UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL
E SANITÁRIA

Avaliação ecotoxicológica de efluente têxtil com corante utilizando sementes de *Lactuca sativa* e *Allium cepa*

Denise Leles

GOIÂNIA
2017

DENISE LELES

Avaliação ecotoxicológica de efluente têxtil com corante utilizando sementes de *Lactuca sativa* e *Allium cepa*

Monografia apresentada na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II do Curso de Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Goiás. Orientadora Prof.ª Dr.ª Katia A. Kopp

GOIÂNIA
2017

DENISE LELES

Avaliação ecotoxicológica de efluente têxtil com corante utilizando sementes de *Lactuca sativa* e *Allium cepa*

Monografia apresentada na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II do Curso de Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal de Goiás.

Aprovada em: 05 / 12 / 2017 .

Banca Examinadora:

Karla Emmanuela R. Hora

Prof.ª Dr.ª Karla Emmanuela R. Hora - UFG (Presidente)

Prof.ª Dr.ª Renata Medici Frayne Cuba -UFG

Endrew Carvalho

Endrew Carvalho -UFG

Atesto que as revisões solicitadas foram feitas:

Katia Kopp

Prof.ª Dr.ª Katia A. Kopp

Em: 15 / 12 / 2017

Agradecimentos

À minha orientadora, Professora Katia Kopp, por toda a paciência e por continuar me orientando mesmo depois da chegada da Luíza.

Aos meus amigos Erika Valente, Hariel Gleik e Maicon Santana pelo apoio e pela disposição em ajudar.

À minha mãe por me incentivar e me ouvir.

Ao LAMES (IQ/UFG) pela análise de metais.

Ao Laboratório de Saneamento (EECA-UFG) pela utilização do espaço para a elaboração dos experimentos.

“A água é o princípio de todas as coisas.”

Tales de Mileto

Resumo

O efluente têxtil pode ser de difícil caracterização físico-química e sua avaliação toxicológica pode ser útil para a avaliação do seu risco biológico e direcionamento do seu tratamento. Neste estudo foi realizada a avaliação da toxicidade de um efluente têxtil, proveniente da lavagem de telas do processo de serigrafia, utilizando sementes de dois organismos teste: *Lactuca sativa* (alface, variedade manteiga) e *Allium cepa* (cebola). As sementes foram incubadas em placas de Petri com diferentes concentrações do efluente (100; 10; 1; 0,1 e 0,01%) e após o tempo de incubação fez-se a contagem de germinações e a medição da radícula e do hipocótilo das plântulas. A partir destas medições os seguintes índices foram calculados: GRS (germinação relativa da semente), CRR (crescimento relativo da radícula), IG (índice de germinação), IGN (índice de porcentagem de germinação residual normalizado), IER (índice de porcentagem de alongamento radical residual normalizado). Nos resultados obtidos pelo ensaio utilizando *Lactuca sativa*, o efluente foi classificado como não tóxico ou hormese pelo IGN e com baixa toxicidade pelo IER, sendo que a toxicidade demonstrou-se tão maior quanto maior a concentração da amostra. E os resultados utilizando *Allium cepa*, demonstraram toxicidade baixa ou moderada. Tal toxicidade pode ter sido provocada pelo cromo, que se encontrava fora dos padrões estabelecidos pela legislação. Percebeu-se por meio desse estudo que o efluente têxtil com corante pode causar problemas para os ecossistemas aquáticos e comunidades cercanas às margens de corpos hídricos. Portanto, sugere-se que estudos futuros busquem formas de tratamento eficientes e financeiramente acessíveis para esse tipo de efluente.

Palavras-chave: *Lactuca sativa*, *Allium cepa*, ecotoxicologia, estamparia, efluente têxtil, corante.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-Processos de transporte e degradação de contaminantes.....13

Figura 2 - Morfologia da semente e plântula da espécie *Lactuca sativa*.....18

Figura 3 - Crescimento da radícula do organismo *Allium cepa* submetido à germinação em diferentes diluições do extrato de contaminante.....20

Figura 4 - Germinação e crescimento da *Allium cepa*.....20

Figura 5- Geração do efluente com corante na etapa de lavagem de telas e rodos.....21

Figura 6- Esquema geral dos procedimentos do ensaio de toxicidade com sementes de *Lactuca sativa*.....25

Figura 7 - Gráfico dose-resposta da Lactuca sativa.....33

Figura 8 – Comportamento padrão da curva dose-resposta.....33

Figura 9 - Gráfico dose-resposta da *Allium cepa*.....37

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Resumo das condições do ensaio para os organismos *Lactuca sativa* e *Allium cepa*.....24

Quadro 2 – Parâmetros físico-químicos do efluente e os padrões de lançamento federal e estadual.....28

Quadro 3- Alongamento do hipocótilo da Lactuca sativa: média, desvio padrão e porcentagem de inibição do crescimento.....31

Quadro 4 - Alongamento da radícula da Lactuca sativa: média, desvio padrão e porcentagem de inibição do crescimento.....32

Quadro 5 - Germinação das sementes de Lactuca sativa: Porcentagem, germinação relativa da semente (GRS), crescimento relativo da radícula (CRR), índice de germinação (IG), índice de porcentagem de germinação residual normalizado (IGN), índice de porcentagem de alongamento radical residual normalizado (IER).....34

Quadro 6 - Alongamento do hipocótilo da Allium cepa: média, desvio padrão e porcentagem de inibição do crescimento.....34

Quadro 7 - Alongamento da radícula da Allium cepa: média, desvio padrão e porcentagem de inibição do crescimento.....36

Quadro 8 - Germinação das sementes de Allium cepa: Porcentagem, germinação relativa da semente (GRS), crescimento relativo da radícula (CRR), índice de germinação (IG), índice de porcentagem de germinação residual normalizado (IGN), índice de porcentagem de alongamento radical residual normalizado (IER).....37

LISTA DE ABREVIATURAS

DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
CI50	Concentração inibitória média
CE50	Concentração efetica
IGN	Índice de porcentagem de germinação residual normalizado
IER	Índice de porcentagem de alongamento radical residual normalizado
IG	Índice de germinação
CRR	Crescimento relativo da radícula
GRS	Germinação Relativa de sementes

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 9

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 11

2.1. POLUIÇÃO E CONTAMINAÇÃO DAS ÁGUAS – CAUSAS E CONSEQUÊNCIAS 11

2.2. POLUIÇÃO DAS ÁGUAS POR CORANTES INDUSTRIAIS 13

2.3. ENSAIOS DE TOXICIDADE 15

2.3.1. Ensaio de toxicidade aguda com sementes de *Lactuca sativa* 17

2.3.2. Ensaio de toxicidade aguda com sementes de *Allium cepa* 19

3. METODOLOGIA 21

3.1. AMOSTRAS 21

3.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS 22

3.3. ANÁLISES ECOTOXICOLÓGICAS 23

4.1. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS 27

4.2. ANÁLISES ECOTOXICOLÓGICAS 31

4.2.1. Ensaio com *Lactuca sativa* 31

4.2.1. Ensaio com Allium cepa 35

5. CONCLUSÃO 38

REFERÊNCIAS 40

1. INTRODUÇÃO

A maioria das cidades nos países em desenvolvimento possui sistema de tratamento de esgoto incompleto e/ou inadequado e o efluente é enviado diretamente para os corpos d'água. A poluição encontra-se entre os três maiores problemas nestes países, diminuindo a qualidade de vida em vários aspectos (GROVER; KAUR, 1999) e a falta de saneamento adequado é a causa da morte de milhares de pessoas todas as semanas. Entre esta deficiência de saneamento está a ausência de tratamento de esgotos (SILVA; CALHEIROS, 2015).

O esgoto industrial pode ser um tipo de poluição urbana que pode trazer em sua constituição sólidos, organismos patogênicos, nutrientes, metais, além de outras substâncias (JORDÃO; PESSOA, 1975). Os nutrientes nitrogênio e fósforo, por exemplo, são fatores limitantes para o desenvolvimento dos seres vivos, mas quando ocorre sua entrada excessiva por meio do lançamento de esgotos, o resultado é o fenômeno de eutrofização, ocorrendo o crescimento desenfreado de macrófitas e algas e o consequente desequilíbrio do ambiente aquático (POMPÊO, 2009).

Mas o problema pode ser ainda mais grave que o desequilíbrio na cadeia alimentar, a depender da origem e constituição do efluente. A indústria têxtil, por exemplo, é a maior consumidora de corantes e, portanto, a maior produtora de efluentes com esses contaminantes, já que 10% a 15% dos corantes são perdidos no processo de coloração dos tecidos (RATNA ; PADHI, 2012).

Ainda segundo Ratna e Padhi (2012), o efluente que apresenta corantes possui cor bastante elevada, é organolepticamente desagradável e é perigoso aos organismos vivos, além de ser facilmente transportado no meio aquoso, devido à elevada solubilidade, e dificilmente removido em um processo de tratamento convencional. Além de tóxicos, os efluentes com corantes podem ser também carcinogênicos, teratogênicos ou mutagênicos (RATNA; PADHI, 2012). Podem ainda apresentar características como, presença de matéria orgânica, nutrientes químicos e metais pesados (ARAÚJO; MONTEIRO, 2005).

Devido a todas essas características, a avaliação de toxicidade desses poluentes é necessária para definir o risco ecológico. Existem diversos tipos de análises que podem ser realizadas para tal avaliação, entre elas estão as análises físico-químicas e os bioensaios. Entretanto nem todas oferecem informações sobre a toxicidade.

A biomonitorização é um tipo de análise que avalia os efeitos adversos dos contaminantes nos seres vivos diretamente no ambiente afetado e, apesar de apresentar exatidão quanto a esses efeitos, apresenta grande variabilidade, pois no ambiente natural existem vários outros fatores capazes de influenciar nos resultados, portanto a precisão é baixa (CRANE *et al*., 2007).

Por último, os ensaios ecotoxicológicos são capazes de quantificar os efeitos adversos do efluente coletado em organismos-padrão sob condições controladas, o que limita as variáveis do experimento, tornando possível estabelecer relações de causa-efeito, e determinar se o efluente apresenta toxicidade (CRANE *et al*., 2007). É possível realizar estes ensaios em diferentes níveis tróficos: produtores, consumidores primários, consumidores secundários e até em organismos decompositores (COSTA *et al*., 2008). Os ensaios ecotoxicológicos em plantas estão se tornando cada vez mais comuns, devido ao baixo custo, maior sensibilidade, não possuem legislações tão exigentes como os ensaios com animais (VISIOLI *et al*., 2014), as sementes permanecem inativas por muito tempo e podem ser ativadas a qualquer momento, além de ser simples e demandar apenas uma pequena quantidade do efluente (WANG; KETUR, 1990).

Dessa forma, partindo da premissa que um efluente contaminado por corante é capaz de provocar efeitos deletérios sobre os ecossistemas aquáticos, o objetivo dessa pesquisa é analisar a possível ecotoxicidade de efluente com corante sobre os organismos aquáticos ou em comunidades cercanas às margens de corpos hídricos.

Especificamente pretende-se: Caracterizar um efluente com corante por meio de parâmetros físico-químicos; Avaliar a toxicidade de efluente têxtil com corante por meio da germinação das sementes e do alongamento da radícula dos bioindicadores *Lactuca sativa* e *Allium cepa*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. POLUIÇÃO E CONTAMINAÇÃO DAS ÁGUAS – CAUSAS E CONSEQUÊNCIAS

As atividades antropogênicas têm produzido, ao longo da história, diversos contaminantes, que atingem o meio ambiente em suas diferentes esferas: a água, o ar e o solo. Mas os efeitos da contaminação do meio ambiente começaram a se tornar perceptíveis a partir da Revolução Industrial (1830 – 1890) e com a chamada Revolução Química, em que uma imensa quantidade de substâncias passou a ser usada para a fabricação de produtos utilizados no dia-a-dia e centenas de novos compostos foram produzidos a cada ano. Contudo, o efeito da maioria dessas substâncias para o ser humano e para o meio ambiente era desconhecido (ROMERO; CANTÚ, 2008).

Os sistemas aquáticos naturais sofrem contínua mudança em sua composição química devido à influência de agentes externos, uma vez que são sistemas abertos e dinâmicos (COSTA *et al*., 2008). Mas, segundo Connell e Miller (1984), quando substâncias resultantes de atividades humanas são lançadas no meio ambiente e alteram negativamente suas características físicas, químicas, biológicas e estéticas, então diz-se que ocorre poluição.

A Lei 6.938, que dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente (Brasil, 1978, p.1), conceitua a poluição como:

> A degradação da qualidade ambiental resultante de atividades que direta ou indiretamente:
>
> a) prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população;
>
> b) criem condições adversas às atividades sociais e econômicas;
>
> c) afetem desfavoravelmente a biota;
>
> d) afetem as condições estéticas ou sanitárias do meio ambiente;
>
> e) lancem matérias ou energia em desacordo com os padrões ambientais estabelecidos;

Uma substância potencialmente tóxica quando lançada no corpo d'água está sujeita a uma combinação de processos. Pode passar, por exemplo, pelo processo de degradação biótica ou abiótica, mas algumas substâncias podem resistir a esse processo e se tornar persistentes no ambiente, podendo permanecer ali por grandes períodos de tempo, e resultar em toxicidade, dependendo da continuidade da emissão (COSTA et al., 2008). O poluente pode ainda deslocar-se para a atmosfera, para o solo, ou para o sedimento, conforme suas características físico-químicas (CONNELL; MILLER, 1984).

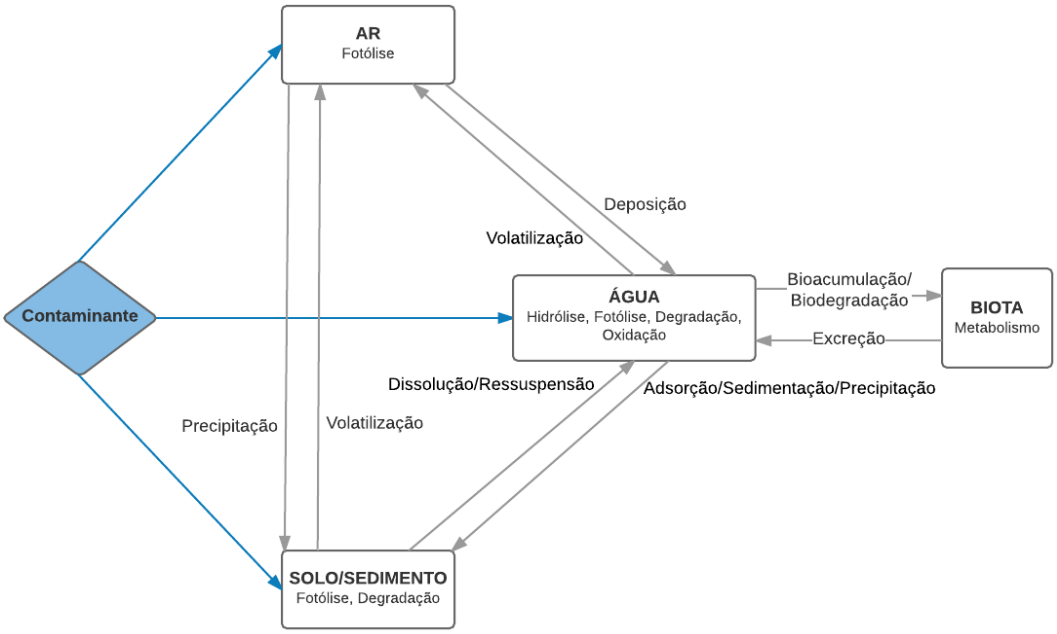
Os efeitos da poluição nos ambientes aquáticos dependem de uma diversidade de fatores: da concentração das substâncias; de suas propriedades físicas e químicas; dos produtos que podem se formar a partir da interação dos compostos; do tempo e da continuidade de lançamento do contaminante; e da capacidade do ambiente em resistir aos efeitos da contaminação (RAND; WELLS; MCCARTY, 1995).

A matéria orgânica é mais facilmente degradada biologicamente pela ação de microrganismos, os quais utilizam o carbono para o seu desenvolvimento e manutenção (HODGSON, 2004). A disponibilidade desses microrganismos, as condições do ambiente e a vulnerabilidade do contaminante em sofrer a degradação são fatores que influenciam o processo (KRUIF, 1988).

Já os metais pesados podem se adsorver nos sedimentos e mais tarde serem transferidos para os seres vivos aquáticos (BAIRD, 2002). Mesmo depois de sofrer degradação, alguns poluentes podem gerar produtos ou condições ambientais ainda mais nocivas que o próprio poluente original (CONNELL; MILLER, 1984), portanto sua toxicidade depende da forma que irá assumir no ambiente (COSTA *et al.*, 2008).

Processos de transporte e degradação a que um contaminante está sujeito nas diferentes esferas da biosfera são mostrados na Figura 1. Eles podem ocorrer separada ou simultaneamente.

Figura 1-Processos de transporte e degradação de contaminantes.



Fonte: Connell; Miller (1984) e Costa *et al*. (2008). Adaptado pela autora.

Essa interligação entre as diferentes componentes do meio ambiente faz com que os efeitos deletérios que os contaminantes provocam nos organismos sejam propagados ao longo do ecossistema, provocando consequências não só nos organismos, como também nas populações, comunidades e ecossistemas, afetando suas características, estruturas e funções (CONNELL; MILLER, 1984).

2.2. POLUIÇÃO DAS ÁGUAS POR CORANTES INDUSTRIAIS

A indústria têxtil possui etapas de tingimento e, em geral, é enquadrada como médio ou alto potencial poluidor, pois apresenta alto consumo de água e de produtos tóxicos, gerando grande quantidade de efluente. Este efluente pode conter metais pesados, elevados valores de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Demanda Química de Oxigênio (DQO) e sólidos suspensos, coloração intensa, além de uma série de outras substâncias e características que são capazes de prejudicar mananciais e até grandes bacias hidrográficas (ALVIM *et al.*, 2011).

O efluente têxtil com corantes torna a água imprópria para o consumo tanto humano quanto animal, e causa desequilíbrios na cadeia alimentar. A composição desses efluentes afeta não só a qualidade da água do manancial e a vida aquática, como também as características do solo e, consequentemente, as plantas (CHIA; RILWAN, 2014), gerando uma grande preocupação ecológica quando não submetido a um tratamento adequado (ALVIM *et al*., 2011).

As técnicas utilizadas para a identificação de corantes demonstram-se geralmente inviáveis para análises ambientais, pois os corantes são compostos por diversas substâncias complexas, o que demandaria procedimentos especiais e de elevado custo. Além desta dificuldade, é possível que todo o processo de identificação seja em vão, uma vez que alguns corantes sofrem decomposição biológica e fotoquímica nos ambientes aquáticos, e os produtos desta decomposição podem ser ainda mais perigosos e persistentes (PRADO *et al.*, 2006).

Devido à composição diversificada do efluente industrial e à dificuldade de identificar todos os compostos ali presentes, é usual realizar análises de Carbono Orgânico Total (TOC), DBO ou DQO, que são indicadores de poluição orgânica, influenciando diretamente na posterior quantidade de oxigênio dissolvido. A falta deste, por sua vez, traz um desequilíbrio ecológico, pois afeta os microrganismos aquáticos, o que leva a outro problema ambiental, já que alguns desses microrganismos são responsáveis pela decomposição de substâncias orgânicas perigosas (RATNA; PADHI, 2012).

Quando são conhecidos os compostos presentes nos efluentes, é possível estimar os efeitos que podem causar nos ecossistemas aquáticos. Entretanto, o grande número de possibilidades de interações com a biota e até mesmo com outros compostos químicos tornam esta avaliação extremamente complexa. Assim, a combinação de análises químicas com testes biológicos mostra-se uma opção mais adequada para a avaliação do potencial tóxico do efluente (ALVIM *et al.*, 2011).

2.3. ENSAIOS DE TOXICIDADE

Testes de toxicidade são ensaios realizados sob condições controladas em laboratório, nos quais organismos-testes são submetidos a certas concentrações da amostra que se deseja estimar a toxicidade, sejam elas substâncias, efluentes industriais ou amostras de água ou de solo. Os efeitos tóxicos dessas amostras são observados nos organismos-teste e são quantificados, contudo não representam com exatidão os possíveis efeitos aos seres humanos, devido à dificuldade de extrapolar os resultados de uma espécie para a outra (RIBO, 1997).

A toxicologia é a ciência que estuda os efeitos deletérios de substâncias químicas sobre os seres vivos (HODGSON, 2004). A ecotoxicologia aquática é importante porque os poluentes presentes no ar e no solo são também transferidos para o ambiente aquático, constituindo assim o principal receptáculo de contaminantes (KENDALL *et al.*, 2001).

Os estudos formais sobre os efeitos de contaminantes em organismos iniciaram-se na década de 1930. A maioria desses primeiros estudos eram testes de toxicidade aguda em peixes para confirmar se os danos estavam sendo causados por um determinado contaminante (ROMERO; CANTÚ, 2008).

Entre as décadas de 1940 e 1960, os estudos sobre os efeitos de pesticidas agrícolas na vida silvestre impulsionaram o desenvolvimento da toxicologia ambiental e da criação de novos testes de toxicologia, que envolviam o crescimento e a reprodução de organismos. Percebeu-se também a necessidade de uma combinação de diferentes áreas para um estudo mais completo, como a química, biologia e ecologia (MORIARTY, 1988).

Os ensaios de toxicidade, portanto, não substituem as análises químicas, apenas as complementam, já que estas identificam a substância tóxica e suas quantidades, enquanto aqueles estudam o efeito que essas substâncias causam aos seres vivos (COSTA et al., 2008).

Relatos descrevem que Aristóteles, apontado como o pai da biologia, estudou a reação de peixes ao realizar testes submetendo espécimes de água doce à condições de água

salgada. Mas o termo “ecotoxicologia” só passou a ser usado em 1969, a partir de uma reunião do “Committee of the International Council of Scientific Unions”, em Estocolmo (TRUHAUT, 1977). Assim, protocolos padronizados para testes de toxicidade começaram a ser desenvolvidos na década de 80 (PAIVA; FERRÃO, 2009).

Nessa reunião foram discutidas as vantagens dos testes de toxicidade aguda, como a rapidez, a economia e a possibilidade de comparação da toxicidade de diferentes compostos em uma mesma espécie, ou ainda comparar o quão resistente diferentes espécies são a um mesmo composto, tornando possível a construção de um importante banco de dados. Entretanto esses testes também possuem desvantagens como, por exemplo, não ser capaz de identificar com facilidade os efeitos de compostos que retardam o crescimento e reprodução das espécies, detectando apenas os compostos letais aos organismos (ROMERO; CANTÚ, 2008).

Além dos ensaios de toxicidade aguda, existem também testes subletais, os quais apresentam como bioindicadores parâmetros de desenvolvimento, como crescimento e reprodução (ROMERO; CANTÚ, 2008).

O Brasil, como um país de climas equatorial e tropical, possui características que interferem no metabolismo dos organismos e no comportamento dos contaminantes, como a iluminação e a temperatura, o que deve levar a diferenças também nos tipos de ensaios a serem utilizados. Além disso, o Brasil abriga a maior biodiversidade do planeta, e os ensaios de toxicidade devem garantir a proteção desta biota (ROMERO; CANTÚ, 2008).

As análises toxicológicas, quando combinadas com outras análises como químicas, geológicas e ecológicas tornam-se um índice de qualidade ambiental, já que têm a capacidade de mostrar as respostas dos organismos ao interagirem com os contaminantes. Medidas de proteção ao meio ambiente são guiadas por esses índices e estudos que indicam os efeitos dos contaminantes nas populações e ecossistemas (ROMERO; CANTÚ, 2008).

Os testes toxicológicos auxiliam na determinação de padrões ambientais, padrões de utilização de certas substâncias na fabricação de produtos e ainda controle lançamentos

de efluentes, tanto domésticos como industriais (ROMERO; CANTÚ, 2008), sendo este último o foco deste trabalho.

Na escolha do ensaio a ser utilizado deve-se considerar vários fatores, como os compostos e o substrato a serem avaliados, a disponibilidade dos organismos-teste, a estrutura e equipe disponíveis (ROMERO; CANTÚ, 2008).

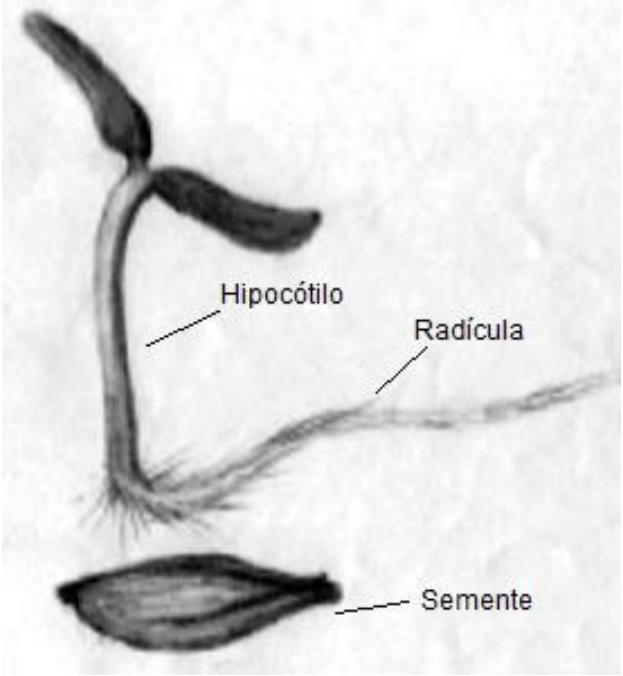
Os ecossistemas aquáticos são extremamente complexos, o que torna difícil transformar os dados obtidos nos ensaios de laboratório para a realidade, considerando a diversidade de processos e combinações de processos a que um contaminante está sujeito no ambiente. Não há, portanto, um organismo-teste que represente perfeitamente todos os efeitos que um contaminante pode causar em um ecossistema (COSTA et al., 2008).

Entretanto, as plantas constituem parte essencial do ecossistema e possuem, geralmente, maior sensibilidade a mudanças no ambiente que outros bioindicadores (BAGATINI et al., 2009). Mudanças nas condições ambientais são facilmente percebidas pela redução do crescimento da radícula, principalmente quando se trata de poluentes químicos (ALVIM *et al.*, 2011).

2.3.1. Ensaio de toxicidade aguda com sementes de *Lactuca sativa* (alface)

O ensaio com a espécie *Lactuca sativa*, popularmente conhecida como alface (variedade Manteiga ou Alface Babá de Verão) não requer equipamentos sofisticados e é realizado de maneira relativamente fácil e rápida, permitindo que os testes sejam completados em poucos dias. Ela é capaz de avaliar a fitotoxicidade de um composto ou ainda uma mistura de compostos, e a avaliação é feita através da inibição da germinação e através da medição do alongamento das radículas e do hipocótilo (SOBRERO; RONCO, 2008). Estas estruturas podem ser observadas na Figura 2.

Figura 210 - Morfologia da semente e plântula da espécie *Lactuca sativa*.



Fonte: Sobrero e Ronco (2008) Adaptada pela autora.

A germinação e o desenvolvimento da plântula são etapas muito sensíveis a fatores externos devido à ocorrência de uma série de processos fisiológicos, portanto um contaminante pode interferir de forma decisiva no processo de germinação e no desenvolvimento durante os primeiros dias, que são fundamentais para a sobrevivência da espécie. Além disso, a reação da *Lactuca sativa* a este teste é, de maneira geral, representativa para plântulas de outras espécies e traz uma boa estimativa dos efeitos de contaminantes sobre espécies vegetais nas proximidades das margens de corpos hídricos (SOBRERO; RONCO, 2004).

O ensaio de alongamento da radícula e hipocótilo possui a vantagem de permitir a avaliação de concentrações de contaminantes tão baixas que não são capazes de inibir a germinação, apenas retardando o desenvolvimento da plântula. Por isso é considerado um indicador subletal, que se apresenta muito sensível para a avaliação da toxicidade de contaminantes em organismos vegetais (SOBRERO; RONCO, 2008).

Este ensaio pode ser aplicado para diversas situações, como compostos puros, águas superficiais, águas subterrâneas, águas para consumo humano, esgoto doméstico e, no caso deste estudo, efluentes industriais (SOBRERO; RONCO, 2008).

Para este trabalho, o ensaio com sementes possui a vantagem de poder ser utilizado para amostras com elevada cor e turbidez, sem a necessidade de um pré-tratamento por filtração, o que poderia interferir nos resultados (SOBRERO; RONCO, 2008).

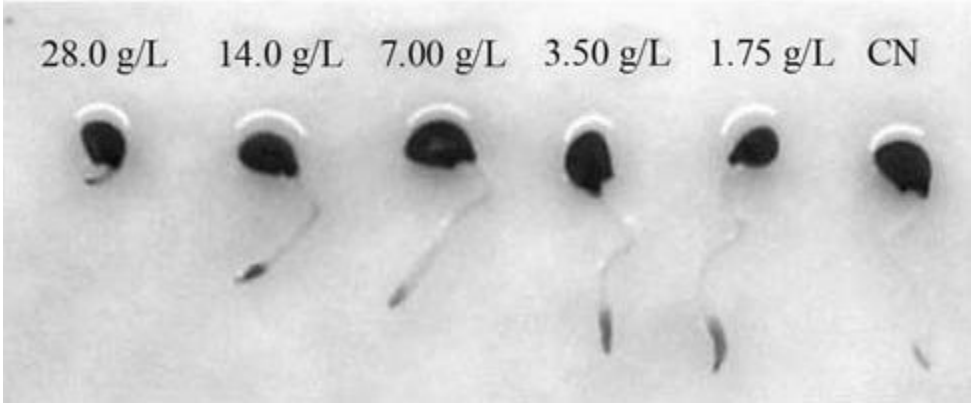
2.3.2. Ensaio de toxicidade aguda com sementes de *Allium cepa* (cebola)

O ensaio com *Allium cepa* é classificado por Romero e Cantú (2008) como um "ensaio com experiência", que seria uma categoria de ensaios que são utilizados há um tempo relativamente curto e que, até o momento, vêm demonstrando reprodutibilidade, mas necessitam de mais pesquisas relacionadas.

Este organismo é largamente utilizado como indicador de toxicidade para estudo de efluentes, contudo a maioria dos estudos é feito com os bulbos para a avaliação genotóxica. O ensaio com sementes é mais utilizado para a análise de extratos de solos contaminados, mas é útil também para a análise de compostos puros ou misturas compostas em água doce, como é o caso deste estudo.

A Figura 3 mostra o desenvolvimento das sementes de cebola em diferentes concentrações de um contaminante e, por último, no controle negativo. No estudo de Malini (2010), o comprimento da radícula diminuiu com o aumento da concentração do contaminante, sendo que nas três concentrações mais baixas o comprimento da radícula esteve próximo ao do controle negativo (CN).

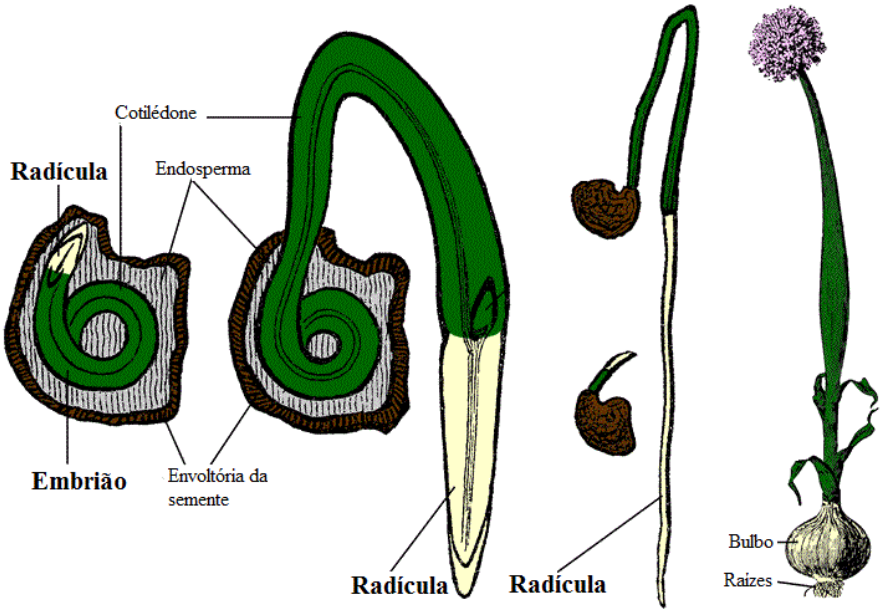
Figura 3 - Crescimento da radícula do organismo *Allium cepa* submetido à germinação em diferentes diluições do extrato de contaminante.



Fonte: Malini (2010).

A Figura 4 apresenta um esquema do desenvolvimento da cebola desde a semente, onde a radícula e o hipocótilo podem ser observados.

Figura 4 - Germinação e crescimento da *Allium cepa*.



Fonte: Leubner (2000).

3. METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Saneamento da Escola de Engenharia Civil e Ambiental da UFG Goiânia, no período de setembro a novembro de 2017.

3.1. AMOSTRAS

O efluente analisado foi cedido por uma indústria de estamparia localizada na cidade de Goiânia (GO) e é proveniente da lavagem de telas e rodos utilizados no processo de serigrafia. A composição exata do efluente é incerta e variável de acordo com a produção da indústria, mas sabe-se que corantes tóxicos são utilizados no processo. A Figura 5 mostra a geração do efluente durante a lavagem de uma tela.

Figura 5- Geração do efluente com corante na etapa de lavagem de telas e rodos.

3.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

O efluente foi coletado em galões de 25 L no momento da lavagem das telas e rodos, e fez-se então uma amostragem composta do efluente coletado em várias lavagens consecutivas. Para as amostra de DBO, a coleta foi feita em outra coleta, pouco antes da realização da análise, utilizando frascos próprios para DBO.

Para a análise de metais coletou-se 1 litro de amostra, também separadamente, que foi preservada com 3 mL de HNO_3 de concentração 1:1 e enviada para o LAMES (Laboratório de Métodos de Extração e Separação) na UFG de Goiânia. O equipamento utilizado foi ICP-OES da Thermo Fisher Scientific, modelo iCAP 6300 Duo, com os seguintes acessórios: tubos de tygon, nebulizador concêntrico, câmara de nebulização ciclônica e tubo central de 2 mm. As leituras foram realizadas utilizando a configuração axial. Os parâmetros utilizados foram: rotação da bomba de 50 RPM, vazão do gás argônio auxiliar de 0,5 L min-1, pressão do gás argônio de nebulização de 0,16 Mpa e potência na fonte de 1250 Watts. E os metais analisados foram: alumínio, boro, bário, berílio, bismuto, cálcio, cádmio, cobalto, cromo, cobre, ferro, potássio, magnésio, manganês, molibdênio, sódio, níquel, fósforo, chumbo, estanho, estrôncio, titânio, tálio, vanádio e zinco.

As análises de pH, turbidez, temperatura, cor aparente, DQO, sólidos dissolvidos totais e sólidos sedimentáveis foram realizadas por Marques, Araújo, Gomes e Ruggeri (2017), trabalho em fase de elaboração que estudou o mesmo efluente. Enquanto a análise de DBO foi feita seguindo as instruções de Silva e Oliveira (2001) para diluições semeadas, com a diferença de que foi utilizada uma sonda multiparâmetro Hach para a medição do OD inicial e final.

[1]*MARQUES, M. P.; ARAÚJO, N. S.; GOMES, P. F.; RUGGERI, H. C. J. Proposta de tratamento de efluente de uma estamparia por precipitação química 2017.*

3.3. ANÁLISES ECOTOXICOLÓGICAS

As amostras para as análises ecotoxicológicas foram coletadas no mesmo recipiente plástico descrito no tópico anterior, mas posteriormente foram transferidas para um recipiente de vidro âmbar, com volume de 1 litro e mantidas em refrigeração.

As sementes foram obtidas em uma loja local. As de *Lactuca sativa* (alface, variedade manteiga) apresentam porcentagem de germinação de 98% e as de *Allium cepa* (cebola) de 94%, sendo 90% o mínimo exigido para a alface e 95% para a cebola (SOBRERO E RONCO, 2008). A germinação desta última encontra-se abaixo do recomendado pelo método, mas foi a maior germinação encontrada e decidiu-se utilizar o lote assim mesmo.

Uma seleção prévia foi realizada com a ajuda de uma pinça, eliminando as sementes de maior e menor tamanho, procurando utilizar somente as de tamanho intermediário e similares.

Foram utilizadas tanto a amostra bruta do efluente, quanto diluições deste. Assim, as concentrações utilizadas foram: 100; 10; 1; 0,1 e 0,01% e a água de diluição foi água dura reconstituída, preparada de acordo com Baez, Granados e Ronco (2008).

Sobre uma placa de Petri com diâmetro de 100 mm foi colocado um papel filtro Quanty® de 90 mm com poros de 8µm e permeabilidade ao ar de 3 l/s.m². Acrescentou-se a amostra sobre o papel filtro e, com ajuda de uma pinça, as sementes foram dispostas em cada placa de Petri devidamente identificada. Os testes foram realizados em triplicata para cada concentração. O volume de amostra e a quantidade de sementes de cada organismo teste está descrito no Quadro 1.

Para evitar a dessecação da amostra, as placas de Petri foram seladas com papel Parafilm®, e durante o tempo de ensaio (120 horas para *Lactuca sativa* e 8 dias para *Allium cepa*) permaneceram em uma câmara escura de temperatura controlada a 22 ± 2ºC. O controle negativo para a alface foi feito com água dura reconstituída e o controle positivo com solução de sulfato de zinco a 1%, como indicado por Machado *et al.*

(2009). Para a cebola utiliza-se água destilada para o controle negativo e solução de 40 mg/L de 2-cloroacetamida para o controle positivo (HERNÁNDEZ, 2008).

As condições dos ensaios estão resumidas no Quadro 1 e a Figura 6 é um esquema geral para ilustrar os procedimentos do ensaio de toxicidade com sementes de *Lactuca sativa*.

Após o tempo de incubação, fez-se a contabilização das sementes germinadas, que são todas aquelas que apresentam a radícula com comprimento maior que 1 mm para *Lactuca sativa* (ROMERO *et al.*, 2014) e 5 mm para *Allium cepa* (HERNÁNDEZ, 2008), e fez-se a medição do comprimento do hipocótilo e da radícula das plântulas germinadas.

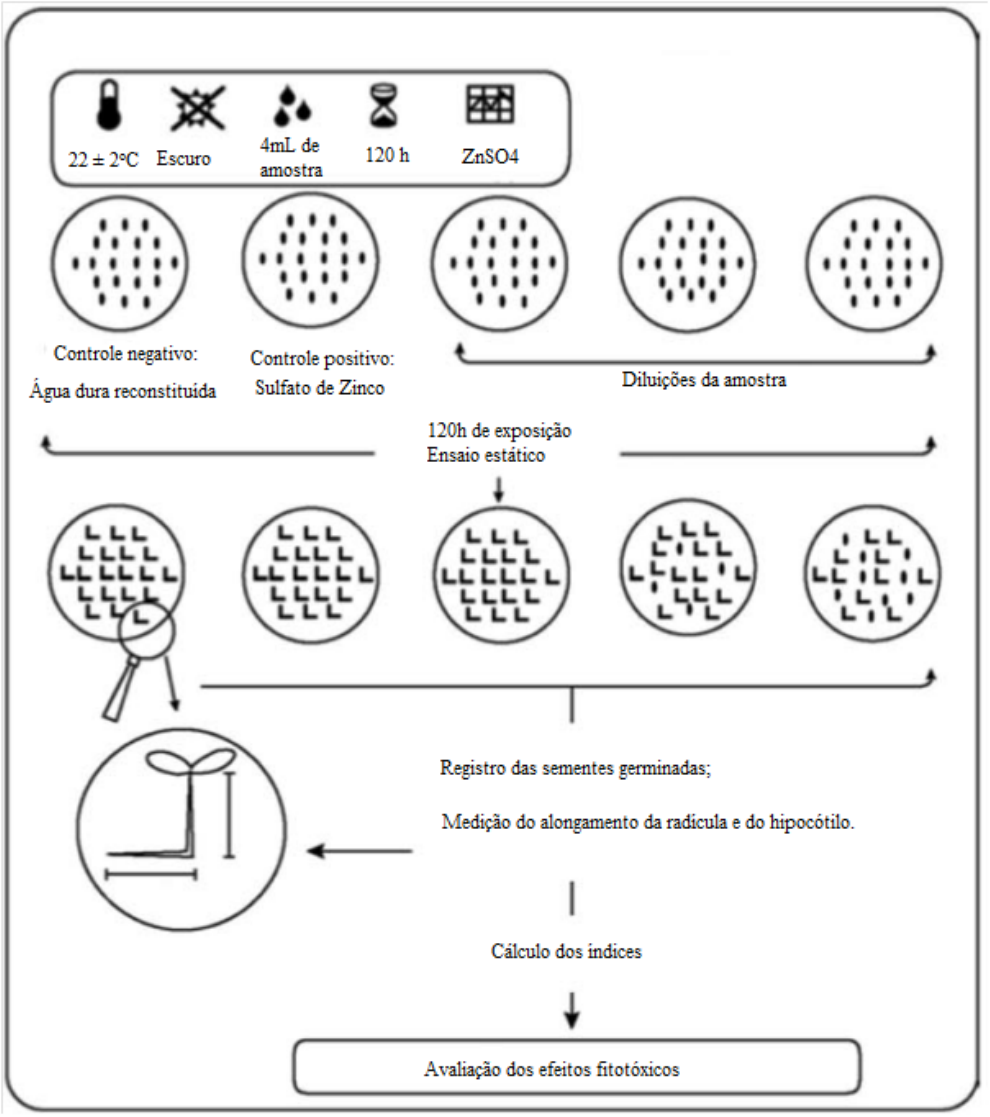
Quadro 1- Resumo das condições do ensaio para os organismos *Lactuca sativa* e *Allium cepa*.

	Lactuca sativa	***Allium cepa***
Tipo de ensaio	Estático	Estático
Temperatura	22 ± 2ºC	22 ± 2ºC
Qualidade da luz	Escuro	Escuro
Volume da solução teste	4 mL	2 mL
Diluições	100; 10; 1; 0,1; 0,01%	100; 10; 1; 0,1; 0,01%
Água de diluição	Água dura reconstituída	Água ultrapura
Número de sementes por réplica	20	10
Número de réplicas	3	3
Duração do ensaio	120 horas	8 dias
Efeito medido	Inibição da germinação; Inibição do alongamento da radícula e hipocólito.	Inibição da germinação; Inibição do alongamento da radícula e hipocólito.
Resultado final	CI_{50}[1], CE_{50}[2], IGN[3], IER[4], IG[5], CRR[6], GRS[7]	CI_{50}, CE_{50}, IGN, IER, IG, CRR, GRS
Aceitabilidade dos resultados	Germinação >90%	Germinação > 95%
Controle negativo	Água dura reconstituída	Água ultrapura
Controle positivo	Solução de sulfato de zinco (1%)	2- Cloroacetamida a 40 mg/L

[1]Concentração inibitória média; [2]Concentração efetiva; [3]Índice de porcentagem de germinação residual normalizado; [4]Índice de porcentagem de alongamento radical residual normalizado; [5]Índice de germinação; [6]Crescimento relativo da radícula; [7]Germinação Relativa de sementes

Foi observado também se havia qualquer indicador de toxicidade nos organismos do controle negativo e também nos testes com amostras, como ápices radiculares ou cotilédones com necrose, ou radículas enroladas.

Figura 6- Esquema geral dos procedimentos do ensaio de toxicidade com sementes de *Lactuca sativa*



Fonte: Sobrero e Ronco (2008). Adaptado pela autora.

Após as medições, foram obtidos os seguintes parâmetros de acordo com Sobrero e Ronco (2008):

- Média e Desvio Padrão do comprimento das radículas e hipocótilos das plântulas;
- Porcentagem de inibição do crescimento da radícula e do hipocótilo;
- Gráfico doses-resposta;
- CI_{50} e CE_{50}

Baseado-se nos trabalhos de Walter *et al*. (2006) e González *et al*. (2011) com *Lactuca sativa*, calcularam-se os índices a seguir, possibilitando uma comparação das amostras nos testes. Mas neste trabalho, tais índices foram utilizados para ambos os organismos teste.

- GRS: germinação relativa de sementes

$$GRS(\%) = \frac{Número\ de\ sementes\ germinadas\ com\ amostra}{Número\ de\ sementes\ germinadas\ no\ controle\ negativo} \times 100$$

- CRR: crescimento relativo da radícula

$$CRR(\%) = \frac{Comprimento\ médio\ da\ radícula\ com\ amostra}{Comprimento\ médio\ da\ radícula\ no\ controle\ negativo} \times 100$$

- IG: índice de germinação

$$IG(\%) = \frac{GRS \times CRR}{100}$$

- IGN: índice de porcentagem de germinação residual normalizado

$$IGN(\%) = \frac{Germ\ x - Germ\ controle}{Germ\ controle}$$

Onde,

Germ x é a porcentagem média de sementes germinadas em cada amostra;

Germ controle é a porcentagem de sementes germinadas no controle.

- IER: índice de porcentagem de alongamento radical residual normalizado

$$IER(\%) = \frac{Along\ x - Along\ controle}{Along\ controle}$$

Onde,

Along x é o comprimento médio da radícula das sementes germinadas em cada amostra;

Along controle é o comprimento médio da radícula das sementes germinadas no controle.

Segundo González *et al*. (2011), os índices IGN e IER indicam o nível de toxicidade, seguindo as seguintes categorias:

- 0 a -0,25: Toxicidade baixa;
- -0,25 a -0,5: Toxicidade moderada;
- -0,5 a -0,75: Toxicidade alta;
- -0,75 a -1,0: Toxicidade muito alta;
- maior que 0: Hormese

Onde hormese seria um efeito estimulante causado por baixas doses do contaminante, o que não significa que o contaminante seja benéfico para o organismo-teste (JACOB, 2014).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Visitas ao local de geração do efluente em estudo mostraram que este possivelmente está sendo lançado na rede coletora de água pluvial, o que poderia conduzi-lo, sem nenhum tratamento prévio, até um corpo d'água afluente do Rio Meia Ponte, que é um rio de grande importância para a cidade de Goiânia e para o estado de Goiás. O Rio Meia Ponte se enquadra na Classe 2, ou seja, pode ser destinado ao abastecimento para

consumo humano após tratamento convencional; à proteção das comunidades aquáticas e à recreação de contato primário, de acordo com a Resolução CONAMA 357 (2005).

O Quadro 2 apresenta os parâmetros físico-químicos do efluente bruto analisado e os padrões de lançamento em águas de Classe 2 de acordo com a Resolução CONAMA 430 (2011) e com o Decreto n° 1.745 (ESTADO DE GOIÁS, 1979).

Quadro 2– Parâmetros físico-químicos do efluente e os padrões de lançamento federal e estadual.

Parâmetros	Concentração no efluente têxtil (mg/L)	Padrão de lançamento - CONAMA 430/2011 (mg/L)	Padrão de lançamento - Decreto Estadual 1.745/79 (mg/L)
Alumínio (mg/L)	1.548	-	-
Boro (mg/L)	0.010	5.0	1
Bário (mg/L)	0.066	5.0	1
Berílio (mg/L)	<LQ	-	-
Bismuto (mg/L)	<LQ	-	-
Cálcio (mg/L)	27.522	-	-
Cádmio (mg/L)	<LQ	0.2	0.05
Cobalto (mg/L)	<LQ	-	-
Cromo (mg/L)	0.083	0.1	0.05
Cobre (mg/L)	0.023	1.0	1
Ferro (mg/L)	0.077	15.0	-
Potássio (mg/L)	12	-	-
Lítio (mg/L)	0.0007	-	-
Magnésio (mg/L)	11	-	-
Manganês (mg/L)	0.027	1.0	-
Molibidênio (mg/L)	<LQ	-	-
Sódio (mg/L)	24	-	-
Níquel (mg/L)	0.009	2.0	-
Fósforo (mg/L)	0.058	-	-
Chunbo (mg/L)	0.012	0.5	0.05
Estanho (mg/L)	0.032	4.0	0.2
Estrôncio (mg/L)	0.077	-	-
Titânio (mg/L)	0.477	-	-
Tálio (mg/L)	<LQ	-	-
Vanádio (mg/L)	0.014	-	-
Zinco (mg/L)	0.600	5.0	5
DQO (mg/L)	2981.53	-	-
DBO (mg/L)	9.05	remoção mín 60%	60

Cor Aparente (UC)	75500	-	-
Turbidez (UT)	25300	-	-
Sólidos Dissolvidos Totais (g/L)	1.95	-	-
Sólidos Sedimentáveis (mL/L)	<1	1	1
pH	6.85	5 a 9	5 a 9
OD (mg/L)	6.95	-	> 5

Segundo o Decreto n° 1.745 (ESTADO DE GOIÁS, 1979), não é permitido o "lançamento de corantes artificiais que não sejam removíveis por processo de coagulação sedimentação e filtração convencionais". Este efluente apresentou cor aparente muito elevada (75500 UC) e os produtos utilizados no processo de serigrafia são solúveis em água, o que pode dificultar a retirada da cor. Resta saber se os processos citados no decreto são eficientes na remoção deste corante.

A cor elevada é muitas vezes relacionada com a presença de compostos não biodegradáveis. Já a turbidez é uma maneira de avaliar a quantidade de Sólidos em Suspensão, e geralmente não é um parâmetro analisado antes do lançamento de efluentes, entretanto pode trazer prejuízos como o impedimento da passagem de luz ao longo da coluna d'água, prejudicando os organismos fotossintetizantes (JORDÃO; PESSOA, 1975).

O mesmo pode acontecer quando a cor aparente é elevada, pois esta engloba a turbidez da amostra. O trabalho de Freitas (2002), analisou uma série de efluentes têxteis com colorações diferentes e para efluentes de "cor de intensidade escura", o maior valor de cor foi 1890 UC e de turbidez, 215,90 NTU, ainda bem menores que os valores mostrados no Quadro 2, de 75500 UC e 25300 NTU.

A cor e turbidez são importantes também para o aspecto estético de corpos d'água e de águas de abastecimento. Um efluente com estes níveis de cor e turbidez mudariam drasticamente as características do curso d'água, dependendo do volume lançado.

Além da cor aparente, o cromo total também se encontra acima dos valores máximos permitidos, como pode ser visto no Quadro 2. Os ensaios conduzidos por Charles *et*

al.(2002) concluem também que misturas de metais apresentam maior toxicidade que cada metal individualmente.

O cromo pode ocorrer naturalmente em água doce a uma concentração média de 9,7 µg/L, podendo variar de 0,1 a 117 µg/L. Algumas espécies de plantas podem apresentar resistência aos efeitos do cromo em baixas concentrações, mas na maioria das espécies este metal apresenta efeitos deletérios para todas as fases de vida das plantas: redução da germinação, diminuição do crescimento da raiz, redução no peso, redução da quantidade de folhas e flores por indivíduo e aumento da deformação de sementes (SHANKER *et al*., 2005).

A DBO encontrada está dentro do limite de emissão padronizado pelo Decreto Estadual nº 1745 de 1979, que preconiza que a DBO_5 deve ser inferior a 60 mg/L ou que a remoção da mesma seja de 80%.

A DBO, segundo Sperling (1996) é relativa à parcela biodegradável oriunda dos elementos orgânicos carbonáceos, o que revela a quantidade de oxigênio consumida para oxidar a matéria orgânica, enquanto a DQO, segundo Jordão e Pessoa (2014), é relativa à quantidade de oxigênio necessária para degradar a fração orgânica somada à oxidação dos sais minerais oxidáveis. Assim, a diferença entre DQO e DBO revela a quantidade de sais minerais oxidáveis.

O fato de o efluente apresentar uma DBO relativamente baixa e uma DQO alta implica em uma elevada relação de DQO/DBO, o que significa que uma grande parcela da matéria orgânica não é biodegradável, o que pode gerar ainda mais problemas para o corpo receptor.

Os demais parâmetros analisados encontram-se dentro dos padrões estabelecidos, entretanto muitos dos parâmetros não são citados em nenhum dos documentos, mesmo sendo reconhecidamente danosos ao meio ambiente, como é o caso do vanádio (CHARLES *et al*., 2002).

4.2. ANÁLISES ECOTOXICOLÓGICAS

4.2.1. Ensaio com *Lactuca sativa*

A média do comprimento do hipocótilo da espécie *Lactuca sativa* e sua porcentagem de inibição são apresentados no Quadro 3, assim como o desvio padrão ocorrido nas 60 plântulas de cada amostra. A inibição do crescimento do hipocótilo foi tão maior quanto maior a concentração do efluente, notando que a menor concentração teve um crescimento de 5 mm a mais que o próprio controle negativo.

Quadro 3- Alongamento do hipocótilo da *Lactuca sativa*: média, desvio padrão e porcentagem de inibição do crescimento.

Amostra		Média do comprimento do hipocótilo (cm)	Desvio padrão	Porcentagem de inibição do hipocótilo (%)
Controle negativo		2.74	0.80	-
Concentração	0.01%	2.75	0.85	-0.19
	0.1%	2.72	0.89	0.72
	1%	2.54	0.77	7.29
	10%	2.45	0.78	10.66
	100%	2.13	0.61	22.28
Controle positivo		0.00	0.00	100.00

Comparando o Quadro 3 com o Quadro 4, observa-se que os comprimentos médios das radículas são maiores que dos hipocótilos e que no caso das radículas a concentração que apresentou um estímulo, ao invés de inibição, foi a de 0,1%. Entretanto a diferença de comprimentos foi muito pequena e pode não ser significativa.

Esse estímulo provoca um desvio no comportamento habitual do gráfico dose-resposta do experimento com a espécie *Lactuca sativa*, mostrada na Figura 7. A Figura 8 foi apresentada por Baez, Rossini e Granados (2004) como uma curva dose-resposta padrão para ensaios de toxicidade, em que a resposta (porcentagem de mortalidade) aumenta à medida que se aumenta a concentração, formando uma curva do tipo sigmóide. No presente trabalho não houve inibição de germinação, e a resposta medida na Figura 8 foi a inibição do crescimento da radícula.

O desvio na curva padrão pode ter sido provocado pelo intervalo de tempo entre a leitura das placas. Sobrero e Ronco (2008) recomendam congelá-las após a observação geral de efeitos fitotóxicos e descongelá-las à medida em que for feita a medição das plântulas. Este procedimento não foi realizado neste trabalho, mas permitiria a redução da variabilidade entre as medições no caso de estruturas enroladas e possivelmente favoreceria a diferença provocada pelo intervalo de tempo entre as medições das placas.

Ainda segundo Sobrero e Ronco (2008), recomenda-se realizar ensaios de diluições logarítimicas, como foi o caso deste trabalho, para amostras de toxicidade desconhecida, o que provavelmente levaria a resultados entre 0 e 100% e permitiria o cálculo do CI_{50}, o que não ocorreu nestes experimentos, pois as porcentagens de inibição da radícula variaram apenas entre 0 e 16%.

A germinação relativa (GRS) obtida para todas as amostras foi maior que 100%, ou seja, a porcentagem de germinação das amostras foi maior que no controle negativo, como visto no Quadro 5. Isso pode ter acontecido porque algumas das substâncias presentes, como o zinco, são importantes micronutrientes para plantas, entretanto podem ser tóxicos quando presentes em altas concentrações (CHARLES *et al*., 2002).

Quadro 4 - Alongamento da radícula da *Lactuca sativa*: média, desvio padrão e porcentagem de inibição do crescimento.

Amostra		Média do comprimento da radícula(cm)	Desvio padrão	Porcentagem de inibição do crescimento da radícula (%)
Controle negativo		4.13	1.35	-
Concentração	0.01%	4.11	1.44	0.34
	0.1%	4.31	1.69	-4.39
	1%	3.84	1.14	7.04
	10%	3.50	1.01	15.23
	100%	3.47	0.90	15.97
Controle positivo		0.00	0.00	100.00

Figura 7 - Gráfico dose-resposta da Lactuca sativa.

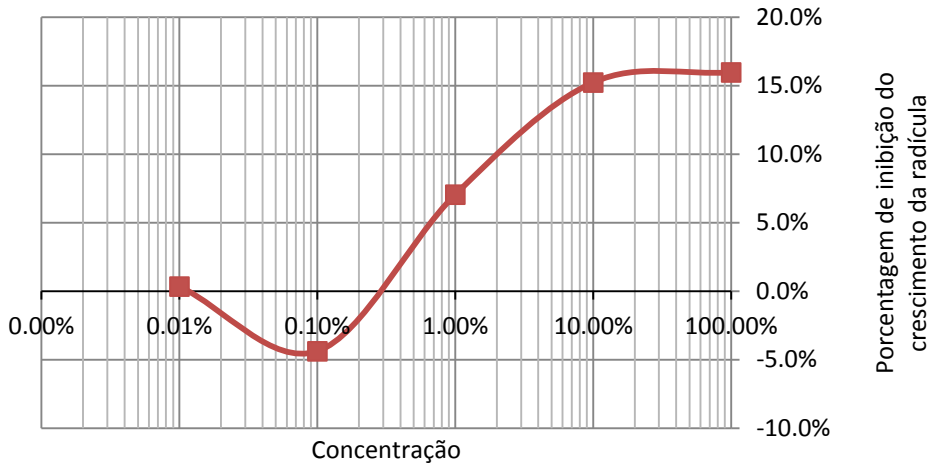
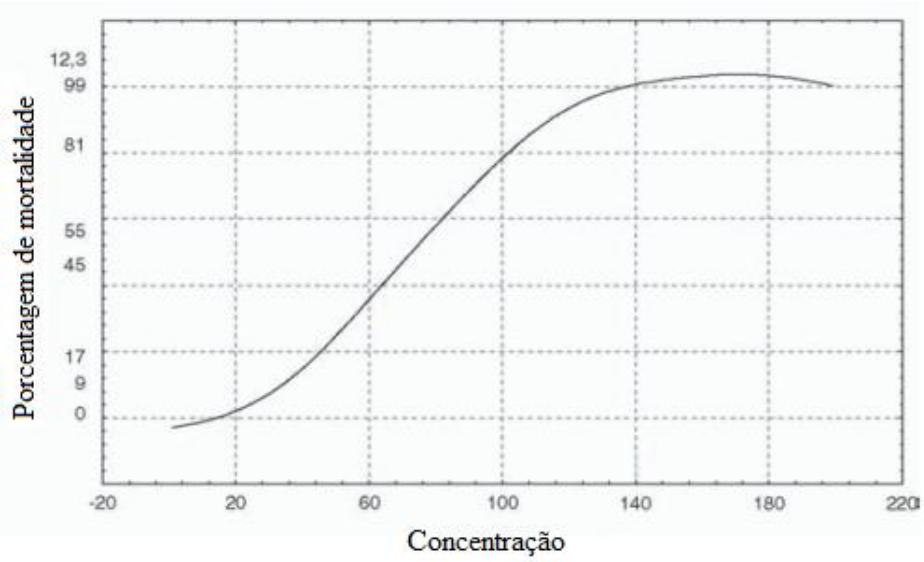


Figura 8 – Comportamento padrão da curva dose-resposta.



Fonte: Baez, Rossini e Granados (2004)

Já em relação ao crescimento relativo da radícula (CRR), apenas a amostra de concentração 0.1% apresentou um valor maior que 100%, devido a um maior desenvolvimento da radícula em relação ao controle negativo. As demais amostras apresentaram um CRR decrescente, à medida em que se aumentou a concentração,

sendo que a maior diluição obteve mais de 99% de crescimento relativo. Com isso, o índice e germinação (IG) apresentou o mesmo comportamento do CRR.

Quadro 5 - Germinação das sementes de *Lactuca sativa*: Porcentagem, germinação relativa da semente (GRS), crescimento relativo da radícula (CRR), índice de germinação (IG), índice de porcentagem de germinação residual normalizado (IGN), índice de porcentagem de alongamento radical residual normalizado (IER).

Amostra		Porcentagem de germinação (%)	GRS (%)	CRR (%)	IG (%)	IGN (%)	IER (%)
Controle negativo		94.82	-	-	-	-	-
Concentração	0.01%	95.00	100.2	99.7	99.8	0.002	-0.003
	0.1%	95.00	100.2	104.4	104.6	0.002	0.044
	1%	96.67	101.9	93.0	94.8	0.019	-0.070
	10%	96.67	101.9	84.8	86.4	0.019	-0.152
	100%	96.58	101.9	84.0	85.6	0.019	-0.160
Controle positivo		0.00	0.0	0.0	0.0	-1.000	-1.000

Os resultados do IGN se mostraram muito baixos, porém maiores que zero o que pode indicar ausência de toxicidade ou até mesmo hormese, ou seja, o efluente causou um efeito estimulante, como já observado através do GRS. Esses resultados são provavelmente devido aos micronutrientes presentes nas amostras, como por exemplo, fósforo, potássio e ferro são metais necessários para o desenvolvimento dos seres vivos, entretanto isso não significa que o efluente não seja tóxico.

O efeito de hormese acontece quando uma substância causa efeitos tóxicos em grande quantidade, entretanto é, de certa forma, útil aos organismos que não se encontram numa situação ótima (JUSSELINO, 2002).

Por outro lado, o IER indicou que todas as concentrações apresentaram toxicidade e, de acordo com o índice de González *et al*. (2011), foram enquadradas em um nível de toxicidade baixa, pois estão dentro do intervalo de 0 a -0,25, como é apresentado no Quadro 5. Além disso, houve a presença de estruturas necrosadas e radículas enroladas em várias das placas, o que também pode ser um sinal de toxicidade.

A toxicidade apresentada pode ser devido ao cromo, que é o metal que encontra-se acima do máximo permitido pela legislação estadual. No estudo de Chia e Rilwan

(2014), por exemplo, o efluente com corante também apresentou alta concentração de cromo e também demonstrou toxicidade no organismo teste.

O fato de o IER, que é um índice mais sensível (GONZÁLEZ *et al*, 2011), mostrar baixa toxicidade, enquanto o IGN não demonstra toxicidade alguma, significa que os níveis de toxicidade são tão baixos que não demonstram efeitos agudos, mas são capazes de causar efeitos não letais, como o retardo no desenvolvimento da plântula. Ou seja, os testes não demonstraram toxicidade aguda, apenas crônica.

Esse nível de toxicidade foi observado até mesmo na maior das diluições, portanto mesmo que esse efluente seja diluído no corpo hídrico pode vir a causar graves problemas no desenvolvimento de plantas, tanto aquáticas quanto terrestres, além de outros organismos. Considerando que esta indústria gera dezenas de litros de efluente por dia, este não deve ser lançado no ambiente sem um tratamento prévio, caso contrário pode causar uma série de desequilíbrios ecológicos.

4.2.1. Ensaio com *Allium cepa*

Ao final do tempo de incubação do organismo teste *Allium cepa*, observou-se que algumas das placas continham uma grande quantidade de fungos e em outras ocorreu o ressecamento do papel filtro, mesmo estando envolvidas com papel Parafilm®. As placas que apresentaram algum desses problemas e não permitiram o desenvolvimento característico das sementes foram descartadas dos cálculos.

Embora não seja comum a análise do hipocótilo da plântula de cebola, neste trabalho calculou-se a média, desvio padrão e sua porcentagem de inibição no Quadro 6. A porcentagem de inibição do hipocótilo não demonstrou um padrão em relação à concentração da amostra e o maior desenvolvimento do hipocótilo ocorreu na concentração de 0,1%.

Quadro 7 - Alongamento do hipocótilo da *Allium cepa*: média, desvio padrão e porcentagem de inibição do crescimento.

Amostra		Média do comprimento do hipocótilo(cm)	Desvio padrão	Porcentagem de inibição do hipocótilo (%)
Controle negativo		2.76	0.68	
Concentração	0.01%	1.37	1.12	50.54
	0.1%	2.78	1.37	-0.60
	1%	2.32	1.60	15.82
	10%	1.49	1.15	46.20
	100%	2.75	0.95	0.24
Controle positivo		1.72	1.42	37.56

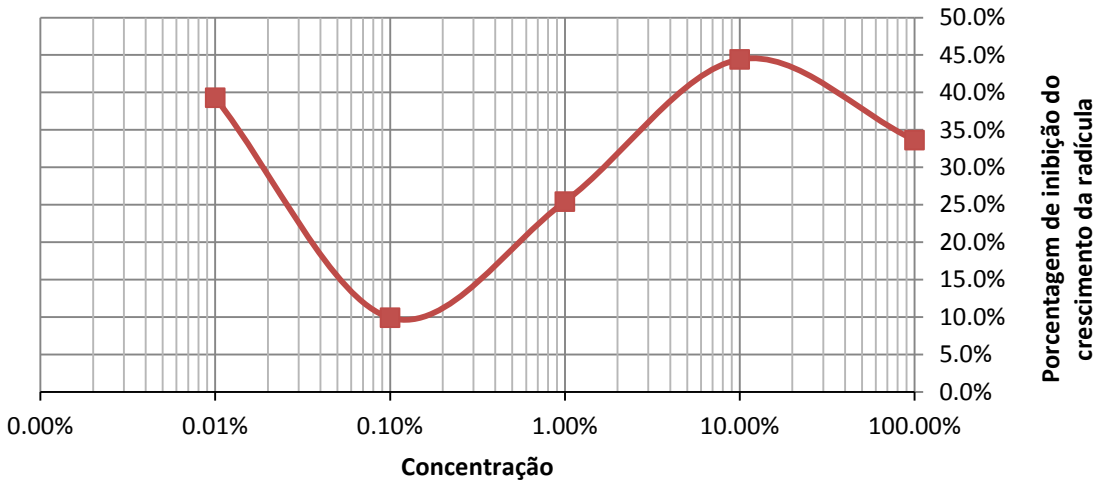
Já o Quadro 7 demonstra os cálculos relativos à radícula da *Allium cepa*, apresentando a média, desvio padrão e porcentagem de inibição do crescimento. Esta estrutura também demonstrou alguns valores elevados de desvio padrão e a média da radícula e sua inibição também não apresentaram uma uniformidade de resultados em relação ao contaminante. Neste caso, entretanto, o controle negativo apresentou um comprimento médio da radícula superior ao das amostras.

Quadro 7 - Alongamento da radícula da *Allium cepa*: média, desvio padrão e porcentagem de inibição do crescimento.

Amostra		Média do comprimento da radícula(cm)	Desvio padrão	Porcentagem de inibição do crescimento da radícula (%)
Controle negativo		2.15	0.61	-
Concentração	0.01%	1.31	0.92	39.30%
	0.1%	1.94	1.06	9.92%
	1%	1.60	1.08	25.43%
	10%	1.20	0.50	44.42%
	100%	1.43	0.50	33.64%
Controle positivo		1.24	0.77	42.33%

A Figura 9 mostra o gráfico dose-resposta do experimento com *Allium cepa*, que não apresentou o comportamento esperado, onde a inibição aumentaria à medida em que se aumenta a concentração do contaminante (Figura 8).

Figura 9 - Gráfico dose-resposta da *Allium cepa*.



Como a maior germinação ocorreu no controle negativo, o GRS de todas as placas esteve entre 70% e 96,67%, não ultrapassando 100%, mas houve um caso em que uma das concentrações obteve uma porcentagem ainda mais baixa que o próprio controle negativo. O mesmo aconteceu para o CRR, entretanto nenhum dos dois índices mostraram uniformidade nos resultados. Tais índices podem ser observados no Quadro 8.

Quadro 8 - Germinação das sementes de *Allium cepa*: Porcentagem, germinação relativa da semente (GRS), crescimento relativo da radícula (CRR), índice de germinação (IG), índice de porcentagem de germinação residual normalizado (IGN), índice de porcentagem de alongamento radical residual normalizado (IER).

Amostra		Porcentagem de germinação (%)	GRS (%)	CRR (%)	IG (%)	IGN (%)	IER (%)
Controle negativo		100.00	-	-	-	-	-
Concentração	0.01%	70.00	70.00	60.70	42.49	-0.30	-0.39
	0.1%	86.67	86.67	90.08	78.07	-0.13	-0.10
	1%	76.67	76.67	74.57	57.17	-0.23	-0.254
	10%	90.00	90.00	55.58	50.02	-0.10	-0.44
	100%	96.67	96.67	66.36	64.14	-0.03	-0.34
Controle positivo		76.67	76.67	57.67	44.22	-0.23	-0.42

Os valores de IG mantiveram-se entre 42.5% e 78%, e não foi observada nenhuma uniformidade, sendo que o controle positivo apresentou apenas 44,2%. O índice IGN classificou a concentração de 0,01% como um nível moderado de toxicidade, e as demais amostras com toxicidade baixa. Já o IER apresentou baixa toxicidade a 0,1% e moderada para as demais concentrações, inclusive para o controle positivo. O fato de os valores de IER apresentarem, em sua maioria, maior toxicidade pode estar relacionado com a maior sensibilidade à toxicidade do IER em relação ao IGN.

Como a inibição da germinação foi inferior a 50% em todas as concentrações, o CI_{50} e o CE_{50} também não foram calculados.

No geral, os índices não apresentaram um comportamento uniforme, entretanto não são comumente aplicados para este teste. Mesmo assim, esses organismos pareceram apresentarar uma toxicidade a partir dos índices calculados. O teste de cebola é mais utilizado para a avaliação dos potenciais citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos através dos bulbos. Os ensaios com sementes de cebola ainda podem ser explorados mais a fundo para perceber suas peculiaridades e possíveis formas de melhorar o método.

Costa, Silva e Rocha (2016) também fizeram a análise da taxa de germinação e a taxa de inibição do crescimento da radícula para amostras contaminadas com cromo e também não obtiveram resultados claros, pois a diferença entre os comprimentos não foram significativas, tampouco foi a diminuição da germinação em relação ao controle negativo. Tal comportamento pode ter ocorrido devido a um tempo de exposição insuficiente, pois há diferentes tempos utilizados na literatura, chegando a até 12 dias.

Outro possível motivo para que esses resultados não tenham sido tão claros é o fato de a germinação do lote de sementes utilizado estar abaixo do recomendado pela norma.

5. CONCLUSÃO

Os testes com a alface (*Lactuca sativa*) mostraram que o efluente da estamparia não é tóxico quando considera-se a germinação como indicador, mas quando a inibição do crescimento da radícula é utilizado como indicador, então obtêm-se um nível de

toxicidade baixa para todas as concentrações, desde a amostra bruta, até a diluição de 0,01%, o que significa que mesmo contando com o grande poder de diluição do corpo d'água, o efluente pode vir a causar uma série de efeitos deletérios aos organismos aquáticos e àqueles que se encontram às margens do rio.

Tais efeitos podem ter sido causados pelo fato do cromo apresentar-se fora dos padrões estipulados pela legislação para o lançamento de efluentes no estado de Goiás.

Já o teste com a cebola (*Allium cepa*), demonstrou toxicidade baixa ou moderada para as amostras de efluente, entretanto não foi possível obter bons resultados e concluir com segurança, pois a inibição tanto da germinação, quanto do crescimento não demonstraram um padrão em relação à concentração do contaminante.

A partir dos resultados do ensaio com *Lactuca sativa*, constatou-se que o efluente têxtil com corante pode causar problemas para os ecossistemas aquáticos e comunidades cercanas às margens de corpos hídricos. Portanto, sugere-se que estudos futuros busquem formas de tratamento eficientes e financeiramente acessíveis para esse tipo de efluente. Além disso, para melhores resultados nos testes de toxicidade pode-se realizar ensaios com um intervalo menor de concentrações para obter resultados mais precisos.

REFERÊNCIAS

ALVIM, L. B.; KUMMROW, F.; BEIJO, L. A.; DE ANDRADELIMA, C. A.; BARBOSA, S. Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando Allium cepa L. **Revista Ambiente & Água**, Taubaté, v. 6, n. 2, p. 255-265, 2011.

APHA . Standard methods for the examination of water and wastewater. 20a ed. **American Public Health Association**. Washington, EUA, 1325 p, 1995.

ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R.. Plant bioassays to assess toxicity of textile sludge compost. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 3, p. 286-290, 2005.

BAEZ, M. C.; GRANADOS, Y. P.; RONCO, A. **Ensayo de toxicidad aguda con el cladocero *Daphnia magna*.** *In:* ROMERO, P. R.; CANTÚ, A. M. (Eds). **Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo**: la experiencia en México. 1. ed. México: Instituto Nacional de Ecología, 2008. 414 p. Disponível em: < https://books.google.com.br/books?id=wdJWUOj81isC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false> [Acesso em: junho de 2017]

BAEZ, M. C. D.; ROSSINI, G. D. B. ; GRANADOS, Y. P. **Métodos Estadísticos para el análisis de resultados de toxicidad**. *In*: MORALES, G. C. (Ed.). **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas:** estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. 1. ed. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, 2004. 71 p.

BAGATINI, M. D.; VASCONCELOS, T. G.;LAUGHINGHOUSE, H. D.; MARTINS, A. F.; TEDESCO, S. B. Biomonitoring hospital effluents by the *Allium cepa L*. test. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, 82(5), 590, 2009.

BAIRD, C**. Química Ambiental**, tradução: RECIO, M. A. L.; CARRERA, L. C.M.; 2a ed., Porto Alegre: Bookman, 2002.

CHARLES, J.; SANCEY, B.; MORIN-CRINI, N.; BADOT, P. M.; DEGIORGI, F.; TRUNFIO, G.; & CRINI, G. Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (Lactuca sativa) as a bioindicator. **Ecotoxicology and environmental safety**, 74(7), p. 2057-2064, 2002.

CHIA, M. A.; RILWAN I. M. Effect of indigo dye effluent on the growth, biomass production and phenotypic plasticity of Scenedesmus quadricauda (Chlorococcales). **Anais Academia Brasileira de Ciências**. 2014. v. 86, p. 419-428.

CONAMA: CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução CONAMA nº 357**, de 17 de maio de 2005. Disponível em: < http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>. [Acesso em: novembro de 2017]

CONAMA: CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução CONAMA nº 430**, de 13 de maio de 2011. Disponível em: < http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646 >. [Acesso em: junho de 2017]

CONNELL, D.W.; MILLER, G.J. **Chemistry and ecotoxicology of pollution**. Canada: John Wiley & Sons, 1984. v. 65.

COSTA, C. R.; OLIVE, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

COSTA, M. H. P.; Silva, P. C. C.; Rocha, C. A. M. Efeitos do cromo hexavalente sobre o crescimento de raízes e ciclo celular no meristema da ponta da raiz de *Allium cepa*. **Biota Amazônia**, v. 6, n. 3, p. 40-44. 2016.

CRANE, M.; BURTON, G. A.; CULP, J. M.; GREENGERG, M. S.; MUNKITTRICK, K. R.; RIBEIRO, R.; SALAZAR, M. H.; ST-JEAN, S. D. Review of aquatic in situ approaches for stressor and effect diagnosis. **Integrated environmental assessment and management**, v. 3, n. 2, p. 234-245, 2007.

ESTADO DE GOIÁS. **Decreto nº 1745, de 06 de dezembro de 1979**. Aprova o Regulamento da Lei nº 8544, de 17 de outubro de 1978. Disponível em: <http://www.mp.go.gov.br/nat_sucroalcooleiro/Documentos/legislacao/especifica/03.pdf> [Acesso em: novembro de 2017]

FREITAS, K. R."Caracterização e reuso de efluentes do processo de beneficiamento da indústria têxtil." 2002.

GONZÁLEZ, M. G. B.; MOLINA C. E.; PEINADO F. M.; RUANO S. M. "Toxicity assessment using Lactuca sativa L. bioassay of the metal (loid)s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site." **Journal of soils and sediments.** v. 11, n. 2, p. 281-289, 2011.

Brasil. "Política Nacional de Meio Ambiente." *In*: Política nacional do meio ambiente. Senado Federal, 1978.

GROVER, I. S.; KAUR, Satwinderjeet. Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the Allium root anaphase aberration and micronucleus assays. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 426, n. 2, p. 183-188, 1999.

HERNÁNDEZ, R. U. **Ensayo de inhibición de la germinación y del alargamiento radicular en semillas de cebolla *Allium cepa* y *Soya Glycine max***. *In*: ROMERO, P. R.; CANTÚ, A. M. (Eds). **Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo**: la experiencia en México. 1. ed. México: Instituto Nacional de Ecología, 2008. 414 p.

HODGSON, E**. *A Textbook of Modern Toxicology***. 3rd ed., New Jersey: John Wiley & Sons, 2004, 557 p.

JACOB, R. S. "Avaliação ecotoxicológica por Aliivibrio fischeri de amostras contaminadas com sulfato de gentamicina e norfloxacino brutas e tratadas." (2014)

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C., A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 6 ed. São Paulo. Cetesb, 1975.

JUSSELINO-FILHO P. Hormese: um pouco de algo perigoso pode ser bom!?. Tese (Doutorado em Entomologia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG. 2002.

KENDALL, R.J.; ANDERSON, T. A.; BENS, C. M.; CARR, J. A. Ecotoxicology. **USDA National Wildlife Research Center-Staff Publications**, 516, 2001.

KRUIF, H. A. M. Manual on Aquatic Ecotoxicology. **Kluwer Academica Publishers: Dordrecht**,1988.

LEUBNER, G. Endospermic seed structure (Monocots): Alliaceae – onion. 2000. Disponível em: <http://www.seedbiology.de/structure.asp#onion> [Acesso em: novembro de 2017]

MACHADO, J.M; LACERDA, G. A.; MOURA, C. S.; COELHO, C. A. L. Curva de inibição para bioensaio de toxicidade aguda com sementes de alface utilizando o zinco. *In*: 5º SEMINÁRIO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA FUNEDI/UEMG, 2009, Divinópolis. **Anais...** Divinópolis: FUNEDI/UEMG, 2009.

MALINI, M. ; MORALES, M. A. M. ; MANTOVANI, M., S. ; JAMAL, C. M. ; NATI, N. ; PASSOS, T. S. ; MATSUMOTO, S. T. "Determination of the antimutagenicity of an aqueous extract of Rhizophora mangle L.(Rhizophoraceae), using in vivo and in vitro test systems." **Genetics and molecular biology** 33.1 (2010): 176-181.

MORIARTY, F. 1988. **Ecotoxicology:** The study of pollutants in ecosystems. Segunda edição. Gran Bretaña: Academic Press, 1988, 289 p.

PAIVA, D. M., e FERRÃO, A. S. F.. "A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos." **Oecologia Australis** 12.3, 355-381 2009.

POMPÊO, M.. Monitoramento e manejo de macrófitas aquáticas. **Oecologia Australis**, v. 12, n. 3, p. 406-424, 2009.

PRADO, L. S.; LOMPART, M.; JARES, C. G.; BAYONA, J. M.; CELA, R. Monitoring the photochemical degradation of triclosan in waste water by UV light and sunlight using solid phase micro-extraction. **Chemosphere**, 65, p. 1338-1347, 2006.

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; MCCARTY, L. S. **Fundamentals of AquaticToxicology*:*** Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment. 2nd ed. Washington: Taylor & Francis, 1995. 1099 p.

RATNA ; PADHI, B. S. Pollution due to synthetic dyes toxicity & carcinogenicity studies and remediation. **International Journal of Environmental Sciences**, v. 3, n. 3, p. 940, 2012.

RIBO, J. M. Interlaboratory Comparison Studies of the Luminescent Bacteria Toxicity Bioassay. **Environmental Toxicology.** 12.4: 283-294, 1997.

ROMERO, A. J. R.; SALAZAR, C.A.R.; PICOS, R.A.R.; LOPEZ, E.L.; DÍAZ, J.E.S.; DORANTES, A.R. Índices de germinación y elongación radical de Lactuca sativa en el biomonitoreo de la calidad del agua del río Chalma. **Revista internacional de contaminación ambiental**, v.*30, n.* 3, p.307-316, 2014.

ROMERO, P. R.; CANTÚ, A. M. (Eds). **Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo**: la experiencia en México. 1. ed. México: Instituto Nacional de Ecología, 2008. 414 p. Disponível em: <

https://books.google.com.br/books?id=wdJWUOj81isC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false> [Acesso em: junho de 2017]

SHANKER, A. K.; CERVANTES, C.; TAVERA, H. L.; AVUDAINAYAGAM. S. "Chromium toxicity in plants." **Environment international**, v. 31, n. 5, p. 739-753, 2005.

SILVA, B. C.; CALHEIROS, H. C. **Águas Superficiais**. In: CAPAZ, R.; NOGUEIRA, L. **Ciências Ambientais para Engenharia.** 2015, 102 p. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/book/9788535277395> [Acesso em: 17/05/2017]

SILVA, S. A.; OLIVEIRA, R. Manual de Análises Físico-Químicas de Águas de Abastecimento e Residuárias. Campina Grande: DEC/CCT/UFPG. 2001.

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. **Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L)** *In*: MORALES, G. C. (Ed.). **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas:** estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. 1. ed. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, 2004. 71 p. Disponível em: < https://idl-bnc-idrc.dspacedirect.org/bitstream/handle/10625/26391/IDL-26391.pdf?sequence=106> [Acesso em: agosto de 2017]

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. **Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa L.*** *In*: ROMERO, P. R.; CANTÚ, A. M. (Eds). **Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo**: la experiencia en México. 1. ed. México: Instituto Nacional de Ecología, 2008. 414 p. Disponível em: < https://books.google.com.br/books?id=wdJWUOj81isC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false> [Acesso em: junho de 2017]

SPERLING, M. V. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Lagoas de estabilização**. Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), v. 3, Belo Horizonte – MG, 1996.

TRUHAUT, R. Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives**. Ecotoxicology and Environmental Safety,** 1:151-173, 1977.

VISIOLI, G. ; CONTI, F. D. ; GARDI, C. ; MENTA, C. Germination and root elongation bioassays in six different plant species for testing Ni contamination in soil. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 92, n. 4, p. 490-496, 2014.

WALTER I.; MARTÍNEZ F.; CALA V. (2006). Heavy metal speciation and phytotoxic effects of three representative sewage sludges for agricultural uses. **Environmental Pollution** 139, 507-514.

WANG, W.; KETURI, P. H. **Comparative seed germination tests using ten plant species for toxicity assessment of a metal engraving effluent sample**. Water, Air, and Soil Pollution, v. 52, n. 3-4, p. 369-376, 1990.

WANG, W. **Literature review on higher plants for toxicity testing**. Water, Air, & Soil Pollution, v. 59, n. 3, p. 381-400, 1991.