



**AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA DOS  
SURFACTANTES DSS E LAS SUBMETIDOS À  
IRRADIAÇÃO COM FEIXES DE ELÉTRONS**

**MARIA FERNANDA ROMANELLI**

**Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do Grau  
de Mestre em Ciências na Área de  
Tecnologia Nuclear - Aplicações.**

**Orientadora:  
Dra. Sueli Ivone Borrely**

**São Paulo  
2004**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**

**“AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO”**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA DOS SURFACTANTES  
DSS E LAS SUBMETIDOS À IRRADIAÇÃO COM FEIXE DE ELÉTRONS**

**MARIA FERNANDA ROMANELLI**



**Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para a obtenção do Grau de Mestre  
em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear –  
Aplicações.**

**Orientadora: Dra. Sueli Ivone Borrely**

**Exemplar revisado pelo autor**

**São Paulo**

**2004**

**Dedico este trabalho, com muito carinho, aos meus pais**

**Maria José e Edgard e ao meu irmão Chico,**

**minhas fontes mais verdadeiras**

**de amor e felicidade.**

**“Águas da terra...  
Águas de março...  
Água dos rios...  
Águas da fonte...  
Que carrega a energia  
De onde surge até o ser  
De noite, de dia...  
Segue o horizonte.  
Água que guarda  
Ou transporta a vida  
Água doce...  
Água florida  
Salgada...  
Ou refletida  
Que circunda a terra...  
Que permite a vida.  
Vem com os ventos do sul...  
Ou com os ventos do norte.  
Lava o tempo...  
Leva a semente.  
Limpida...  
Transparente.  
Transportando a luz,  
Saciando a sede  
E ainda,  
Acalmando a mente.”**

**Têre Zagonai**

## **Agradecimentos**

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares por possibilitar a realização deste trabalho.

À minha orientadora Dra. Sueli Borrely pelos ensinamentos, pela atenção e dedicação, e por ter me apresentado à Ecotoxicologia.

À Dra. Anna Lúcia, por ter me recebido no IPEN de braços abertos, pela colaboração no início do Mestrado como orientadora e, principalmente, pela amizade valiosa.

À Dra. Maria Helena e à Dra. Celina pelo apoio técnico e científico.

À equipe de operação do acelerador de elétrons do CTR, Beth, Carlos e Hélio, pela paciência e grande colaboração nas irradiações.

Aos companheiros de laboratório Giovana, Carlo, Vladimir, Reginaldo e Dna Helena, que tanto me ajudaram.

A todos os bolsistas do CTR, em especial aos meus amigos Daniela, Icimone, Antônio, Rita, Tuca, Kely, Selma, Juliana, Elaine, Fábio, Paula, Alan e Michel e às ex-bolsistas do CTR Paula, Andréia Harumy e Andréia Cercan, pelas dicas tão importantes na Pós-Graduação e pela amizade.

Ao MSc Hiroshi Oikawa pela colaboração neste trabalho com as análises de COT.

À Dra. Kayo, Dra. Márcia, Lenita e especialmente à Miriam, que muito me ajudou nos ensaios do Cometa!

Ao Dr. Afonso Aquino e à Dra. Marta Vieira pela colaboração no PAE e pela amizade.

À Dra. Elisabete Braga por toda a contribuição no trabalho e no Seminário de Área.

À Cristina, companheira de trabalho, um pouco mãe, um pouco irmã, minha amiga.

Ao Dr. João Osso, professor e grande amigo.

Ao Rodrigo, que depois de um longo tempo sem dar notícias apareceu e colaborou com a estatística complicada.

Às minhas amigas irmãs Kate e Lúcia, por todo o carinho e companheirismo.

Ao Rafael, por toda a ajuda neste trabalho, pela paciência e principalmente por todo o amor e carinho.

À toda a minha família, por ter compartilhado esta fase tão importante da minha vida e à Lady, pela sua alegria contagiante.

# AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA DOS SURFACTANTES DSS E LAS SUBMETIDOS À IRRADIAÇÃO COM FEIXE DE ELÉTRONS

Maria Fernanda Romanelli

## RESUMO

Os surfactantes são compostos orgânicos sintéticos amplamente utilizados nas indústrias cosmética, alimentar, têxtil, de corantes, de produção de papel e especialmente na indústria de detergentes e demais produtos de limpeza. O consumo mundial de surfactantes é cerca de 8 milhões de toneladas por ano. Uma das principais implicações ambientais do uso destes compostos é a sua elevada toxicidade, que pode comprometer o tratamento biológico de efluentes e a qualidade de corpos receptores. Este trabalho teve como objetivo o estudo da aplicação da radiação ionizante por feixe de elétrons na degradação e na redução da toxicidade aguda e crônica dos surfactantes dodecilsulfato de sódio (DSS), ácido dodecil p-benzenosulfonato (LAS) e dododecil p-benzenosulfonato de sódio (LAS). Esta tecnologia de tratamento vem sendo muito estudada como uma forma de pré-tratamento de efluentes que contenham compostos tóxicos e não-biodegradáveis, antes do tratamento biológico. A eficiência do tratamento com feixe de elétrons foi avaliada sob uma abordagem ecotoxicológica. Foram utilizados dois ensaios de toxicidade aguda, o ensaio com o microcrustáceo *Daphnia similis* e o ensaio com a bactéria luminescente *Vibrio fischeri*, além de um ensaio de toxicidade crônica com o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* (apenas com DSS e LAS ácido) para as soluções não-irradiadas e irradiadas com as doses de radiação 3,0kGy, 6,0kGy, 9,0kGy e 12,0kGy. Parâmetros físico-químicos foram determinados para o acompanhamento da degradação das moléculas dos surfactantes. A radiação ionizante mostrou-se altamente eficiente na degradação e também na redução da toxicidade do DSS e do LAS. As reduções de toxicidade aguda obtidas foram de 72,49% a 90,98% para o DSS, 18,22% a 78,98% para o LAS ácido e 82,66% a 94,25% para o LAS sódico. Com correlação à toxicidade crônica, os percentuais de redução obtidos estiveram entre 64,03% e 82,01% para o DSS e entre 47,48% e 64,91% para o LAS ácido. Considerando a aplicação do feixe de elétrons como um pré-tratamento de efluentes que contenham surfactantes em concentrações elevadas, a toxicidade é um parâmetro essencial para que estes efluentes possam ser, posteriormente, submetidos ao tratamento biológico.

## EVALUATION OF ACUTE AND CHRONIC TOXICITY OF DSS AND LAS SURFACTANTS UNDERGOING THE IRRADIATION WITH ELECTRON BEAM

Maria Fernanda Romanelli

### ABSTRACT

Surfactants are synthetic organic compounds widely used in cosmetic, food, textile, dyers and paper production industries and in particular detergents and others cleaning products industries. The world consumption is nearly 8 million tons per year. One of the main environmental issues coming from the use of these compounds is their toxicity that compromises the biological treatment of effluents and the quality of receiving waters. The objective of this work was the application of ionizing radiation by electron beam in the degradation and reduction of acute and chronic toxicities of surfactants sodium dodecylsulfate (SDS), dodecyl p-benzenesulfonate acid (LAS) and sodium dodecyl p-benzenesulfonate (LAS). This treatment technology has been studied as a pre-treatment for effluents containing toxic and non-biodegradable compounds, before the biological treatment. Two acute toxicity assays were employed, one with the micro-crustacean *Daphnia similis* and the other with the luminescent bacterium *Vibrio fischeri* along with a chronic toxicity assay with the micro-crustacean *Ceriodaphnia dubia* (just for SDS and acid LAS) for the non-irradiated and irradiated samples and radiation doses 3.0kGy, 6.0kGy, 9.0kGy and 12.0kGy. Physical-chemical parameters were evaluated for the following up the degradation of the surfactant molecules. The reductions of acute toxicity varied between 72.49% and 90.98% for SDS, 18.22% and 78.98% for acid LAS and 82.66% and 94.26% for sodium LAS. For the chronic toxicity, the reduction percentages varied between 64.03% and 83.01% for SDS and 47.48% and 64.91% for acid LAS. When one considers the application of the electron beam as a pre-treatment of effluents containing high concentrations of surfactants, the toxicity is an essential parameter allowing the further biological treatment of these effluents.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1 A Poluição Ambiental.....	1
1.2 A Poluição do Ar e do Solo .....	2
1.3 A Poluição da água.....	2
1.4 Aspectos Relevantes do Trabalho .....	4
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>5</b>
2.1 Objetivo Geral.....	5
2.2 Objetivos Específicos.....	5
<b>3. CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>6</b>
3.1 Geração de Efluentes e a Contaminação Ambiental.....	6
3.2 Aplicações da Ecotoxicologia.....	6
3.3 Controle da Emissão de Efluentes .....	13
3.4 Estudos de Toxicidade Realizados com Efluentes.....	13
3.5 Sabões, Detergentes e Surfactantes.....	15
3.6 Surfactantes.....	17
3.6.1 LAS e DSS.....	20
3.7 Problemas Ambientais Causados pelos Surfactantes.....	21
3.7.1 Toxicidade de Detergentes e de Surfactantes a Organismos Aquáticos .....	21
3.7.2 Fatores que Influenciam a Toxicidade dos Surfactantes .....	27
3.7.3 Surfactantes como Dispersantes de Óleo .....	28
3.7.4 Surfactantes em Estações de Tratamento Biológico .....	29
3.7.5 Monitoramento de Surfactantes .....	30
3.7.6 Surfactantes e outros Poluentes no Ambiente.....	33
3.7.7 Biodegradação dos surfactantes.....	34
3.8 Tratamento de Efluentes.....	35
3.8.1 Tratamento Biológico .....	35
3.8.2 Processos Oxidativos Avançados .....	36
3.9 Tratamento de Efluentes com Radiação Ionizante.....	39
3.9.1 As Radiações Ionizantes.....	39
3.9.2 Aplicação da Radiação Ionizante em Efluentes.....	42
3.10 Degradação de Surfactantes Utilizando POAs.....	48
3.11 Diminuição da Geração de Efluentes.....	50
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>52</b>
4.1 Preparação das Soluções.....	53
4.2 Irradiação das Soluções.....	53
4.3 Determinação da Concentração de Surfactantes Aniônicos.....	56
4.4 Avaliação de Parâmetros Físico-químicos .....	57
4.4.1 pH 57	
4.4.2 Condutividade.....	57
4.4.3 Carbono Total, Carbono Orgânico Total e Carbono Inorgânico.....	57
4.5 Dureza .....	58
4.6 Oxigênio Dissolvido na Água .....	58
4.7 Ensaios Ecotoxicológicos Aplicados na Avaliação do Processo.....	58
4.7.1 Microcrustáceos.....	58
4.7.2 Cultivo de microcrustáceos .....	61
4.8 Ensaio de Toxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> .....	62
4.9 Avaliação da sensibilidade de <i>Daphnia similis</i> à substância de referência.....	65
4.10 Ensaio de Toxicidade aguda com <i>Vibrio fischeri</i> .....	65

4.10.1	A bactéria <i>Vibrio fischeri</i> .....	65
4.10.2	Realização do Ensaio.....	67
4.10.3	Avaliação da sensibilidade de <i>Vibrio fischeri</i> à substância de referência..	69
4.11	Ensaio de Toxicidade Crônica com <i>Ceriodaphnia dubia</i> .....	69
4.11.1	Avaliação da sensibilidade de <i>Ceriodaphnia dubia</i> à substância de referência .....	72
4.12	Avaliação da eficiência do processo por irradiação.....	72
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>73</b>
5.1	Ensaio Preliminares .....	73
5.2	Determinação de Surfactantes Aniônicos.....	74
5.3	Parâmetros Físico-químicos.....	78
5.3.1	pH 78 .....	
5.3.2	Condutividade.....	82
5.4	Carbono Total, Carbono Orgânico Total e Carbono Inorgânico.....	83
5.5	Oxigênio Dissolvido e Dureza .....	87
5.6	Ensaio de Toxicidade Aguda.....	88
5.6.1	Ensaio de Toxicidade Aguda com <i>Daphnia similis</i> .....	88
5.7	Ensaio de Toxicidade Aguda com as Substâncias de Referência .....	95
5.8	Ensaio de Toxicidade Aguda com <i>Vibrio fischeri</i> .....	98
5.8.1	Ensaio de Toxicidade Aguda com a Substância de Referência .....	105
5.9	Correlação entre os Ensaio de Toxicidade Aguda.....	106
5.10	Ensaio de Toxicidade Crônica com <i>Ceriodaphnia dubia</i> .....	109
5.11	Ensaio de Toxicidade Crônica com a Substância de Referência.....	118
5.12	Correlação de toxicidade entre os surfactantes .....	119
5.13	Eficiência do Processo de Irradiação .....	120
5.14	Correlação entre Parâmetros Físico-químicos e a Toxicidade .....	129
5.15	Considerações Finais .....	131
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>134</b>
<b>7.</b>	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>135</b>
<b>8.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>136</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Organismos-teste empregados na avaliação da toxicidade aquática.....	8
Tabela 3. Biodegradabilidade dos surfactantes iônicos, não-iônicos e anfóteros.....	34
Tabela 4. Condições de irradiação utilizadas no acelerador de elétrons para a irradiação das soluções de surfactantes (LAS e DSS).....	55
Tabela 5. Valores de dose e taxa de dose correspondentes à intensidade de corrente aplicada no acelerador de elétrons. ....	55
Tabela 6. Condições de cultivo dos microcrustáceos utilizados nos ensaios de toxicidade.....	62
Tabela 7. Concentrações de DSS e LAS (%) utilizadas nos ensaios de toxicidade aguda ( <i>D. similis</i> ). ....	64
Tabela 8. Concentrações (mg/L) utilizadas nos ensaios de toxicidade aguda com as substâncias de referência. ....	65
Tabela 9. Concentrações (%) utilizadas na realização dos ensaios de toxicidade crônica com os surfactantes. ....	70
Tabela 10. Degradação do surfactante DSS em função da dose de radiação. ....	75
Tabela 11. Degradação do surfactante LAS ácido em função da dose de radiação. ....	75
Tabela 12. Degradação do surfactante LAS sódico em função da dose de radiação.....	76
Tabela 13. pH das soluções de DSS, antes e após a irradiação. ....	79
Tabela 14. pH das soluções de LAS (ácido), antes e após a irradiação. ....	79
Tabela 15. pH das soluções de LAS (sódico), antes e após a irradiação.....	79
Tabela 16. Condutividade das soluções DSS, antes e após a irradiação. ....	82
Tabela 17. Condutividade das soluções de LAS (ácido), antes e após a irradiação. ....	82
Tabela 18. CT, CI e COT das soluções de DSS, antes e após a irradiação. ....	84
Tabela 19. CT, CI e COT das soluções de LAS (ácido), antes e após a irradiação. ....	85
Tabela 20. Toxicidade aguda do DSS não-irradiado ao organismo <i>D. similis</i> . ....	88
Tabela 21. Toxicidade aguda do DSS irradiado com 3,0kGy ao organismo <i>D. similis</i> . ....	89
Tabela 22. Toxicidade aguda do DSS irradiado com 6,0kGy ao organismo <i>D. similis</i> . ....	89
Tabela 23. Toxicidade aguda do DSS irradiado com 9,0kGy ao organismo <i>D. similis</i> . ....	89
Tabela 24. Toxicidade aguda do DSS irradiado com 12,0kGy ao organismo <i>D. similis</i> . ..	90
Tabela 25. Toxicidade aguda do LAS não-irradiado ao organismo <i>D. similis</i> .....	91
Tabela 26. Toxicidade aguda do LAS irradiado com 3,0kGy ao organismo <i>D. similis</i> .....	92
Tabela 27. Toxicidade aguda do LAS irradiado com 6,0kGy ao organismo <i>D. similis</i> .....	92
Tabela 28. Toxicidade aguda do LAS irradiado com 9,0kGy ao organismo <i>D. similis</i> .....	92
Tabela 29. Toxicidade aguda do LAS irradiado com 12,0kGy ao organismo <i>D. similis</i> .....	93
Tabela 30. Toxicidade aguda do LAS (sal), não-irradiado e irradiado, ao organismo <i>D. similis</i> . ....	94
Tabela 31. Toxicidade aguda do cloreto de potássio ao organismo <i>D. similis</i> .....	96
Tabela 32. Toxicidade aguda do dicromato de potássio ao organismo <i>D. similis</i> .....	97

Tabela 33. Toxicidade aguda do DSS não-irradiado ao organismo <i>V. fischeri</i> .....	99
Tabela 34. Toxicidade aguda do DSS irradiado com 3,0kGy ao organismo <i>V. fischeri</i> ... ..	99
Tabela 35. Toxicidade aguda do DSS irradiado com 6,0kGy ao organismo <i>V. fischeri</i> ... ..	99
Tabela 36. Toxicidade aguda do DSS irradiado com 9,0kGy ao organismo <i>V. fischeri</i> ..	100
Tabela 37. Toxicidade aguda do DSS irradiado com 12,0kGy ao organismo <i>V. fischeri</i> .	100
Tabela 38. Toxicidade aguda do LAS não-irradiado ao organismo <i>V. fischeri</i> . .....	101
Tabela 39. Toxicidade aguda do LAS irradiado com 3,0kGy ao organismo <i>V. fischeri</i> ... ..	102
Tabela 40. Toxicidade aguda do LAS irradiado com 6,0kGy ao organismo <i>V. fischeri</i> ... ..	102
Tabela 41. Toxicidade aguda do LAS irradiado com 9,0kGy ao organismo <i>V. fischeri</i> ... ..	102
Tabela 42. Toxicidade aguda do LAS irradiado com 12,0kGy ao organismo <i>V. fischeri</i> .	103
Tabela 43. Toxicidade aguda do LAS (sal) não-irradiado e irradiado ( <i>V. fischeri</i> ).....	104
Tabela 44. Toxicidade aguda do fenol ao organismo <i>V. fischeri</i> . .....	105
Tabela 45. Toxicidade crônica do DSS não-irradiado ao organismo <i>C. dubia</i> . .....	110
Tabela 46. Toxicidade crônica do DSS irradiado com 3,0kGy, ao organismo <i>C. dubia</i> ..	111
Tabela 47. Toxicidade crônica do DSS irradiado com 6,0kGy, ao organismo <i>C. dubia</i> ..	112
Tabela 48. Toxicidade crônica do LAS não-irradiado ao organismo <i>C. dubia</i> . .....	114
Tabela 49. Toxicidade crônica do LAS irradiado com 3,0kGy, ao organismo <i>C. dubia</i> . .	115
Tabela 50. Toxicidade crônica do LAS irradiado com 6,0kGy, ao organismo <i>C. dubia</i> . .	116
Tabela 51. Resultados obtidos no ensaio com a substância de referência KCl. ....	118
Tabela 52. Comparação entre os valores de CE(l)50 (%) obtidos para os surfactantes.	119
Tabela 53. Comparação entre os valores de CENO e CEO obtidos para os surfactantes.....	120
Tabela 54. Porcentagem de Redução da Toxicidade Aguda do DSS em função da dose.....	121
Tabela 55. Porcentagem de Redução da Toxicidade Aguda do LAS, em relação à dose de radiação. ....	123
Tabela 56. Porcentagem de Redução da Toxicidade Aguda do LAS sódico em relação à dose de radiação. ....	125
Tabela 57. Porcentagem de Redução da Toxicidade Crônica do DSS e do LAS, em relação à dose de radiação. ....	126
Tabela 58. Eficiência de alguns processos de tratamento de surfactantes, avaliados por parâmetros químicos e físico-químicos. ....	128

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aplicações de surfactantes em setores distintos, segundo Cunha, et al., 2000.	18
Figura 2. Estrutura de um surfactante aniônico - grupo hidrofílico e hidrofóbico.	19
Figura 3. Estrutura molecular ramificada do ABS.	20
Figura 4. Rio Tietê em Pirapora do Bom Jesus, São Paulo, Junho de 2003.	32
Figura 5. Penetração do feixe de elétrons (cm) na água versus dose absorvida (%), para diferentes energias do elétron.	42
Figura 6. Representação da interação direta e indireta da radiação ionizante por feixe de elétrons.	44
Figura 7. Fluxograma da metodologia aplicada.	52
Figura 8. Fórmulas estruturais e moleculares dos surfactantes DSS e LAS.	53
Figura 9. Irradiação das soluções de surfactantes no acelerador de elétrons do IPEN.	54
Figura 10. Morfologia dos organismos <i>Daphnia</i> e <i>Ceriodaphnia</i> .	59
Figura 11. Ciclo de reprodução de <i>Daphnia</i> (CETESB, 1997).	60
Figura 12. <i>Daphnia similis</i> adulta, 40x.	63
Figura 13. Bactéria luminescente <i>Vibrio fischeri</i> .	66
Figura 14. Equipamento utilizado no ensaio de toxicidade aguda com <i>V. fischeri</i> .	68
Figura 16. Valores de CE(I)50 obtidos para o DSS nos ensaios preliminares.	73
Figura 17. Curva de calibração para a quantificação do surfactante.	74
Figura 18. Redução da concentração dos surfactantes pela irradiação.	76
Figura 19. Efeito da radiação ionizante no pH das soluções dos surfactantes.	80
Figura 20. Variação do pH em função da diluição da amostra do surfactante DSS.	81
Figura 21. Variação do pH em função da diluição da amostra do surfactante LAS ácido.	81
Figura 22. Variação da condutividade dos surfactantes em função da dose de radiação.	83
Figura 23. Variação do COT das soluções de DSS em função da dose de radiação.	85
Figura 24. Variação do COT das soluções de LAS (ácido) em função da dose.	86
Figura 25. Variação da CE(I)50 para o DSS em função da dose ( <i>D. similis</i> ).	90
Figura 26. Variação da CE(I)50 para o LAS (ácido) em função da dose ( <i>D. similis</i> ).	93
Figura 27. Variação da CE(I)50 para o LAS (sal) em função da dose ( <i>D. similis</i> ).	94
Figura 28. Sensibilidade do organismo <i>D. similis</i> ao cloreto de potássio.	96
Figura 29. Sensibilidade do organismo <i>D. similis</i> ao dicromato de potássio.	97
Figura 30. Variação da CE(I)50 para o DSS em função da dose ( <i>V. fischeri</i> ).	101
Figura 31. Variação da CE(I)50 para o LAS em função da dose ( <i>V. fischeri</i> ).	103
Figura 32. Variação da CE(I)50 para o LAS (sal) em função da dose ( <i>V. fischeri</i> ).	104
Figura 33. Sensibilidade do organismo <i>V. fischeri</i> ao fenol.	106
Figura 34. Toxicidade aguda (CE(I)50) do DSS à <i>D. similis</i> e ao <i>V. fischeri</i> .	106

Figura 35. Toxicidade aguda (CE(I)50) do LAS ácido à <i>D. similis</i> e ao <i>V. fischeri</i> . .....	107
Figura 36. Toxicidade aguda (CE(I)50) do LAS sódico à <i>D. similis</i> e ao <i>V. fischeri</i> .....	107
Figura 37. Reprodução e sobrevivência de <i>C. dubia</i> , exposta ao DSS não-irradiado. ....	110
Figura 38. Reprodução e sobrevivência de <i>C. dubia</i> , exposta ao DSS irradiado .....	111
com 3,0kGy.....	111
Figura 39. Reprodução e sobrevivência de <i>C. dubia</i> , exposta ao DSS irradiado com:	
6,0kGy. ....	112
Figura 40. Valor crônico e Unidades Tóxicas obtidos para o DSS, nas diferentes	
doses.....	114
Figura 41. Reprodução e sobrevivência de <i>C. dubia</i> , exposta ao LAS não-irradiado.....	115
Figura 42. Reprodução e sobrevivência de <i>C. dubia</i> , exposta ao LAS irradiado.....	116
com 3,0kGy.....	116
Figura 43. Reprodução e sobrevivência de <i>C. dubia</i> , exposta ao LAS com 6,0kGy.....	117
Figura 44. Valor crônico e Unidades Tóxicas obtidos para o LAS, nas diferentes	
doses.....	118
Figura 45. Redução da Toxicidade Aguda do DSS obtida para <i>D. similis</i> (24h).....	122
Figura 46. Redução da Toxicidade Aguda do DSS obtida para <i>D. similis</i> (48h).....	122
Figura 47. Redução da Toxicidade Aguda do DSS obtida para <i>V. fischeri</i> .....	122
Figura 48. Redução da Toxicidade Aguda do LAS obtida para <i>D. similis</i> (24h). ....	123
Figura 49. Redução da Toxicidade Aguda do LAS obtida para <i>D. similis</i> (48h). ....	124
Figura 50. Redução da Toxicidade Aguda do LAS obtida para <i>V. fischeri</i> . ....	124
Figura 51. Redução das Unidades Tóxicas Agudas ( $UT_a$ ) do LAS sódico em função das	
doses de radiação.....	125
Figura 52. Redução das Unidades Tóxicas Crônicas ( $UT_c$ ) em função das doses de	
radiação.....	126
Figura 53. Formação de diferentes espécies radiolíticas em função do pH. $G_i$ corresponde	
ao rendimento da reação. ....	131

## 1. INTRODUÇÃO

A população mundial cresceu de 2,5 bilhões em 1950 para 6 bilhões no ano de 2000, sendo a taxa de crescimento atualmente de 1,3% ao ano. O crescimento populacional é responsável pelo aumento da demanda de recursos naturais e pela geração de resíduos lançados no ambiente (Braga et al., 2002).

Os recursos naturais, insumos necessários para a manutenção dos organismos, populações e ecossistemas, podem ser classificados como renováveis, quando ficam novamente disponíveis graças aos ciclos naturais e como não-renováveis quando esses recursos não podem mais ser reaproveitados. Exemplos de recursos renováveis são a água, a biomassa, o ar. Exemplos característicos de recursos não-renováveis são os combustíveis fósseis e o urânio. Há situações em que um recurso renovável passa a ser não-renovável, quando a taxa de utilização supera a capacidade máxima de renovação do sistema (Braga et al., 2002). Um bom exemplo são os corpos receptores, que quando apresentam elevada carga de poluentes, muitas vezes tóxicos, perdem a capacidade de autodepuração.

### 1.1 A Poluição Ambiental

A poluição ambiental é resultado da utilização dos recursos naturais pela população, e vem causando alterações prejudiciais tanto físicas quanto químicas e biológicas, no ar, no solo e na água (Braga et al., 2002). Essa poluição compromete a saúde, a segurança e o bem estar da população, criando condições adversas às atividades sociais e econômicas e causando danos relevantes à flora, à fauna e ao meio ambiente. A poluição é causada principalmente por (SABESP, 2004):

- introdução de substâncias antropogênicas e naturais em um meio e
- alterações na proporção ou nas características dos elementos constituintes desse meio.

Os poluentes são os resíduos gerados pelas atividades humanas, que causam um impacto ambiental negativo. Podem apresentar origem pontual ou localizada, como o lançamento de efluentes domésticos e industriais, efluentes gasosos, disposição inadequada de lixo urbano, e origem difusa ou dispersa, como o lançamento de gases pelo escapamento de automóveis, agrotóxicos aplicados na agricultura, que acabam poluindo rios e lençóis freáticos (Braga et al., 2002).

A estratégia de redução e eliminação de resíduos ou poluentes na fonte geradora consiste no desenvolvimento de ações que promovam a redução de desperdícios, a

conservação de recursos naturais, a redução e a eliminação de substâncias tóxicas, a redução da quantidade de resíduos gerados e, conseqüentemente, a redução de poluentes lançados no ar, no solo e na água (CETESB, 2003).

## 1.2 A Poluição do Ar e do Solo

A poluição do ar é conseqüência da presença de substâncias químicas, que alteram as propriedades da atmosfera, em concentrações suficientes para causar danos ao seres humanos, à fauna, à flora ou a materiais (Braga et al., 2002; CETESB, 2003; Assunção, 2002). A poluição do ar pode ocorrer como conseqüência da poluição de outros meios, como a água. Por exemplo, no município de Pirapora do Bom Jesus, São Paulo, onde o Rio Tietê contém grandes quantidades de detergentes e surfactantes, que formam blocos de espuma de até 4 metros, ocorre a formação do gás sulfídrico, que é disperso para a atmosfera, causando efeitos prejudiciais aos sistemas nervoso e respiratório da população (Home Page do Meio Ambiente, 2004) .

A contaminação do solo e das águas subterrâneas tem sido objeto de grande preocupação nas três últimas décadas em países industrializados, principalmente nos Estados Unidos e na Europa. A poluição do solo urbano é causada pela presença de resíduos gerados por atividades econômicas como as indústrias, além dos resíduos provenientes das residências. (CETESB, 2003). A poluição no solo rural é causada principalmente por fertilizantes sintéticos e defensivos agrícolas, como os organoclorados, organofosforados e carbamatos (Braga et al., 2002).

## 1.3 A Poluição da água

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% das doenças que ocorrem nos países em desenvolvimento são ocasionadas por água contaminada e pela falta de saneamento básico e 25 milhões de pessoas no mundo morrem devido a doenças transmitidas pela água, como diarreias e cólera, anualmente (WHO, 2001). Nos países em desenvolvimento, 70% da população rural e 25% da população urbana não dispõe de abastecimento adequado de água potável (Braga et al., 2002) e dependem de poços e outras fontes de abastecimento passíveis de contaminação. No Brasil, apenas 10% da população tem o esgoto ligado a uma rede municipal de tratamento e nas áreas rurais estes valores são ainda menores (Eichhorn et al., 2002).

A água é um elemento fundamental para a existência dos seres vivos. Aproximadamente  $\frac{3}{4}$  da superfície da Terra é coberta pela água, sendo 97,4% água

salgada dos oceanos e 1,8% congelada, localizada nas regiões polares. A água doce disponível para a população do nosso planeta representa apenas 0,8% e, mesmo assim, não se conhece bem qual é a fração que se encontra contaminada. O Brasil concentra cerca de 15% da água doce do planeta (Sanchez & Sato, 2002).

A contaminação das águas é causada, principalmente, pelo desenvolvimento industrial, crescimento demográfico e pela ocupação do solo de forma intensa e acelerada, comprometendo a água dos oceanos, rios, lagos e reservatórios e aumentando o risco de doenças de transmissão e de origem hídrica (World Development Report, 1992; Figueredo, 1994). A contaminação de mananciais, por exemplo, dificulta seu uso para o abastecimento humano.

A escassez de água é um dos grandes desafios da humanidade no século XXI. A disponibilidade de água doce é limitada pelo alto custo da sua obtenção nas formas menos convencionais, como é o caso da água do mar e das águas subterrâneas. Assim, torna-se prioridade a preservação e a utilização racional das águas doces superficiais (CETESB, 2003).

O adensamento populacional aliado à ocupação desordenada faz com que o serviço de distribuição de água potável torne-se uma tarefa desafiadora para o poder público nas grandes cidades. Além disso, o problema no processo de urbanização reflete diretamente na qualidade da água dos mananciais que abastecem as cidades (SABESP, 2004).

No Estado de São Paulo estão concentradas as principais atividades industriais do país. Os resíduos gerados por estas atividades comprometem a qualidade dos corpos receptores. De acordo com o Relatório de Qualidade de Águas Interiores do Estado de São Paulo, elaborado pela Companhia de Tecnologia de Saneamento do Estado de São Paulo (CETESB) em 2002, a qualidade da água de abastecimento público é imprópria em 27% dos rios e reservatórios existentes. Este estudo incluiu pela primeira vez índices de qualidade de água para a preservação da vida aquática, que tem 46% dos rios classificados como ruins ou péssimos. Estes problemas são resultado do lançamento de esgotos nos rios e seus afluentes, considerando-se que 60% do esgoto coletado em todo o Estado de São Paulo são lançados nos rios sem nenhum tratamento (Margarido, 2003), além da existência de poços clandestinos, que comprometem a qualidade das águas subterrâneas. A falta de investimentos nestas áreas impede a aplicação de medidas corretivas para reverter a situação (CETESB, 2003).

Os investimentos para tornar a água própria para o consumo serão cada vez mais altos e os mananciais utilizados cada vez mais raros. São necessários a racionalização

do consumo de água, investimentos na área de tratamento de efluentes, o controle da ocupação populacional em áreas de mananciais, fiscalização e punição de indústrias poluidoras, conservação dos corpos hídricos e reuso da água.

#### 1.4 Aspectos Relevantes do Trabalho

As implicações ambientais da poluição da água têm levado à busca de medidas que possam amenizar este problema, como é o caso de tratamentos alternativos para compostos tóxicos presentes em efluentes, especialmente aqueles que apresentam origem industrial.

Entre os compostos tóxicos amplamente utilizados atualmente estão os surfactantes. Considerando a sua grande utilização, as elevadas concentrações destes compostos que chegam às estações de tratamento de efluentes e que são encontradas em corpos receptores, além dos efeitos adversos causados a diferentes organismos, torna-se evidente a necessidade de se estudar formas alternativas de tratamento de efluentes que contenham surfactantes.

Os Processos Oxidativos Avançados vêm sendo estudados como formas alternativas de tratamento de efluentes, entre eles a radiação ionizante por feixe de elétrons, que é uma das tecnologias mais eficientes na geração de radicais OH $\cdot$ .

Este trabalho aborda a aplicação da radiação ionizante por feixe de elétrons na degradação e na redução da toxicidade aguda e crônica de dois surfactantes aniônicos, o DSS e o LAS, utilizando-se os organismos-teste *Daphnia similis*, *Vibrio fischeri* e *Ceriodaphnia dubia*. Os dados de redução de toxicidade são relacionados com os dados obtidos na avaliação de parâmetros físico-químicos. A eficiência do tratamento por radiação ionizante foi determinada, sob o ponto de vista ecotoxicológico.

Estudos como estes são importantes pois visam à atenuação do impacto ambiental causado pelos surfactantes e a utilização mais segura destes compostos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da radiação ionizante por feixe de elétrons na degradação dos surfactantes DSS e LAS, sob uma abordagem ecotoxicológica.

### 2.2 Objetivos Específicos

Avaliação da sensibilidade dos organismos-teste (*Daphnia similis*, *Vibrio fischeri* e *Ceriodaphnia dubia*) aos surfactantes DSS e LAS, antes e após a irradiação com feixe de elétrons.

Estudo da degradação dos surfactantes pela irradiação utilizando-se parâmetros físico-químicos e a determinação da concentração dos surfactantes aniônicos.

Correlação entre as respostas obtidas nos ensaios de toxicidade com os parâmetros físico-químicos determinados.

Determinação da eficiência da irradiação na redução das toxicidades aguda e crônica do DSS e do LAS.

### **3. CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Geração de Efluentes e a Contaminação Ambiental**

As atividades humanas e industriais têm levado à crescente deterioração do ambiente pela introdução de diversos poluentes. O principal receptor destes poluentes é o ecossistema aquático, mesmo que os poluentes sejam lançados no ar ou no solo (Borrely, 2001). As decorrentes modificações ambientais podem resultar em mudanças na estrutura e na dinâmica de um ecossistema, como modificações no fluxo de energia de um sistema natural (Pereira et al., 1987).

Os efluentes são classificados de acordo com sua origem em pluviais, domésticos e industriais. Os efluentes domésticos são as águas utilizadas para fins higiênicos e sanitários, provenientes de residências e locais públicos, constituídos por 99,9% de água e 0,1% de material sólido suspenso, coloidal ou dissolvido. Apenas 30% do total de sólidos correspondem à fração inorgânica, composta por minerais, sais e metais. A fração orgânica (70%) é composta de proteínas, gorduras e carboidratos (Borrely, 1995).

Os efluentes industriais são importantes agentes causadores da poluição ambiental na atualidade, principalmente nos corpos receptores, como consequência das dificuldades nos sistemas de tratamento. Esse tipo de efluente pode conter um grande número de diferentes moléculas orgânicas sintéticas, com estruturas simples e até complexas, substâncias tóxicas como os fenóis, o benzeno, pesticidas, detergentes e surfactantes, etc. A presença desses compostos, tóxicos, não biodegradáveis ou de difícil degradação acaba reduzindo as fontes de oxigênio da água e dificultando os processos de tratamento (Duarte, 1999). A maioria das substâncias tóxicas afeta direta e desfavoravelmente quase todas as formas de vida (Pereira, 2002).

Entre os contaminantes ambientais presentes, os mutagênicos e cancerígenos constituem grande ameaça à saúde das populações, considerando-se o dano que podem causar no material genético dos organismos, comprometendo gerações futuras e também o papel que desempenham na etiologia do câncer (Sanchez e Sato, 2002).

#### **3.2 Aplicações da Ecotoxicologia**

A ecotoxicologia estuda as ações e os efeitos nocivos de agentes físicos e químicos presentes no meio ambiente sobre os constituintes vivos do ecossistema, avaliando o risco da presença destes agentes (CETESB, 2004). A ecotoxicologia

aquática é uma subdivisão da ecotoxicologia que investiga os efeitos adversos de agentes químicos em organismos aquáticos, com o objetivo de avaliar e prever impactos nos ecossistemas aquáticos. Com base nos resultados obtidos nos ensaios ecotoxicológicos, são formulados padrões de emissão de poluentes em corpos receptores bem como critérios para a avaliação da qualidade da água e para a proteção da vida aquática (Altenburger et al., 1996).

A toxicidade é a resposta de um organismo a uma dose de determinada toxina, que é mantida acima de uma concentração limiar por um período de exposição suficientemente longo. A resposta biológica é a soma de todos os estresses a que o organismo é submetido, bem como a capacidade de compensação desse organismo (Nipper, 2000).

A presença de compostos tóxicos numa mistura pode modificar seletivamente a composição da comunidade biológica que a degradaria, alterando as atividades da biodegradação. As espécies diferem na sua tolerância pela mesma substância tóxica, mas em um determinado nível, a maioria das substâncias tóxicas destrói qualquer forma de vida (Pereira, 2002).

A poluição de águas superficiais é raramente consequência da ação de um composto químico em uma única espécie. Os organismos aquáticos são normalmente expostos simultaneamente a numerosas substâncias, que podem interagir de forma antagônica, sinérgica e aditiva (Altenburger et al., 1996). Assim, uma das vantagens da ecotoxicologia aquática é possibilitar o estudo do efeito das interações entre diferentes compostos de uma amostra, que não são medidos em análises químicas tradicionais.

Outras interações podem ocorrer entre os componentes de misturas de modo a aumentar ou reduzir a taxa de biodegradação como, por exemplo, o co-metabolismo, que é a degradação de um composto resistente facilitada pela decomposição de outros compostos por microrganismos. Esse fenômeno ocorre, por exemplo, entre hidrocarbonetos aromáticos na presença de misturas de petróleo (Rand, 1995).

Um grande número de ensaios de toxicidade pode ser utilizado, dependendo das diferentes exigências científicas e práticas. Entretanto, não existe nenhum ensaio universal que possa ser utilizado em todas as situações para a avaliação da toxicidade. Da mesma forma, um bioensaio não pode substituir os resultados de outros bioensaios, devido às diferenças biológicas existentes entre os organismos de espécies diferentes (Torres et al., 1997).

Na Tabela 1 são mostrados alguns exemplos de organismos que podem ser utilizados para a avaliação dos efeitos tóxicos de substâncias no meio aquático.

**Tabela 1.** Organismos-teste empregados na avaliação da toxicidade aquática.

<b>Grupo de organismos</b>	<b>Exemplos de organismos</b>	
Bactérias		<i>Vibrio fischeri</i> *
Algas	Micro-algas	<i>Scenedesmus sp.</i> <i>Selenastrum capricornutum</i>
	Macro-algas	<i>Ulva lactuca</i> * <i>Macrocystis pyrifera</i> *
Equinodermos		<i>Lytechinus variegatus</i> *
Crustáceos	Microcrustáceos	<i>Daphnia sp.</i> <i>Ceriodaphnia dubia</i>
Moluscos	Mexilhão	<i>Perna perna</i>
	Ostra	<i>Crassostrea virginica</i>
Peixes		<i>Danio rerio</i>
		<i>Pimephales promelas</i>
		<i>Poecilia reticulata</i>

\* Organismos de ambiente marinho.

Por razões técnicas e econômicas não é possível testar todas as espécies do ecossistema. Assim, para a avaliação do impacto do lançamento de efluentes em corpos hídricos recomenda-se a utilização de, no mínimo, três diferentes espécies de organismos, representativos de níveis tróficos distintos. Essa prática permite a detecção de diferentes classes de substâncias tóxicas, pois os organismos de diferentes gêneros possuem maior sensibilidade a grupos de contaminantes específicos. Posteriormente o controle da toxicidade do efluente pode passar a ser realizado apenas com a espécie mais sensível (Borrely, 2001). No Estado de São Paulo têm sido desenvolvidos e utilizados, principalmente, ensaios com peixes, microcrustáceos, algas e bactérias, visando o controle de efluentes.

A seleção dos organismos-teste é feita de acordo com a disponibilidade do organismo (cultivados em laboratório ou disponibilidade no ambiente), distribuição geográfica (ensaio padronizado pode ser utilizado em diversas regiões de um país), relevância ecológica e econômica, duração do ciclo de vida, tolerância ao manuseio em laboratório, tolerância a fatores abióticos, como salinidade e pH, existência de metodologia padronizada e sensibilidade reconhecida (Nipper, 2000).

Segundo Pereira et al. (1987), os ensaios ecotoxicológicos são muito utilizados para avaliar:

- a toxicidade de diferentes efluentes e substâncias sobre determinadas espécies;
- a qualidade da água necessária à manutenção da vida aquática e o grau de tratamento de um efluente para que preencha requisitos determinados por órgãos de controle de poluição;
- a eficiência de diferentes métodos de tratamento de efluentes;
- concentrações máximas permissíveis de agentes químicos e efluentes líquidos, tratados ou não, em um corpo receptor;
- controle de fatores ambientais como pH, salinidade, temperatura, teor de oxigênio dissolvido, luminosidade, turbidez adequados à vida aquática e a toxicidade de agentes tóxicos em função destes fatores;
- a toxicidade de um efluente líquido, resultado das interações entre as diversas substâncias presentes.

Os ensaios de toxicidade podem ser realizados na forma estática, semi-estática, em fluxo contínuo ou em campo. Na forma estática não há renovação da solução-teste durante o ensaio. A forma semi-estática é caracterizada pela renovação periódica da solução-teste enquanto que a forma de fluxo contínuo emprega o fluxo contínuo das diluições do efluente para os frascos-teste, durante todo o experimento (Pereira et al., 1987; Nipper, 2000; Borrelly, 2001). A renovação de soluções durante ensaios de duração mais longa, ou ainda os ensaios com fluxo contínuo foram desenvolvidos para assegurar a eliminação dos excretas dos organismos durante o período de ensaio, a manutenção da concentração da substância tóxica e oxigênio dissolvido, além da eliminação do excesso de alimento (Pereira et al., 1987).

O estudo dos efeitos dos agentes tóxicos sobre a vida aquática, embora possa ser realizado através de ensaios biológicos "in loco", são freqüentemente realizados em condições laboratoriais pois desta maneira é possível ter um melhor controle de variáveis como temperatura, pH, concentração, duração da exposição, entre outros (CETESB, 2003).

Os ensaios de toxicidade podem ser classificados segundo os variados efeitos que os organismos venham apresentar durante o tempo de exposição dos ensaios (Nipper, 2000; Borrelly, 2001) em:

- **Toxicidade Aguda** – ensaios de curta duração que abrangem apenas parte do ciclo de vida do organismo-teste; normalmente avaliam a mortalidade ou a imobilidade dos organismos, influência em reações bioquímicas, metabolismo, entre outros.
- **Toxicidade Crônica** - ensaios com exposição prolongada, que podem abranger todo o ciclo de vida dos organismos-teste; avaliam parâmetros subletais como reprodução, crescimento e deformidades.
- **Toxicidade Crônica de curta duração** - períodos de exposição mais curtos em relação aos ensaios crônicos tradicionais, que abrangem partes sensíveis do ciclo de vida dos organismos-teste, avaliando parâmetros subletais.
- **Biomarcadores** - testes que avaliam o efeito de uma toxina em um tecido ou em órgãos específicos de um sistema biológico, como por exemplo a genotoxicidade.

Como exemplo de distinção entre os ensaios que avaliam efeitos agudos e/ou crônicos pode ser citada a exposição do organismo *Ceriodaphnia dubia* à substância cloreto de potássio. O efeito agudo é observado em 48 horas de exposição do organismo e a concentração necessária para observar este efeito é igual a 630mg/L (Mount et al., 1997). Com relação ao efeito crônico do KCl à *C. dubia*, em um tempo de exposição de 7 dias, a concentração necessária para se observar o efeito é igual a 300mg/L (dados não publicados).

Os resultados dos ensaios de toxicidade são normalmente expressos como CL, CE, CI, CENO e CEO. A CL e a CE representam respectivamente a Concentração Letal e a Concentração Efetiva de uma amostra a uma determinada porcentagem de organismos expostos. A CL50 e a CE50, isto é, a Concentração Letal e a Concentração Efetiva a 50% dos organismos expostos, são as mais utilizadas em uma avaliação de efeito agudo, a CI é a Concentração Inibitória a uma determinada porcentagem de organismos-teste, utilizada para ensaios de efeito agudo ou crônico. A CENO e a CEO representam a Concentração de Efeito Não Observado e a Concentração de Efeito Observado, respectivamente (ABNT, 2004). Esses dois parâmetros juntos permitem a determinação de uma faixa de sensibilidade e não de um valor absoluto de concentração do agente tóxico, e são utilizados em ensaios de toxicidade crônica.

A avaliação periódica da sensibilidade dos organismos bem como dos

procedimentos dos ensaios de toxicidade são realizados com substâncias chamadas de referência (dicromato de potássio, o cloreto de sódio, cloreto de potássio, fenol, etc.). Um ensaio de toxicidade é considerado aceitável se a sensibilidade à substância de referência estiver dentro dos limites estabelecidos pela média da CL50 ou CE50 de um determinado número de ensaios  $\pm 2$  desvios-padrão (ABNT, 2004; Nipper, 2000).

Alguns dos vários ensaios de toxicidade já se encontram padronizados nacional e internacionalmente, por associações e organizações de normalização como a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), Association Française de Normalisation (AFNOR), American Society for Testing and Materials (ASTM), American Water Works Association (AWWA), International Organization for Standardization (ISO) e United States Environmental Protection Agency (USEPA). Os métodos padronizados apresentam a vantagem de poderem ser utilizados por diferentes laboratórios, permitindo que os resultados obtidos sejam comparados entre si.

O ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* consiste na exposição de indivíduos jovens a várias concentrações da substância-teste (agente tóxico) por um período de 24 a 48 horas, possibilitando a determinação da concentração do agente tóxico no início do ensaio, que causa efeito agudo (imobilidade) a 50% dos organismos, a CE(I)50. A imobilidade corresponde à impossibilidade do organismo se movimentar na água (CETESB, 1986). Da mesma forma é o procedimento para o ensaio com *Ceriodaphnia dubia*, cujo o tempo de exposição é prolongado por 7 dias. Observa-se o efeito tóxico na reprodução e na sobrevivência dos organismos (CETESB, 1991). Enquanto o primeiro avalia o efeito agudo, o ensaio com *Ceriodaphnia* investiga a possibilidade de existir efeito crônico.

O ensaio com bactérias luminescentes, conhecido como teste Microtox®, também é um ensaio amplamente utilizado para uma variedade de ensaios toxicológicos e apresenta vantagens como rapidez, sensibilidade (detecta substâncias tóxicas em baixas concentrações), simplicidade e custo relativamente baixo, quando comparado com o custo de testes que envolvem análises químicas. Pode ser utilizado em testes com amostras de água doce e água do mar. É considerado um teste de “screening”, sendo muito utilizado para a realização de uma triagem inicial dos efeitos adversos (Sanchez & Sato, 2002).

O sistema Microtox® utiliza a bactéria luminescente *Vibrio fischeri* (descrita anteriormente como *Photobacterium phosphoreum*) como organismo-teste. O mecanismo de produção da luminescência é um processo enzimático do metabolismo

bacteriano. Esse processo pode ser modificado ou sofrer danos por substâncias tóxicas e esse resultado é utilizado para a determinação da presença de substâncias tóxicas (CETESB, 1987). Uma substância tóxica pode causar alterações nas estruturas das células, em diferentes níveis: na membrana celular, na cadeia transportadora de elétrons – via sistema enzimático, nos constituintes citoplasmáticos, mas que sempre culminam em uma diminuição da bioluminescência (Farré *et al*, 2001). A resposta do teste é normalmente expressa pela CE50, calculada a partir da redução na quantidade de luz emitida pelo microrganismo-teste, após sua exposição ao agente tóxico (CETESB, 1987).

Pesquisas recentes têm demonstrado boa correlação entre os resultados obtidos com os ensaios com *Daphnia* e ensaios com a bactéria luminescente. Assim, o sistema Microtox® vem sendo utilizado na avaliação da toxicidade aquática e no monitoramento de estações de tratamento de água, esgotos e despejos industriais, de acordo com o Método de Ensaio CETESB L5.227 (CETESB, 1987).

O ensaio com *Vibrio fischeri* e o ensaio com o organismo *Daphnia similis* foram empregados em um estudo para a avaliação de 2.546 indústrias brasileiras localizadas na região do Rio Paraíba do Sul, Estado de São Paulo. As indústrias metalúrgicas e as indústrias de fabricação de TNT foram identificadas como as de maior produção de efluentes tóxicos (Torres *et al.*, 1997). Os dados obtidos para os dois ensaios utilizados apresentaram boa correlação de resultados.

Tendo em vista a necessidade de se obter respostas mais rápidas que possam alertar sobre a possível presença de cargas relativamente mais críticas e até de situações emergenciais, outra modalidade de ensaios tem sido proposta. Trata-se dos biomarcadores, definidos como indicadores bioquímicos, fisiológicos ou histológicos de exposição ou de efeito (Rand, 1995).

Dentre os biomarcadores de interesse para avaliação ambiental encontra-se o teste que avalia danos também no DNA. Nos últimos anos houve um interesse científico na técnica do Ensaio do Cometa (“DNA Comet Assay”) como um método para detectar danos no DNA de organismos aquáticos que são induzidos pela presença de substâncias tóxicas no ambiente. Sua principal utilização em estudos toxicológicos refere-se ao monitoramento de águas poluídas, com peixes marinhos (Belpaeme *et al.*, 1998).

Conhecer a toxicidade de certos poluentes e sua influência sobre a biota constitui um instrumento valioso para a preservação da qualidade sanitária e ecológica

do ambiente aquático (Mucci et al., 1987). Cabe lembrar que a ausência de toxicidade aguda não garante que não existam efeitos crônicos, mutagênicos ou carcinogênicos.

### **3.3 Controle da Emissão de Efluentes**

Os limites para o lançamento de efluentes industriais, principais contribuintes de compostos tóxicos, em corpos receptores são estabelecidos pelo Artigo 18 do Regulamento da Lei do Estado de São Paulo 997 (1976) e pelo Artigo 21 da Resolução Federal CONAMA 12 (1986). As exigências formuladas estabelecem os padrões de emissão que devem ser atingidos pelos efluentes líquidos, sendo que os padrões de qualidade do corpo receptor devem ser mantidos (Duarte, 1999).

Com o objetivo de reduzir as emissões de substâncias tóxicas, muitos países incluíram na Legislação medidas de proteção da fauna e da flora aquáticas, baseando-se em estudos ecotoxicológicos, permitindo assim estabelecer limites permissíveis de poluentes na água. Em associação ao controle e prevenção da poluição das águas têm sido utilizados ensaios de toxicidade para a determinação do potencial tóxico de um agente químico, que pode ser detectado por meio da observação da resposta de organismos vivos (Zagatto & Goldstein, 1991).

De acordo com a Resolução da Secretaria do Meio Ambiente, Artigo 1º (22/02/2000), as substâncias químicas presentes no efluente não devem causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor. Esta Resolução, que implementa o controle ecotoxicológico de efluentes líquidos, é pioneira no Brasil, pois considera possíveis interações entre compostos presentes nos efluentes. Os limites de toxicidade são estabelecidos para cada efluente, podendo ser reavaliados pela CETESB desde que o emissor apresente estudos sobre a toxicidade do efluente a pelo menos três espécies de organismos aquáticos, variabilidade da toxicidade ao longo do tempo e dispersão de efluente no corpo receptor.

### **3.4 Estudos de Toxicidade Realizados com Efluentes**

O estudo da toxicidade de efluentes é muito importante, especialmente em efluentes industriais, considerando-se que os destinos destes efluentes são as estações de tratamento de efluentes (ETEs) e, muitas vezes, os corpos receptores.

A presença de agentes tóxicos em estações de tratamento de efluentes pode

causar impacto na atividade biológica e, conseqüentemente, redução da eficiência do tratamento. Alguns agentes tóxicos podem passar através do sistema de tratamento sem sofrerem nenhuma alteração, comprometendo a biota do corpo receptor. Poluentes tóxicos podem se concentrar no lodo, dificultando a degradação anaeróbica nos digestores e restringindo a sua disposição pois, uma vez que são dispostos no solo, em aterros sanitários ou são utilizados como fertilizantes, podem causar a contaminação de recursos hídricos pela lixiviação (Goldstein et al., 1983).

Em um estudo realizado por Goldstein et al. (1983), vinte das principais indústrias da região de Suzano e Mogi das Cruzes, Estado de São Paulo, foram avaliadas quanto à toxicidade de seus efluentes, utilizando-se como organismo-teste o crustáceo *Daphnia similis*. Apenas três das indústrias estudadas não apresentaram efluentes tóxicos ao organismo utilizado. Compostos presentes nos efluentes foram analisados isoladamente quanto à toxicidade. Os efluentes que apresentaram níveis mais elevados de poluentes conhecidamente tóxicos a tratamentos biológicos foram também os mais tóxicos a *D. similis*.

O trabalho realizado por Mucci et al. (1987) comparou a resistência dos peixes *Poecilia reticulata* e *Poecilia vivipara*, quando submetidos à ação dos resíduos líquidos de uma indústria petroquímica da Grande São Paulo, em ensaio estático agudo, por 96 horas de exposição. Os efluentes, que são tratados pela própria indústria, foram coletados nos decantadores da estação. *P. vivipara* pareceu ser mais sensível ao efluente testado que *P. reticulata*, afetada apenas em concentrações elevadas (21%), enquanto que *P. vivipara* foi afetada já na concentração de 10%.

Os ensaios de toxicidade têm sido utilizados não só para a determinação da toxicidade de um efluente mas também para a avaliação da eficiência de sistemas de tratamento.

Bohrer (1995) realizou o biomonitoramento das Lagoas de Tratamento Terciários do Sistema de Tratamento de Efluentes Líquidos Industriais da Companhia Petroquímica do Sul. Neste trabalho foram realizados ensaios de toxicidade aguda e crônica, com os organismos *Moina micrura*, *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*. O sistema não apresentou toxicidade, porém foram observados efeitos adversos como alterações na morfologia dos organismos expostos aos efluentes.

Villegas-Nagarro et al. (1999) utilizaram ensaios de toxicidade aguda para a determinação da toxicidade de efluentes de cinco indústrias têxteis em Puebla, México, na entrada e na saída da estação de tratamento biológico, determinando sua eficiência.

A *Daphnia magna* foi utilizada como organismo-teste. Foi demonstrada uma eficiência de remoção de toxicidade entre 33% e 89%, apesar de os efluentes após o tratamento ainda apresentarem toxicidade.

Badaró-Pedroso (1999) estudou a toxicidade da água de produção de petróleo da Petrobrás, antes e após o tratamento, que é realizado pela própria empresa. Os organismos utilizados para a avaliação da toxicidade aguda foram dois misidáceos e a bactéria *Vibrio fischeri*. Ensaios de toxicidade que avaliaram o efeito crônico foram realizados com ouriços. O processo de tratamento, baseado na flotação e adição de peróxido de hidrogênio, mostrou-se ineficiente na redução da toxicidade dos efluentes produzidos.

Araújo et al. (2002) estudaram a redução da toxicidade de efluentes industriais complexos do Pólo Petroquímico de Camaçari, Bahia, após o tratamento biológico com lodo ativado. A eficiência do tratamento biológico foi avaliada com o organismo *Vibrio fischeri*. Os resultados demonstraram que a estação de tratamento reduz em média 92,76% da sua carga tóxica.

Borrely (2001) utilizou os ensaios de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Daphnia similis*, a bactéria *Vibrio fischeri* e o peixe *Poecilia reticulata* para a avaliação da redução da toxicidade aguda de efluentes industriais e domésticos tratados por irradiação com feixe de elétrons, observando uma redução estatisticamente significativa da toxicidade.

### 3.5 Sabões, Detergentes e Surfactantes

Os sabões já eram produzidos desde o início da Idade Média, especialmente na Europa, sendo utilizados principalmente para higiene pessoal e lavagem de roupas. São prontamente biodegradados tanto em ambientes aeróbicos como anaeróbicos, tratados nas condições e no tempo de residência do efluente durante o tratamento de uma estação. Além disso, estudos mostram que os sabões são menos tóxicos que os surfactantes sintéticos, princípio ativo dos detergentes sintéticos (Scott & Jones, 2000).

A química dos produtos de saboaria permaneceu basicamente a mesma até 1916, quando o primeiro surfactante sintético surgiu na Alemanha, devido à falta de gorduras utilizadas na fabricação do sabão, em decorrência da Primeira Guerra Mundial. A descoberta do surfactante, também foi motivada pela necessidade de um agente de limpeza que não se combinasse com os sais dissolvidos na água, ao contrário do sabão

(Cosméticos & Perfumes, 2001).

A produção de detergentes sintéticos começou na Europa, na década de 1930 e eram utilizados principalmente para lavar louça e tecidos. Em 1946, surgiu nos Estados Unidos o primeiro detergente reforçado, contendo surfactante e um adjuvante, o tripolifosfato de sódio. Atualmente, os detergentes são encontrados na forma líquida, sólida (detergente em pó) e na forma de gel. São compostos por diferentes componentes, de acordo com a finalidade do produto, entre eles compostos abrasivos, adjuvantes, agentes microbianos, agentes de branqueamento, corantes, conservantes, controladores de espuma, enzimas, perfumes, etc., além dos surfactantes (Cosméticos & Perfumes, 2001).

Os detergentes são importantes causadores de poluição na água pois além de conterem fosfato, que influi na propagação de algas e outros organismos aquáticos, dificultam as trocas gasosas entre a superfície da água e a atmosfera. Assim, quando o detergente é encontrado na superfície da água, o gás carbônico não é liberado da água, e por sua vez impede nova oxigenação, podendo levar à morte organismos aquáticos como os peixes. Esses fatores acabam promovendo a proliferação de bactérias anaeróbicas nesse ambiente perturbado (Rohrer, 1975).

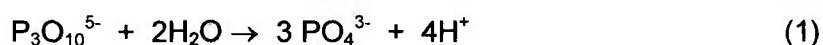
Diferentes tipos de detergentes sintéticos causam impactos negativos em corpos receptores e em organismos aquáticos que neles vivem, especialmente aqueles que dependem da tensão superficial da água (Rand, 1995).

Os detergentes são muito utilizados por indústrias, potencialmente aquelas que utilizam uma etapa de limpeza ou lavagem em sua linha de produção. Entretanto, o consumo doméstico destes produtos supera o consumo industrial (Braile & Cavalcante, 1979).

Os detergentes sintéticos funcionam da mesma maneira que os sabões mas oferecem uma vantagem, pois funcionam bem em água dura, isto é, água contendo íons  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ . A reação dos surfactantes sintéticos com íons cálcio e magnésio, principais íons responsáveis pela dureza da água, para formar íons complexos, diminui o potencial de limpeza do surfactante. Os íons polifosfato, que são ânions que contêm várias unidades fosfato ligadas por oxigênios comuns compartilhados, são adicionados aos detergentes como seqüestrantes para formar complexos solúveis com os íons metálicos, permitindo assim a atividade limpante dos detergentes, ao contrário de complexarem com o  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  presentes na água (Baird, 2002).

O fósforo tem como origem águas residuárias, detergentes, fertilizantes e rochas fosfáticas (Lamparelli, 2002). A presença de íons fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) em excesso em águas naturais pode ter um efeito devastador na ecologia aquática, pois sua presença causa eutrofização. O fósforo é um nutriente nos ecossistemas aquáticos, pois é utilizado nos processos de produção primária da matéria orgânica, pela fotossíntese.

Antigamente os detergentes foram a principal fonte de fosfatos poluentes em águas. Grandes quantidades de tripolifostato de sódio (TPF),  $\text{Na}_5\text{PO}_3\text{O}_{10}$ , foram adicionadas como agente seqüestrante na maioria das formulações dos detergentes sintéticos. Quando as águas de lavagem contendo tripolifosfatos entram em cursos d'água após serem descartadas, o excesso de tripolifosfato reage lentamente com a água, sendo transformado em íons fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), de acordo com a Equação 1:



Devido aos problemas ambientais, muitos países da Europa, Canadá e Estados Unidos têm substituído os tripolifosfatos pelo nitrilotriacetato de sódio (NTA), citrato de sódio, carbonato de sódio, silicato de sódio e substâncias chamadas zeólitas. As zeólitas (trocadores iônicos) são aluminossilicatos minerais formados por sódio, alumínio, silício e oxigênio; na presença de íons  $\text{Ca}^{2+}$  eles trocam seus íons  $\text{Na}^+$  pelo  $\text{Ca}^{2+}$ , embora não interajam com o  $\text{Mg}^{2+}$ . Uma desvantagem das zeólitas é que são insolúveis e seu uso aumenta a quantidade de sedimento nas águas residuais (Baird, 2002).

### 3.6 Surfactantes

Os surfactantes podem ser produzidos sinteticamente (os sintéticos) ou por microrganismos (biossurfactantes ou surfactantes biogênicos) como bactérias, leveduras e fungos. Os biossurfactantes são normalmente classificados de acordo com a sua natureza bioquímica e pela espécie que os produzem. As cinco principais classes de biossurfactantes são: glicolipídios, fosfolipídios e ácidos graxos, lipopeptídeos/lipoproteínas, surfactantes poliméricos e surfactantes particulados (Edwards et al., 2003).

Os surfactantes sintéticos são compostos orgânicos que possuem a capacidade de reduzir a tensão superficial da água, facilitando seu contato com os objetos a serem limpos, sendo por isso, utilizados como princípio ativo dos detergentes. São capazes de

emulsificar gorduras e mantê-las em suspensão. Muitos produtos de limpeza contêm pelo menos dois surfactantes para o desenvolvimento eficaz de suas funções (Cosméticos & Perfumes, 2001).

O consumo mundial de surfactantes é cerca de 8 milhões de toneladas por ano. São amplamente utilizados nas indústrias cosmética e alimentar, têxtil, de corantes e de produção de papel e especialmente na indústria de detergentes e demais produtos de limpeza (Scott & Jones, 2000; Cunha et al., 2000). As principais áreas de aplicação dos surfactantes são ilustradas na Figura 1.

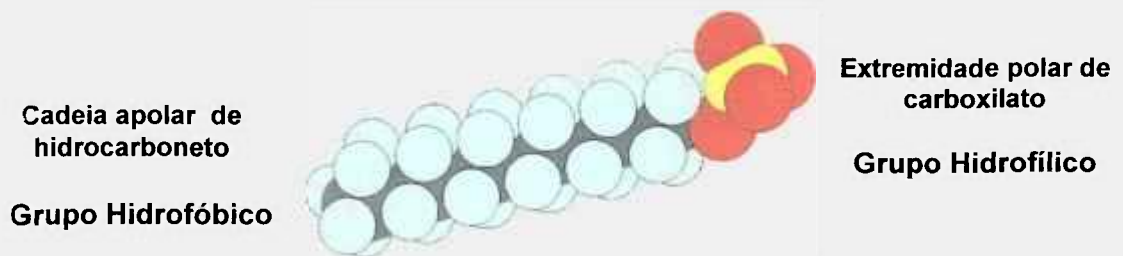
Uma das principais características dos surfactantes é a concentração micelar crítica (CMC). A partir desta concentração as moléculas de surfactantes formam agregados moleculares denominados micelas e a tensão superficial da solução não é mais reduzida, permanecendo constante (Cunha et al., 2000).



**Figura 1.** Aplicações de surfactantes em setores distintos, segundo Cunha, et al., 2000.

O nome surfactante vem do inglês “surfactants”, que significa “Surface Active Agents”, agentes ativos de superfície. São compostos por um grupamento hidrofílico e por um grupamento hidrofóbico (Figura 2). O grupo hidrofóbico é formado por uma cadeia apolar de hidrocarboneto, com 8 a 18 carbonos, linear ou ramificada (Barbieri et al., 2000).

O grupo hidrofílico (extremidade polar) é composto por materiais de duas categorias: aqueles que ionizam em soluções aquosas e aqueles que não ionizam (Rohrer, 1975). Assim, os surfactantes podem ser classificados de acordo com o tipo de dissociação que sofrem na água em não-iônicos, anfóteros, catiônicos e aniônicos.



**Figura 2.** Estrutura de um surfactante aniônico - grupo hidrofílico e hidrofóbico.

Os surfactantes não-iônicos são aqueles em que a atividade superficial é desempenhada por toda a molécula, sendo uma parte mais polar que a outra. Normalmente são combinados com os aniônicos e catiônicos e empregados em detergentes em pó e líquidos. Os principais produtos desta classe são os alquil etoxilatos, os alquil fenólicos etoxilatos, os ésteres carboxílicos poliglicólicos e as aminas graxas (Cosméticos & Perfumes, 2001).

Os surfactantes anfóteros contêm grupos aniônicos e catiônicos e podem ser utilizados em combinação, apesar de terem aplicação limitada. As betaínas são os principais anfóteros (Cosméticos & Perfumes, 2001).

Os surfactantes catiônicos mais comuns são os haletos de trimetilamônio quaternário. Apresentam um poder de detergência fraco, não sendo utilizados como detergentes domésticos. Sua principal aplicação é em amaciantes, germicidas e emulsificantes específicos (Cosméticos e Perfumes, 2001).

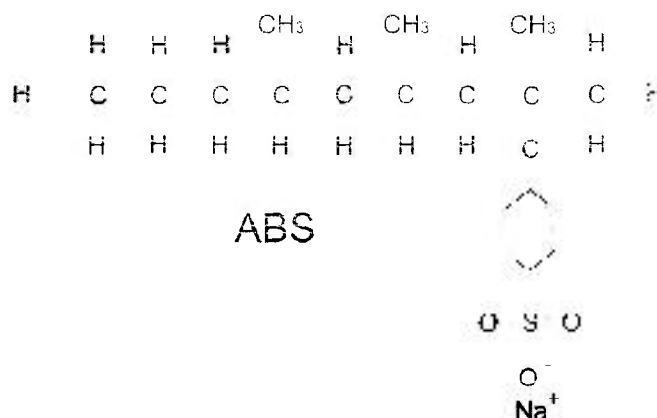
A classe de surfactantes aniônicos é a mais utilizada atualmente e é subdividida em carboxilatos, sulfatos, sulfonatos e fosfatos. São utilizados em produtos de limpeza domésticos e industriais para emulsificação de substâncias hidrofóbicas, como óleos, gorduras e petróleo (Barbieri et al, 2000). Os surfactantes aniônicos mais utilizados mundialmente, em volume, são os alquilbenzeno sulfonatos de sódio lineares (LAS) e o dodecilsulfato de sódio (DSS) (Sirisattha et al., 2004).

Os surfactantes aniônicos têm sido os mais utilizados, porém, a importância dos surfactantes catiônicos e não-iônicos tem aumentado consideravelmente (Sandbacka et al., 2000).

### 3.6.1 LAS e DSS

O LAS representa de 25 a 30% de todos os surfactantes sintéticos utilizados mundialmente, em formulações de detergentes domésticos e industriais (Temminck & Klapwijk, 2004). Foi desenvolvido em 1965 para substituir o alquilbenzeno sulfonato de sódio – ABS (Figura 3), formado por uma cadeia ramificada, sendo por esse motivo muito resistente à biodegradação. Isso porque apenas poucos microrganismos são capazes de romper ligações de átomos de carbono quaternário, encontradas no ABS (Braile & Cavalcante, 1979). O LAS pode ser duas a quatro vezes mais tóxico que o ABS. Estruturalmente diferente do ABS, o LAS é um composto biodegradável, sendo que sua cadeia carbônica contém normalmente de 10 a 14 átomos de carbono (Rand, 1995). O LAS com 12 átomos de carbono, o dodecil p-benzenosulfonato de sódio ( $C_{12}H_{25}C_6H_4SO_3Na$ ), é uma de suas formas mais utilizadas. Tanto o ABS como o LAS apresentam um anel benzênico em suas estruturas.

Apesar de ter sido substituído há mais de 30 anos pelo LAS, devido a sua resistência à biodegradação, o ABS ainda é utilizado em países menos industrializados que se beneficiam pelo seu custo de produção mais baixo e em algumas aplicações com perfil específico (Eichhorn et al., 2002).



**Figura 3.** Estrutura molecular ramificada do ABS.

Cerca de 85% do LAS é utilizado em detergentes líquidos, detergentes em pó, e em outros produtos domésticos. Os detergentes industriais e comerciais são responsáveis pela maioria das outras aplicações do LAS. Entretanto, pode também ser utilizado como emulsificador, por exemplo, em herbicidas para a agricultura e emulsões para polimerização, e como agente umidificante. O consumo de LAS nos Estados Unidos, Europa e Japão foi de aproximadamente 0,9 bilhões de quilos, no ano de 1998

(Sirisattha et al., 2004).

O dodecilsulfato de sódio (DSS), surfactante aniônico formado por uma cadeia carbônica com 12 átomos de carbono ( $C_{12}H_{25}SO_4Na$ ), é muito utilizado como um agente de limpeza em sabonetes líquidos e xampu, espuma e gel de banho, pastas de dente e em cosméticos (Sirisattha et al., 2004).

Devido ao fato da toxicidade do LAS e do DSS ser bem conhecida, estes surfactantes são freqüentemente utilizados como substância de referência em ensaios de toxicidade, especialmente o DSS, avaliando a sensibilidade dos organismos-teste.

### **3.7 Problemas Ambientais Causados pelos Surfactantes**

Os principais problemas ambientais causados pelo uso indiscriminado dos surfactantes, de acordo com Cunha et al. (2000), são:

- formação de espumas, que causam poluição visual e inibem processos de depuração dos corpos receptores e nas ETEs, além de concentrarem e disseminarem impurezas, bactérias e vírus;
- diminuição das trocas gasosas entre a atmosfera e a superfície da água pela formação de uma película isolante na superfície da água;
- aumento do conteúdo de fosfatos no meio aquático, pela utilização de polifosfatos em combinação com os surfactantes, favorecendo a eutrofização;
- elevada toxicidade a organismos aquáticos presentes nos corpos hídricos receptores.

Muitos estudos têm demonstrado que a presença de detergentes e surfactantes pode causar sérios distúrbios ecológicos, afetando organismos aquáticos, inclusive peixes (Barbieri et al., 2000).

#### **3.7.1 Toxicidade de Detergentes e de Surfactantes a Organismos Aquáticos**

Os detergentes e surfactantes estão entre os principais componentes orgânicos antropogênicos em efluentes e lodos não tratados, encontrados em concentrações suficientes para causar problemas toxicológicos a organismos aquáticos (Sandbacka et al., 2000). Muitos rios na França, Inglaterra, Bélgica, Estados Unidos, Alemanha e outros países tornaram-se inadequados para a pesca devido à poluição por efluentes

industriais e domésticos contendo surfactantes (Rocha et al., 1985).

Devido a sua natureza química, os surfactantes podem interagir com os principais componentes da membrana celular, as proteínas e os lipídeos, desestruturando os sistemas de membranas e enfraquecendo as estruturas de proteção dos organismos (Braga, 2002). Podem apresentar ação bactericida e bacteriostática em baixas concentrações devido a sua interação com a membrana celular da bactéria (Gloxhuber, 1980).

Outras ações dos surfactantes já estudadas em sistemas biológicos são alterações na fosforilação oxidativa e alterações estruturais em mitocôndrias, que aumentam de acordo com o número de carbonos presentes na molécula do surfactante, alterações na permeabilidade da membrana ao potássio e inibição da síntese de DNA, estudadas em levedura (Gloxhuber, 1980).

A tecnologia de microarranjos de DNA ("DNA microarray") tem sido utilizada em Toxicologia para a análise de alterações no nível transcricional (expressão gênica) em células, em resposta ao estresse ambiental. Essa técnica permite acompanhar a expressão de milhares de genes ao mesmo tempo. Siristtha et al. (2004) utilizaram os surfactantes DSS e LAS C<sub>12</sub> como modelos de compostos químicos para o teste de microarranjo de DNA, em *Saccharomyces cerevisiae*. Embora neste trabalho não tenha sido possível demonstrar a mutagenicidade do LAS e do DSS, foram observados efeitos diretos destes compostos no sistema de reparo de DNA. Os perfis de expressão do mRNA obtidos sugeriram que os surfactantes causam danos à membrana e alterações no metabolismo de carbono, induzindo a resposta oxidativa ao estresse.

Estudos para a verificação dos efeitos tóxicos de detergentes e surfactantes em organismos aquáticos têm sido amplamente realizados. Os primeiros organismos utilizados foram os peixes, no final da década de 50, no Reino Unido, Bélgica e Rússia (Malagrino et al., 1985).

A toxicidade dos surfactantes varia muito em relação ao organismo-teste e ao tipo de surfactante, dentre os quais o crustáceo de água doce *Daphnia magna* tem se mostrado mais sensível à toxicidade aguda (Cserhát et al., 2000).

Estudos sobre os efeitos tóxicos crônicos são particularmente importantes quando organismos aquáticos são expostos continuamente a emissões de efluentes. Os efeitos subletais dos surfactantes incluem o retardamento do crescimento, a alteração do comportamento alimentar e inibição de órgãos químio-receptores (Malagrino et al.,

1985). Segundo Lewis (1991) a toxicidade crônica e efeitos subletais dos surfactantes catiônicos são menores em relação aos outros grupos de surfactantes. A toxicidade crônica dos surfactantes aniônicos e não-iônicos ocorre em concentrações normalmente maiores que 0,1mg/L. Os efeitos destes surfactantes em parâmetros comportamentais e fisiológicos dos organismos aquáticos situam-se nas concentrações entre 0,002mg/L a 40,0mg/L.

Warne & Schifko (1999) avaliaram a toxicidade de vários componentes dos detergentes, com o objetivo de determinar quais dos componentes, entre surfactantes, enzimas, controladores de espuma, branqueadores e corantes, é o maior contribuinte para a toxicidade total. Foram realizados ensaios de toxicidade aguda com o organismo *Ceriodaphnia dubia*. Os surfactantes apresentaram uma média de contribuição de 40,7% da toxicidade aguda total dos detergentes, sendo o grupo de componentes mais tóxico. Entre os surfactantes analisados, o LAS C<sub>12</sub> apresentou CE50 igual a 7,81mg/L e a sua contribuição para a toxicidade do detergente foi de 50,41%.

Malagrino et al. (1985) estudaram a ação tóxica do detergente comercial "ODD" sobre o peixe *Poecilia vivipara*. Os parâmetros observados foram comprimento médio (mm), peso médio (g), comportamento (dificuldade de equilíbrio) e sobrevivência. Em todas as concentrações, a partir do primeiro dia de exposição, foi observada a dificuldade de equilíbrio dos organismos expostos e a CL50 determinada foi menor que 0,1mg/L.

Malagrino et al. (1987), também estudaram a influência de uma mistura dos detergentes "Skip", "ODD" e "Minerva" no crescimento bissal do molusco *Brachidontes solisianus*, provenientes de Ubatuba-SP. Na concentração de 1mg/L foi observado entre 70% e 80% de animais com crescimento bissal e entre 45% e 55% na concentração de 10mg/L. Os efeitos observados mostram que os detergentes podem contribuir para o decréscimo da fauna aquática, por impedir ou dificultar o comportamento de fixação no substrato, que é realizado pelo bisso.

Ensaio de toxicidade foram realizados na CETESB com diferentes substâncias, entre elas os detergentes comerciais "ODD" e "Extran", utilizando-se copépodos, ostrácodos e peixe. Para o "ODD" a CL50(96h) obtida no teste estático com copépodos foi 0,232mL/L e no teste de fluxo contínuo a CL50(96h) foi 0,015mL/L. Para o detergente "Extran" a CL50(96h) obtida com copépodos no teste estático foi igual a 0,225mL/L e igual a 0,175mL/L no teste estático com ostrácodos. Os testes realizados com *Brachydanio rerio*, fluxo contínuo, utilizando-se o detergente "ODD" resultaram em uma

CL50(96h) igual a 0,030mL/L (Pereira et al, 1987).

Em peixes, as brânquias são os primeiros alvos dos surfactantes e de outras substâncias tóxicas presentes na água, pois apresentam uma superfície relativamente grande, recoberta por um epitélio fino. Assim, o epitélio branquial torna-se um candidato a modelo "in vitro" para a toxicologia aquática (Sandbacka et al., 2000). Segundo Cserhát et al. (2000), altas concentrações de surfactantes modificam o comportamento de peixes, que passam a apresentar movimentos erráticos, espasmos musculares e torção do corpo.

Sandbacka et al., 2000, analisaram a toxicidade de 10 tipos de surfactantes (aniônicos, catiônicos e não aniônicos), entre eles o DSS, em peixes, em culturas de células de peixes e em *Daphnia magna* e observaram que a *Daphnia* foi mais sensível à maioria dos surfactantes quando comparada ao peixe e muito mais sensível aos surfactantes catiônicos. A CE50 obtida com *D. magna* para o DSS foi igual a 28,8mg/L, enquanto que para o peixe a CL50 obtida foi de 42,1mg/L. Para os surfactantes catiônicos, a *Daphnia* foi muito mais sensível que as células em cultura, demonstrando ser especialmente sensível a essa classe de surfactantes. Lewis & Suprenant (1983), concluíram que, das espécies utilizadas em ensaios toxicológicos, os dafnídeos estão entre as espécies mais sensíveis aos surfactantes.

Para a avaliação dos níveis tóxicos dos surfactantes Marlon A (alquilbenzeno sulfonato, biodegradável) e do Oronite-60 (Tetrapropileno benzeno sulfonato, fracamente biodegradável) à fauna malacológica da região de Ubatuba-SP, foram realizados ensaios de toxicidade aguda com os moluscos *Littorina flava* e *Littorina zic zac*, organismos que vivem presos ao substrato rochoso. O Marlon A apresentou toxicidade acentuada a partir de 2,7mg/L (1,8mg/L e 3,2mg/L) e o Oronite-60 foi tóxico em concentrações abaixo de 2,5mg/L (entre 1,0mg/L e 1,8mg/L), evidenciadas por modificações no comportamento dos organismos (Malagrino et al., 1986).

Em um trabalho desenvolvido por Rocha et al. (1985), foi avaliada a toxicidade do surfactante Oronite-60 sobre o molusco *Tivela mactroides*, de Ubatuba-SP. Os resultados indicaram efeitos subletais nas características estudadas como diminuição da atividade de escavação, danos aos sifões inalante e exalante, além de danos nos músculos de abertura e fechamento das valvas, que são importantes adaptações dos animais às condições ambientais. Os autores concluíram que a presença de surfactantes na água do mar pode contribuir para a degradação das comunidades marinhas.

Os autores Li & Schröder (2000) determinaram a toxicidade aguda de 10 diferentes surfactantes, 2 aniônicos, 2 catiônicos, 4 não-iônicos e 2 anfóteros, utilizando os organismos *Daphnia magna* e *Vibrio fischeri*. Os surfactantes aniônicos utilizados foram alquiléter carboxilato e sulfoxinato. De uma forma geral, a *D. magna* foi mais sensível que a bactéria, porém para os dois surfactantes aniônicos estudados, a bactéria foi mais sensível que a *Daphnia*. Os valores de CE50 obtidos para o alquiléter carboxilato foram 198mg/L (*D. magna*) e 90mg/L (*V. fischeri*) e para o sulfoxinato foram 30mg/L (*D. magna*) e 27mg/L (*V. fischeri*).

Farré, et al, 2001, ilustraram a curva de inibição da bioluminescência emitida pela bactéria *Vibrio fischeri*, sinalizando a toxicidade de surfactantes não iônicos presentes em efluentes industriais, com o sistema Microtox®.

Normalmente os biossurfactantes são menos tóxicos que os surfactantes sintéticos. Edwards et al. (2003) compararam a toxicidade de surfactantes sintéticos com a toxicidade dos biossurfactantes, para as duas espécies estuarinas *Menidia beryllina* (peixe) e *Mysidopsis bahia* (crustáceo). Foram utilizados 3 biossurfactantes (BioEM, Emulsan, PES-51) e 3 surfactantes sintéticos (PES-61, Corexit 9500, Triton X-100). A toxicidade aguda foi determinada em ensaios estáticos com 96h de duração, observando-se a sobrevivência. O ensaio de toxicidade crônica foi realizado com a exposição de larvas jovens, das duas espécies, sendo observados a sobrevivência, o crescimento e a fecundidade. Os resultados mostraram que *M. bahia* foi a espécie mais sensível aos surfactantes. De uma forma geral, os surfactantes PES-61 (CL50=20mg/L; CENO=1000mg/L; CEO>1000mg/L) e o Emulsan (CL50= 20mg/L; CENO=120-200mg/L; CEO>200mg/L) foram os menos tóxicos e o Triton X-100 (CL50=6,0mg/L; CENO= 0,8-2,2mg/L e CEO= 1,3-3,6mg/L) foi o mais tóxico; as toxicidades dos biossurfactantes foram intermediárias àquelas apresentadas pelos surfactantes sintéticos.

Atualmente o mecanismo de toxicidade do DSS é bem caracterizado. Os primeiros alvos de DSS são as estruturas membranosas das células. Tem sido sugerido que o DSS causa peroxidação lipídica, aumento da produção de glutathiona e alterações no metabolismo do carbono. Com base na similaridade entre as estruturas químicas, é aceito que o modo de ação do LAS seja semelhante ao do DSS (Sirisattha et al., 2004).

De acordo com Eichhorn et al. (2002), concentrações de LAS acima de 0,155mg/L podem causar efeitos negativos à vida aquática. Segundo Cserhát et al. (2000) a toxicidade aguda para o LAS varia entre 1,7mg/L e 270mg/L, para vários invertebrados cujos efeitos já foram estudados.

Aidar et al. (1995) realizaram a avaliação da toxicidade aguda e crônica do surfactante LAS C<sub>12</sub> para a alga diatomácea *Phaeodactylum tricorutum*, da região estuarina de Cananéia-SP. Os valores encontrados para CL50 foram 1,94mg/L (48h) e 1,90mg/L (96h). Os valores de CENO (48 e 96h) obtidos estiveram acima de 0,5mg/L.

Paixão et al. (2002) avaliaram a toxicidade aguda do DSS para a microalga *Tetraselmis chuii*, durante 96 horas de exposição. Os valores médios de C150 encontrados através do percentual de inibição do crescimento das microalgas foram de 11,21mg/L a 21,87mg/L.

Villegas-Navarro et al. (1999) determinaram a toxicidade aguda do DSS para o crustáceo *Daphnia magna*, e obtiveram a CL50 entre 14,5mg/L e 16,2mg/L.

Kaiser & Palabrica (1991) determinaram a toxicidade aguda para diversos compostos orgânicos, entre eles o LAS C<sub>12</sub>, utilizando a bactéria luminescente *Vibrio fischeri*. A CE50 obtida para o LAS foi igual a 1,51mg/L.

Alterações induzidas quimicamente na bioquímica e na fisiologia dos organismos podem ser utilizadas como ferramenta de diagnóstico no estudo de impactos ambientais potenciais em ambientes aquáticos. Os surfactantes podem prejudicar as funções metabólicas de um organismo, incluindo a inativação de enzimas como as esterases e as fosfatases e alteração da permeabilidade da membrana celular (Cotou et al., 2001).

Guilhermino et al. (2000) estudaram o efeito dos surfactantes DSS e DBS (dodecilbenzil sulfonato) na atividade enzimática da acetilcolinesterase de *Daphnia magna*. Organismos jovens foram expostos aos surfactantes por 48 horas. A partir dos dados obtidos sobre a inibição enzimática, foram calculadas a CENO e a CEO. Para o DBS os resultados obtidos foram CENO < 12,5mg/L e CEO igual a 12,5mg/L. Já para o DSS os valores obtidos foram CENO igual a 25mg/L e CEO igual a 50mg/L.

Jorge et al. (2002) verificaram o efeito do DSS nas enzimas glutathione s-transferase e catalase de larvas do mexilhão *Perna perna*. Os organismos tratados apresentaram atividade enzimática mais elevada em relação ao grupo controle, demonstrando a sensibilidade dos organismos ao surfactante aniônico. Os autores justificam o aumento na atividade das enzimas pela desestruturação das membranas biológicas intracelulares pelo surfactante, ocasionando um aumento da síntese e da liberação enzimática.

### 3.7.2 Fatores que Influenciam a Toxicidade dos Surfactantes

Alguns fatores afetam o potencial tóxico dos surfactantes, entre eles a sua estrutura molecular, a dureza da água, temperatura e concentração de oxigênio dissolvido (Rocha et al., 1985; Lewis, 1992).

A determinação da influência da temperatura na toxicidade do LAS C<sub>12</sub> ao organismo *Mugil platanus* (peixe) foi realizada por Barbieri et al. (2000). Os organismos foram submetidos à medição do consumo de oxigênio em respirômetros. Os resultados demonstraram que o consumo de oxigênio aumenta em função da concentração de LAS, especialmente a partir da concentração de 2,5mg/L de LAS, e também em função do aumento das temperaturas empregadas, sugerindo que com o aumento da temperatura ocorre também um aumento da toxicidade do surfactante.

A maioria dos estudos ecotoxicológicos com surfactantes não considera a sua biodisponibilidade, já que em testes laboratoriais as suas concentrações são mantidas constantes. Entretanto, no ambiente três mecanismos alteram a biodisponibilidade dos surfactantes: a biodegradação, a adsorção e a precipitação.

A adsorção do LAS na matéria orgânica suspensa é um fenômeno bem conhecido. Isto também ocorre nas estações de tratamento, diminuindo a toxicidade dos surfactantes, já que as bactérias só utilizam compostos que estão em solução. Dependendo da concentração de Ca<sup>2+</sup>, o LAS pode ser solubilizado ou precipitado, causando uma diminuição na biodisponibilidade para organismos aquáticos e conseqüentemente a diminuição da toxicidade (Verge et al., 2001).

Verge et al. (2001) estudaram o efeito da precipitação do LAS (Ca(LAS)<sub>2</sub>), devido à dureza da água, na sua biodisponibilidade e conseqüentemente na sua toxicidade. Foram utilizados 3 homólogos de LAS (C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub> e o C<sub>14</sub>) em concentrações entre 5mg/L e 25mg/L. O organismo *D. magna* foi utilizado no ensaio de toxicidade aguda de 48h de duração e os valores de dureza utilizados nas exposições foram 200mg/L, 500mg/L, 2000mg/L e 2500mg/L de CaCO<sub>3</sub>.

Outro ensaio foi realizado utilizando o LAS C<sub>10</sub> e aumentando-se a dureza da água para 8500mg/L de CaCO<sub>3</sub>. Os ensaios de toxicidade realizados com dureza de 200mg/L demonstraram um aumento da toxicidade em relação ao aumento do tamanho da cadeia do LAS, cuja CE50 foi reduzida de 13,9mg/L (C<sub>10</sub>) para 1,22mg/L (C<sub>14</sub>). Os resultados mostraram ainda que há um aumento da toxicidade em relação ao aumento da dureza da água, que funciona como um fator de estresse para os organismos, neste

caso. Utilizando os homólogos  $C_{12}$  e  $C_{14}$  os autores demonstraram que o LAS é precipitado mais rapidamente quanto maior for o seu peso molecular. Enquanto que o LAS  $C_{10}$  é mais solúvel, sofrendo menor precipitação,  $C_{12}$  e  $C_{14}$  precipitam mais rapidamente, implicando em uma redução da toxicidade pela diminuição da fração disponível e conseqüentemente da concentração. Os autores concluíram que a toxicidade é um resultado da presença da forma iônica do LAS ( $Ca^{2+}$  - LAS<sup>-</sup>) (Verge et al., 2001).

Sandbacka et al. (2000), utilizando 10 tipos de surfactantes (aniônicos, catiônicos e não aniônicos), estudaram a influência do tamanho da cadeia alquil na toxicidade, observando que quanto maior o tamanho da cadeia, maior a toxicidade do surfactante.

### 3.7.3 Surfactantes como Dispersantes de Oleo

Aproximadamente 5 milhões de toneladas de óleo bruto e óleo refinado entram no ambiente a cada ano como um resultado de fontes antropogênicas como o derramamento de óleo. Muitos processos de biorremediação têm sido aplicados para reduzir os impactos causados, entre eles o estímulo da microbiota a degradar o óleo, pela adição de fertilizantes ricos em nitrogênio e fósforo, semeando a área afetada com microbiota que degrade hidrocarbonetos. Uma outra forma de remediação é a aplicação de surfactantes nas áreas contaminadas (Edwards et al., 2003).

Os acidentes em terminais petroleiros, derrames de óleos de navios-tanque e o vazamento de oleodutos implicam na utilização de surfactantes para resolver o problema da mancha de óleo no mar, mas acabam prejudicando a biota marinha (Malagrino et al., 1986). Isso acontece porque os surfactantes, presentes nos detergentes, são mais tóxicos que o próprio petróleo e em combinação, apresentam um sinergismo altamente tóxico (Thompson & Wu, 1981; Lewis, 1992). O impacto dos dispersantes de óleo no ecossistema marinho é freqüentemente estudado com base nos dados de toxicidade aguda (Cotou et al., 2001).

Os dispersantes de óleo são misturas de dois ou mais surfactantes aniônicos e não-iônicos e solventes. Sua toxicidade é influenciada pelo tipo específico e concentração de cada surfactante presente. Cotou et al. (2001) estudaram o efeito de um dispersante de óleo à base do surfactante Finasol OSR 5 na enzima ATPase durante dois estágios nauplianos de *Artemia* (instar I e II). Foi observada inibição na

atividade enzimática da ATPase para os íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  e estimulação da atividade enzimática para o  $\text{Mg}^{2+}$ .

### 3.7.4 Surfactantes em Estações de Tratamento Biológico

Os surfactantes são os principais componentes orgânicos antropogênicos em efluentes e lodos não tratados. Segundo Brunner et al. (1988), concentrações entre 3mg/L e 21mg/L de surfactantes aniônicos são encontradas em efluentes não tratados, que chegam às estações de tratamento, sendo que quantidades significativas de surfactantes acabam sendo transportadas para o ambiente a partir de estações de tratamento.

Devido à natureza ambifílica dos surfactantes, eles podem ser adsorvidos na superfície do material particulado, associados ao lodo sólido de efluentes. Alguns autores relataram a presença de 10% a 35% de LAS adsorvido em material particulado, em um efluente não tratado. Podem também precipitar na presença de íons metálicos, particularmente o  $\text{Ca}^{2+}$ . Esse comportamento pode resultar em uma proporção significativa de surfactantes na fração particulada (Scott & Jones, 2000).

Embora o LAS e outros surfactantes comuns sejam rapidamente degradados por processos biológicos, grande parte dos surfactantes (20% a 50%) é carregada em uma estação de tratamento associada a sólidos em suspensão, escapando do tratamento aeróbico, sendo diretamente depositado no lodo (Dentel et al., 1993). O lodo, que é relativamente rico em surfactantes, é comumente tratado anaerobicamente, porém a maioria dos surfactantes só pode ser degradada pela via aeróbica. Assim, considerando essa fase anaeróbica do tratamento (mesofílica e termofílica), parte dos surfactantes escapa do tratamento com os sólidos do lodo (Dentel et al., 1993). A adição desse lodo em terrenos agriculturáveis representa uma fonte potencial de surfactantes para o ambiente terrestre, podendo representar até 12% do resíduo sólido (Scott & Jones, 2000). Como consequência da modificação da superfície das partículas, pelo surfactante, na defloculação e na redução da tensão superficial, parece claro que o desempenho de processos como compactação, acondicionamento e desidratação devem ser fortemente influenciados pelos surfactantes, causando um aumento nos custos do tratamento do lodo (Dentel et al., 1993).

Os surfactantes e seus metabólitos podem ser encontrados em efluentes e corpos receptores também devido ao curto tempo de retenção desses compostos na

estação de tratamento biológico, em comparação ao tempo de biodegradação (Li & Schröder, 2000).

Segundo Boeije et al. (2000), o surfactante LAS pode representar mais de 1% da DBO no esgoto doméstico. Concentrações de LAS próximas a 10mg/L têm sido medidas em efluentes (Guilhermino et al., 2000). Alguns trabalhos já demonstraram que o LAS é eficientemente removido dos efluentes por processos físicos, químicos e biológicos. Entre 30% e 70% do LAS é removido por precipitação e adsorção nos sólidos em suspensão. A degradação biológica contribui com aproximadamente 95%-99% de redução do LAS em lodo ativado. Entretanto, compostos intermediários da quebra aeróbica do LAS, os carboxilatos sulfofenílicos (CSF), principais produtos de degradação do LAS, chegam aos corpos receptores, provenientes das estações de tratamento. Devido à alta solubilidade do LAS em água e à elevada polaridade dos seus metabólitos (devido à presença do grupo carboxílico), eles são transportados a relativamente longas distâncias (Eichhorn et al., 2002).

Temminck & Klapwijk (2004) estudaram o destino do LAS-C<sub>12</sub> em uma estação de tratamento biológico de esgoto, em escala piloto. A planta piloto operava com uma concentração de 12mg/L de LAS e o tempo de retenção do lodo foi de 10 e 27 dias. Em amostras do efluente, apenas 2-8% do LAS estava dissolvido, enquanto que os 92-98% restantes estavam adsorvidos no lodo. Os autores observaram que 99% do LAS foi removido, em condições aeróbicas, pela biodegradação, não apenas na fração solúvel mas também na fração adsorvida.

### **3.7.5 Monitoramento de Surfactantes**

A determinação de surfactantes sintéticos aniônicos e dos seus produtos de degradação em amostras ambientais é um problema complexo. Muitos métodos analíticos têm sido empregados para a análise de surfactantes, entre eles os métodos colorimétricos como o do Azul de Metileno (MBAS), cromatografias planar, gasosa e Líquida de Alta Eficiência (CLAE), além de eletroforese capilar (Nair & Saari-Nordhaus, 1998).

Esta complexidade é maior em água do mar, especialmente em regiões costeiras devido à presença de muitas substâncias orgânicas que podem interferir nas análises das amostras, entre elas os biosurfactantes (González-Mazo & Gómez-Parra, 1996).

A detecção, quantificação e identificação dos surfactantes em soluções apresentam dificuldades analíticas, porque suas moléculas não são voláteis, são altamente polares e extremamente solúveis em água (Li & Schröder, 2000). Assim, o monitoramento de surfactantes deve ser realizado com muita cautela, pois concentrações subestimadas podem comprometer diversos ecossistemas.

A concentração dos surfactantes aniônicos no ambiente mostra variações sazonais e de acordo com a distância de centros urbanos. A eficiência de uma estação no tratamento em relação à concentração de surfactantes deve ser controlada, pois o tratamento incompleto dos efluentes pode resultar em contaminação do solo e do lençol freático pelos surfactantes (Cserhát et al., 2000).

O limite máximo de surfactantes permitido em um ambiente aquático estabelecido pela Resolução CONAMA nº 20, de 18 de junho de 1986, é de 0,5mg/L, baseada na Metodologia do Azul de Metileno, para água de qualquer salinidade (Bosquilha et al., 2004). Esta metodologia é oficialmente praticada pelos organismos nacionais de controle ambiental.

Considerando ainda situações onde o tratamento de efluentes é deficiente, os níveis de surfactantes encontrados em corpos receptores são consideráveis; assim, organismos aquáticos são freqüentemente expostos. As concentrações de surfactantes em corpos receptores podem ser reduzidas pela adsorção nos sedimentos e ainda, pela biodegradação feita por comunidades bacterianas endógenas presentes, porém, com menor taxa de degradação em comparação às estações de tratamento (Eichhorn et al., 2002).

No Estado de São Paulo, devido ao uso de surfactantes não biodegradáveis, o índice de surfactantes no Rio Tamanduateí em 1992 foi de 2,3mg/L (Barbieri et al., 2000) e no Rio Tietê, em Pirapora do Bom Jesus, foi de 1,6mg/L (Hatamura et al., 1993). Altas concentrações de surfactantes em corpos receptores podem levar à formação de espumas, como é exemplificado na Figura 4.

Em um estudo realizado por Aidar et al. (1995) foram coletadas amostras da região de Cananéia, litoral sul de São Paulo, para a determinação da concentração de surfactantes aniônicos pelo Método do Azul de Metileno. O estudo apresentou altas concentrações de surfactantes, que variaram entre 0,15mg/L e 2,08mg/L.



**Figura 4.** Rio Tietê em Pirapora do Bom Jesus, São Paulo, Junho de 2003.

Bosquilha (2002) determinou a concentração de polifosfatos e surfactantes (utilizando o Método do Azul de Metileno e metodologia Co-PADAP) presentes no Sistema Estuarino de Santos, Estado de São Paulo, encontrando em média  $1,89\mu\text{mol/L}$  de polifosfatos no inverno e  $0,54\mu\text{mol/L}$  no verão. Para os surfactantes, as médias encontradas foram de  $0,095\text{mg/L}$  no inverno e  $0,065\text{mg/L}$  no verão. Os teores de polifosfato demonstraram correlação direta com a presença de surfactantes, sendo resistentes à biodegradação, enquanto os surfactantes são biodegradáveis. O trabalho sugere que os polifosfatos seriam mais apropriados para indicar a inserção de detergentes em um sistema que o surfactante, o qual muitas vezes não pode ser detectado em sua constituição primária.

Fontes et al. (2004) estudaram a Lagoa da Conceição, Florianópolis-SC, que vem sofrendo intenso processo de eutrofização em virtude do aumento do turismo e urbanização da região. A qualidade da água desta lagoa foi avaliada utilizando-se parâmetros biológicos e físico-químicos, incluindo a determinação da concentração de polifosfatos. Durante o verão do ano de 2003, a média de polifosfatos foi igual a  $0,65\mu\text{mol/L}$ , na parte Sul da Lagoa, que foi a região que apresentou maior concentração de polifosfato. Assim, os polifosfatos também podem ser utilizados como indicadores da influência antrópica nos ecossistemas aquáticos bem como da contaminação por detergentes fosfatados.

No trabalho realizado por Eichhorn et al. (2002) foi monitorado o Rio Macacu-RJ para a ocorrência do surfactante LAS e seu principal produto de degradação, os

carboxilatos sulfonílicos (CSF). Amostras foram coletadas em 6 pontos do rio, aplicando-se a metodologia (qualitativa e quantitativa) de cromatografia líquida-espectrometria de massa, após a extração da fase sólida das amostras. O Rio Macacu fornece água a 2,5 milhões de pessoas nas regiões que incluem as cidades de Cachoeira de Macacu, Niterói e São Gonçalo, localizadas no lado leste da Baía de Guanabara. As concentrações de LAS estiveram entre 0,014mg/L e 0,155mg/L e os níveis de CSF encontrados foram de 0,0012mg/L a 0,014mg/L. Os autores concluíram que o Rio Macacu recebe efluentes domésticos não tratados de várias vilas localizadas ao longo do rio e principalmente de duas cidades, Cachoeiras de Macacu e Japuiba.

Bosquilha et al. (2004) quantificaram os surfactantes aniônicos presentes em dois diferentes sistemas. Um deles, a Baía do Almirantado, situada na Ilha do Rei George, Antártica, que é um local que apresenta circulação restrita e baixas temperaturas e onde o processo de biodegradação de surfactantes pode ser bastante lento, foram detectadas concentrações entre 0,01mg/L e 0,04mg/L de surfactantes aniônicos, demonstrando pouca influência antrópica. O outro sistema, a região estuarina de Santos-SP, que apresenta atividades industriais, portuárias e habitacionais, com temperaturas anuais bastante elevadas, a variação observada foi de 0,01mg/L a 0,25mg/L de surfactantes aniônicos, não ultrapassando o valor permitido pela legislação CONAMA, 1986, mas ultrapassando o limite estabelecido pela Agência de Proteção Ambiental americana (EPA), de 0,2mg/L.

### **3.7.6 Surfactantes e outros Poluentes no Ambiente**

Além de todos os problemas ambientais causados pelos surfactantes, já mencionados anteriormente, estes compostos podem ainda mobilizar (disponibilizar) poluentes orgânicos normalmente insolúveis, como o DDT e o triclorobenzeno, e remobilizar metais na água e no solo (Dentel et al., 1993; Warne & Schifko, 1999; Cserhát et al., 2000). Há ainda indícios de que baixas concentrações de surfactantes possam aumentar a absorção de outros poluentes pelos organismos, através de um efeito sinérgico (Rocha et al. 1985; Lewis, 1992).

A presença de surfactantes no solo, pela disposição do lodo, pode causar efeitos indesejáveis no meio ambiente. As moléculas de surfactante podem infiltrar e contaminar o lençol freático, podendo também carregar poluentes orgânicos hidrofóbicos. A maior parte do surfactante pode ser degradada na coluna de solo, mas isso depende do número de microrganismos presentes. Os surfactantes também podem

causar efeitos na textura do solo e na retenção de água.

Em baixas concentrações as moléculas de surfactantes se apresentam como monômeros, em solução aquosa. Na medida em que a concentração aumenta, as moléculas se associam quando alcançam a concentração de micela crítica. A formação desta nova fase aumenta a solubilização de solutos orgânicos não polares. Por esta razão, os surfactantes também têm sido utilizados para a limpeza de solos contaminados (Dentel et al., 1993).

Os surfactantes podem ser utilizados na remediação dos solos por facilitarem a desorção de poluentes ambientais polares e apolares, como os pesticidas, pentaclorofenol, triclorobenzeno, hidrocarbonetos poliaromáticos, produtos petroquímicos, etc. (Dentel et al., 1993).

### 3.7.7 Biodegradação dos surfactantes

Para a análise do impacto ambiental dos surfactantes deve-se considerar a sua biodegradabilidade e a sua toxicidade. A porcentagem de biodegradabilidade média dos surfactantes das diferentes classes existentes, segundo Cunha et al. (2000), é apresentada na Tabela 3. Os surfactantes aniônicos e anfóteros são os grupos de surfactantes mais biodegradáveis.

**Tabela 3.** Biodegradabilidade dos surfactantes iônicos, não-iônicos e anfóteros.

<b>Tipos de Surfactantes</b>	<b>Biodegradabilidade (%)</b>
Aniônicos	97,67
Catiônicos	4-18
Não-Iônicos	>80
Anfóteros	100

Na biodegradação de surfactantes, a degradação primária ocorre quando a estrutura da molécula for alterada suficientemente para que ocorra a perda das propriedades surfactantes da molécula. O principal produto de biodegradação do DSS é o dodecan-1-ol (Marchesi et al., 1994) enquanto que o CFS é o principal produto da biodegradação do LAS (Eichhorn et al., 2002). A degradação final dos surfactantes ocorre quando sua molécula for reduzida a CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, água, sais minerais e biomassa (Scott e Jones, 2000).

O comportamento ecológico dos surfactantes depende da sua biodegradabilidade. A biodegradação ocorre naturalmente pelos microrganismos. Os

principais agentes de biodegradação dos surfactantes são as bactérias, tanto em efluentes como em águas naturais. No ambiente, em condições padrão, os microrganismos podem degradar os surfactantes mas em uma taxa muito baixa em relação às estações de tratamento (Dhouib et al., 2003).

Dhouib et al. (2003) isolaram uma bactéria capaz de degradar rapidamente altas concentrações de surfactantes aniônicos. A bactéria estudada foi a *Citrobacter braakii* e sua eficiência de biodegradação foi comparada com bactérias endógenas. A taxa de remoção obtida foi de 116mg/L.h para a *C. braakii*. A bactéria *C. braakii* aumentou em 85,3% a taxa de degradação do LAS em comparação com a taxa obtida para bactérias do sistema convencional de tratamento biológico.

A utilização de surfactantes sintéticos vem aumentando nas últimas décadas, tanto em nível industrial como doméstico, e os problemas ecológicos e de saúde pública causados pelo aumento da utilização desse produto têm chamado a atenção de órgãos ambientais no mundo todo. No Brasil, a Portaria nº 112, de 14 de maio de 1982, do Ministério da Saúde, define que “as substâncias tensoativas aniônicas, utilizadas na composição de saneantes de qualquer natureza, devem ser biodegradáveis”. A Lei Federal nº 7365 (1985), artigos 1º, 2º e 3º também descreve esta obrigatoriedade (Barbieri et al., 2000).

Os surfactantes modernos são biodegradáveis em ambientes aquáticos e considerados não acumulativos no ambiente. Entretanto, devido à contínua descarga destes compostos, eles podem alcançar concentrações elevadas em algumas áreas.

### **3.8 Tratamento de Efluentes**

#### **3.8.1 Tratamento Biológico**

A via mais comum de degradação da matéria orgânica em esgotos e efluentes é a biológica. Nas estações de tratamentos de esgotos, assim como nos corpos d'água, a oxidação aeróbia ocorre junto à superfície e a anaeróbia mais ao fundo. Quando o esgoto chega na estação, é separado em duas partes: uma sedimentável, que constitui o lodo de esgoto, e a outra, a parte líquida, contendo matéria orgânica solúvel, tratada aerobicamente por processos oxidativos (Branco, 1999).

Entre os principais exemplos de tratamentos biológicos utilizados atualmente estão as lagoas de estabilização, lodos ativados, filtros biológicos, vales de oxidação e digestores anaeróbicos de lodo (Borrely, 1995). Antes de serem submetidos ao

tratamento biológico, os efluentes passam por processos físicos e químicos, responsáveis pela separação de sólidos grosseiros, decantação de sólidos em suspensão, floculação, etc. Considerando que substâncias tóxicas podem inibir a atividade do lodo ativado, reduzindo a eficiência ou até mesmo a interrupção no sistema de tratamento, é importante determinar o potencial de impacto dos efluentes, tanto pela caracterização química quanto por ensaios ecotoxicológicos (Gutiérrez et al., 2002).

Existem diversas situações em que métodos convencionais de purificação de água não são efetivos no tratamento de compostos orgânicos sintéticos, como por exemplo, os compostos organoclorados (Baird, 2002). Quando cargas demasiadamente tóxicas de efluentes chegam às estações de tratamento, a eficiência do tratamento fica comprometida pela seleção dos organismos mais resistentes, necessitando de associação de técnicas como pré-tratamento de efluentes.

A destruição de poluentes tóxicos e não biodegradáveis devido à alta estabilidade química requer tecnologias alternativas de tratamento, que consistem principalmente em técnicas de separação de fases (adsorção) e em técnicas que destroem os contaminantes como a oxidação e a redução química (Andreozzi et al., 1999). Qualquer tecnologia que possa ser associada ao tratamento biológico, tornando os poluentes mais suscetíveis ao ataque microbiano, auxiliará os processos naturais de biodegradação que ocorrem no ambiente ou em estações de tratamento de efluentes (Borrely, 2001).

### **3.8.2 Processos Oxidativos Avançados**

Os métodos de tratamento de efluentes baseados na destruição química, quando devidamente desenvolvidos, fornecem uma solução completa para o problema dos poluentes de maneira diferente daqueles em que uma separação de fases é realizada, criando o conseqüente problema da disposição final dos resíduos (Andreozzi et al., 1999). O processo que emprega o carvão ativado, por exemplo, apenas transfere os poluentes adsorvidos da água para o carvão, que necessita de um tratamento posterior.

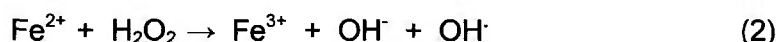
Assim, nos últimos anos muitos estudos têm sido realizados com o objetivo de desenvolver novas tecnologias de oxidação como um pré-tratamento para efluentes, antes de serem submetidos aos processos convencionais de tratamento (Yeber et al., 1999). Os Processos Oxidativos Avançados (POAs) visam desde a quebra primária das

moléculas de poluentes até a sua completa mineralização, isto é, a sua transformação em CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O e ácidos minerais.

A maioria dos POAs é aplicado em temperatura e pressão ambientes e utilizam energia para produzir intermediários altamente reativos, com grande potencial de oxidação ou redução, que atacam e destroem os compostos-alvo. Esse tipo de tratamento envolve a geração de quantidades significativas de radicais livres hidroxila (OH·), fortemente oxidantes e muito efetivos em soluções aquosas, e também no ar (Baird, 2002). Por esse motivo, muitas vezes os POAs são capazes de diminuir a toxicidade e a quantidade de matéria orgânica de efluentes, além de aumentar a biodegradabilidade de compostos químicos sintéticos (Yeber et al., 1999). Os POAs utilizam o peróxido de hidrogênio, o ozônio, a radiação ultravioleta (UV) e as radiações ionizantes (fontes de <sup>60</sup>Co e aceleradores de elétrons), além de outros agentes químicos oxidantes e catalisadores (Duarte, 1999).

A versatilidade dos POAs também é aumentada pelo fato de que eles oferecem diferentes caminhos possíveis para a produção de radicais OH· e podem ser utilizados em combinação, como por exemplo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup> (Oxidação Fenton), (Fe<sup>3+</sup>)/UV, Mn<sup>2+</sup>/Ácido oxálico/O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>/hν/O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>/UV, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, O<sub>3</sub>/radiação ionizante, etc (Andreozzi et al., 1999).

A Oxidação Fenton é um processo oxidativo que foi descoberto por Fenton, no século XIX. O reagente Fenton tem se demonstrado capaz de destruir compostos tóxicos em efluentes tais como fenóis e herbicidas, sendo o controle de pH muito importante. A produção de radicais OH· pelo reagente de Fenton ocorre pela adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aos sais de Fe<sup>2+</sup>, de acordo com a Equação 2:

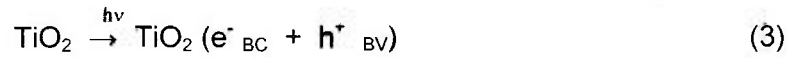


É uma forma muito simples de se produzir radicais OH·, sem reagentes especiais e sem a necessidade de equipamentos.

No processo Fenton fotoassistido a taxa de degradação de poluentes orgânicos é fortemente acelerada pela luz UV/visível, em comprimentos de onda maiores que 300nm. É uma extensão do processo Fenton, indicado por muitos autores para aplicações industriais (Andreozzi et al., 1999; Lin et al., 1999).

A Fotocatálise envolve a ativação de um semicondutor, normalmente o óxido de titânio, por luz solar ou artificial. O TiO<sub>2</sub> tem sido muito utilizado por não ser tóxico, possuir alta estabilidade (química e fotoestabilidade), bom desempenho e baixo custo.

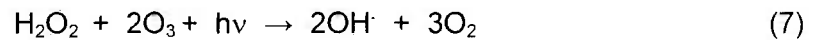
A absorção de fótons resulta na promoção de um elétron da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC) do semicondutor, gerando uma lacuna ( $h^+$ ) na BV, com potencial positivo. Esse potencial gera radicais  $OH^\cdot$ , a partir de moléculas de água adsorvidas na superfície do semicondutor, que irão oxidar o contaminante orgânico (Andreozzi et al., 1999; Jiménez et al., 2000), como mostram as Equações seguintes:



A Ozonização é um processo baseado na decomposição do  $O_3$  em soluções aquosas e formação de radicais  $OH^\cdot$ . Neste processo os íons  $OH^-$  têm o papel de iniciadores da reação (Equação 6).

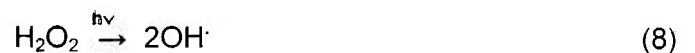


A adição de  $H_2O_2$  (Equação 7) na solução aquosa resulta em maiores concentrações de radicais  $OH^\cdot$  (sistema ozônio/  $H_2O_2$ ):



A eficiência da ozonização também pode ser ampliada com a adição da radiação ultravioleta; neste caso, o radical  $OH^\cdot$  é gerado a partir da irradiação UV (254nm) de um sistema aquoso, saturado com  $O_3$ . Existe ainda a combinação  $O_3/H_2O_2/UV$ , considerado o mais efetivo para o tratamento de efluentes muito poluídos (Andreozzi et al., 1999);

A Fotólise em combinação com o  $H_2O_2$  consiste na irradiação com luz UV (<280nm) de uma solução que contém o poluente e  $H_2O_2$ , causando a quebra homolítica do  $H_2O_2$  (Andreozzi et al., 1999), como mostra a Equação 8:



A radiação ionizante também faz parte do grupo de POAs e será abordada no próximo item. O potencial oferecido pelos POAs pode ser explorado pela integração com o tratamento biológico para a degradação de uma substância tóxica ou refratária que entra ou que sai do sistema de tratamento biológico.

### 3.9 Tratamento de Efluentes com Radiação Ionizante

#### 3.9.1 As Radiações Ionizantes

As radiações ionizantes, corpusculares e eletromagnéticas, são assim conhecidas pois apresentam a capacidade de ionizar átomos e moléculas presentes no meio irradiado, como por exemplo os raios alfa ( $\alpha$ ), partículas beta ( $\beta$ ), os raios X, os raios gama ( $\gamma$ ) e o feixe de elétrons (Spinks & Woods, 1990).

Ao atravessar um material, a radiação ionizante desencadeia uma série de eventos que podem ser divididos em três estágios temporais (Ito, 1975):

- **Estágio físico** - entre  $10^{-16}$  e  $10^{-15}$  segundos após a irradiação; ocorre a transferência da energia da radiação para a matéria, formando íons (cátions e elétrons) e moléculas excitadas.
- **Estágio físico-químico** - entre  $10^{-14}$  e  $10^{-11}$  segundos após a irradiação; são produzidas as espécies reativas secundárias, como átomos ou radicais livres.
- **Estágio químico** - a partir de  $10^{-10}$  segundos após a irradiação; corresponde ao reestabelecimento do equilíbrio térmico alterado pela absorção de energia. As espécies reativas continuam a reagir entre si e com outras moléculas presentes.

As radiações ionizantes têm sido utilizadas em diferentes áreas, como a irradiação de alimentos para sua preservação e desinfestação, a irradiação de materiais médicos para a radioesterilização, beneficiamento de pedras preciosas, processamento e modificação de polímeros, cura de tintas e vernizes, radioesterilização em bancos de tecidos, desenvolvimento e produção de fontes radioativas para radioterapia, na medicina nuclear, desenvolvimento de radiotraçadores para uso industrial e ambiental, tratamento de efluentes gasosos e líquidos, domésticos e industriais, entre outras. Para estes propósitos são comumente utilizados fontes de raios gama e o acelerador de elétrons.

Comercialmente utiliza-se principalmente como fonte de raios gama o  $^{60}\text{Co}$ . Os raios gama são fótons de alta energia, liberados de um núcleo atômico radioativo em processo de decaimento. O  $^{60}\text{Co}$  é produzido em um reator nuclear pela irradiação do seu isótopo não-radioativo  $^{59}\text{Co}$  com fluxo de nêutrons (Thompson & Blatchley, 1999). As fontes de  $^{60}\text{Co}$  são utilizadas principalmente na esterilização de produtos médicos e irradiação de alimentos (Duarte, 1999).

Os aceleradores de partículas começaram a ser desenvolvidos em 1927, com base nas pesquisas do físico Ernest Lawrence. O primeiro acelerador de partículas foi construído na Universidade de Cambridge, Inglaterra, pelos físicos Cockroft e Walton (Harvey, 1969).

Os aceleradores de elétrons fazem parte da categoria dos aceleradores de partículas, que são dispositivos capazes de acelerar partículas subatômicas de valores muito baixos até valores entre alguns milhões e vários bilhões de elétrons-Volt (eV) e altas energias cinéticas, pela combinação entre campos elétricos e magnéticos. A unidade elétron-Volt corresponde à variação da energia de um elétron que atravessa uma diferença de potencial de 1 Volt, no vácuo. Um potencial de alta voltagem é estabelecido entre o cátodo e o ânodo, no vácuo, sendo que essa diferença de potencial é responsável pela aceleração das partículas, como os elétrons. Alterando-se a variação do potencial aplicado à aceleração dos elétrons é possível variar a energia cinética e, conseqüentemente, seu poder de penetração.

No acelerador de elétrons, uma fonte de alta tensão fornece os elétrons que serão acelerados (Harvey, 1969). De acordo com a disposição geométrica dos campos eletromagnéticos responsáveis pela aceleração das partículas, os aceleradores são classificados em lineares ou cíclicos. Os principais componentes de um acelerador são: fonte de alta tensão, tubo acelerador em vácuo, canhão de elétrons, câmara de irradiação, painel de controle e sistema de segurança, que devem ser blindados para barrar a passagem dos raios X gerados pelo freamento dos elétrons ao penetrarem na matéria.

As radiações eletromagnéticas, por serem formadas por ondas eletromagnéticas, possuem grande poder de penetração na matéria. Já as radiações corpusculares, por serem constituídas de partículas com massa e carga, apresentam poder de penetração limitado, tendo em vista a perda de energia cinética que ocorre durante a interação com o material que é irradiado.

A dose de radiação absorvida, de acordo com o Sistema Internacional, é representada pelo Joule por quilograma (J/kg) e recebe um nome especial, o Gray (Gy), que substitui o rad, utilizado até 1985. A relação entre essas unidades é definida por:  $100\text{rad} = 1\text{Gy} = 1\text{J/kg}$  (Harvey, 1969). A taxa de dose é definida pela dose absorvida por unidade de tempo (Gy/s).

Para o feixe de elétrons, a profundidade de penetração ( $e$ ) é aquela na qual a dose é igual à dose recebida na superfície do material e depende da energia do elétron

(E) e da densidade ( $\rho$ ) média do material absorvedor, em  $\text{g/cm}^3$ . Para elétrons com energia entre 1MeV e 10MeV, a profundidade de penetração é dada pela Equação 9:

$$e = 0,4E - 1/\rho \quad (9)$$

A penetração do feixe de elétrons na água, em diferentes energias, segundo Getoff (1996), é apresentada na Figura 5. Pode ser observado que quanto maior a energia do elétron, maior sua penetração na água.

Quando um elétron altamente energético interage com um material, grandes quantidades de sua energia são perdidas pela emissão de radiação eletromagnética, enquanto que pouca energia é perdida com as colisões inelásticas. Para elétrons incidentes com baixa energia as colisões elásticas são predominantes (Spinks & Woods, 1990).

Segundo Pikaev (1995) as principais vantagens dos aceleradores de elétrons, em comparação com fontes de  $^{60}\text{Co}$ , são as altas taxas de dose ( $\text{kGy/s}$ ), os tempos de irradiação curtos, a intensidade de radiação alta, a facilidade de condução do material a ser exposto, o licenciamento similar aos equipamentos de raios-X, o fato da emissão de radiação ser interrompida quando o equipamento é desligado e de não haver geração de rejeitos radioativos. As desvantagens são a baixa penetração no material irradiado, que limita a sua aplicação, e a necessidade de operadores especializados. Os aceleradores de elétrons são utilizados preferencialmente como fonte de radiação para aplicações ambientais (Duarte, 1999), como o tratamento de efluentes industriais, de lodo residual e de gases tóxicos (Borrely, 2001).

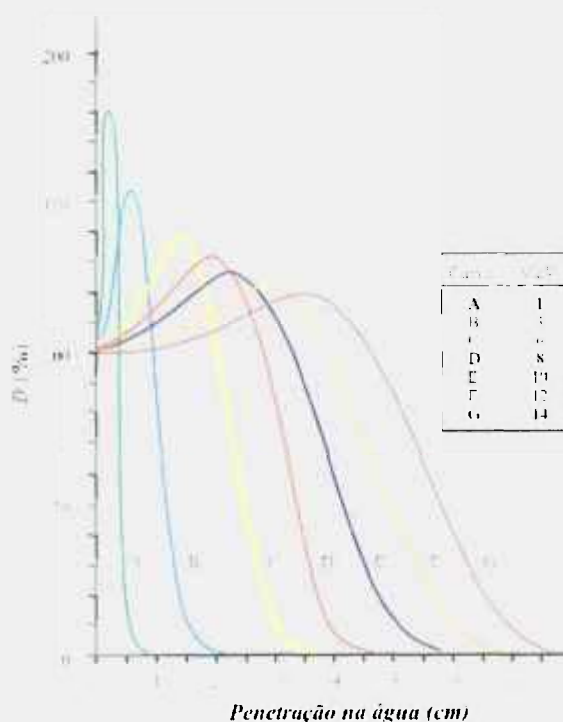


Figura 5. Penetração do feixe de elétrons (cm) na água versus dose absorvida (%), para diferentes energias do elétron.

### 3.9.2 Aplicação da Radiação Ionizante em Efluentes

As radiações ionizantes apresentam grande potencial em degradar compostos orgânicos ou inorgânicos, eliminar microrganismos, auxiliar no processo de desidratação de lodos residuais e desinfecção de lodos residuais (Borrely, 2001). Os trabalhos pioneiros nessa área datam de meados da década de 50 e utilizavam a radiação gama.

A aplicação das radiações ionizantes em efluentes domésticos visa principalmente sua desinfecção, que normalmente é feita com a adição de cloro. Alguns microrganismos, como vírus entéricos e cistos de protozoários são resistentes aos desinfetantes convencionais. O tratamento biológico seguido da cloração dos efluentes pode não ser eficiente e pode ainda possibilitar a formação de compostos organoclorados. Esses fatores promoveram o incentivo na investigação de estratégias alternativas para a desinfecção (Thompson & Blatchley, 1999). A radiação pode ser utilizada primeiramente para a desinfecção, diminuindo a carga microbiológica e, com isso, pequenas doses de cloro são necessárias para garantir a desinfecção da água (Fang & Wu, 1999).

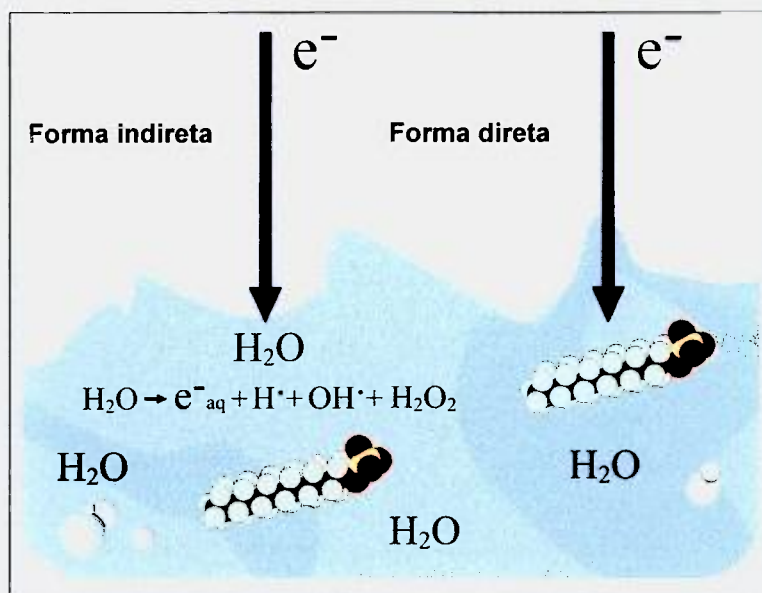
Borrely (1995) estudou a aplicação do feixe de elétrons na desinfecção de efluentes de uma Estação de Tratamento de Esgotos, em Mairiporã, São Paulo. Doses

entre 3kGy e 4kGy foram selecionadas para a desinfecção dos esgotos, uma vez que representaram grande redução do número de bactérias do grupo coliformes e bactérias aeróbicas totais. Doses entre 3kGy e 10kGy têm sido relatadas por El-Motaium (2000) como adequadas para desinfecção de lodos de esgoto, que são posteriormente utilizados como adubo, na agricultura.

O processo de tratamento de efluentes por radiação ionizante pode ser realizado com fonte de raios gama ( $^{60}\text{Co}$  e  $^{137}\text{Cs}$ ) ou com a utilização de um acelerador de elétrons. Nessa metodologia a radiação ionizante interage com a água e seus poluentes promovendo a desinfecção, degradação de compostos organoclorados, redução da carga orgânica, da DBO e da DQO e redução da coloração de efluentes industriais (IPEN, 1997). A preferência é dada atualmente aos aceleradores de elétrons, baseado no estágio atual da tecnologia existente e sua versatilidade (Getoff, 1996).

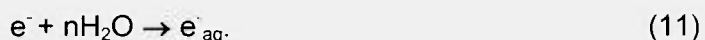
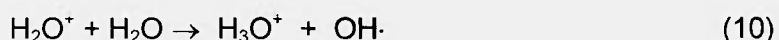
O tratamento com feixe de elétrons não gera resíduos para posterior tratamento ou disposição, que é uma vantagem que o diferencia de outras formas de tratamento. Esta tecnologia também não gera resíduos radioativos. Diferentemente de outros POAs, como por exemplo a luz UV, peróxido de hidrogênio, ozônio e outros oxidantes, o feixe de elétrons cria uma combinação única entre espécies oxidantes e redutoras, em aproximadamente quantidades iguais, a partir apenas de energia elétrica (Water Online, 2004).

A radiação ionizante interage com a matéria e transfere sua energia para átomos e moléculas presentes. Os átomos são ionizados e excitados e as moléculas sofrem ruptura em suas ligações, gerando radicais livres. A radiação pode interagir diretamente com a molécula em questão, ou pode agir de forma indireta, gerando espécies químicas muito reativas que reagem com a molécula do material (Figura 6).



**Figura 6.** Representação da interação direta e indireta da radiação ionizante por feixe de elétrons.

A ação direta da radiação é insignificante, mesmo em altas concentrações aos compostos orgânicos (Duarte, 1999). Na ação indireta, pela radiólise da água, são produzidas moléculas ionizadas e excitadas e elétrons livres. As moléculas ionizadas formam rapidamente radicais hidroxila fortemente oxidantes e os elétrons tornam-se hidratados (Equações 10 e 11). Em comparação aos outros POAs, a radiação ionizante é a tecnologia mais eficiente na geração de radicais  $\text{OH}\cdot$  (Duarte, 1999), além de dispensar a adição de produtos químicos.

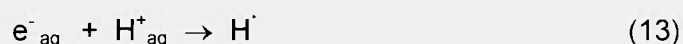


Os principais produtos intermediários e produtos moleculares formados como consequência da interação da radiação com a água e seus rendimentos (G) (Equação 12) são:



O valor de G é a quantidade, em mol, de espécies produzidas pela absorção de 100eV de energia. Estes valores dependem do pH da solução aquosa:

- em meio ácido o  $e^-_{\text{aq}}$  é convertido em átomos de hidrogênio (Equação 13)



- em meio básico os átomos de hidrogênio são transformados em  $e^-_{aq}$  e os radicais  $OH\cdot$  dissociam-se (Equações 14 e 15)



- Na presença de ar, ambos os radicais  $H\cdot$  e  $e^-_{aq}$  são capturados pelo oxigênio, levando à formação de radicais peróxido (Equações 16, 17 e 18)



Os radicais formados pela ação da radiação ionizante na molécula de água reagem entre si (reações primárias) e interagem com os compostos orgânicos e inorgânicos (Duarte, 1999 & Ribeiro et al., 2002). As interações dos radicais livres formados com as moléculas de poluentes induzem reações de oxidação, redução, dissociação ou degradação, responsáveis pelo tratamento dos efluentes e inativação de microrganismos. A decomposição de compostos orgânicos pela radiação não é seletiva e a dose e a taxa de dose necessárias devem ser determinadas por experimentos preliminares (Getoff, 1996).

A aplicação da radiação ionizante em efluentes industriais com elevada carga de substâncias tóxicas e de difícil degradação exige doses altas de radiação (Pikaev et al., 1997), encarecendo o processo. Do ponto de vista econômico, isso não é desejável, sendo conveniente combinar tecnologias de tratamento. Assim, processos combinados têm sido propostos onde a radiação é empregada em combinação com outros processos de tratamento, como os processos químicos convencionais, flotação, ozonização, tratamento biológico, etc.

A combinação da radiação com outros métodos pode reduzir significativamente a dose de radiação. A adição de  $O_3$  em efluentes pode causar a quebra de ligações insaturadas entre carbonos e a quebra do anel benzênico de compostos aromáticos. O  $O_3$  pode converter as espécies redutoras geradas radioliticamente ( $e^-$  aquosos e radicais de H) para radicais  $OH\cdot$  oxidantes e assim melhorar a eficiência da radiação. Outros métodos convencionais como filtração, absorção e biodegradação podem também ser empregados para a redução da dose (Fang & Wu, 1999). A escolha da combinação de métodos depende das propriedades biológicas, químicas e físicas dos poluentes e do seu comportamento perante a radiação (Getoff, 1996).

A utilização da radiação com feixe de elétrons na degradação de compostos orgânicos, como o fenol, tricloroetano, benzeno, etc., em soluções aquosas e em efluentes tem sido estudada por vários autores, com importante eficiência. Duarte (1999) estudou a eficiência do feixe de elétrons na degradação de compostos orgânicos tóxicos presentes em efluentes da Estação de Tratamento de Esgotos de Suzano (ETE Suzano). Para a remoção de mais de 90% dos compostos orgânicos foram utilizadas as doses entre 10kGy e 50kGy.

Han et al. (2002) combinaram o tratamento biológico tradicional com a utilização de um acelerador de elétrons no tratamento de efluentes complexos de indústrias de corantes, provenientes do Complexo Industrial de Taegu, Coréia. Os efluentes eram compostos principalmente por etileno glicol, TPA (ácido tereftálico), celulose, fenol, detergentes, corantes, etc. Os autores observaram que a grande diminuição dos poluentes após o tratamento biológico foi fortemente influenciada pelo pré-tratamento realizado com o feixe de elétrons, resultando em diminuições mais significativa de carbono orgânico dissolvido, DBO e DQO. O pré-tratamento, realizado com doses entre 1kGy e 2kGy, proporcionou uma diminuição de 9 horas no tempo do tratamento biológico empregado.

A radiação ionizante tem se mostrado promissora para a redução de metais como Cr, Ni, Zn, Cu, Pb, Cd, Hg, As e Se, presentes em efluentes industriais, à sua forma insolúvel e precipitada, facilitando sua remoção antes de serem lançados nos rios. No trabalho desenvolvido por Ribeiro et al. (2002), a radiação ionizante foi utilizada para verificar o grau de remoção de metais como As, Hg, Pb e Cd, na presença e ausência de agentes complexantes "scavengers" (seqüestrantes). Uma vez reduzidos, os metais são precipitados e podem ser retirados por filtração. As soluções simuladas foram irradiadas em um acelerador de elétrons (1,5MeV e 37,5kW), nas doses de 100kGy, 200kGy e 500kGy. Os resultados mostraram um elevado grau de remoção de metais.

Poucos trabalhos desenvolvidos nesta área avaliaram a toxicidade de soluções e dos efluentes após a irradiação com feixe de elétrons. Um dos primeiros trabalhos foi desenvolvido com a participação da USEPA (1995), Agência de Proteção Ambiental americana, utilizando-se os organismos aquáticos *Ceriodaphnia dubia* e *Pimephales promelas*. A técnica de irradiação com elétrons foi aplicada, com grande eficiência, na degradação de compostos orgânicos voláteis presentes em águas subterrâneas. Os ensaios de toxicidade indicaram a formação de sub-produtos tóxicos a partir da radiólise da água.

Borrely (2001) aplicou a radiação ionizante no tratamento de efluentes industriais e domésticos da ETE Suzano, São Paulo. A eficiência da radiação na degradação de contaminantes orgânicos foi avaliada com os ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, *Vibrio fischeri* e *Poecilia reticulata*. Foi observada a redução gradual da toxicidade, entre 75% e 95%, com o aumento das doses aplicadas, entre 5kGy e 50kGy, utilizando-se um acelerador de elétrons.

Weihua et al. (2002) utilizaram a radiação ionizante por feixe de elétrons no tratamento dos nitrofenóis, um dos principais grupos de compostos orgânicos industriais utilizados. São compostos perigosos à saúde por serem cancerígenos. As soluções foram irradiadas com doses entre 0,5kGy e 8,0kGy e o acompanhamento da degradação foi feito por CLAE. Os resultados sugeriram que uma pequena mineralização dos compostos foi alcançada. Para determinar os efeitos potenciais no tratamento biológico, foram conduzidos testes de inibição do consumo de oxigênio em lodo, como indicador de toxicidade. Foi observada uma diminuição significativa da toxicidade de todas as soluções após a irradiação, entre 74% e 98%.

Com o objetivo de avaliar os efeitos da radiação gama em termos de indução da toxicidade de efluentes, Thompson & Blatchley (1999) utilizaram a *Ceriodaphnia dubia* como organismo-teste. Efluentes de 6 estações de tratamento foram submetidos à irradiação com fonte de  $^{60}\text{Co}$  (Gammacell 220, taxa de dose igual a 35-45Gy/min). Os testes com radiação foram comparados com a desinfecção com o cloro. Os efluentes tratados com cloro apresentaram maior toxicidade em relação aos efluentes irradiados.

Moraes et al. (2004), utilizaram os ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia similis* e com *Vibrio fischeri* na avaliação da redução da toxicidade de efluentes domésticos e industriais contendo surfactantes aniônicos, da Estação de Tratamento de Efluentes de Suzano, São Paulo, após o tratamento com feixe de elétrons. Foi observada uma média de redução de 79% da concentração dos surfactantes após a irradiação, o que contribuiu para a diminuição da toxicidade aguda dos efluentes analisados, utilizando-se doses entre 6kGy e 50kGy.

Segundo Sampa (2002) só existem plantas comerciais para tratamento de lodo com radiação ionizante na Índia e para tratamento de efluentes industriais na Coréia, além de unidades móveis nos Estados Unidos e na Alemanha (Guardia, 2002). O lodo tratado por radiação pode, em alguns casos, ser utilizado como adubo na agricultura.

Os investimentos necessários para a implantação de aceleradores de elétrons para o tratamento de efluentes e lodos residuais dependem do volume a ser

processado, do grau de contaminação dos efluentes e conseqüentemente da dose de radiação que será aplicada.

No Brasil, o Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares IPEN/CNEN-SP, vem desenvolvendo uma linha de pesquisa que utiliza o feixe de elétrons de alta energia para a degradação de compostos orgânicos de origem industrial e para a desinfecção de esgotos e lodos de origem doméstica, em colaboração com a Superintendência de Abastecimento Público do Estado de São Paulo (SABESP). O IPEN possui uma planta piloto para tratamento de efluentes líquidos, construída em 1993, projetada para cerca de 3m<sup>3</sup>/h de efluentes, para estudos de viabilidade técnica e econômica. Diversos trabalhos já demonstraram a eficiência da radiação ionizante em aplicações ambientais (Borrely, 1995; Duarte, 1999; Borrely, 2001; Ribeiro et al, 2002; Moraes et al., 2004).

### **3.10 Degradação de Surfactantes Utilizando POAs**

O tratamento biológico é ainda o mais utilizado para a degradação dos surfactantes. Segundo Piveli (2002), algumas indústrias de detergentes geram efluentes em concentrações que podem atingir 2000mg/L de surfactantes. Normalmente o tratamento destes efluentes é feito pela floculação química com cloreto férrico, cal e polieletrólito. Após a sedimentação dos flocos, os efluentes apresentam em média concentrações de 30mg/L, e são submetidos ao tratamento biológico convencional. Neste sistema o surfactante é apenas removido do efluente, não sendo degradado.

Entretanto, devido às implicações ambientais e operacionais do uso indiscriminado dos surfactantes, muitos pesquisadores têm buscado tratamentos de oxidação avançada para a sua degradação, com o objetivo de diminuir a toxicidade e aumentar a biodegradabilidade.

Roher, em 1975, estudou a degradação do DSS pela radiação ionizante, utilizando uma fonte de <sup>60</sup>Co (taxa de dose: 366,7Gy/min), no Instituto Tecnológico da Flórida. As concentrações iniciais utilizadas variaram entre 2,5mg/L e 10mg/L de DSS. Pôde ser observado um aumento da quebra das moléculas do surfactante como resultado do aumento da dose aplicada. As doses utilizadas variaram ente 0,1kGy e 1,0kGy. A eficiência do tratamento aplicado na remoção da concentração do DSS, avaliada pela técnica do Verde de Metileno (adaptação do Método do Azul de Metileno, que utiliza o benzeno como solvente), foi entre 75% e 90%.

Lissens et al. (2003) empregaram o tratamento eletroquímico para a oxidação

dois surfactantes encontrados em produtos domésticos, um catiônico, com baixa degradabilidade, e um aniônico (LAS-C<sub>12</sub>), em concentrações iniciais de 20mg/L. O tratamento utilizado foi a oxidação eletroquímica, com eletrodo de diamante e boro. A atividade dos surfactantes foi monitorada utilizando-se as metodologias do Azul de Bromofenol, para o catiônico, e do Azul de Metileno para o aniônico. Os surfactantes foram largamente oxidados, com 83% de remoção do COT para o aniônico e 68% para catiônico. Para os dois surfactantes a eficiência do tratamento utilizado foi maior que 80%.

Lin et al. (1999) utilizaram a Oxidação Fenton como pré-tratamento dos surfactantes ABS e LAS-C<sub>12</sub>, em concentrações de até 10mg/L. O sistema de tratamento empregou o sulfato de ferro (FeSO<sub>4</sub>) e o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) para a geração de radicais hidroxila, altamente oxidantes. A concentração dos surfactantes foi determinada pelo método do Azul de Metileno. A eficiência de degradação obtida para os dois surfactantes foi superior a 95%.

O peróxido de hidrogênio também pode ser empregado na degradação de surfactantes. Stöffler & Luft (1999) observaram a degradação do ácido p-toluenosulfônico pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, propondo um mecanismo de reação detalhado para a degradação deste surfactante, a partir dos resultados obtidos por CLAE. Os autores concluíram que o tratamento com o peróxido é um processo efetivo para a destruição de poluentes orgânicos como os surfactantes.

Jiménez et al. (2000) obtiveram um percentual de 94% de degradação do surfactante LAS-C<sub>12</sub>, empregando o tratamento fotocatalítico, utilizando-se a luz solar como fonte de luz UV. Uma solução de LAS (33mg/L), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (agente oxidante) e óxido de titânio - TiO<sub>2</sub> (catalisador) foi preparada para o experimento, realizado em um reator de fotodegradação. A eficiência de degradação obtida para o LAS foi avaliada pela metodologia do Azul de Metileno.

Zor et al. (1998) investigaram o comportamento do LAS-C<sub>12</sub> sob o tratamento eletroquímico. Foram utilizados um eletrodo de platina e os eletrólitos Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e NaCl. O LAS foi utilizado nas concentrações entre 30 e 300mg/L e a sua degradação foi acompanhada pelo Método do Azul de Metileno. Foi observado que quando um potencial de 20V é aplicado na solução, a concentração do LAS diminui entre 40 e 50%, no final de 6 horas de tratamento.

Podzorova et al. (1998) estudaram a degradação de surfactantes sintéticos presentes em efluentes que chegam à estação de tratamento municipal de Raduzhnyi,

Rússia, utilizando radiação ionizante de feixe de elétrons (energia do elétron 0,3MeV, energia do feixe 15kW). A dose sugerida para a degradação dos surfactantes foi de 4kGy a 5kGy, sendo a eficiência de remoção da concentração dos surfactantes igual a 98,5%.

Pikaev et al. (1997) também avaliaram a degradação de surfactantes utilizando a radiação ionizante de um acelerador de elétrons (0,7MeV, 65-70kW), para a conversão radiolítica do surfactante isobutilnaftaleno sulfonato. Esse surfactante é utilizado como emulsificante na produção da borracha sintética, não-biodegradável. A completa degradação do surfactante, partindo de 286mg/L de surfactante em água, demandou 300kGy. Entretanto, apenas com a remoção dos grupos alquil ou sulfonato a molécula do surfactante tornou-se biodegradável, utilizando-se as doses entre 2kGy e 3kGy. O tratamento com radiação ionizante foi utilizado como pré-tratamento, combinado com o tratamento biológico, obtendo-se uma eficiência de remoção do surfactante de 99,5%.

O desenvolvimento de métodos de pré-tratamentos de efluentes que contêm surfactantes, como os citados anteriormente, é necessário para permitir o uso seguro de surfactantes, especialmente aqueles que apresentam baixa biodegradabilidade (Lin et al., 1999). A degradação do surfactante pelos POAs é uma ferramenta adicional que vem sendo estudada e desenvolvida, demonstrando capacidade potencial em reduzir os problemas ecológicos relacionados ao uso destas substâncias.

### 3.11 Diminuição da Geração de Efluentes ←

Como o tratamento de efluentes industriais em larga escala é um processo muito caro, a prevenção de geração de efluentes deve ser prioridade (Fang & Wu, 1999), bem como quando as leis ambientais tornam-se mais restritivas quanto ao lançamento de efluentes nos corpos hídricos, as dificuldades de disposição final dos resíduos aumentam as exigências e o custo para as indústrias. Alguns tratamentos apenas transferem os resíduos de um meio para o outro. Todos esses fatores têm levado a um aumento da conscientização ambiental e à busca de métodos eficazes e econômicos para minimizar a produção de efluentes.

A implantação de programas de minimização de resíduos foi estudada por Oliveira & Daniel (1999), a partir do acompanhamento do fluxograma do processo de produção de uma indústria de compressores herméticos para refrigeradores. Foram determinadas as fontes geradoras de efluentes líquidos e realizada a caracterização

destes efluentes. Os resultados permitiram propor alternativas de prevenção à poluição como a redução da geração de efluentes e reciclagem dos mesmos, que reduzem impactos e o consumo de água.

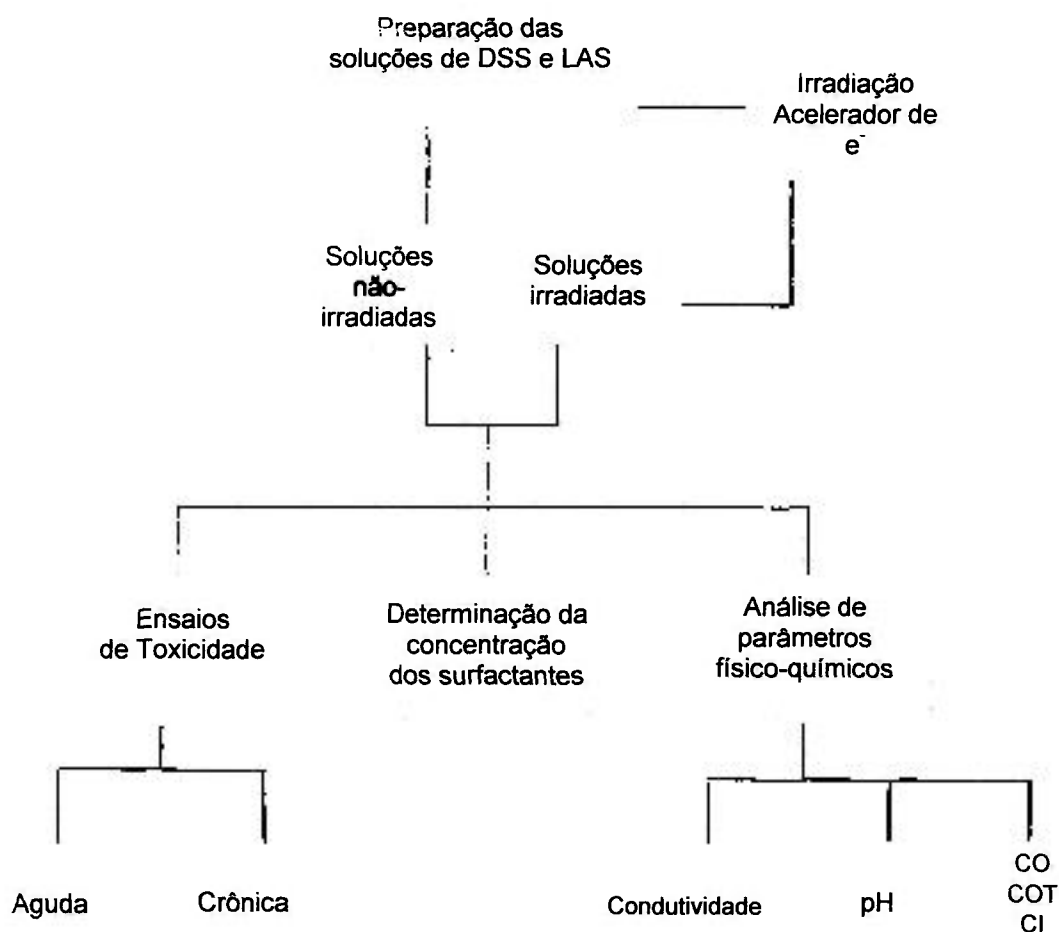
É importante remover, recuperar e reutilizar os compostos ativos de um efluente líquido gerado em processos industriais, não só para reduzir as descargas de efluentes nocivos ao ambiente como também para reduzir os custos totais para as indústrias. Em uma indústria de produção de detergentes, a reutilização dos surfactantes pode resultar em uma menor emissão destes compostos pelos seus efluentes, diminuindo o impacto causado em estações de tratamento e em ecossistemas aquáticos, além das implicações econômicas.

Cunha et al. (2000) descreveram alguns processos que podem ser utilizados na reutilização de surfactantes no processo de produção de detergentes. A ultrafiltração pode ser utilizada para este propósito, concentrando os surfactantes para que depois sejam removidos. Outra alternativa é a reincorporação das águas de lavagem dos tanques de produção de detergentes em produções consecutivas, desde que compatíveis. Esse processo permite a diminuição no consumo de água e de surfactantes e uma conseqüente diminuição de efluentes contendo surfactantes.

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho envolve a aplicação da radiação ionizante por feixe de elétrons no tratamento dos surfactantes dodecilsulfato de sódio (DSS), ácido dodecil p-benzenosulfonato (LAS ácido) e dodecil p-benzenosulfonato de sódio (LAS sódico).

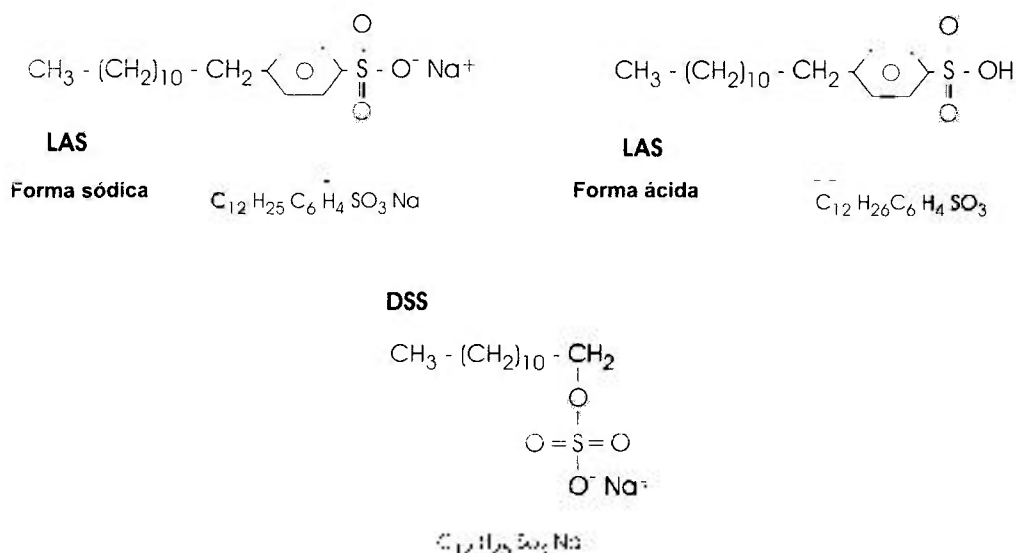
Para a avaliação da eficiência do tratamento aplicado, soluções padronizadas dos surfactantes DSS e LAS (ácido), preparadas em água destilada, não-irradiadas e irradiadas, foram submetidas aos ensaios de Toxicidade Aguda e de Toxicidade Crônica, à determinação da concentração de surfactantes aniônicos e às análises dos parâmetros físico-químicos pH, condutividade, Carbono Total (CT), Carbono Orgânico Total (COT) e Carbono Inorgânico (CI), de acordo com a Figura 7. Para o LAS sódico apenas alguns destes experimentos foram realizados. Além disso, foram acompanhados os parâmetros pH, dureza e oxigênio dissolvido na avaliação da qualidade dos ensaios de toxicidade realizados.



**Figura 7.** Fluxograma da metodologia aplicada.

#### 4.1 Preparação das Soluções

Foram preparadas soluções de **dodecilsulfato de sódio** (DSS – 95% de pureza), utilizando-se o reagente da marca Mallinckrodt OR® (lote – 1894), de **ácido dodecil p-benzenosulfonato** (LAS), da marca Oxiteno (lote – 0208221M) e de **dodecil p-benzenosulfonato de sódio** (LAS), da marca Anidrol Produtos Químicos Ltda. (lote – 3288), a 100mg/L, em água destilada. As fórmulas estruturais e moleculares dos surfactantes estão representadas na Figura 8.



**Figura 8.** Fórmulas estruturais e moleculares dos surfactantes DSS e LAS.

#### 4.2 Irradiação das Soluções

As soluções de DSS e LAS, preparadas conforme item 1.1, foram irradiadas no Acelerador Industrial de Elétrons Dynamitron Job 188, modelo DC 1500/25/4, fabricado pela RDI-Radiation Dynamicis INC. Este irradiador, instalado no Centro de Tecnologia da Radiações CTR – IPEN em 1978, apresenta uma potência de 37,5kW, energia do feixe de elétrons entre 0,5MeV e 1,5MeV e corrente variável entre 0,3mA e 25mA.

As soluções foram irradiadas em recipientes de borossilicato (tipo pyrex), coberto com filme plástico, como mostrado na Figura 9, em volumes totais de 222mL por recipiente, que corresponde a uma espessura de 4mm, garantindo a penetração dos elétrons e a distribuição da energia recebida pelas soluções. Como pode ser visto na Figura 5, para uma energia de feixe de elétrons de 1,5MeV, a espessura de água que recebe a maior dose de radiação é de cerca de 4mm.



**Figura 9.** Irradiação das soluções de surfactantes no acelerador de elétrons do IPEN.

As soluções foram conduzidas no interior de bandejas, até o feixe de elétrons do acelerador sobre uma esteira móvel, cuja velocidade foi fixada em 6,72 m/min. Após passar pela primeira vez pelo feixe de elétrons e recebendo metade da dose de radiação desejada, as bandejas foram transferidas para outra esteira ao lado, que tem sentido oposto à primeira, fazendo com que as soluções passassem novamente sob o feixe de elétrons, sendo então conduzidas para a parte externa do sistema de irradiação. A dose total foi aplicada após duas passagens do material sob o feixe de elétrons.

A energia do feixe de elétrons é selecionada em função da espessura e da densidade do material que é irradiado. Para as soluções de surfactantes, a energia do feixe utilizada foi 1,4MeV, considerando-se a densidade da água de 1g/cm<sup>3</sup>.

A dose de radiação é diretamente proporcional à corrente do feixe e ao número de vezes que a amostra passa sob o feixe de elétrons, e é inversamente proporcional à velocidade da esteira e à largura do feixe, de acordo com a Equação 19:

$$D = \frac{k \times I \times P}{V \times L} \quad (19)$$

onde **D** é a dose de radiação (kGy); **k** é um fator dependente da energia do feixe; **I** é a corrente (mA); **P** é o número de vezes que a amostra passa sob o feixe, **V** é a velocidade da esteira (m/min) e **L** é a largura do feixe (cm).

Para a determinação da faixa de dose a ser utilizada, inicialmente irradiou-se uma solução de DSS, a 100mg/L, nas doses 1,0kGy, 2,0kGy, 3,0kGy, 6,0kGy, 9,0kGy e

12,0kGy. As soluções foram submetidas a ensaios preliminares de toxicidade com o organismo *Vibrio fischeri*, e a partir dos resultados obtidos foram estabelecidas as doses definitivas de 3,0kGy, 6,0kGy, 9,0kGy e 12,0kGy, aplicadas para o DSS e para o LAS ácido. Para o LAS sódico apenas as doses de 3,0kGy e 6,0kGy foram aplicadas.

As doses de radiação utilizadas, determinadas após os ensaios preliminares, foram aplicadas fixando-se a energia do feixe, a velocidade das esteiras e a largura do feixe (varredura), variando-se apenas a intensidade da corrente do feixe utilizada. As condições de irradiação utilizadas são apresentadas na Tabela 4.

**Tabela 4.** Condições de irradiação utilizadas no acelerador de elétrons para a irradiação das soluções de surfactantes (LAS e DSS).

Espessura do Material	4,0mm
Energia do feixe	1,4MeV
Dimensões do feixe	112,0 (L) x 2,5cm
Velocidade das esteiras	6,72m/min
Tempo de exposição das soluções	0,223s
Doses utilizadas	3,0kGy; 6,0kGy; 9,0kGy; 12,0kGy

A taxa de dose também é variável com a intensidade da corrente e, portanto, para cada dose há uma diferente taxa de dose. A Tabela 5 mostra os valores de dose, dose recebida em cada passada da amostra sob o feixe e de taxa de dose, de acordo com as variações de corrente utilizadas.

**Tabela 5.** Valores de dose e taxa de dose correspondentes à intensidade de corrente aplicada no acelerador de elétrons.

Corrente (mA)	Dose (kGy)	Dose/n <sup>o</sup> de passadas sob o feixe (kGy/pas.)	Taxa de dose (kGy/s)
1,8	3,0	1,5	6,70
3,6	6,0	3,0	13,39
5,4	9,0	4,5	20,09
7,2	12,0	6,0	26,79

As irradiações foram realizadas em temperatura ambiente e na presença de oxigênio.

### 4.3 Determinação da Concentração de Surfactantes Aniônicos

Para o acompanhamento da degradação dos surfactantes DSS e LAS (formas ácida e sódica) pela radiação ionizante e posterior correlação com os níveis de toxicidade, as soluções de surfactantes foram analisadas pelo Método do Azul de Metileno, descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (1989) como *Methylene Blue Active Substances* – MBAS, aplicável na determinação de surfactantes aniônicos contidos em águas naturais e águas residuárias. É uma metodologia simples e precisa (APHA, 1989), comumente aplicada em trabalhos científicos e monitoramentos realizados por órgãos oficiais (Bosquilha, 2002). Não é uma técnica aplicável a águas marinhas, devido à elevada presença de cloretos (CETESB, 1978).

Os surfactantes aniônicos reagem com o azul de metileno, formando um sal azul (complexo surfactante-corante). Esse complexo é extraído da amostra em três extrações sucessivas em meio aquoso levemente ácido, que contém azul de metileno em excesso, sendo o clorofórmio o solvente. O extrato é lavado por uma solução ácida (solução de lavagem), responsável por hidrolisar complexos de substâncias interferentes (pares iônicos menos hidrofóbicos) e retirar os fragmentos em água, além da retirada do excesso de azul de metileno. A intensidade da cor do extrato do clorofórmio é proporcional à concentração de surfactantes aniônicos. A medida de cor é feita em espectrofotômetro, em um comprimento de onda de 652nm (CETESB, 1978).

O Método do Azul de Metileno é, assim, um método colorimétrico que permite a detecção e a quantificação dos surfactantes aniônicos, sendo a concentração expressa em mg/L. Aplica-se apenas a surfactantes aniônicos, em concentrações entre 0,025mg/L e 100mg/L (CETESB, 1978). Esse método foi realizado segundo Método de Análise CETESB L5.122 e segundo descrição no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA-AWWA- WPCFA, 1989) e aplicado para todas as soluções de DSS e LAS, nas formas ácida e sódica, não-irradiadas e irradiadas.

A curva de calibração foi obtida a partir de soluções de DSS (padrão) nas concentrações de 0, 1,0mg/L, 3,0mg/L e 5,0mg/L, com seus respectivos valores de

absorbância, permitindo obter a equação da reta e o cálculo das concentrações medidas. Esta mesma curva foi validada para o surfactante LAS, aplicando-se o método para soluções com concentrações conhecidas.

O espectrofotômetro UV-Vis, modelo UV – 1601, da Shimadzu Co. foi utilizado nas leituras de absorbância, realizadas em cubetas de 1cm de percurso óptico.

#### **4.4 Avaliação de Parâmetros Físico-químicos**

Os parâmetros físico-químicos da água estão diretamente relacionados à presença de matéria orgânica e inorgânica na água e influenciam a toxicidade. Os parâmetros que mais interferem na toxicidade são o pH, a salinidade e a presença de resíduos sólidos e de contaminantes propriamente ditos.

Os parâmetros pH, Condutividade, Carbono Total (CT), Carbono Orgânico Total (COT), Carbono Inorgânico (CI), Dureza e Oxigênio dissolvido foram acompanhados.

##### **4.4.1 pH**

Foram feitas leituras de pH de todas as soluções de DSS e LAS (ácido e sal), irradiadas e não-irradiadas, a 100% de solução, com o pHmetro da Micronal, modelo B374. Como o pH pode exercer efeito deletério sobre os organismos quando expostos a amostras com valores de pH diferentes dos valores apresentados na água de cultivo dos organismos (pH entre  $7,0 \pm 0,6$ ), foram medidos os valores do pH em relação à concentração das soluções utilizadas na montagem dos ensaios biológicos, para o estudo da influência deste parâmetro na toxicidade. Foram realizadas ainda medidas de pH no início e no final dos ensaios de toxicidade.

##### **4.4.2 Condutividade**

A condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) das soluções de DSS e LAS (ácido) foi estudada utilizando-se a célula TetraCon 96-1,5, WTW. A condutividade foi analisada em relação à dose de radiação aplicada às soluções de surfactantes.

##### **4.4.3 Carbono Total, Carbono Orgânico Total e Carbono Inorgânico**

As análises de Carbono Total (CT), Carbono Orgânico Total (COT) e Carbono

Inorgânico (CI) foram realizadas para as soluções irradiadas e não-irradiadas, para os surfactantes DSS e LAS ácido, utilizando-se o Analisador de Carbono Orgânico Total, o TOC modelo 5000A – Shimadzu Co (Laboratório de Pesquisa em Tratamento de Efluentes Orgânicos/CTR).

#### **4.5 Dureza**

O parâmetro dureza da água representa os cátions presentes em amostras de águas naturais. Este parâmetro foi estudado pelo método de complexometria, para o controle da dureza das soluções diluídas de surfactantes e substâncias de referência utilizadas nos ensaios de toxicidade e também no controle da dureza da água diluição dos microcrustáceos.

As soluções-teste e a água de diluição foram tituladas com EDTA 0,01 mol/L, que forma complexos estáveis com íons metálicos (Baird, 2002). O pH foi elevado para 10, com a adição de solução tampão. O indicador colorimétrico utilizado foi o preto de Eriocromo T, que apresenta viragem de vermelho (vinho) para azul (escuro), após a complexação completa. A dureza foi expressa como a massa de carbonato de cálcio, em miligramas por litro, que contém o mesmo número total de íons divalentes ( $2^+$ ).

#### **4.6 Oxigênio Dissolvido na Água**

As medidas de oxigênio dissolvido (mg/L) foram feitas em Oxímetro Digital, modelo DMA – DIGIMED, nas diluições das soluções de surfactantes e substâncias de referência, no início e no final dos ensaios de toxicidade e também no controle de qualidade da água de diluição.

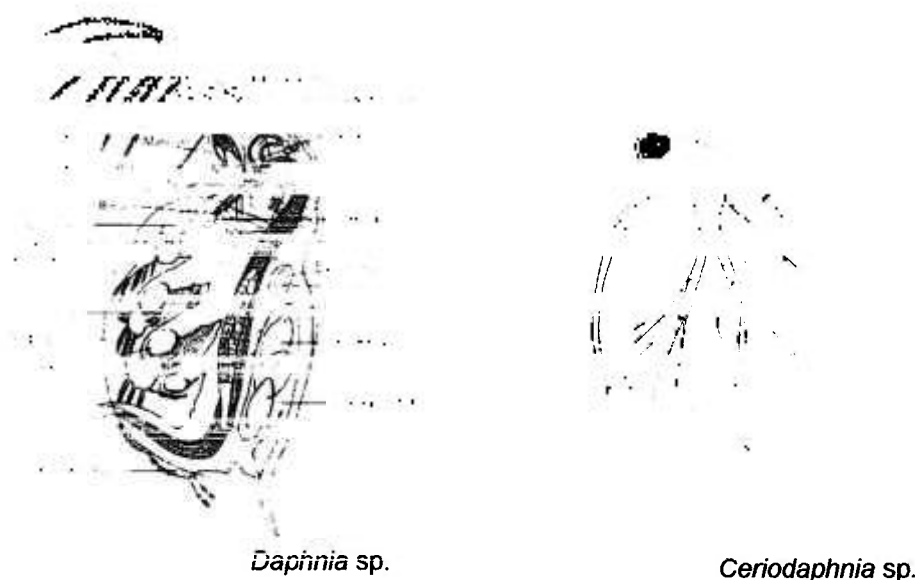
#### **4.7 Ensaios Ecotoxicológicos Aplicados na Avaliação do Processo**

##### **4.7.1 Microcrustáceos**

Os microcrustáceos são organismos importantes na cadeia alimentar pois fazem parte do zooplâncton, representando uma ligação entre os produtores primários e os consumidores secundários ao se alimentarem de algas e servirem de alimento para peixes e outros invertebrados. Alterações na população e no comportamento destes organismos podem interferir em outros níveis tróficos do ecossistema aquático (CETESB, 1997). A sua grande importância ecológica constitui um dos fatores pelos

quais os microcrustáceos são utilizados em ensaios de toxicidade, além de serem organismos facilmente cultiváveis em laboratório e apresentarem sensibilidade a diversas classes de compostos químicos.

Os organismos *Daphnia similis* (Claus, 1876) e *Ceriodaphnia dubia* (Richard, 1894), (Cladocera, Crustácea), são microcrustáceos de água doce facilmente encontrados em corpos d'água continentais. Possuem um corpo coberto por uma carapaça transparente e um olho composto evidente, sensível a variações de intensidade de luz. Possuem longas antenas que são responsáveis pelo impulso natatório para frente. São filtradores e alimentam-se de algas, bactérias e detritos orgânicos presentes na água (CETESB, 1997). A morfologia dos organismos, segundo Barnes (1996) e CETESB (1997), é apresentada na Figura 10.

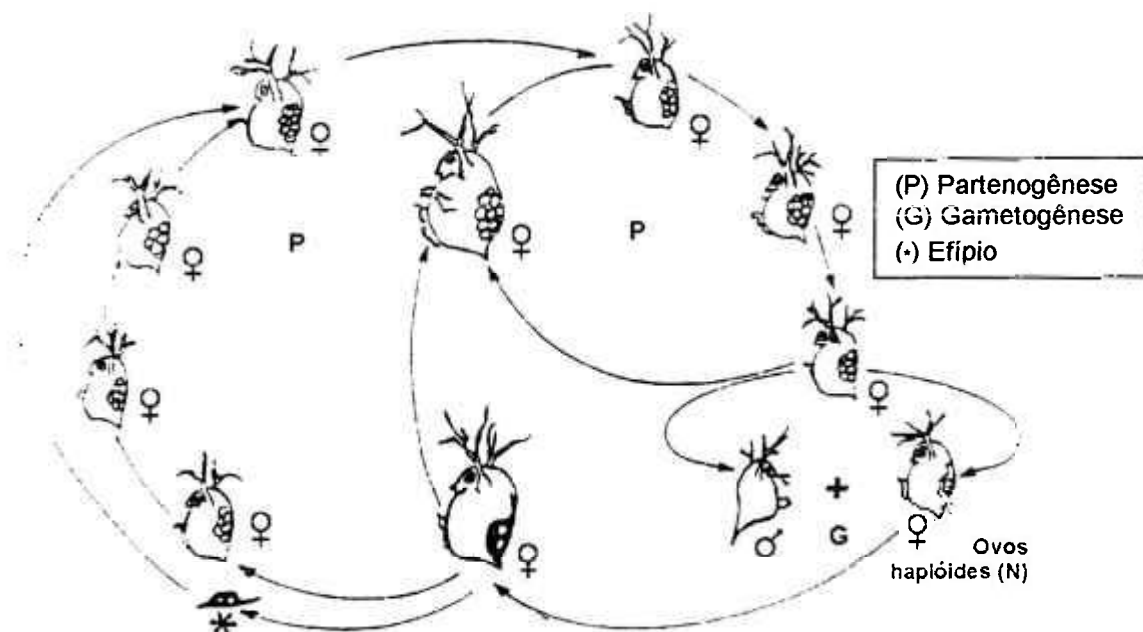


**Figura 10.** Morfologia dos organismos *Daphnia* e *Ceriodaphnia*.

Em condições ambientais adequadas, apresentam reprodução assexuada por partenogênese, onde as fêmeas produzem células diplóides que originam outras fêmeas com o mesmo genótipo. A incubação ocorre na câmara existente na parte posterior dos organismos. Após o período de incubação, os jovens são liberados já na forma similar à adulta, por ocasião da troca da carapaça. Assim, estes organismos apresentam uma certa homogeneidade e estabilidade genética, o que permite uma boa reprodutibilidade dos resultados dos ensaios de toxicidade (Goldstein et al., 1983).

Em condições ambientais desfavoráveis, como superpopulação, escassez de

alimento, etc., surgem nas culturas os organismos machos e fêmeas com óvulos haplóides. A partir da gametogênese o óvulo é fecundado e origina o efípio, que corresponde ao óvulo recoberto com uma carapaça quitinosa escura, facilmente identificável (CETESB, 1997). Em condições ambientais favoráveis, os efípios eclodem e originam novas fêmeas partenogenéticas. O efípio não é desejável em uma cultura pois representa uma forma de resistência a condições ambientais adversas, podendo alterar a sensibilidade normal dos organismos e a resposta de toxicidade nos ensaios realizados. O ciclo de reprodução de *Daphnia* é ilustrado na Figura 11.



**Figura 11.** Ciclo de reprodução de *Daphnia* (CETESB, 1997).

Os organismos do gênero *Daphnia* medem cerca de 0,5mm a 5,0mm de comprimento e apresentam ciclo de vida muito variável dependendo da espécie e das condições ambientais. Normalmente torna-se reprodutiva entre o seu quinto e décimo dia de vida e seu ciclo de vida dura cerca de 40 dias, a 20°C. Os organismos do gênero *Ceriodaphnia* medem entre 0,8mm e 0,9mm de comprimento e são mais arredondados, tornando-se reprodutivos 3 a 4 dias após o seu nascimento (CETESB, 1997).

A aplicação adequada desses microcrustáceos na avaliação ambiental ou em processos de tratamento de efluentes prescinde do cultivo desses organismos, em laboratório, garantindo a qualidade do ensaio a partir da obtenção do número de jovens adequado para os experimentos, além da saúde dos organismos.

#### 4.7.2 Cultivo de microcrustáceos

Os organismos *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia dubia*, utilizados nos ensaios de toxicidade, foram cultivados no Laboratório de Ensaios Biológicos e Ambientais do CTR-IPEN, seguindo metodologia recomendada pela CETESB (1997) e procedimentos internos do Laboratório. A água utilizada na manutenção e também nas diluições das soluções testadas é procedente do Reservatório da Ponte Nova, Município de Salesópolis, São Paulo, coletada com uma frequência trimestral.

A água de cultivo dos organismos foi filtrada em rede de plâncton de 45µm para a retirada de material particulado e possíveis organismos presentes. A dureza da água foi ajustada até atingir valores entre 40 e 48mg/L de CaCO<sub>3</sub>, de acordo com os procedimentos especificados no Método de Ensaio CETESB L5018 e Norma ABNT 12713. Os parâmetros físico-químicos pH, oxigênio dissolvido e condutividade foram controlados. A água permaneceu em aeração constante até o momento de sua utilização, para a solubilização total dos sais, estabilização do pH e saturação do oxigênio dissolvido, que deve estar em uma faixa entre 60% e 100% de saturação.

Para o controle da qualidade da água de cultivo foram realizados ensaios de viabilidade da água, para cada lote de água natural coletada e ajustada, com a exposição de 20 organismos-teste, durante 48 horas. Neste período os organismos são mantidos nas mesmas condições de cultivo, em incubadora, com o diferencial da ausência de alimentação. A imobilidade dos organismos não deve exceder 10% do total de organismos expostos para que a água possa ser utilizada (CETESB, 1997).

A alga *Selenastrum capricornutum* foi utilizada na alimentação dos organismos, juntamente com o alimento composto, à base de ração de peixe e levedura. A alga foi cultivada em meio nutritivo L. C. Oligo e semanalmente era preparada uma suspensão algácea para a alimentação dos cladóceros.

As condições de cultivo dos organismos *D. similis* e *C. dubia* utilizadas são apresentadas na Tabela 6.

**Tabela 6.** Condições de cultivo dos microcrustáceos utilizados nos ensaios de toxicidade.

Condições-teste	<i>Daphnia similis</i>	<i>Ceriodaphnia dubia</i>
Temperatura	20°C (± 2), em incubadora Modelo Q 315 D26, Quimis	25°C (± 1), em incubadora Modelo Q 315 M16, Quimis
Fotoperíodo	16 horas luz, 8 horas escuro	16 horas luz, 8 horas escuro
Alimentação Diária	Suspensão de algas (3,2 x 10 <sup>6</sup> de células/mL por organismo) e alimento composto	Suspensão de algas (2,0 x 10 <sup>5</sup> de células/mL por organismo) e alimento composto
Nº de organismos/cultura	30	30
Volume de água de cultivo (mL)	2500	800

#### 4.8 Ensaio de Toxicidade aguda com *Daphnia similis*

O ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* é padronizado pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), entre outras agências de padronização, e tem sido muito utilizado pela CETESB para o controle de efluentes líquidos industriais e controle da qualidade das águas superficiais e subterrâneas (Borrely, 2001). Pode ser ainda utilizado na avaliação da toxicidade de substâncias químicas solúveis em água. Este ensaio foi realizado de acordo com o Método de Ensaio CETESB L5.018 (1986), e Norma ABNT-NBR 12713 (1993) compreendendo duas etapas. Os organismos utilizados eram jovens, com idade entre 6 e 24 horas de vida.

Na primeira etapa foram realizados ensaios preliminares com *Daphnia similis*, onde os organismos foram expostos durante 48 horas, em tubos de ensaio calibrados de 10mL, com as concentrações 1%, 5%, 10%, 50% e 100% de cada solução de surfactante, em duplicata, com 5 organismos por réplica. O ensaio preliminar permite a determinação da menor concentração que causa 100% de imobilidade e da maior concentração na qual não se observa efeito sob a mobilidade dos organismos-teste.

A partir dos resultados do ensaio preliminar e determinação da faixa de sensibilidade dos organismos às soluções testadas, foram realizados os ensaios definitivos em concentrações próximas àquelas onde foi observado algum efeito. Este ensaio é considerado um ensaio de toxicidade estático, já que não há renovação da solução-teste no decorrer do experimento.

As diluições dos surfactantes DSS e LAS (ácido e sal) foram feitas com a própria

água de cultivo das daphnias, que apresenta pH entre  $7,0 \pm 0,6$  e dureza entre 40 e 48mg/L de  $\text{CaCO}_3$ .

Indivíduos jovens de *D. similis* (Figura 12) foram expostos a diferentes concentrações das soluções dos surfactantes, não-irradiadas e irradiadas, por um período de 24 e 48 horas. Em todos os ensaios de toxicidade foram feitos controles onde os organismos são expostos somente à água de cultivo, nas mesmas condições em que foram realizadas as demais exposições. Foram utilizadas três réplicas para cada concentração das soluções e para o grupo controle, sendo que cada réplica foi composta por seis organismos, num total de 18 organismos por concentração. Durante as exposições, os organismos foram mantidos a  $20^\circ\text{C} \pm 2$ , no escuro e sem alimentação, em incubadora Modelo Q 315 D26, Quimis, e fotoperíodo de 16 horas de luz.



**Figura 12.** *Daphnia similis* adulta. 40x.

A leitura dos ensaios foi feita, com o auxílio de iluminação artificial, observando-se a imobilidade dos organismos expostos, que corresponde à impossibilidade do organismo se movimentar na coluna d'água, apesar de ainda poder apresentar batimentos cardíacos. São considerados imóveis os organismos que não forem capazes de nadar em um intervalo de 15 segundos (CETESB, 1986). Os dados obtidos foram devidamente registrados em formulários padronizados.

As variáveis pH e oxigênio dissolvido foram analisadas no início e no final dos ensaios pois são fatores que influenciam significativamente a toxicidade. Segundo Norma ABNT-NBR 13373 (1995), valores de oxigênio dissolvido inferiores a 3,0mg/L e pH fora da faixa entre 5,0 e 9,0 podem interferir no resultado dos ensaios.

Foram realizados 5 ensaios de toxicidade para cada dose de radiação. Para o LAS sódico apenas um ensaio para cada dose foi realizado. As principais

concentrações dos surfactantes DSS e LAS (ácido e sódico), não-irradiados e irradiados, utilizadas nos ensaios de toxicidade aguda são apresentadas na Tabela 7.

**Tabela 7.** Concentrações de DSS e LAS (%) utilizadas nos ensaios de toxicidade aguda (*D. similis*).

<b>Solução</b>	<b>Concentrações utilizadas (%)</b>
DSS não-irradiado	0; 5; 10; 15; 20 e 25
DSS 3,0kGy	0; 10; 25; 50; 75 e 100
DSS 6,0kGy	0; 10; 25; 50; 75 e 100
DSS 9,0kGy	0; 10; 25; 50; 75 e 100
DSS 12,0kGy	0; 10; 25; 50; 75 e 100
LAS ácido não-irradiado	0; 4; 6; 8; 10 e 12
LAS ácido 3,0kGy	0; 15; 20; 25 e 30
LAS ácido 6,0kGy	0; 15; 20; 25 e 30
LAS ácido 9,0kGy	0; 15; 20; 25 e 30
LAS ácido 12,0kGy	0; 15; 20; 25 e 30
LAS sódico não-irradiado	0; 4; 6; 8; 10 e 12
LAS sódico 3,0kGy	0; 35; 45; 55; 65
LAS sódico 6,0kGy	0; 35; 45; 55; 65

A partir do número de organismos imóveis por concentração da amostra foram calculadas as concentrações nominais das amostras no início dos ensaios que causaram imobilidade a 50% dos organismos, a CE(I)50<sup>1</sup>.

Para os cálculos dos valores de CE(I)50 e intervalos de confiança foi aplicado o teste estatístico com o programa "Trimmed Spearman Karber", com correção de Abbott, que é um fator utilizado para se ajustar o número de organismos afetados em cada concentração do ensaio em relação ao número de organismos afetados no controle (Nipper, 2000).

Os resultados obtidos nos ensaios foram validados apenas quando a porcentagem de organismos imóveis no grupo controle não excedeu 10% e o teor de oxigênio dissolvido, no final do ensaio, foi superior a 3,0mg/L.

<sup>1</sup> De acordo com o Método de Ensaio CETESB L5018, a CE(I)50 para substâncias químicas deve ser expressa em mg/L, porém neste trabalho é expressa em % para as soluções de surfactantes que receberam o tratamento por irradiação.

#### 4.9 Avaliação da sensibilidade de *Daphnia similis* à substância de referência

As substâncias utilizadas como referência de toxicidade aguda na avaliação da qualidade dos ensaios realizados (sensibilidade dos organismos) e validação dos resultados foram o dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) e o cloreto de potássio (KCl). Este último foi testado adicionalmente como substância de referência por ser menos tóxico em relação ao dicromato de potássio, sendo uma alternativa ecologicamente menos prejudicial ao meio aquático. Os ensaios com as substâncias de referência foram realizados seguindo-se a mesma metodologia descrita para os ensaios de toxicidade aguda com os surfactantes. As principais concentrações utilizadas nos ensaios são apresentadas na Tabela 8.

**Tabela 8.** Concentrações (mg/L) utilizadas nos ensaios de toxicidade aguda com as substâncias de referência.

Amostra	Concentração utilizada (mg/L)
$K_2Cr_2O_7$	0; 0,08; 0,1; 0,13; 0,17 e 0,25
KCl	0; 200; 400; 520; 675 e 880

Utilizando-se os dados de toxicidade obtidos com o dicromato de potássio (CE(I)50), foi elaborada uma carta controle, que é a representação gráfica da avaliação periódica dos resultados obtidos com uma determinada substância de referência (ABNT, 2004). Foram calculados o valor médio, os desvios-padrão (superior e inferior à média,  $2\sigma$ ) e o coeficiente de variação (CV) dos dados obtidos com o dicromato de potássio. Os valores de desvios-padrão foram grafados na carta controle como linhas perpendiculares ao eixo que representa os resultados de toxicidade.

#### 4.10 Ensaio de Toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*

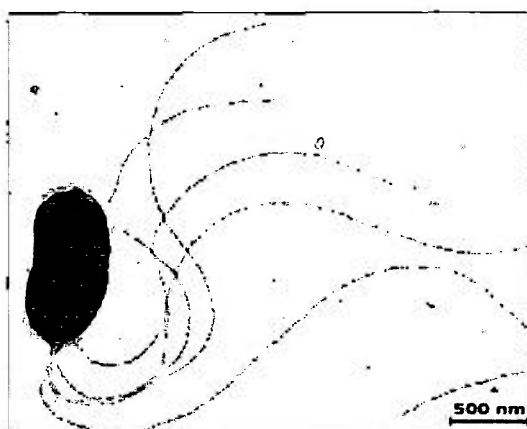
##### 4.10.1 A bactéria *Vibrio fischeri*

É crescente o número de ensaios toxicológicos realizados em amostras ambientais, que utilizam bactérias. Entre os ensaios com bactérias mais utilizados no monitoramento de substâncias tóxicas está o ensaio de toxicidade aguda que utiliza a bactéria *Vibrio fischeri* como organismo bioindicador.

O ensaio de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* foi desenvolvido por Bulich em 1979 e patentado comercialmente pela Beckman Instruments Inc., em 1982, como

Sistema Microtox. O Sistema Microtox vem sendo amplamente aplicado no monitoramento de substâncias tóxicas ambientais em muitos países, devido à elevada sensibilidade das bactérias utilizadas a esses compostos, mesmo em baixas concentrações (CETESB, 1987), além de ser um teste simples, rápido e com um custo razoável. Segundo Kaiser & Palabrica (1991), para a determinação da CE50 o tempo de exposição da bactéria varia de 5 a 30 minutos, a uma temperatura de 15°C. Esta característica é considerada a maior vantagem deste ensaio em relação a outros ensaios de toxicidade, os quais normalmente requerem alguns dias para o período de exposição.

*Vibrio fischeri* (Figura 13) são bactérias marinhas luminescentes que vivem no intestino e em órgãos luminosos de lulas (*Euprymna scolopes*), peixes e outros animais marinhos, onde estabelecem uma relação de simbiose muito importante para ambas as espécies. (Caetano & Antunes, 2003).



**Figura 13.** Bactéria luminescente *Vibrio fischeri*.

Os poluentes ambientais estão relacionados com a indução ou a supressão de atividades enzimáticas essenciais e outras modificações bioquímicas relevantes de bactérias. Como a emissão de luminescência é resultado do processo metabólico da célula bacteriana, que libera energia na forma de luz, a inibição de qualquer enzima envolvida neste processo irá causar diminuição da quantidade de luz emitida. Este fato possibilita que as bactérias luminescentes sejam utilizadas na detecção de substâncias tóxicas. O ensaio com a bactéria marinha baseia-se na medida da quantidade de luz emitida na presença e na ausência da amostra em teste (CETESB, 1987). Desta forma, as bactérias bioluminescentes são consideradas organismos sentinelas no estudo dos níveis de poluição da água do mar e água doce (Perego et al., 2002).

Desde 1984 este ensaio vem sendo recomendado pela USEPA – Environmental Protection Agency, para a avaliação da qualidade de água, monitoramento de estações de tratamento de efluentes e avaliação da toxicidade aquática, visando a proteção ambiental. É aplicável a efluentes industriais e domésticos, águas superficiais e subterrâneas, sedimentos, lixiviados, água potável e compostos químicos solúveis em água (CETESB, 1987).

Muitos estudos têm levado às seguintes conclusões (Perego et al., 2002):

- a alta emissão de luz é normalmente relacionada com a elevada concentração de nutrientes e compostos orgânicos, em condições ambientais;
- substâncias tóxicas em pequenas concentrações podem inibir o processo enzimático de emissão de luz.

O pH das soluções testadas pode variar entre 5 e 9 sem grande influência na luminescência e recomenda-se a utilização de uma substância de referência para a avaliação da viabilidade e sensibilidade da bactéria. As substâncias mais freqüentemente utilizadas e recomendadas são o fenol e o pentaclorofenato de sódio (Kaiser & Palabrica, 1991).

#### **4.10.2 Realização do Ensaio**

O ensaio com a bactéria marinha luminescente *Vibrio fischeri* foi realizado com o Sistema Microtox®, modelo M-500 da Microbics, de acordo o Método de Ensaio CETESB L5.227, de 1987. O equipamento (Figura 14) é composto por um fotômetro de precisão, câmaras de incubação e reação, que permanecem a 15°C e uma câmara de pré-resfriamento, a 3°C. Em todos estes compartimentos são utilizadas cubetas atóxicas, de borossilicato, permitindo a leitura da luminescência.

As bactérias liofilizadas utilizadas nos ensaios, da marca Biolux, UMWELT Ltda., são armazenadas em freezer a -80°C. Para a realização do ensaio, as bactérias são reidratadas com 0,35 mL da solução de reconstituição (água ultrapura) e mantidas a 3°C durante todo o ensaio, na câmara de pré-resfriamento ou cubeta estoque. A temperatura do ambiente é mantida abaixo de 17°C.



**Figura 14.** Equipamento utilizado no ensaio de toxicidade aguda com *V. fischeri*.

Para as soluções contendo os surfactantes LAS e DSS, além da substância de referência, foi feito o ajuste osmótico com 0,2 mL de solução salina de NaCl 22%, para cada concentração.

A primeira leitura da luminescência ( $I_0$ ) da bactéria é feita antes de serem acrescentadas as soluções às câmaras de incubação, que contêm apenas 10  $\mu$ L de suspensão bacteriana ( $10^9$  células/mL de solução de reconstituição) e 0,5 mL de diluente, que é um reagente específico do Sistema da Microbics.

Em outra série de cubetas são preparadas as diluições seriadas da amostra em teste, utilizando-se um fator de diluição igual a 2. As concentrações das soluções empregadas na montagem dos ensaios com o surfactante DSS não irradiado foram: 4,45%, 2,22%, 1,11%, 0,56% e 0% (controle). Para as soluções não irradiadas de LAS (ácido e sódico) e soluções irradiadas de LAS (ácido e sódico) e DSS, em todas as doses de radiação, as concentrações utilizadas foram: 45,45%, 22,72%, 11,36%, 5,68% e 0%. Os dois conjuntos de cubetas foram mantidos a 15°C, nas câmaras de incubação do aparelho de leitura.

Após a leitura inicial ( $I_0$ ), é feita a transferência de 1 mL de cada amostra para as câmaras de incubação contendo a suspensão bacteriana. Nas cubetas controle é acrescentada somente a solução de diluição. Após 15 minutos é feita a segunda leitura ( $I$ ) da luminescência, na câmara de reação. Cada leitura dura aproximadamente 5 segundos.

A análise estatística é empregada para calcular os valores da CE(I)50 (%) com base no valor do efeito gama (quociente entre a luz perdida e a luz remanescente) e a concentração da amostra, e é realizada com a Versão 7.82 do programa desenvolvido

pela Microbcs Corp.. O programa traça uma curva que determina o valor da CE(I)50 pela concentração da amostra onde o valor de gama é igual a 1, utilizando a regressão linear (CETESB, 1987). O programa fornece o intervalo de confiança e ainda o fator de correção, com base na alteração da luminescência que é emitida pelas bactérias do grupo controle após o final do tempo de exposição.

Foram realizados 5 ensaios de toxicidade para cada dose. Para o LAS sódico, dois ensaios para cada dose foram realizados.

#### **4.10.3 Avaliação da sensibilidade de *Vibrio fischeri* à substância de referência**

O fenol foi a substância utilizada como referência de toxicidade para avaliar os ensaios realizados com as soluções e validar seus resultados, nas concentrações 45,45%, 22,72%, 11,36%, 5,68% e 0%. Os fenóis são compostos orgânicos tóxicos aos organismos aquáticos, em concentrações bastante baixas, e afetam a aceitabilidade das águas, por conferirem sabor e odor extremamente pronunciados (CETESB, 2004). Os ensaios com o fenol foram realizados seguindo-se a metodologia descrita anteriormente para os surfactantes e os resultados obtidos foram utilizados para a elaboração de uma carta-controle de sensibilidade, segundo Norma ABNT 12713 (2004).

#### **4.11 Ensaio de Toxicidade Crônica com *Ceriodaphnia dubia***

Este ensaio foi realizado de acordo com o Método de Ensaio CETESB L5.022 (1991) e Norma ABNT-NBR 13373 (1995), além de procedimentos internos do Laboratório, para o DSS e para o LAS ácido, em duas etapas. Na primeira etapa foi realizado um ensaio preliminar, a fim de se conhecer a toxicidade crônica das soluções, onde os organismos foram expostos, em recipientes plásticos atóxicos de 30mL, a diferentes concentrações de cada solução de surfactante, em um período de 24 horas, estabelecendo-se um intervalo de concentrações utilizado no ensaio definitivo. As concentrações utilizadas na fase preliminar foram 1%, 5%, 10%, 50% e 100%.

A partir dos resultados do ensaio preliminar foram definidas as concentrações dos ensaios definitivos. As diluições dos surfactantes foram feitas com a própria água de cultivo dos organismos. Apenas as soluções dos surfactantes DSS e LAS ácido não-irradiadas e irradiadas com as doses 3,0kGy e 6,0kGy foram utilizadas nos ensaios de toxicidade crônica, sendo realizado um ensaio por dose de radiação.

Nos ensaios definitivos, indivíduos jovens (entre 6 e 24 horas de vida) foram expostos a diferentes concentrações das soluções dos surfactantes, não-irradiadas e irradiadas, além do grupo controle, em aproximadamente 15mL de solução, por um período de 7 dias, quando 60% ou mais das fêmeas adultas sobreviventes no controle tivessem produzido, uma média mínima de 15 organismos jovens (3 gerações). Foram utilizadas 10 réplicas para cada concentração da amostra sendo que a cada réplica foi adicionado apenas 1 organismo. Durante as exposições, os organismos foram mantidos a  $25^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ , em incubadora Modelo Q 315 M16, Quimis, com alimentação diária de algas e alimento composto e fotoperíodo de 16 horas com luz.

As concentrações utilizadas nos ensaios são apresentadas na Tabela 9.

**Tabela 9.** Concentrações (%) utilizadas na realização dos ensaios de toxicidade crônica com os surfactantes.

<b>Solução</b>	<b>Concentração utilizada (%)</b>
DSS não-irradiado	0; 1,6; 2,4 3,6; 5,3; 8 e 12
DSS 3,0kGy	0; 5; 10; 20; 40; 60 e 70
DSS 6,0kGy	0; 5; 10; 20; 40; 60 e 70
LAS não-irradiado	0; 1,4; 2,1; 3; 4,6; 6 e 7
LAS 3,0kGy	0; 4; 6; 9; 13,5; 20 e 30
LAS 6,0kGy	0; 4; 6; 9; 13,5; 20 e 30

O ensaio de toxicidade crônica realizado é considerado um ensaio semi-estático, isto é, com renovação periódica das soluções-teste. As soluções-teste foram renovadas 3 vezes durante os ensaios, de dois em dois dias. As soluções de surfactantes, irradiadas logo após a sua preparação e não irradiadas, foram congeladas, em alíquotas, em freezer a  $-5^{\circ}\text{C}$ . Nos dias de renovação das soluções-teste, uma alíquota era descongelada, em temperatura ambiente, para que fossem feitas as novas diluições.

A cada renovação eram retirados e contados os organismos jovens produzidos por partenogênese das fêmeas adultas. A leitura dos ensaios foi feita observando-se a sobrevivência e a reprodução dos organismos adultos (Figura 15), com o auxílio de luz artificial. Os dados foram devidamente registrados em formulários padronizados. Os testes-controle foram realizados com a exposição dos organismos somente à água de cultivo, nas mesmas condições dos demais ensaios.



**Figura 15.** Fêmea embrionada de *C. dubia*. 40X.

Foram excluídas da análise estatística as concentrações onde se observou efeito agudo e quando a mortalidade foi estatisticamente diferente daquela observada no grupo controle. Esta última análise foi feita utilizando-se a Prova Exata de Fischer, teste estatístico do programa "TOXTAT 3.3 Computer Program".

A partir do número médio de organismos jovens produzidos por fêmea, por concentração da solução, foram calculadas as concentrações de CENO<sup>2</sup>, que é a maior concentração da amostra que não causa efeito deletério na sobrevivência e reprodução dos organismos, e CEO<sup>2</sup>, menor concentração que causa efeito deletério na sobrevivência e reprodução dos organismos (CETESB, 1991). Para os cálculos dos valores de CENO e CEO foi utilizado o teste estatístico de "Dunnett", que é uma análise de variância, com o programa estatístico "TOXTAT 3.3 Computer Program". O valor crônico, que corresponde à média geométrica entre CENO e CEO, também foi calculado.

Os ensaios de toxicidade crônica foram validados apenas quando a mortalidade dos organismos adultos no controle não excedeu 20% e quando a produção média de organismos jovens produzidos por fêmea no controle foi maior ou igual a 15. As variáveis oxigênio dissolvido e pH foram determinadas no controle e em concentrações intermediárias das soluções utilizadas nos ensaios.

---

<sup>2</sup> Segundo Método de Ensaio CETESB L5022 a CENO e a CEO para substâncias químicas devem ser expressas em mg/L, porém neste trabalho são expressas em % para as soluções de surfactantes que receberam o tratamento.

#### 4.11.1 Avaliação da sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia* à substância de referência

O cloreto de potássio (KCl – 100mg/L) foi a substância utilizada como referência de toxicidade para avaliar a qualidade dos ensaios realizados. O tempo de exposição utilizado foi de 7 dias, contando com um grupo controle. As concentrações de KCl utilizadas foram 0, 37,5%, 75%, 100%, 150% e 300%. Foi calculada a CI50, que é a concentração inibitória a 50% de organismos-teste, utilizada para a análise de ensaios com medidas de dados contínuos, assim como a reprodução. A CI50 foi determinada pelo Método de Interpolação Linear para Toxicidade Subletal, versão EPA 1993, que estima a CI50 a partir de uma interpolação linear .

#### 4.12 Avaliação da eficiência do processo por irradiação

A avaliação da eficiência da irradiação na redução da toxicidade aguda dos surfactantes LAS e DSS foi realizada através da transformação dos valores de CE(I)50 obtidos nos ensaios de toxicidade aguda e CENO obtidos nos ensaios de toxicidade crônica em Unidades Tóxicas (UT). Os valores das UTs são diretamente proporcionais à toxicidade e são obtidos pelas Equações 20 e 21:

$$UT = \frac{100}{CE50} \quad (20)$$

$$UT = \frac{100}{CENO} \quad (21)$$

A partir dos valores de UTs obtidos para soluções não-irradiadas e irradiadas foram calculados os percentuais de redução da toxicidade aguda e crônica, para cada dose aplicada.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo são apresentados os resultados do estudo da eficiência do processo de tratamento de surfactantes por radiação ionizante proveniente de um acelerador de elétrons, sob uma abordagem ecotoxicológica. Assim, foram utilizados dois ensaios de toxicidade aguda padronizados, o ensaio com o microcrustáceo *Daphnia similis* e o ensaio com a bactéria luminescente *Vibrio fischeri*, e um ensaio padronizado de toxicidade crônica com o microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia* para a avaliação da toxicidade dos surfactantes DSS e LAS (forma ácida). Alguns ensaios adicionais foram realizados com o LAS na forma sódica, para confirmar os efeitos da radiação ionizante também para esta forma de LAS. Parâmetros físico-químicos foram determinados para o acompanhamento dos efeitos da radiação ionizante nas moléculas dos surfactantes estudados e para o controle da qualidade dos ensaios de toxicidade.

### 5.1 Ensaios Preliminares

Para a determinação das doses de radiação ionizante utilizadas foram realizados estudos preliminares de toxicidade aguda do surfactante DSS, expressa em CE(I)50 (%), com a bactéria *Vibrio fischeri*. As doses inicialmente utilizadas foram 1,0kGy, 2,0kGy, 3,0kGy, 6,0kGy, 9,0kGy e 12,0kGy. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 16.

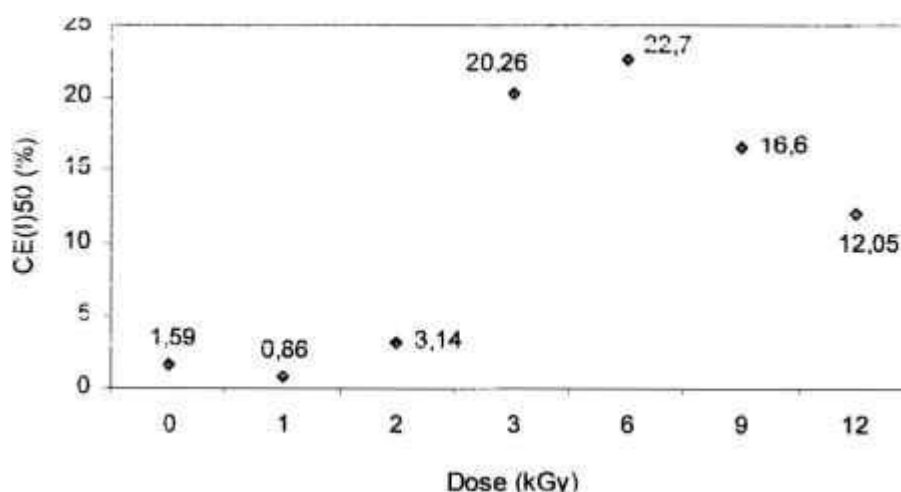
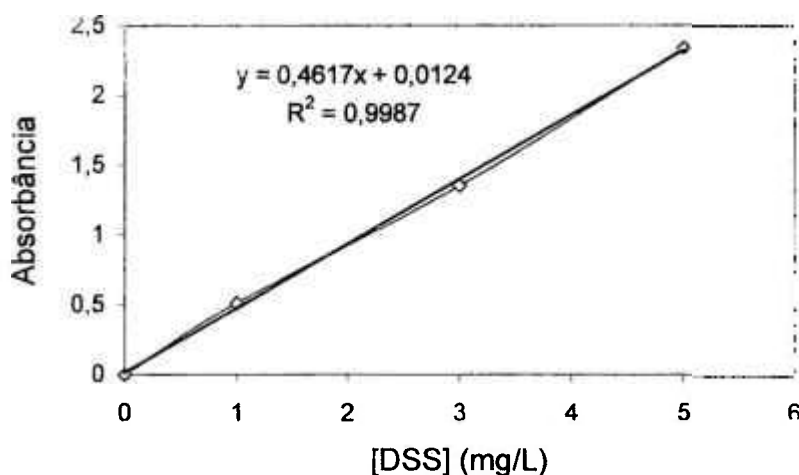


Figura 16. Valores de CE(I)50 obtidos para o DSS nos ensaios preliminares.

Assim, as doses de 3,0kGy, 6,0kGy, 9,0kGy e 12,0kGy foram selecionadas e utilizadas em todos os experimentos realizados, tanto para o DSS como para o LAS, por terem sido as doses mais eficientes na redução da toxicidade do DSS.

## 5.2 Determinação de Surfactantes Aniônicos

A determinação da concentração dos surfactantes aniônicos foi realizada com o objetivo de acompanhar a degradação dos surfactantes DSS e LAS pela radiação ionizante. Foram realizados de três a quatro determinações por dose, para cada surfactante. Para a forma sódica do LAS apenas uma determinação foi realizada. A curva de calibração do método que quantifica o surfactante está apresentada na Figura 17.



**Figura 17.** Curva de calibração para a quantificação do surfactante.

Os dados das Tabelas 10 e 11 mostram os resultados obtidos utilizando-se esta metodologia para o DSS e para o LAS (ácido), respectivamente. Foram calculados os valores médios das concentrações obtidas, bem como os desvios-padrão. As porcentagens de degradação dos surfactantes foram determinadas em relação às concentrações iniciais médias dos surfactantes, antes da irradiação.

**Tabela 10.** Degradação do surfactante DSS em função da dose de radiação.

		Doses de Radiação (kGy)				
Concentração de DSS (mg/L)	Teste	0	3,0	6,0	9,0	12,0
	1	100,06	8,45	2,34	1,55	1,53
	2	98,14	11,69	4,71	2,43	1,86
	3	98,76	9,12	5,04	2,85	2,25
	<b>X ± s*</b>	<b>99,29 ± 1,48</b>	<b>9,75 ± 1,71</b>	<b>4,03 ± 1,47</b>	<b>2,28 ± 0,66</b>	<b>1,88 ± 0,36</b>
	<b>% Redução</b>	<b>-----</b>	<b>90,18</b>	<b>95,94</b>	<b>97,70</b>	<b>98,11</b>

\*X ± s: média ± desvio-padrão

A irradiação resultou em uma importante redução da concentração do DSS, de acordo com o incremento da dose de radiação. A concentração do DSS inicial média, de 99,29mg/L, determinada pelo método, foi reduzida a concentrações entre 9,75mg/L e 1,88mg/L (Figura 18). As porcentagens de redução da concentração estiveram entre 90,18% e 98,11%.

**Tabela 11.** Degradação do surfactante LAS ácido em função da dose de radiação.

		Doses de Radiação (kGy)				
Concentração de LAS (mg/L)	Teste	0	3,0	6,0	9,0	12,0
	1	99,97	19,08	7,17	4,6	3,85
	2	99,35	12,45	5,7	4,81	1,71
	3	99,14	15,26	7,28	4,22	0,96
	4	98,02	8,34	5,74	4,11	3,68
	<b>X ± s</b>	<b>99,12 ± 0,81</b>	<b>13,78 ± 4,53</b>	<b>6,47 ± 0,87</b>	<b>4,43 ± 0,33</b>	<b>2,55 ± 1,44</b>
	<b>% Redução</b>	<b>-----</b>	<b>86,09</b>	<b>93,47</b>	<b>95,53</b>	<b>97,42</b>

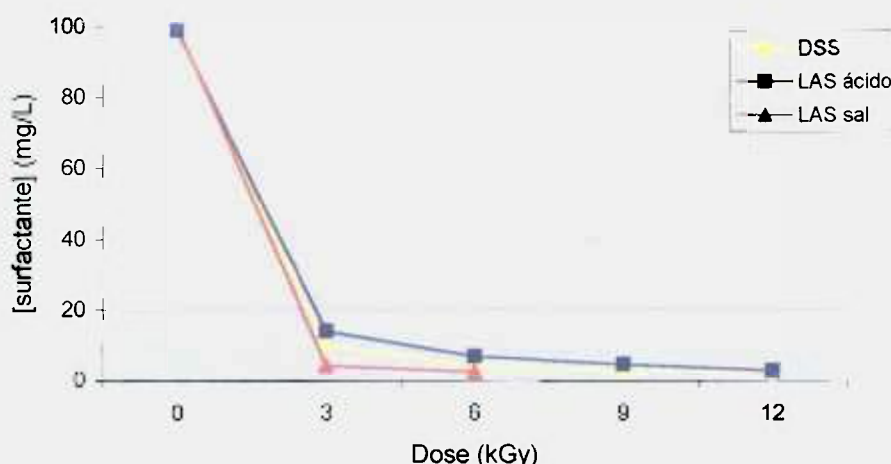
A irradiação também reduziu a concentração do LAS (forma ácida) de acordo com o aumento da dose de radiação. A concentração do LAS inicial média, de 99,12mg/L, determinada pelo método, foi reduzida a concentrações entre 13,78mg/L e 2,55mg/L (Figura 18). As porcentagens de redução da concentração estiveram entre 86,09% a 97,42%.

A determinação da concentração de surfactantes aniônicos foi realizada para o LAS sódico apenas para as doses 3,0kGy e 6,0kGy, além das soluções não-irradiadas, apenas para confirmar a redução da concentração do LAS também em sua forma de sódica (sal). Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 12 e na Figura 18.

**Tabela 12.** Degradação do surfactante LAS sódico em função da dose de radiação.

		Doses de Radiação (kGy)		
Concentração de LAS (mg/L)	Teste	0	3,0	6,0
	1	100,39	4,04	2,15
<b>% Redução</b>		-----	<b>95,98</b>	<b>97,86</b>

A concentração do surfactante LAS, forma sódica, também foi fortemente reduzida pelo tratamento com a radiação ionizante, sendo que quanto maior a dose aplicada, maior a degradação do surfactante. O valor inicial de LAS, antes da irradiação, esteve próximo de 100mg/L. Após a irradiação, com 3,0kGy e 6,0kGy, a concentração do surfactante foi reduzida a 4,04mg/L e 2,15mg/L, representando reduções de 95,98% e 97,86%, respectivamente. A Figura 18 apresenta a redução da concentração dos surfactantes estudados após a irradiação com feixe de elétrons.

**Figura 18.** Redução da concentração dos surfactantes pela irradiação.

Os dados de concentração dos surfactantes mostram uma importante redução em função do tratamento aplicado, possivelmente associada à degradação por oxidação e redução das moléculas orgânicas. A redução da concentração foi muito semelhante para todos os surfactantes estudados, com uma maior degradação em doses ligeiramente mais baixas para o DSS. Como as estruturas moleculares do LAS e do DSS são muito similares, diferindo apenas pela presença de um anel benzênico na molécula do LAS, provavelmente a interação da radiação por feixe de elétrons com as

moléculas dos surfactantes e o efeito desta interação também possam ser bastante similares. A porcentagem de degradação do LAS sódico esteve muito próxima à porcentagem de degradação do LAS em sua forma ácida; assim, pode-se dizer que a radiação ionizante foi eficiente nos dois casos, independentemente da forma química do LAS estudada.

A comparação entre as concentrações médias das soluções de surfactantes antes e após o tratamento mostrou a elevada eficiência da irradiação por feixe de elétrons na degradação do DSS e do LAS, em solução inicial de 100mg/L, para as doses utilizadas.

Roher (1975) utilizou a radiação ionizante do  $^{60}\text{Co}$  para a degradação do surfactante DSS e obteve uma redução entre 75% e 90% da concentração inicial do surfactante, entre 2,5mg/L e 10mg/L, utilizando doses entre 0,1kGy e 1kGy. Podzorova et al. (1998) obteve uma redução de 98,5% da concentração inicial de surfactantes (13,25mg/L) presentes em efluentes municipais, utilizando radiação ionizante de um acelerador de elétrons (energia do elétron 0,3MeV, potência do feixe 15kW), nas doses de 4,0kGy e 5kGy. Pikaev et al. (1997) combinaram, para o tratamento do surfactante isobutilnaftaleno sulfonato, um acelerador de elétrons (0,7MeV, 65 - 70kW) e o tratamento biológico. As doses utilizadas foram entre 2,0kGy e 3,0kGy e a eficiência de redução da concentração do surfactante foi de 99,5%.

Os resultados deste trabalho estão em concordância com os obtidos por Podzorova et al. (1998) e Pikaev et al. (1997). Já Roher (1975) obteve alta redução do DSS em uma dose menor, utilizando o  $^{60}\text{Co}$  e uma concentração inicial do surfactante também menor. Entretanto, segundo Kurucz et al. (2002), geralmente a eficiência de remoção de compostos orgânicos é maior quando se utiliza um tratamento que emprega a radiação  $\gamma$ , em comparação ao tratamento com feixe de elétrons. Provavelmente isto acontece devido à maior densidade de ionização do meio quando da irradiação com feixe de elétrons, o que favorece a recombinação entre as espécies radiolíticas, diminuindo a eficiência de degradação dos poluentes. No caso da radiação  $\gamma$ , ocorre o inverso, favorecendo a degradação dos poluentes.

A eficiência da radiação ionizante em degradar os surfactantes DSS e LAS, entre 86% e 98% obtida neste trabalho, é muito importante do ponto de vista ambiental,

considerando as elevadas concentrações de surfactantes já encontradas em corpos receptores e em estações de tratamento de efluentes.

### **5.3 Parâmetros Físico-químicos**

Os parâmetros físico-químicos da água estão diretamente relacionados à presença de matéria orgânica e inorgânica na água e influenciam a toxicidade. Assim, o acompanhamento destes parâmetros torna-se importante durante a realização de ensaios ecotoxicológicos, principalmente os parâmetros pH, dureza e oxigênio dissolvido, por serem fatores que interferem diretamente na sobrevivência dos organismos aquáticos. Os parâmetros pH, condutividade, carbono total, carbono orgânico total e carbono inorgânico, foram acompanhados antes e após a irradiação das soluções de surfactantes e o pH, o oxigênio dissolvido e a dureza foram acompanhados durante a realização dos ensaios de toxicidade. Da mesma forma, no ambiente esses parâmetros devem ser monitorados e são incluídos na lei.

#### **5.3.1 pH**

O Potencial Hidrogeniônico (pH) define o caráter ácido, básico ou neutro de uma solução e é um parâmetro muito importante para organismos aquáticos, normalmente adaptados a condições de neutralidade (CETESB, 2004). Em estudos ecotoxicológicos o pH é um parâmetro que deve ser rigorosamente acompanhado, pois pode ser parcialmente responsável pela toxicidade observada.

O estudo dos valores de pH foi realizado de duas maneiras. O pH foi medido em todas as soluções de surfactantes, antes e logo após a irradiação, em todas as doses aplicadas. Posteriormente, o pH foi medido para os surfactantes DSS e LAS (ácido) após a preparação das soluções que foram utilizadas nos ensaios de toxicidade. Assim, os valores de pH foram acompanhados em função da diluição das soluções, preparadas a 100mg/L, irradiadas e não-irradiadas.

Os valores de pH obtidos para o DSS e LAS (ácido), em função da dose de radiação utilizada no tratamento são apresentados nas Tabelas 13 e 14.

**Tabela 13.** pH das soluções de DSS, antes e após a irradiação.

pH					
Teste	Dose (kGy)				
	0	3,0	6,0	9,0	12,0
1	6,58	4,80	4,01	5,85	3,67
2	6,35	3,89	3,98	3,64	3,38
3	5,69	4,51	4,11	3,39	3,32
4	6,64	5,23	5,74	4,01	3,70
<b>X ± s</b>	<b>6,31 ± 0,44</b>	<b>4,61 ± 0,56</b>	<b>4,46 ± 0,86</b>	<b>3,68 ± 0,31</b>	<b>3,52 ± 0,20</b>

**Tabela 14.** pH das soluções de LAS (ácido), antes e após a irradiação.

pH					
Teste	Dose (kGy)				
	0	3,0	6,0	9,0	12,0
1	3,44	3,24	3,15	3,08	2,99
2	3,63	3,45	3,36	3,29	3,23
3	3,23	3,25	3,19	3,17	3,13
4	3,4	3,31	3,22	3,16	3,11
5	3,21	3,08	2,96	2,93	2,85
<b>X ± s</b>	<b>3,38 ± 0,17</b>	<b>3,27 ± 0,13</b>	<b>3,18 ± 0,14</b>	<b>3,13 ± 0,13</b>	<b>3,06 ± 0,15</b>

Os valores de pH obtidos para o LAS sódico são apresentados na Tabela 15.

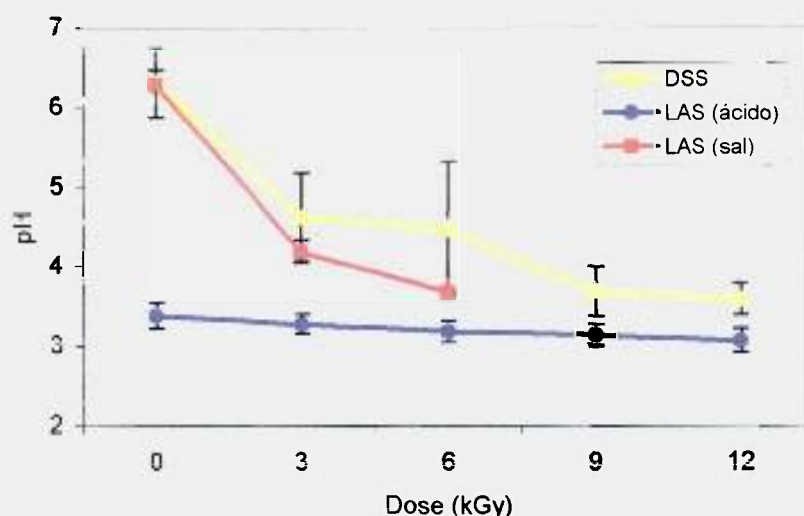
**Tabela 15.** pH das soluções de LAS (sódico), antes e após a irradiação.

pH			
Teste	Dose (kGy)		
	0	3,0	6,0
1	6,15	4,28	3,65
2	6,40	4,08	3,66
<b>X ± s</b>	<b>6,28 ± 0,18</b>	<b>4,18 ± 0,14</b>	<b>3,66 ± 0,01</b>

Para todos os surfactantes estudados, com o aumento da dose de radiação ocorre também uma diminuição dos valores de pH. A diminuição do pH em função da irradiação da amostra com feixe de elétrons também foi observada anteriormente por Duarte (1999). Comparando-se os valores de pH entre os surfactantes (Figura 19), observa-se que apenas para o LAS em sua forma ácida esta diminuição foi menos sensível, uma vez que os valores de pH antes da irradiação já se apresentavam mais

baixos (3,38) em relação aos valores médios encontrados para o DSS (6,31) e para o LAS sódico (6,28).

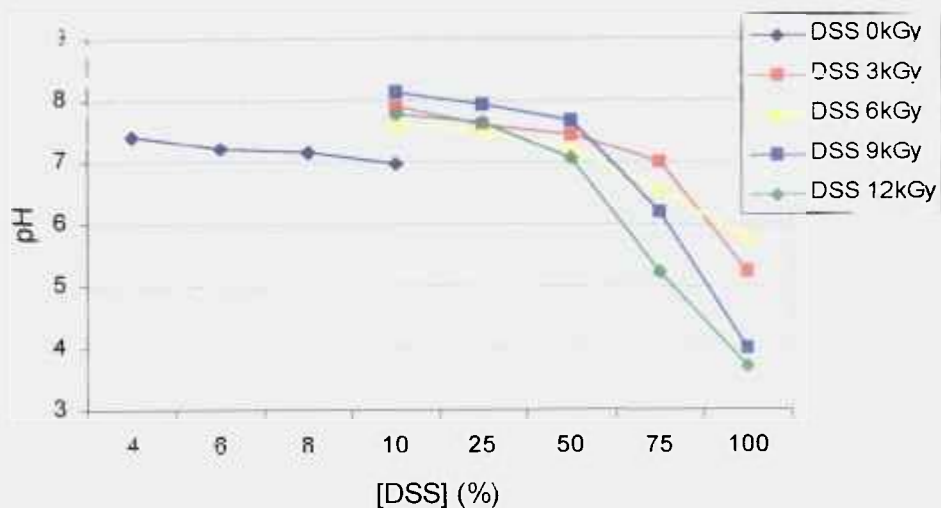
A diminuição dos valores de pH após a irradiação está relacionada com a formação de substâncias ácidas decorrentes da degradação do surfactante por espécies oxidantes e redutoras, formadas a partir interação da radiação ionizante com as moléculas dos surfactantes. Segundo Duarte (1999), os principais produtos de degradação dos compostos orgânicos são os ácidos orgânicos.



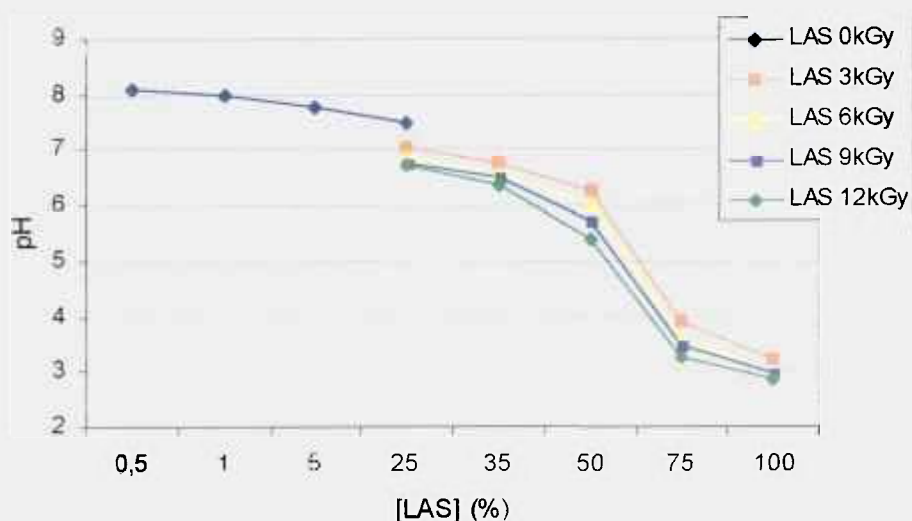
**Figura 19.** Efeito da radiação ionizante no pH das soluções dos surfactantes.

Para o DSS e para o LAS sódico, cujo pH inicial esteve próximo de 6, a formação de substâncias ácidas durante a degradação provocou uma queda acentuada do pH. Para o LAS ácido, a concentração total de íons  $H^+$  em solução permaneceu praticamente constante. É provável que os subprodutos ácidos formados na degradação tenham acidez similar à do LAS (ácido).

Os valores de pH obtidos em função da diluição das soluções de surfactantes são mostrados a seguir. As diluições foram feitas utilizando-se a água de cultivo dos microcrustáceos, que apresenta pH próximo de 7. As Figuras 20 e 21 apresentam a variação de pH das soluções de DSS e de LAS, em sua forma ácida, em função das diluições que foram utilizadas nos ensaios de toxicidade.



**Figura 20.** Variação do pH em função da diluição da amostra do surfactante DSS.



**Figura 21.** Variação do pH em função da diluição da amostra do surfactante LAS ácido.

Para os dois surfactantes os valores de pH foram fortemente alterados pela diluição das soluções, especialmente para aquelas que foram irradiadas. Valores de pH fora da faixa de 5,0 a 9,0 podem interferir nos resultados dos ensaios de toxicidade. Porém, como as soluções de surfactantes são diluídas para a exposição dos organismos, o pH é elevado a níveis aceitáveis para a sobrevivência dos microcrustáceos e da bactéria *V. fischeri*. Em alguns testes o pH foi medido após o

período de duração dos ensaios de toxicidade, para controle da qualidade dos ensaios de toxicidade. e os valores encontrados estiveram muito próximos aos valores de pH iniciais.

### 5.3.2 Condutividade

A condutividade foi estudada em função da dose de radiação aplicada, para os surfactantes DSS e LAS (ácido). Este parâmetro foi medido para as soluções não-irradiadas e irradiadas, logo após a aplicação da radiação.

Nas Tabelas 16 e 17 são mostrados os valores de condutividade obtidos para as soluções de DSS e de LAS.

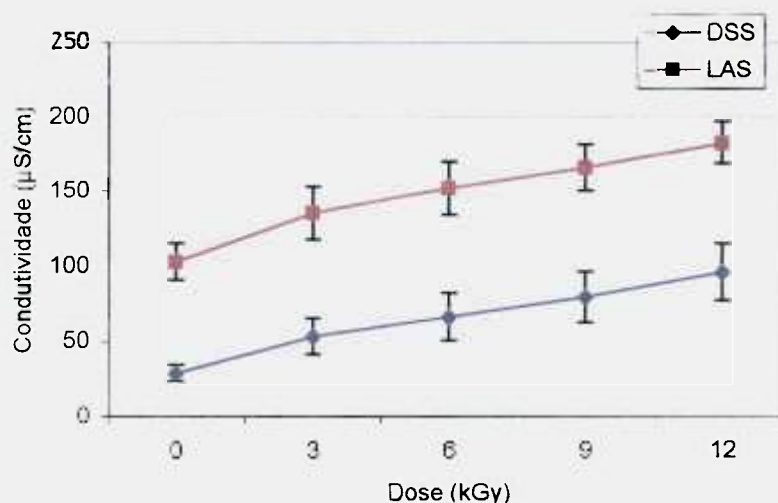
**Tabela 16.** Condutividade das soluções DSS, antes e após a irradiação.

Teste	Condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )				
	Dose (kGy)				
	0	3,0	6,0	9,0	12,0
1	28,00	51,7	69,9	94,5	108,09
2	30,00	66,40	66,40	83,50	106,80
3	35,20	56,20	81,90	81,90	98,76
4	21,70	37,20	44,20	55,10	67,70
<b>X <math>\pm</math> s</b>	<b>28,73 <math>\pm</math> 5,58</b>	<b>52,88 <math>\pm</math> 12,12</b>	<b>65,60 <math>\pm</math> 15,74</b>	<b>78,75 <math>\pm</math> 16,73</b>	<b>95,34 <math>\pm</math> 18,88</b>

**Tabela 17.** Condutividade das soluções de LAS (ácido), antes e após a irradiação.

Teste	Condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )				
	Doses (kGy)				
	0	3,0	6,0	9,0	12,0
1	90	126,6	143,8	161	176,4
2	103,3	155,4	171,4	182,5	198,1
3	115,1	123,1	138,7	152,2	171
<b>X <math>\pm</math> s</b>	<b>102,8 <math>\pm</math> 12,56</b>	<b>135,03 <math>\pm</math> 17,72</b>	<b>151,3 <math>\pm</math> 17,59</b>	<b>165,23 <math>\pm</math> 15,59</b>	<b>181,83 <math>\pm</math> 14,34</b>

A Figura 22 ilustra a variação da condutividade média das soluções de surfactantes em função da dose de radiação recebida. Pode-se observar que o DSS e o LAS apresentam a mesma tendência de aumento dos valores de condutividade.



**Figura 22.** Variação da condutividade dos surfactantes em função da dose de radiação.

A condutividade, que é uma expressão numérica da capacidade da água em conduzir a corrente elétrica, depende da temperatura e da concentração iônica (CETESB, 2004)

O aumento da condutividade das soluções é explicado pela ação da radiação ionizante aplicada, que causa a formação de moléculas ionizadas. Quanto maior for a dose de radiação aplicada, maior será o número de moléculas ionizadas e a condutividade de uma solução.

A condutividade das soluções de LAS, irradiadas e não-irradiadas, apresentou-se maior em relação à condutividade das soluções de DSS. Isto acontece porque o LAS, por estar em sua forma ácida, é mais facilmente dissociável em água que o DSS, que foi utilizado na forma de sal. Assim, quanto maior o grau de dissociação da molécula, maior será a concentração de íons em solução e também a condutividade.

Os valores altos de condutividade alcançados após a irradiação também são atenuados pela diluição das soluções, apesar dos organismos não serem tão sensíveis a este parâmetro.

#### 5.4 Carbono Total, Carbono Orgânico Total e Carbono Inorgânico

As medidas de carbono total (CT), carbono orgânico total (COT) e carbono inorgânico (CI) foram realizadas com o objetivo de se acompanhar a degradação dos

surfactantes pela transformação de carbono orgânico em inorgânico, o que corresponderia à degradação total das moléculas de DSS e LAS.

O aumento do CI em uma amostra após a irradiação ocorre como consequência da transformação do COT em CI, pela quebra da molécula orgânica. O CO<sub>2</sub> formado combina-se prontamente com as moléculas de água do meio, formando bicarbonato (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), que é medido como CI. Os valores de CT devem se manter constantes, pois correspondem à soma do COT e do CI.

Nas Tabelas 18 e 19 estão relacionados os valores de CT, CI e COT, suas médias e desvios-padrão obtidos para as soluções do surfactante DSS e LAS ácido, não-irradiados e irradiados com todas as doses aplicadas.

**Tabela 18.** CT, CI e COT das soluções de DSS, antes e após a irradiação.

Carbono Total (mg/L)					
Doses (kGy)					
Teste	0	3,0	6,0	9,0	12,0
1	50,41	48,60	47,42	46,86	47,16
2	52,28	54,40	55,05	56,58	62,80
3	47,72	47,46	44,99	44,14	43,74
<b>X ± s</b>	<b>50,14 ± 2,29</b>	<b>50,15 ± 3,72</b>	<b>49,15 ± 5,25</b>	<b>49,19 ± 6,54</b>	<b>51,23 ± 10,16</b>
Carbono Inorgânico (mg/L)					
1	0,43	0,37	0,27	0,29	0,27
2	0,81	0,15	0,17	0,22	0,30
3	0,75	0,40	0,38	0,30	0,66
<b>X ± s</b>	<b>0,62 ± 0,20</b>	<b>0,26 ± 0,14</b>	<b>0,26 ± 0,04</b>	<b>0,27 ± 0,04</b>	<b>0,29 ± 0,22</b>
Carbono Orgânico Total (mg/L)					
1	49,97	48,22	47,14	46,57	46,89
2	51,47	54,25	54,87	56,35	62,50
3	46,97	47,06	44,61	43,85	43,08
<b>X ± s</b>	<b>49,47 ± 2,29</b>	<b>49,84 ± 3,86</b>	<b>48,87 ± 5,35</b>	<b>48,92 ± 6,57</b>	<b>50,82 ± 10,29</b>

Para o DSS os valores de CT apresentaram pequenas variações, provavelmente relacionadas com a sensibilidade do equipamento utilizado nas medições. O CI apresentou valores mais baixos em relação às soluções de DSS não irradiadas. Este fato pode ser explicado pela formação de CO<sub>2</sub> durante a interação da radiação e quebra das moléculas de surfactante, que eventualmente tenha sofrido volatilização. Entretanto, os valores de COT estiveram muito próximos entre si (Figura 23).

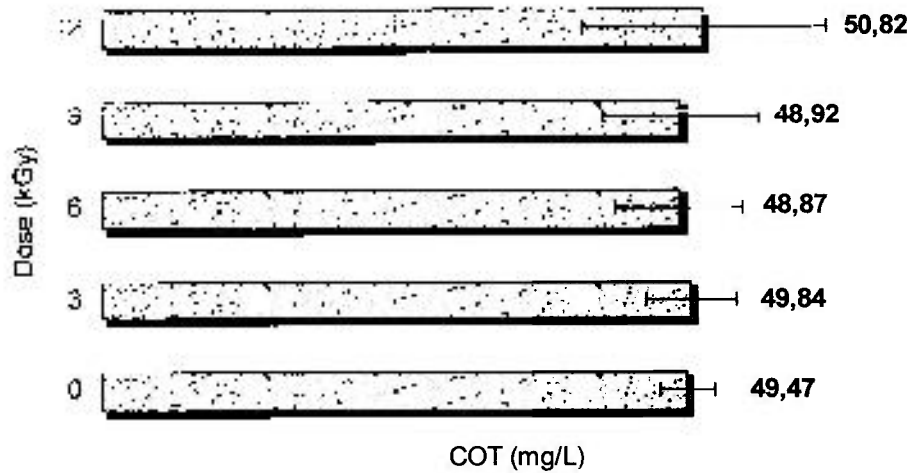


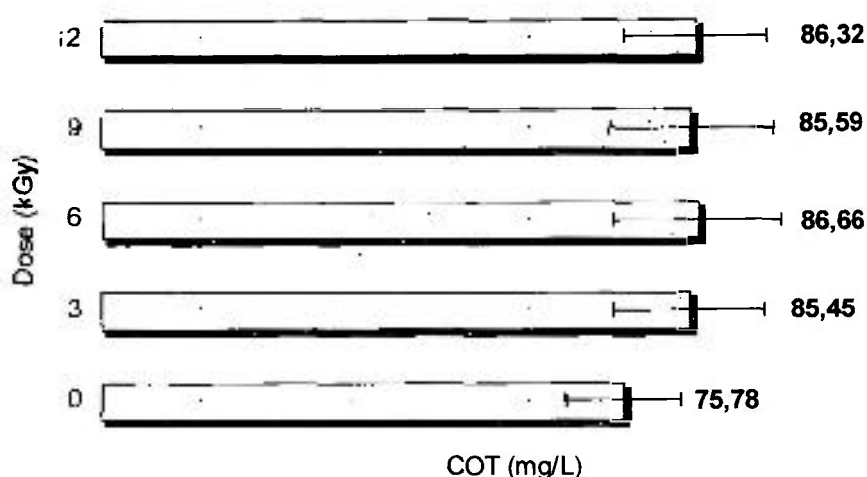
Figura 23. Variação do COT das soluções de DSS em função da dose de radiação.

Tabela 19. CT, CI e COT das soluções de LAS (ácido), antes e após a irradiação.

Carbono Total (mg/L)					
Doses (kGy)					
Teste	0	3,0	6,0	9,0	12,0
1	68,17	71,14	72,22	73,24	74,02
2	69,55	97,38	99,90	101,60	96,56
3	83,70	88,74	93,11	85,59	92,84
4	82,58	85,59	82,24	82,72	83,19
<b>X ± s</b>	<b>76,00 ± 8,28</b>	<b>85,71 ± 10,92</b>	<b>86,87 ± 12,18</b>	<b>85,79 ± 11,79</b>	<b>86,65 ± 10,13</b>
Carbono Inorgânico (mg/L)					
1	0,29	0,35	0,37	0,41	0,38
2	0,20	0,27	0,37	0,29	0,27
3	0,18	0,21	0,33	0,23	0,33
4	0,18	0,22	0,24	0,31	0,32
<b>X ± s</b>	<b>0,21 ± 0,06</b>	<b>0,26 ± 0,06</b>	<b>0,33 ± 0,06</b>	<b>0,31 ± 0,08</b>	<b>0,33 ± 0,05</b>
Carbono Orgânico Total (mg/L)					
1	67,87	70,79	71,84	72,82	73,63
2	69,34	97,11	99,52	101,30	96,28
3	83,52	88,53	92,78	85,35	92,50
4	82,40	85,37	82,48	82,88	82,87
<b>X ± s</b>	<b>75,78 ± 8,32</b>	<b>85,45 ± 10,96</b>	<b>86,66 ± 12,11</b>	<b>85,59 ± 11,79</b>	<b>86,32 ± 10,37</b>

Para o surfactante LAS os valores de CI também apresentaram variações. Ao contrário do que ocorreu para o DSS, o CI apresentou uma tendência a aumentar em função da dose aplicada, sugerindo um início de mineralização do DSS. Porém, esses valores não são estatisticamente significativos, tendo em vista os altos valores dos desvios-padrão, que não permitem uma conclusão definitiva.

A Figura 24 apresenta a variação do COT do LAS, em função da dose aplicada.



**Figura 24.** Variação do COT das soluções de LAS (ácido) em função da dose.

Os valores de COT obtidos para o LAS também estiveram muito próximos entre si, indicando que não houve transformação significativa de COT em CI em função da irradiação.

Comparando-se os valores de CT obtidos para as soluções dos dois surfactantes não-irradiadas, pode-se observar que o LAS apresenta maior quantidade de CT (76,00mg/L) em relação ao DSS (50,14mg/L). Apesar dos dois surfactantes apresentarem cadeias carbônicas similares, com 12 átomos de carbono, o LAS possui ainda o anel benzênico, que contribui com mais 6 carbonos em cada molécula.

Com as análises de CT, COT e CI não foi possível o estudo da degradação dos surfactantes. Provavelmente as doses aplicadas sejam muito baixas para que ocorra a degradação completa dos surfactantes, o que indica que a radiação contribuiu apenas para uma quebra primária das moléculas de DSS e LAS. Essa quebra primária pode ter

levado à formação de outras moléculas orgânicas mais simples e assim, os valores de carbono orgânico total permaneceram muito próximos.

O COT é um parâmetro importante para a determinação global da poluição orgânica. Segundo Fang e Wu (1999) a determinação do COT pode ser utilizada para a avaliação da qualidade da água e de efluentes após o tratamento com radiação. Lissens et al. (2003) utilizaram o parâmetro COT para a avaliação da eficiência do tratamento por oxidação eletroquímica do LAS e obtiveram 83% de redução do COT. O processo utilizado demonstrou ser altamente oxidativo, levando as moléculas de LAS à mineralização. Weihua et al. (2002), por outro lado, utilizando a radiação por feixe de elétrons na degradação dos nitrofenóis, observaram que os níveis de COT não variaram significativamente após o tratamento e concluíram que uma pequena mineralização foi alcançada, sendo que os produtos de degradação em baixas doses de radiação foram compostos orgânicos, como também foi observado neste trabalho.

## 5.5 Oxigênio Dissolvido e Dureza

As medições da concentração do oxigênio dissolvido foram feitas antes e após os ensaios de toxicidade aguda para *D. similis* e de toxicidade crônica. Segundo Norma ABNT 12713 (2004), valores de oxigênio dissolvido inferiores a 3,0mg/L podem interferir nos resultados destes ensaios.

As concentrações de O<sub>2</sub> dissolvido nas diluições utilizadas nos ensaios, tanto para soluções irradiadas como para as não-irradiadas de DSS e LAS e para as substâncias de referência, variaram entre 7,80mg/L e 6,91mg/L no início dos ensaios e entre 7,65mg/L e 6,32mg/L após o tempo de exposição. Estes valores são mais de duas vezes superiores ao valor limite mínimo estabelecido pela Norma, garantindo a qualidade dos ensaios.

A dureza das soluções de DSS e LAS também não apresentou variações significativas, em consequência da diluição em água de cultivo dos organismos *Daphnia* e *Ceriodaphnia*, que deve apresentar dureza total entre 40 e 48mg CaCO<sub>3</sub>/L. Os valores medidos estiveram muito próximos de 42,00 mg CaCO<sub>3</sub>/L, antes e após a realização dos ensaios de toxicidade.

## 5.6 Ensaios de Toxicidade Aguda

### 5.6.1 Ensaio de Toxicidade Aguda com *Daphnia similis*

Os ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, em 24 e 48 horas de exposição, foram realizados com todos os surfactantes, em todas as doses de radiação utilizadas.

Como os valores de CE(I)50 (Concentração Inicial Efetiva à 50% dos organismos expostos) são indiretamente proporcionais à toxicidade, o aumento da CE(I)50 após o tratamento com radiação indica a redução da toxicidade aguda.

Os resultados das Tabelas 20, 21, 22, 23 e 24 mostram os valores de CE(I)50 obtidos com o organismo *Daphnia similis*, as suas médias, desvios-padrão, coeficientes de variação e faixas de sensibilidade para o surfactante DSS, não-irradiado e irradiado com as doses 3,0kGy, 6,0kGy, 9,0kGy e 12,0kGy.

Os valores de CE(I)50 apresentados com os símbolos < ou > e sem o intervalo de confiança indicam que as concentrações utilizadas no ensaio não foram suficientes para avaliar o efeito agudo e determinação do valor de CE(I)50.

**Tabela 20.** Toxicidade aguda do DSS não-irradiado ao organismo *D. similis*.

Teste	DSS não-irradiado			
	(24h)		(48h)	
	CE(I)50%	UT	CE(I)50%	UT
1	18,05 (14,01 – 23,24)	5,54	<5,00	>20,00
2	11,38 (8,48 – 15,27)	8,79	<5,00	>20,00
3	<5,00	>20,00	<5,00	>20,00
4	12,51 (11,18 – 14,01)	7,99	<5,00	>20,00
5	12,09 (10,11 – 14,46)	8,27	6,04 (5,01 – 7,28)	16,56
<b>X ± s</b>	<b>11,81 ± 4,64</b>	----	----	----
<b>Faixa de sensibilidade (%)</b> : 11,38 a 18,05	<b>Faixa de sensibilidade (%)</b> : <5,0 a 6,04			
<b>Coeficiente de Variação</b> : 39,3%	<b>Coeficiente de Variação</b> : -----			

**Tabela 21.** Toxicidade aguda do DSS irradiado com 3,0kGy ao organismo *D. similis*.

DSS 3.0kGy				
Teste	(24h)		(48h)	
	CE(I)50%	UT	CE(I)50%	UT
1	>60,00	1,67	>60,00	1,67
2	82,69 (77,81 – 87,88)	1,21	54,98 (45,88 – 65,89)	1,82
3	64,50 (55,83 – 74,72)	1,55	49,26 (40,26 – 59,72)	2,03
4	81,77 (74,50 – 89,74)	1,22	72,02 (63,99 – 89,74)	1,39
5	61,82 (53,39 – 71,78)	1,62	52,82 (45,55 – 61,25)	1,89
<b>X ± s</b>	<b>70,16 ± 11,14</b>	-----	<b>57,82 ± 8,84</b>	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 60,0 a 82,69</b>			<b>Faixa de sensibilidade (%): 49,26 a 72,02%</b>	
<b>Coefficiente de Variação: 15,9%</b>			<b>Coefficiente de Variação: 15,3%</b>	

**Tabela 22.** Toxicidade aguda do DSS irradiado com 6,0kGy ao organismo *D. similis*.

DSS 6,0kGy				
Teste	(24h)		(48h)	
	CE(I)50%	UT	CE(I)50%	UT
1	89,44 (73,26 – 109,20)	1,12	74,08 (67,21 – 81,64)	1,35
2	61,24 *	1,64	57,56 (51,20- 65,40)	1,74
3	60,31 (55,25 – 65,84)	1,66	53,52 (46,93 – 61,04)	1,87
4	63,44 (59,85 – 66,40)	1,58	23,57 (5,22 – 35,51)	4,24
5	61,19 *	1,63	55,88 (50,74 – 61,25)	1,79
<b>X ± s</b>	<b>67,12 ± 12,53</b>	-----	<b>52,92 ± 18,30</b>	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 60,31 a 89,44</b>			<b>Faixa de sensibilidade (%): 23,57 a 74,08%</b>	
<b>Coefficiente de Variação: 18,7%</b>			<b>Coefficiente de Variação: 34,6%</b>	

\* intervalo não confiável: intervalo excedeu os 95% de confiança do ensaio.

**Tabela 23.** Toxicidade aguda do DSS irradiado com 9,0kGy ao organismo *D. similis*.

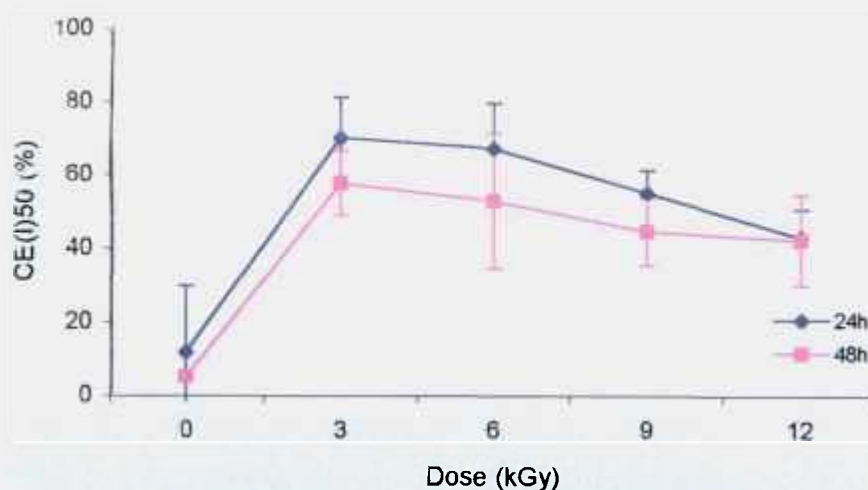
DSS 9,0kGy				
Teste	(24h)		(48h)	
	CE(I)50%	UT	CE(I)50%	UT
1	45,97 (43,20 – 52,28)	2,17	39,71 (34,64 – 46,32)	2,52
2	59,04 (55,00 – 63,36)	1,69	42,66 (37,15 – 48,53)	2,35
3	51,31 (54,00 – 54,53)	1,95	33,43 (25,89 – 43,16)	2,99
4	60,51 *	1,65	56,64 *	1,64
5	58,47 (52,87 – 64,66)	1,71	51,09 (43,16 – 60,49)	1,96
<b>X ± s</b>	<b>55,06 ± 6,20</b>	-----	<b>44,71 ± 9,21</b>	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 45,97 a 59,04</b>			<b>Faixa de sensibilidade (%): 39,71 a 56,64%</b>	
<b>Coefficiente de Variação: 11,3%</b>			<b>Coefficiente de Variação: 20,6%</b>	

**Tabela 24.** Toxicidade aguda do DSS irradiado com 12,0kGy ao organismo *D. similis*.

DSS 12.0kGy				
Teste	(24h)		(48h)	
	CE(I)50%	UT	CE(I)50%	UT
1	38,08 (33,24 - 42,61)	2,63	34,35 (31,17 - 37,85)	2,91
2	54,32 (47,54 - 62,05)	1,84	60,51 *	1,65
3	38,32 (35,33 - 41,57)	2,61	36,45 (34,35 - 38,68)	2,74
4	41,25 (38,07 - 43,65)	2,42	37,94 (36,37 - 39,09)	2,64
<b>X ± s</b>	<b>42,99 ± 7,69</b>	-----	<b>42,31 ± 12,22</b>	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%)</b> : 38,08 a 54,32			<b>Faixa de sensibilidade (%)</b> : 34,35 a 60,51%	
<b>Coefficiente de Variação</b> : 17,9%			<b>Coefficiente de Variação</b> : 28,9%	

A Figura 25 ilustra a variação dos valores médios de CE(I)50 e os desvios-padrão obtidos para o surfactante DSS, em dois tempos de exposição (24 e 48 horas) do organismo *D. similis*, em função da dose de radiação utilizada.

O DSS apresentou elevada toxicidade aguda ao organismo *D. similis*, tanto em 24 horas (11,81%) como em 48 horas (5,21%) de exposição. Após a irradiação com feixe de elétrons, pode-se observar a redução da toxicidade pelos valores mais altos de CE(I)50 obtidos, que variaram entre 42,99% e 70,16%, na exposição de 24 horas e entre 42,31% e 57,82%, em 48 horas. Para as exposições de *D. similis*, em 24 e 48 horas, pode-se observar que a toxicidade foi sempre mais elevada em 48 horas, devido à exposição mais prolongada.

**Figura 25.** Variação da CE(I)50 para o DSS em função da dose (*D. similis*).

Embora a CE(I)50 tenha sido expressa em porcentagem, como a solução de DSS foi preparada a 100mg/L, o valor de 11,81% corresponde a 11,81mg/L, que é a média obtida para o DSS antes do tratamento por irradiação em 24 horas de exposição de *D. similis*.

Sandbacka et al. (2000) estudaram a toxicidade do DSS à *Daphnia magna* e obtiveram uma CE(I)50(48h) igual a 28,8mg/L. Villegas – Navarro et al. (1999) encontraram uma CL50(48h) para *D. magna* entre 14,5 e 16,2mg/L. Paixão et al. (2002) obtiveram uma CI50(96h) para o DSS entre 11,21 e 21,87mg/L, utilizando-se a alga *Tetraselmis chuii*. A CE(I)50 média obtida (24h) no presente trabalho esteve próxima dos valores observados por outros autores, apesar de terem sido utilizados organismos diferentes e tempos de exposição diferentes. A CE(I)50 média obtida em 48 horas de exposição ao DSS (5,21mg/L) esteve abaixo dos valores encontrados anteriormente. De uma forma geral, o organismo *D. similis* foi mais sensível ao DSS em relação aos organismos utilizados em outros trabalhos.

Os resultados das Tabelas 25, 26, 27, 28 e 29 mostram os valores de CE(I)50 obtidos com o organismo *D. similis*, as suas médias, desvios-padrão, coeficientes de variação e faixas de sensibilidade para o surfactante LAS (forma ácida), não-irradiado e irradiado com as doses 3,0kGy, 6,0kGy, 9,0kGy e 12,0kGy.

**Tabela 25.** Toxicidade aguda do LAS não-irradiado ao organismo *D. similis*.

Teste	LAS não-irradiado			
	(24h)		(48h)	
	CE(I)50%	UT	CE(I)50%	UT
1	6,93 *	14,43	<5,00	>20
2	7,32 (6,87 – 7,78)	13,66	2,38 (1,83 – 3,11)	42,02
3	6,35 (4,49 – 8,99)	15,75	6,19 (3,43 – 11,16)	16,67
4	10,00 *	>10	<4,00	>25,00
5	8,62 (7,62 – 9,75)	11,60	5,22 (4,38 – 6,21)	19,15
<b>X ± s</b>	<b>7,84 ± 1,47</b>	-----	<b>4,56 ± 1,44</b>	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 6,35 a 8,62</b>			<b>Faixa de sensibilidade (%): 4,00 a 6,19%</b>	
<b>Coefficiente de Variação: 18,7%</b>			<b>Coefficiente de Variação: 31,6%</b>	

\* intervalos não confiáveis.

**Tabela 26.** Toxicidade aguda do LAS irradiado com 3,0kGy ao organismo *D. similis*.

LAS 3.0kGy				
Teste	(24h)		(48h)	
	CE(I)50%	UT	CE(I)50%	UT
1	<25,00	>4,00	<25,00	>4,00
2	19,59 (16,90 – 22,71)	5,10	16,12 *	6,20
3	>20,00	<5,00	>20,00	<5,00
4	20,35 (18,80 – 22,02)	4,91	16,71 (15,09 – 18,50)	5,98
5	19,52 (17,47 – 21,81)	5,12	18,86 (17,06 – 20,85)	5,30
<b>X ± s</b>	<b>20,89 ± 2,32</b>	-----	<b>19,34 ± 3,54</b>	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 19,52 a 25,00</b>			<b>Faixa de sensibilidade (%): 16,12 a 25,00</b>	
<b>Coefficiente de Variação: 11,1%</b>			<b>Coefficiente de Variação: 18,3%</b>	

**Tabela 27.** Toxicidade aguda do LAS irradiado com 6,0kGy ao organismo *D. similis*.

LAS 6,0kGy				
Teste	(24h)		(48h)	
	CE(I)50%	UT	CE(I)50%	UT
1	33,85 (31,26 - 36,65)	2,95	28,60 (26,20 – 31,22)	3,49
2	>25,00	<4,00	>25,00	<4,00
3	<20,00	>5,00	>20,00	>5,00
4	25,68 (14,54 - 24,44)	3,89	15,00 *	6,67
5	21,75 (19,96 – 23,69)	4,60	19,79 (18,47 – 21,19)	5,05
<b>X ± s</b>	<b>25,26 ± 5,34</b>	-----	<b>21,68 ± 5,24</b>	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 20,00 a 33,85</b>			<b>Faixa de sensibilidade (%): 15,00 a 28,60</b>	
<b>Coefficiente de Variação: 21,1%</b>			<b>Coefficiente de Variação: 24,2%</b>	

**Tabela 28.** Toxicidade aguda do LAS irradiado com 9,0kGy ao organismo *D. similis*.

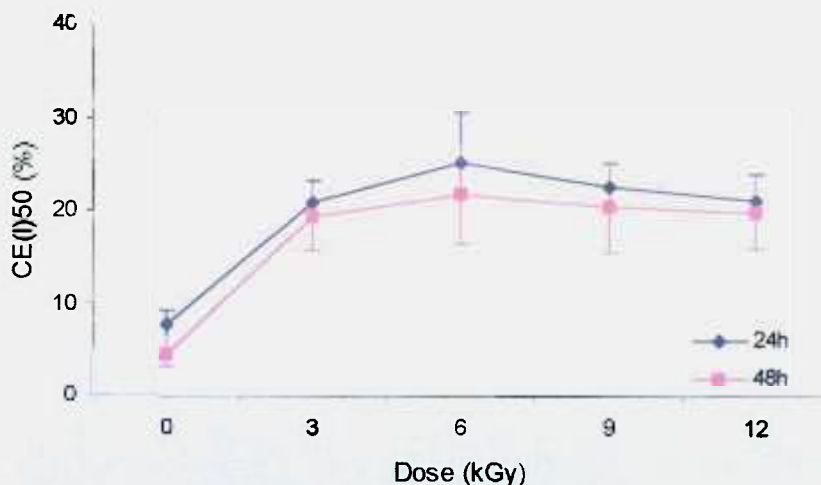
LAS 9,0kGy				
Teste	(24h)		(48h)	
	CE(I)50%	UT	CE(I)50%	UT
1	<25,00	>4,00	<25,00	>4,00
2	>20,00	<5,00	>20,00	<5,00
3	21,75 (19,36 – 24,44)	4,59	<15,00	>6,67
4	23,95 (21,05 – 27,24)	4,18	21,58 (19,51 – 23,87)	4,63
<b>X ± s</b>	<b>22,68 ± 2,54</b>	-----	<b>20,40 ± 5,00</b>	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 21,75 a 25,00</b>			<b>Faixa de sensibilidade (%): 15,00 a 25,00</b>	
<b>Coefficiente de Variação: 11,2%</b>			<b>Coefficiente de Variação: 24,5%</b>	

**Tabela 29.** Toxicidade aguda do LAS irradiado com 12,0kGy ao organismo *D. similis*.

LAS 12.0kGy				
Teste	(24h)		(48h)	
	CE(I)50%	UT	CE(I)50%	UT
1	<25,00	>4,00	<25,00	>4,00
2	>20,00	<5,00	>20,00	<5,00
3	20,39 (18,51 – 22,46)	4,90	17,32 (11,28 – 26,60)	5,77
4	18,95 (17,71 – 20,28)	5,28	16,56 (15,65 – 17,83)	6,03
<b>X ± s</b>	<b>21,09 ± 2,78</b>	-----	<b>19,72 ± 3,90</b>	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 18,95 a 25,00</b>			<b>Faixa de sensibilidade (%): 16,56 a 25,00</b>	
<b>Coefficiente de Variação: 13,2%</b>			<b>Coefficiente de Variação: 19,8%</b>	

A Figura 26 apresenta a variação dos valores médios de CE(I)50 e os desvios-padrão obtidos para o surfactante LAS (ácido), em dois tempos de exposição (24 e 48 horas) do organismo *D. similis*, em função da dose de radiação aplicada.

O surfactante LAS, em sua forma ácida, também apresentou elevada toxicidade aguda ao organismo *D. similis*, em 24 e em 48 horas de exposição, representada pelos valores de CE(I)50 de 7,84% e 4,56%, respectivamente. Após a irradiação das soluções, os valores de CE(I)50 obtidos variaram entre 20,89% e 25,25% (24 horas) e entre 19,34% e 21,68% (48h), indicando redução da toxicidade aguda do LAS após a irradiação.

**Figura 26.** Variação da CE(I)50 para o LAS (ácido) em função da dose (*D. similis*).

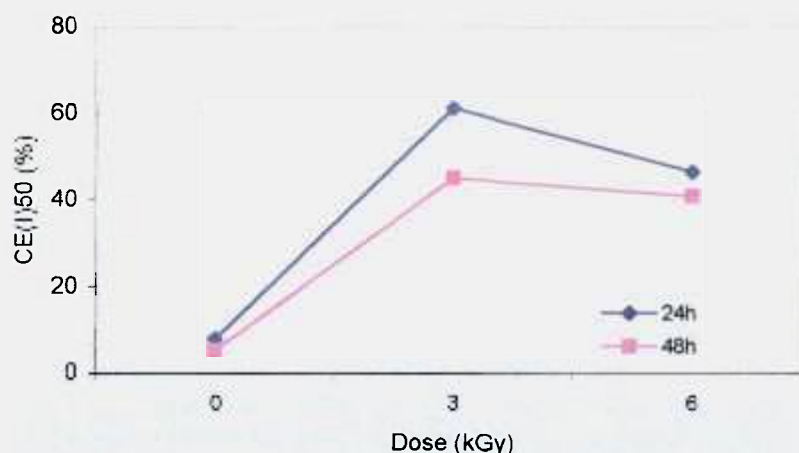
A Tabela 30 apresenta os valores de CE(I)50 obtidos com o organismo *D. similis*, para o surfactante LAS em sua forma sódica, não-irradiado e irradiado com as doses 3,0kGy e 6,0kGy.

**Tabela 30.** Toxicidade aguda do LAS (sal), não-irradiado e irradiado, ao organismo *D. similis*.

LAS (forma sódica)				
Dose (kGy)	(24h)		(48h)	
	CE(I)50%	UT	CE(I)50%	UT
0	8,06 (7,29 – 8,91)	12,40	5,27 (4,67 – 5,94)	18,98
3,0	61,24*	1,63	45,00*	2,22
6,0	46,53 (40,88 – 52,96)	2,15	40,85 (39,07 – 42,71)	2,44

\* intervalo não confiável.

A Figura 27 mostra a variação dos valores de CE(I)50 obtidos para o surfactante LAS (sal), em dois tempos de exposição (24 e 48 horas) do organismo *D. similis*, em função da dose de radiação aplicada.



**Figura 27.** Variação da CE(I)50 para o LAS (sal) em função da dose (*D. similis*).

O LAS sódico não-irradiado apresentou toxicidade aguda semelhante a sua forma ácida em 24 horas (8,06%) e em 48 horas (5,27%) de exposição. Com as duas doses de radiação aplicadas, as CE(I)50 foram aumentadas, atingindo os valores entre 46,53% e 61,24% para a dose de 3,0kGy e entre 40,85% e 45,00% para a dose de 6,0kGy, evidenciando a redução da toxicidade aguda pelo processo de irradiação com feixe de elétrons. Os valores de CE(I)50 obtidos para a exposição de 48 horas

apresentaram-se mais baixos em relação à exposição de 24 horas, mostrando que quanto maior o tempo de exposição, maior é o efeito tóxico do surfactante.

Muitos autores já estudaram a toxicidade aguda do surfactante LAS a diferentes organismos aquáticos. Segundo Cserhát et al. (2000), a toxicidade aguda ao LAS varia entre 1,7 e 270mg/L, para vários invertebrados já estudados. Entretanto, de acordo com Eichhorn et al. (2002), concentrações de LAS acima de 0,155mg/L já começam a causar efeitos negativos à vida aquática. Verge et al. (2001) obtiveram uma CE(I)50 para o LAS C<sub>12</sub> igual a 13,9mg/L, utilizando-se o organismo *Daphnia magna*, em 48 horas de exposição. Warne & Schifko (1999), utilizando o organismo *Ceriodaphnia dubia*, encontraram uma CE(I)50 para o LAS C<sub>12</sub> igual a 7,81mg/L, em 48 horas de exposição. Cunha et al. (2000) encontraram uma faixa de toxicidade aguda para o LAS C<sub>12</sub> entre 1,2mg/L e 11,25mg/L, utilizando-se a *D. magna*, em 48 horas de exposição. Os valores de CE(I)50 obtidos neste trabalho para o LAS, entre 7,84mg/L e 8,06mg/L em 24 horas de exposição, estiveram muito próximos aos já anteriormente obtidos por outros autores, mesmo considerando espécies e tempos de exposição diferentes. Em 48 horas de exposição os valores obtidos de CE(I)50 estiveram mais baixos em relação aos dados apresentados acima.

### 5.7 Ensaios de Toxicidade Aguda com as Substâncias de Referência

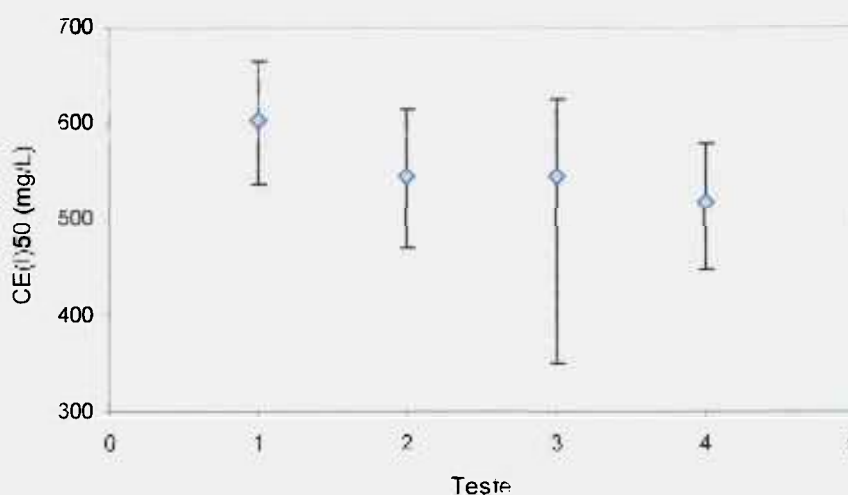
Os ensaios de toxicidade aguda com o organismo *Daphnia similis* foram acompanhados por ensaios com as substâncias de referência cloreto de potássio (KCl) e dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>). Os ensaios com as substâncias de referência foram realizados periodicamente, com um período de exposição do organismo de 48 horas.

A Tabela 31 apresenta os resultados dos ensaios de toxicidade aguda realizados com a substância cloreto de potássio. Para esta substância não foi elaborada uma carta controle, devido ao número pequeno de ensaios que foram realizados.

**Tabela 31.** Toxicidade aguda do cloreto de potássio ao organismo *D. similis*.

Teste	KCl (48h)	
	CE(I)50 (mg/L)	Intervalo
1	603,86	543,35 – 671,10
2	546,57	479,21 – 623,41
3	546,57	467,14 – 743,52
4	517,88	456,85 – 587,07
<b><math>X \pm s = 553,72\text{mg/L} \pm 36,06</math></b>		
<b>Faixa de sensibilidade (mg/L): 517,88 a 603,86</b>		
<b>Coefficiente de Variação: 6,5%</b>		

A resposta de *D. similis* ao cloreto de potássio é ilustrada na Figura 28, onde estão representados as CE(I)50 (●) e os intervalos de confiança obtidos.

**Figura 28.** Sensibilidade do organismo *D. similis* ao cloreto de potássio.

Os resultados obtidos para o cloreto de potássio mostram que este composto foi pouco tóxico e apresentou faixa de sensibilidade bem determinada para *D. similis*. Khangarot & Ray (1989), utilizando a substância cloreto de potássio, obtiveram uma CE50(24h) igual a 327,94mg/L e uma CE50(48h) igual a 141,6mg/L, para o organismo *D. magna*, em água de diluição natural, com dureza igual a 240mg/L de CaCO<sub>3</sub>. Considerando que *D. magna* apresenta sensibilidade próxima à *D. similis* (Goldstein et al., 1983), neste trabalho o organismo utilizado apresentou-se menos sensível ao cloreto de potássio em relação ao dado obtido anteriormente.

A Tabela 32 apresenta os resultados obtidos para o ensaio com a substância de referência dicromato de potássio.

**Tabela 32.** Toxicidade aguda do dicromato de potássio ao organismo *D. similis*.

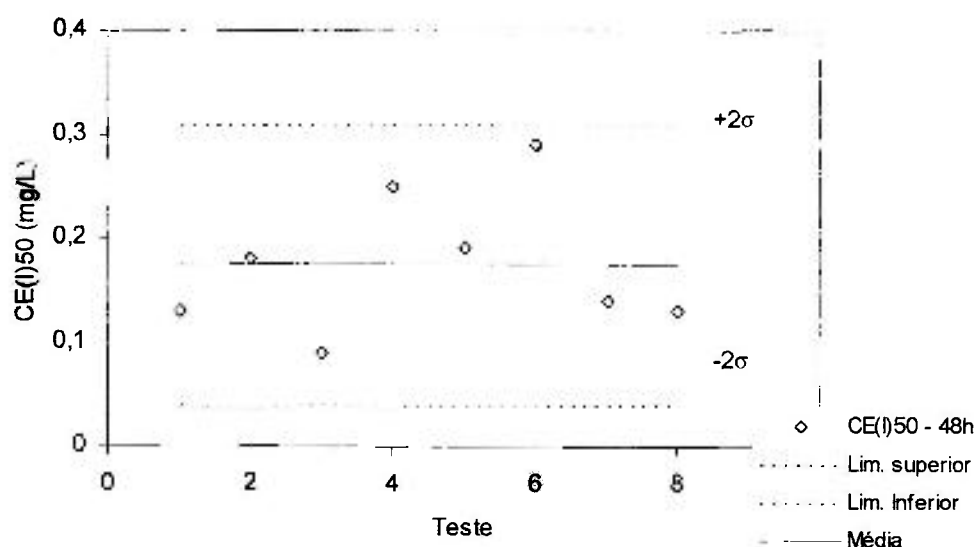
Teste	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	
	(48h)	
	CE(I)50mg/L	Intervalo
1	0,13	0,11 – 0,15
2	0,18	0,07 – 0,11
3	0,09	0,08 – 0,11
4	0,25	0,20 – 0,28
5	0,19	0,16 – 0,34
6	0,29	0,13 – 0,45
7	0,14	0,12 – 0,18
8	0,13	0,10 – 0,18

**$X \pm s = 0,18 \text{ mg/L} \pm 0,07$**

**Faixa de sensibilidade (mg/L): 0,09 a 0,29**

**Coefficiente de Variação: 39,0%**

A Figura 29 apresenta a carta-controle elaborada a partir dos resultados dos ensaios de toxicidade com o dicromato de potássio, em 48 horas de exposição de *D. similis*.



**Figura 29.** Sensibilidade do organismo *D. similis* ao dicromato de potássio.

A CE(I)50 média obtida para o dicromato de potássio (0,18mg/L) esteve muito próxima de outros resultados já obtidos por outros autores. Borrely (2001) obteve uma CE(I)50 para o dicromato igual a 0,17mg/L e Osti (2001) obteve uma CE(I)50 igual a 0,19mg/L, sendo que os dois trabalhos utilizaram água de diluição com dureza entre 40 e 48mg/L de CaCO<sub>3</sub>. Estes resultados são muito importantes pois permitiram a avaliação da sensibilidade dos organismos-teste, garantindo a qualidade dos ensaios de toxicidade realizados com o organismo *D. similis*.

O dicromato de potássio tem sido muito utilizado como substância de referência para a avaliação da sensibilidade de peixes e invertebrados, como os microcrustáceos. Esta substância é composta pelo cromo, que apesar de ser um micronutriente importante para os organismos, causa efeitos tóxicos em concentrações relativamente baixas. Assim, pequenas concentrações de dicromato de potássio são suficientes para causar efeitos tóxicos (Bohrer, 1995).

Além disso, o dicromato de potássio é um composto corrosivo e carcinogênico, o que representa um risco à segurança dos técnicos e ao meio ambiente devido a sua introdução contínua no ambiente. O mesmo não é observado para o cloreto de potássio, que foi estudado neste trabalho como uma alternativa em relação a outras substâncias de referência, como o dicromato, que são muito prejudiciais. Existe uma forte intenção de pesquisadores da área de ecotoxicologia de substituir as substâncias de referência atualmente utilizadas por produtos menos tóxicos e mais estáveis com relação à dureza e à concentração de matéria orgânica da água de diluição utilizada.

### **5.8 Ensaio de Toxicidade Aguda com *Vibrio fischeri***

Os ensaios de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*, 15 minutos de exposição, também foram realizados com todos os surfactantes, em todas as doses de radiação utilizadas.

As Tabelas 33, 34, 35, 36 e 37 mostram os valores de CE(I)50 obtidos com o organismo *Vibrio fischeri*, os fatores de correção (FC), as suas médias, desvios-padrão, coeficientes de variação e faixas de sensibilidade obtidos para o surfactante DSS, não-irradiado e irradiado com as doses 3,0kGy, 6,0kGy, 9,0kGy e 12,0kGy.

**Tabela 33.** Toxicidade aguda do DSS não-irradiado ao organismo *V. fischeri*.

DSS não-irradiado			
Teste	CE(I)50%	FC	UT
1	2,30 (1,99 – 2,61)	0,8745	43,47
2	1,59 (0,76 – 3,31)	0,8878	62,89
3	1,71 (1,29 – 2,27)	0,8270	58,48
4	1,59 (0,79 – 3,22)	0,8890	62,89
5	2,41 (1,97 – 2,95)	0,8434	41,49
<b>X ± s</b>	<b>1,92 ± 0,40</b>	----	----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 1,59 a 2,41</b>			
<b>Coefficiente de Variação: 20,8%</b>			

**Tabela 34.** Toxicidade aguda do DSS irradiado com 3,0kGy ao organismo *V. fischeri*.

DSS 3,0kGy			
Teste	CE(I)50%	FC	UT
1	20,26 (16,61 – 24,69)	0,6929	4,94
2	19,74 (12,19 – 31,98)	0,8955	5,06
3	13,63 (10,56 – 17,59)	0,9093	7,34
4	12,09 (9,25 – 15,80)	0,8893	8,27
5	22,94 (17,77 – 29,60)	0,9006	4,36
<b>X ± s</b>	<b>17,73 ± 4,64</b>	----	----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 12,09 a 22,94</b>			
<b>Coefficiente de Variação: 26,2%</b>			

**Tabela 35.** Toxicidade aguda do DSS irradiado com 6,0kGy ao organismo *V. fischeri*.

DSS 6,0kGy			
Teste	CE(I)50%	FC	UT
1	22,7 (21,1 – 42,3)	0,8150	4,41
2	21,42 (12,80 – 15,27)	0,8325	4,67
3	11,98 (10,37 – 13,83)	0,8571	8,35
4	8,73 (6,06 – 12,57)	0,8747	11,45
5	32,94 (20,15 – 53,85)	0,8393	3,04
<b>X ± s</b>	<b>19,55 ± 9,58</b>	----	----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 8,73 a 32,94</b>			
<b>Coefficiente de Variação: 49,0%</b>			

**Tabela 36.** Toxicidade aguda do DSS irradiado com 9,0kGy ao organismo *V. fischeri*.

DSS 9.0kGv			
Teste	CE(I)50%	FC	UT
1	16,60 (15,06 – 18,31)	0,8816	6,02
2	9,95 (7,11 – 13,91)	0,7849	10,05
3	8,29 (5,200 – 13,222)	0,8520	12,06
4	32,45 (26,30 – 40,03)	0,9104	3,08
5	29,17 (17,52 – 33,24)	0,9743	3,43
<b>X ± s</b>	<b>19,29 ± 11,03</b>	-----	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 8,29 a 32,45</b>			
<b>Coefficiente de Variação: 57,2%</b>			

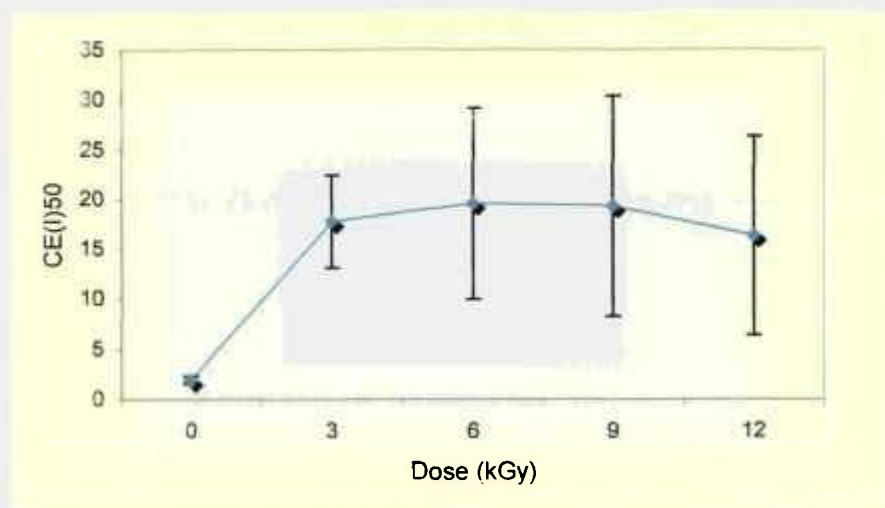
**Tabela 37.** Toxicidade aguda do DSS irradiado com 12,0kGy ao organismo *V. fischeri*.

DSS 12,0kGy			
Teste	CE(I)50%	FC	UT
1	12,05*	0,7966	8,30
2	7,43 (5,84 – 9,45)	0,8940	13,45
3	7,99 (4,127 – 15,496)	0,8520	12,50
4	28,26 (14,88 – 53,65)	0,9432	3,54
5	25,63 (15,20 – 32,45)	0,8696	3,90
<b>X ± s</b>	<b>16,27 ± 9,95</b>	-----	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 7,43 a 28,26</b>			
<b>Coefficiente de Variação: 69,1%</b>			

\* intervalo não confiável.

Para o organismo *V. fischeri*, o surfactante DSS também apresentou elevada toxicidade aguda. A CE(I)50 média obtida foi de 1,92%. Com a irradiação, a CE(I)50 foi elevada a valores entre 16,27% e 19,55%, demonstrando uma elevada redução da toxicidade aguda. Poucos trabalhos têm utilizado a bactéria *V. fischeri* para a avaliação da toxicidade aguda dos surfactantes, sendo que nenhum dado para o DSS foi encontrado, para que pudesse ser comparado com os valores obtidos neste trabalho.

A Figura 30 mostra a variação dos valores de médios de CE(I)50 e os desvios-padrão obtidos para o surfactante DSS, em função da dose de radiação, utilizando-se o organismo *V. fischeri*, em 15 minutos de exposição.



**Figura 30.** Variação da CE(I)50 para o DSS em função da dose (*V. fischeri*).

As Tabelas 38, 39, 40, 41 e 42 mostram os valores de CE(I)50 obtidos com o organismo *V. fischeri*, os fatores de correção, as suas médias, desvios-padrão, coeficientes de variação e faixas de sensibilidade obtidos para o surfactante LAS (forma ácida), não-irradiado e irradiado com as doses 3,0kGy, 6,0kGy, 9,0kGy e 12,0kGy.

**Tabela 38.** Toxicidade aguda do LAS não-irradiado ao organismo *V. fischeri*.

LAS não-irradiado			
Teste	CE(I)50%	FC	UT
1	8,85 (0,51 – 153,59)	0,8195	11,29
2	14,39 (9,32 – 22,23)	0,9790	6,95
3	15,04 (1,35 – 167,40)	0,9520	6,65
4	9,33 (3,428 – 25,40)	1,0720	10,72
5	19,84 (6,45 – 61,03)	1,0749	5,04
<b>X ± s</b>	<b>13,49 ± 4,54</b>	-----	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 8,85 a 19,84</b>			
<b>Coefficiente de Variação: 33,6%</b>			

**Tabela 39.** Toxicidade aguda do LAS irradiado com 3,0kGy ao organismo *V. fischeri*.

LAS 3.0kGy			
Teste	CE(I)50%	FC	UT
1	12,12 (8,27 – 17,76)	0,7874	8,25
2	23,80 (11,81 – 47,96)	0,8826	4,20
3	14,86 (6,22 – 35,51)	0,9140	6,73
4	20,46 (10,96 – 38,19)	1,0357	4,88
5	11,32 (3,34 – 38,43)	1,0715	8,83
<b>X ± s</b>	<b>16,51 ± 5,43</b>	-----	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 11,32 a 23,80</b>			
<b>Coefficiente de Variação: 32,9%</b>			

**Tabela 40.** Toxicidade aguda do LAS irradiado com 6,0kGy ao organismo *V. fischeri*.

LAS 6,0kGy			
Teste	CE(I)50%	FC	UT
1	23,41 (11,72 – 46,77)	0,8757	4,27
2	20,36 (3,21 – 129,02)	0,844	4,91
3	26,81 (17,29 – 41,58)	1,127	3,73
4	19,74 (9,73 – 40,04)	1,1485	5,06
5	15,42 (9,39 – 25,31)	0,9585	6,48
<b>X ± s</b>	<b>21,15 ± 4,26</b>	-----	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 15,42 a 26,81</b>			
<b>Coefficiente de Variação: 20,14%</b>			

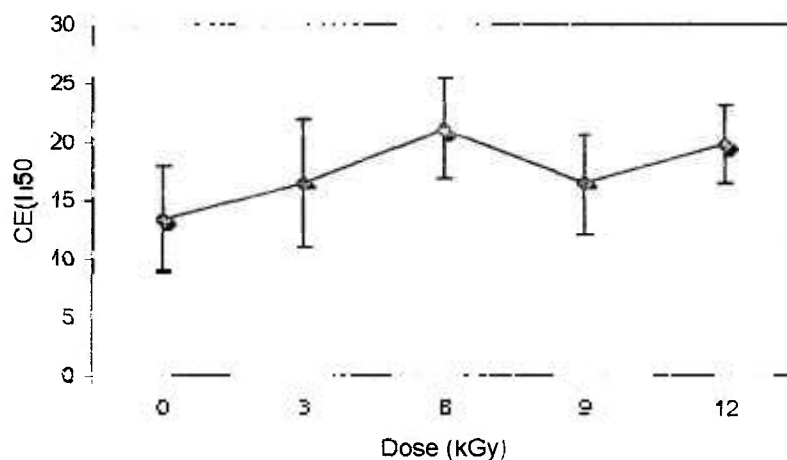
**Tabela 41.** Toxicidade aguda do LAS irradiado com 9,0kGy ao organismo *V. fischeri*.

LAS 9.0kGy			
Teste	CE(I)50%	FC	UT
1	13,03 (2,07 – 81,82)	---	7,67
2	19,67 (10,73 – 36,07)	1,0145	5,08
3	14,94 (7,43 – 30,03)	0,9950	6,69
4	22,72 (11,43 – 23,78)	1,0920	4,40
5	12,22 (7,07 – 21,14)	1,0434	8,18
<b>X ± s</b>	<b>16,52 ± 4,51</b>	-----	-----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 12,22 a 22,72</b>			
<b>Coefficiente de Variação: 27,30%</b>			

**Tabela 42.** Toxicidade aguda do LAS irradiado com 12,0kGy ao organismo *V. fischeri*.

LAS 12.0kGv			
Teste	CE(I)50%	FC	UT
1	22,45 (3,36 – 149,85)	0,9251	4,45
2	14,94 (7,43 – 30,03)	0,9950	6,69
3	22,21 (1,44 – 34,86)	0,8180	4,50
4	22,01 (4,71 – 102,97)	0,9682	4,54
5	17,72 (5,62 – 55,88)	1,0050	5,64
<b>X ± s</b>	<b>19,83 ± 3,34</b>	----	----
<b>Faixa de sensibilidade (%): 14,94 a 22,45</b>			
<b>Coefficiente de Variação: 16,8%</b>			

A Figura 31 mostra a variação dos valores médios de CE(I)50 e os desvios-padrão obtidos para o surfactante LAS (forma ácida), em função da dose de radiação, utilizando-se o organismo *V. fischeri*, em 15 minutos de exposição.

**Figura 31.** Variação da CE(I)50 para o LAS em função da dose (*V. fischeri*).

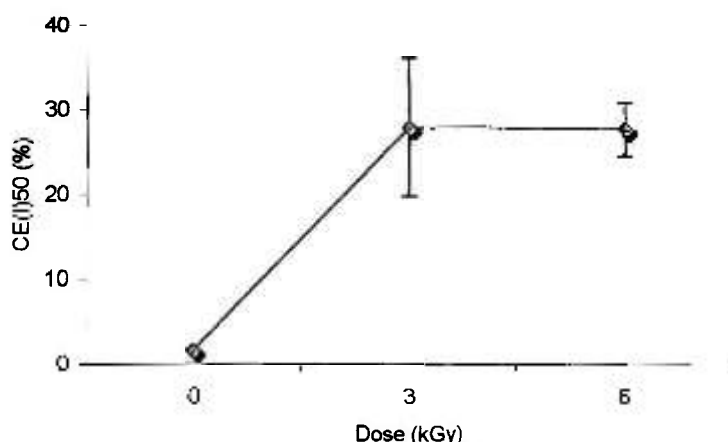
O surfactante LAS ácido apresentou toxicidade aguda à bactéria; a CE(I)50 média obtida foi de 13,49%. Com a irradiação, a CE(I)50 foi elevada a valores entre 16,51% e 21,15%, indicando a redução da toxicidade aguda.

A Tabela 43 mostra os valores de CE(I)50 obtidos com o organismo *V. fischeri*, os fatores de correção, as suas médias, desvios-padrão, coeficientes de variação e faixas de sensibilidade obtidos para o surfactante LAS (sal), não-irradiado e irradiado com as doses 3,0kGy e 6,0kGy.

**Tabela 43.** Toxicidade aguda do LAS (sal) não-irradiado e irradiado (*V. fischeri*).

LAS (forma sódica)						
Dose (kGy)	Teste 1			Teste 2		
	CE(I)50%	UT	FC	CE(I)50%	UT	FC
0	1,56 (0,72 – 3,36)	64,10	0,7944	1,664 (0,24 – 11,75)	60,10	0,8542
	<b><math>X \pm s = 1,61 \pm 0,08</math> Coeficiente de Variação: 5,0%</b>					
3,0	22,26 (13,41 – 36,95)	4,49	0,7543	33,81 (24,09 – 47,47)	2,96	0,7913
	<b><math>X \pm s = 28,04 \pm 8,17</math> Coeficiente de Variação: 29,1%</b>					
6,0	25,44 (16,29 – 39,70)	3,93	0,6965	29,95 (26,99 – 33,22)	3,34	0,8442
	<b><math>X \pm s = 27,70 \pm 3,19</math> Coeficiente de Variação: 11,5%</b>					

A Figura 32 apresenta a variação dos valores de CE(I)50 obtidos para o surfactante LAS (sal), utilizando-se o organismo *V. fischeri*, em 15 minutos de exposição.

**Figura 32.** Variação da CE(I)50 para o LAS (sal) em função da dose (*V. fischeri*).

Para o LAS em sua forma sódica, as duas doses de radiação utilizadas foram eficientes na redução da toxicidade.

As CE(I)50 obtidas para as duas formas de LAS não-irradiados foram bastante diferentes. A bactéria foi mais sensível ao LAS sódico não-irradiado (1,61% ou 1,61mg/L) em relação a sua forma ácida (13,49% ou 13,49mg/L). Kaiser & Palabrica obtiveram uma CE(I)50 para o LAS C<sub>12</sub> igual a 1,51mg/L, que é um valor bastante próximo ao encontrado neste trabalho para o LAS sódico. Para o LAS sódico irradiado com 3,0kGy e 6,0kGy a sensibilidade de *V. fischeri* foi bastante semelhante.

### 5.8.1 Ensaio de Toxicidade Aguda com a Substância de Referência

Os ensaios de toxicidade aguda com o organismo *Vibrio fischeri* também foram acompanhados por ensaios com substância de referência, utilizando-se o fenol ( $C_6H_6O$ ), em 15 minutos de exposição. A Tabela 44 apresenta os resultados dos ensaios de toxicidade aguda realizados com o fenol.

**Tabela 44.** Toxicidade aguda do fenol ao organismo *V. fischeri*.

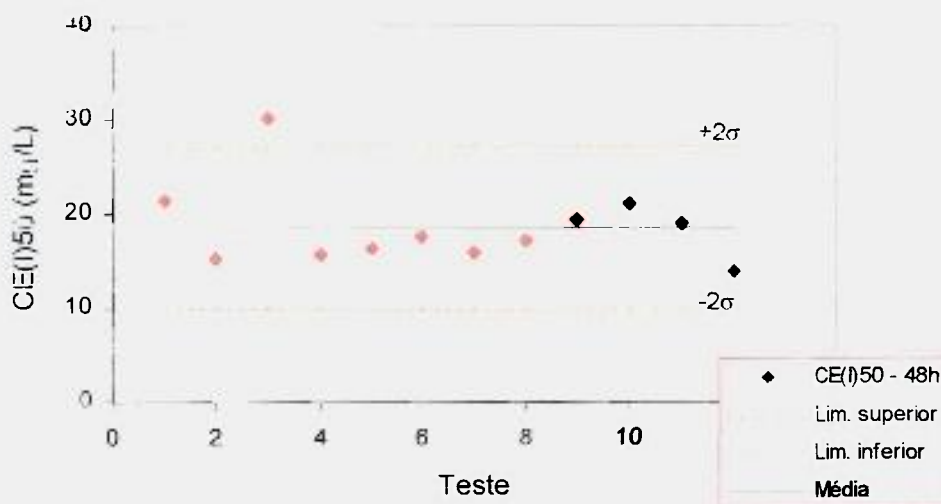
$C_6H_6O$			
Teste	CE(I)50mg/L	Intervalo	FC
1	21,39	15,06 – 30,38	0,8624
2	15,35	12,98 – 18,16	0,8880
3	30,14	24,23 – 37,48	0,8202
4	15,67	12,58 – 19,52	0,9121
5	16,47	9,77 – 27,78	0,8295
6	17,72	15,6 – 20,14	0,8568
7	15,88	11,35 – 22,21	0,7674
8	17,34	12,34 – 24,96	0,9786
9	19,33	17,68 – 21,13	0,8662
10	21,13	19,85 – 22,49	1,0148
11	18,83	10,64 – 33,32	0,7117
12	13,83	9,01 – 21,23	0,9395
<b><math>X \pm s = 18,59\text{mg/L} \pm 4,31</math></b>			
<b>Faixa de sensibilidade (mg/L): 13,83 a 30,14</b>			
<b>Coefficiente de Variação: 23,2%</b>			

A partir dos resultados dos ensaios de toxicidade aguda com *V. fischeri*, utilizando-se o fenol como substância de referência foi elaborada a carta-controle (Figura 33), que mostra a sensibilidade do organismo.

O resultado do ensaio 3 apresentou CE(I)50 acima do limite superior, o que significa que a sensibilidade da bactéria esteve menor em relação aos demais ensaios. Os experimentos realizados com os surfactantes no período em que o teste 3 com o fenol foi realizado não foram considerados neste trabalho.

Segundo Borrelly et al. (2002), a toxicidade aguda do fenol para *V. fischeri* encontra-se na faixa de 19,75mg/L e 26,22mg/L. Em outro trabalho realizado por Borrelly (2001), a CE(I)50 obtida para o fenol foi igual a  $20,54 \pm 2,23$ . O valor de CE(I)50 médio encontrado neste trabalho, 18,59mg/L, esteve próximo dos valores encontrados pelos

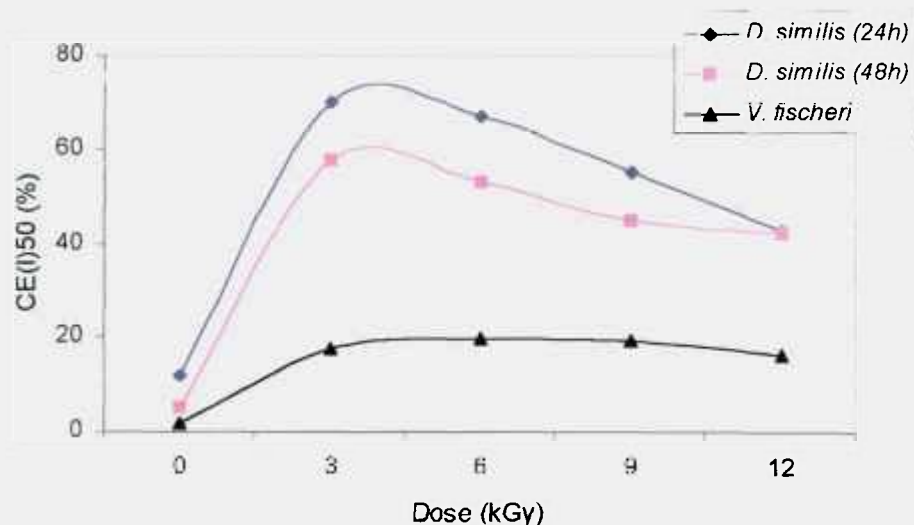
outros autores, sendo essas informações muito importantes para a validação dos ensaios realizados com a bactéria *V. fischeri*.



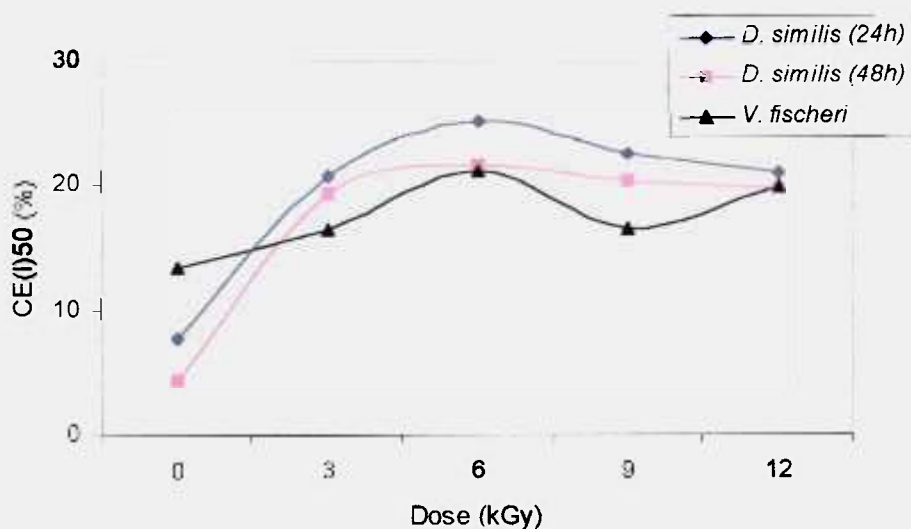
**Figura 33.** Sensibilidade do organismo *V. fischeri* ao fenol.

### 5.9 Correlação entre os Ensaios de Toxicidade Aguda

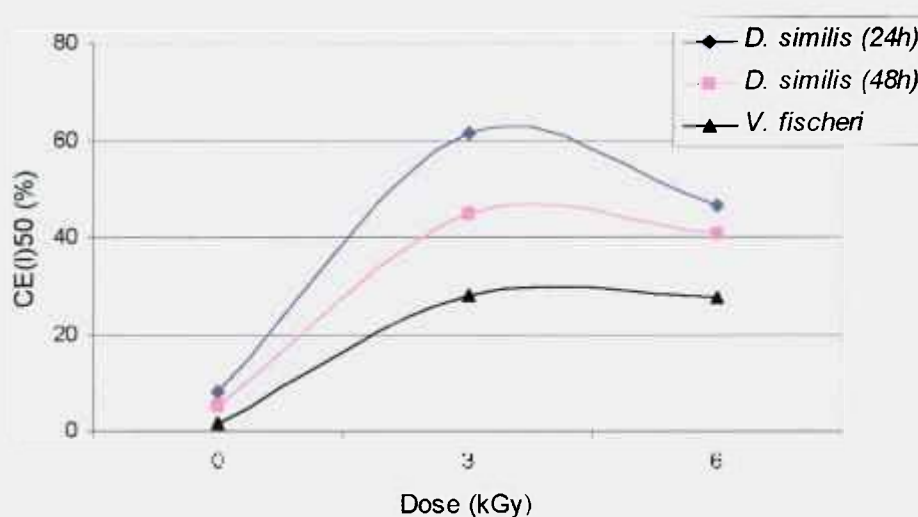
Os surfactantes DSS e LAS (ácido e sal) apresentaram elevada toxicidade aguda aos organismos *D. similis* e *V. fischeri*. As Figuras 34, 35 e 36 mostram a correlação entre os dados obtidos para os dois ensaios de toxicidade aguda utilizados.



**Figura 34.** Toxicidade aguda (CE(I)50) do DSS à *D. similis* e ao *V. fischeri*.



**Figura 35.** Toxicidade aguda (CE(I)50) do LAS ácido à *D. similis* e ao *V. fischeri*.



**Figura 36.** Toxicidade aguda (CE(I)50) do LAS sódico à *D. similis* e ao *V. fischeri*.

Os resultados obtidos para os dois organismos apresentaram uma boa correlação em relação à toxicidade dos surfactantes, que apresentou a mesma tendência, antes e após o tratamento com a radiação ionizante. A correlação entre resultados ecotoxicológicos já havia sido destacada anteriormente em outros trabalhos, como o realizado por Torres et al. (1997). O autor utilizou *D. similis* e *V. fischeri* para a avaliação da toxicidade de efluentes industriais e observou uma boa correlação entre os

resultados obtidos para as duas espécies. Segundo Kaiser & Palabrica (1991), boa correlação tem sido encontrada entre os resultados dos ensaios de toxicidade com outras espécies aquáticas, como *Scenedesmus quadricauda* e *Daphnia magna*, e os resultados obtidos para *V. fischeri*.

Segundo Cserhát et al. (2000) e Lewis & Suprenant (1983) os crustáceos do gênero *Daphnia* estão entre as espécies mais sensíveis aos surfactantes. Entretanto, de uma forma geral a bactéria *V. fischeri* mostrou-se mais sensível aos surfactantes quando comparada com *Daphnia similis*, o que pode ser observado pelos valores mais baixos de CE(l)50. Li & Schröder (2000) utilizaram os organismos *Daphnia magna* e *Vibrio fischeri* para a avaliação da toxicidade aguda de dois surfactantes aniônicos e também observaram que a bactéria foi mais sensível aos surfactantes testados em relação ao microcrustáceo.

De acordo com Braga (2002) os surfactantes atuam efetivamente na destruição dos sistemas de membranas, causando enfraquecimento das estruturas de proteção dos organismos. Para o organismo *V. fischeri*, por ser unicelular, este efeito torna-se ainda mais importante. Por serem capazes de interagir com os principais constituintes das membranas bacterianas, os surfactantes podem apresentar ações bactericida e bacteriostática (Gloxhuber, 1980). Assim, as bactérias luminescentes são organismos mais simples e mais vulneráveis às ações dos surfactantes em relação à *D. similis*, mais complexos e providos por uma carapaça quitinosa, o que pode justificar a maior sensibilidade de *V. fischeri* aos surfactantes, encontrada neste trabalho. Ainda, o efeito tóxico observado em *V. fischeri* é a inibição do sistema enzimático responsável pela produção de bioluminescência, enquanto que o efeito observado em *D. similis*, neste trabalho, foi a imobilidade do organismo. Esta diferença entre os efeitos utilizados para a avaliação da toxicidade também pode ter contribuído para a sensibilidade maior da bactéria luminescente aos surfactantes e também a seus subprodutos de degradação.

Esses resultados são muito importantes do ponto de vista de saneamento, considerando-se a representatividade bacteriana no sistema biológico de tratamento, isto é, a elevada carga tóxica para bactérias, justificando a necessidade do tratamento preliminar de efluentes.

Para todos os surfactantes estudados, a radiação ionizante foi capaz de diminuir a toxicidade aguda encontrada inicialmente. A redução dos valores de CE(l)50 não foi

proporcional ao aumento da dose de radiação utilizada. Pode se observar que para as doses acima de 6,0kGy há uma tendência de diminuição dos valores de CE(I)50. Assim, as doses de 3,0 e 6,0kGy foram as mais eficientes na redução da toxicidade, avaliada pelos dois organismos utilizados, tanto para o DSS como para o LAS. Nas doses de 9,0 e 12,0kGy há uma tendência de diminuição da eficiência da irradiação em reduzir a toxicidade dos surfactantes. Provavelmente, com a aplicação das doses mais elevadas ocorra a formação de subprodutos de degradação dos surfactantes que são mais tóxicos em relação aos subprodutos formados nas doses mais baixas. As doses mais altas utilizadas, apesar de também demonstrarem elevada eficiência na redução da CE(I)50, começam a induzir a toxicidade nas soluções, indicando eficiência negativa.

#### **5.10 Ensaio de Toxicidade Crônica com *Ceriodaphnia dubia***

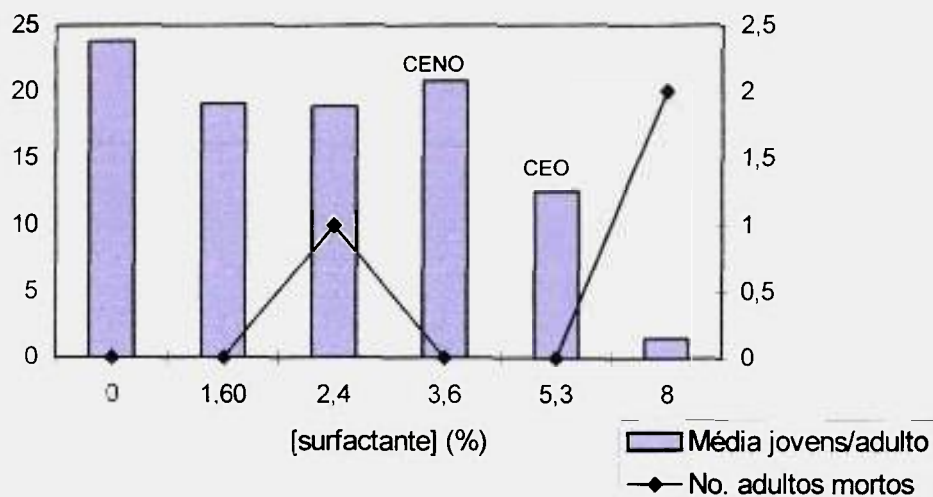
Os ensaios de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia*, 7 dias de exposição, foram realizados para os surfactantes DSS e LAS (forma ácida), não-irradiados e irradiados. Apenas as doses de 3,0kGy e 6,0kGy foram utilizadas, já que foram as doses mais eficientes na redução da toxicidade aguda do DSS e do LAS. Assim, os ensaios de toxicidade crônica foram realizados com o objetivo de confirmar o efeito benéfico da radiação ionizante também no nível crônico de toxicidade.

Nas Tabelas 45, 46 e 47 são apresentados os resultados dos ensaios de toxicidade crônica obtidos para o surfactante DSS e nas Tabelas 48, 49 e 50 para o surfactante LAS. Os resultados das Tabelas mostram o número médio de organismos jovens produzidos por fêmea com o respectivo desvio-padrão, os números mínimo e máximo de organismos jovens produzidos, se houve efeito (♦) da concentração utilizada na reprodução dos organismos e ainda o número total de adultos mortos ao final da exposição. O símbolo • indica as concentrações onde o número total de adultos mortos foi estatisticamente diferente do número total de adultos que morreram no grupo controle (Prova Exata de Fischer), sendo que os dados obtidos para estas concentrações não foram considerados no cálculo da Concentração de Efeito não Observado (CENO) e da Concentração de Efeito Observado (CEO).

**Tabela 45.** Toxicidade crônica do DSS não-irradiado ao organismo *C. dubia*.

DSS não-irradiado						
Concentração (%)	Média de nascimentos/adulto	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Efeito (♦)	Nº. adultos mortos
0	23,8	4,2	18	28		0
1,6	19,1	5,2	5	23		0
2,4	18,9	6,2	2	24		1
3,6	20,8	4,7	11	26		0
5,3	12,5	4,3	6	19	♦	0
8,0	1,5	2,3	0	7	♦	2

Para o surfactante DSS não-irradiado, a CENO e a CEO obtidas foram 3,6% e 5,3%, respectivamente. O valor crônico calculado foi igual a 4,4% e a  $UT_c$  igual a 27,8. A Figura 37 mostra o efeito das diferentes concentrações de DSS não-irradiado na reprodução e na sobrevivência do organismo *C. dubia*.

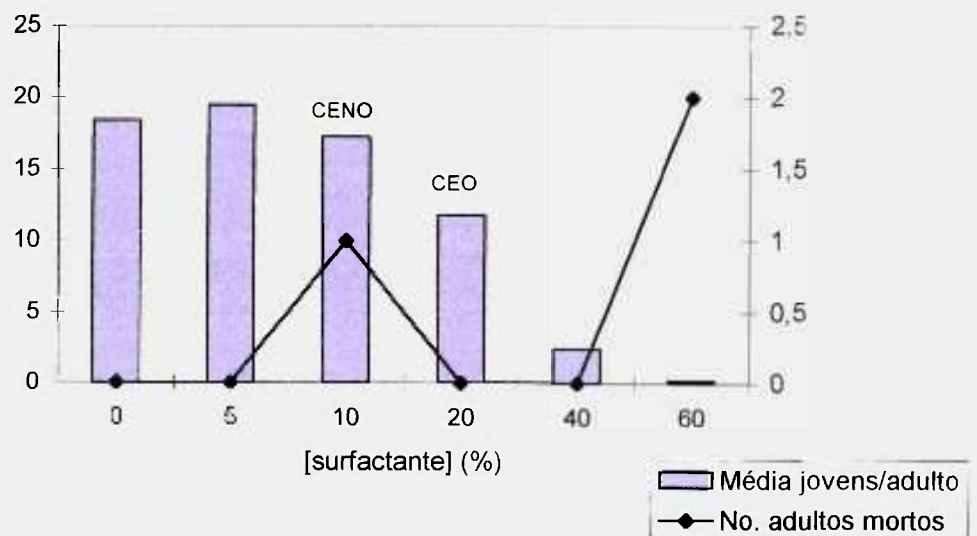
**Figura 37.** Reprodução e sobrevivência de *C. dubia*, exposta ao DSS não-irradiado.

Com o aumento das concentrações do DSS não-irradiado há uma diminuição do número médio de jovens produzidos por fêmea adulta.

**Tabela 46.** Toxicidade crônica do DSS irradiado com 3,0kGy, ao organismo *C. dubia*.

DSS 3,0kGy						
Concentração (%)	Média de nascimentos/adulto	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Efeito (♦)	Nº. adultos mortos
0	18,4	6,1	8	28		0
5,0	19,5	4,6	12	26		0
10,0	17,2	6,2	1	23		1
20,0	11,8	4,2	6	18	♦	1
40,0	2,4	2,9	0	7	♦	0
60,0	0,2	0,6	0	2	♦	1

O DSS irradiado com 3,0kGy apresentou uma CENO igual a 10,0% e uma CEO igual a 20,0%. O valor crônico calculado foi igual a 14,1% e a  $UT_c$  igual a 10,0. A Figura 38 mostra o efeito das diferentes concentrações de DSS irradiado com 3,0kGy na reprodução e na sobrevivência do organismo *C. dubia*.

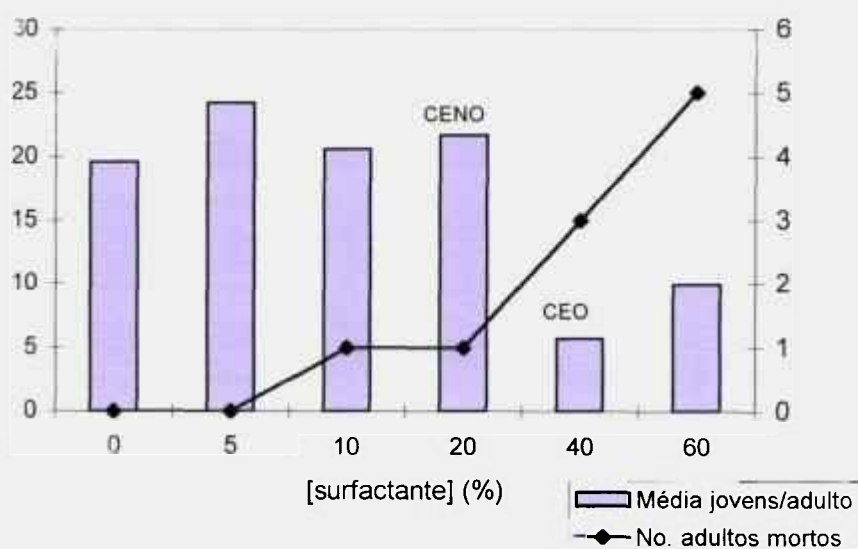
**Figura 38.** Reprodução e sobrevivência de *C. dubia*, exposta ao DSS irradiado com 3,0kGy.

Para o DSS irradiado com 3,0kGy também se pode observar uma diminuição do número de jovens produzidos por fêmea, demonstrando o efeito desta substância na reprodução de *C. dubia*.

**Tabela 47.** Toxicidade crônica do DSS irradiado com 6,0kGy, ao organismo *C. dubia*.

DSS 6,0kGy						
Concentração (%)	Média de nascimentos/adulto	Desvio	Mínimo	Máximo	Efeito (♦)	Nº. adultos mortos
0	19,6	3,1	15	26		0
5,0	24,2	6,6	15	33		0
10,0	20,6	9,4	10	37		1
20,0	21,7	6,3	13	36		1
40,0	5,7	5,2	1	18	♦	3
60,0 •	9,9	9,9	0	25	♦	5

Com a aplicação da dose de 6,0kGy, os valores de CENO e CEO obtidos foram 20,0% e 40,0%, respectivamente. O valor crônico calculado foi igual a 28,28% e a  $UT_c$  igual a 5,0. A Figura 39 mostra o efeito das diferentes concentrações de DSS irradiado com 6,0kGy na reprodução e na sobrevivência do organismo *C. dubia*.



**Figura 39.** Reprodução e sobrevivência de *C. dubia*, exposta ao DSS irradiado com 6,0kGy.

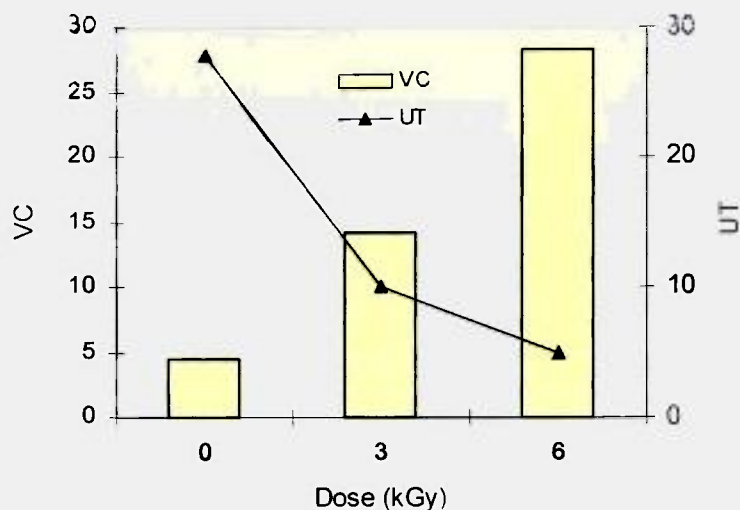
O DSS irradiado com 6,0kGy influenciou na reprodução e na sobrevivência de *C. dubia*, especialmente nas concentrações mais altas utilizadas no ensaio.

A partir dos resultados obtidos pode-se observar que o DSS apresentou elevada toxicidade crônica ao organismo utilizado, sendo a CENO igual a 3,6% e a CEO igual a 5,3%. As doses utilizadas, 3,0kGy e 6,0kGy foram bastante efetivas na redução da toxicidade crônica, evidenciada pelos valores mais elevados de CENO (entre 10% e 20%) e CEO (entre 20% e 40%).

Pode-se observar que, tanto para o DSS irradiado com 3,0kGy como para o DSS irradiado com 6,0kGy, os valores médios de jovens que nasceram por fêmea nas concentrações mais baixas utilizadas foram maiores em relação aos encontrados nos grupos de controle, onde os organismos eram expostos somente à água de cultivo. Esta resposta mais elevada dos grupos expostos pode estar relacionada com a utilização dos compostos orgânicos das soluções como nutriente, como já descrito por Nipper (2000) ou ainda com o estresse sofrido pelos organismos, causado pela presença dos surfactantes em baixas concentrações. Os organismos podem ter reagido ao estresse de forma a aumentar o número da sua prole. Em concentrações mais altas o efeito tóxico é maior, impedindo este tipo de comportamento.

A toxicidade crônica do DSS já foi estudada por Guilhermino et al. (2000). Os autores avaliaram o efeito do DSS na atividade enzimática da acetilcolinesterase de *D. magna*, em 48 horas de exposição e a CENO e a CEO obtidas foram, respectivamente, 25mg/L e 50mg/L. Estes valores estão bem acima dos valores encontrados neste trabalho e, apesar de terem sido utilizados organismos diferentes, tempos de exposição diferentes e parâmetros de avaliação do efeito tóxico diferentes, *C. dubia* mostrou-se mais sensível ao DSS, que influenciou fortemente a reprodução dos organismos, em concentrações superiores a 5,3mg/L (5,3%). É importante ressaltar que a toxicidade crônica pode variar em função da resposta do organismo que é observada em um ensaio de toxicidade crônica, isto é, em função do efeito subletal que foi utilizado como parâmetro.

A Figura 40 apresenta os dados de valor crônico e unidades tóxicas obtidos em função da variação da dose de radiação utilizada.



**Figura 40.** Valor crônico e Unidades Tóxicas obtidos para o DSS, nas diferentes doses.

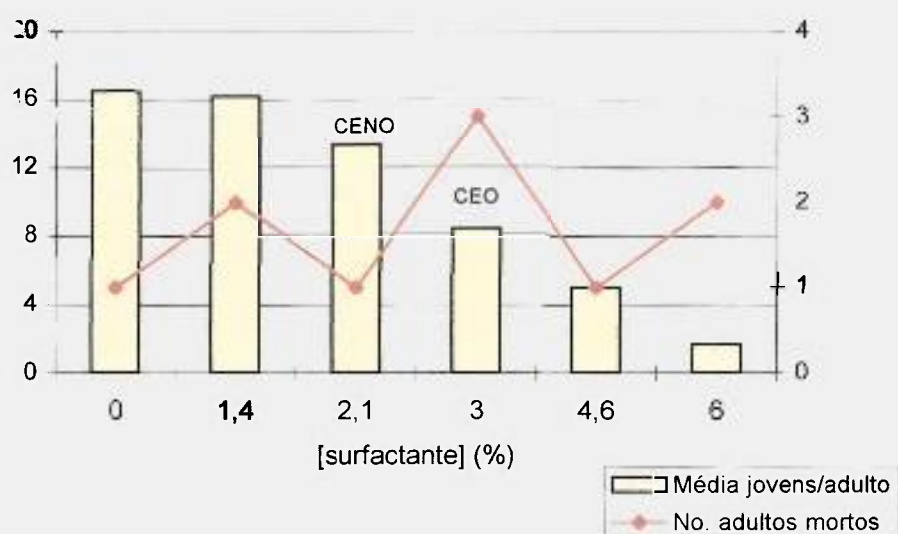
O gráfico acima mostra a elevada redução das unidades tóxicas em função da dose de radiação aplicada. A UT obtida para o DSS não-irradiado foi de 27,8 e com o incremento das doses de radiação, as UTs atingiram valores de 10,0 e 5,0, demonstrando que houve redução da toxicidade crônica.

Os resultados encontrados para o LAS são apresentados a seguir.

**Tabela 48.** Toxicidade crônica do LAS não-irradiado ao organismo *C. dubia*.

LAS não-irradiado						
Concentração (%)	Média de nascimentos/adulto	Mínimo	Máximo	Desvio	Efeito (♦)	Nº. adultos mortos
0	16,5	1	26	6,9		1
1,4	16,2	9	21	4,1		2
2,1	13,3	4	17	4,3		1
3,0	8,3	0	14	5,8	♦	3
4,6	5,0	0	9	3,6	♦	1
6,0	1,6	0	3	1,3	♦	2

Para o surfactante LAS (ácido) não-irradiado, a CENO e a CEO obtidas foram 2,1% e 3,0%, respectivamente. O valor crônico calculado foi igual a 2,51% e a  $UT_c$  igual a 47,6. A Figura 41 mostra o efeito das diferentes concentrações de LAS não-irradiado na reprodução e na sobrevivência do organismo *C. dubia*.



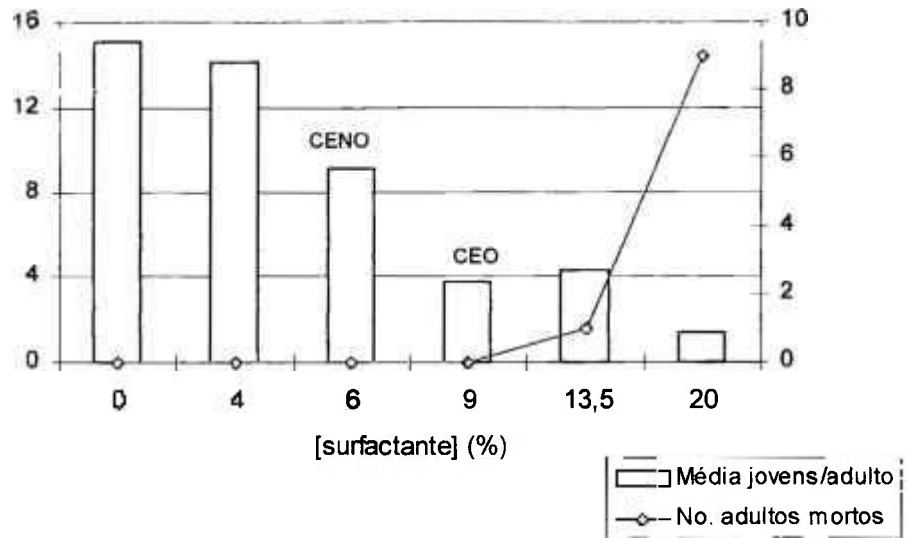
**Figura 41.** Reprodução e sobrevivência de *C. dubia*, exposta ao LAS não-irradiado.

A reprodução de *C. dubia* foi fortemente afetada pelo aumento das concentrações de LAS não-irradiado e o número de adultos que morreram não foi estatisticamente diferente do grupo controle.

**Tabela 49.** Toxicidade crônica do LAS irradiado com 3,0kGy, ao organismo *C. dubia*.

LAS 3,0kGy						
Concentração (%)	Média de nascimentos/adulto	Mínimo	Máximo	Desvio	Efeito (♦)	Nº. adultos mortos
0	15,1	2	26	9,07		0
4,0	14,1	2	20	5,07		0
6,0	9,1	0	22	7,14		0
9,0	3,7	1	13	4,11	♦	0
13,5	4,3	0	8	2,79	♦	1
20,0 •	1,4	0	4	1,43	♦	9

A CENO obtida para o LAS irradiado com 3,0kGy foi igual a 6,0%, enquanto que a CEO foi igual a 9,0%. O valor crônico calculado foi igual a 7,35% e a  $UT_c$  igual a 16,7. A Figura 42 mostra o efeito das diferentes concentrações de LAS irradiado com 3,0kGy na reprodução e na sobrevivência do organismo *C. dubia*.



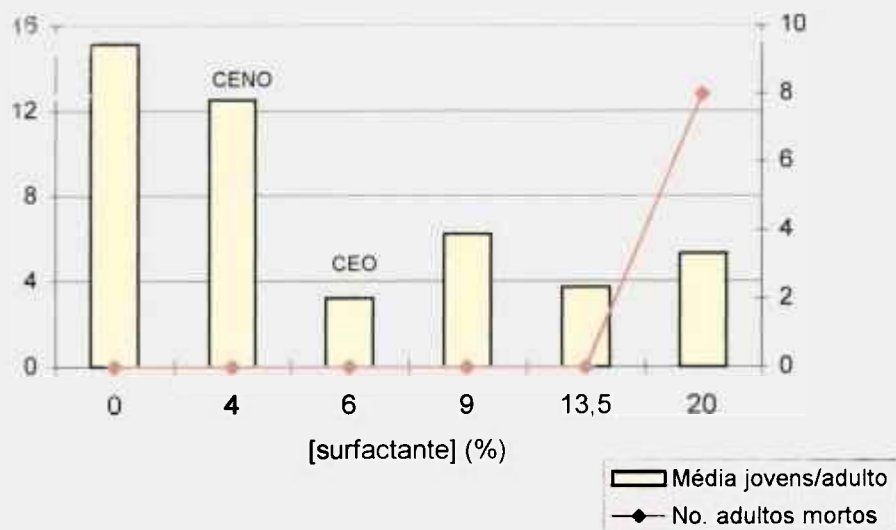
**Figura 42.** Reprodução e sobrevivência de *C. dubia*, exposta ao LAS irradiado com 3,0kGy.

O surfactante LAS irradiado com 3,0kGy influenciou na reprodução e na sobrevivência de *C. dubia*, principalmente nas concentrações mais altas utilizadas.

**Tabela 50.** Toxicidade crônica do LAS irradiado com 6,0kGy, ao organismo *C. dubia*.

LAS 6,0kGy						
Concentração (%)	Média de nascimentos/adulto	Mínimo	Máximo	Desvio	Efeito (♦)	Nº. adultos mortos
0	15,1	2	26	9,07		0
4,0	12,5	9	26	5,64		0
6,0	3,2	0	6	2,66	♦	0
9,0	6,2	0	13	3,22	♦	0
13,5	3,7	0	7	2,45	♦	0
20,0 •	5,3	0	12	3,27	♦	8

O LAS irradiado com 6,0kGy resultou em uma CENO e uma CEO de 4,0% e 6,0%, respectivamente. O valor crônico calculado foi igual a 4,9% e a  $UT_c$  igual a 25,0. A Figura 43 mostra o efeito das diferentes concentrações de LAS irradiado com 6,0kGy na reprodução e na sobrevivência do organismo *C. dubia*.



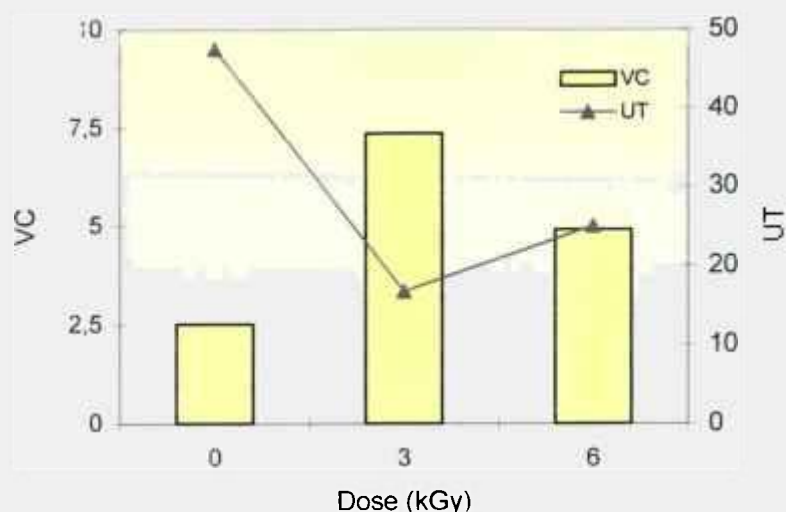
**Figura 43.** Reprodução e sobrevivência de *C. dubia*, exposta ao LAS com 6,0kGy.

O LAS irradiado com 6,0kGy também influenciou na reprodução e na sobrevivência de *C. dubia*.

O LAS apresentou elevada toxicidade crônica ao organismo utilizado, sendo a CENO igual a 2,1% e a CEO igual a 3,0%. As doses utilizadas, 3,0kGy e 6,0kGy foram eficientes na remoção da toxicidade crônica, evidenciada pelo aumento dos valores de CENO (entre 6,0% e 9,0%) e CEO (entre 4,0% e 6,0%) obtidos.

Aidar et al. (1995) estudaram a toxicidade crônica do LAS C<sub>12</sub> para a alga *Phaeodactylum tricornutum* e observaram que os valores de CENO (48 e 96h) estiveram sempre acima de 0,5mg/L. Apesar de serem organismos diferentes, a CENO obtida neste trabalho também foi maior que 0,5mg/L de LAS não-irradiado. Segundo Lewis (1991) a toxicidade crônica de surfactantes aniônicos ocorre em concentrações maiores que 0,1mg/L, o que pôde ser observado neste trabalho tanto para o LAS como para o DSS.

A Figura 44 apresenta os dados de valor crônico e unidades tóxicas obtidos em função da variação da dose de radiação utilizada.



**Figura 44.** Valor crônico e Unidades Tóxicas obtidos para o LAS, nas diferentes doses.

Os valores de UT obtidos inicialmente para o LAS não-irradiado (47,6) apresentaram uma tendência a diminuir com a dose de 3,0kGy (16,7) e, posteriormente, com a dose de 6,0kGy, uma tendência a aumentar (25,0), indicando menor eficiência de redução da toxicidade crônica do LAS para esta dose.

### 5.11 Ensaio de Toxicidade Crônica com a Substância de Referência

Os ensaio de toxicidade crônica com a substância de referência foi realizado com o cloreto de potássio (KCl), em um período de exposição de 7 dias. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 51.

**Tabela 51.** Resultados obtidos no ensaio com a substância de referência KCl.

Concentração (mg/L)	Média de nascimentos/adulto	Mínimo	Máximo	Nº. adultos mortos
0	15.4	11	23	0
50	15.6	7	20	0
150	15.4	12	18	0
200	9.5	0	15	0
300	0.8	0	4	9
500	0	0	0	10

A CI50 obtida foi igual a 202,41mg/L, com um intervalo de confiança entre 182,00mg/L e 237,96mg/L. Aragão (2004) obteve uma CI50 para o KCl igual a 300mg/L (dados não publicados), sendo que a água de diluição utilizada apresentava dureza entre 40 e 48mg/L de CaCO<sub>3</sub>. Assim, a *Ceriodaphnia dubia* esteve mais sensível à substância de referência neste trabalho em comparação com o resultado obtido anteriormente.

### 5.12 Correlação de toxicidade entre os surfactantes

Para a correlação dos dados de toxicidade aguda e crônica entre os surfactantes DSS e LAS foram elaboradas as Tabelas 52 e 53, que contêm os valores de CE(I)50, CENO e CEO, já apresentados anteriormente, obtidos para os surfactantes DSS e LAS nas formas ácida e sódica.

A Tabela 52 apresenta os valores médios de CE(I)50 (%) obtidos nos ensaios de toxicidade aguda e a Tabela 53 apresenta os valores de CENO(%) e CEO(%), obtidos nos ensaios de toxicidade crônica. Para fins de comparação, apenas os dados obtidos para *D. similis* em 24 horas de exposição foram utilizados, já que estão bem correlacionados com os resultados obtidos para as exposições de 48 horas.

**Tabela 52.** Comparação entre os valores de CE(I)50 (%) obtidos para os surfactantes.

Dose (kGy)	CE(I)50 (%)					
	DSS		LAS ácido		LAS sal	
	<i>D. similis</i>	<i>V. fischeri</i>	<i>D. similis</i>	<i>V. fischeri</i>	<i>D. similis</i>	<i>V. fischeri</i>
0	11,81	1,92	7,84	13,49	8,06	1,61
3,0	70,16	17,73	20,89	16,51	61,24	28,04
6,0	67,12	19,55	25,26	21,15	46,53	27,70
9,0	55,06	19,29	22,68	16,52	—	—
12,0	42,99	16,27	21,09	19,83	—	—

Os surfactantes DSS e LAS, tanto na forma ácida como na forma de sal, apresentaram-se na mesma faixa de toxicidade aguda antes do tratamento por irradiação. De acordo com Sirisattha et al. (2004), com base na similaridade das estruturas químicas entre os surfactantes DSS e LAS, acredita-se que o mecanismo de toxicidade dos dois surfactantes seja semelhante. Apenas o valor de CE(I)50 para o LAS ácido, obtido com o organismo *V. fischeri*, apresentou-se menos tóxico (13,49%) em relação aos demais surfactantes testados com a bactéria. Este resultado não era

esperado, uma vez que o pH das soluções preparadas com o LAS ácido e utilizadas nos ensaios de toxicidade esteve próximo dos valores de pH para o DSS e LAS sódico. Além disso, o fato do DSS e do LAS sódico serem sais poderia ter contribuído para o estímulo da produção da luminescência da bactéria, uma vez que se trata de um organismo marinho, o contrário do que foi observado. Entretanto, a salinidade atribuída aos surfactantes, por estarem em baixas concentrações nas soluções, também é muito baixa e não justificaria qualquer diferença entre as formas de sais e a forma ácida.

Após a irradiação das soluções de DSS e LAS, os valores médios de CE(I)50 variaram de acordo com o surfactante estudado. Para o DSS, as CE(I)50 obtidas foram as que mais aumentaram em relação à CE(I)50 obtida antes da irradiação, seguido pelo LAS sódico. Para o LAS ácido, os valores de CE(I)50 foram os que menos aumentaram em função da dose de radiação aplicada, o que indica que a radiação ionizante não apresentou a mesma eficiência de redução da toxicidade aguda para todos os surfactantes estudados. O mesmo pode ser observado com relação à toxicidade crônica (Tabela 53).

**Tabela 53.** Comparação entre os valores de CENO e CEO obtidos para os surfactantes.

Dose (kGy)	CENO/CEO (%)			
	DSS		LAS ácido	
	CENO	CEO	CENO	CEO
0	3,6	5,6	2,1	3,0
3,0	10,0	20,0	6,0	9,0
6,0	20,0	40,0	4,0	6,0

Apesar dos surfactantes também terem apresentado, antes da irradiação, toxicidades crônicas com valores próximos, após a irradiação das soluções pode-se observar que os valores de CENO e CEO para o DSS estiveram mais altos em relação à CENO e à CEO obtidas para o LAS, demonstrando que a eficiência de redução da toxicidade crônica também foi diferente entre o DSS e o LAS.

### 5.13 Eficiência do Processo de Irradiação

A eficiência do processo de irradiação por feixe de elétrons foi avaliada com todos os surfactantes estudados, sob um ponto de vista ecotoxicológico, utilizando-se os ensaios de toxicidade aguda e crônica.

Para a avaliação da eficiência da irradiação na redução da toxicidade do DSS e do LAS, foram calculados os percentuais de redução da toxicidade aguda e crônica entre as soluções brutas e irradiadas, para cada dose aplicada, a partir dos valores das Unidades Tóxicas Agudas e Crônicas ( $UT_a$  e  $UT_c$ ). Os dados de redução de toxicidade foram obtidos a partir de uma concentração inicial de 100mg/L de surfactante; concentrações diferentes podem alterar a eficiência do processo.

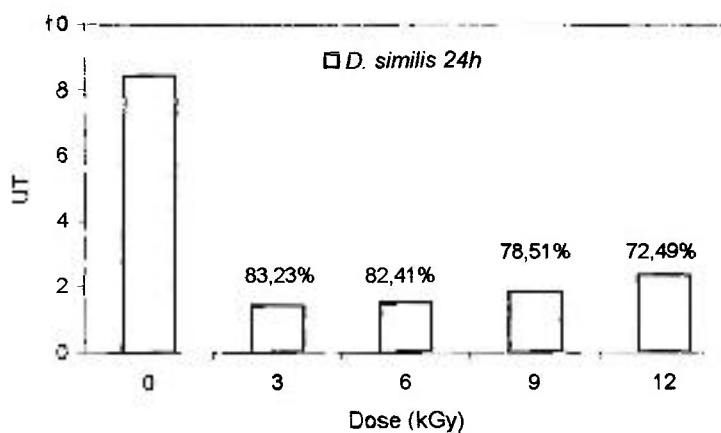
A Tabela 54 apresenta os valores de  $UT_a$ , calculados a partir dos valores médios de  $CE(I)50$ , e os percentuais de redução da toxicidade aguda do surfactante DSS, obtidos com os organismos *D. similis* e *V. fischeri*.

**Tabela 54.** Porcentagem de Redução da Toxicidade Aguda do DSS em função da dose.

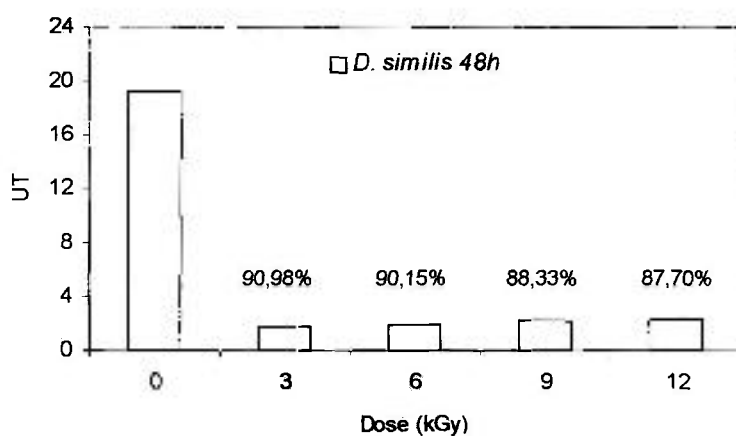
Dose (kGy)	Porcentagem de Redução da Toxicidade (%) - DSS					
	<i>D. similis</i>				<i>V. fischeri</i>	
	24h		48h		(15min)	
	UT	% Redução	UT	% Redução	UT	% Redução
0	8,47	-----	19,19	-----	52,08	-----
3,0	1,42	83,23	1,73	90,98	5,64	89,17
6,0	1,49	82,41	1,89	90,15	5,12	90,17
9,0	1,82	78,51	2,24	88,33	5,18	90,05
12,0	2,33	72,49	2,36	87,70	6,15	88,19

Os dados da Tabela 55 mostram que a radiação ionizante foi muito eficiente na redução da toxicidade aguda do DSS, obtida para os dois organismos utilizados. A redução da toxicidade aguda do DSS esteve entre 72,49% e 90,98%. As doses mais eficientes na redução da toxicidade aguda do DSS foram 3,0kGy e 6,0kGy, embora as doses de 9,0 e 12,0kGy também tenham apresentado eficiência elevada.

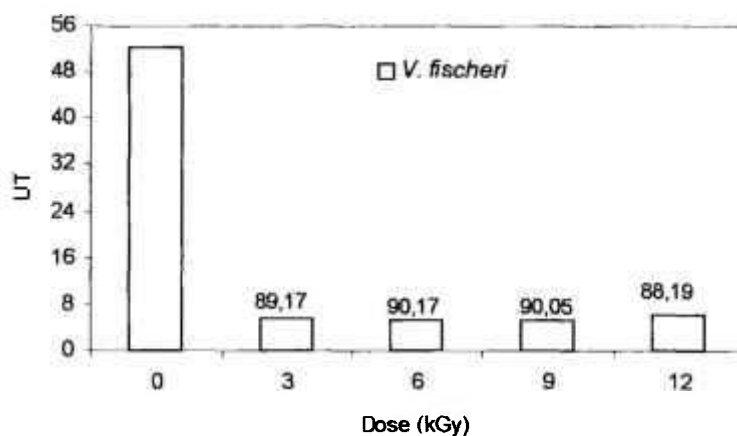
As Figuras 45, 46 e 47 mostram a redução das  $UT_a$  e os percentuais de redução de toxicidade obtidos para o DSS, com *D. similis* (24 e 48 horas de exposição) e com *V. fischeri*.



**Figura 45.** Redução da Toxicidade Aguda do DSS obtida para *D. similis* (24h).



**Figura 46.** Redução da Toxicidade Aguda do DSS obtida para *D. similis* (48h).



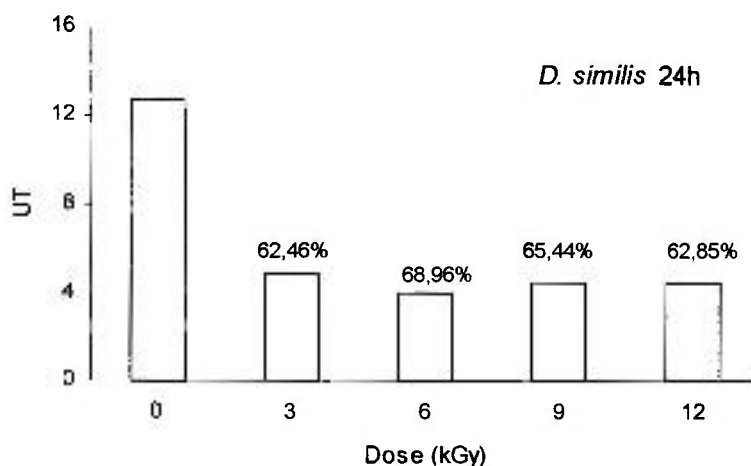
**Figura 47.** Redução da Toxicidade Aguda do DSS obtida para *V. fischeri*.

A Tabela 55 apresenta os valores de  $UT_a$ , calculados a partir dos valores médios de  $CE(I)50$  e os percentuais de redução da toxicidade aguda do surfactante LAS ácido, obtidos com os organismos *D. similis* e *V. fischeri*.

**Tabela 55.** Porcentagem de Redução da Toxicidade Aguda do LAS, em relação à dose de radiação.

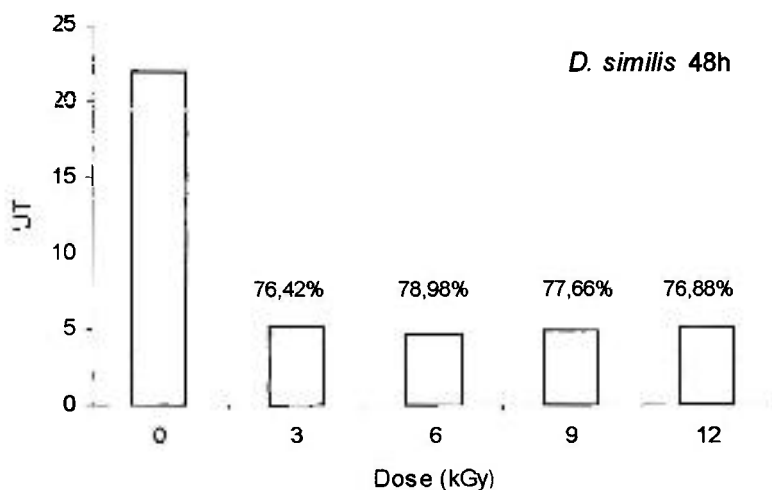
Porcentagem de Redução da Toxicidade (%) – LAS ácido						
Dose (kGy)	<i>D. similis</i>				<i>V. fischeri</i>	
	24h		48h		(15min)	
	UT	% Redução	UT	% Redução	UT	% Redução
0	12,76	-----	21,93	-----	7,41	-----
3,0	4,79	62,46	5,17	76,42	6,06	18,22
6,0	3,96	68,96	4,61	78,98	4,73	36,17
9,0	4,41	65,44	4,90	77,66	6,05	18,35
12,0	4,47	62,85	5,07	76,88	5,04	31,98

A irradiação também foi eficiente na redução da toxicidade aguda do LAS ácido. A faixa de redução obtida foi de 18,22 a 78,98%. A dose mais eficiente na redução da toxicidade aguda do LAS ácido foi, de uma forma geral, a de 6,0kGy, embora as eficiências obtidas em todas as doses aplicadas tenham se apresentado muito próximas. A Figura 48 apresenta a redução da toxicidade aguda do LAS, avaliada por *D. similis* (24 horas).

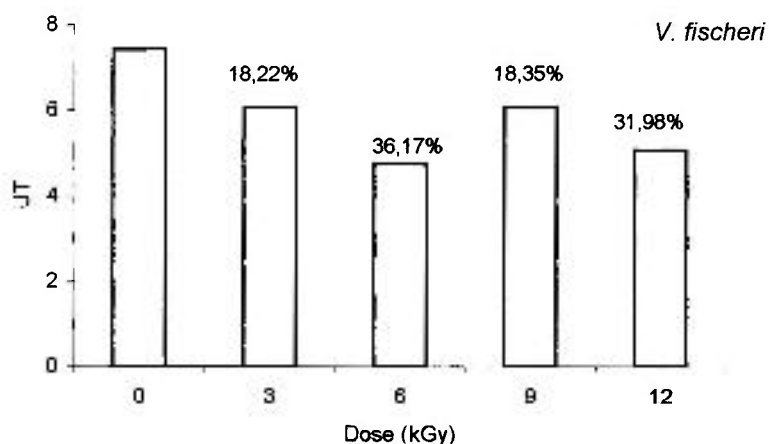


**Figura 48.** Redução da Toxicidade Aguda do LAS obtida para *D. similis* (24h).

As reduções da toxicidade aguda do LAS obtida para *D. similis* (48h) e *V. fischeri* são ilustradas nas Figuras 49 e 50.



**Figura 49.** Redução da Toxicidade Aguda do LAS obtida para *D. similis* (48h).



**Figura 50.** Redução da Toxicidade Aguda do LAS obtida para *V. fischeri*.

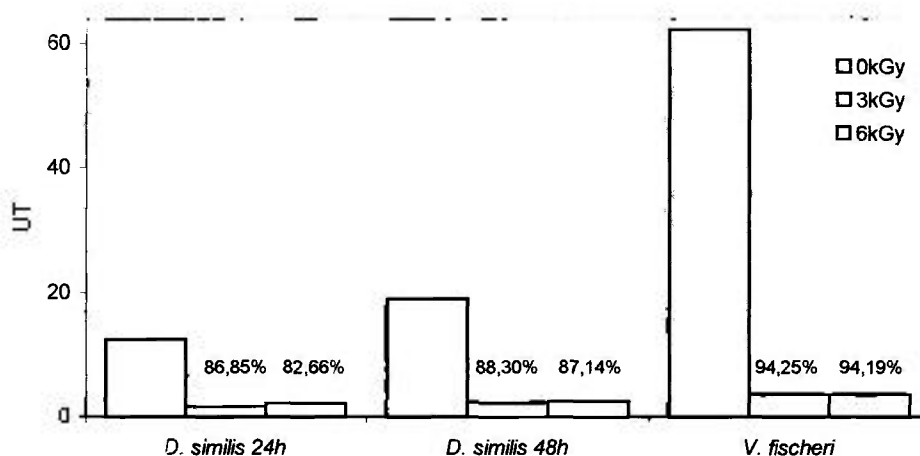
A redução da toxicidade aguda do LAS ácido, avaliada pela bactéria foi menor em relação à *D. similis*, devido à menor toxicidade apresentada antes da irradiação.

A Tabela 56 apresenta os valores de  $UT_a$  e os percentuais de redução da toxicidade aguda do surfactante LAS sódico, obtidos com os organismos *D. similis* e *V. fischeri*.

**Tabela 56.** Porcentagem de Redução da Toxicidade Aguda do LAS sódico em relação à dose de radiação.

Porcentagem de Redução da Toxicidade (%) – LAS sódico						
Dose (kGy)	<i>D. similis</i>				<i>V. fischeri</i>	
	24h		48h		(15min)	
	UT	% Redução	UT	% Redução	UT	% Redução
0	12,40	—	18,98	—	62,12	—
3,0	1,63	86,85	2,22	88,30	3,57	94,25
6,0	2,15	82,66	2,44	87,14	3,61	94,19

Para o LAS sódico, a eficiência da irradiação com as doses de 3,0kGy e 6,0kGy foi elevada, entre 82,66% e 94,25% de redução da toxicidade aguda. A dose de 3,0kGy foi mais eficiente em reduzir a toxicidade aguda do LAS sódico em relação à dose de 6,0kGy, que também resultou em percentuais de redução elevados (Figura 51).

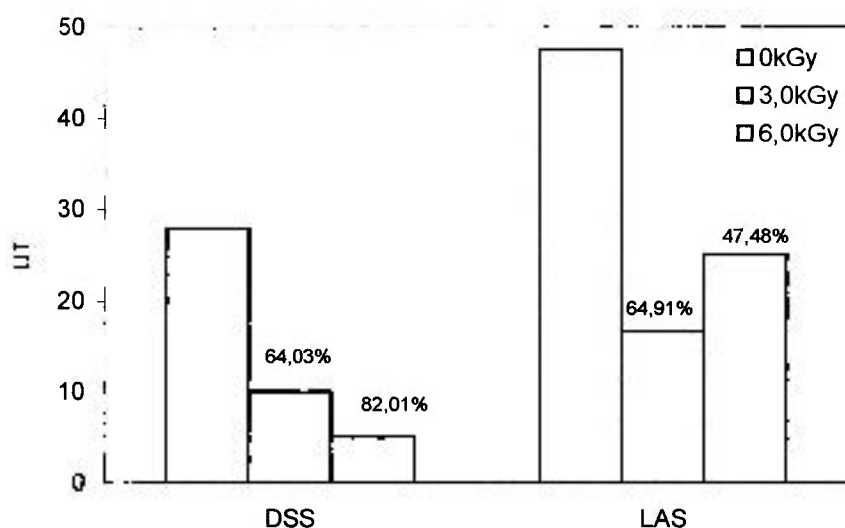
**Figura 51.** Redução das Unidades Tóxicas Agudas (UT<sub>a</sub>) do LAS sódico em função das doses de radiação.

A redução da toxicidade aguda do LAS ácido (18,22% a 78,98%) foi inferior às reduções obtidas para o DSS (72,49% a 90,98%) e para o LAS sódico (82,66% a 94,25%). A Tabela 57 apresenta os valores de UT<sub>c</sub> e os percentuais de redução da toxicidade crônica dos surfactantes DSS e LAS ácido, obtidos com o organismo *C. dubia*.

**Tabela 57.** Porcentagem de Redução da Toxicidade Crônica do DSS e do LAS, em relação à dose de radiação.

Dose (kGy)	Porcentagem de Redução da Toxicidade (%)			
	DSS		LAS	
	UT	% Redução	UT	% Redução
0	27,8	-----	47,6	-----
3,0	10,0	64,03	16,7	64,91
6,0	5,0	82,01	25,0	47,48

A radiação ionizante também resultou em elevados percentuais de redução da toxicidade crônica, entre 64,03% e 82,01% para o DSS e entre 47,48% e 64,91% para o LAS ácido. A dose mais efetiva na redução da toxicidade crônica do DSS foi a de 6,0kGy, enquanto que para o LAS ácido, a dose mais efetiva foi a de 3,0kGy (Figura 52).



**Figura 52.** Redução das Unidades Tóxicas Crônicas (UT<sub>c</sub>) em função das doses de radiação.

De uma forma geral a eficiência de redução da toxicidade crônica foi inferior à eficiência de redução da toxicidade aguda. Isto pode estar relacionado ao fato de que as espécies utilizadas nos ensaios de toxicidade aguda e crônica foram diferentes e ainda, os subprodutos formados na degradação dos surfactantes pela radiação ionizante podem ser mais nocivos em tempos de exposição mais prolongados.

A partir dos dados apresentados neste item pode-se perceber que a redução das toxicidades aguda e crônica não ocorreu da mesma forma para o DSS e para o LAS ácido, sendo mais eficiente para o DSS. Além disso, a redução da toxicidade aguda do LAS sódico esteve mais próxima da redução obtida para o DSS do que da redução obtida para o LAS ácido, provavelmente relacionado à influência de fatores físico-químicos na eficiência da radiação ionizante em reduzir a toxicidade aguda dos surfactantes.

Devido às implicações ambientais do uso dos surfactantes, muitos autores têm buscado tratamentos alternativos para a degradação destes compostos. A Tabela 58 apresenta um resumo de trabalhos que utilizaram algum tipo de tratamento ou pré-tratamento para a degradação de surfactantes, presentes em efluentes ou não, e a eficiência (%) do processo aplicado. Os tratamentos utilizados variam entre os processos biológicos tradicionais, processos químicos e os processos oxidativos avançados.

A eficiência dos processos de tratamentos utilizados por outros autores variou entre 68% e 98,5%. Os valores de redução da toxicidade encontrados neste trabalho estão próximos aos já obtidos anteriormente. Entretanto, é importante ressaltar que a eficiência dos tratamentos empregados, apresentados na Tabela 58, foi avaliada principalmente com base em parâmetros químicos e físico-químicos como a concentração dos surfactantes aniônicos ([surfactante]), utilizando-se o Método do Azul de Metileno (MBAS) ou outros métodos, DBO, DQO e COT, não incluindo no estudo informações sobre a remoção da toxicidade e da toxicidade residual.

**Tabela 58.** Eficiência de alguns processos de tratamento de surfactantes, avaliados por parâmetros químicos e físico-químicos.

<b>Surfactante</b>	<b>Processo de Tratamento Utilizado</b>	<b>Eficiência do Tratamento</b>	<b>Parâmetro Avaliado</b>	<b>Referência Bibliográfica</b>
LAS em efluente	Degradação aeróbica ETE	73%	[surfactante]	Scott & Jones, 2000.
Solução de Surfactante Aniônico - LAS (20mg/L)	Eletroquímico	83% 80%	COT [surfactante] - MBAS	Lissens et al., 2003.
Solução de Surfactante Catiônico (20mg/L)	Eletroquímico	68% 80%	COT [surfactante] - MBAS	Lissens et al., 2003.
Efluente de indústria de detergentes (2000mg/L de surfactante)	Floculação química	98,5%	[surfactante]	Piveli, 2002.
Solução dos surfactantes ABS e LAS (até 10mg/L)	Oxidação Fenton (FeSO <sub>4</sub> )	Superior a 95%	[surfactante] – MBAS DQO	Lin et al., 1999.
LAS (33mg/L)	Fotocatalítico (energia solar + TiO <sub>2</sub> )	94%	[surfactante] MBAS	Jiménez et al., 2000.
DSS (2,5 a 10mg/L)	Radiação Ionizante ( <sup>60</sup> Co)	Entre 75 e 90%	[surfactante] Verde de Metileno	Rohrer, 1975.
Efluente municipal com surfactante (13,25mg/L)	Radiação Ionizante (feixe de e <sup>-</sup> )	98,5% (4 – 5 kGy)	[surfactante] DBO, DQO, n° total de microrganismos	Podzorova et al., 1998.

#### 5.14 Correlação entre Parâmetros Físico-químicos e a Toxicidade

Os parâmetros físico-químicos estudados neste trabalho podem contribuir para o melhor entendimento dos efeitos da radiação ionizante na redução da toxicidade dos surfactantes DSS e LAS.

A determinação da concentração dos surfactantes, pelo Método do Azul de Metileno, foi realizada para o estudo da influência deste parâmetro na redução da toxicidade. Pôde ser observado que quanto maior a dose de radiação aplicada, maior a porcentagem de degradação dos surfactantes, tanto do DSS como do LAS, nas suas formas ácida e sódica. A eficiência da radiação ionizante na degradação dos surfactantes foi muito elevada, entre 90,18% e 98,11% para o DSS, 86,0% e 97,42% para o LAS ácido e 95,0% e 97,42% para o LAS sódico. Entretanto, o mesmo não se aplica à eficiência de redução da toxicidade aguda. As doses mais eficientes na redução da toxicidade aguda foram as doses de 3,0kGy e 6,0kGy, melhor evidenciado para o DSS, enquanto que para as demais doses utilizadas há uma menor eficiência da redução. Mesmo assim, para todas as doses estudadas o processo mostrou-se muito eficiente.

Borrely (2001) avaliou a eficiência da radiação proveniente de um acelerador de elétrons na degradação de contaminantes orgânicos utilizando os ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, *Vibrio fischeri* e *Poecilia reticulata*. Foi observada a redução gradual da toxicidade, entre 75% e 95%, com o aumento das doses aplicadas, entre 5kGy e 50kGy. O mesmo não foi observado para os surfactantes, já que com o aumento da dose de radiação a eficiência de redução da toxicidade aguda começa a diminuir.

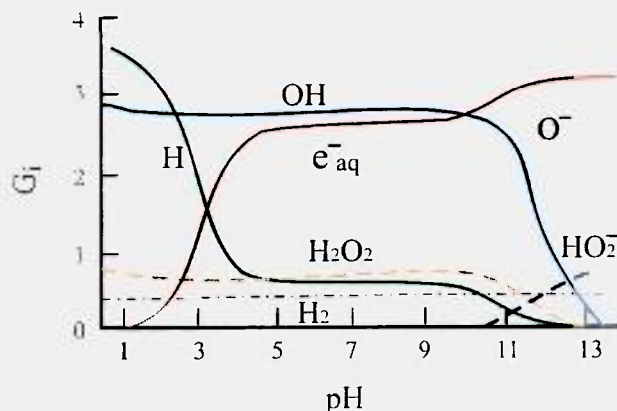
Pode-se dizer que a degradação das moléculas de surfactante contribui para a redução da toxicidade aguda do DSS e do LAS principalmente nas doses mais baixas utilizadas. Nas doses mais altas, 9,0kGy e 12,0kGy, a interação da radiação com as soluções dos surfactantes resulta em subprodutos que induzem toxicidade aos organismos-teste, limitando a eficiência do processo. Moraes et al. (2004) também observaram a redução da toxicidade aguda pela degradação de surfactantes aniônicos presentes em efluentes industriais e domésticos, utilizando-se a radiação do feixe de elétrons.

Tanto para o DSS como para o LAS, não houve aumento significativo de carbono inorgânico após a irradiação. Isto comprova que não ocorreu degradação completa dos surfactantes, ou seja, não houve mineralização dos compostos. Portanto, os produtos de degradação são orgânicos, provavelmente ácidos orgânicos, devido à acentuada diminuição dos valores de pH observados, após a irradiação dos surfactantes. Segundo Duarte (1999), os principais produtos de degradação de compostos orgânicos são os ácidos orgânicos, que são facilmente biodegradáveis.

Como o pH é um fator que pode influenciar fortemente a toxicidade, foram realizadas medidas de pH em função das diluições que foram utilizadas nos ensaios de toxicidade. Entretanto, em todas as concentrações em que foram encontrados efeitos de toxicidade aos organismos utilizados (CE(I)50 e CEO), os valores de pH estiveram próximos de 6 e 7, como pôde ser observado nas Figuras 20 e 21. Valores de pH fora da faixa entre 5 e 9 podem interferir nos resultados dos ensaios de toxicidade, tanto com os microcrustáceos, como com as bactérias luminescentes (ABNT, 2004; Kaiser & Palabrica, 1991). Pode-se dizer então que a toxicidade apresentada pelos surfactantes, antes e após a irradiação, não foi influenciada pelos valores de pH.

O pH é um parâmetro muito importante e que deve ser considerado no processo da irradiação dos surfactantes. Os valores de pH obtidos para os surfactantes DSS e LAS sódico antes da irradiação estiveram próximos da neutralidade, entre 6,28 e 6,31. A outra forma do LAS, por ser um ácido, apresentou valores baixos de pH (3,38). De acordo com Getoff (1996), o rendimento das espécies radiolíticas formadas na radiólise da água são dependentes dos valores de pH da solução, como ilustra a Figura 53.

A eficiência da redução da toxicidade aguda foi maior para o DSS e para o LAS sódico e a redução da toxicidade crônica foi maior para o DSS em relação ao LAS ácido. O parâmetro que pode justificar esses resultados é o pH inicial das soluções. Como a concentração das espécies radiolíticas formadas são diferentes em valores diferentes de pH, os subprodutos de degradação formados conseqüentemente também são diferentes. Para as soluções de DSS e LAS sódico, que apresentaram valores de pH próximos de 6, há um predomínio de geração de  $e^-$  aquosos durante a radiólise da água, enquanto que para as soluções de LAS ácido, a geração de radicais hidrogênio é predominante. Em relação às outras espécies radiolíticas, as concentrações permanecem constantes.



**Figura 53.** Formação de diferentes espécies radiolíticas em função do pH.  $G_1$  corresponde ao rendimento da reação.

Assim, pode-se afirmar que os mecanismos de degradação dos surfactantes foram diferentes e que os subprodutos da quebra radiolítica do DSS e do LAS sódico foram menos tóxicos aos organismos *D. similis*, *V. fischeri* e *C. dubia* em relação aos subprodutos do LAS ácido.

Outro fator importante a ser considerado é a presença do anel benzênico na molécula do LAS. O benzeno é conhecidamente tóxico a organismos aquáticos; a CL50 para o peixe *Poecilia reticulata* (14 dias) é igual a 63mg/L, enquanto que para o crustáceo *Cancer magister* (96h) a CL50 é igual a 108mg/L (CETESB, 2004). Como a redução da toxicidade foi menor para o LAS ácido em comparação com o DSS e com o LAS sódico e considerando os valores de pH iniciais diferentes, e ainda que a toxicidade residual da degradação da LAS seja devido à presença do anel benzênico, pode-se inferir que o pH ácido não é tão favorável a sua degradação do ponto de vista ecotoxicológico. Assim, a radiação pode ter sido mais eficiente em degradar o anel benzênico nas soluções de LAS sódico em relação às soluções de LAS ácido. Para a comprovação desta suposição, estudos químicos adicionais são necessários.

### 5.15 Considerações Finais

Este trabalho demonstrou a elevada eficiência da radiação ionizante por feixe de elétrons na degradação e na redução da toxicidade aguda e crônica de dois surfactantes aniônicos, o DSS e o LAS, em concentrações de 100mg/L. Assim, a aplicação desta

tecnologia pode ser indicada como um pré-tratamento de efluentes para as indústrias de detergentes e surfactantes, que geram efluentes com altas concentrações destes compostos, para indústrias que apresentam em seu processo de produção a etapa de lavagem e, ainda, para estações de tratamento que recebam efluentes com concentrações de surfactantes suficientes para causar toxicidade aos microrganismos responsáveis pela biodegradação, comprometendo a eficiência destas estações. Para exemplificar esta eficiência utilizando-se os dados obtidos neste trabalho, o pré-tratamento de um efluente, contendo 100mg/L de DSS, com a aplicação de uma dose de 3,0kGy, reduziria a concentração do surfactante para 9,75mg/L, com reduções de 90% da toxicidade aguda e de 64% da toxicidade crônica.

Neste trabalho, as doses de radiação 9,0kGy e 12,0kGy foram as mais eficientes na degradação dos surfactantes. Entretanto, as doses mais baixas, 3,0kGy e 6,0kGy, foram as mais eficientes na redução da toxicidade. Assim, a aplicação de doses relativamente baixas contribui para a redução da toxicidade de surfactantes que, posteriormente, podem ser submetidos ao tratamento biológico sem comprometer a sua eficiência. A utilização de doses baixas de radiação é muito importante do ponto de vista econômico, já que quanto menor a dose a ser aplicada, menor é o custo do processo. A radiação pode contribuir ainda para a degradação dos surfactantes, evitando que estes compostos escapem do tratamento biológico, adsorvidos no lodo, e sejam lançados no ambiente.

Este trabalho demonstrou também a importância dos fatores físico-químicos em relação à eficiência da radiação ionizante. A eficiência de degradação das moléculas dos surfactantes não foi afetada por estes parâmetros. O mesmo não aconteceu com a eficiência de redução da toxicidade dos surfactantes, que sofreu influência dos valores de pH.

A abordagem ecotoxicológica em um sistema de tratamento de efluentes é muito importante, tendo em vista que, após o tratamento, os efluentes são lançados em corpos receptores que abrigam uma grande variedade de organismos aquáticos. Considerando a aplicação do feixe de elétrons como um pré-tratamento de efluentes, a toxicidade é um parâmetro essencial para que estes efluentes possam ser, posteriormente, submetidos ao tratamento biológico convencional.

A ecotoxicologia é uma importante ferramenta que pode ser utilizada a favor do meio ambiente, no estudo de contaminações ambientais e também na avaliação da eficiência de sistemas de tratamento de efluentes, com relação à redução da toxicidade. O estudo da toxicidade aguda é importante para prever impactos mais imediatos aos ecossistemas, enquanto o estudo da toxicidade crônica é importante nos casos onde organismos são continuamente expostos a substâncias tóxicas, em concentrações inferiores. Os dados de toxicidade são muito importantes para a disposição segura de efluentes em complementação às análises físico-químicas tradicionais, proporcionando o uso mais sustentável deste recurso tão essencial à vida como a água.

## 6. CONCLUSÕES

- A tecnologia de irradiação com feixe de elétrons mostrou-se muito eficiente na degradação (86,07% e 98,11%) e na redução das toxicidades aguda (18,22% e 94,25%) e crônica (47,48% e 82,01%) dos surfactantes DSS e LAS.
- As doses de radiação mais eficientes na redução da toxicidade aguda dos surfactantes estudados foram 3,0kGy e 6,0kGy, que são doses relativamente baixas.
- Os valores iniciais de pH influenciaram na eficiência de redução da toxicidade, devido à diferença de concentração das espécies reativas formadas na radiólise da água.
- As doses de radiação utilizadas não foram suficientes para causar a completa mineralização dos surfactantes, sendo, provavelmente, os ácidos orgânicos os principais produtos de degradação formados.
- Foi possível avaliar a eficiência da radiação ionizante sob um aspecto ecotoxicológico, que permite não só avaliar a eficiência do processo de tratamento utilizado mas também permite propor uma alternativa para minimizar impactos no sistema de tratamento biológico e no meio ambiente.

## **7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

- Estudo químico detalhado dos principais subprodutos de degradação dos surfactantes formados pelo tratamento com radiação ionizante por feixe de elétrons, visando a elucidação do mecanismo de quebra e detoxificação de surfactantes aniônicos.
- Elaborar um estudo similar ao realizado neste trabalho, utilizando alguns surfactantes catiônicos, considerando a toxicidade e a baixa biodegradabilidade destes compostos.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AIDAR, E.; KUTNER, T. C. S. S.; NISHIHARA, L.; SCHINKE, K. P.; BRAGA M. C. C.; FARAH, R. E.; KUTNER, M. B. B. Marine Phytoplacton Assays: Effects of Detergentes. *Mar. Environ. Res.*, v. 43, n. 1, p. 55-59, 1995.
2. ALTENBURGER, R.; BOEDEKER, W. FAUST, M.; GRIMME, L. H. Regulations for combined effects os pollutants: from risk assessment in aquatic toxicology. *Food Chem. Toxicol.*, v. 34, p. 1155-1157, 1996.
3. AMERICAM PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 17<sup>ed.</sup>, APHA, AWWA, WEF, New York, 1989.
4. ANDREOZZI, R.; CAPRIO, V.; INSOLA, A.; MAROTTA, R. Advanced oxidation process (AOP) for water purification and recovery. *Catal. Today*, v. 53, p. 51-59, 1999.
5. ARAÚJO, C. V. M.; NASCIMENTO, R. B.; OLIVEIRA, C. A.; STROTMANN, U. J.; SILVA, E. M. Aplicação do Microtox® na avaliação da redução da toxicidade de efluentes industriais complexos. In: **VII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia**, 06-09 outubro, 2002, Vitória-ES. Livro de Resumos, p. 255.
6. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de Ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustácea)**. ABNT, 1993. (NBR 12713).
7. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de Ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustácea)**. ABNT, 2004. (NBR 12713).
8. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Crônica – Método de Ensaio com *Ceriodaphnia* ssp (Cladocera, Crustacea)**. ABNT, 1995. (NBR 13373).
9. ASSUNÇÃO, J. V. **Introdução à Qualidade do ar**. São Paulo, Faculdade de Saúde Pública -USP. Apostila. 2002. 27 p.
10. BADARÓ-PEDROSO, C. **Avaliação dos efeitos e identificação da toxicidade da água de produção de petróleo sobre algumas espécies marinhas**. 1999. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Carlos.
11. BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2ª edição. São Paulo: Bookman, 2002.
12. BARBIERI, E.; NGAN, P. V.; GOMES, V. Efeito do LAS-C<sub>12</sub> no metabolismo de rotina de tainhas em função da temperatura em três salinidades. In: **Ecotoxicologia: Perspectivas para o Século XXI**. Rima Editora: São Carlos, 2000.
13. BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6ª edição. São Paulo: Livraria Roca Ltda., 1996.
14. BELPAEME, K.; COOREMAN, K.; KIRSCH-VOLDERS, M. Development and validation of the in vivo alkaline comet assay for detection genomic damage in marine flatfish. *Mutat. Res.*, v. 415, p. 167-184, 1998.
15. BOEIJE, G. M.; SCHOWANEK, D. R.; VANROLLEGHEM, P. A. Incorporation of biofilm activity in river biodegradation modeling: a case study for linear alkylbenzene sulfonate (LAS). *Water Res.*, v. 34, n. 5, p. 1479-1486, 2000.

- BOHRER, M. B. C. **Biomonitoramento das Lagoas de Tratamento Teerciário do Sistema de Tratamento de Efluentes Líquidos Industriais (SITEL) do Pólo Petroquímico do Sul. Triunfo, RS, através da comunidade zooplancônica.** 1995. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Carlos.
- BORRELY, S. I. **Avaliação da redução da toxicidade de efluentes tratados por irradiação com feixe de elétrons, por meio de testes de toxicidade aguda.** 2001. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - USP, São Paulo.
- BORRELY, S. I.; DREWICZ, P.; TROJANOWICZ, M.; DUARTE, C. L.; SAMPA, M. H. O.; OIKAWA, H. **Avaliação da toxicidade aguda do 2,4 diclorofenol tratado por irradiação com feixe de elétrons.** In: **VII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia**, 06-09 outubro, 2002, Vitória-ES. Livro de Resumos, p. 260.
- BORRELY, S. I. **Tratamento de esgoto sanitário com o uso de acelerador de elétrons.** 1995. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - USP, São Paulo.
- BOSQUILHA, G. E.; CARVALHO, V. S.; BRAGA, E. S. **Surfactantes dissolvidos na água: estudo em dois sistemas distintos – Baía do Almirantado, Ilha Rei George, região Antártica e sistema estuarino de Santos, São Paulo, Brasil.** In: **II Simpósio Brasileiro de Oceanografia**, 31-04 maio, 2004, São Paulo. Anais eletrônicos. Disponível em: <<http://sob.oceanografia.org>>. Acesso em: 21 jun. 2004.
- BOSQUILHA, G. E. **Estudo da distribuição de surfactantes e de polifosfatos no Sistema Estuarino de Santos/São Vicente e Baía de Santos (SP, Brasil) e avaliação das metodologias aplicadas.** 2002. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oceanográfico – USP, São Paulo.
- BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J. L.; BARROS, M. T. L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. **Introdução à Engenharia Ambiental.** São Paulo: Prentice-Hall, 2002.
- BRAGA, E. S. **Bioquímica Marinha e efeitos da poluição nos processos bioquímicos.** 2ª edição. São Paulo, SP: FUNDESPA, 2002. 93p.
- BRAILE, P. M. & CAVALCANTE, J. E. W. A. **Manual de Tratamento de Águas Residuárias Industriais.** São Paulo, CETESB, 1979. 764 p.
- BRANCO, S. M. **Hidrobiologia aplicada à engenharia sanitária.** São Paulo, CETESB/ASCETESB, 3ª ed., 1986. 640 p.
- BRUNNER, P. H.; CAPRI, S.; MARCOMINI, A.; GIGER, W. Occurrence and behavior of linear alkylbenzene sulfonates, nonylphenol, nonylphenol mono- and nonylphenol diethoxylates in sewage and sewage sludge treatment. **Water Res.**, v. 22, p. 1465-1472, 1988.
- BULICH, A. A. A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples. **Process. Biochem.**, March/April, 45-47, 1982.
- CAETANO, I.; ANTUNES, M. **A linguagem das bactérias.** Revista Ciência Hoje, São Paulo, maio 2003. p. 16.
- CETESB L5. 018. São Paulo. **Água – Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*.** Claus, 1876 (Cladocera, Crustácea). 1986. 27 p. (Método de Ensaio).
- CETESB L5.022. São Paulo. **Água – Teste de toxicidade aguda crônica, utilizando *Ceriodaphnia dubia*.** Richard, 1894 (Cladocera, Crustacea). 1991. 25 p. (Método de Ensaio).

31. CETESB L5.122. São Paulo. – **Determinação de Surfactantes Aniônicos em Águas. Método do Azul de Metileno.** 1978. 9 p. (Método de Análise).
32. CETESB L5.227. São Paulo. **Bioensaio de toxicidade aguda com *Photobacterium phosphoreum*, Sistema Microtox.** 1987. (Método de Ensaio).
33. CETESB. **Informações Toxicológicas.** Disponível em <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: 07 maio 2004.
34. CETESB. **Métodos para a avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos.** São Paulo. 1997. v. 1.
35. CETESB. **Prevenção à poluição.** Disponível em <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: 10 ago. 2003.
36. COMESTICOS & PERFUMES. A perfumaria funcional: sabão em pó, amaciante e detergente. **Crhodia**, n. 11, 2001.
37. COTOU, E.; CATHARIOS, I. C.; APOSTOLOPOULOU, M. M. Surfactant-based oil dispersant toxicity to developing nauplii of *Artemia*: effects on ATPase enzymatic system. **Chemosphere**, v. 42, p. 959-964, 2001.
38. CSERHÁT, T.; FORGÁCS, E.; OROS, G. Biological activity and environmental impact of surfactants. **Environ. Intern.**, v. 28, p. 337-348, 2000.
39. CUNHA, C. P.; LOBATO, N.; DIAS, S. **Problemática dos tensoactivos na indústria de produção de detergentes em Portugal.** Instituto Superior da Universidade Técnica de Lisboa. Apostila. 2000.
40. DENTEL, S. K.; ALLEN, H. E.; SRINIVASARAO, C.; DIVINCENZO, J. **Effects os surfactants on sludge dewatering and pollutant fate.** Relatório de Projeto – Water Resources Center – University of Delaware, 1993.
41. DHOUIB, A.; HAMAD, N.; HASSAÏRI, I.; SAYADI, S. Degradation of anionic surfactants by *Citrobacter braakii*. **Process Biochem.**, v. 38, p. 1245-1250, 2003.
42. DUARTE, C. L. **Aplicação do Processo Avançado de Oxidação por feixe de elétrons na degradação de compostos orgânicos presentes em efluentes industriais.** 1999. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – USP, São Paulo.
43. EDWARDS, K. R.; LEPO, J. E.; LEWIS, M. A. Toxicity comparison of biosurfactants and synthetic surfactants used in oil spill remediation to two estuarine species. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 46, p. 1309-1316, 2003.
44. EICHHORN, P.; RODRIGUES, S. V.; BAUMANN, W.; KNEPPER, T. P. Incomplete degradation of linear alkylbenzene sulfonate surfactants in Brazilian surface water and pursuit of their polar metabolites in drinking waters. **Sci. Total Environ.**, v. 284, p. 123-134, 2002.
45. EL-MOTAUIM, R. A. **Alleviation of Environmental Pollution using nuclear techniques recycling of sewage water and sludge in agriculture: a casa study.** Cairo University, Egypt, p. 323-332, 2000.
46. FANG, X. & WU, J. Some remarks on applying technology combined with others methods to the treatment of industrial wastes. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 55, p. 465-468, 1999.
47. FARRÉ, M.; GARCIA, M. J.; TIRAPU, L.; GINEBREDÀ, A.; BARCELÓ, D. Wastewater toxicity screening of non-ionic surfactants by Toxalert and Microtox bioluminescence inhibition assays. **Anal. Chim. Acta**, v. 427, p. 181-189, 2001.

48. FIGUEREDO, M. G. **A água na transmissão de doenças**. CETESB, São Paulo, 1994.
49. FONTES, M. L. S.; CAVELLUCCI, R.; ARANTES, R. da F. Nutrientes e clorofila-a como descritores da qualidade da água da Lagoa da Conceição-SC. In: **II Simpósio Brasileiro de Oceanografia**, 31-04 maio, 2004, São Paulo. Anais eletrônicos. Disponível em: <<http://sob.oceanografia.org>>. Acesso em: 21 jun. 2004.
50. GETOFF, N. Radiation-induced degradation of water pollutants – State of the art. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 47, n. 4, p. 581-593, 1996.
51. GLOXHUBER, C. **Anionic Surfactants: Biochemistry, Toxicology, Dermatology**. Surfactant Sciences Series, v. 10. Ed. Dekker, 1980.
52. GOLDSTEIN, E. G.; ZAGATTO, P. A.; ARAUJO, R. P. A.; BERTOLETTI, E. Avaliação dos principais despejos industriais da região da ERQ-Suzano, através de ensaios biológicos. **Revista DAE**, n. 132, p. 42-48, 1983.
53. GONZÁLEZ-MAZO, E. & GÓMEZ-PARRA, A. Monitoring anionic surfactants (LAS) and their intermediate degradation products in the marine environment. **Trends Anal. Chem.**, v. 15, p. 375-380, 1996.
54. GUARDIA, E. Radiação torna a água mais limpa. **Revista Brasil Nuclear**, ano 9, n. 24, 2002.
55. GUILHERMINO, L.; LACERDA, M. N.; NOGUEIRA, A. J. A.; SOARES, A. M. V. M. In vitro and in vivo inhibition of *Daphnia magna* acetylcholinesterase by surfactant agents: possible implications for contamination biomonitoring. **Sci. Total Environ.**, v. 247, p. 137-141, 2000.
56. GUTIÉRREZ, M.; ETXEBARRIA, L.; FUENTES, L. Evaluation of wastewater toxicity: comparative study between Microtox® and activated sludge oxygen uptake inhibition. **Water Res.**, v. 36, p. 919-924, 2002.
57. HAN, B.; KO, J.; KIM, J.; KIM, Y.; CHUNG, W.; MAKAROV, I.E.; PONOMARCV, A. V.; PIKAEV, A. K. Combined electron-beam and biological treatment of dyeing complex wastewater. Pilot plant experiments. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 64, p. 53-59, 2002.
58. HARVEY, B. G. **Introduction to Nuclear Physics and Chemistry**. Englewood Cliffs, N. J.: Prentice-Hall, 1969.
59. HATAMURA, E.; EYSINK, G. J.; BEVILACQUA, J. E. MORAES, R. P. **Enriquecimento das espumas por substâncias químicas como agente de exportação de poluentes no Rio Tietê**. Relatório Técnico. CETESB, 1993.
60. HOME PAGE DO MEIO AMBIENTE. **Notícias**. Disponível em <[http://www.prefeitura.sp.gov/secretarias/meio\\_ambiente](http://www.prefeitura.sp.gov/secretarias/meio_ambiente)>. Acesso em: 09 jan. 2004. IPEN. **Meio Ambiente**. Publicação Interna: 1997.
62. ITO, A. S. **Estudo de radicais livres induzidos por radiação X e gama**. 1975. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - USP, São Paulo.
63. JIMÉNEZ, A. E.; ESTRADA, C. A.; COTA, A. D.; ROMÁN, A. Photocatalytic degradation of DBSNa using solar energy. **Sol. Energy Mater. Sol. Cells**, v. 60, p. 85-95, 2000.
64. JORGE, R. A. D. L. V. C.; BAINY, A.; MOREIRA, G. Atividade da glutathione S-transferase e catalase em larvas de mexilhões (*Perna perna*) expostas a um

- tensoativo aniônico. In: **VII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia**, 06-09 outubro. 2002, Vitória-ES. Livro de Resumos, p. 109
63. KAISER, K. L. E.; PALABRICA, V. S. *Photobacterium phosphoreum* Toxicity Data Index. **Water Pollut. Res.**, v. 26 (9), p. 361-431, 1991.
65. KHANGAROT, B. S. & RAY, P. K. Investigation of correlation between physicochemical properties of metals and their toxicity to the water flea *Daphnia magna*, Straus. **Ecotoxicology and Environ. Safety**, v. 18, p. 109-120, 1989.
67. KURUCZ, C. N.; WAITE, T. D.; OTAÑO, S. E.; COOPER, W. J.; NICKELSEN, M. G. A comparison of large-scale electron beam and bench-scale <sup>60</sup>Co irradiations of simulated aqueous waste streams. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 65, p. 367-378, 2002.
68. LAMPARELLI, M. C. **O Ambiente Aquático: Características Gerais**. Apostila do curso Diagnóstico de Ecossistemas Aquáticos. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública - USP, 2002. (Dado não publicado).
69. LEWIS, M. A. Chronic and sublethal toxicities of surfactants to aquatic animals: A review and risk assessment. **Water Res.**, v. 25, n. 1, p. 101-113, 1991.
70. LEWIS, M. A. & SUPRENT, D. Comparative acute toxicities of surfactants to aquatic invertebrates. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 7, p. 313-322, 1983.
71. LEWIS, M. A. The effects of mixtures and other environmental modifying factors on the toxicities of surfactants to freshwater and marine life. **Water Res.**, v. 26, n. 8, p. 1013-1023, 1992.
72. LI, H. Q. & SCHRÖDER, H. F. Surfactants – standard determination methods in comparison with substance specific mass spectrometric methods and toxicity testing by *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*. **Wat. Sci. Technol.**, v. 42, p. 391-398, 2000.
73. LIN, S. H.; LIN, C. M.; LEU, H. G. Operating characteristics and kinetic studies of surfactant of wastewater treatment by Fenton Oxidation. **Water Res.**, v. 33, n. 7, p. 1735-1741, 1999.
74. LISSENS, G.; PIETERS, J.; VERHAEGE, M.; PINOY, L.; VERSTRAETE, W. Electrochemical degradation of surfactants by intermediates of water discharge at carbon-based electrodes. **Electrochim. Acta**, v. 48, p. 1655-1633, 2003.
75. MALAGRINO, W.; PEREIRA, N.; ROCHA, A. A. **Estudos Preliminares da Ação Tóxica de um Detergente Biodegradável sobre *Poecilia vivipara*** (Bloch & Schneider). Caderno Técnico, 1985.
76. MALAGRINO, W.; PEREIRA, N.; ROCHA, A. A. Avaliação dos níveis tóxicos de alguns surfactantes a moluscos da região de Ubatuba. **Revista Ambiente**, n. 2, p. 99-101, 1986.
77. MALAGRINO, W.; PEREIRA, N.; ROCHA, A. A. Estudos preliminares sobre os efeitos de baixas concentrações de detergentes aniônicos na formação do bisso em *Brachidontes solisianus*. **Revista Ambiente**, v. 1, n. 1, p. 37-40, 1987.
78. MARCHESI, J. R.; OWEN, S. A.; WHITE, G. F.; HOUSE, W. A.; RUSSEL, N. J. SDS-degrading bacteria attach to riverine sediment in response to the surfactant or its primary biodegradation product dodecan-1-ol. **Microbiology**, v. 140, p. 2999-3006, 1994.
79. MARGARIDO, A. P. **Água é imprópria em 27% dos rios e represas**. Folha de São Paulo, 04 ago. 2003. p. C1.

80. MORAES, M. C. F.; ROMANELLI, M. F.; SENA, H. C.; SILVA, G. P.; SAMPA, M. H. O.; BORRELY, S. I. Whole acute toxicity removal from industrial and domestic effluents treated by electron beam radiation: emphasis on anionic surfactantes. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 71, p. 463-465, 2004.
81. MOUNT, D. R.; GULLEY, D. D.; HOCKETT, J. R.; GARRISON, T. D.; EVANS, J. M. Statistical models to predict the toxicity of major ions to *C. dubia*, *D. magna* e *P. promelas*. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 16, n. 10, p. 2009-2019, 1997.
82. MUCCI, J. L. N.; MALAGRINO, W.; ROCHA, A. A. Estudos comparativos da ação tóxica de efluentes da indústria petroquímica sobre *Poecilia reticulata* e *Poecilia vivipara* (Pisces: Poeciliidae). **Revista DAE**, v. 47, n. 150, p. 275-276, 1987.
83. NAIR, L. M.; SAARI-NORDHAUS, R. Recent developments analysis by ion chromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 804, p. 233-239, 1998.
- NIPPER, M. **Avaliação de Toxicidade de Efluentes**. São Paulo. Apostila. 2000.
85. OLIVEIRA, C. A. A.; DANIEL, L. A. Prevenção de poluição pela redução de efluentes líquidos industriais na fonte de geração. In: **20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, 1999, Rio de Janeiro. p. I-075.
86. PAIXÃO, J. F.; NASCIMENTO, I. A.; PEREIRA, S. A.; REZENDE, A. Avaliação da toxicidade do fenol e 4-clorofenol para a microalga *Tetraselmis chuii* (Prasinophyceae, Tetraselmidaceae). In: **VII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia**, 06-09 outubro, 2002, Vitória-ES. Livro de Resumos, p. 260.
87. PEREGO, P.; FANARA, L.; ZILLI, M.; BORGHI, M. D. Applications of Luminous Bacteria on Environmental Monitoring. **Chem. Biochem. Eng. Q.**, v. 16 (2), p. 87-92, 2002.
88. PEREIRA, D. N.; GOLDSTEIN, E. G.; ZAGATTO, P. A.; SASSI, R. Bioensaios: um programa a serviço do controle de poluição. Resultados Iniciais. **Revista Ambiente**, v. 1, n. 1, p. 32-36, 1987.
89. PEREIRA, D. N. **Biologia e Poluição**. Apostila do Curso Diagnóstico de Sistemas Aquáticos. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública – USP, 2002. (Dado não publicado).
90. PIKAEV, A. K. Current state of radiation processing. **Russian Chem. Rew.**, v. 64, n. 6, p. 569-598, 1995.
91. PIKAEV, A. K.; KABAKCHI, S. A.; PUTILOV, A. V.; VANYUSHKIN, B. M. Combined electron-beam and biological purification of industrial wastewater from surfactant. **J. Adv. Oxid. Technol.**, v. 2, n. 1, 1997.
92. PIVELI, R. P. **Qualidade das Águas**. Apostila do curso Qualidade Ambiental I. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública – USP, 2002. (Dado não publicado).
93. PODZOROVA, E. A.; PIKAEV, A.; BELYSHEV, V. A.; LYSENKO, S. L. New data on electron-beam treatment of municipal wastewater in the aerosol flow. **Radiat. Phys. Chem.**, v. 52. p. 361-364, 1998.
94. RAND, G. M. **Fundamental of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment**. 2ª. Edição. Taylor & Francis, 1995.
95. RIBEIRO, M. A.; SATO, I. M.; DUARTE, C. L.; SALVADOR, V. L. R.; SAMPA, M. H. O. Determinação do grau de remoção de metais tóxicos como As, Hg e Cd em solução simulada de fluentes industriais na presença de “scavengers” após a irradiação com

- feixe de elétrons. In: **VI National Meeting on Nuclear Applications**. Rio de Janeiro. 2002. CDR-Rom 1.
96. ROCHA, A. A.; Pereira, N.; MALAGRINO, W. Efeitos de baixas concentrações de detergentes aniônicos sobre o hábito de escavação de *Tivela mactroides* (BORN, 1778), Bivalvia, Veneridae. **Revista DAE**, v. 45, n. 142, p. 313-315, 1985.
  97. ROHER, D. M. Effects of gamma radiation from  $^{60}\text{Co}$  on dilute aqueous solutions of linear alkyl sulfonate surfactants and other organic pollutants. In: **Radiation for a Clean Environment of a Symposium**, March 17-21, 1975, Munich. Proceedings of a Symposium, p. 241-248.
  98. SABESP. **Tratamento da água**. Disponível em: <<http://www.sabesp.com.br>>. Acesso em: 10 jan. 2004.
  99. SANCHEZ, P. S. & SATO, M. I. Z. **Microbiologia Aquática: Metodologias e Aplicações**. Apostila do curso Diagnóstico de Ecossistemas Aquáticos. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública – USP, 2002. (Dado não publicado).
  100. SANDBACKA, M.; CHRISTIANSON, I.; ISOMAA, B. The acute toxicity of surfactants on fish cells, *Daphnia magna* and fish – A comparative study. **Toxicol. Vitro**, v. 14, p. 61-68, 2000.
  101. SCOTT, M. J.; JONES, M. N. The biodegradation of surfactants in the environment. **Biochim. Biophys. Acta**. v. 14, p. 61-68, 2000.
  102. SIRISATTHA, S.; MOMOSE, Y.; KITAGAWA, E.; IWAHASHI, H. Toxicity of anionic detergents determined by *Saccharomyces cerevisiae* microarray analysis. **Water Res.**, v. 38, p. 61-70, 2004.
  103. SPINKS, J. W. T.; WOODS, R. J. **Introduction to Radiation Chemistry**. New York: Wiley, 1990.
  104. STOFFLER, B. & LUFT, G. Oxidative degradation of p-toluenesulphonic acid using hydrogen peroxide. **Chemosphere**, v. 38, n. 5, p. 1035-1047, 1999.
  105. TEMMINK, H.; KLAPWIJK, B. Fate of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) inactivated sludge plants. **Water Res.**, v. 38, p. 903-912, 2004.
  106. THOMPSON, G. B.; WU, S. S. R. Toxicity testing of oil slick dispersants in Hong Kong. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 12, n. 7, p.233-237, 1981, apud referência 41.
  107. THOMPSON, J. E.; BLATCHLEY, E. R. Toxicity effects of  $\gamma$ -irradiated wastewater effluents. **Water Res.**, v. 33, p. 2053-2058, 1999.
  108. TORRES, J.; GARCIA, D.; LIMA, L.; MARTÍNEZ, F.; DE LA ROSA, D. **Bioensaios para la determinación de la toxicidad de aguas residuales. Contribucion a la educacion y la proteccion ambiental**. Instituto Superior de Ciencias y Tecnologia Nucleares, 1997.
  109. USEPA. 1995. **Site Technology Capsule HVEA Electron Beam Technology**. (EPA/540/R-94 Report).
  110. VERGE, C.; MORENO, A.; BRAVO, J.; BERNA, J. L. Influence of water hardness on the bioavailability and toxicity of linear alkylbenzene sulfonate (LAS). **Chemosphere**, v. 44, p. 1749-1757, 2001.
  111. VILLEGAS-NAVARRO, A.; GONZÁLEZ, M. C. R.; LÓPEZ, E. R. Evaluation of *Daphnia magna* as an indicator of toxicity and treatment efficacy of textile wastewaters. **Environ. Internat.**, v. 25, n. 5, p. 619-624, 1999.

- WARNE, M. St. J. & SCHIFKO, A. D. Toxicity of laundry componentes to a freshwater cladoceran and their contributin to detergent toxicity. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 44, p. 196-206, 1999.
- WATER ONLINE. **High energy electron injection system destroys MTBE in drinking water**. Disponível em: <[http:// www.wateronline.com](http://www.wateronline.com)>. Acesso em: 10 jan. 2004.
- WEIHUA, S; ZHENG, Z.; RAMI, A. S.; TAO, Z.; DESHENG, H. Degradation and detoxification of aqueous nitrophenol solutions by electron beam irradiation. **Radiat. Phys. Chem.**, v.65, p.559-563, 2002.
- WORLD DEVELOPMENT REPORT. **Development and the environment**. Oxford University Press, 1992.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Drinking water quality**. Disponível em: <<http://who.int/m/topics/drinking.html>>. Acesso em: 20 maio 2001.
- YEBER, M. C.; RODRIGUEZ, J.; BAEZA, J.; FREER, J.; ZAROR, C.; DURAN, N.; MANSILHA, H. Toxicity abatement and biodegradability enhancement of pulp mill bleaching effluent by advanced chemical oxidation. **Water Sci. Technol.**, v. 40, p. 337-342, 1999.
- ZAGATTO, P. A.; GOLDSTEIN, E. G. Toxicidade em águas do Estado de São Paulo. **Revista CETESB de Tecnologia: Ambiente**, v. 5, p. 13-20, 1991.
- ZOR, S.; BIRGUL, Y.; ERBİL, M.; GALIP, H. The electrochemical degradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) on platinum electrode. **Water Res.**, v. 32, p. 579-586, 1998.