



Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS  
Campus Erechim  
Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária

Vanessa Luisa Freiburger

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE EFLUENTE DE INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA  
COM O USO DO MICROCRUSTACEO *Daphnia magna* e SEMENTE DE ALFACE  
*Lactuca sativa***

Erechim – RS

2017

Vanessa Luisa Freiburger

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE EFLUENTE DE INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA  
COM O USO DO MICROCRUSTACEO *Daphnia magna* e SEMENTE DE ALFACE  
*Lactuca sativa***

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS – Campus de Erechim, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Funghetto Fuzinatto

Erechim – RS

2017

**PROGRAD/DBIB - Divisão de Bibliotecas**

Freiberger, Vanessa Luisa  
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE EFLUENTE DE INDÚSTRIA  
ALIMENTÍCIA COM O USO DO MICROCRUSTACEO Daphnia magna e  
SEMENTE DE ALFACE Lactuca sativa/ Vanessa Luisa  
Freiberger. -- 2017.  
45 f.:il.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Funghetto  
Fuzinatto.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) -  
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de  
Engenharia Ambiental e sanitária , Erechim, RS , 2017.

1. Efluente de indústria alimentícia . 2. Testes de  
Toxicidade. 3. Daphnia magna. I. Fuzinatto, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>.  
Cristiane Funghetto, orient. II. Universidade Federal da  
Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**Vanessa Luisa Freiburger**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE EFLUENTE DE INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA  
COM O USO DO MICROCRUSTACEO *Daphnia magna* e SEMENTE DE ALFACE  
*Lactuca sativa***

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Funghetto Fuzinato.

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em 12 de Julho de 2017.

Banca Examinadora:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Funghetto Fuzinato  
UFFS – Erechim

---

Profa. Dr. Paulo Afonso Hartmann  
UFFS - Erechim

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Clarissa Dalla Rosa  
UFFS - Erechim

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus, luz que me guia ao caminho do bem. Seguidamente a minha mãe por ser à base de tudo, de tudo que eu fui, que sou e que serei por toda a minha vida, através de muito amor e dedicação.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Funghetto Fuzinato, minha orientadora, por todos os ensinamentos e orientação para a realização deste trabalho.

À equipe de trabalho do laboratório: Andressa B. Andressa Z. Ana Flávia, Leila, Mirian e Patrícia pela ajuda e companheirismo, nesse período.

Aos colegas e amigos pela amizade e incentivo durante esta etapa.

À minha família, por todo apoio, incentivo e compreensão

## RESUMO

O processo de tratamento de efluentes industrial tem sido cada vez mais estudado em função da problemática ambiental que se relaciona com o descarte destes efluentes de forma, muitas vezes, incorreta prejudicando os sistemas aquáticos. Além da determinação de compostos tóxicos presentes nos efluentes, faz-se necessário avaliar outros parâmetros paralelamente, afim de, caracterizar adequadamente o efluente. Dessa forma, o presente estudo teve por objetivos caracterizar amostras de efluente bruto e tratado de indústria alimentícia através de análises físico-químicas, avaliar a toxicidade aguda e crônica utilizando o microcrustáceo de água doce *Daphnia magna* como organismo teste e ainda avaliar os efeitos na germinação com a semente de alface *Lactuca sativa*. Com a realização da caracterização físico-química de todas as amostras de efluente coletadas, foi possível verificar a eficiência do tratamento realizado pela indústria do ramo alimentício, e assim os parâmetros oxigênio dissolvido e condutividade foram os que não atingiram valores estabelecidos pela legislação após o tratamento. O teste agudo com a *Daphnia magna* indicou potencial tóxico para duas amostras de efluente tratadas (T1 e T2), que ficou na faixa 1.97% e 9.54% e para as demais amostras (T3, T4 e T5) não apresentou efeitos de toxicidade aguda. Já o teste crônico com a *Daphnia magna* apresentou diferenças significativas na amostra (T1) no parâmetro nº de posturas e na amostra (T4) apresentou diferença significativa em todos os parâmetros. No teste de toxicidade com a semente de *Lactuca sativa*, verificou-se nas amostras efeito significativo na germinação e no crescimento das plântulas, evidenciou-se de modo geral que quanto maior a diluição da amostra, melhor era o crescimento da plântula, principalmente nas amostras de efluente tratado, indicando a possível presença no efluente de nutrientes que auxiliam no desenvolvimento das plântulas.

**Palavras – chave:** Efluente de indústria alimentícia; Testes de Toxicidade; *Daphnia magna*.

## ABSTRACT

The process of treatment of industrial effluents has been increasingly studied due to environmental problems related to the disposal of these effluents in an often incorrect way, damaging the aquatic systems. In addition to the determination of toxic compounds present in the effluents, it is necessary to evaluate other parameters in parallel, in order to properly characterize the effluent. The objective of the present study was to characterize crude and treated effluent samples from the food industry through physicochemical analysis, to evaluate acute and chronic toxicity using the freshwater microcrustacean *Daphnia magna* as test organism and to evaluate the effects on germination with the lettuce seed *Lactuca sativa*. With the physicochemical characterization of all collected effluent samples, it was possible to verify the efficiency of the treatment carried out by the food industry, and thus the parameters dissolved oxygen and conductivity were those that did not reach values established by the legislation after the treatment. The acute test with *daphnia magna* indicated a toxic potential for two treated effluent samples (T1 and T2), which was in the range 1.97% and 9.54% and for the other samples (T3, T4 and T5) had no acute toxicity effects. On the other hand, the chronic test with *Daphnia magna* presented significant differences in the sample (T1) in the parameter number of postures and in the sample (T4) presented significant difference in all parameters. In the toxicity test with the *Lactuca sativa* seed, significant effect was observed in the germination and growth of the seedlings, the higher the dilution of the effluent sample, the worse the growth.

**Key words:** Effluent from food industry; Toxicity Tests; *Daphnia magna*.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>10</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>11</b>
3.1 EFLUENTE DE INDÚSTRIA DO RAMO ALIMENTÍCIO.....	11
3.2 TOXICOLOGIA AMBIENTAL .....	12
<b>3.2.1 Testes toxicológicos</b> .....	<b>13</b>
<b>3.2.2 Organismo-teste <i>Daphnia magna</i></b> .....	<b>14</b>
<b>3.2.3 Semente <i>Lactuca Sativa</i></b> .....	<b>15</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>15</b>
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE DE INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA.....	16
4.2 COLETA E PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	17
4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EFLUENTE DE INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA.....	19
4.4 CULTIVO DO MICROCRUSTÁCEO DAPHNIA MAGNA .....	20
4.5 TESTE DE SENSIBILIDADE COM DAPHNIA MAGNA.....	20
4.6 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA COM DAPHNIA MAGNA .....	21
4.7 TESTE DE TOXICIDADE CRÔNICA COM DAPHNIA MAGNA .....	22
4.8 TESTE DE AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DE <i>Lactuca sativa</i> .....	22
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>24</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE DE INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA.....	24
<b>5.1.2 Eficiência do tratamento do efluente de indústria alimentícia</b> .....	<b>30</b>
5.2 TESTES DE TOXICIDADE.....	32
<b>5.2.1 Teste de toxicidade aguda com <i>Daphnia magna</i></b> .....	<b>32</b>
<b>5.2.2 Teste de toxicidade crônica com <i>Daphnia magna</i></b> .....	<b>33</b>
<b>5.2.3 Teste de germinação com <i>Lactuca Sativa</i></b> .....	<b>36</b>
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	<b>39</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>40</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A preocupação mundial a cerca de conservação do meio ambiente é crescente, em função da aceleração do crescimento da população mundial e as atividades industriais ocasionando a geração de maior quantidade de resíduos sólidos e/ou líquidos com alto teor tóxico e não biodegradáveis que devem ser tratados. Na atualidade, normas ambientais vêm exigindo restrições cada vez maiores aos despejos de efluentes nos corpos de água, devido ao aumento da presença de substâncias orgânicas e inorgânicas nos corpos de água. (BORBA *et al.*, 2010).

O ciclo produtivo da população capitalista extrai do meio ambiente os insumos necessários para a produção de alimentos e bens de consumo, entretanto, o processo produtivo retorna resíduos sólidos, efluentes líquidos e emite gases poluentes em grandes quantidades, acarretando poluição ambiental e esgotamento dos recursos naturais. Outra preocupação que emerge é que há uma volumosa camada da população mundial que sofre com pobreza, fome e exclusão social (ARAÚJO, 2006).

O tratamento de resíduos com teor poluidor das indústrias é, na maior parte das vezes, uma prática relativamente complexa. As indústrias tem particularidades distintas. Existem diversas variáveis envolvidas que dificultam a padronização de processos de tratamento. Entre essas variáveis, podemos destacar: as diferentes matérias-primas, os diversos processos de produção, as condições climáticas, a disponibilidade de água, etc. Com isso, raramente, as soluções para tratamento de efluentes podem ser transplantadas de uma unidade industrial para outra (PARENTE E SILVA, 2002).

De acordo com Benincá (2012) [...] os efluentes gerados nas indústrias alimentícias, que são compostos por altas concentrações de matéria orgânica e fortes colorações devido à presença de corantes, se caracterizam como fontes significativas de poluição dos corpos hídricos.

Na indústria alimentícia, a recirculação dos rejeitos bem como a degradação, recuperação e destino dos produtos e subprodutos constituem um dos principais desafios e tem como objetivo principal reduzir os custos com o tratamento de seus efluentes (MORETTO, 2011).

As técnicas de tratamento aplicadas, nem sempre asseguram que o efluente ficou isento de toxicidade. Portanto, impõe-se o controle da toxicidade do efluente

líquido, tornando compatível seu lançamento de acordo com as características do corpo receptor, fazendo com que este não cause efeitos tóxicos de natureza aguda ou crônica á biota aquática (SILVA, 2002).

Desta forma esta pesquisa procurou avaliar o efluente bruto e tratado gerado por uma indústria alimentícia, através de análises físico-químicas. Ainda esta pesquisa buscou caracterizar o efluente quanto a toxicidade através da realização de testes de toxicidade aguda e crônica com o organismo teste *Daphnia magna* e testes de germinação com a semente *Lactuca sativa*.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem por objetivo avaliar o efluente de uma indústria do ramo alimentício através de testes de toxicidade com o microcrustáceo *Daphnia magna* e testes de germinação de sementes com *Lactuca sativa*.

### 2.2 OJETIVOS ESPECIFÍCOS

Partindo do objetivo geral, foram elencados os seguintes objetivos específicos:

- caracterização do efluente da indústria alimentícia através de parâmetros físico químicos;
- determinar a concentração que causa efeitos de toxicidade aguda ao microcrustáceo *Daphnia magna* após exposição ao efluente;
- identificar efeitos da exposição crônica ao efluente de indústria alimentícia verificando a longevidade, crescimento, reprodução, número de posturas e possíveis alterações morfológicas do microcrustáceo *Daphnia magna*;
- avaliar os efeitos na germinação das plântulas de *Lactuca sativa* expostas ao efluente bruto e tratado da indústria alimentícia;

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 EFLUENTE DE INDÚSTRIA DO RAMO ALIMENTÍCIO

Os maiores desafios enfrentados pela indústria alimentícia é a recirculação dos rejeitos bem como a degradação, recuperação, destino dos produtos e subprodutos, tendo em vista reduzir os custos com o tratamento de seus efluentes. A não biodegradabilidade dos efluentes alimentícios industriais está diretamente relacionada com o alto teor de gordura, corantes e aditivos aos processos, os quais geralmente são compostos orgânicos de estrutura complexa (MORETTO, 2011).

Segundo Pereira et al (2015) a remoção dos poluentes no tratamento, de forma a adequar o lançamento a uma qualidade desejada ou ao padrão de qualidade estabelecido pela legislação vigente, está associada aos conceitos de nível e eficiência de tratamento.

As indústrias alimentícias utilizam elevados volumes de água pela necessidade de incorporação desta no produto, lavagem de tanques, equipamentos, tubulações e pisos, água para sistemas de resfriamento e geradores de vapor, águas utilizadas diretamente nas etapas do processo industrial e demais partes. Toda esta água entrando no sistema gera uma descarga de efluentes considerável e que precisam passar por tratamento adequado, eficiente, rápido e que seja economicamente viável (BENINCA, 2012).

De acordo com a NBR 9800 (ABNT, 1987<sup>a</sup>), efluente líquido industrial é o despejo líquido proveniente das indústrias e que compreende tanto as emanações dos processos ocorridos na indústria como também as águas pluviais e esgoto proveniente dos sanitários dos funcionários.

Neste contexto necessita-se de ferramentas de avaliação desse tipo de efluente com potencial de diagnosticar efeitos em organismos vivos. Para Monteiro (2006) o desenvolvimento de métodos em toxicologia ambiental é assunto complexo, e de maneira geral, tem por finalidade a predição de efeitos ambientais, a comparação entre substâncias e o monitoramento de efluentes.

A Resolução CONAMA nº 357 de 2005, como instrumento da Política Nacional de Recursos Hídricos, dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, no qual são baseados os níveis de qualidade que esses deveriam possuir para atender às necessidades das comunidades (BRASIL, 2005). Já a Resolução CONAMA nº 430 de 2011

complementa e altera a Resolução CONAMA nº 357 de 2005 e dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, onde este só poderá ser lançado diretamente no corpo receptor, após obedecer aos padrões previstos no Artigo 16º desta Resolução (BRASIL, 2011). No Rio Grande do Sul a Resolução que Dispõe sobre a fixação de Padrões de Emissão de Efluentes Líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul é a CONSEMA nº128 de 2006 (RIO GRANDE DO SUL, 2006).

A resolução do CONAMA nº430 de 2011 inovou ao estabelecer, em esfera federal, algumas diretrizes para avaliação de efeito tóxico dos efluentes no corpo receptor. Até então a avaliação de toxicidade em efluentes industriais era prerrogativa dos órgãos ambientais estaduais, mas em poucos estados existia legislação específica (FILHO, 2013).

### 3.2 TOXICOLOGIA AMBIENTAL

A toxicologia ambiental trata do estudo da probabilidade de fontes perigosas para a saúde e o meio ambiente, com capacidade de provocar dano, doença ou morte para os seres vivos quando apresentam concentrações superiores àquelas que estes possam assimilar nas condições normais, ou seja, absorver, distribuir, metabolizar e eliminar do organismo (CALDAS, 1999).

Segundo Bispo (2010) a toxicologia é a ciência que estuda os efeitos de substâncias químicas em seres vivos. A toxicologia ambiental, ramo da toxicologia, estuda especificamente o efeito de agentes poluidores ao meio ambiente.

As causas da toxicidade em efluentes indústrias podem ser diversas. As águas residuárias apresentam características que variam de uma indústria para outra, mesmo no caso destas pertencerem a mesma categoria, inclusive variar muito entre diferentes linhas de produção na mesma indústria. Essas variações se devem as diferenças diárias de vazão e composição (FILHO, 2013).

A utilização de ensaios toxicológicos permite fazer estimativas sobre riscos de extinção, sendo uma ferramenta de compreensão do tamanho dos impactos, pois os organismos vivos utilizados nos testes de toxicidade funcionam como verdadeiros “biosensores”, que respondem a presença de contaminantes (NOGUEIRA, 2010).

### 3.2.1 Testes toxicológicos

Segundo Resgalla e Laitano (2002) o uso de testes de toxicidade com organismos aquáticos como ferramenta para análises de impacto ambiental vêm sendo utilizados no Brasil desde a década de 70, e foi inicialmente implantado pela CETESB com o uso de organismos de água doce.

De acordo com Filho 2013 teste de toxicidade (ou bioensaios) são ferramentas essenciais em ecotoxicologia aquática, subárea da toxicologia ambiental. São ensaios laboratoriais utilizados para estimar a toxicidade de substâncias e efluentes indústrias.

Testes de toxicidade são ferramentas que avaliam a qualidade das águas e a carga poluidora de efluentes, complementando as análises físico-químicas tradicionalmente realizadas, tais como (DQO), (DBO), sólidos suspensos, concentrações de metais e de outras substâncias de caráter orgânico ou inorgânico, cujos limites estão estabelecidos nas legislações ambientais, não são capazes de distinguir entre as substâncias que afetam os sistemas biológicos e as que são inertes no ambiente e, por isso, não são suficientes para avaliar o potencial de risco ambiental dos contaminantes (COSTA, 2008).

Os efeitos tóxicos causados em organismos-testes podem ser: morte, falta de locomoção, diminuição da emissão de luz e diminuição da capacidade reprodutiva. Observa-se dois tipos de toxicidade que podem ser avaliados: toxicidade aguda e crônica. A toxicidade aguda avalia a quantidade do composto tóxico que provoca inibição de 50% nos organismos testados, representada por CL<sub>50</sub> (concentração letal). Já a toxicidade crônica é o acúmulo do composto tóxico nos organismos-teste, podendo causar efeitos subletais e permitem a sobrevivência do organismo, afetando suas funções biológicas, ficando expostos durante pelo menos a metade de um estágio de vida (CAMMAROTA, 2011).

Ainda, Brentano (2006) afirma que são avaliados os efeitos agudos, onde se observa letalidade e imobilidade, e os efeitos crônicos, em que se observa alterações no crescimento, reprodução e sobrevivência.

A toxicidade aguda corresponde a uma resposta severa e rápida dos organismos aquáticos a um estímulo, que se manifesta, em geral, num intervalo de 0 a 96 horas. A letalidade é um dos indicadores utilizados para avaliar a resposta dos

organismos á toxicidade aguda provocada por um composto ou um efluente (SILVA, 2002).

Já a toxicidade crônica de acordo com Cammarota (2011) são as informações a respeito da toxicidade cumulativa de um agente tóxico. Os efeitos são subletais e permitem a sobrevivência do organismo, afetando suas funções biológicas.

### 3.2.2 Organismo-teste *Daphnia magna*

De acordo com a NBR 12.713 (ABNT, 2016), *Daphnia magna*, 1820 (Cladocera, Crustacea), vulgarmente conhecida como “pulga d’água” é um microcrustáceo planctônico de água doce, com comprimento de 0,5 mm na fase jovem e 5 - 6 mm na fase adulta.

Segundo Bassfeld (2001) *Daphnia magna* pertence á classe dos Crustáceos - Cladocera - Phyllopoda. Estes microcrustáceos fazem parte do zooplâncton de água doce. Alimentam-se por processos de filtração de substâncias orgânicas sob forma de partículas.

Quatro períodos podem ser reconhecidos no ciclo de vida de daphnias: ovo, juvenil, adolescente e adulto. O ciclo de vida do ovo até a morte do adulto varia de acordo com as condições ambientais. Em geral, o ciclo de vida aumenta com o decréscimo da temperatura, em função da diminuição da atividade metabólica. A 20°C a média do ciclo de vida de *Daphnia magna* (de ovo a adulto) é de 56 dias (Rand, 1995).

Figura 01: *Daphnia magna* em fase adulta com ovos na bolsa coletora.



Fonte: FALKENBERG, 2013.

### 3.2.3 Semente *Lactuca Sativa*

A avaliação dos efeitos tóxicos de determinadas substâncias no meio terrestre tem sido feita através da realização de testes que se utilizam de organismos próprios deste meio. Dentre eles, podemos citar os testes de toxicidade com sementes de hortaliças, que consistem na exposição destas sementes à diluições da amostra e a posterior observação dos efeitos na germinação e no crescimento dos organismos-teste (Vieira, 2010).

Sementes de plantas têm se mostrado excelentes organismos para bioensaios de toxicidade. Desde que as sementes sejam mantidas em ambiente seco, elas permanecem dormentes e podem ser estocadas por longos períodos sem perder a viabilidade. Entretanto, uma vez hidratadas rompem-se seu estado de dormência e inicia-se a fase de germinação, onde as sementes passarão por mudanças fisiológicas rápidas e se tornarão muito sensíveis a qualquer estresse ambiental (CUNHA, 2011).

O Dicromato de Potássio ( $Kr_2Cr_2O_7$ ), é um composto tóxico e perigoso e possivelmente carcinogênico, assim como muitos compostos de cromo hexavalente. Porém, por ser tóxico é também utilizado em testes laboratoriais onde se faz necessário compostos letais (controle positivo) para comparação de mortalidade com outras substâncias. É muito utilizado como substância de referência nos testes padronizados de toxicidade para microcrustáceos (KNAPIK E ANDREATTA, 2013).

Souza *et al.* (2005) afirmam que sementes são excelentes organismos para bioensaios. Ao serem reidratadas, elas entram em processo de germinação, onde sofrem rápidas mudanças fisiológicas e tornam-se altamente sensíveis ao estresse ambiental.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

A caracterização do efluente de indústria alimentícia, o cultivo, testes de toxicidade aguda e crônica com a *Daphnia magna*, e os testes de germinação e desenvolvimento de plântulas semente *Lactuca sativa* foram realizados nas dependências do Laboratório de Ecologia e Conservação na Universidade Federal

da Fronteira Sul (UFFS) – campus Erechim e em demais laboratórios integrados da universidade.

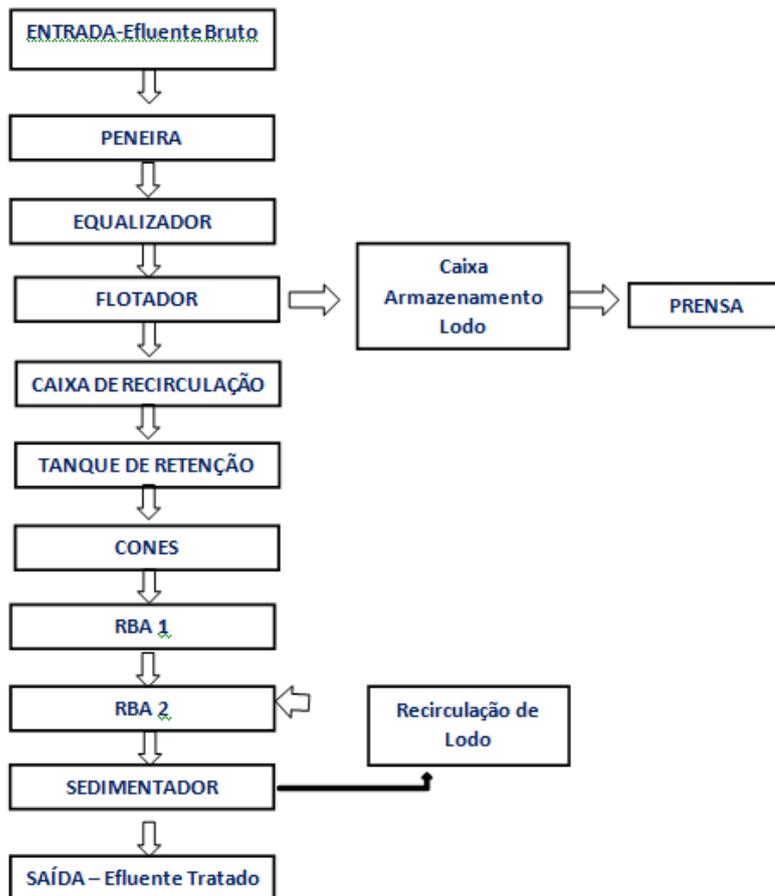
#### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE DE INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

O tratamento de efluente na indústria é realizado através de processo em batelada com várias etapas como ilustra a Figura 02, compreendendo tratamento primário e secundário. Todo o efluente produzido na indústria, juntamente com esgoto sanitário são encaminhados para o tratamento na ETE, onde passa pela peneira, equalizador, flotor, reator anaeróbio, cones, reatores biológicos aerados (1 e 2) sedimentador e saída final.

Na entrada da ETE o efluente tem vazão constante, sem medição precisa. O fluxo de água utilizado no processo industrial é bem irregular, dependendo da lavagem de equipamentos ou ocorrência de precipitação. Com o sistema de tratamento em operação (em torno de 15 horas por dia) a vazão de entrada fica em torno de 4 a 7 m<sup>3</sup>/h, podendo ocorrer oscilações.

As amostras de efluente coletadas para esse estudo foram obtidas em dois momentos (efluente bruto e efluente tratado). As amostras de efluente bruto foram coletadas logo após a etapa de peneira e as amostras de efluente tratado coletadas no local de saída de efluente tratado. A temperatura do efluente foi registrada logo após a coleta das amostras.

Figura 02 – Fluxograma do processo de tratamento de efluente da empresa alimentícia em estudo.

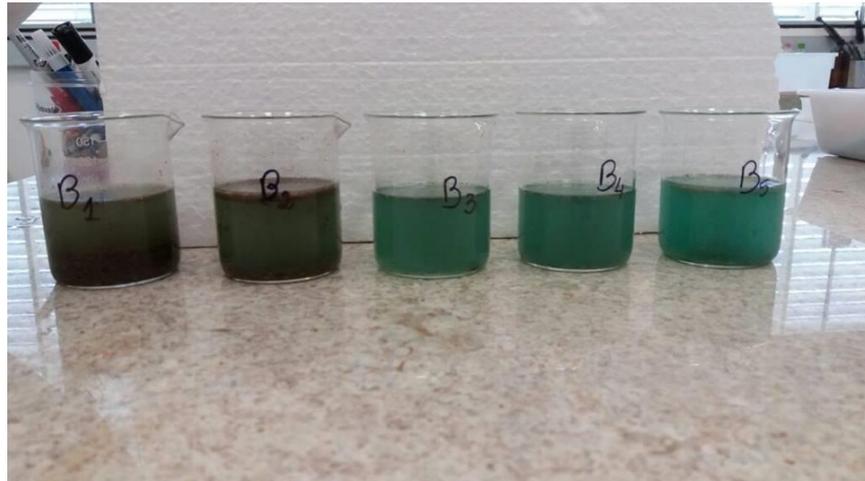


Fonte: Autora, 2017.

## 4.2 COLETA E PRESERVAÇÃO DAS AMOSTRAS

Na coleta e preservação das alíquotas de amostras destinadas à realização dos ensaios de toxicidade foram seguidas normas definidas na NBR 15469 (ABNT, 2016). Os frascos utilizados para a coleta das amostras foram de polietileno, os quais foram preenchidos totalmente com o volume de amostra para minimizar a presença de ar. Depois de coletadas (Figura 03 e 04), as amostras de efluente foram destinadas ao laboratório de Ecologia e Conservação da Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Erechim. Em laboratório, foram realizadas as análises físico-químicas e microbiológicas do efluente assim como a realização dos testes de toxicidade. A identificação das amostras de efluente bruto e tratado, foi realizada com a nomenclatura utilizada para os testes, que foi de B1, B2, B3, B4 e B5 para efluente bruto e T1, T2, T3, T4 e T5 para efluente tratado.

Figura 03 - Amostras de efluente bruto da indústria alimentícia.



Fonte: A autora, 2017.

Figura 04 - Amostras de efluente tratado da indústria alimentícia.



Fonte: A autora, 2017.

As amostras foram coletadas em 5 dias, em cada coleta uma amostra de efluente bruto e uma de efluente tratado, conforme a Tabela 01.

Tabela 01: Datas da coleta das amostras de efluente bruto e tratado de indústria alimentícia.

Coleta das amostras		
1ª coleta	05-10-2016	(T1 e B1)
2ª coleta	06-10-2016	(T2 e B2)
3ª coleta	07-10-2016	(T3 e B3)
4ª coleta	11-10-2016	(T4 e B4)
5ª coleta	13-10-2016	(T5 e B5)

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EFLUENTE DE INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

Para determinar as características deste efluente foram realizadas análises físico-químicas das amostras com o auxílio de equipamentos específicos para cada parâmetro analisado. Os parâmetros analisados foram:

**Temperatura:** A medição da temperatura ocorreu com termômetro manual de imersão no efluente que a própria indústria disponibilizou no momento da coleta.

**Oxigênio Dissolvido:** O equipamento utilizado para determinar a concentração de oxigênio dissolvido nas amostras foi o oxímetro modelo AT-160 da marca Alfakit®.

**Cor Aparente:** A verificação foi realizada no mesmo dia da coleta através do Colorímetro DLA-COR Del Lab® calibrado com as soluções padrões 0, 10, 100 e 500 unidade de cor (UC).

**Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO<sub>5,20</sub>):** A análise foi feita através do equipamento Lovibond® – Sistema Oxidirect conforme recomendações do manual.

**Demanda Química de Oxigênio (DQO):** O método utilizado foi o colorimétrico adaptada do Standard Methods (APHA, 2012).

**Cloretos:** A determinação de Cloreto (Cl<sup>-</sup>) foi realizada pelo método titulométrico com nitrato de prata através do método padrão APHA (1998).

**Condutividade:** Essa medição foi realizada através do condutímetro modelo CG 1800 da marca Gehaka® calibrado com solução padrão de condutividade de 1.413µS/cm.

**pH:** Este parâmetro foi medido através de um medidor de pH modelo Ms Tecnopon calibrado com as soluções tampão comercial pH 7,00 e pH 4,00.

**Sólidos totais:** A concentração de sólidos totais no efluente foi determinada pelo método padrão APHA (1998).

**Turbidez:** A turbidez foi analisada utilizando o turbidímetro de bancada da marca MS TECNOPON®, calibrado com as soluções padrão de 10,100 e 1000 Unidades Nefelométricas de Turbidez (UNT).

Com esses dados da caracterização físico-química das amostras do efluente de indústria alimentícia, foi possível conhecer a eficiência do tratamento realizado. Oliveira (2014) mostra que a eficiência do tratamento é a razão entre a concentração afluenta do poluente *versus* a concentração efluente do poluente:

$$E = \frac{C_0 - C_e}{C_0} * 100$$

Sendo, E= eficiência (%);

C<sub>0</sub>= concentração afluente do poluente; e

C<sub>e</sub>=concentração efluente do poluente.

#### 4.4 CULTIVO DO MICROCRUSTÁCEO *Daphnia magna*

O cultivo do microcrustáceo *D. magna* foi realizado no Laboratório de Ecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Erechim que segue a metodologia descrita na NBR 12.713 (ABNT, 2016). Os organismos foram mantidos em béqueres de vidro de 2 L cada, e em incubadora com temperatura controlada à 20 ± 2°C e fotoperíodo de 16 horas de luz.

Cada béquer foi preenchido com volume aproximado de 1250 mL de meio de cultura M4, conforme definição da NBR 12.713 (ABNT, 2016), com lotes de até 30 indivíduos. A renovação do meio M4 (Anexo A) foi realizada três vezes por semana, sendo os organismos transferidos para o novo meio e alimentados, descartando o meio antigo. No momento da troca do meio já foi feita a alimentação com a alga *Scenedesmus subspicatus*, inoculada em meio nutriente preparado no laboratório em conformidade com a norma NBR 12.713/2016 (ABNT, 2016).

Na troca, somente os indivíduos adultos foram transferidos para o novo recipiente, enquanto que os filhotes foram reservados para a utilização para a utilização nos testes de toxicidade no laboratório ou, caso não exista a demanda de testes, descartados em um recipiente com hipoclorito de sódio (NaClO).

#### 4.5 TESTE DE SENSIBILIDADE COM *Daphnia magna*

Para legitimidade dos testes de toxicidade aguda e crônica, foi realizado teste com substância de referência, Dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O) para averiguar a sensibilidade dos organismos *D.magna* utilizados nos ensaios toxicológicos. A sensibilidade foi realizada em forma de teste, expondo por 24 horas indivíduos jovens a diluições de uma solução de (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O) em meio ISO. Para esse teste as concentrações já são pré-definidas, sendo 0,5; 0,7; 0,9; 1,1; 1,3; 1,5; 1,7 e 1,9 mg/L.

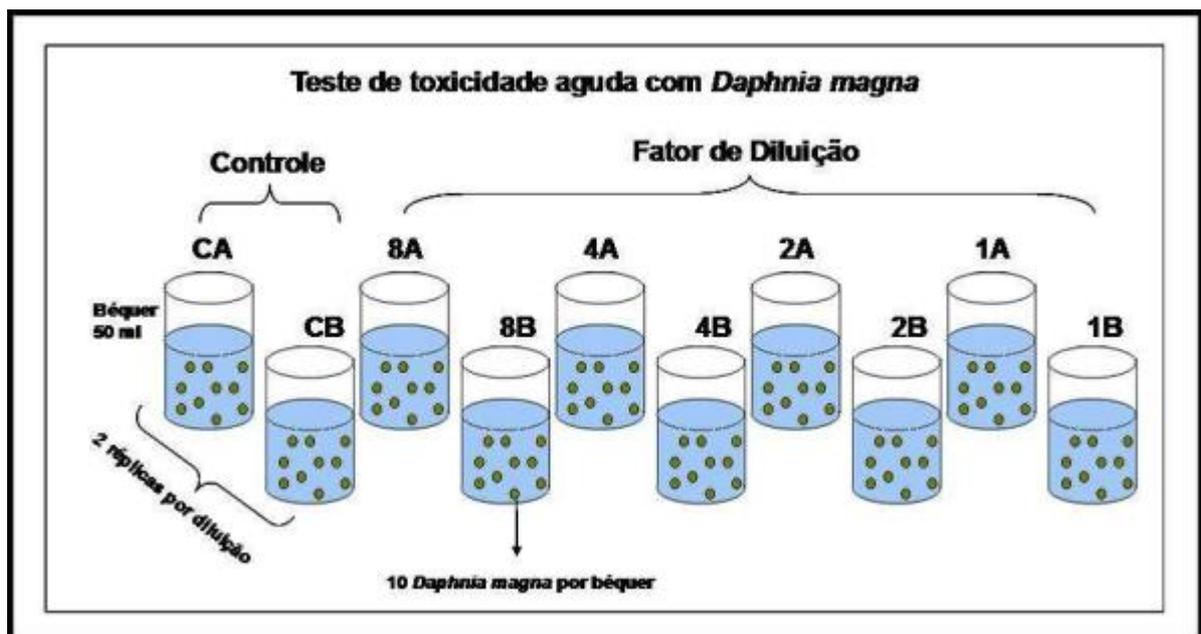
A faixa adequada da sensibilidade para *D. magna* é entre 0,6 e 1,7 mg/L (ABNT, 2016).

#### 4.6 TESTE DE TOXICIDADE AGUDA COM *Daphnia magna*

O teste consistiu na exposição de neonatos de *D. magna* (2 até 26 horas de vida) a uma série de concentrações da substância a ser testada, por um curto intervalo de tempo (48 h). O ensaio foi realizado em duplicata para cada diluição. Em cada recipiente do teste foram adicionados 25 mL de amostra (substância teste) e colocados 10 neonatos de *D. magna* (Figura 05). Os resultados destes testes expressam a  $CE_{50,48h}$ , ou seja, concentração efetiva que causa imobilidade a 50% da população após 48 horas de exposição e foram analisados utilizando o programa estatístico GW-Basic.

Os recipientes utilizados no teste possuíam capacidade máxima de 50 mL cada. Não ocorreu alimentação nem troca do meio – teste estático. Os testes foram realizados em duplicata e possuíam um teste referente ao controle negativo somente com água reconstituída ISO (ANEXO B) O meio ISO é o meio tradicionalmente utilizado para a diluição dos testes de toxicidade aguda, descrito na norma ISO 6341 (ISO, 1996).

Figura 05: Esquema de realização do teste de toxicidade aguda com *Daphnia magna*.



Fonte: FUZINATTO, 2009.

#### 4.7 TESTE DE TOXICIDADE CRÔNICA COM *Daphnia magna*

De acordo com Arezon *et al* (2011) ensaios de toxicidade crônica expõem os organismos-teste às amostras de efluentes por um intervalo de tempo mais significativo em relação ao seu ciclo de vida (em geral, superior a 72 horas). Neste trabalho os organismos foram expostos a amostra por 21 dias.

Neste ensaio crônico com *D. magna* foram analisados os seguintes parâmetros: crescimento, longevidade, reprodução e número de posturas. O parâmetro de crescimento consistiu em medir com auxílio de lupa com 40x aumento e régua milimetrada, o comprimento de cada *D. magna* sobrevivente após 21 dias de ensaio. O parâmetro de longevidade consistiu em realizar a contagem de indivíduos adultos sobreviventes após 21 dias. A reprodução consistiu em contar o número de filhotes por *D. magna* ao longo dos 21 dias, sendo divididos em números de posturas ao longo do período do teste.

A organização do teste crônico foi realizada em 10 béqueres por diluição enfileirados, bem como controle negativo. Houve a troca do meio e alimentação 3 vezes por semana, 16 horas de luz e a temperatura controlada a  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

As diluições escolhidas para o teste crônico foram selecionadas a partir da  $\text{CE}_{50, 48\text{h}}$  verificada nos testes agudos, uma vez que apresentariam efeitos subletais, ou seja, sem mortes registradas.

O resultado do teste é descrito em termos da concentração de efeito observado (CEO) e concentração de efeito não observado (CENO).

Os dados desde testes foram interpretados com o uso do programa estatístico GraphPad Prism<sup>®</sup> 6.01.

#### 4.8 TESTE DE AVALIAÇÃO DA GERMINAÇÃO DE *Lactuca sativa*

Os testes de germinação foram realizados com sementes de alface espécie *L. sativa*, adquiridas em um estabelecimento comercial de Erechim/RS. As sementes utilizadas foram da marca ISLA<sup>®</sup> com 99,9% de pureza e validade até abril de 2018.

Os testes basearam-se nas Regras para Análise de Sementes (RAS) fornecidas por Brasil (2009). Para *L. sativa*, as condições propostas nas RAS possibilitam a realização do teste sobre papel filtro no interior de placas tipo petri, sob temperatura entre  $15^{\circ}\text{C}$  e  $20^{\circ}\text{C}$  com duração de 7 dias.

As placas de vidro (tipo petri) utilizadas, possuíam dimensões de 15 cm de diâmetro e 2,5 cm de altura. Foram realizadas 4 diluições para cada amostra de efluente: 100%, 50%, 25% e 12,5%, que correspondem ao fator de diluição de 1, 2, 4 e 8 respectivamente. Cada placa petri foi forrada com dois discos de papel filtro com porosidade 28  $\mu\text{m}$ , sendo dispostas 10 sementes espaçadas igualmente. Os papéis foram umedecidos com as diluições de efluente no início e na metade do teste. A quantidade de amostra (em mL) aplicada estava dentro da faixa recomendada pela RAS, sendo de 2 a 3 vezes o peso do substrato (em mg), que foi de 5mL.

O controle negativo foi realizado somente com água mineral e o controle positivo com Dicromato de potássio, na concentração de 100 mg/L. A medição final ocorreu no 7º dia, onde foi medido o tamanho total da planta a fim de verificar se há comprometimento no desenvolvimento. Também foi realizada a medição do comprimento das plântulas com auxílio de papel milimetrado.

Para a análise dos resultados de germinação das sementes será usado os valores da mediana. Segundo Feijoo (2010) através da interpretação do valor mediano, pode-se afirmar, ao comparar dois ou mais grupos, qual é o que apresenta resultados mais elevados, e qual o que apresenta resultados menos elevados.

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey com a utilização do software Graphpad Prism<sup>®</sup> 6.01. O nível de significância utilizado no teste foi de a 0,01% de probabilidade, garantindo 99,99% de confiança no resultado. A Figura 06 apresenta a disposição do teste de germinação com *L. Sativa*.

Figura 06 - Teste de germinação da semente *Lactuca sativa* com efluente de indústria alimentícia.



Fonte: A autora, 2017.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE DE INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

As características do efluente de indústria alimentícia estão expressas nos resultados obtidas através dos testes físico-químicos (Tabela 02). As análises das amostras foram feitas individualmente e comparadas entre amostra bruta e tratada.

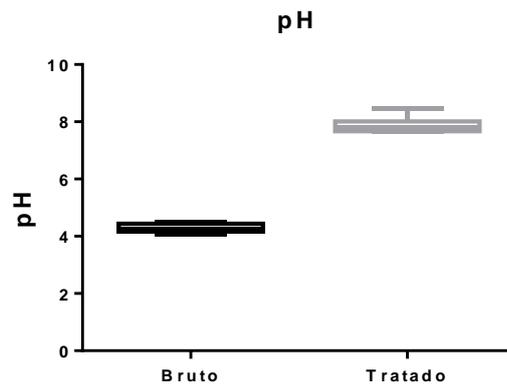
Tabela 02 – Resultados dos testes físico-químicos para o efluente de indústria alimentícia.

Parâmetro	B1	T1	B2	T2	B3	T3	B4	T4	B5	T5
pH	4,2	7,86	4,3	8,45	4,06	7,67	4,22	7,73	4,42	7,66
Cor (uC)	1100	429,80	440	43,80	297,20	150	321,90	290	240,20	240
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	8,80	7,54	8,54	8,20	5,19	8,27	7,10	8,83	7,75	8,89
Temperatura (°C)	30,20	20,60	28,80	21,10	27,10	21,20	27,90	21,40	24,80	19,90
Condutividade de (ms/cm)	142,80	334	149,90	347	115	298	111,30	286	99,10	278
Turbidez (NTU)	970	8,50	1000	0,41	488	0,73	897	2,20	363	1,30
Sólidos totais (mg/L)	3,30	0,25	0,94	0,24	1,00	0,24	0,95	0,27	0,82	0,25
Cloretos (mg/L)	3624,7	523,50	2958,2	521,84	2491,7	645,13	2625,0	543,50	2600,0	501,84
	1		5		2		2		2	
DBO (mg/L)	1983	83	1701	73	1564	61	1728	37	1420	40
DQO (mg/L)	0	4,47	0	13,35	0	11,85	0	17,72	0	4,6

Fonte: Autora, 2017

**pH:** os valores obtidos para o pH indicam acidez para as amostras brutas, tendo como mediana o valor de 4,28. Já nas amostras com efluente tratado o pH, elevou-se alcançando 7,87 de mediana. De acordo, com a CONAMA 430/2011 e CONSEMA 128/2006, os valores de pH para o lançamento de efluente ficam entre 5 a 9, o que indica que o efluente está no intervalo aceito. Na Figura 07, pode-se verificar a variação de pH para as amostras analisadas.

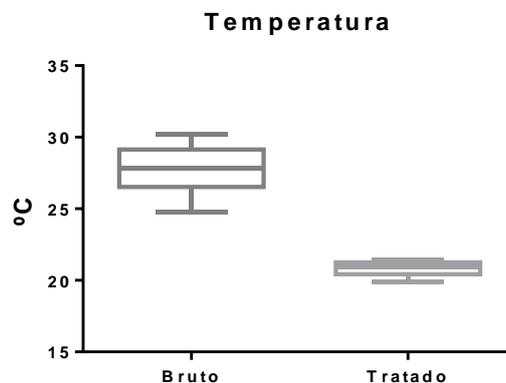
Figura 07 - Variação do pH para o efluente de indústria alimentícia.



Fonte: A autora, 2017. – Mediana;  $\square$  25% á 75%;  $\text{I}$  Desvio padrão máximo e mínimo

**Temperatura:** os dados de temperatura estiveram em todas as amostras dentro dos padrões exigidos (Figura 08) pelas legislações CONAMA 430/2011 e CONSEMA 128/2006 que deve ser menor que 40°C no lançamento do efluente

Figura 08 - Variação da temperatura do efluente de indústria alimentícia.

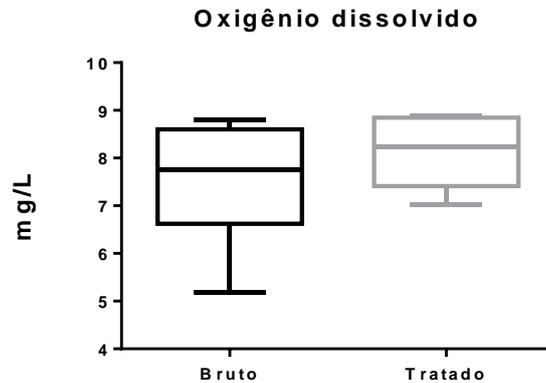


Fonte: A autora, 2017. – Mediana;  $\square$  25% á 75%;  $\text{I}$  Desvio padrão máximo e mínimo.

**Oxigênio Dissolvido:** As águas poluídas por esgotos apresentam baixa concentração de oxigênio dissolvido, pois o mesmo é consumido no processo de decomposição da matéria orgânica. Por outro lado as águas limpas apresentam concentrações de oxigênio dissolvido mais elevadas, geralmente superiores a 5mg/L (ANA, 2017). Os valores da mediana encontradas foram de 7,52mg/L para o bruto e 8,12mg/L para efluente tratado como demonstrado na Figura 09. Assim sendo, este é um parâmetro importante para a manutenção da comunidade biológica, isto porque necessitam dele para a respiração e manteve valores similares depois de

tratado pela alta carga de nutrientes que este tipo de efluente apresenta, não sendo prejudicial.

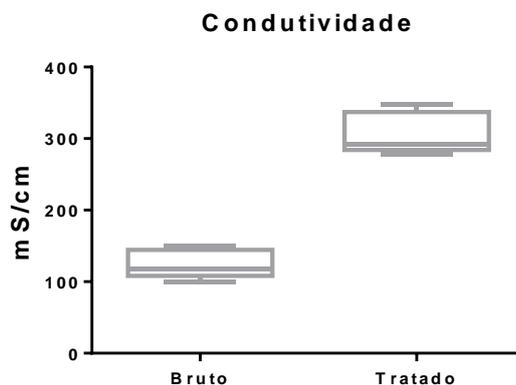
Figura 09 – Variação de OD do efluente de indústria alimentícia.



Fonte: A autora, 2017. – Mediana; 25% á 75%; Desvio padrão máximo e mínimo.

**Condutividade:** A mediana encontrada para as amostras brutas foi de 123,1mS/cm, já para as amostras tratadas foi de 304,8mS/cm, como indicado na Figura 10. Para Parron, *et al* (2011) moléculas de compostos orgânicos que não dissociam em solução aquosa, em sua maioria conduzem pouca corrente elétrica. Isso explica valores baixos nas amostras brutas e mais elevados nas amostras tratadas.

Figura 10 - Variação de condutividade do efluente de indústria alimentícia.

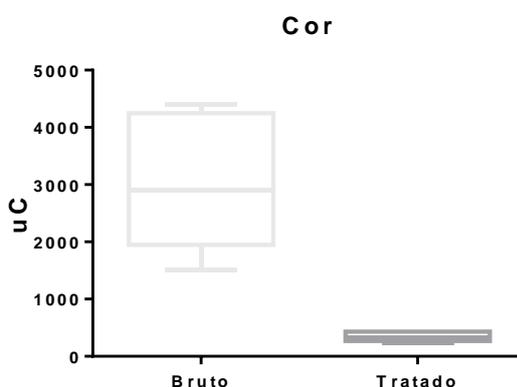


Fonte: A autora, 2017. – Mediana; 25% á 75%; Desvio padrão máximo e mínimo.

**Cor:** Os valores lidos para este parâmetro foram elevados, principalmente para as amostras brutas. As medianas encontradas foram de 3016 e 344 UC para

efluente bruto e tratado respectivamente. A Resolução CONSEMA 128/2006 descreve apenas que nenhuma mudança de coloração deve ocorrer no corpo receptor com a entrada do efluente, mas não cita valores. Porém é perceptível que no efluente tratado ocorreu uma redução significativa de coloração, indicando eficiente tratamento, embora não tendo valores específicos para o parâmetro avaliado. A Figura 11 apresenta os resultados para este parâmetro.

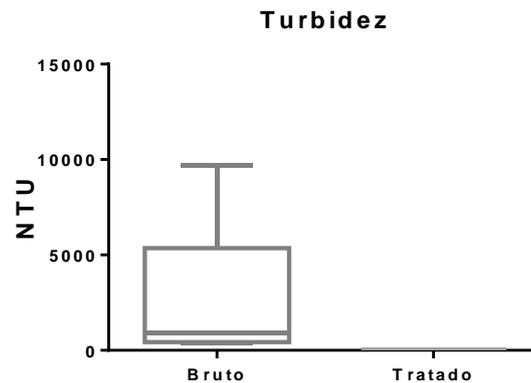
Figura 11 – Variação de cor do efluente de indústria alimentícia.



Fonte: A autora, 2017. – Mediana;  $\square$  25% á 75%;  $\text{I}$  Desvio padrão máximo e mínimo.

**Turbidez:** este parâmetro é analisado em função de que altos valores de turbidez em águas diminuem consideravelmente a fotossíntese de plantas submersas. A tonalidade acinzentada acompanhada de alguma turbidez é típica do esgoto fresco e a cor preta é típica do esgoto velho (FUNASA). Na amostragem através do teste realizado apresentou valores reduzidos expressivamente, enquanto a mediana para a alíquota bruta foi de 897NTU, a amostra tratada apresentou 1,3NTU. A Figura 12 mostra os resultados para este teste.

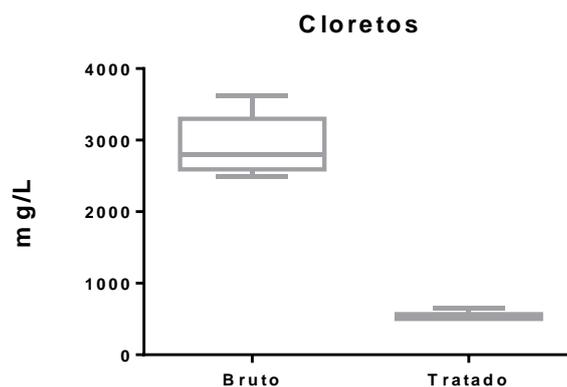
Figura 12 – Variação da turbidez do efluente de indústria alimentícia.



Fonte: A autora, 2017. – Mediana;  $\square$  25% á 75%;  $\text{I}$  Desvio padrão máximo e mínimo.

**Cloretos:** Nas águas superficiais são fontes importantes as descargas de esgotos sanitários, sendo que cada pessoa expele através da urina cerca 6g de cloreto por dia, o que faz com que os esgotos apresentem concentrações de cloreto que ultrapassam a 15mg/L (CETESB, 2009). Este parâmetro também apresentou oscilação entre amostra bruta e tratada. As medianas encontradas para esse parâmetro foram de 2792mg/L para o efluente bruto e de 522,7mg/L para o tratado (Figura 13).

Figura 13 – Variação de cloretos para o efluente de indústria alimentícia.



Fonte: A autora, 2017. – Mediana;  $\square$  25% á 75%;  $\text{I}$  Desvio padrão máximo e mínimo.

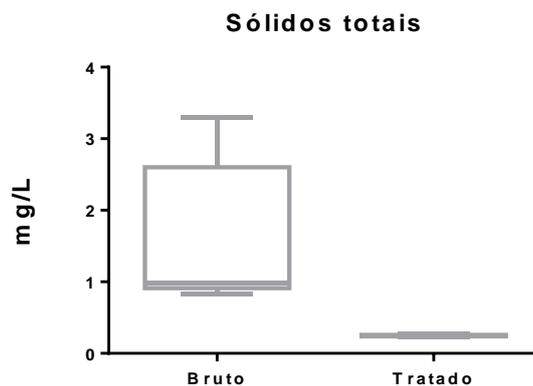
**Sólidos Totais:** Neste parâmetro, as concentrações encontradas para o efluente analisado bruto teve a mediana de 1,56mg/L e para o efluente tratado foi de 0,24mg/L. Isso revela que para este parâmetro o tratamento de efluentes realizado na empresa é bastante eficiente na remoção de ST. De acordo com as Resoluções

CONAMA 430/2011 e CONSEMA 128/2006 este parâmetro deve estar ausente no lançamento de efluentes (Figura 14). Os resultados para este parâmetro analisado estão apresentados na Figura 15.

Figura 14: Sólidos totais das amostras brutas e tratadas do efluente de indústria alimentícia.



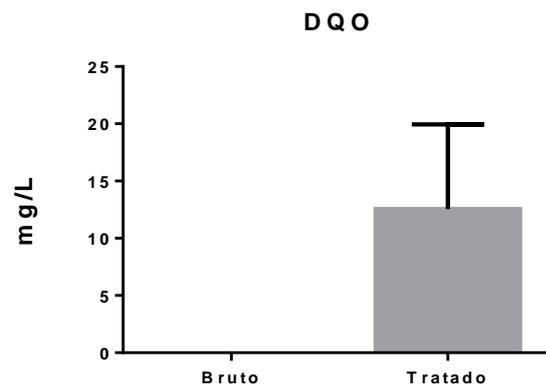
Figura 15– Variação dos sólidos totais em efluente de indústria alimentícia.



Fonte: A autora, 2017. – Mediana;  $\square$  25% á 75%;  $\perp$  Desvio padrão máximo e mínimo.

**DQO:** a concentração da DQO para o lançamento de efluentes é indicado somente na CONSEMA 128/2006, cujo valores são estabelecidos de acordo com a vazão de lançamento da empresa. Neste caso a concentração máxima é de 360mg/L. Já Bertoldi *et al* (2016) prevê para um efluente com vazão de 80m<sup>3</sup>/d uma DQO de  $\leq 450$ mg/L. (Neste caso a mediana do efluente tratado foi de 12.56mg/L, portanto esta de acordo com a legislação para lançamento (Figura 16).

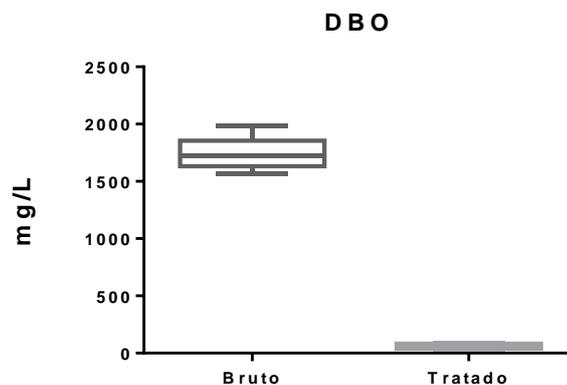
Figura 16: Variação da DQO da amostra tratada do efluente de indústria alimentícia.



Fonte: A autora, 2017. – Mediana;  25% á 75%;  Desvio padrão máximo e mínimo.

**DBO:** esse parâmetro possui padrão de lançamento tanto na Resolução CONAMA 430/2011 - 120mg/L quanto na CONSEMA 128/2006 - 150mg/L. Já Bertoldi *et al* (2016) prevê para um efluente com vazão de 80m<sup>3</sup>/d uma DBO de  $\leq 150$ mg/L. Para o efluente analisado obteve-se valores de 1739 mg/L para a amostra bruta e 60, 20 mg/L para a amostra tratada, assim o tratamento mostra-se satisfatório para a remoção da DBO.

Figura 17: Variação da DBO para o efluente de indústria alimentícia.



Fonte: A autora, 2017. – Mediana;  25% á 75%;  Desvio padrão máximo e mínimo.

### 5.1.2 Eficiência do tratamento do efluente de indústria alimentícia

Segundo Brandão, (2014) nos processos químicos a eficiência depende, dentre outros fatores, das propriedades químicas dos reagentes, das características físico-químicas do fluído a ser tratado, do tempo de reação e das características dos produtos a serem formados.

A eficiência do tratamento no efluente de indústria alimentícia avaliado, (Tabela 03), indica que os valores com o sinal negativo tiveram a redução do valor do parâmetro em comparação ao efluente bruto para o tratado. Já o sinal positivo indica o inverso, que houve aumento do valor do parâmetro em relação à amostra bruta e tratada do efluente.

Tabela 03: Eficiência do tratamento da indústria alimentícia a partir dos parâmetros físico-químicos.

	<b>B1 – T1</b> (%)	<b>B2 – T2</b> (%)	<b>B3 – T3</b> (%)	<b>B4 – T4</b> (%)	<b>B5 – T5</b> (%)
pH	-87,14	-96,51	-88,91	-83,17	-73,30
Cor (uC)	-155,93	-90,04	-49,52	-9,90	-0,08
OD (mg/L)	-14,31	-3,98	+59,34	+24,36	+14,70
Temperatura (°C)	-31,78	-26,73	-21,77	-23,29	-19,75
Condutividade (ms/cm)	+140,86	+131,48	+159,13	+156,96	+180,52
Turbidez (NTU)	-99,12	-99,95	-99,85	-99,75	-99,64
Sólidos totais (mg/L)	-99,42	-74,46	-76,00	-71,57	-69,51
Cloretos (mg/L)	-85,55	-85,35	-74,34	-79,29	-0,69
DBO (mg/L)	-95,81	-95,70	-96,09	-97,85	-97,18
DQO (mg/L)					

Com exceção da condutividade e OD todos os outros parâmetros obtiveram eficiência positiva. O oxigênio dissolvido é um componente essencial para o metabolismo dos microorganismos aeróbicos presentes em águas naturais, sendo indispensável para os seres vivos, especialmente os peixes, os quais geralmente não resistem a concentrações de OD na água inferiores a  $4\text{mg L}^{-1}$ . Despejos industriais fornecem nutrientes para o crescimento excessivo de organismos aquáticos, ocasionando desequilíbrio no corpo hídrico (PARRON, *et al* 2011).

A condutividade elétrica para a legislação BRASIL (2005) deve ter valores em efluentes tratados de até  $5,0\text{ mg L}^{-1}$ . Ainda para CETESB (1981) os valores de condutividade elétrica em ambientes poluídos por esgotos domésticos ou industriais podem chegar até  $1000\text{ }\mu\text{s cm}^{-1}$ . Ou seja, valores alterados de condutividade elétrica podem causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos.

## 5.2 TESTES DE TOXICIDADE

### 5.2.1 Teste de toxicidade aguda com *Daphnia magna*

As amostras de efluente de indústria alimentícia foram submetidas a análises de toxicidade aguda com o organismo teste *Daphnia magna*. Os fatores de diluição utilizados foram 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 32, 64 realizados em duplicata. Segundo a Resolução CONSEMA nº 128/2006 o efluente deve ser lançado sem nenhuma toxicidade aguda.

O testes realizados nesta pesquisa determinaram o valor de  $CE_{50,48h}$ , que causa efeito agudo a 50% dos organismos no tempo de exposição causando imobilidade. A Tabela 4 apresenta o resultado do teste agudo realizado para o efluente de indústria alimentícia.

Tabela 04 - Resultados do teste agudo para *Daphnia magna* utilizando amostra de efluente de industria alimentícia em termos de  $CE_{40,48h}$ .

Amostra	$CE_{50,48h}$	Amostra	$CE_{50,48h}$
B1	4.23 (3.67 – 4.36)	T1	1.97 (1.68 – 2.30)
B2	5.09 (4.13 – 6.30)	T2	9.54 (7.89 – 11.55)
B3	3.32 (2.99 – 3.62)	T3	Não tóxico
B4	3.71 (3.51 – 3.92)	T4	Não Tóxico
B5	3.69 (3.48 – 3.89)	T5	Não Tóxico

O efluente de indústria alimentícia apresentou comportamento não homogêneo, ou seja, a aproximação de 0 do valor de  $CE_{50,48h}$  indica maior a toxicidade. Nas amostras B1 e a T1, relacionando-as, verificamos aumento de toxicidade de B1 para T1, já nas amostras B2 e T2 observamos o inverso, sendo que a toxicidade diminuiu favoravelmente com o tratamento. Essas 4 amostras apresentam esse comportamento tóxico possivelmente em função da descarga de esgoto sanitário juntamente com o de produção. Os efluentes sanitários contêm inúmeros compostos e as reações na desinfecção são variadas, dependendo principalmente das substâncias orgânicas e inorgânicas, resultantes do processo de depuração alcançado no efluente, e do agente desinfetante (PIANOWSKI E JANISSEK, 2003).

Por outro lado, as amostras B3, B4 e B5 apresentaram valores de para  $CE_{50,48h}$  tóxicos e semelhantes, porém nas amostras T3, T4 e T5 não foram mais

encontradas concentrações letais ao organismo teste, sendo assim, o tratamento atingiu seu objetivo, de reduzir a 0 a toxicidade.

### **5.2.2 Teste de toxicidade crônica com *Daphnia magna***

Nesta etapa, foram realizados dois testes crônicos, um com a amostra de efluente tratado que apresentou maior toxicidade aguda e outro com amostra que não apresentou toxicidade aguda, afim de avaliar as condições de lançamento desse efluente. Para a realização do teste crônico considerou-se a  $CE_{50,48h}$  proveniente do teste agudo da amostra (T1), que foi de 1,97%. A partir disso, estipulou-se as concentrações que seriam expostos os organismos teste. A partir do fator de diluição  $FD=32$  não foram observadas mortes no teste agudo, portanto as diluições utilizadas partiram de 32 e seguiram até 768 (FD 32, 64, 128, 256, 384, 512, 768).

Já para a amostra de efluente de indústria alimentícia (T4), sem a presença de toxicidade, assim determinada previamente pelo teste agudo, foram as seguintes diluições que o organismo- teste foi exposto:  $FD = 1, 2, 4$  e  $8$ . Os resultados dos testes para as duas amostras (Tabela 5) apresentam as condições de tratamento do efluente em análise.

O controle negativo para ambos os testes foi realizado somente com meio M4, o meio de cultivo da *Daphnia magna*.

Tabela 05: Resultados da exposição do organismo teste a teste crônico para efluente de indústria alimentícia das amostras T1 e T4, expressos em termos de longevidade, número de posturas, reprodução e crescimento.

Amostra	FD	Longevidade sobreviventes (%)	n	n° filhotes/posturas	n	Reprodução filhotes/posturas	n	Crescimento (mm)	n
T1	Controle	100	10	3.00±0.67	10	3,25 ± 0.88	10	3.90 ± 0.57	10
	32	100	10	1.60±0.84**	8	1.88 ± 1.27	8	3.70 ± 0.48	10
	64	90	10	1.20±0.63***	8	2.20 ± 1.03	8	3.70 ± 1.40	9
	128	90	10	1.10±0.99***	6	2.10 ± 1.79	6	3.50 ± 1.30	9
	256	100	10	1.80±0.92*	9	3.59 ± 2.31	9	3.70 ± 0.67	10
	384	80	10	1.70±1.20*	6	2.72 ± 1.88	6	2.80 ± 1.50	8
	512	90	10	1.80 ± 0.79*	8	3.95 ± 2.38	8	3.40 ± 1.30	9
	768	80	10	2.10 ± 1.20*	7	2.74 ±1.62	7	2.60 ± 1.40	8
CEO (%)	NI	NI		>768	NI	NI	NI		
CENO (%)		>32		<32	NI		<32		
T4	Controle	100	10	3.25 ± 0.88	10	3.00 ± 0.66	10	3.90 ± 0.56	10
	1	0***	10	0 ± 0***	0	0 ± 0***	0	0 ± 0***	0
	2	40***	10	0.60 ± 1.07***	3	0.50 ± 0.84***	4	1.30 ± 1.70***	4
	4	70	10	0.40 ± 0.51***	3	0.40 ± 0.69***	7	2.10 ± 1.44*	7
	8	80	10	0.50 ± 0.52***	5	0.50 ± 0.52***	8	3.10 ± 1.66	8
	CEO (%)		>2		>8	>8		>4	
CENO (%)		<1		<1	<1		<1		

NI: não identificado; FD: fator de diluição; CE: concentração de efeito observado; CENO: concentração de efeito não observado. \*\*\* (p<0,001); \*\* (p<0,01); \*(p>0,1)

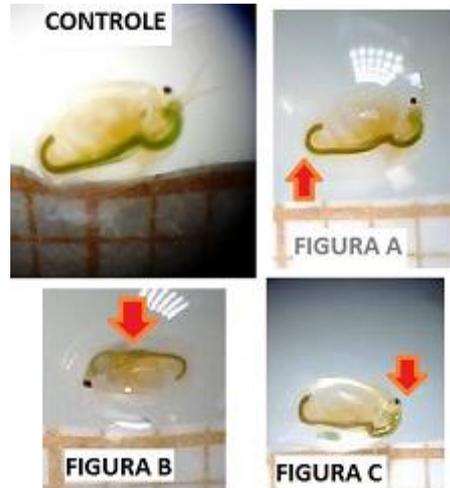
A análise dos dados foi realizada pelo Método Dunnett, com isso foi possível determinar efeito significativo na amostra T1 no parâmetro posturas, onde o CEO >768, ou seja, que mesmo diluindo 768 vezes o efluente ainda apresentou comportamento no organismo teste, a *Daphnia magna*. Já na amostra T4, quando exposta ao efluente, ao final apresentou efeito significativo em todos os parâmetros, ou seja, no crescimento, longevidade, reprodução e posturas, com CE e CENO descritas na tabela 05.

De acordo com Cammarota (2011) efluentes, mesmo tratados, lançados continuamente num curso receptor, podem provocar efeitos crônicos, visto que os organismos aquáticos estão expostos a concentrações de poluentes por longos períodos de tempo.

Observou-se efeito crônico sobre a morfologia dos indivíduos (Figura 18), comparando as figura A, B e C com o controle, nota-se na FIGURA A ausência do

espinho apical, na FIGURA B esta representado um individuo que não se reproduziu durante o teste ( macho) e na FIGURA C o encurtamento das antenas.

Figura 18: Alterações morfológicas do organismo teste exposto a amostra T1 do efluente de indústria alimentícia.



Fonte: A autora, 2017.

Após a análise da morfologia dos organismos sobreviventes ao teste crônico, obteve-se a porcentagem de organismos-teste afetados (Tabela 06), quando expostos ao efluente de industria alimentícia da amostra T1 de efluente de indústria alimentícia.

Tabela 06: Porcentagem de alterações morfológicas do organismo-teste exposto a teste crônico com efluente de indústria alimentícia.

FD	n	(%) organismos afetados
<b>32</b>	10	30
<b>64</b>	10	20
<b>128</b>	10	30
<b>256</b>	10	30
<b>384</b>	10	10
<b>512</b>	8	25
<b>768</b>	8	0

Com isso é possível perceber que as alterações morfológicas nos organismos-teste

foram significativas, ou seja, o efluente influenciou negativamente no crescimento, causando anomalias.

### 5.2.3 Teste de germinação com *Lactuca Sativa*

A germinação das sementes de *L. sativa* expostas às amostras de efluente bruto e tratado de indústria alimentícia (Tabela 08). Efluentes domésticos e industriais em altas concentrações inibem a germinação em *L. sativa*, aumentando a salinidade pelo incremento de íons minerais que afetam a osmorregulação, levando à falência organelas responsáveis por essa função (Bazai & Achakzai, 2006). Andrade et al. (2010) relataram que os íons cloreto presentes em efluentes domésticos e industriais podem causar inibição da germinação e do crescimento de plântulas de *L. sativa*. A condutividade elétrica da água está estreitamente relacionada com a quantidade de íons nela dissolvidos e por isso reflete sua salinidade

Tabela 08: Resultado do teste de Germinação *Lactuca Sativa* com efluente de industria alimentícia.

GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Lactuca sativa</i>							
Amostra	n	CN (%)	1(%)	2(%)	4(%)	8(%)	CP
T1	20	80	80	95	95	90	80
B1	20	90	0	10	15	50	90
T2	20	80	55	90	70	75	90
B2	20	90	00	55	55	60	80
T3	20	80	50	75	85	90	90
B3	20	90	00	0,5	30	65	80
T4	20	80	85	100	80	90	90
B4	20	95	00	15	50	70	85
T5	20	95	70	80	75	95	95
B5	20	95	00	10	60	60	85

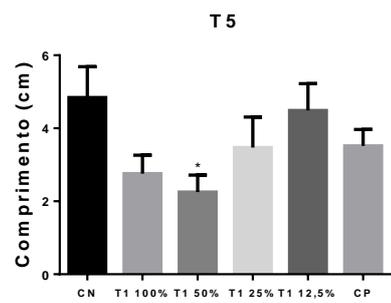
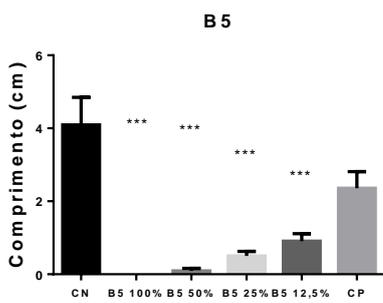
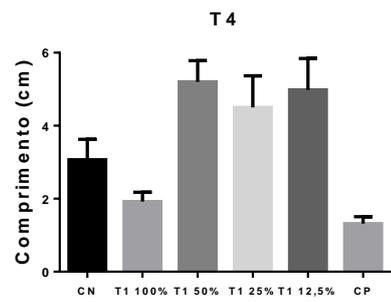
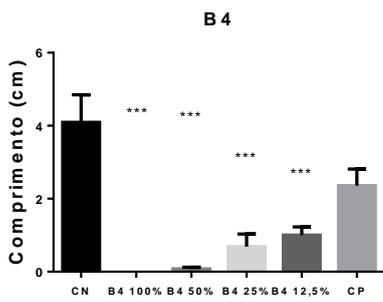
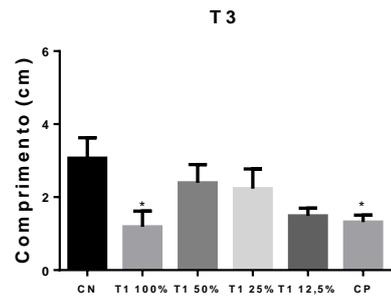
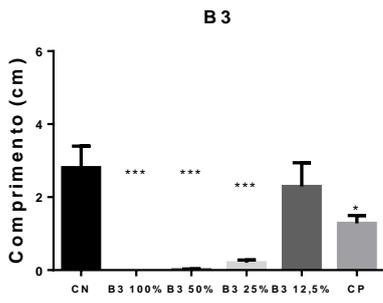
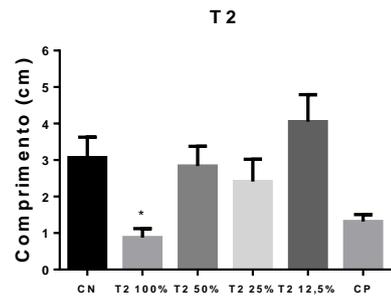
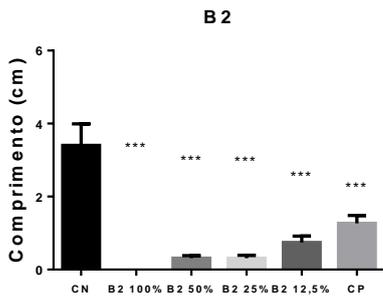
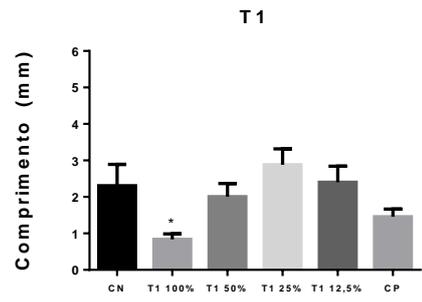
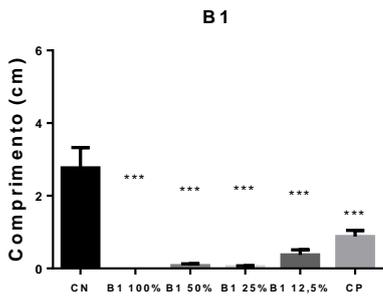
Na figura 19 pode-se observar o crescimento das plântulas, e o efeito significativo que as amostras causaram. Nas amostras T1, T2 e tivemos efeito significativo na concentração 100% e diminuição expressiva no crescimento nas demais diluições comparadas ao controle, isto calculado através do método estatístico. Nas demais amostras, T3, T4 e T5 também pode-se observar efeito,

porém com menos intensidade, comprovando a alta toxicidade das amostras T1 e T2,

Em todas amostras brutas B1, B2, B3, B4 e B5 tiveram efeito significativo, ou seja, a germinação e crescimento das sementes foi afetada pela alta toxicidade em que foram expostas.

De acordo com Machini et al (2011) comparando-se o efluente bruto e o efluente tratado (nas mesmas diluições), constatou-se que a medida do crescimento médio foi maior nas placas com o efluente tratado, com germinação de raízes e caules. Desta forma, o percentual de germinação também foi maior, demonstrando a eficiência da fotodegradação para a remoção de agentes contaminantes em efluentes industriais, neste caso efluente alimentício.

Figura 19: Crescimento das plântulas de *Lactuca sativa* expostas a efluente de indústria alimentícia.



## 6 CONCLUSÕES

Os resultados encontrados nesta pesquisa permitiram algumas conclusões em relação ao tratamento do efluente analisado:

- o efluente de indústria alimentícia apresentou toxicidade aguda ao organismo *D. magna* em duas amostras e com  $CE_{50,48}$  próximos a 0, o que é intolerável. Estas amostras além dos rejeitos da produção, continham efluente sanitário, o que pode justificar a toxicidade.
- quanto ao teste crônico, a amostra T1 apresentou efeitos significativos sobre o número de posturas dos organismos *D. magna* expostos, e a amostra T4, em todos os parâmetros analisados, isso indicou que a amostra quando submetida a teste de curta exposição, não tem comportamento tóxico, mas em longa duração sim.
- na avaliação realizada com sementes de alface *L. sativa*, notou-se de modo geral que quanto maior a diluição da amostra, menor era o crescimento da plântula, principalmente nas amostras de efluente bruto, indicando presença de agentes tóxicos que prejudicam o desenvolvimento das plântulas.
- quanto à eficiência do tratamento de efluentes realizado na empresa, percebeu-se uma melhoria em vários parâmetros analisados, porém, ainda assim alguns parâmetros não estão de acordo, as amostras tratadas apresentaram alta toxicidade para os organismos testados, *Daphnia magna* e *Lactuca sativa*.

## REFERÊNCIAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 9.800**: Critérios para lançamento de efluentes líquidos industriais no sistema coletor público de esgoto sanitário. Rio de Janeiro, 1987a.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENTAL FEDERATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20<sup>a</sup> ed., APHA: Washington, 1998.

ANA - Agência Nacional de Águas. **Indicadores de qualidade - índice de qualidade das águas (IQA)**. Brasília. 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15.469**: Ecotoxicologia aquática – Preservação e preparo de amostras. São Paulo. 2015

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12.713**: Ecotoxicologia aquática –Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Cladocera, Crustacea): NBR 12.713. Rio de Janeiro. 2016.

ARAÚJO, G. C. **O processo de implantação da sustentabilidade em frigoríficos: estudo de caso no frigorífico independência**. 2006. 169 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronegócios, Programa de Pós Graduação Multiinstitucional em Agronegócios (consórcio Entre Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Universidade de Brasília e A Universidade Federal de Goiás), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Universidade de Brasília e A Universidade Federal de Goiás, Campo Grande/MS, 2006.

ARENZON, A., PEREIRA NETO, T. P., & GERBER. W. **Manual sobre toxicidade em efluentes industriais**. Federação das Indústrias do Estado do Rio Grande do Sul – Conselho de Meio Ambiente, Porto Alegre, RS. 2011.

BASSFELD, J. C. **Toxicidade aguda para organismos-teste *Selenastrum capricornutum* Printz (alga - Chlorophyceae) e *Daphnia magna* Straus (crustacea: cladocera) de cinco agrotóxicos freqüentemente utilizados na bacia hidrográfica do rio Nhundiaquara - morretes** – Pr. Dissertação - Setor de Ciências Agrárias – Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2001.

Bazai, Z. A; Achakzai, K. K. Effect of wastewater from Quetta city on germination and seedling growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Applied Science Journal**, v.6, p.380-382, 2006.

BENINCA, C. **Degradação do corante alimentício PONCEAU 4R e tratamento de efluente de uma indústria de alimentos utilizando processos oxidativos avançados**. (tese) Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos – PPGEAL - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2012.

BISPO, D. M.; ZABEU, M. UMBUZEIRO, G. A. BORGES, M. A. F. **Jogo computacional para introdução á toxicologia ambiental**. Faculdade de Tecnologia – Universidade Estadual de Campinas IUNICAMP). São Paulo. 2010.

BORBA, F. H. et al. **Avaliação da eficiência da técnica de Eletro-floculação no tratamento de efluentes de indústrias de subprodutos avícolas.** Ete. UNISINOS - Universidade do Vale do Rio Dos Sinos: v. 6, n. 1, p.36-47, 6 jul. 2010.

BRANDÃO, M. D. **Avaliação operacional da estação de tratamento de efluentes de uma indústria de papel.** Dissertação de mestrado – Programa de pós-graduação em Engenharia Civil – Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes.** Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília, 2009.

BRASIL- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA) Resolução nº 430 de 13 de Maio de 2011. **Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes**, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Brasília, 2011.

BRENTANO, D. M. **Desenvolvimento e aplicação do teste de toxicidade crônica com *D. magna*: Avaliação de efluentes tratados de um aterro sanitário.** 2006. 149f. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Santa Catarina. 2006.

CETESB. Relatório para Estabelecimento de Padrões de Emissões Indústria de Laticínios e Produtos Derivados. São Paulo. 1981. 91p  
CALDAS, L. Q. A. **Risco potencial em toxicologia ambiental.** Editora FIOCRUS. Rio de Janeiro. 1999.

CAMMAROTA, M.C. **Notas de aula: Tratamento de efluente líquidos.** Engenharia do Meio Ambiente. Universidade Federal do Rio de Janeiro UFRJ- Escola de Química. 2011.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO - CETESB. **Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo.** Governo do Estado de São Paulo. 2009.

COSTA, C. R. et al. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Revista Química Nova**, Vol. 31, No. 7, 1820-1830, 2008.

CUNHA, B. M. **Avaliação ecotoxicológica de distintos tipos de efluentes mediante ensaios de toxicidade aguda utilizando *Artemia salina* e *L. sativa*.** Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2011.

FALKENBERG, F. **Daphnia magna.** 2013. Disponível em:<<https://www.flickr.com/photos/cyberbirding/10265680453>>. Acesso em: 22 de junho de 2017.

FEIJOO, A. M. L. C. **Medidas de tendência central**. In: *A pesquisa e a estatística na psicologia e na educação*. Rio de Janeiro: Centro Edelstein de Pesquisas Sociais. 2010.

FILHO, R. A. C. Avaliação da redução de toxicidade em efluentes industriais. **Revista de química industrial**. Centro de Tecnologia - Universidade Federal de Alagoas. Alagoas. 2013.

FUNASA - **FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE – MINISTÉRIO DA SAÚDE**. Disponível em: < [http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files\\_mf/eng\\_saneam2.pdf](http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/eng_saneam2.pdf) %E2%80%8E>. Acesso em 20 de abr. 2017.

FUZINATTO, C. F. **Avaliação da qualidade da água de rios localizados na ilha de Santa Catarina utilizando parâmetros toxicológicos e o índice de qualidade de água**. Dissertação de Mestrado. Florianópolis, 2009.

International Standard Organization – ISO. 1996. ISO 6341: water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). USA, 7 pp.

KNAPIK, L. F. O.; ANDREATTA, M. **Avaliação de toxicidade de três substâncias de referência ao microcrustáceo *Daphnia magna***. Trabalho de conclusão de curso. Tecnologia em Processos Ambientais – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. UTFPR. Curitiba. 2013.

LAITANO, K. S.; MATIAS, W. G. Testes de toxicidade com *Daphnia magna*: uma ferramenta para avaliação de um reator experimental UASB. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**. Florianópolis: v. 1, n. 1, p. 43-47. 2006.

MARCHINI, A. E.; MACHADO, V. R.; STÜLP, S. Avaliação Preliminar Do Potencial De Reúso De Efluente Gerado Em Indústria De Alimentos Degradado Por Via Fotoquímica. **TECNO-LÓGICA**, Santa Cruz do Sul, v. 15, n. 2, p. 67-72, jul./dez. 2011.

MORETTO, D. **Avaliação da remoção de pigmentação de calda de indústria de balas utilizando peróxido de hidrogênio promovido com íon hidroxila**. Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pósgraduação em Engenharia de Alimentos da URI-Campus de Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos. Erechim, 2011.

NOGUEIRA, T.D. **Efeitos Agudos de Efluentes Líquidos Industriais**. 2010. 71f. Dissertação (Mestrado em Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos) – Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Ambientais, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2010.

OLIVEIRA, G. L. S. **Avaliação da toxicidade de efluente Kraft após tratamento por processos oxidativos avançados**. Departamento acadêmico de química e biologia – Curso superior de tecnologia em processos ambientais – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba. 2013.

OLIVEIRA, R. A. **Noções Básicas sobre Tratamento de Efluentes Parte I**.

Fundação Universidade Federal de Rondônia. Ji-Paraná. 2014.

PARENTE, A. H. SILVA, E. A. B. **Redução de efluentes líquidos na indústria alimentícia**. Universidade Católica de Pernambuco – Departamento de Química. Pernambuco: ano 1 - nº 1 - jul./dez. 2002.

PARRON, L. M.; MUNIZ, D. H. F.; PEREIRA, C. M. **Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água**. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária. Embrapa florestas. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Paraná. 2011.

PEREIRA, A. A. S.; MACEDO, L. R.; SILVA, A. M.; SANTOS, A. A. **Avaliação da qualidade da água do Ribeirão São João, em Campo Belo Minas Gerais, sob interferência do efluente tratado do abate de bovinos e suínos**. Natureza on-line, pag. 101-105. 2015.

PLANOWSKI, E. H.; JANISSEK, P. R. **Desinfecção de efluentes sanitários com uso de cloro: avaliação da formação de trihalometros**. Sanare - Revista Técnica da Sanepar, Curitiba; v.20, n.20, p. 6-17, jul./dez. 2003.

RESGALLA Jr, C.; LAITANO, K.S. **Sensibilidade dos organismos-teste marinhos utilizados no Brasil**. Notas técnicas – FACIMAR. Santa Catarina. p. 153-163. 2002.

**QUALIDADE DAS AGUAS INTERIORES NO ESTADO DE SÃO PAULO**. Apêndice A. Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem. CETESB- COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Governo do Estado de São Paulo. 2009.

RIO GRANDE DO SUL. Conselho Estadual de Meio Ambiente – CONSEMA. Resolução n.º 128. **Dispõe sobre a fixação de Padrões de Emissão de Efluentes Líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre. 2006.

RIO GRANDE DO SUL. Conselho Estadual de Meio Ambiente – CONSEMA. Resolução n.º 129. **Dispõe sobre a definição de Critérios e Padrões de Emissão para Toxicidade de Efluentes Líquidos lançados em águas superficiais do Estado do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre. 2006.

SILVA, A. C. **Tratamento do percolado de aterro sanitário e avaliação da toxicidade do efluente bruto e tratado**. Tese – Coordenação dos programas de Pós-graduação de Engenharia- Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2002.

SOUZA, S. A. M. et al. Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, vol. 5 nº. 001. 2005.

VIEIRA, G. Avaliação ecotoxicológica da fração solúvel do biodiesel de soja. Centro Tecnológico – Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Santa Catarina- UFSC. Florianópolis. 2010.

**ANEXOS****ANEXO A – Preparo do meio M4 – Cultivo da *D. magna*****Preparo do meio M4 – Cultivo da *Daphnia Magna***

A tabela abaixo é para o preparo de meio M4 em um volume de 5L de água deionizada. O M4 deve ser mantido aerado, por no mínimo, 24 horas antes de realizar a manutenção dos lotes de cultivo.

<b>SOLUÇÃO</b>	<b>VOLUME (mL)</b>
Solução de Cloreto de Cálcio	16
Solução de Sulfato de Magnésio	4
Solução de Cloreto de Potássio	4
Solução de Bicarbonato de Sódio	4
Solução Catiônica	0,5
Solução Aniônica	2,5
Solução de Silicato	1
Solução de Ferro/EDTA	25
Solução de Fosfato	2,5
Solução Vitamínica	0,5

Fonte: NBR 12.713 (ABNT, 2016).

ANEXO B – Preparo do meio ISO – Cultivo da *D. magna*

O quadro abaixo é para o preparo de meio ISO em um volume de 5L de água deionizada. O ISO deve ser mantido aerado, por no mínimo, 24 horas antes de realizar a manutenção dos lotes de cultivo.

<b>SOLUÇÃO</b>	<b>VOLUME (mL)</b>
Solução de Cloreto de Cálcio	16
Solução de Sulfato de Magnésio	4
Solução de Cloreto de Potássio	4
Solução de Bicarbonato de Sódio	4

Fonte: NBR 12.713 (ABNT, 2016).