os resultados dos ensaios realizados com efluente da 1ª coleta demonstram que houve uma redução no número de neonatas, 494; mesmo as concentrações sendo maiores que as da coleta 03 (1; 2; 3,5; 5; 6 e 7,5%). Outro aspecto relevante refere-se a coleta 02, onde as concentrações utilizadas foram as mesmas da coleta 03, entretanto a reprodução foi bem superior, atingindo 1110 neonatas produzidas ao final do ensaio.

Ainda que o efluente da 1ª coleta tenha causado danos à reprodução como visto na coleta 1 (Apêndice A2.1), de modo geral, o efluente do laboratório estimulou os organismos já que mesmo na concentração mais baixa (0,06%) houve uma produção média de 184 neonatas.

6.3.3 Ensaio de Genotoxicidade utilizando *Lactuca sativa*

Os valores médios dos comprimentos das radículas de *L. sativa* exposto ao efluente coletado dia 19.09.2007 demonstram que houve um decréscimo à medida que a diluição decrescia (Tabela 43; Apêndice B e Tabela 6).

Tabela 6 - Comprimento (cm), média das cinco réplicas do em cada coleta do Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e porcentagem de crescimento em relação ao controle das radículas de *Lactuca sativa*.

		Controle		25%		50%		75%		100%	
Réplica		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
19.09.2007	Média (cm)	1,21	1,86	1,27	1,31	1,17	1,18	1,23	1,13	1,16	1,00
	D.P	0,26	0,44	0,50	0,40	0,37	0,43	0,54	0,43	0,36	0,63
	C.V.	21,77	23,75	39,42	30,52	31,87	36,30	44,47	38,03	30,69	63,69
	Porcentagem de inibição do crescimento em relação ao controle	----	----	17,26	14,66	23,78	23,45	20,2	26,71	24,42	34,18
02.10.2007	Média (cm)	1,42	1,54	1,43	1,16	1,31	1,16	1,14	1,26	1,33	1,34
	D.P.	0,51	0,41	0,53	0,61	0,48	0,55	0,59	0,37	0,28	0,37
	C.V	36,17	26,68	37,54	52,88	36,83	47,50	52,18	29,52	21,47	27,96
	Porcentagem de inibição do crescimento em relação ao controle	----	----	3,71	21,62	11,82	21,62	23,31	14,86	10,47	9,46
04.10.2007	Média (cm)	1,82	1,81	0,30	0,08	0,19	0,21	0,00	0,17	0,08	0,10
	D.P.	0,19	0,22	0,67	0,36	0,61	0,50	0,00	0,52	0,34	0,45
	C.V.	10,49	12,25	226,32	447,21	328,22	244,91	0,00	315,39	447,21	447,21
	Porcentagem de inibição do crescimento em relação ao controle	----	----	83,7	95,6	90	88,6	100	90,9	95,9	94,5

O maior crescimento foi observado no controle, com média de 1,86 cm, enquanto que o menor foi o da amostra não diluída (100%), 1,16 cm. Este comportamento, onde o controle tem o maior crescimento das radículas e a amostra com o efluente integral têm o menor, pode ser evidenciado no valor de porcentagem de inibição do crescimento das radículas em relação ao controle, foi de 34,18 %, o maior em relação às demais diluições. Na segunda coleta, houve um aumento no comprimento das radículas expostas às diluições

de 75% e as com o efluente integral (sem diluição), embora, os valores não tenham ultrapassado o do controle (Tabela 44, Apêndice B).

O efluente da coleta do dia 04.10.2007 apresentou elevada toxicidade a *L. sativa*, de acordo com os valores do comprimento das radículas (Tabela 45; Apêndice B), onde o controle apresentou o maior valor, 1,82 cm e a amostra sem diluição o menor, 0,1 cm, com valores intermediários decrescentes.

Estes resultados, onde amostras com o efluente integral (sem diluição) afetaram negativamente a germinação das sementes, sugerem que o Laboratório de Síntese de Produtos Naturais causa considerável toxicidade a *Lactuca sativa* indicando a presença de compostos tóxicos (Tabela 6).

6. 4 Ensaios de Toxicidade dos Efluentes Coletados no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE

6.4.1 Ensaio de Toxicidade Aguda

O efluente da coleta do dia 21.08.2007 apresentou baixa toxicidade aguda para o cladocero *Ceriodaphnia dubia* apresentando o maior valor de CE_{50-48h} (%) (Tabela 7) se comparados aos demais ensaios realizados nos outros demais laboratórios estudados. Este valor demonstra que o efluente não causa efeito tóxico agudo ao cladóceros. Entretanto, este mesmo comportamento não tenha sido verificado no ensaio de toxicidade aguda utilizando a espécie de *Daphnia similis*, ocorrendo um dos menores valores de CE_{50-48h} (%) para a espécie, no presente trabalho (Tabelas 28 e 31; Apêndice A). Estes resultados anômalos podem ser atribuídos a erros técnicos ocasionados na hora do preparo das diluições, devido ao fato da *Ceriodaphnia dubia* ter se mostrado, na maioria dos ensaios, mais sensível que a *Daphnia similis* (Figura 26).

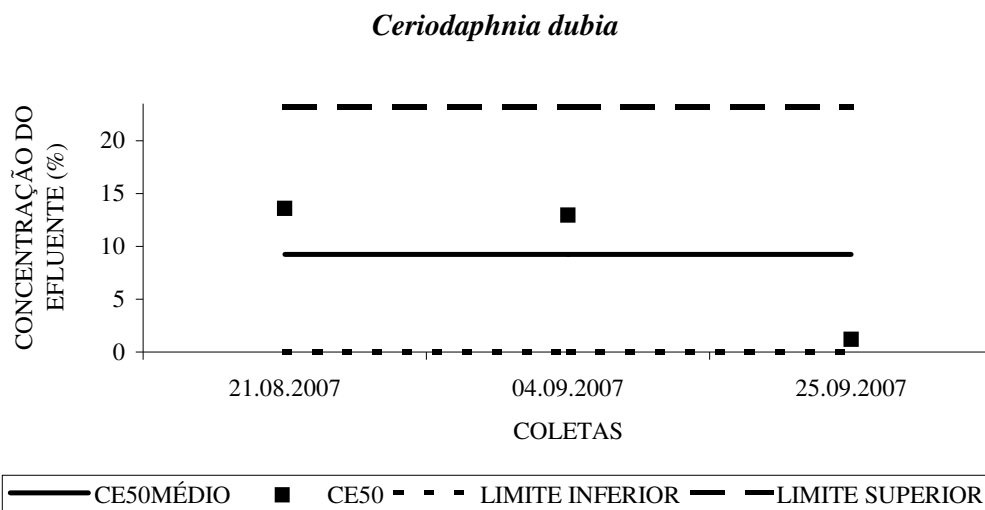
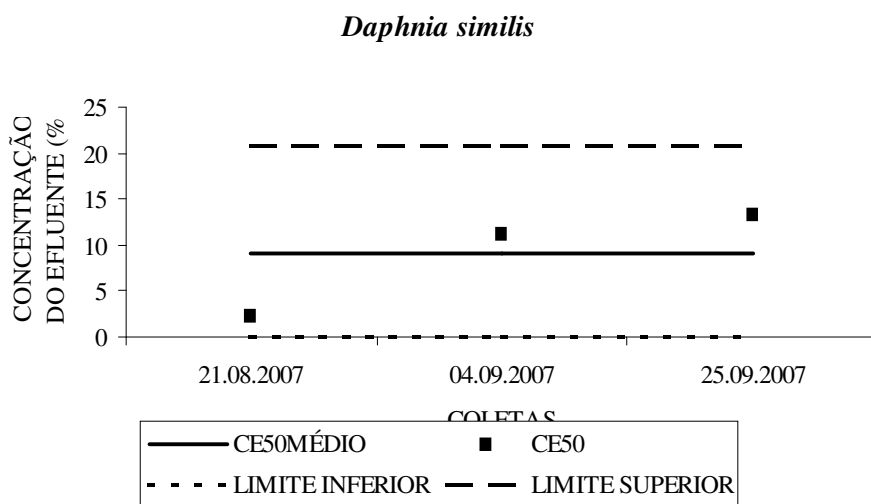


Figura 26 - Concentração do efluente (%) e seus respectivos valores de $CE_{50} - 48h$ (%), limite inferior e superior de acordo com a $CE_{50} - 48h$ médio para *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis*, nos ensaios de toxicidade aguda (48 horas) com o efluente do Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE, da Universidade Federal de São Carlos.



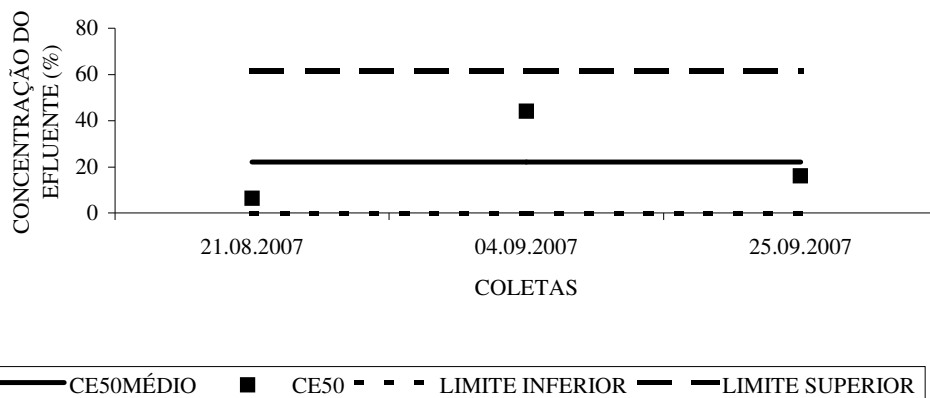


Figura 27 - Concentração do efluente (%) e seus respectivos valores de $CL_{50} - 96h$ (%), limite inferior e superior de acordo com a $CL_{50} - 96h$ (%) médio para *Danio rerio*, nos ensaios de toxicidade aguda (96 horas) com o efluente do Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE, da Universidade Federal de São Carlos.

O efluente da 2ª coleta causou efeito tóxico semelhante aos cladóceros, não havendo uma discrepância entre os valores de CE_{50-48h} (%), embora a *Daphnia similis* tenha sido ligeiramente mais sensível (Tabela 29 e 32; Apêndice A).

O efluente da coleta 03 teve alta toxicidade a *Ceriodaphnia dubia*, não ocorrendo o mesmo em relação a *Daphnia similis*, cujo valor de CE_{50-48h} (%) foi um dos mais altos em todos os ensaios de toxicidade aguda feitos neste trabalho. A concentração efetiva está próxima ao limite inferior do intervalo de confiança, reforçando a toxicidade aguda da amostra (Tabelas 30 e 33; Apêndice A).

Os valores na Tabela 7 mostram que as amostras do efluente não causaram efeito tóxico aos peixes, especialmente na 2ª coleta, onde o valor da CL_{50-96h} (%) foi de 44 (Figura 21) (Tabelas 34, 35 e 36; Apêndice A).

Estes resultados podem indicar uma estabilidade tóxica do efluente, contudo, recomenda-se à realização de mais ensaios, a fim de se constatar ou não tal comportamento.

Tabela 7 - Valores da concentração efetiva mediana CE_{50-48h} do efluente coletado no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, em %, obtidos nos ensaios de toxicidade aguda para os dafnídeos *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) e valores de CL_{50-96h} (%) para o peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae).

Organismo-teste	Data da Coleta	CE _{50-48h} (%)	IC - 95%	Desvio Padrão	CE _{50-48h} (%) médio	Coefficiente de Variação
Ceriodaphnia dubia	21.08.2007	13,57	12,95 - 14,21	6,98	9,25	75,45
	04.09.2007	12,97	12,40 - 13,56			
	25.09.2007	1,2	0,36 - 3,99			
Daphnia similis	21.08.2007	2,34	1,40 - 3,89	5,89	9,03	65,22
	04.09.2007	11,32	10,63 - 12,04			
	25.09.2007	13,42	11,96 - 15,05			
Danio rerio	21.08.2007	6,36	4,22 - 9,58	19,57	22,14	88,4
	04.09.2007	44,05	33,6 - 57,75			
	25.09.2007	16,01	14,29 - 17,94			

6.4.2 Ensaio de Toxicidade Crônica

Todos os organismos, exceto no controle, morreram na segunda leitura, em 72 horas, não havendo produção de neonatas (Tabela 38; Apêndice A). Embora o efluente não apresente efeito tóxico agudo, o mesmo afeta a sobrevivência do organismo após um período de exposição superior a 48 horas (Figura 28).

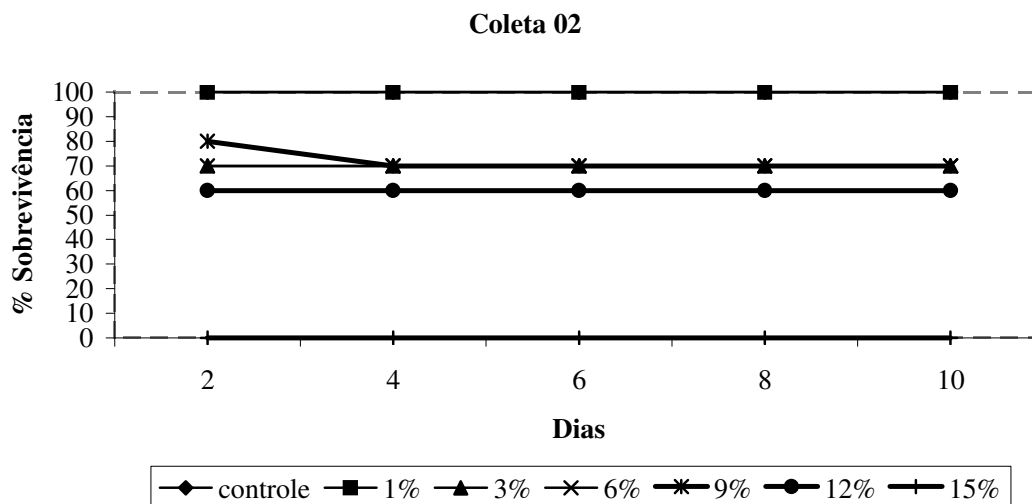


Figura 28 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 04.09.2007. As linhas em destaque representam diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

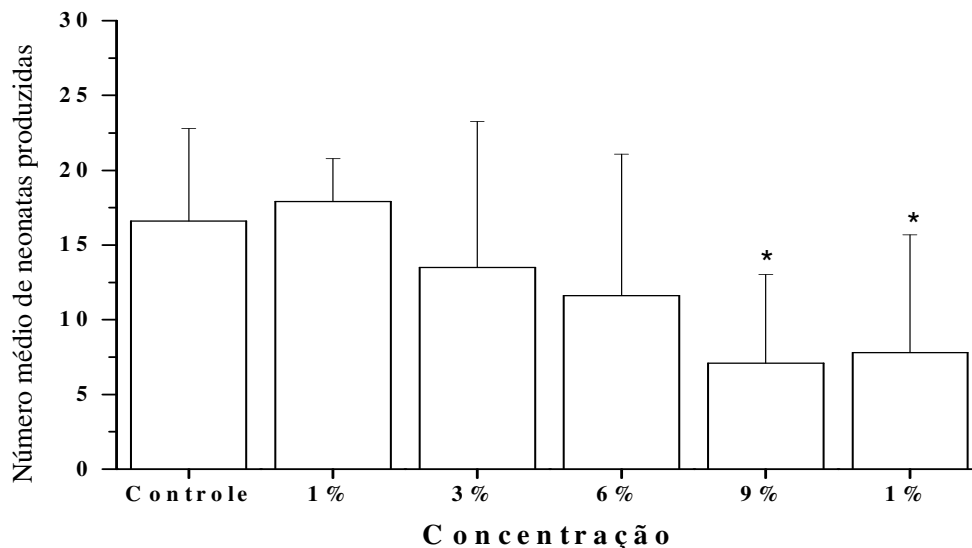


Figura 29 - Número médio de neonatas produzidas pelo dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), durante testes de toxicidade crônica (10 dias) com efluente do Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletados no dia 04.09.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão. Os asteriscos (*) representam diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

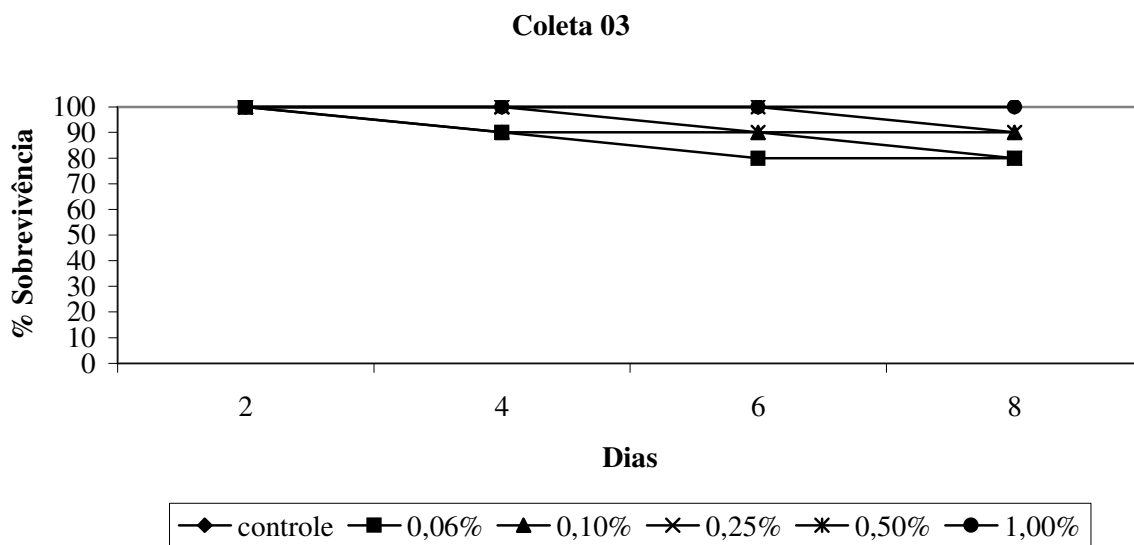


Figura 30 - Porcentagem de sobrevivência do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) durante o ensaio de toxicidade crônica (10 dias) com o efluente do Laboratório de Química de Síntese de Produtos Naturais e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletado em 25.09.2007.

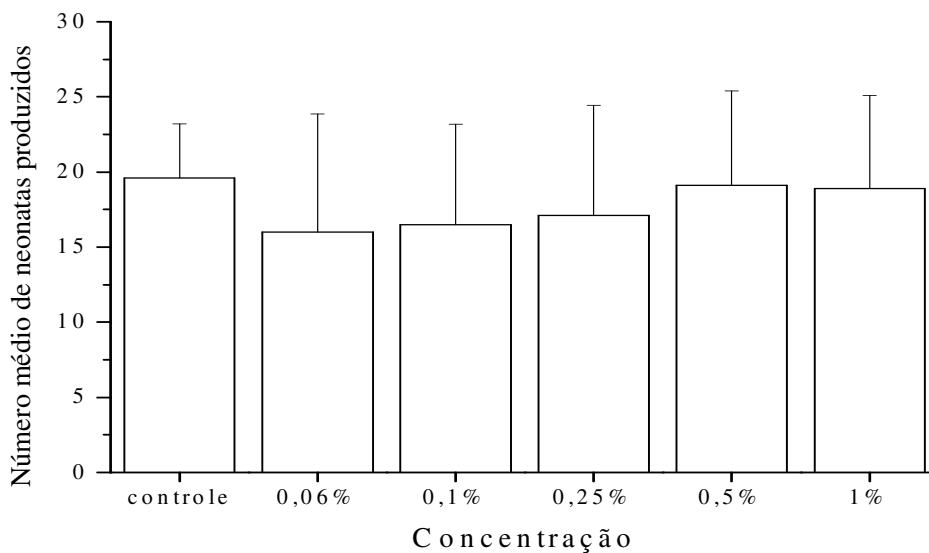


Figura 31 - Número médio de neonatas produzidas pelo dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), durante testes de toxicidade crônica (10 dias) com efluente do Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletados no dia 25.09.2007. Barras de erro correspondem ao desvio padrão.

A sobrevivência do cladóceros *Ceriodaphnia dubia* foi afetada significativamente (Figura 28) quando os mesmos foram expostos ao efluente da 2º coleta nas concentrações de 9, 12 e especialmente na de 15%, onde todos os organismos morreram logo após 48 horas de exposição ao contaminante (Apêndice A3.1). Estas concentrações, por consequência também exerceram efeito negativo na reprodução dos cladóceros (Figura 30). Os organismos expostos à concentração de 1% mantiveram o número de neonatas produzidos similar aos do controle, igualando-se ao final do ensaio. Já a concentração de 6%, a reprodução foi afetada, ocorrendo um decréscimo na produção de neonatas na terceira e quarta ninhada.

Quando os organismos das concentrações foram comparados entre si, levando-se em consideração a reprodução, notou-se uma diferença estatisticamente significativa entre as concentrações de 1 e 9%. Foi observado efeito dose-resposta na reprodução dos cladóceros nesta coleta.

A reprodução e a sobrevivência dos organismos expostos ao efluente da 3º coleta não foram afetadas significativamente, nem nas concentrações mais altas (Figuras 30 e 31). O número médio geral de neonatas foi de 18. Contudo, as concentrações utilizadas no ensaio foram menores, ou seja, embora o efluente não tenha exercido efeito adverso aos organismos, na maior concentração utilizada no ensaio foi de 1%, enquanto que na maioria dos outros ensaios, esta foi a menor utilizada.

Embora as concentrações utilizadas nos ensaios de toxicidade crônica sejam sub-letais, a coleta 01 foi a que apresentou o efluente mais tóxico, já que todos os organismos morreram após 96 horas do início do ensaio, exceto os do controle. Já na 3º coleta, a reprodução foi estimulada, onde, mesmo tendo concentrações inferiores (0,06; 0,1; 0,25; 0,5 e 1%) o número total de neonatas foi de 876. A 2º coleta causou efeito tóxico moderado à reprodução dos cladóceros, tendo uma média de 570 neonatas produzidas.

6.4.3 Ensaio de Genotoxicidade utilizando *Lactuca sativa*

Embora o efluente coletado dia 21.08.07 tenha causado efeito tóxico crônico aos cladóceros, causando a letalidade de todos os organismos após 72 horas do início do ensaio, sua toxicidade não afetou as sementes de *L. sativa* quando expostas ao contaminante. O efluente causou pouca ou nenhuma inibição na germinação e crescimento das radículas (Tabela 8).

Contudo quando expostas ao efluente coletado no dia 04.09.2007, as sementes foram afetadas, tendo uma inibição do crescimento na concentração de 75% de aproximadamente 32% em relação ao controle, embora esta inibição tenha sido menor no efluente integral (não diluído), cerca de 14%.

Tabela 8 - Comprimento (cm), média das cinco réplicas em cada coleta do Laboratórios de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, e porcentagem de crescimento em relação ao controle das radículas de *Lactuca sativa*.

		Controle		25%		50%		75%		100%	
Réplica		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
21.08.2007	Média (cm)	1,63	1,83	1,82	1,91	1,53	1,67	1,73	1,56	1,62	1,68
	D.P	0,43	0,48	0,27	0,17	0,46	0,38	0,71	0,67	0,56	0,31
	C.V.	26,26	26,18	15,08	8,64	29,93	22,75	41,29	42,95	34,64	18,48
	Porcentagem de inibição do crescimento em relação ao controle	----	----	0	0	11,72	3,61	0,14	9,7	6,51	2,74
	Média (cm)	2,14	1,99	1,52	1,82	1,83	1,85	1,91	1,41	1,78	1,96
04.09.2007	D.P.	0,34	0,60	0,87	0,26	0,77	0,47	0,24	0,83	0,68	0,62
	C.V	15,86	30,01	57,10	14,10	42,26	25,63	12,47	58,93	38,16	31,47
	Porcentagem de inibição do crescimento em relação ao controle	----	----	26,39	11,86	11,38	10,65	7,5	31,71	14,04	5,08
	Média (cm)	2,18	2,15	1,88	1,75	1,69	1,72	1,38	1,40	1,39	1,55
	D.P.	0,71	0,91	0,60	0,54	0,49	0,35	0,50	0,46	0,39	0,30
4.5.07.2007	C.V.	32,68	42,43	31,71	31,08	28,85	20,13	36,24	32,93	28,00	19,53
	Porcentagem de inibição do crescimento em relação ao controle	----	----	13,06	19,3	21,84	20,69	36,41	35,49	35,72	28,55

Notou-se um efeito dose-resposta na 3^o coleta, onde a média do comprimento das radículas foram diminuindo na medida em que as concentrações do efluente aumentavam. Embora o efluente tenha causado inibição no crescimento de *L. sativa* quando expostas ao efluente, como é o caso da concentração de 75% da 3^o coleta, onde a inibição chegou a cerca de 36%, as médias inferiores das radículas de 1,40 e superiores de 2,00 cm, o que pode sugerir que, embora o efluente apresente toxicidade á organismos aquáticos, o mesmo não acontece quando o mesmo é exposto a vegetais ou plantas. Entretanto, sugere-se a realização de mais ensaios para que seja confirmada tal suposição, no sentido de se prevenir a contaminação ambiental.

De uma maneira geral, notou-se pouca diferença entre os laboratórios ao se comparar os valores médios das concentrações efetivas, obtidos após a realização dos ensaios de toxicidade aguda com os efluentes utilizando os cladóceros. Os resultados dos ensaios utilizando os cladóceros, realizados com efluentes coletados no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais, ocasionaram o menor valor de CE₅₀ – 48h (%), não excedendo 5%. Já para os peixes, o efluente que causou maior toxicidade foi o coletado no Laboratório de Química de Produtos Naturais, onde o menor valor médio de CL₅₀ – 96h (%) foi de 5%.

No entanto, os valores inferiores e superiores de CE₅₀ – 48h (%) não são discrepantes, ou seja, não há diferença significativa entre eles. Em relação aos resultados obtidos nos ensaios de toxicidade aguda utilizando peixes, a diferença entre o menor valor e o maior de CL₅₀ – 96h (%) foi um pouco maior, 18%.

Embora haja diferenças entre os valores das concentrações médias efetivas/letais de cada efluente dos laboratórios estudados, estas são mínimas, e neste sentido, o mais aceitável é concluir que os efluentes, de modo geral, causaram efeitos tóxicos tanto aos cladóceros quanto aos peixes. Por tanto a viabilidade de reuso de tais efluentes está condicionada com a probabilidade dos mesmos alcançarem corpos d'água in natura, ou seja, antes de sofrerem tratamento adequado, a fim de minimizar sua toxicidade.

A Environmental Protection Agency (EPA) recomenda que durante os ensaios de toxicidade aguda, não seja disponibilizado alimentação ao zooplâncton, evitando qualquer

possibilidade de interação entre o alimento e a substância tóxica, modificando o resultado final do ensaio.

Diversos estudos têm utilizado ensaios de toxicidade agudo e crônico para a determinação do efeito tóxico de efluentes industriais a *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia similis* e *Danio rerio*: Vosyliené (2007); Castro et al. (2007); Nogueira et al. (2005); Turíbio et al. (2007); M. C. Liu (2003); Costan et al. (2006); Damato et al. (2000); Wang et al. (2004); Liu et al. (2002); Nieto (2000) destaca a importância da utilização de bioensaios na determinação da toxicidade de efluentes industriais, especialmente os ensaios de longa duração ou crônicos.

Coelho (2006) utilizou ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia similis* e *Danio rerio* com o objetivo de avaliar a toxicidade de fluidos de usinagem usados na indústria de peças metálicas. Os resultados demonstraram que os fluidos de usinagem causam efeito tóxico aos organismos. Sisino (2002) verificou que o chorume proveniente de lixo doméstico afeta a sobrevivência dos peixes, mesmo quando submetido a diferentes tratamentos, com valores de CL_{50} entre 2,2 a 5,7%. Brito - Pelegrini et al. (2007) realizou ensaios agudos com *D. similis* expondo-as a diversas concentrações de chorume de lixo, encontrou valores médios de CE_{50} de 9.3%. Dos nove valores de CL_{50} obtidos nos ensaios de toxicidade aguda, realizados com efluentes dos laboratórios de química utilizando o peixe *D. rerio* como organismo-teste, quatro deles estão próximos ao valor máximo obtido nos ensaios de Sisino (2002). Esta semelhança nos resultados é preocupante, uma vez que os efluentes são bem distintos, embora sua toxicidade seja semelhante.

De acordo com estudos realizados por Reis (2003), o peixe *Danio rerio* e sementes de alface *Lactuca sativa* são sensíveis quando expostos a efluentes líquidos da indústria de borracha sintética.

Diversos estudos têm sido feito utilizando sementes de *Lactuca sativa* como indicador de toxicidade. Dellamatrice & Monteiro (2006) utilizaram sementes de *Lactuca sativa* para determinar a toxicidade de resíduos têxteis após serem biodegradados por microrganismos e observaram que os organismos foram eficientes no tratamento do efluente quanto à descoloração e toxicidade. Entretanto apresentou toxicidade elevada após o tratamento.

Segundo estudos realizados por Periotto (2003), sementes de *L. sativa* indicaram toxicidade quando expostas a concentrações de extratos de folhas de *Andira humilis* e de *Anacardium humile*, tendo sua germinação significativamente reduzida. Gorsuch et al. (1991) e Sánchez-Meza et al. (2007) observaram efeitos inibitórios na germinação de *L. sativa* quando expostas à amostras coletadas em três estação de tratamento de efluentes. Nos ensaios realizados com efluentes, coletados nos laboratórios de química da UFSCar, não foram observados altos valores de inibição de crescimento das radículas de alface em relação ao controle.

Nos ensaios de toxicidade crônica, realizados no presente estudo, a produção de neonatas nas amostras de efluentes coletados no Laboratório de Química de Produtos Naturais foi a maior quando comparadas às demais coletas dos outros dois laboratórios estudados, cerca de 1399. O Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE por outro lado não produziu nenhuma neonata na coleta do dia 21.08.2007, onde todos os organismos morreram após 96 horas do início do ensaio. Embora tenha sido utilizadas concentrações sub-letais, o efluente apresentou efeito tóxico, afetando de forma considerável a sobrevivência e conseqüentemente a reprodução dos organismos. Outro fato relevante, refere-se a coleta 02 feita no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE, onde, mesmo a baixas concentrações (0,06; 0,1; 0,25; 0,5 e 1%) o número de neonatas produzidos foi de 1110, o segundo maior em relação aos demais ensaios.

A redução na sobrevivência, fecundidade e número de neonatas produzidas, em ensaios de toxicidade crônica a efluentes provenientes de curtume, foram constatada por Ceresoli & Gagneten (2003). Tal fato pode ser atribuído a presença de cobre e sulfeto no efluente. Segundo estudos realizados por Kosmala et al. (1999), o cladóceros *C. dubia* mostrou-se sensível quando expostos a diversas diluições de amostras coletadas numa estação de tratamento de água residuárias em ensaios de toxicidade crônica.

Paiva (1999) ao estudar e caracterizar efluentes de indústrias de papel e celulose que utiliza o processo karft-oxigênio verificou que os mesmos causavam elevada toxicidade crônica a *C. dubia*.

Os dados da literatura acima citados demonstram que os organismos-teste são sensíveis quando expostos a baixas concentrações de metais, especialmente o cobre, afetando drasticamente a sobrevivência.

6.5 Determinações de metais pesados

Primeiramente realizou-se a determinação dos parâmetros inorgânicos utilizando o equipamento ICP OES modelo VISTA. Os resultados analisados nas amostras dos efluentes estão expressos na Tabela 9. Contudo, devido à presença de fosfatos presentes nos surfactantes em todas as amostras, tais determinações tiveram que ser refeitas utilizando outro método, visto que o utilizado apresentou interferência dos fosfatos. A segunda análise dos parâmetros inorgânicos foi realizada utilizando o equipamento ICP-OES com plasma de Argônia induzido. Tal equipamento não é sensível à presença de surfactantes, produzindo desta forma, resultados exatos e seguros (Tabela 10).

Somente os parâmetros inorgânicos com valores acima do limite máximo permitido pela resolução CONAMA 357/05 foram novamente analisados. Os resultados obtidos nesta segunda análise mostram que os metais arsênio, boro, cobre e zinco estão em concentrações acima dos valores máximos permitidos pelo CONAMA na Resolução 357/05. Esses resultados encontram-se na Tabela 10.

Os valores de metais pesados foram relacionados aos padrões de qualidade da água, estabelecidos pela Resolução CONAMA, para corpos d'água Classe II. De acordo com o artigo 4º da Resolução, estas águas são destinadas “*à recreação de contato primário e à irrigação de hortaliças que possam ser consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película*”(BRASIL, 2005). Considerando que o objetivo principal da presente pesquisa é o reuso do efluente na irrigação de granados e jardins, podendo ocorrer contato primário com seus usuários, e pela deficiência de uma legislação específica para águas de reuso, adotou-se tais padrões como base para comparação dos resultados.

Tabela 9- Concentrações dos metais comparadas aos limites de corpos de água de Classe II estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05 (BRASIL, 2005), com a interferência de fosfato originados dos surfactantes.

Parâmetros Inorgânicos	Laboratório Química Produtos Naturais			Laboratório Síntese Produtos Naturais			Laboratório Síntese Orgânica CLAE			Parâmetros de Qualidade da Água
	Coleta 01	Coleta 02	Coleta 03	Coleta 01	Coleta 02	Coleta 03	Coleta 01	Coleta 02	Coleta 03	
Prata total	0,002	0,002	0	0,002	0,002	0,002	0,001	0,002	0,012	0,01 mg/L Ag
Alumínio Dissolvido	0,003	0,003	0,002	0,009	0,005	0,002	0,041	0,009	0,198	0,1 mg/L Al
Arsênio	0,055	0,078	0,083	0,081	0,08	0,048	0,073	0,003	0,039	0,01 mg/L As
Ouro	0,016	0,015	0,015	0,014	0,016	0,015	0,015	0,016	0,015	ND
Boro total	13,7	13,5	12,6	37	30,7	24,9	22	18,5	17,5	0,5 mg/L B
Bário total	0,03	0,033	0,036	0,12	0,045	0,035	0,085	0,051	0,052	0,7 mg/L Ba
Berílio total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,07 mg/L Be
Bismuto	0,033	0,029	0,036	0,033	0,031	0,033	0,036	0,033	0,026	ND
Cálcio	3,11	3,32	3,78	3,15	2,48	3,21	4,35	3,21	2,78	ND
Cádmio total	0	0	0,004	0	0,001	0	0,003	0	0,001	0,001 mg/L Cd
Cobalto total	0,001	0,004	0,004	0,001	0,002	0,001	0,002	0,007	0,001	0,05 mg/L Co
Cromo total	0,004	0,005	0,007	0,006	0,004	0,003	0,009	0,006	0,015	0,05 mg/L Cr
Cobre dissolvido	0,008	0,007	0,032	0,03	0,266	0,02	0,101	0,179	0,099	0,009 mg/L Cu
Ferro dissolvido	0,003	0,001	0,001	0,009	0,005	0,002	0,01	0,007	0,035	0,3 m/l Fé
Mercúrio total	0,231	0,224	0,219	0,218	0,213	0,221	0,217	0,247	0,236	0,0002 mg/L Hg
Potássio	2,33	1,62	1,71	1,8	2,3	3,04	3,77	1,99	2,3	ND
Lantânio	0,003	0,003	0,004	0,005	0,004	0,005	0,006	0,004	0,003	ND
Lítio total	0,006	0,005	0,006	0,005	0,04	0,005	0,004	0,004	0,005	2,5 mg/L Li
Magnésio total	5	4,91	5,19	4,77	3,47	4,36	6,65	4,38	9,44	ND
Manganês total	0,002	0,001	0,002	0,001	0,004	0,001	0,062	0,008	0,009	0,1 mg/L Mn
Manganês total	0,001	0,001	0,001	0,001	0,003	0,001	0,035	0,005	0,005	0,1 mg/L Mn

Parâmetros Inorgânicos	Laboratório Química Produtos Naturais	Laboratório Síntese Produtos Naturais	Laboratório Síntese Orgânica CLAE	Parâmetros de Qualidade da Água							
Molibdênio	0,003	0,006	0,004	0,005	0,005	0,003	0,048	0,01	0,003	ND	
Sódio	3,15	3,77	4,87	5,97	55,1	6,96	4,39	9,02	219	ND	
Níquel total	0,013	0,013	0,012	0,012	0,013	0,014	0,01	0,011	0,011	0,025 mg/L Ni	
Fósforo	0,405	0,367	0,33	0,244	0,097	0,193	0,761	0,188	66,8	0,02 mg/L P	
Chumbo total	0,023	0,022	0,017	0,025	0,02	0,023	0,012	0,007	0,018	0,01 mg/L Pb	
Paládio	0,004	0,004	0,005	0,004	0,004	0,005	0,004	0,004	0,04	ND	
Platina	0,036	0,035	0,037	0,035	0,038	0,034	0,037	0,034	0,038	ND	
Rubídio	0,005	0,009	0,003	0,006	0,003	0,003	0,004	0,005	0,006	ND	
Enxofre	0,051	0,094	0,005	0,992	18,4	1,31	0,463	1,65	0,223	ND	
Antimônio	0,144	0,14	0,145	0,14	0,139	0,144	0,142	0,139	0,142	0,005 mg/L Sb	
Escândio	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	
Selênio total	0,135	0,154	0,161	0,159	0,154	0,128	0,15	0,065	0,125	0,01 mg/L Se	
Silício	16,4	19,9	17	18,1	17,7	31,5	20,9	22,1	8,79	ND	
Estanho	0,117	0,121	0,117	0,119	0,118	0,112	0,117	0,091	0,11	ND	
Estrôncio	0,019	0,02	0,024	0,02	0,015	0,02	0,027	0,019	0,01	ND	
Estrôncio	0,027	0,03	0,034	0,029	0,022	0,028	0,038	0,027	0,015	ND	
Telúrio	0,104	0,103	0,105	0,108	0,107	0,105	0,103	0,101	0,107	ND	
Titânio	0,127	0,102	0,088	0,568	0,317	0,202	0,297	0,205	0,027	ND	
Tálio	0,041	0,046	0,047	0,054	0,044	0,037	0,041	0,027	0,04	ND	
Vanádio total	0,003	0,004	0,004	0,005	0,003	0,004	0,004	0,003	0,001	0,1 mg/L V	
Tungstênio	0,036	0,044	0,024	0,033	0,028	0,026	0,004	0,075	0,005	ND	
Zinco total	0,013	0,036	0,074	0,105	0,175	0,035	0,251	0,313	0,217	0,18 mg/L Zn	
Zircônio	0,001	0,001	0,001	0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	ND	

OBS: Os valores em verde representam os limites máximos permitidos e os valores em vermelho representam os parâmetros acima do limite permitido, de acordo com a Resolução CONAMA 357/05.

ND = Não determinado

Tabela 10 – Concentrações dos metais comparadas aos limites de corpos de água de Classe II estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05 (BRASIL, 2005).

	Amostra Coleta	Metais / Concentração (mg/L)								
		As	B	Cd	Cu	Hg	Pb	Sb	Se	Zn
Lab.	19.09.2007	0,13	5,15	<0,001	0,16	<0,0002	<0,01	<0,005	<0,01	0,05
Síntese	02.10.2007	<0,01	10,03	<0,001	0,40	<0,0002	<0,01	<0,005	<0,01	0,07
Produtos Naturais	04.10.2007	<0,01	2,45	<0,001	0,45	<0,0002	<0,01	<0,005	<0,01	<0,05
Lab.	21.08.2007	<0,01	1,95	<0,001	0,14	<0,0002	<0,01	<0,005	<0,01	0,20
Síntese	04.09.2007	<0,01	5,40	<0,001	0,20	<0,0002	0,12	<0,005	<0,01	0,10
Orgânica CLAE	25.09.2007	<0,01	2,60	<0,001	0,15	<0,0002	0,10	<0,005	<0,01	0,12
Lab.	07.08.2007	<0,01	6,75	<0,001	0,12	<0,0002	0,01	<0,005	<0,01	<0,05
Química	14.08.2007	<0,01	11,07	<0,001	0,10	<0,0002	<0,01	<0,005	<0,01	<0,05
Produtos Naturais	05.09.2007	<0,01	6,35	<0,001	0,15	<0,0002	<0,01	<0,005	<0,01	0,06
Padrões de qualidade da Classe II (mg/L)		0,01	0,5	0,001	0,009	0,0002	0,01	0,005	0,01	0,18
Limite de detecção do equipamento		0,001	0,001	0,0002	0,002	0,002	0,003	0,005	0,004	0,002

OBS: Os valores em vermelho representam os parâmetros acima do limite permitido, de acordo com a Resolução CONAMA 357/05 (BRASIL, 2005).

Embora alguns metais-traço como Mg, Fe, Zn, Mn, Cu, Co, Mo e B sejam essenciais aos seres vivos, ainda que em pequenas concentrações, sendo importantes no metabolismo dos organismos aquáticos por participar de processos fisiológicos como fotossíntese (Mg – formação de clorofila), cadeia respiratória (Fe e Cu – partes do citocromo e ferredoxina) e fixação do nitrogênio (FRACÁCIO, 2006); outros como Hg, Pb, Cd, Ag, Cr, Ni e Sn não possuem função biológica conhecida, podendo causar efeitos tóxicos a um grande variedade de organismos. Sorensen (1991) relata que mesmo os elementos que desempenham papel fisiológico, quando em concentrações elevadas podem também apresentar efeitos tóxicos.

Estudos utilizando o cobre como substância-teste mostraram que um número considerável de espécies são sensíveis a concentrações dissolvidas a partir de 1-10 µg/l (BRYAN E LANGSTON 1992). A taxa de sobrevivência de vieiras jovens de baía foi afetada de forma significativa em níveis de 2 µg/l e, nos embriões de ostras e mexilhões, concentrações de 5 µg/l induziram a anormalidades. A mortalidade de crustáceos isópodes *Idothea baltica* também foi crescente em concentração semelhante a 2 µg/l (UNEP 1993, BRYAN e LANGSTON 1992, GIUDICI et al. 1989) e os peixes na fase embrionária quando expostos a níveis de 25µg/l apresentaram sensibilidade (UNEP 1993, MANCE et al, 1984).

Segundo Abel (1989) apud Meletti (2003), os metais mais importantes, com efeito, na fisiologia dos peixes são: mercúrio, cádmio, chumbo, cobre arsênio, zinco, estanho, cromo, níquel e alumínio. Estes metais atuam no epitélio, rins, fígado, brânquias, musculatura esquelética, intestino, baço, adiposo, cérebro e nadadeiras. Geralmente o cádmio e o zinco ficam retidos nos rins.

Em estudos utilizando organismos juvenis de *Danio rerio* em ensaios de toxicidade aguda do metal cádmio, realizados por Fracácio (2006), o valor de CL₅₀ – 96h, em exposição estática foi de 18,94 mg/L com faixa de sensibilidade variando de 10,44 mg/L a 27,45 mg/L. Bresch (1982) ao realizar ensaios de toxicidade aguda ao metal cádmio, utilizando organismos adultos de *Danio rerio* obteve CL₅₀ – 96h de 7,35 mg/L. Estes dados demonstram que o organismo é menos sensível na fase adulta, quando comparada as fases larvais e juvenis.

Oliveira Neto (2002) analisou a sensibilidade do cladóceros *Ceriodaphnia silvestrii* aos metais cádmio, cromo e chumbo. Os valores de CE_{50} encontrados foram: 0,062 mg/L para o cloreto de cádmio (faixa de sensibilidade de 0,016 a 0,11 mg/L); 0,051 mg/L para nitrato de chumbo (faixa de sensibilidade de 0,02 – 0,08 mg/L); 0,046 mg/L para dicromato de potássio e para os invertebrados em geral uma faixa de sensibilidade ao cromo de 0,1 a 20 mg/L.

De acordo com Jardim (2004) a acidificação do meio pode causar alteração na toxicidade de metais. Em condições muito ácidas, os íons H^+ vencem a competição com os íons metálicos pelos sítios de complexação nas paredes celulares dos organismos, sendo a toxicidade manifestada não pela intoxicação com os metais, mas pela redução do pH. (ESPÍNDOLA et al. 2003). Os valores de pH dos efluentes coletados ficaram numa faixa de 6 a 8,00, aproximadamente, conferindo em muitas coletas, características ácidas, o que pode ter contribuído para o aumento da toxicidade aos organismos (ver apêndice A).

Embora a presença de metais pesados nas amostras afete a sobrevivência e reprodução dos organismos, há outros fatores que devem ser considerados, como os valores de pH e dureza. De acordo com Aragão & Buratini (2000) e Rattner & Heath (1995), os metais podem se tornar mais tóxicos em águas moles, ou seja, com baixa dureza. No presente estudo, observou-se um aumento gradual da dureza ao longo do ensaio com variações de 40 a 62 mg/L $CaCO_3$, sendo que em alguns casos, o valor medido chegou a 76 mg/L $CaCO_3$ (ver apêndice A). Estes valores podem não ter potencializado os efeitos tóxicos dos metais presentes nas amostras, contudo por apresentar valores de dureza muito acima dos padronizados pela ABNT para cultivo das espécies utilizadas nos ensaios de toxicidade aguda e crônica, sua sobrevivência e reprodução podem ter sido afetados.

Os metais pesados quando diluídos na água podem não causar efeitos adversos ao ecossistema aquático. Contudo, pode-se ligar ao material particulado, sendo precipitado e posteriormente sedimentado, prejudicando a fauna local, os animais onívoros além da contaminação do sedimento (FORSTNER, 1990).

Neste estudo, os resultados das análises dos parâmetros inorgânicos demonstraram que os metais arsênio, boro, cobre, chumbo e zinco estavam acima dos limites máximos recomendados para a proteção da vida aquática em rios de classe II, segundo CONAMA 357/05. A origem de tais compostos é intrigante, especialmente por se tratar de laboratórios

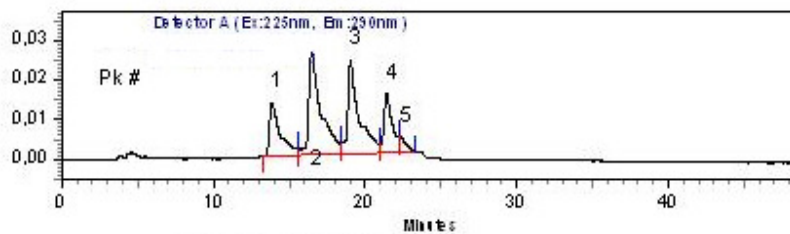
orgânicos, contudo algumas possibilidades podem ser consideradas, como: a utilização de catalisadores compostos por cobre metálico, soluções de sulfato de cobre, reagentes contendo boro etc, ou então pelo fato das instalações das tubulações de distribuição de água do prédio dos laboratórios serem antigas e por serem fabricadas de ligas metálicas, as mesmas podem acabar liberando para a rede teores de cobre. Recomenda-se um estudo mais aprofundado sobre as possíveis origens de tais compostos. Contudo, por se tratar de um estudo que verifica a viabilidade de reuso de efluentes de laboratórios químicos, a detecção de tais compostos é preocupante, e deve ser cuidadosamente analisado, evitando uma contaminação/bioacumulação ambiental quando os mesmos forem utilizados em sistemas de irrigação.

A reutilização de efluente embora seja uma prática cada vez mais difundida e aceita, deve ser feita de forma consciente e responsável, evitando a exposição do homem a contaminantes nocivos a saúde além de causar sérios danos ambientais.

6.6 Determinações do surfactante aniônico LAS (Dodecil Benzeno Sulfonato de Sódio)

6.6.1 Laboratório de Química de Produtos Naturais.

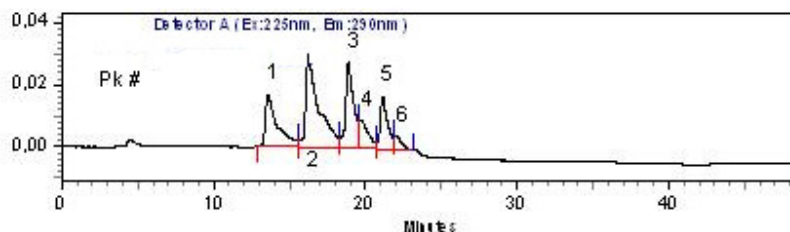
Os resultados das análises de LAS por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência nas amostras de efluentes coletadas nos laboratórios de químicas estão apresentados nas Figuras 33 a 40. Nas amostras de efluente detectados picos referentes ao LAS, os quais, encontram-se todos acima do limite de detecção segundo a Resolução CONAMA n°357/05 (BRASIL, 2005) para águas classe 2, que é de 5 mg/L de LAS.



Detector A (Ex:225nm,
Em:290nm)

Pk #	Retention Time	Area	ESTD concentration	Units
1	13,855	658402	4,91	mg/L
2	16,465	1475615	10,94	mg/L
3	19,032	1228197	9,15	mg/L
4	21,417	551559	4,26	mg/L
Totals		3913773	29,26	

Figura 32 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 07.08.2007.



Detector A (Ex:225nm,
Em:290nm)

Pk #	Retention Time	Area	ESTD concentration	Units
1	13,574	914256	6,70	mg/L
2	16,248	1802367	13,22	mg/L
3	18,866	1002863	7,58	mg/L
5	21,127	591372	4,55	mg/L
Totals		4310857	32,04	

Figura 33 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 14.08.2007.

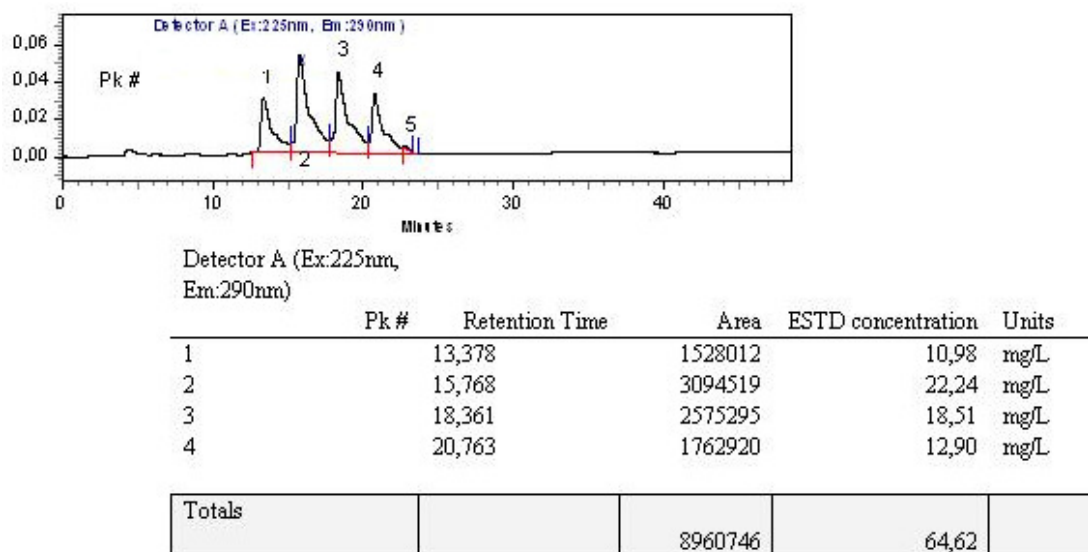


Figura 34 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 05.09.2007.

6.6.2 Laboratório de Síntese de Produtos Naturais

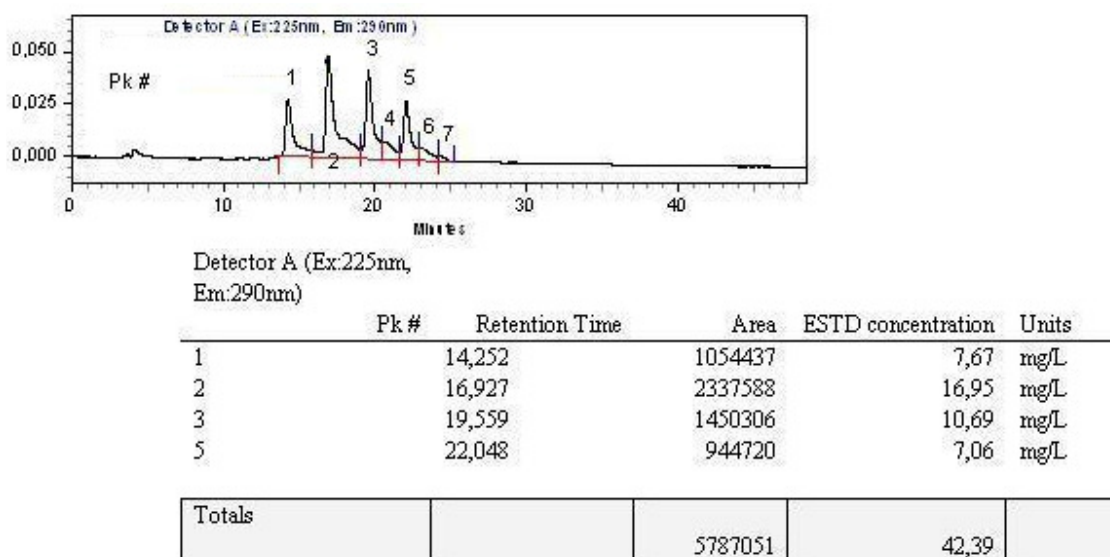
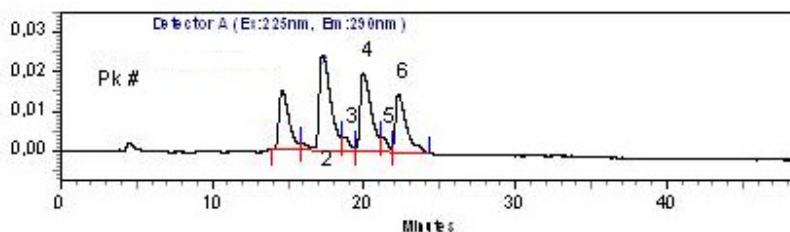


Figura 35 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 19.09.2007.

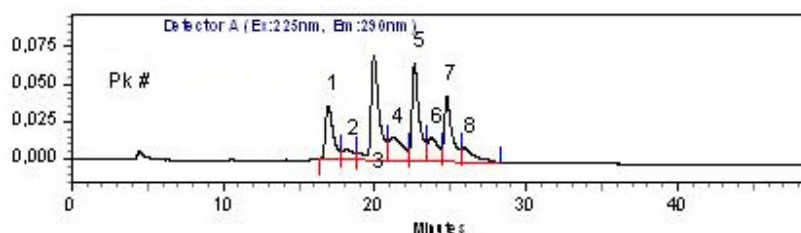


Detector A (Ex:225nm,
Em:290nm)

Pk #	Retention Time	Area	ESTD concentration	Units
1	14,597	692674	5,15	mg/L
2	17,257	1354818	10,10	mg/L
4	19,933	1027991	7,76	mg/L
6	22,262	754747	5,71	mg/L

Totals		3830231	28,72	
--------	--	---------	-------	--

Figura 36 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 02.10.2007.



Detector A (Ex:225nm,
Em:290nm)

Pk #	Retention Time	Area	ESTD concentration	Units
1	16,928	1291535	9,33	mg/L
3	19,937	2742476	19,78	mg/L
5	22,623	2182982	15,78	mg/L
7	24,754	1538463	11,30	mg/L

Totals		7755456	56,19	
--------	--	---------	-------	--

Figura 37 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 04.10.2007.

6.6.3 Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE

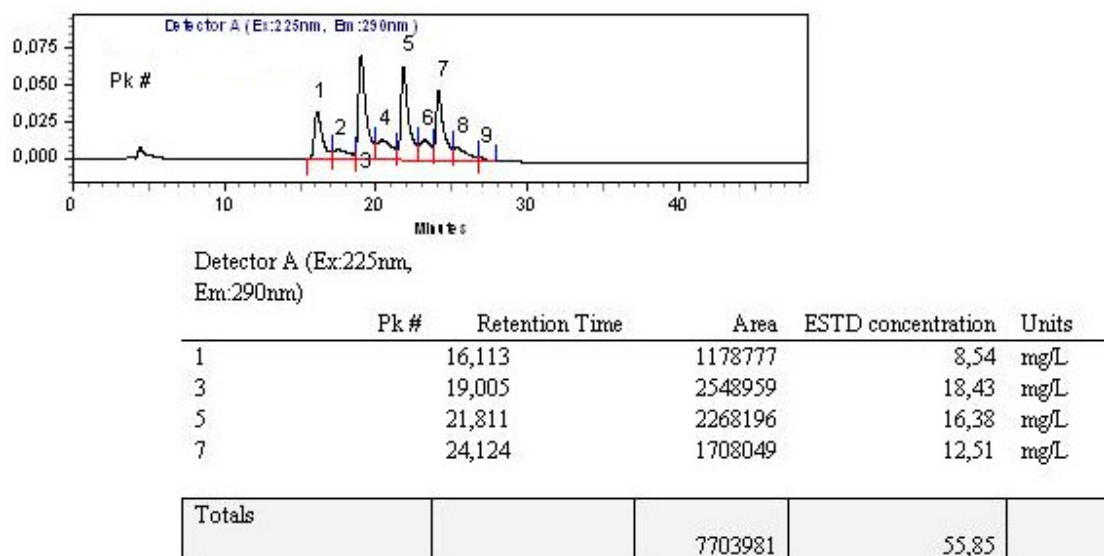


Figura 38 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 21.08.2007.

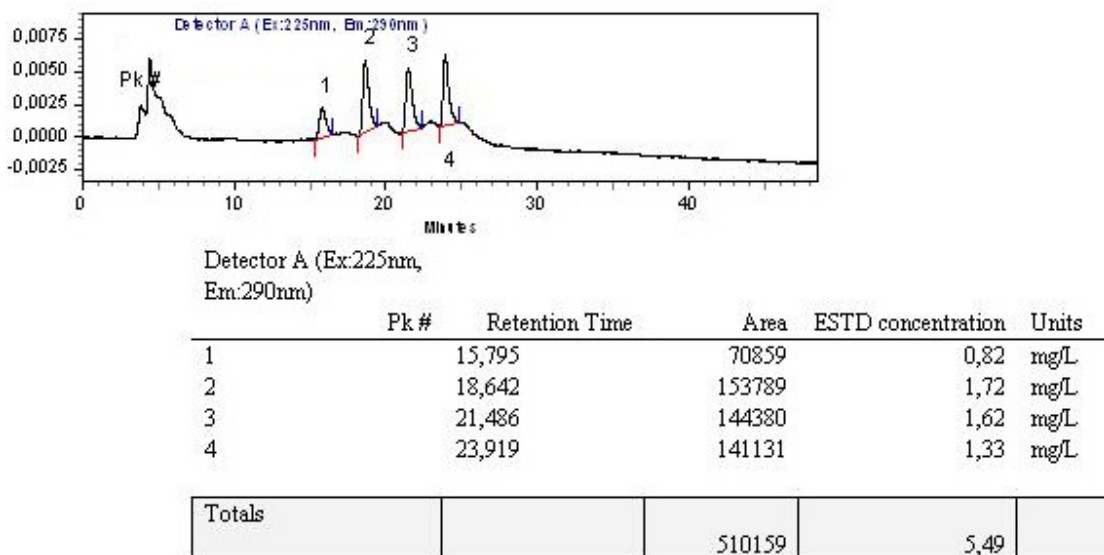


Figura 39 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 04.09.2007.

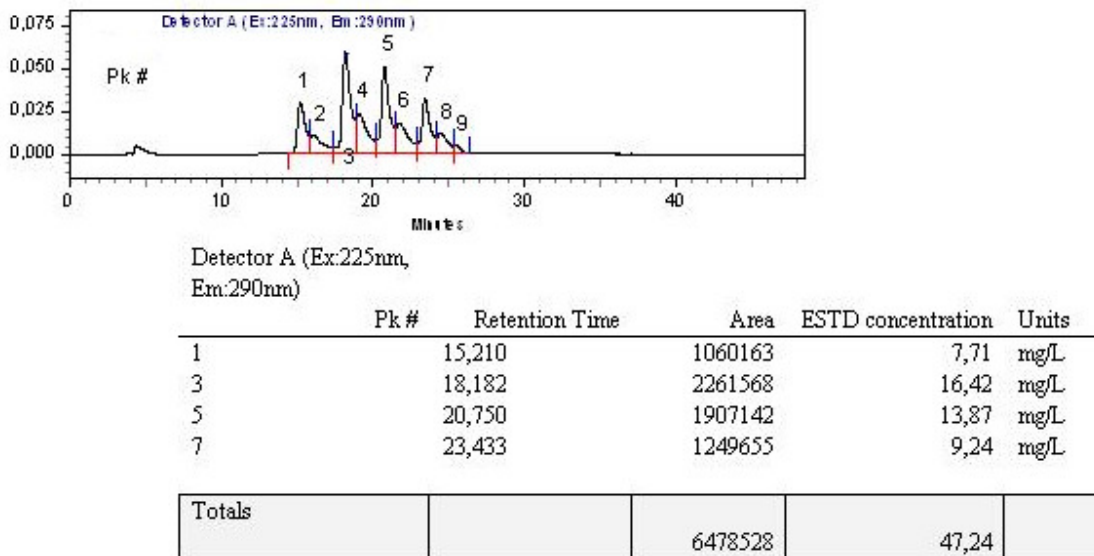


Figura 40 - Cromatograma referente a amostra de efluente do Laboratórios de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos, coletados em 25.09.2007.

Segundo Verge et al. (2001) e Oya et al. (2007), a dureza da água pode influenciar a toxicidade do LAS (alquilbenzeno sulfonato). Enquanto a toxicidade dos metais diminui à medida que a dureza aumenta, Lewis et al. (1992) aponta que a toxicidade de vários surfactantes aniônicos, incluindo o LAS, pode aumentar à medida que a dureza aumenta. Coelho (2008) verificou que a toxicidade do LAS pode estar atribuída a pequenas alterações existentes na estrutura das moléculas desses componentes, sendo que em geral, uma redução no tamanho da cadeia alquílica ou uma posição mais interna do grupo fenila na molécula do LAS também pode provocar diminuição de sua toxicidade.

Os valores de CE_{50} (48h) médios de LAS para espécies de água doce em geral, foram calculados por Temara et al. (2001) através de dados da literatura. Para crustáceos foi obtida CE_{50} de 9,33 mg/L e para os peixes CL_{50} de 3,63 mg/L. De acordo com Lewis (1991), a toxidade crônica de surfactantes aniônicos e não iônicos ocorre em concentrações freqüentemente acima de 0,1 mg/L. Romanelli et al. (2006) observou elevada toxicidade crônica do LAS C_{12} para *Ceriodaphnia dubia*, obtendo valor de CENO igual a 2,1 mg/L. Uma faixa de variação ainda menor, entre 1,0 e 2,5 $mg.L^{-1}$ foi obtida em estudos realizados por Coelho (2008), evidenciando elevada toxicidade do LAS C_{12} ao cladócero *C. dubia*.

A presença de LAS nos efluentes lançados sem tratamento nos corpos d'água, pode causar problemas ambientais como a diminuição da concentração de oxigênio dissolvido, por alterar a tensão superficial água/ar; diminuição da permeabilidade da luz, por manter as partículas presentes em suspensão além do aumento da concentração de compostos xenobióticos, como PCBs e PAHs (HAIGH, 1996). Nos organismos aquáticos, os surfactantes podem aumentar a permeabilidade da membrana celular, facilitando a entrada de outras substâncias, aumentando a vulnerabilidade do organismo. Segundo Lewis et al. (1992) esse fenômeno é ocasionado pela ligação de moléculas de surfactantes às proteínas constituintes das paredes celulares ou pela denaturação das mesmas, podendo culminar com a lise das células. Esta danificação do epitélio branquial por surfactantes interfere na osmorregulação, no equilíbrio ácido-base e nas trocas gasosas, podendo levar peixes a morrer por asfixia (RIBELLES, et al. 1995; MANNING et al, 1998; BARBIERI, 2005).

6.7 Considerações finais sobre a viabilidade de reuso dos efluentes

Os ensaios de toxicidade aguda com peixes e microcrustáceos mostraram que os efluentes dos três laboratórios analisados foram altamente tóxicos, pois apresentaram baixa Concentração Letal (CL₅₀) para os peixes e também baixa Concentração Efetiva (CE₅₀) para os microcrustáceos (Tabelas 1, 3 e 5). Esta toxicidade pode ser atribuída à elevada concentração de surfactantes, presença de metias pesados, valores básicos ou ácidos de pH, alta dureza ou efeitos sinérgicos de todos estes fatores. A Tabela 11 mostra uma classificação de toxicidade de acordo com a porcentagem de amostra contida em cada diluição dos ensaios.

Tabela 11 - Escala de toxicidade

% da amostra	Classe da Amostra
25%	Muito tóxica
25 – 50%	Moderadamente tóxica
51 – 75%	Tóxica
75%	Levemente tóxica

Fonte: CETESB (1989).

Nota-se que os efluentes testados são muito tóxicos aos organismos, quando comparados à Tabela 11, visto que em nenhum ensaio, a concentração efetiva e letal aproximou-se de 25%, ficando todas abaixo deste valor.

Já os metais pesados, por possuírem a capacidade de se ligar às estruturas moleculares, causam disfunções na reprodução, crescimento, alimentação, comportamento além de alterações no sistema nervoso, respiratório entre outros. Outro problema relacionado aos metais pesados refere-se a sua bioacumulação na cadeia trófica, sendo que em vários estudos a concentração de metais pesados nos tecidos dos organismos aquáticos era superior quando comparadas ao meio ambiente. Pelo fato do ser humano ser um elo da cadeia trófica, estes metais bioacumulados nos organismos aquáticos, acabam atingindo, através da ingestão de peixes, crustáceos, moluscos etc. o homem, podendo causar intoxicação e até morte quando em concentrações elevadas. Sendo assim, a presença de metais pesados no meio aquático não pode ser entendida apenas como problema ambiental, mas também como um problema de saúde pública, sendo necessário medidas que minimizem o lançamento de tais compostos no meio ambiente. Dentre os compostos inorgânicos determinados, o cobre é o metal que causa maior efeito tóxico aos organismos aquáticos e que merece maior atenção.

Entretanto a bioacumulação e contaminação ambiental causada pela presença de metais pesados não ocorre somente em ambientes aquáticos, mas em qualquer ambiente que tenha contato constante com estes compostos. A irrigação de gramados e jardins com águas de reuso contaminadas com traços de metais pesados pode apresentar risco à saúde pública e ao meio ambiente. Os resultados deste estudo demonstram que os efluentes analisados apresentam índices elevados de arsênio, boro, cobre e zinco, e segundo dados da literatura a reutilização destes efluentes poderia causar contaminação.

Outro fator que contribuiu para a inviabilidade de reuso dos efluentes estudados foi a elevada concentração de surfactante nas amostras, sendo que na 3^o coleta do laboratório de Química de Produtos Naturais, a concentração foi de 64 mg/l (figura 28). O valor máximo permissível de surfactantes estabelecido pela Resolução CONAMA n^o. 357/2005 destinadas à proteção das comunidades aquáticas é de 0,5 mg/l, e é adequado também para as espécies de microscutáceos *C. dubia* e *D. similis* e para o peixe *D. rerio*. Estudos

realizados por Coelho (2008) demonstram que os organismos aquáticos são sensíveis quando expostos a baixas concentrações do dodecil benzeno sulfonato de sódio (LAS).

Não foi encontrado na literatura estudos que mostrassem os efeitos sinérgicos de toxicidade nos organismos em amostras compostas por surfactantes e metais pesados. Contudo, a presença de tais compostos afetam a sobrevivência e reprodução dos organismos, sendo citados diversos estudos ao longo da presente pesquisa que comprovam esta relação.

Os resultados dos ensaios realizados com alface *L. sativa* mostraram que o efluente não afetou a germinação das radículas, sendo que em alguns ensaios, houve um estímulo em concentrações mais altas, contudo o comprimento médio não tenha superando o do controle. Entretanto os metais pesados, também podem se bioacumular nos tecidos vegetais, afetando o homem através de seus hábitos alimentares.

Embora os ensaios de toxicidade agudos e crônicos demonstrem que o efluente causa efeito tóxico aos organismos, o mesmo efeito adverso não ocorreu nos ensaios com sementes de alface. Sendo assim, recomenda-se a realização de mais ensaios, especialmente os de toxicidade com organismos terrestres, além da influencia dos efluentes na germinação e desenvolvimentos de vegetais, já que o objetivo da presente pesquisa é a reutilização dos efluentes na irrigação de gramados e jardins.

7.0 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

- ❖ Este estudo não é conclusivo em relação a viabilidade de reuso dos efluentes químicos, sendo necessários estudos mais aprofundados;
- ❖ Os efluentes coletados nos três laboratórios químicos estudados causaram toxicidade aguda aos organismos *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia similis* e *Danio rerio* e crônica a *Ceriodaphnia dubia*.
- ❖ O cladóceros *Ceriodaphnia dubia* foi à espécie mais sensível;
- ❖ Utiliza-se grande quantidade de detergente nas lavagens de vidrarias e materiais;
- ❖ As germinações das sementes de *Lactuca sativa* foram pouco afetadas quando expostas a concentrações elevadas dos efluentes;
- ❖ Os alunos e técnicos responsáveis pela lavagem de vidrarias e equipamentos utilizados nos laboratórios, devem ser orientados e treinados por profissionais especializados na área de gestão de resíduos, a fim de que seja utilizada a menor quantidade possível de compostos onde haja em sua composição surfactantes, como é o caso dos detergentes, assim como a minimização do uso de solventes como acetona, metanol entre outros;
- ❖ Recomenda-se a realização de mais análises para a real confirmação sobre a viabilidade do reuso deste tipo de efluente na irrigação de gramados, jardins e superfícies, especialmente com espécies de vegetais em ensaios de toxicidade terrestre;
- ❖ O processo de recuperação dos solventes, realizados antes das lavagens das vidrarias demonstrou-se ineficiente, uma vez que causou sérios efeitos tóxicos agudo e crônico;
- ❖ Um número maior de ensaios deveria ser realizado, para verificar variabilidade da toxicidade dos efluentes;
- ❖ A detecção de metais pesados nas amostras do efluente deve ser considerada um alerta, especialmente por se tratar de laboratórios de química orgânica.

8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS NBR 13373 (2005): Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp. (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 15p.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (2003a). Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro. 12 p.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - (2003b) Projeto 00:001.44-001 - Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro. 15p.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (2004c). Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro. 17 p.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (1993). NBR 12715 - Água, Ensaio de Toxicidade Aguda com Peixes. Parte I - Sistema Estático. Rio de Janeiro.

ABES – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL (2006). Revista Brasileira de Saneamento e Meio Ambiente. Bio – Reuso da água. Ano XV n. 38 – Abril/Junho.

ABES – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL (1992). Reuso da água. 25 p.

ADAMS, W. J. (1995). Aquatic Toxicology Testing Methods. In: HOFFMAN D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON Jr, G . A. e CAIRNS Jr, J. eds. Handbook of Ecotoxicology. Lewis Publisher - CRC Press. 25 - 46 p.

ALVES, J. G. C. M. R. (1999) Avaliação da toxicidade do sedimento do Rio Monjolinho (São Carlos – SP) através de testes de toxicidade aguda com o organismo teste *Brachydanio rerio* (Cyprinidae). Monografia. Universidade de Santo Amaro – UNISA. 37p.

ARAGÃO, M. A.; BURATINI, S. V. (2000). Caracterização da dureza das águas superficiais do Estado de São Paulo. In: Encontro de Ecotoxicologia, 6., São Carlos. Ecotoxicologia e desenvolvimento sustentável: perspectivas e ações para o século XXI. Resumos. São Carlos, SP:USP. 126 pág.

BAHRI, A. (1999). Agricultural Reuse of Wastewater and Global Water Management. Water Sci. Tech.40 (4-5):339 – 346.

BRASIL (2005). Conselho Nacional do Meio Ambiente – (CONAMA) Resolução nº357 de 17 de março de 2005, Brasília.

- BRASIL (2004). Ministério da Saúde. Portaria nº 518 de 25 de março de 2004, Brasília.
- BRASIL (1998). Lei nº 9605 de 12 de fevereiro de 1998, Brasília. Leis de Crimes Ambientais.
- BRASIL (1997). Lei nº9433, nº433/97 de 8 de janeiro de 1997. Política Nacional dos Recursos Hídricos.
- BRASIL (1981). Lei nº6.938 de 31 de agosto de 1981. Política Nacional do Meio Ambiente.
- BRASIL (1976). Decreto Estadual nº 8468 de setembro de 1976.
- BRASIL (1934). Decreto Federal nº24.643 de 10 de julho de 1934. Código das Águas.
- BARACHO Jr. J. A. O. (1995). O Licenciamento e Controle Ambiental da Atividade de Suinocultura. In: SEMINÁRIO MINEIRO SOBRE MANEJO E UTILIZAÇÃO DE DEJETOS DE SUÍNOS, 1., 1995, Ponte Nova. Anais...Ponte Nova: EPAMIG, CRZM, p. 1-7.
- BARBIERI, E. (2005). Efeito do LAS – C12 (dodecil benzeno sulfonato de sódio) sobre alguns parâmetros do comportamento da Tainha (*Mugil platanus*). Atlântica, Rio Gande, 27. pág. 49 – 57.
- BASSOI, L. J. NIETO, R., TREMAROLI, D. (et al.). (1990). Implantação de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos - São Paulo : CETESB, 7 p. : il; 21 cm. - (Série Manuais/Secretaria do Meio Ambiente, ISSN 0103-2623.
- BREGA, D., MANCUSO, P. C. S. (2003). Conceitos de reuso de água, Cap. 2, p. 21-36, in MANCUSO, P. C. S., SANTOS H. F. Dos (editores) – Reuso de água, 576 p. NISAM-USP/ABES/Editora Manole. SP.
- BRESCH, H. (1982). Investigation of the long-term action of xenobiotics on fish with special regard to reproduction. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 6. 102 – 112.
- BITTON, G. (1994). *Wastewater Microbiology*. Wiley – Liss – Imprensa. New York. 478p.
- BRITO-PELEGRINI, N. N.; PELEGRINI, R. T.; PATERNIANI, J. E. S. (2007). Ecotoxicological evaluation of leachate from the Limeira sanitary landfill with a view to identifying acute toxicity. *Revista Ambiente e Água – An Interdisciplinary Journal of Applied Science*: v. 2, n. 3. 34 – 43 pag. Taubaté, SP.
- BOUDOU, A.; RIBEYRE, F. (1989). *Aquatic Ecotoxicology: Fundamentals Concepts and Methodologies- Vol. II* - CRC Press, Inc. - Boca Raton, Florida, 314p.

- BUIKEMA, A. L.; NIEDERLEHNER, B. R.; CAIRNS, J. J. (1982). Biological monitoring. Water Research, V. 16.
- BURATINI, S. V.; BERTOLETTI, E. (2006). Análise estatística. In: Zagatto P. A.; BERTOLETTI, E. (orgs). Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações, São Carlos: RiMa. p. 478.
- CALOW, P. (1993) Handbook of Ecotoxicology. Oxford, Blackwell Science Ltda.
- CERESOLI, N. GAGNETEN (2003). Efectos del efluente de curtiembre sobre *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) en condiciones experimentales. V. 28 n. 8. Scielo, Caracas, ago.
- CESAR, A.; SILVA, S. L. R.; SANTOS, A. R. (1997) Testes de Toxicidade Aquática no Controle da Poluição- Universidade Santa Cecília - UNISANTA - Santos- SP. 4^o edição, 35p.
- CETESB - COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEAMENTO AMBIENTAL (1999). Métodos de Avaliação da Toxicidade de Poluentes a organismos aquáticos. Volume I. São Paulo.
- CETESB. – COMPANHIA DE TECNOLOGIA E SANEAMENTO AMBIENTAL (1986). Desenvolvimento de Métodos para o Estabelecimento de Critérios Ecotoxicológicos. São Paulo.
- CIRELLI, A. F. (1998). Água: “Problemática regional”. Enfoques y perspectivas em el aprovechamiento de recursos hídricos. Ed. Eudeba. Universidad de Buenos Aires. 255 p.
- COELHO, K. S. (2008). Estudos ecotoxicológicos com ênfase na avaliação da toxicidade de surfactantes aniônicos aos clacóceros *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Ceriodaphnia silvestrii*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de São Carlos, SP.155 pág.
- COELHO, R. S. (2006). Avaliação da toxicidade de fluidos de usinagem através da ecotoxicologia aquática. Tese de doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, SP. p. 156.
- DAMATO, M; SOBRINHO, P. A.; MORITA, D. M. (2000). Determinação da toxicidade aguda de efluentes de refinaria de petróleo em diversas etapas de tratamento para *Daphnia similis*. 19^o Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental.
- DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R. (2006). Toxicidade de resíduos têxteis tratados por microrganismos. J. Braz. Soc. Ecotoxicol., v.1, n. 1, 63-66.
- DUARTE, I.C.S., OLIVEIRA, L.L., BUZZINI, A.P., ADORNO, M.A.T., VARESCHE, M.B.A. (2006). Development of a Method by HPLC to Determine LAS and its Application in Anaerobic Reactors. Journal of the Brazilian Chemical Society. 17 (7), pp. 1360-367.

DUTKA, B.J. (1997) In: methods for microbiological and toxicological analysis of waters, wastewaters and sediments. National Water Research Institute (NWRI), Environmental Canada.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – EPA – (2004a). Guidelines for water reuse. Whashington, DC.445p.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – EPA – (2004b). Agency for International Development. Guidelines for Water Reuse. EPA 625/R – 04/108. Washington (DC).

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – EPA –(2002). Draft detailed review paper on a fish-generation toxicity test. Washington. 124p.

ENVIRONMENT CANADA (1992). Biological test methods: test of reproduction and survival using the cladoceran *Ceriodaphnia dubia*. Report EPS 1/RM/21. Environment Canada, Conservation and Protection, Ottawa, Ontario. 72p.

ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J.; DORFELD, C. B. (2003). Estudos ecotoxicológicos no rio Mogi-Guaçu. ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J. (Org). Limnologia fluvial. São Carlos: Rima. Pag. 129 – 148.

FORSTNER, U. (1990). Inorganic sediment chemistry and elemental speciation. IN: BAUDO, R.; GIESY, J. P. & MUNTAU, H. (eds). Sediments: chemistry and toxicity of in-place pollutants. Lewie Publishers, INC. Boca Raton.

FRACÁCIO, R. (2006). Estudos limnológicos e ecotoxicológicos (laboratoriais e in situ), com ênfase na avaliação da toxicidade de metais e de pesticidas organoclorados em peixes (*Danio rerio* e *Poecilia reticulata*) – Sub-bacia do rio Monjolinho. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. Pág. 209.

GERBA, C.P. & BITTON, G. (1984). Microbial pollutants: their survival and transport pattern to groundwater In: GERBA, C.P. & BITTON (Eds.). Groundwater pollution microbiology. New York: John Wiley & Sons, p.65-88.

GOLDSTEIN, E.G; ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E.; ARAUJO, R.P.A. e RAMOS, M.L.L.C. (1990). Procedimento para a utilização do teste de toxicidade no controle de efluentes líquidos. Série Manuais. CETESB. São Paulo.

GOLDSTEIN, E.G; FERNÍCOLA, N.A.G.G.; ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E.; ARAUJO, R.P.A. e MOURA, A.C.N. (1981). Contribuição da toxicologia ambiental para o controle da poluição das águas. CETESB. São Paulo.

GULLEY, D. D.; BOETTER, ^a M.; BERGMAN, H. L. (1991). TOXSTAT 3.3, Computar Program.

GRUPO DE TRABALHO. Índices de Avaliação de Projetos Hídricos.(GTZ). *Coletânea de textos traduzidos: índices hidro-ambientais □ análise e avaliação do seu uso na estimação dos impactos ambientais e projetos hídricos*. Curitiba (PR); 1995. cap. 2

HAIGH, S. D. (1996). A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil. *Science of the Total Environment*.185, pag.161-170.

HESPANHOL, I. (2003). Saúde Pública e reuso agrícola de esgotos e biossólidos. In: MANCUSO, Pedro Caetano Sanches; SANTOS, Hilton Felício dos, Reuso de Água. 1 ed, Barueri, Manole. (teste Raquel Rodrigues).

HESPANHOL, I. (2002). Água e saneamento básico – uma visão realista. Cap. 8, p. 249-304, in REBOUÇAS, A. C., BRAGA, B., TUNDISI, J. C., 2002. Águas doces no Brasil: Capital Ecológico, Uso e Conservação, 704. Editora Escrituras, SP.

HESPANHOL, I. (2001). Potencial de reuso de água no Brasil: agricultura, indústria, municípios, recarga de aquíferos. São Paulo, 2001. Separata de: Resumo de trabalhos técnicos III ENCONTRO DAS ÁGUAS, Chile, 2001.

HESPANHOL, I. (1999). Água e saneamento básico – uma visão realista. Cap. 8, p. 249-304, in REBOUÇAS, A. C., BRAGA, B., TUNDISI, J. C., 2002. Águas doces no Brasil: Capital Ecológico, Uso e Conservação.1 ed São Paulo: Escrituras Escritura, SP (tese Raquel Rodrigues)

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; & THURSTON, R.V. (1977) Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays, *Environmental Science and Technology*, 11, 714-719; Correction (1978), 12, 417.

HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A. BURTON Jr., G. A. CAIRNS Jr., J. (1995). *Handbook of Ecotoxicology*. Lewis Publishers. Boca Raton. 755 p.

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – (1990). Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos. 2.ed. Brasília, IBAMA.

JARDIM, C. M. (2004). Estudos ecotoxicológicos da água e do sedimento do rio Corumbataí, SP. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. Pág. 138.

JARDIM, W. F. (1998).Gerenciamento de resíduos químicos em laboratórios de ensino e pesquisa. *Química Nova*, São Paulo, v. 21, n. 5, p. 671 – 673, maio.

KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. (2004). Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações – Florianópolis: FATMA/GTZ. 289p.

LANDIS, W. G.; YU, M. G. (1995). *Introduction to Environmental Toxicology: Impacts of Chemicals Upon Ecological Systems*. CRC Press Inc. Florida, 328p.

- LEWIS, M.A. (1991). Chronic and sublethal toxicities of surfactants to aquatic animals: A review and risk assessment. *Water Research*. 25, pp. 101-113.
- LEWIS, M.A.; SURPRENANT, D. (1992). Comparative acute toxicities of surfactants to aquatic invertebrates. *Ecotoxicology Environmental Safety*. 7, pp. 313-322.
- LIU, M. C.; CHEN C. M.; CHENG, H. Y.; CHEN H. Y.; SU, Y. C.; HUNG, T. Y. (2002). Toxicity of different industrial effluents in Taiwan: A comparison of the sensibility of *Daphnia similis* and Microtox®. *Environmental toxicology*. 2002, vol. 17, nº2, pág. 93-97.
- MA, T.H., XU Z., XU C., McCONNELL H., RABAGO, E.V., ARREOLA G.A., ZANG H. The improved Allium/Vicia root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. *Mutation Research*, v.334, p. 185-195, 1995.
- MACHADO, P. A. L. (2002). *Direito ambiental brasileiro*. 10 ed. São Paulo: Ed. Malheiros, p. 1048.
- MANCUSO, P. C. S., SANTOS, H. F. (2003). *Reuso de água*. Ed. Manole. Barueri – SP. 579 p.
- MANNING-HALL, T. J.; G.H. HOLLAND; G. RENNIE, P. REVELL; J. HINES; M. D. BARRAT E D. BASKRTTEER. (1998). Skin irritation potential of mixed surfactant systems. *Food and Chemical Toxicol*. 20: pág. 233-238.
- MELETTI, P. C. (2003). Avaliação da degradação ambiental por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes. Tese de doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, São Carlos. P. 203.
- MORELLI, E. B. (2005). *Reuso de água na lavagem de veículos*. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, SP. 107p.
- MOZETO, A. A.; JARDIM, W. F. (2002). *A Química ambiental no Brasil*. Química. Nova v.25 supl.1 São Paulo maio 2002
- NIETO, R. (2000). Caracterização ecotoxicológica de efluentes líquidos industriais – ferramenta para ações de controle da poluição das águas. XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Porto Alegre, RS.
- NOGUEIRA, P. F. M.; MELÃO, M. G. G.; LMOBARDI, A. T.; VIEIRA, A. H. (2005). The effects of *Anabaena spiroides* (Cyanophyceae) exopolisaccharide on copper toxicity to *Simocephalus serrlatus* (Cladocera, Daphnidae). *Freshwater Research*, v. 50, p. 1560 – 1567.
- NOLASCO, F. R., TAVARES, G. A., BENDASSOLLI, J. A. (2006). Implantação de programas de gerenciamento de resíduos químicos laboratoriais em universidades: análise

crítica e recomendações. Revista Engenharia Sanitária e Ambiental/Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental – vol. 11 – n. 2 abr/jun – Rio de Janeiro/RJ:ABES.

NUSSLEIN-VOLHARD, C. (2002). Zebrafish. Oxford University Press. 303 p.

OLIVEIRA NETO, A. L. (2002). Toxicidade de alguns metais pesados (Cd, Cr e Pb) em organismos planctônicos lacustres de região subtropical. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia – USP. São Carlos

OYA, M.; ORITO, S.; ISHIKAWA, Y.; IIZUKA, T. (2007). Effects of water hardness and existence of adsorbent on toxic surface tension of surfactants for aquatic species. Journal of Oleo Science. 56 (5), pp. 237-243

PAIVA, T. C. B. (1999). Caracterização e tratamento de efluente de branqueamento TCF de indústria de papel e celulose. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 111 pág.

REBOUÇAS, A. (2004). Uso inteligente da água, Cap. 9, p. 85 – 86. 207 p. Editora Escrituras, SP.

RIBELLES, A.; CARRASCO E M. ROSETY. (1995). Morphological and histochemical-changes caused by sodium dodecyl-sulfate in the *Sparus aurata*, L. *European Journal of Histochemistry*. 39: (2) pág. 141-148.

RODRIGUES, R. S. (2005). As dimensões legais e institucionais do reuso de água no Brasil: Proposta de regulamentação de reuso no Brasil. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, SP. 177p.

ROMANELLI, M.F.; MORAES, M.C.F.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; BORRELY, S.I. (2006). Evaluation of toxicity reduction of sodium dodecyl sulfate submitted to electron beam radiation. *Radiation Physics and Chemistry*. 71, pp. 409-411.

SANCHEZ-MEZA, J. C.; PACHECO-SALAZAR, V. F.; PAVON-SILVA, T. B.; GUIÉRREZ-GARCIA, V. G.; AVILA-GONZÁLEZ, C. J.; GUERRERO-GARCIA, P. (2007). Toxicity assessment of a complex industrial wastewater using aquatic and terrestrial bioassays *Daphnia pulex* and *Lactuca sativa*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. V. 42 Issue 10. Pag. 1425 – 1431.

SINGH, M. M. et al. (2002). A comparative study of microscale and standard burets. *Journal of Chemical Education*. Easton, v. 77, n. 5, p. 625-626, Sep/Oct.

SISINNO, C. L. S. (2002). Destino dos resíduos sólidos urbanos e industriais no estado do Rio de Janeiro: avaliação da toxicidade dos resíduos e suas aplicações para o ambiente e para a saúde humana. Tese de Doutorado. Fundação Oswaldo Cruz. Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro, RJ. 102 pág.

SOARES, A. M. V. M. (1990). Ecotoxicologia e Determinação de Riscos Ecológicos. Prática e Perspectiva. 2ª Conferência Nacional sobre a Qualidade do Ambiente. Vol. 1 Lisboa B43- B52

SORENSEN, E. M. B. (1991). Metal poisoning in fish. Boca Raton.

SOUSA, J. T. de; LEITE, V.D. (2003). Tratamento e utilização de esgotos domésticos na agricultura. Campina Grande: EDUEP. 135p.

TAKENAKA, R. A. (2007). Avaliação da toxicidade de *Microcystis aeruginosa* e de florações naturais de cianobactérias de reservatórios do rio Tietê, SP. Tese de doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, SP. p. 362.

TEMARA, A., CARR, G., WEBB, S., VERSTEEG, D. AND FEIJTEL, T. (2001). Marine risk assessment: linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in the North Sea. Marine Pollution Bulletin. 42, pp. 635-642.

TONISSI, F. B. (1999). Avaliação ecotoxicológica do reservatório de Salta Grande, Americana (SP), como subsídio para a análise da qualidade ambiental do sistema. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.

TUNDISI, J. G. (2003). Água no século XXI: Enfrentando a escassez. Editora Rima, IIE, São Carlos. 248p.

VERGE, C.; MORENO, A.; BRAVO, J.; BERNA, J.L. (2001). Influence of water hardness on the bioavailability and toxicity of linear alkylbenzene sulfonate (LAS). Chemosphere. 44, pp. 1749-1757.

VOSYLIENÉ, M. Z. (2007). Review of the methods for acute and chronic toxicity assessment of single substances, effluents and industrial waters. Acta Zoologica Lituanica. V. 17, n°1. pág.13.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (2006). Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações. Editora Rima, São Carlos, SP. 478 p.

APÊNDICE A

Ensaio de Sensibilidade

Tabela A 1– Valores da concentração efetiva mediana CE₅₀(48h) – de cloreto de sódio (NaCl) obtidos nos ensaios de sensibilidade para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera).

Número de Ensaio	CE ₅₀ (48h) – Intervalo de Confiança g/L
1	1,75 (1,65 - 1,86)
2	1,25 (1,03 - 1,52)
3	1,16 (1,02 - 1,28)
4	1,35 (1,21 - 1,5)
5	1,91 (1,74 - 2,10)
6	1,61 (1,46 - 1,78)
7	1,8 (1,64 - 1,98)
8	1,93 (1,82 - 2,05)
9	1,88 (1,74 - 2,03)
10	1,84 (1,61 - 2,10)
Média g/L	1,65
Desvio-Padrão (DP)	0,29
Coefficiente de Variação (CV) (%)	17,57
Faixa de Sensibilidade (g/L)	1,07 – 2,23

Tabela A 2 – Valores da concentração efetiva mediana CE₅₀(48h) – de dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) obtidos nos ensaios de sensibilidade para o dafinídeo *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera).

Número de Ensaio	CE ₅₀ (48h) – Intervalo de Confiança mg/L
1	0,08
2	0,06
3	0,09
4	
5	
Média g/L	
Desvio-Padrão (DP)	
Coefficiente de Variação (CV) (%)	
Faixa de Sensibilidade (g/L)	

Tabela A 3 - Valores da concentração efetiva mediana $CL_{50}(48h)$ – de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) obtidos nos ensaios de sensibilidade para o peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) .

Número de Ensaio	$CE_{50}(48h)$ – Intervalo de Confiança g/L
1	156,66 (156,66 - 178,68)
2	161,61 (143,32 - 182,22)
3	161,61 (140,69 - 185,64)
4	146,02 (116,14 - 183,59)
5	146,02 (116,14 - 183,59)
Média g/L	154,38
Desvio-Padrão (DP)	7,90
Coefficiente de Variação (CV) (%)	5,1
Faixa de Sensibilidade (g/L)	138,59 – 170,18

Laboratório de Química de Produtos Naturais

Tabela A 4 - Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 07.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Química de Produtos Naturais (07.08.2007)		Data início: 07.08.2007 Data término: 09.08.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LcaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,60	46
1%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,65	48
3%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,72	56
6%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,74	56
9%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,76	46
12%	1/5	1/5	1/5	3/15	20	7,77	42
15%	4/5	4/5	2/5	10/15	66,7	7,77	44
$CE_{50} - 48h$ (%) = 13,05 IC (95%) 12,75 – 15,05							

TABELA A 5 - Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 14.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Química de Produtos Naturais (14.08.2007)		Data início: 14.08.2007 Data término: 16.08.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,53	48
1%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,33	46
3%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,39	46
6%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,57	52
9%	0/5	0/5	1/5	1/15	6,7	7,79	54
12%	1/5	1/5	0/5	2/15	13,3	7,80	50
15%	4/5	4/5	2/5	10/15	66,7	7,81	52
$CE_{50} - 48h$ (%) = 13,99 IC (95%) 13,00 – 15,06							

Tabela A 6 - Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 05.09.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Química de Produtos Naturais (05.09.2007)		Data início: 05.09.2007 Data término: 07.09.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		PH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,54	46
1%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,67	46
3%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,80	54
6%	0/5	2/5	0/5	2/15	13,3	7,81	56
9%	5/5	4/5	2/5	11/15	73,33	7,82	52
12%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,82	54
15%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,78	54
$CE_{50} - 48h$ (%) = 7,49 IC (95%) 6,61 – 8,49							

Tabela A 7 - Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 07.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Química de Produtos Naturais (07.08.2007)		Data início: 07.08.2007 Data término: 09.08.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,64	46
1%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,66	56
3%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,78	56
6%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,77	52
9%	0/5	0/5	1/5	1/15	6,7	7,82	50
12%	1/5	1/5	0/5	2/15	13,3	7,88	46
15%	4/5	2/5	4/5	10/15	66,7	7,81	44
$CE_{50} - 48h$ (%) = 13,99 IC (95%) 13,00 – 15,06							

Tabela A 8 - Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 14.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Química de Produtos Naturais (14.08.2007)		Data início: 14.08.2007 Data término: 16.08.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,54	44
1%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,60	48
3%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,75	50
6%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,80	52
9%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,82	52
12%	1/5	0/5	0/5	1/15	6,7	7,77	48
15%	4/5	4/5	2/5	10/15	66,7	7,83	54
				$CE_{50} - 48h$ (%) = 14,10			
				IC (95%) 13,19 – 15,07			

Tabela A 9 – Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafnídeo *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 07.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Química de Produtos Naturais (05.09.2007)		Data início: 05.09.2007 Data término: 07.09.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,60	48
1%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,99	46
3%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	8,01	48
6%	0/5	1/5	0/5	1/15	6,7	7,99	52
9%	4/5	2/5	4/5	10/15	66,7	7,93	50
12%	5/5	5/5	3/5	13/15	86,7	7,86	44
15%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,70	42
				$CE_{50} - 48h$ (%) = 8,23 IC (95%) 7,31 – 9,27			

Tabela A 10 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de $CL_{50} - 96h$ (%) para o peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 07.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE (21.08.2007)		Data início: 21.08.2007 Data término: 23.08.2007									
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis/mortos				Imobilidade/letalidade		pH		Dureza (mg/LCaCO ₃)		
	1	2	3	4	Total	%	0h	96h	0h	96h	
Controle	0/5	0/5	0/5	0/5	0	0	7,57	7,87	48	52	
6%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	7,65	7,77	56	62	
12%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	7,72	7,78	54	58	
18%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	7,00	7,56	56	60	
25%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	7,74	7,90	46	52	
50%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	7,76	7,90	42	50	
62%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	7,77	7,99	44	50	
$CL_{50} - 96h$ (%) = 0 IC (95%) 0											

Tabela A 11 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de $CL_{50} - 96h$ (%) para o peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 14.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).

Amostra: Laboratório de Química de Produtos Naturais (14.08.2007)		Data início: 14.08.2007 Data término: 19.08.2007								
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis/mortos				Imobilidade/letalidade		pH		Dureza (mg/LCaCO ₃)	
	1	2	3	4	Total	%	0h	96h	0h	96h
Controle	0/5	0/5	0/5	0/5	0	0	7,43	7,60	42	50
6%	0/5	0/5	0/5	0/5	0	0	7,31	7,42	56	46
12%	1/5	4/5	5/5	0/5	10	50	7,38	7,38	48	46
18%	5/5	5/5	5/5	2/5	18	90	6,86	7,41	60	48
25%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,96	*	40	*
50%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,87	*	40	*
62%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,71	*	42	*

$CL_{50} - 96h$ (%) = 6,73
IC (95%) 3,16 – 14,36

* os organismos morreram antes do término do ensaio.

Tabela A 12 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de CL₅₀ – 96h (%) para o peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 05.09.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).

Amostra: Laboratório de Química de Produtos Naturais (05.09.2007)		Data início: 05.09.2007 Data término: 13.09.2007									
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis/mortos				Imobilidade/letalidade		Ph		Dureza (mg/LCaCO ₃)		
	1	2	3	4	Total	%	0h	96h	0h	96h	
Controle	0/5	0/5	0/5	0/5	0	0	7,43	7,60	42	50	
6%	0/5	4/5	1/5	2/5	7	35	7,31	7,42	56	46	
12%	1/5	4/5	5/5	0/5	10	50	7,38	7,38	48	46	
18%	5/5	5/5	5/5	2/5	18	90	6,86	7,41	60	48	
25%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,96	*	40	*	
50%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,87	*	40	*	

CL₅₀ – 96h (%) = 6,73
IC (95%) 3,16 – 14,36

* os organismos morreram antes do término do ensaio.

Tabela A 13 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), exposta a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 07.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (14 dias).

Laboratório: Laboratório de Química de Produtos Naturais											Coleta: 01			
Data da Coleta: 07.08.2007														
Início do Ensaio: 14.08.2007											Término do Ensaio: 28.08.2007			
Diluição	Réplicas										PH		Dureza	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	25	18	17	8	21	17	30	20	17	24	7,59	7,40	48	52
1%	35	36	6†	34	38	43	2†	4†	4†	2†	7,77	7,40	52	52
3%	39	37	4†	25	28	37	31	28	26	34	7,75	7,34	58	56
6%	31	28	36	34	1†	30	0†	35	37	2†	7,84	7,27	72	50
9%	36	36	39	42	36	39	34	28	32	0†	7,84	7,35	62	52
12%	23	12†	†9	29	25	27	33	37	25	0†	7,98	7,29	62	50
15%	14	11	21	10	0†	16	16	18	24	0†	7,96	7,30	60	50

† organismo morto durante o ensaio.

A1 - Resultado dos testes estatísticos aplicados aos dados dos ensaios de toxicidade crônica (14 dias) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos ao efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado no dia 07.08.2007.

A1.1 - Sobrevivência: Teste de Fisher

SUMMARY OF FISHERS EXACT TESTS				
GROUP	IDENTIFICATION	NUMBER EXPOSED	NUMBER DEAD	SIG (P=.05)
	CONTROL	10	0	
1	1%	10	5	*
2	3%	10	1	
3	6%	10	3	
4	9%	10	1	
5	12%	10	3	
6	15%	10	2	

A1.2 - **Reprodução:** Resumo estatístico dos dados, métodos paramétricos Dunnett e Tukey.

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA					
GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	CONTROLE	10	8.000	30.000	19.700
2	1%	10	2.000	43.000	20.400
3	3%	10	4.000	39.000	28.900
4	6%	10	0.000	37.000	23.400
5	9%	10	0.000	42.000	32.200
6	12%	10	0.000	37.000	22.000
7	15%	10	0.000	24.000	13.000

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM
1	CONTROLE	35.122	5.926	1.874
2	1%	320.489	17.902	5.661
3	3%	100.989	10.049	3.178
4	6%	246.711	15.707	4.967
5	9%	143.289	11.970	3.785
6	12%	132.444	11.508	3.639
7	15%	64.444	8.028	2.539

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	6	2379.800	396.633	2.661
Within (Error)	63	9391.400	149.070	
Total	69	11771.200		

Critical F value = 2.25 (0.05,6,60)

Since $F > \text{Critical } F$ REJECT H_0 :All groups equal

DUNNETTS TEST - TABLE 1 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED	MEAN CALCULATED IN		
		MEAN	ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	CONTROLE	19.700	19.700		
2	1%	20.400	20.400	-0.128	
3	3%	28.900	28.900	-1.685	
4	6%	23.400	23.400	-0.678	
5	9%	32.200	32.200	-2.289	
6	12%	22.000	22.000	-0.421	
7	15%	13.000	13.000	1.227	

Dunnett table value = 2.35 (1 Tailed Value, P=0.05, df=60,6)

DUNNETTS TEST - TABLE 2 OF 2

Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff	% of	DIFFERENCE
			(IN ORIG. UNITS)	CONTROL	FROM CONTROL
1	CONTROLE	10			
2	1%	10	12.832	65.1	- 0.700
3	3%	10	12.832	65.1	- 9.200
4	6%	10	12.832	65.1	- 3.700
5	9%	10	12.832	65.1	- 12.500
6	12%	10	12.832	65.1	- 2.300
7	15%	10	12.832	65.1	- 6.700

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP										
				0	0	0	0	0	0	0				
7	15%	13.000	13.000	\										
1	CONTROLE	19.700	19.700	.	\									
2	1%	20.400	20.400	.	.	\								
6	12%	22.000	22.000	.	.	.	\							
4	6%	23.400	23.400	\						
3	3%	28.900	28.900	\					
5	9%	32.200	32.200	*	\				

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
 Tukey value (7,63) = 4.31 s = 149.070

Tabela A 14 - Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 14.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (12 dias).

Laboratório: Laboratório de Química de Produtos Naturais											Coleta: 02			
Data da Coleta: 14. 08.2007														
Início do Ensaio: 17.08.2007											Término do Ensaio: 29.08.2007			
Diluição	Réplicas										pH		Dureza	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	23	24	22	26	19	25	11	22	34	27	7,53	7,40	48	56
1%	1†	21	19	20	0†	19	19	11	22	5†	7,33	7,38	42	56
3%	22	24	24	16	25	19	16	22	0†	29	7,39	7,30	40	54
6%	27	23	26	19	27	3†	26	6†	3†	0†	7,57	7,48	40	54
9%	31	24	23	14†	13	0†	24	36	19†	26	7,79	7,51	48	54
12%	19	17	26	2†	23	29	15	19	15	22	7,80	7,54	40	56
15%	13	20	21	14	22	14	10†	26	20	17	7,81	7,46	44	56

† organismo morto durante o ensaio.

A1.3 - Resultado dos testes estatísticos aplicados aos dados dos ensaios de toxicidade crônica (12 dias) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos ao efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado no dia 14.08.2007.

A1.4 - Sobrevivência: Teste de Fisher

SUMMARY OF FISHERS EXACT TESTS				
GROUP	IDENTIFICATION	NUMBER EXPOSED	NUMBER DEAD	SIG (P=.05)
	CONTROL	10	0	
1	1%	10	3	
2	3%	10	1	
3	6%	10	4	*
4	9%	10	3	
5	12%	10	1	
6	15%	10	1	

A1.5 - Reprodução: Resumo estatístico dos dados, métodos paramétricos Dunnett e Tukey

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA					
GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	CONTROLE	10	11.000	34.000	23.300
2	1%	10	0.000	22.000	13.700
3	3%	10	0.000	29.000	19.700
4	6%	10	0.000	27.000	16.000
5	9%	10	0.000	36.000	21.000
6	12%	10	2.000	29.000	18.700
7	15%	10	10.000	26.000	17.700

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM
1	CONTROLE	34.678	5.889	1.862
2	1%	75.344	8.680	2.745
3	3%	64.233	8.015	2.534
4	6%	132.667	11.518	3.642
5	9%	103.333	10.165	3.215
6	12%	55.344	7.439	2.353
7	15%	24.233	4.923	1.557

ANOVA TABLE				
SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	6	606.486	101.081	1.445
Within (Error)	63	4408.500	69.976	
Total	69	5014.986		

Critical F value = 2.25 (0.05,6,60)

Since F < Critical F FAIL TO REJECT Ho:All groups equal

DUNNETTS TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED	MEAN CALCULATED IN		
		MEAN	ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	CONTROLE	23.300	23.300		
2	1%	13.700	13.700	2.566	*
3	3%	19.700	19.700	0.962	
4	6%	16.000	16.000	1.951	
5	9%	21.000	21.000	0.615	
6	12%	18.700	18.700	1.230	
7	15%	17.700	17.700	1.497	

Dunnett table value = 2.35 (1 Tailed Value, P=0.05, df=60,6)

DUNNETTS TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff	% of	DIFFERENCE
			(IN ORIG. UNITS)	CONTROL	FROM CONTROL
1	CONTROLE	10			
2	1%	10	8.791	37.7	9.600
3	3%	10	8.791	37.7	3.600
4	6%	10	8.791	37.7	7.300
5	9%	10	8.791	37.7	2.300
6	12%	10	8.791	37.7	4.600
7	15%	10	8.791	37.7	5.600

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP								
				0	0	0	0	0	0	0		
2	1%	13.700	13.700	\								
4	6%	16.000	16.000	. \								
7	15%	17.700	17.700	. . \								
6	12%	18.700	18.700	. . . \								
3	3%	19.700	19.700 \								
5	9%	21.000	21.000 \								
1	CONTROLE	23.300	23.300 \								

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
 Tukey value (7,63) = 4.31 s = 69.976

Tabela A 15 - Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 05.09.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (10 dias).

Laboratório: Laboratório de Química de Produtos Naturais											Coleta: 03			
Data da Coleta: 05. 09.2007														
Início do Ensaio: 08.09.2007											Término do Ensaio: 18.09.2007			
Diluição	Réplicas										pH		Dureza	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	24	14	13	2	17	10	16	21	22	18	7,15	7,95	44	46
0,5%	15	8	0†	14	17	17	13	10†	11	17	7,51	7,64	62	54
1%	16	15	11	19	18	5†	16	0†	5†	16	7,55	7,71	54	58
1,5%	14	0†	19	12†	18	16	0†	20	0†	22	7,55	7,73	46	60
2%	9	13†	13	5†	16	1†	21	22	15	17	7,55	7,68	52	52
2,5%	18	20	15	17	13	1†	18	14	19	1†	7,54	8,00	50	56
3%	23	18	16	11	4†	14	18	17	12	9	7,57	7,98	62	56

† organismo morto durante o ensaio.

A1.6 - Resultado dos testes estatísticos aplicados aos dados dos ensaios de toxicidade crônica (10 dias) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos ao efluente do Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado no dia 05.09.2007.

A1.7 - Sobrevivência: Teste de Fisher

SUMMARY OF FISHERS EXACT TESTS				
GROUP	IDENTIFICATION	NUMBER EXPOSED	NUMBER DEAD	SIG (P= .05)
	CONTROL	15	0	
1	0,5%	15	2	
2	1%	15	3	
3	1,5%	15	4	*
4	2%	15	3	
5	2,5%	15	2	
6	3%	15	1	

A1.8 - **Reprodução:** Resumo estatístico dos dados, métodos paramétricos Dunnett e Tukey.

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 1 of 2

GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	CONTROLE	10	2.000	24.000	16.600
2	0,5%	10	0.000	17.000	12.400
3	1%	10	0.000	19.000	12.100
4	1,5%	10	0.000	22.000	12.100
5	2%	10	1.000	22.000	13.200
6	2,5%	10	1.000	20.000	13.600
7	3%	10	4.000	23.000	14.200

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM
1	CONTROLE	38.267	6.186	1.956
2	0,5%	29.822	5.461	1.727
3	1%	42.767	6.540	2.068
4	1,5%	77.878	8.825	2.791
5	2%	44.178	6.647	2.102
6	2,5%	48.933	6.995	2.212
7	3%	29.289	5.412	1.711

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	6	153.171	25.529	0.574
Within (Error)	63	2800.200	44.448	
Total	69	2953.371		

Critical F value = 2.25 (0.05,6,60)
 Since F < Critical F FAIL TO REJECT Ho:All groups equal

DUNNETTS TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	CONTROLE	16.600	16.600		
2	0,5%	12.400	12.400	1.409	
3	1%	12.100	12.100	1.509	
4	1,5%	12.100	12.100	1.509	
5	2%	13.200	13.200	1.140	
6	2,5%	13.600	13.600	1.006	
7	3%	14.200	14.200	0.805	

Dunnett table value = 2.35 (1 Tailed Value, P=0.05, df=60,6)

DUNNETTS TEST		TABLE 2 OF 2		Ho:Control<Treatment		
GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL	
1	CONTROLE	10				
2	0,5%	10	7.007	42.2	4.200	
3	1%	10	7.007	42.2	4.500	
4	1,5%	10	7.007	42.2	4.500	
5	2%	10	7.007	42.2	3.400	
6	2,5%	10	7.007	42.2	3.000	
7	3%	10	7.007	42.2	2.400	

TUKEY method of multiple comparisons							
GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP			
				0	0	0	0
3	1%	12.100	12.100	\			
4	1,5%	12.100	12.100	.	\		
2	0,5%	12.400	12.400	.	.	\	
5	2%	13.200	13.200	.	.	.	\
6	2,5%	13.600	13.600
7	3%	14.200	14.200
1	CONTROLE	16.600	16.600

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
 Tukey value (7,63) = 4.31 s = 44.448

Laboratório de Síntese de Produtos Naturais

Tabela A 16 - Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos a diversas concentrações de amostras de efluentes coletados dia 19.09.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese de Produtos Naturais (19.09.2007)		Data início: 19.09.2007 Data término: 21.09.2007							
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH		Dureza (mg/LcaCO ₃)	
	1	2	3	Total	%	0h		0h	
Controle	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,48		46	
1%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,73		58	
3%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,75		58	
6%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,76		54	
9%	2/5	5/5	5/5	11/15	73,3	7,72		40	
12%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,70		62	
15%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,69		62	
$CE_{50} - 48h$ (%) = 8,06 IC (95%) 7,45 – 8,72									

Tabela A 17 - Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos a diversas concentrações de amostras de efluentes coletados dia 02.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese de Produtos Naturais (02.10.2007)		Data início: 02.10.2007 Data término: 04.10.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%		
Controle	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,46	44
1%	1/5	2/5	1/5	4/15	26,7	7,60	40
3%	2/5	5/5	3/5	10/15	66,7	7,62	46
6%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,54	48
9%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,48	50
12%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,46	50
15%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,41	52
				$CE_{50} - 48h$ (%) = 1,89			
				IC (95%) 1,22 – 2,95			

Tabela A 18 - Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos a diversas concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese de Produtos Naturais (04.10.2007)		Data início: 04.10.2007 Data término: 06.10.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,48	46
0,5%	1/5	2/5	1/5	3/15	20	7,79	58
1%	3/5	3/5	4/5	10/15	66,7	7,80	60
3%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,80	62
6%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,82	62
9%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,81	60
12%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,85	64
				$CE_{50} - 48h$ (%) = 0,80			
				IC (95%) 0,59 – 1,09			

Tabela A 19 – Porcentagem de imobilidade e valor de CE₅₀ – 48h (%) para o dafinídeo *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) expostos a diversas concentrações de amostras de efluentes coletados dia 19.09.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese de Produtos Naturais (19.09.2007)		Data início: 19.09.2007 Data término: 21.09.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,31	40
1%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,77	50
3%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,77	38
6%	1/5	2/5	0/5	3/15	20	7,71	48
9%	0/5	3/5	2/5	5/15	33,3	7,71	56
12%	4/5	4/5	2/5	10/15	66,7	7,69	48
15%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,68	54
				CE ₅₀ – 48h (%) = 9,03			
				IC (95%) 7,74 – 10,54			

Tabela A 20 – Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) expostos a diversas concentrações de amostras de efluentes coletados dia 02.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese de Produtos Naturais (02.10.2007)		Data início: 02.10.2007 Data término: 04.10.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,31	42
1%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,51	48
3%	0/5	0/5	1/5	1/15	6,67	7,55	48
6%	4/5	5/5	2/5	11/15	73,3	7,53	42
9%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,52	48
12%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,52	40
15%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,46	40
				$CE_{50} - 48h$ (%) = 4,63			
				IC (95%) 3,90 – 5,49			

Tabela A 21 – Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) expostos a diversas concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese de Produtos Naturais (04.10.2007)		Data início: 04.10.2007 Data término: 06.10.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,31	40
0,5%	0/5	4/5	1/5	5/15	33,3	7,74	44
1%	3/5	2/5	4/5	9/15	60	7,78	44
3%	3/5	4/5	3/5	10/15	66,7	7,80	48
6%	5/5	5/5	4/5	14/15	93,3	7,81	52
9%	5/5	5/5	4/5	14/15	93,3	7,84	52
12%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,88	56
$CE_{50} - 48h$ (%) = 0,85 IC (95%) 0,37 – 1,94							

Tabela A 22 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de $CL_{50} - 96h$ (%) para o peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 19.09.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese de Produtos Naturais (19.09.2007)		Data início: 19.09.2007 Data término: 26.09.2007									
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis/mortos				Imobilidade/letalidade		pH		Dureza (mg/LCaCO ₃)		
	1	2	3	4	Total	%	0h	96h	0h	96h	
Controle	0/5	0/5	0/5	0/5	0	0	7,60	7,09	48	48	
25%	0/5	4/5	1/5	2/5	7	35	7,41	7,07	46	50	
37%	1/5	4/5	5/5	3/5	13	65	6,72	6,65	60	50	
50%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,73	*	50	*	
62%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	7,07	*	46	*	
75%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	7,14	*	40	*	
					$CL_{50} - 96h$ (%) = 6,36						
					IC (95%) 4,22 – 9,58						

* os organismos morreram antes do término do ensaio.

Tabela A 23 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de $CL_{50} - 96h$ (%) para o peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 02.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese de Produtos Naturais (02.10.2007)		Data início: 02.10.2007 Data término: 06.10.2007									
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis/mortos				Imobilidade/letalidade		pH		Dureza (mg/LCaCO ₃)		
	1	2	3	4	Total	%	0h	96h	0h	96h	
Controle	1/5	0/5	0/5	0/5	1	5	7,53	7,18	44	58	
6%	0/5	0/5	1/5	0/5	1	5	7,18	7,09	44	50	
12%	1/5	4/5	2/5	0/5	7	35	6,76	6,93	50	58	
18%	5/5	3/5	5/5	4/5	12	60	6,92	6,87	50	52	
25%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	7,00	*	46	*	
50%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	7,04	*	40	*	
					$CL_{50} - 96h$ (%) = 12,56						
					IC (95%) 10,70 – 14,75						

* os organismos morreram antes do término do ensaio.

Tabela A 24 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de $CL_{50} - 96h$ (%) para o peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese de Produtos Naturais (04.10.2007)		Data início: 04.10.2007 Data término: 08.10.2007									
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis/mortos				Imobilidade/letalidade		pH		Dureza (mg/LCaCO ₃)		
	1	2	3	4	Total	%	0h	96h	0h	96h	
Controle	0/5	0/5	0/5	0/5	0	0	7,56	7,78	48	62	
6%	0/5	0/5	1/5	0/5	1	5	7,29	7,60	48	74	
12%	1/5	4/5	2/5	3/5	10	50	6,77	7,09	50	76	
18%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,79	*	42	*	
25%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,62	*	46	*	
50%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	7,05	*	40	*	
					$CL_{50} - 96h$ (%) = 9,92						
					IC (95%) 8,45 – 11,65						

* os organismos morreram antes do término do ensaio.

Tabela A 25 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 19.09.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (10 dias).

Laboratório: Laboratório de Síntese de Produtos Naturais											Coleta: 01			
Data da Coleta: 19.09.2007														
Início do Ensaio: 22.09.2007											Término do Ensaio: 01.10.2007			
Diluição	Réplicas										pH		Dureza	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	23	20	23	22	24	24	22	20	23	23	7,46	7,65	44	44
1%	22	13†	0†	13	24	20	0†	13	0†	35	7,76	7,72	50	48
2%	25	27	0†	24	0†	0†	0†	0†	21	0†	7,79	7,55	46	*
3,5%	0†	0†	15	0†	0†	21	10	0†	20	0†	7,78	7,31	42	*
5%	10†	0†	11	0†	0†	5†	0†	4†	21	27	7,76	7,24	64	46
6%	0†	1	0†	16†	15	15†	13†	24	0†	3†	7,73	7,25	56	46
7,5%	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	7,74	*	56	*

† organismo morto durante o ensaio.

* quantidade insuficiente de efluente para a realização da análise.

A2.1 - Resultado dos testes estatísticos aplicados aos dados dos ensaios de toxicidade crônica (10 dias) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos ao efluente do Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado no dia 19.09.2007.

A2.2 - Sobrevivência: Teste de Fisher

SUMMARY OF FISHERS EXACT TESTS				
GROUP	IDENTIFICATION	NUMBER EXPOSED	NUMBER DEAD	SIG (P=.05)
	CONTROL	10	0	
1	1%	10	4	*
2	2%	10	6	*
3	3,5%	10	6	*
4	5%	10	6	*
5	6%	10	7	*
6	7,5%	10	10	*

A2.3 - Reprodução: Resumo estatístico dos dados, métodos não paramétricos de Steels Many One e Kruskal – Wallis.

STEELS MANY-ONE RANK TEST			- Ho:Control<Treatment			
GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	RANK SUM	CRIT. VALUE	df	SIG
1	CONTROLE	21.400				
2	1%	14.000	81.50	74.00	10.00	
3	2%	9.700	87.00	74.00	10.00	
4	3,5%	6.600	61.00	74.00	10.00	*
5	5%	7.800	68.00	74.00	10.00	*
6	6%	8.700	67.50	74.00	10.00	*
7	7,5%	1.300	55.00	74.00	10.00	*

Critical values use k = 6, are 1 tailed, and alpha = 0.05

KRUSKAL-WALLIS ANOVA BY RANKS - TABLE 1 OF 2 (p=0.05)				
GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	RANK SUM
1	CONTROLE	21.400	21.400	565.000
2	1%	14.000	14.000	411.000
3	2%	9.700	9.700	340.500
4	3,5%	6.600	6.600	275.000
5	5%	7.800	7.800	326.000
6	6%	8.700	8.700	350.500
7	7,5%	1.300	1.300	217.000

Calculated H Value = 19.049 Critical H Value Table = 12.590
 Since Calc H > Crit H REJECT Ho:All groups are equal.

DUNNS MULTIPLE COMPARISON - KRUSKAL-WALLIS - TABLE 2 OF 2 (p=0.05)												
GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP								
				0	0	0	0	0	0	0		
7	7,5%	1.300	1.300	\								
4	3,5%	6.600	6.600	.	\							
5	5%	7.800	7.800	.	.	\						
6	6%	8.700	8.700	.	.	.	\					
3	2%	9.700	9.700	\				
2	1%	14.000	14.000	\			
1	CONTROLE	21.400	21.400	*	*	\

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
 Table q value (0.05,7) = 3.038 SE = 8.800

Tabela A 26 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 02.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (10 dias).

Laboratório: Laboratório de Síntese de Produtos Naturais											Coleta: 02			
Data da Coleta: 02.10.2007														
Início do Ensaio: 04.10.2007											Término do Ensaio: 14.10.2007			
Diluição	Réplicas										pH		Dureza	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	20	42	22	22	19	28	16	27	11	28	7,26	7,56	44	52
0,06%	23	28	33	20	6†	23	32	37	0†	27	7,47	7,57	60	58
0,1%	22	18	30	7	30	36	31	28†	18	29	7,70	7,62	58	60
0,25%	14	34	33	26	4†	36	31	28	18	29	7,78	7,63	64	62
0,5%	30	31	0†	6†	0†	31	32	40	27	33	7,65	7,52	56	64
1%	21	32	26	29	0†	23	24	7†	0†	0†	7,63	7,56	56	64

† organismo morto durante o ensaio.

A2.4 - Resultado dos testes estatísticos aplicados aos dados dos ensaios de toxicidade crônica (10 dias) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos ao efluente do Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado no dia 02.10.2007.

A2.5 - Sobrevivência: Teste de Fisher

SUMMARY OF FISHERS EXACT TESTS				
GROUP	IDENTIFICATION	NUMBER EXPOSED	NUMBER DEAD	SIG (P=.05)
	CONTROL	15	0	
1	0,06%	15	2	
2	0,1%	15	1	
3	0,25%	15	1	
4	0,5%	15	3	
5	1%	15	4	*

A2. 6 - Reprodução: Resumo estatístico dos dados, métodos paramétricos de Dunnett e Tukey.

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA						TABLE 1 of 2
GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN	
1	CONTROLE	10	11.000	42.000	23.500	
2	0,06%	10	0.000	37.000	22.900	
3	0,1%	10	0.000	38.000	23.600	
4	0,25%	10	4.000	36.000	25.300	
5	0,5%	10	0.000	40.000	23.000	
6	1%	10	0.000	32.000	16.200	

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM	
1	CONTROLE	71.611	8.462	2.676	
2	0,06%	138.322	11.761	3.719	
3	0,1%	150.267	12.258	3.876	
4	0,25%	104.233	10.209	3.229	
5	0,5%	223.333	14.944	4.726	
6	1%	167.956	12.960	4.098	

ANOVA TABLE				
SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	501.083	100.217	0.703
Within (Error)	54	7701.500	142.620	
Total	59	8202.583		

Critical F value = 2.45 (0.05,5,40)

Since $F < \text{Critical } F$ FAIL TO REJECT H_0 :All groups equal

DUNNETTS TEST			TABLE 1 OF 2		Ho:Control<Treatment	
GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG	
1	CONTROLE	23.500	23.500			
2	0,06%	22.900	22.900	0.112		
3	0,1%	23.600	23.600	-0.019		
4	0,25%	25.300	25.300	-0.337		
5	0,5%	23.000	23.000	0.094		
6	1%	16.200	16.200	1.367		

Dunnett table value = 2.31 (1 Tailed Value, $P=0.05$, $df=40,5$)

DUNNETTS TEST			TABLE 2 OF 2		Ho:Control<Treatment	
GROU	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM	
1	CONTROLE	10				
2	0,06%	10	12.337	52.5	0.600	
3	0,1%	10	12.337	52.5	-0.100	
4	0,25%	10	12.337	52.5	-1.800	
5	0,5%	10	12.337	52.5	0.500	
6	1%	10	12.337	52.5	7.300	

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP										
				0	0	0	0	0	0					
6	1%	16.200	16.200	\										
2	0,06%	22.900	22.900	.	\									
5	0,5%	23.000	23.000	.	.	\								
1	CONTROLE	23.500	23.500	.	.	.	\							
3	0,1%	23.600	23.600	\						
4	0,25%	25.300	25.300	\					

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
 Tukey value (6,54) = 4.23 s = 142.620

Tabela A 27 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (10 dias).

Laboratório: Laboratório de Síntese de Produtos Naturais											Coleta: 03			
Data da Coleta: 04.10.2007														
Início do Ensaio: 06.10.2007											Término do Ensaio: 16.10.2007			
Diluição	Réplicas										pH		Dureza	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	18	9	12	15	16	16	12	22	27	18	7,54	7,85	44	54
0,06%	0†	0†	15	17	25	0†	16	22	31	14	7,44	7,70	56	62
0,1%	30	28	0†	18	0†	0†	0†	0†	0†	0†	7,54	7,76	56	*
0,25%	0†	21	6†	28	35	5†	33	24	33	22	7,56	7,79	50	62
0,5%	18	26	28	31	0†	10	0†	17	12†	24	7,55	7,50	54	58
1%	0†	0†	17	0†	8	17	17	0†	3†	17	7,58	7,44	58	58

† organismo morto durante o ensaio.

* quantidade insuficiente de efluente para a realização da análise.

A1.7 - Resultado dos testes estatísticos aplicados aos dados dos ensaios de toxicidade crônica (10 dias) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos ao efluente do Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, coletado no dia 04.10.2007.

A1.8 - **Sobrevivência:** Teste de Fisher

SUMMARY OF FISHERS EXACT TESTS

GROUP	IDENTIFICATION	NUMBER EXPOSED	NUMBER DEAD	SIG (P=.05)
	CONTROL	10	0	
1	0,06%	10	3	
2	0,1%	10	7	*
3	0,25%	10	3	
4	0,5%	10	3	
5	1%	10	3	

A1.9 - **Reprodução:** Resumo estatístico dos dados, métodos paramétricos Dunnett e Tukey.

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 1 of 2

GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	CONTROLE	10	9.000	27.000	16.500
2	0,06%	10	0.000	31.000	14.000
3	0,1%	10	0.000	30.000	7.600
4	0,25%	10	0.000	35.000	20.700
5	0,5%	10	0.000	31.000	16.600
6	1%	10	0.000	17.000	7.900

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM
1	CONTROLE	27.167	5.212	1.648
2	0,06%	119.556	10.934	3.458
3	0,1%	158.933	12.607	3.987
4	0,25%	162.678	12.755	4.033
5	0,5%	122.044	11.047	3.493
6	1%	67.211	8.198	2.593

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	1359.883	271.977	2.482
Within (Error)	54	5918.300	109.598	
Total	59	7278.183		

Critical F value = 2.45 (0.05,5,40)

Since $F > \text{Critical F}$ REJECT H_0 :All groups equal

DUNNETTS TEST - TABLE 1 OF 2		Ho:Control<Treatment			
GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	CONTROLE	16.500	16.500		
2	0,06%	14.000	14.000	0.534	
3	0,1%	7.600	7.600	1.901	
4	0,25%	20.700	20.700	-0.897	
5	0,5%	16.600	16.600	-0.021	
6	1%	7.900	7.900	1.837	

Dunnett table value = 2.31 (1 Tailed Value, P=0.05, df=40,5)

DUNNETTS TEST - TABLE 2 OF 2		Ho:Control<Treatment			
GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	CONTROLE	10			
2	0,06%	10	10.815	65.5	2.500
3	0,1%	10	10.815	65.5	8.900
4	0,25%	10	10.815	65.5	-4.200
5	0,5%	10	10.815	65.5	-0.100
6	1%	10	10.815	65.5	8.600

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP					
				0	0	0	0	0	0
3	0,1%	7.600	7.600	\					
6	1%	7.900	7.900	. \					
2	0,06%	14.000	14.000	. . \					
1	CONTROLE	16.500	16.500	. . . \					
5	0,5%	16.600	16.600 \					
4	0,25%	20.700	20.700 \					

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
 Tukey value (6,54) = 4.23 s = 109.598

Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE

Tabela A 28 – Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 21.08.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE (21.08.2007)		Data início: 21.08.2007 Data término: 23.08.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	1/5	0/15	0	7,45	46
1%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	8,17	64
3%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	8,10	60
6%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	8,00	56
9%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	8,00	50
12%	0/5	2/5	0/5	2/15	13	7,99	50
15%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,98	48
				$CE_{50} - 48h$ (%) = 13,57			
				IC (95%) 12,95 – 14,21			

Tabela A 29 – Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE (04.09.2007)		Data início: 04.09.2007 Data término: 06.09.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	1/5	0/15	0	7,45	44
1%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,24	54
3%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,33	54
6%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,27	50
9%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,21	54
12%	0/5	2/5	0/5	0/15	13	7,09	50
15%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,04	48
$CE_{50} - 48h$ (%) = 12,97 IC (95%) 12,40 – 13,56							

Tabela A 30 – Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 25.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE (25.09.2007)		Data início: 25.09.2007 Data término: 27.09.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	1/5	0/15	0	7,61	44
1%	0/5	5/5	3/5	7/15	46	7,85	58
3%	2/5	5/5	3/5	10/15	66	7,84	56
6%	5/5	5/5	4/5	14/15	93	7,70	54
9%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,67	56
12%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,51	46
15%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,42	50
				$CE_{50} - 48h$ (%) = 1,20			
				IC (95%) 0,36 – 3,99			

Tabela A 31 – Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 21.08.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE (21.08.2007)		Data início: 21.08.2007 Data término: 23.08.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,45	44
1%	0/5	0/5	4/5	4/15	0	8,16	50
3%	3/5	0/5	5/5	8/15	53	8,09	48
6%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	8,03	50
9%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	8,05	50
12%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	8,07	50
15%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	8,08	48
				$CE_{50} - 48h$ (%) = 2,34			
				IC (95%) 1,40 – 3,89			

Tabela A 32 – Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE (04.09.2007)		Data início: 04.09.2007 Data término: 07.09.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	1/5	0/15	0	7,45	44
1%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,81	52
3%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,79	50
6%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,57	66
9%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,47	52
12%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,39	52
15%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,27	50
$CE_{50} - 48h$ (%) = 11,32 IC (95%) 10,63 – 12,04							

Tabela A 33 – Porcentagem de imobilidade e valor de $CE_{50} - 48h$ (%) para o dafinídeo *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 25.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade aguda (48 horas).

Amostra: Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE (25.09.2007)		Data início: 25.09.2007 Data término: 27.09.2007					
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis			Imobilidade		pH	Dureza (mg/LCaCO ₃)
	1	2	3	Total	%	0h	0h
Controle	0/5	0/5	1/5	0/15	0	7,56	48
1%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,73	50
3%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,69	54
6%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,57	50
9%	0/5	0/5	0/5	0/15	0	7,48	50
12%	0/5	2/5	3/5	5/15	50	7,42	42
15%	5/5	5/5	5/5	15/15	100	7,31	52
$CE_{50} - 48h$ (%) = 13,42 IC (95%) 11,96 – 15,05							

Tabela A 34 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de $CL_{50} - 96h$ (%) para o peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 21.08.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).

Amostra: Laboratório de Química de Produtos Naturais (21.08.2007)		Data início: 21.08.2007 Data término: 25.08.2007									
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis/mortos				Imobilidade/letalidade		pH		Dureza (mg/LCaCO ₃)		
	1	2	3	4	Total	%	0h	96h	0h	96h	
Controle	0/5	0/5	0/5	0/5	0	0	7,43	7,60	40	48	
6%	0/5	4/5	1/5	2/5	7	35	7,52	7,60	48	50	
12%	1/5	4/5	5/5	3/5	13	65	7,53	7,67	46	52	
18%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	7,70	*	46	*	
25%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,96	*	40	*	
50%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,87	*	40	*	
$CL_{50} - 96h$ (%) = 6,36 IC (95%) 4,22 – 9,58											

* os organismos morreram antes do término do ensaio.

Tabela A 35 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de $CL_{50} - 96h$ (%) para o peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).

Amostra: Laboratório de Química de Produtos Naturais (04.09.2007)		Data início: 04.09.2007 Data término: 08.09.2007									
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis/mortos				Imobilidade/letalidade		pH		Dureza (mg/LCaCO ₃)		
	1	2	3	4	Total	%	0h	96h	0h	96h	
Controle	0/5	0/5	0/5	0/5	0	0	7,45	7,26	48	52	
6%	1/5	1/5	0/5	0/5	2	10	6,87	8,22	54	50	
12%	2/5	0/5	0/5	0/5	2	10	6,84	7,02	58	54	
18%	1/5	1/5	1/5	0/5	3	15	6,90	6,96	54	58	
25%	1/5	1/5	1/5	0/5	3	15	6,85	6,95	52	54	
50%	4/5	2/5	0/5	1/5	7	35	6,67	6,76	54	54	
75%	5/5	4/5	2/5	3/5	13	65	6,74	6,87	54	58	
					$CL_{50} - 96h$ (%) = 44,05						
					IC (95%) 33,60 – 57,75						

Tabela A 36 – Porcentagem de imobilidade/letalidade e valor de $CL_{50} - 96h$ (%) para o peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) expostos a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 25.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados durante o ensaio de toxicidade aguda (96 horas).

Amostra: Laboratório de Química de Produtos Naturais (25.09.2007)		Data início: 28.09.2007 Data término: 02.10.2007									
Concentração (%)	Nº. de organismos imóveis/mortos				Imobilidade/letalidade		pH		Dureza (mg/LCaCO ₃)		
	1	2	3	4	Total	%	0h	96h	0h	96h	
Controle	0/5	0/5	0/5	0/5	0	0	7,58	7,55	48	52	
6%	0/5	0/5	0/5	0/5	0	0	7,33	7,32	44	40	
12%	0/5	0/5	1/5	0/5	1	5	7,42	7,18	54	48	
18%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,91	*	44	*	
25%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,84	*	48	*	
50%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,78	*	48	*	
75%	5/5	5/5	5/5	5/5	20	100	6,98	*	44	*	
					$CL_{50} - 96h$ (%) = 16,01						
					IC (95%) 14,29 – 17,94						

Tabela A 37 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 21.08.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (10 dias).

Laboratório: Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE											Coleta: 01			
Data da Coleta: 21.08.2007														
Início do Ensaio: 23.08.2007											Término do Ensaio: 27.08.2007			
Diluição	Réplicas										pH		Dureza	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle											7,45	7,51	46	52
1%											8,17	7,31	64	46
3%											8,10	7,30	60	48
6%	Todos os organismos										8,00	7,67	56	52
9%	estavam mortos, exceto os										8,00	7,82	50	56
12%											7,99	7,99	50	60
15%											7,98	8,00	48	60

† organismo morto durante o ensaio.

Tabela A 38 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 04.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (10 dias).

Laboratório: Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE											Coleta: 02			
Data da Coleta: 04.09.2007														
Início do Ensaio: 06.09.2007											Término do Ensaio: 16.09.2007			
Diluição	Réplicas										pH		Dureza	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	24	14	13	2	17	19	16	21	22	18	7,45	7,95	44	54
1%	16	16	20	18	15	15	24	20	19	16	7,66	7,68	48	50
3%	20	16	0†	0†	18	18	0†	19	14	20	7,58	7,32	54	50
6%	12	17	10	19	0†	0†	29	14	0†	15	7,46	7,14	54	58
9%	3†	13	0†	10	11	16	0†	10	8	0†	7,41	7,04	48	52
12%	9	14	0†	23	0†	0†	0†	12	13	7	7,33	6,98	58	52
15%	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	7,27	*	46	*

† organismo morto durante o ensaio.

* quantidade insuficiente de efluente para a realização da análise.

A3.1 - Resultado dos testes estatísticos aplicados aos dados dos ensaios de toxicidade crônica (10 dias) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos ao efluente do Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE a Universidade Federal de São Carlos, coletado no dia 04.09.2007.

A3.2 - Sobrevivência: Teste de Fisher

SUMMARY OF FISHERS EXACT TESTS

GROUP	IDENTIFICATION	NUMBER EXPOSED	NUMBER DEAD	SIG (P=.05)
	CONTROL	10	0	
1	1%	10	0	
2	3%	10	3	
3	6%	10	3	
4	9%	10	4	*
5	12%	10	4	*
6	15%	10	10	*

A3.3 - Reprodução: Resumo estatístico dos dados, métodos paramétricos Dunnett e Tukey.

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 1 of 2

GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN	
1	CONTROLE	10	2.000	24.000	16.600	
2	1%	10	15.000	24.000	17.900	
3	3%	10	0.000	26.000	13.500	
4	6%	10	0.000	29.000	11.600	
5	9%	10	0.000	16.000	7.100	
6	12%	10	0.000	23.000	7.800	

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM		
1	CONTROLE		38.267	6.186	1.956	
2	1%		8.322	2.885	0.912	
3	3%		95.389	9.767	3.089	
4	6%		90.044	9.489	3.001	
5	9%		34.989	5.915	1.871	
6	12%		62.178	7.885	2.494	

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	989.883	197.977	3.608
Within (Error)	54	2962.700	54.865	
Total	59	3952.583		

Critical F value = 2.45 (0.05, 5, 40)

Since F > Critical F REJECT Ho: All groups equal

DUNNETTS TEST - TABLE 1 OF 2 Ho: Control < Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	CONTROLE	16.600	16.600		
2	1%	17.900	17.900	-0.392	
3	3%	13.500	13.500	0.936	
4	6%	11.600	11.600	1.509	
5	9%	7.100	7.100	2.868	*
6	12%	7.800	7.800	2.657	*

Dunnett table value = 2.31 (1 Tailed Value, P=0.05, df=40, 5)

DUNNETTS TEST - TABLE 2 OF 2 Ho: Control < Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	CONTROLE	10			
2	1%	10	7.652	46.1	-1.300
3	3%	10	7.652	46.1	3.100
4	6%	10	7.652	46.1	5.000
5	9%	10	7.652	46.1	9.500
6	12%	10	7.652	46.1	8.800

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP										
				0	0	0	0	0	0					
5	9%	7.100	7.100	\										
6	12%	7.800	7.800	.	\									
4	6%	11.600	11.600	.	.	\								
3	3%	13.500	13.500	.	.	.	\							
1	CONTROLE	16.600	16.600	\						
2	1%	17.900	17.900	*	*	\				

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
 Tukey value (6,54) = 4.23 s = 54.865

Tabela A 39 – Número de neonatas produzidas por fêmea do dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera), expostas a diferentes concentrações de amostras de efluentes coletados dia 25.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos e valores de pH e dureza monitorados no início do ensaio de toxicidade crônica (08 dias).

Laboratório: Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE											Coleta: 03			
Data da Coleta: 25. 09.2007														
Início do Ensaio: 27.09.2007											Término do Ensaio: 05.10.2007			
Diluição	Réplicas										Ph		Dureza	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	25	17	19	22	26	16	17	26	19	19	7,62	7,59	62	58
0,06%	17	18	4†	23	23	20	15	0†	18	22	7,62	7,54	56	58
0,1%	19	18	20	0†	12	23	23	16	18	16	7,62	7,55	48	52
0,25%	17	25	22	22	2†	14	20	17	8†	24	7,57	7,65	50	50
0,5%	19	28	24	20	19	23	4†	16	20	18	7,52	7,69	50	50
1%	17	24	19	25	28	19	9	19	20	9	7,49	7,83	50	50

† organismo morto durante o ensaio.

A3.4 - Resultado dos testes estatísticos aplicados aos dados dos ensaios de toxicidade crônica (08 dias) para o dafinídeo *Ceriodaphnia dubia* (Crustacea, Cladocera) expostos ao efluente do Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE, coletado no dia 25.09.2007.

A3.5 - Sobrevivência: Teste de Fisher

SUMMARY OF FISHERS EXACT TESTS				
GROUP	IDENTIFICATION	NUMBER EXPOSED	NUMBER DEAD	SIG (P=.05)
	CONTROL	10	0	
1	0,06%	10	2	
2	0,1%	10	1	
3	0,25%	10	2	
4	0,5%	10	1	
5	1%	10	0	

A3.6 - Reprodução: Resumo estatístico dos dados, métodos paramétricos de Dunnett e Tukey.

SUMMARY STATISTICS ON TRANSFORMED DATA TABLE 1 of 2					
GRP	IDENTIFICATION	N	MIN	MAX	MEAN
1	CONTROLE	10	16.000	26.000	19.600
2	0,06%	10	0.000	23.000	16.000
3	0,1%	10	0.000	23.000	16.500
4	0,25%	10	2.000	25.000	17.100
5	0,5%	10	4.000	28.000	19.100
6	1%	10	9.000	28.000	18.900

GRP	IDENTIFICATION	VARIANCE	SD	SEM
1	CONTROLE	12.933	3.596	1.137
2	0,06%	62.222	7.888	2.494
3	0,1%	44.500	6.671	2.110
4	0,25%	54.100	7.355	2.326
5	0,5%	39.878	6.315	1.997
6	1%	38.544	6.208	1.963

ANOVA TABLE				
SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	5	115.333	23.067	0.549
Within (Error)	54	2269.600	42.030	
Total	59	2384.933		

Critical F value = 2.45 (0.05,5,40)

Since $F < \text{Critical } F$ FAIL TO REJECT H_0 :All groups equal

DUNNETTS TEST		TABLE 1 OF 2		Ho:Control<Treatment	
GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN	CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT
1	CONTROLE	19.600	19.600	19.600	
2	0,06%	16.000	16.000	16.000	1.242
3	0,1%	16.500	16.500	16.500	1.069
4	0,25%	17.100	17.100	17.100	0.862
5	0,5%	19.100	19.100	19.100	0.172
6	1%	18.900	18.900	18.900	0.241

Dunnett table value = 2.31 (1 Tailed Value, P=0.05, df=40,5)

DUNNETTS TEST		TABLE 2 OF 2		Ho:Control<Treatment	
GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	CONTROLE	10			
2	0,06%	10	6.697	34.2	3.600
3	0,1%	10	6.697	34.2	3.100
4	0,25%	10	6.697	34.2	2.500
5	0,5%	10	6.697	34.2	0.500
6	1%	10	6.697	34.2	0.700

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP						
				0	0	0	0	0	0	
2	0,06%	16.000	16.000	\						
3	0,1%	16.500	16.500	. \						
4	0,25%	17.100	17.100	. . \						
6	1%	18.900	18.900	. . . \						
5	0,5%	19.100	19.100 \						
1	CONTROLE	19.600	19.600 \						

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
 Tukey value (6,54) = 4.23 s = 42.030

APÊNDICE B

Tabela B 1 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de *Lactuca sativa* expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 07.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos.

Concentrações (%)	controle		25%		50%		75%		100%	
Réplicas	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
	2,3	0	0	2,5	3,2	2	2,5	2,8	1,7	2,5
	2,2	2,1	0	2,7	2,1	2	2,1	2,6	2,3	2,2
	2,3	2,3	2,2	2,1	0,4	2,2	2	2,8	2,2	2
	2,2	2,6	2,3	1,8	0	2	2	3	1,9	2,8
	2,1	2,1	2,2	1,7	3,5	2,3	2,1	3,1	2,3	2,3
	2,3	2,4	2,2	2,2	3,5	1,5	1,7	2,9	2,5	2,6
	2,1	2	2,3	2,7	2,8	2	2,1	3	2,8	2,4
	2,1	2,4	1,7	2,1	2,5	1,5	2,1	1,6	2	2,2
	2,1	1,9	1,7	1,6	2,5	2,6	1,4	1,5	2	2,5
	2,2	2,5	2,1	2	3,4	1,7	1,5	2,3	2,2	2,4
	2	2,3	2	2,1	3	2,5	2,2	2,8	2,3	2,5
	2,1	3	2,2	2,1	2,6	2,6	1,7	2,5	2,5	2,3
	2,3	2	2,5	2	3,5	2,1	2	2,7	2,8	2,5
	2,4	1,8	2,3	2	4,1	2,2	2,5	2	2,5	2
	1,8	2,3	2	2,2	2	2,4	2,3	2,6	1,5	2
	2,2	2,1	2,6	1,9	2,6	1	2	2,7	2,3	2,2
	2,2	1	2	1	3	2	2	2,6	0,6	2,1
	2	1,3	2	1,6	3	0,6	0,5	3,2	0,5	2
	2,1	0,5	2,1	0,9	3,5	1	1	1,4	0	2
	0	0,5	1,7	0	2,5	0	0	1,4	0	0,3
Média (cm):	2,05	1,86	1,91	1,86	2,69	1,81	1,79	2,48	1,85	2,19
D.P	0,50	0,79	0,69	0,63	1,00	0,69	0,64	0,58	0,88	0,50
C.V.	24,44	42,57	36,43	34,07	37,35	38,32	35,86	23,45	47,43	22,95

Tabela B 2 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de *Lactuca sativa* expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 14.08.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos.

Concentrações										
(%)	controle		25%		50%		75%		100%	
Réplicas	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
	2,2	2,1	2	2,2	2	2	1,6	1,5	2	1,8
	2	2,2	1,8	1,9	2	1,8	2	1,7	1,8	2,1
	2,1	1,5	2	1,6	1,6	2	1,6	2,3	1,6	1,9
	1,9	2	1,8	2	2,1	2	2	1,8	2,5	1,5
	2	2,2	1,8	1,5	1,6	1,8	1,5	1,7	2	1,7
	2,1	2,3	1,5	2,1	2,3	1,7	2,1	2	2	1,8
	2,5	1,7	1,7	1,9	2,3	1,6	1,8	1,5	1,8	1,5
	2,2	2,3	2,1	1,6	2	1,6	1,8	2	2,1	2,3
	2	2	2,3	2,1	1,9	2,2	2	1,6	2,3	2,4
	1,7	1,9	1,7	1,8	2,4	2	1,9	1,3	1,6	1,5
	2	2	1,5	2	2	2,2	2,3	1,1	1,8	1,5
	2	1,7	1,8	1	2	2	2,3	1,8	2,2	1,7
	1,4	1,7	1,8	2	1,9	2,4	1,5	2,1	2	1,8
	1,6	2	1,5	1,7	1,9	2	1,8	2	1,5	1,5
	1,7	2,2	1,9	2	2	1	1,9	2	0,9	1,8
	2,3	1,7	1,8	2	1,9	2,3	1,5	1,8	0,3	1,7
	1,6	1,9	1,5	1,5	2	0,5	1,4	1,5	0	1,3
	1,8	1,2	1,7	1,6	1,9	0	0,3	1,5	0	0,5
	1,6	1,5	1,7	1,8	1,8	0	0	1,5	0	0
	0	0,5	0	1,8	0	0	0	0,2	0	0
Média (cm):	1,84	1,83	1,70	1,81	1,88	1,56	1,57	1,65	1,42	1,52
D.P	0,51	0,43	0,45	0,28	0,49	0,80	0,68	0,45	0,87	0,65
C.V.	27,86	23,46	26,56	15,62	25,81	51,34	43,65	27,29	61,42	42,79

Tabela B 3 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de *Lactuca sativa* expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 05.09.2007 no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos.

Concentrações (%)	controle		25%		50%		75%		100%	
Réplicas	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
	2,1	2	2,3	2,6	2,2	2	2,4	2	1,6	1,7
	1,8	1,8	2	2,3	2	2	1,4	1,9	1,7	1,7
	1,8	2	2,3	2,4	2,4	2,1	2,3	2,5	2,3	2,5
	1,8	2,1	2,4	2	1,3	2,5	2,2	2,5	1,6	2,1
	1,8	2,8	1,7	1,5	2,2	2	2,1	2	2	1,5
	2,5	2	2,3	2,5	2,5	2	2,1	2	1,8	1,6
	2,3	2	1,3	2,4	2,4	1,6	1,9	2,3	1,8	2
	2	2,1	2,4	2,4	2,2	1,8	1,9	1,6	2,3	2,1
	2	2,1	1,7	1,6	2	1,8	2	1,7	2	2,5
	1,7	2	2	2	1,9	1,6	1,5	1,7	2	2,1
	1,5	2,4	2	2,1	1,8	2	1,8	2,5	2,4	2
	2,5	2,5	2	2,4	2	2,6	0,8	1	2	2
	1,4	2,3	2	2	2,2	2,4	1,2	2	2,5	2
	2,1	1,8	2,4	2,1	2,4	2	2,1	2,2	2,1	2
	2	1,8	2,1	1,8	2,6	2	1,7	2	2,5	2,5
	1,8	2	1,8	1,8	2	2,2	2,4	2	2	2
	0,5	1,8	1,8	1,5	2	2	2	1,7	2,3	2
	0	1,3	1,5	2,1	2,2	1,5	0	2	2,4	0
	0	0	1,5	1,7	1,4	0	0	0	1	0
	0	0	1,5	0	0	0	0	1,6	0	0
Média (cm):	1,58	1,84	1,95	1,96	1,99	1,81	1,59	1,86	1,92	1,72
D.P	0,80	0,70	0,34	0,57	0,57	0,68	0,79	0,57	0,58	0,79
C.V.	50,78	38,04	17,49	29,07	28,74	37,51	49,89	30,43	30,41	45,85

Tabela B 4 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de *Lactuca sativa* expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 19.09.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos.

Concentrações (%)	controle		25%		50%		75%		100%	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
	1,5	2	1,5	1,5	1,4	1,5	1,5	1,3	1,4	1,3
	1,3	2,4	1,6	1,3	1,5	1,5	1,5	1,4	1,4	1,5
	1,3	2	1,7	1,6	1,6	1,6	1,5	1,5	1,5	1,5
	1,2	1,9	0,9	1,6	1,5	1,5	1,6	1,3	1,5	2,3
	1,5	2	1,5	1,6	1	1,3	1,5	1	1,3	1,5
	1,3	2,3	1,4	1,4	1,2	1,6	1,3	1,5	1	1,3
	1,3	2,5	1,2	1,5	1,2	1,5	1,3	1,4	1,1	1,4
	1,3	2,2	1,2	1,5	1,3	1,5	1,5	1	1,4	1,8
	1,4	2	1,6	1,5	1,4	1,5	1,5	1	1	1
	1,4	2	1,5	1,9	1,4	1	1,4	1,4	1	1,1
	1,5	2,1	1,7	1	1	1,3	1,5	1	1,4	1,1
	1,1	2	1,6	1,5	1,4	1	1,5	1,3	1,3	1,1
	0,5	1,6	1,4	1,1	1,4	0,8	1,6	1,3	1	1
	1	1,7	1,4	1,1	1	1,1	1,5	1,3	1	0,6
	1,5	1,9	1,5	1,1	1	1,2	1	1,3	0,7	0,8
	1	1,3	1,5	1,3	1,3	1	1,5	1,5	1	0,3
	1,3	1,5	1,5	1,5	0,5	1,3	1,3	1,1	1,4	0,3
	0,8	1,8	0,7	1,4	1,2	1	0	0,9	1,5	0
	1	1,5	0	0,8	1,1	0,3	0	0	1,3	0
	1	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0
Média (cm):	1,21	1,86	1,27	1,31	1,17	1,18	1,23	1,13	1,16	1,00
D.P	0,26	0,44	0,50	0,40	0,37	0,43	0,54	0,43	0,36	0,63
C.V.	21,77	23,75	39,42	30,52	31,87	36,30	44,47	38,03	30,69	63,69

Tabela B 5 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de *Lactuca sativa* expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 02.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos.

Concentrações (%)	controle		25%		50%		75%		100%	
Réplicas	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
	1,7	1,7	1,7	1,5	1,3	1,6	1,4	1,4	1,4	1,4
	1,8	2	1,7	1,5	1,6	1,6	1,4	1,5	1,4	1,4
	1,6	1,7	1,8	1,5	1,4	1,5	1,5	1,5	1,3	1,5
	1,6	1,5	1,8	1,8	1,4	1,5	0,1	1,4	1,4	1,4
	1,3	1,8	1,8	1,6	1,4	1,5	1,3	1,5	1,4	1,4
	1,6	1,7	1,8	1,2	1,5	1,4	1,6	1,6	1,5	1,6
	1,5	1,5	1,8	1,4	1,6	1,1	1,5	1,5	1,6	1,4
	1,7	1,5	1,8	1,5	1,3	1,1	1,5	1,6	1,6	1,4
	1,9	1,8	1,6	1,7	1,5	1,2	1,5	0,9	1,3	1,5
	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,6	1,5	1	1,5	1
	1,4	1,6	1,4	1,5	1,4	1,4	1,5	1	1,5	1,5
	1,8	1,8	1,8	1,4	1,8	1,4	1,3	1,4	1,5	1,5
	1,5	1,4	1,4	1,4	1,4	1,5	1,6	1,3	1,3	1,4
	1,3	1,8	1,3	1,4	1,7	1,5	1,5	1,4	1,4	1,4
	1,4	1,5	1,5	0,5	1,3	1,3	1	1,4	1,5	1,8
	1,5	1,9	1,4	0,3	1,7	1,4	1	0,9	1	1,5
	1,8	1,5	1,4	1,5	1	0,6	1,5	1,3	1	1,5
	1,5	1,3	1	0	1,3	0	0	1,5	1,5	1,4
	0	1,3	0	0	0	0	0	1,1	1	0,8
	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	0
Média (cm):	1,42	1,54	1,43	1,16	1,31	1,16	1,14	1,26	1,33	1,34
D.P	0,51	0,41	0,53	0,61	0,48	0,55	0,59	0,37	0,28	0,37
C.V.	36,17	26,68	37,54	52,88	36,83	47,50	52,18	29,52	21,47	27,96

Tabela B 6 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de *Lactuca sativa* expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 04.10.2007 no Laboratório de Síntese de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos.

Concentrações (%)	controle		25%		50%		75%		100%		
	Réplicas	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
		1,8	1,7	2,5	1,6	2,5	1,3	0	1,3	1,5	2
		1,5	1,8	1,4	0	1,2	1,5	0	2	0	0
		1,9	1,8	1	0	0	1,3	0	0	0	0
		1,8	2	1	0	0	0	0	0	0	0
		1,7	2	0	0	0	0	0	0	0	0
		1,8	2,1	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	2,2	0	0	0	0	0	0	0	0
		2,3	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0
		1,9	1,8	0	0	0	0	0	0	0	0
		1,9	1,8	0	0	0	0	0	0	0	0
		1,8	1,8	0	0	0	0	0	0	0	0
		1,8	1,9	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	1,9	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	2	0	0	0	0	0	0	0	0
		1,9	2	0	0	0	0	0	0	0	0
		1,5	1,7	0	0	0	0	0	0	0	0
		1,8	1,7	0	0	0	0	0	0	0	0
		1,5	1,3	0	0	0	0	0	0	0	0
		1,8	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0
		1,7	1,6	0	0	0	0	0	0	0	0
Média (cm):		1,82	1,81	0,30	0,08	0,19	0,21	0,00	0,17	0,08	0,10
D.P		0,19	0,22	0,67	0,36	0,61	0,50	0,00	0,52	0,34	0,45
C.V.		10,49	12,25	226,32	447,21	328,22	244,91	#DIV/0!	315,39	447,21	447,21

Tabela B 7 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de *Lactuca sativa* expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 21.08.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos.

Concentrações (%)	Controle		25%		50%		75%		100%		
	Réplicas	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
		1,8	2,1	1,7	1,8	2,1	1,8	2,1	2,3	2,5	1,8
		1,7	2,2	2,1	1,9	1,9	1,7	2	2,1	1,9	2,1
		1,9	2	1,8	2	2,1	1,9	2,4	1,9	1,8	2
		1,4	2	1,6	2	2	1,9	2	1,8	1,7	2,3
		1,8	1,9	1,8	2,3	1,4	2	2	2	2	1,8
		1,7	2,1	1,7	2,1	2	1,6	2	2	2	1,8
		2,1	2	2	1,9	1,5	1,8	2,1	2,1	1,9	1,6
		1,9	2	2	2,1	1,7	2	1,8	1,6	1,8	1,8
		2	1,7	2	1,8	2,1	1,6	2	1,7	1,5	1,8
		1,8	2,3	1,9	1,9	1,4	2,2	2	2	2	2
		1,6	1,7	2	1,9	1	1,6	2	2	1,7	1,5
		1,8	2,1	2	1,9	1,5	1,5	2,1	1,6	2	1,8
		1,6	1,8	2	1,8	1,5	1,8	2,4	1,5	1,7	1,7
		1,6	1,7	1,7	2	1,4	1,7	1,5	1,5	1,5	1,7
		1,6	1,9	2,2	2	1,5	1,4	2,1	1,8	1,8	1,5
		1,7	1,4	1,5	1,6	1	1,7	2	1,8	1,5	1,3
		1,4	1,9	2,1	1,8	1,6	1,5	1,5	1	1,5	1,3
		1,8	2	1,6	1,6	1,6	1,5	0,5	0,5	1	1,4
		1,4	1,7	1	1,8	0,7	1,8	0	0	0,5	1,4
		0	0	1,7	2	0,5	0,3	0	0	0	1
Média (cm):		1,63	1,83	1,82	1,91	1,53	1,67	1,73	1,56	1,62	1,68
D.P		0,43	0,48	0,27	0,17	0,46	0,38	0,71	0,67	0,56	0,31
C.V.		26,26	26,18	15,08	8,64	29,93	22,75	41,29	42,95	34,64	18,48

Tabela B 8 – Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de *Lactuca sativa* expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 04.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos.

Concentrações (%)	controle		25%		50%		75%		100%		
	Réplicas	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
		1,8	1,8	2	2	2,6	1,7	2	2,4	1,9	2,6
		1,8	1,9	2,3	1,7	2,4	1,8	1,6	1,9	2,4	2,1
		2,2	0	2	2	1,9	2	1,8	2,4	2,4	2,1
		2,1	0,8	1,9	1,9	2,5	2,1	2,3	2,8	2,3	2,1
		2,4	2	2	1,8	2,2	2,1	2,1	2	2	2,3
		1,8	2,3	2,2	2,2	1,9	1,7	2,2	1,9	2,1	2
		2,2	2	2	1,8	2,4	2	1,8	2	1,9	2,5
		2	2	2,2	1,5	1,9	2	2	1,5	2	2,5
		2,6	2,5	1,4	1,9	2	2	2,1	1,5	1,7	2,4
		2,3	2,3	1	2	2,5	2,2	2	1,8	1,8	2
		2	2,5	2,4	1,7	2	1,7	2	1,5	2	1,7
		2,4	1,9	2,6	1,7	1,9	1,8	2	1,5	1,8	2,1
		2,8	2,4	1,5	2,2	2,1	2,1	2	2	2,4	2
		1,7	2,5	1,5	2,1	2	2,2	1,9	1	2,1	2
		2,1	2,2	2	1,5	2,4	1,8	2	0,7	1,5	2,4
		2,3	2	1,4	2,2	1,9	1,7	2	0,5	2,3	2,1
		2,1	2,2	0	1,5	1,5	2,2	1,9	0,4	1,4	2
		2,6	2,3	0	1,5	0,5	1,7	1,5	0,4	1,5	1,6
		2,2	2,1	0	1,8	0	2,1	1,3	0	0	0,7
		1,4	2,1	0	1,4	0	0	1,7	0	0	0
Média (cm):		2,14	1,99	1,52	1,82	1,83	1,85	1,91	1,41	1,78	1,96
D.P		0,34	0,60	0,87	0,26	0,77	0,47	0,24	0,83	0,68	0,62
C.V.		15,86	30,01	57,10	14,10	42,26	25,63	12,47	58,93	38,16	31,47

Tabela B 9 - Comprimento, em centímetros (cm), média (cm), desvio-padrão e coeficiente de variação das radículas de *Lactuca sativa* expostas por 72 horas ao efluente coletado dia 25.09.2007 no Laboratório de Síntese Orgânica e CLAE da Universidade Federal de São Carlos.

Concentrações (%)	controle		25%		50%		75%		100%		
	Réplicas	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
	3	2,6	1,4	1,8	2,1	1,8	1,6	1,6	1,7	1,5	1,5
	2	2,8	1,4	1,6	1,6	1,5	1,4	1,8	1,5	1,5	1,5
	2,5	2,6	2,4	2,1	1,7	1,9	1,9	1,6	1,4	1,9	1,9
	2,5	2,1	2,6	1,8	2,4	2,5	1,4	1,9	1,3	2	2
	2,6	2	2	2,5	1,5	1,6	1,5	1,5	1,7	2	2
	2,6	2,8	2,4	2,3	1,5	1,6	1,5	1,5	1,3	1,6	1,6
	2,4	3	2,4	2,1	1,8	2	1,5	1,7	1,7	1,6	1,6
	1,9	2,3	2,5	2	1,8	1,6	2	1,7	1,4	1,8	1,8
	3,1	2,7	2	1,5	2,3	1,6	1,3	1,7	1,4	1,5	1,5
	2,5	3	2,3	1,7	1,7	1,6	2,1	1,4	1,6	1,4	1,4
	2,5	2,5	2	2	1,9	1,9	1,3	1,5	1,4	1,7	1,7
	2,5	2	1,8	1,5	2,1	1,9	1,5	1,5	1,4	1	1
	2,2	2,3	2	2,4	1,7	2	1,3	1,3	1,7	1,4	1,4
	2,1	2,6	1,9	1,6	1,5	2,1	1,5	1,5	1,6	1,4	1,4
	2,1	2,6	1,8	1,8	1,5	2	1,6	1,7	1,6	1,6	1,6
	2,4	2,6	2	1,7	1,8	1,7	1,5	1,5	1,7	0,7	0,7
	2,2	2	1,9	2	1,5	1	1,5	1	1,4	1,6	1,6
	1,6	0,5	1,8	1,5	1,4	1,5	0,4	0,5	1	1,6	1,6
	0,8	0	1	1	2	1,4	0,7	1	1	1,6	1,6
	0	0	0	0	0	1,1	0	0	0	1,5	1,5
Média (cm):	2,18	2,15	1,88	1,75	1,69	1,72	1,38	1,40	1,39	1,55	1,55
D.P	0,71	0,91	0,60	0,54	0,49	0,35	0,50	0,46	0,39	0,30	0,30
C.V.	32,68	42,43	31,71	31,08	28,85	20,13	36,24	32,93	28,00	19,53	19,53