

# MONITORAMENTO ECOTOXICOLÓGICO DE EFLUENTES LÍQUIDOS UTILIZANDO MICROALGA MARINHA COMO BIOINDICADOR <sup>1</sup>

Evandro Abreu de Souza<sup>3</sup>  
Cesar Augusto Stramosk<sup>2</sup>  
José Alberto Schweitzer<sup>3</sup>  
Valdir Tomaz de Aquino<sup>3</sup>  
Leonardo Rubi Rörig<sup>2</sup>

## Resumo

A utilização de bioindicadores tornou-se uma realidade no monitoramento de efluentes líquidos provenientes de diferentes processos fabris. Com o intuito de monitorar um efluente gerado de processos de galvanização, decapagem e laminação de aço da empresa ArcelorMittal Vega, foram selecionados dois organismos. Com qualidades como, alta sensibilidade e ainda representatividade na área de descarte destes efluentes (Praia Grande, São Francisco do Sul – SC), foi proposta a utilização de uma bactéria bioluminescente (*Vibrio fischeri*) e uma microalga (*Skeletonema costatum*) ambos organismos marinhos. Durante 3 anos de amostragens quinzenais, os organismos responderam diferentemente às amostras. No início do processo produtivo desta empresa foram alcançados os maiores valores de toxicidade do efluente para ambos os organismos ( $CE_{50} = 2,78\%$  para a microalga na data de 18/05/05 e  $CE_{50} = 26,26\%$  para a bactéria na data de 26/07/05). Após a adaptação do tratamento às peculiaridades do efluente, houve um decréscimo expressivo da toxicidade aos organismos e apenas a microalga continuou a demonstrar sensibilidade suficiente para detecção de algum eventual tóxico nas amostras testadas. Atualmente a microalga tem sido considerada para este monitoramento como a principal ferramenta na detecção sensível e antecipada de eventuais acréscimos de toxicidade, em detrimento de outros organismos-teste propostos.

**Palavras-chave:** Monitoramento; Efluentes líquidos; *Skeletonema costatum*; Bioindicadores.

## ECOTOXICOLOGICAL MONITORING OF WASTEWATER USING A MARINE MICROALGAE AS A BIOINDICATOR

### Abstract

The use of bioindicators is a common practice in industrial wastewater monitoring. In the present research two test organisms were selected to monitor wastewater from a large steel processing plant (ArcelorMittal Vega), located in southern Brazilian coast. Based on parameters like high sensitivity and natural occurrence in the receiving waters (Praia Grande, São Francisco do Sul – SC - Brazil) we proposed the utilization of a bioluminescent bacteria (*Vibrio fischeri*) and a microalgae (*Skeletonema costatum*), both being marine microorganisms. During three years of fortnightly sampling the test organisms showed different responses to the wastewater samples. The higher values of toxicity for both organisms were obtained at the pre-operational phase of the industrial processing ( $EC_{50} = 2.78\%$  for the microalgae in may-18<sup>th</sup>-2005 and  $EC_{50} = 26.26\%$  for the bacteria in july-26<sup>th</sup>-2005). After improving of the wastewater treatment process, the toxicity was significantly reduced and only the microalgae showed sensitivity to detect some effect in the treated wastewater samples. Despite local environment protection agency suggest other test organisms, the microalgae test has now been adopted and accepted as the main tool to sensitive and early detection of eventual increasing in toxicity in this industrial plant.

**Key words:** monitoring; wastewater; *Skeletonema costatum*; bioindicators.

<sup>1</sup> Contribuição técnica ao 63º Congresso Anual da ABM, 28 de julho a 1º de agosto de 2008, Santos, SP, Brasil

<sup>2</sup> Centro de Ciências Tecnológicas, da Terra e do Mar (CTTMar); Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI) – Itajaí - SC

<sup>3</sup> ArcelorMittal Vega – São Francisco do Sul - SC

## 1 INTRODUÇÃO

A ArcelorMittal Vega é uma indústria de transformação de aço do Grupo ARCELOR localizada em São Francisco do Sul, Estado de Santa Catarina. Com modernos processos de decapagem, laminação a frio e galvanização, a empresa fornece bobinas de aço para a indústria automobilística, entre outras. A matéria-prima, que são as bobinas laminadas a quente, é fornecida pela Companhia Siderúrgica de Tubarão (CST), um dos mais modernos e eficientes produtores mundiais de aços planos. A planta da empresa tem 100 mil metros quadrados de área construída e ocupando menos de 10% do terreno, apresentando uma grande área de preservação ambiental. A unidade começou a funcionar em 2003, produzindo anualmente 880 mil toneladas de aço decapado, laminado a frio e galvanizado.

A política da ArcelorMittal Vega apóia-se nos princípios fundamentais da Qualidade Total e na estratégia global do grupo, visando mobilizar os esforços de todos para satisfazer às necessidades e exigências dos clientes, com preocupação na rentabilidade econômica, na criação de valor, na garantia da segurança do ser humano e das instalações, e na preservação do meio ambiente. O Sistema de Gestão Integrada da ArcelorMittal Vega atende às exigências das normas internacionais relativas à Qualidade, à Gestão Ambiental e à Segurança e Saúde

O processo fabril da ArcelorMittal Vega apresenta três linhas principais, geradoras de efluentes: decapagem do aço, galvanização e laminação. Estas geram 5 efluentes líquidos parciais (ELPs), além do efluente líquido final (ELF), a saber: (1) ELP da decapagem; (2) ELP bruto da laminação, antes do tratamento físico-químico; (3) ELP da laminação após o tratamento físico-químico (separação de óleos, coagulação e floculação, aeroflotação); (4) ELP bruto da galvanização, antes do tratamento físico-químico e (5) ELP da galvanização após o tratamento físico-químico (correção de pH, homogeneização, coagulação, floculação, aeroflotação). O ELF consiste na mistura dos ELPs, e seu processamento por uma Estação de Tratamento de Efluentes com técnicas avançadas de tratamento biológico (lodos ativados) após etapas de tratamento físico-químico.

De acordo com Swartz<sup>(1)</sup> os critérios principais na seleção de uma espécie bioindicadora é sua importância ecológica e ou econômica e sua sensibilidade ao efluente a ser testado.

A série de manuais Cetesb<sup>(2)</sup> indicam que para o controle do efluente como um todo realiza-se testes de toxicidade, onde os organismos aquáticos, representativos das comunidades biológicas de corpos receptores são expostos a várias concentrações do efluente e observa-se os efeitos que esta exposição pode causar nos organismos-teste. Segundo Goldstein,<sup>(3)</sup> toxicidade é definida como sendo os resultados nocivos à saúde provenientes do sistema composto por substâncias químicas e substâncias próprias do organismo, que se evidenciam sobre organismos vivos. Logo, como citado por Goldstein<sup>(3)</sup>, Swartz<sup>(1)</sup> e Rioboo et al.,<sup>(4)</sup> na toxicidade o objetivo de análise é o organismo, onde é determinado o efeito causado por uma substância química ou uma mistura, levando em consideração o tempo de exposição e a concentração.

Graças aos esforços buscando a qualidade o reaproveitamento da água pela unidade industrial é superior a 98%, sendo os efluentes praticamente livres de resíduos.

A legislação estadual de Santa Catarina exige a execução de testes toxicológicos agudos com efluentes industriais utilizando dois organismos: *Daphnia*

*magna* (microcrustáceo) e *Vibrio fischeri* (bactéria). Em 2003, quando da fase pré-operacional da empresa ArcelorMittal Vega, a Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI) propôs a essa empresa uma ampla pesquisa de testes toxicológicos a fim de verificar a eficiência e sensibilidade de cada um e não apenas executar aqueles prescritos na legislação. A empresa considerou a proposta interessante e esse fato deu origem a um convênio entre Univali e ArcelorMittal Vega, o qual persiste até o momento e no qual foram realizadas diversas avaliações no intuito de monitorar com a maior eficiência possível a qualidade dos efluentes tratados da ArcelorMittal Vega.

De 7 testes realizados na fase pré-operacional e inicial de operação da empresa, apresentados no relatório “*Avaliação Ecotoxicológica dos Efluentes da ArcelorMittal Vega - Fase Inicial de Operação - Avaliação Comparativa dos testes ecotoxicológicos utilizados - Fevereiro 2004*”, foram selecionados 3 (*Skeletonema costatum*, *Vibrio fischeri* e *Mysidopsis juniae*) que mostraram-se mais eficientes e sensíveis. Os critérios para a indicação destes três testes foram os seguintes: (a) sensibilidade relativa do teste para os efluentes da ArcelorMittal Vega; (b) tempo de resposta do teste; (c) custo estimado para uma amostra do teste; (d) nível de formação do pessoal técnico necessário para executar a metodologia do teste; (e) possibilidade de aplicação direta do efeito do teste sobre componente da biota nativa ou similar, considerando também o tipo de meio receptor do efluente e o meio original do organismo; e (f) relevância legal e validação metodológica.

Diante desse resultado, e da indicação de baixa sensibilidade do teste com *Daphnia magna*, a ArcelorMittal Vega passou a solicitar posteriormente, além da execução dos dois testes exigidos pela Portaria do órgão ambiental estadual (Portaria FATMA n° 017/2002), a execução do teste com *Skeletonema costatum*, o qual foi utilizado como controle de segurança pela empresa, uma vez que em várias ocasiões esse teste mostrou certo efeito tóxico nos efluentes sem que os outros dois testes mostrassem, o que reforçava a sua sensibilidade maior.

Outras características deste organismo seriam a de que a diatomácea marinha *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve (1878) é uma espécie cosmopolita freqüentemente encontrada em águas neríticas e lagoas costeiras. Dentre os organismos do fitoplâncton, é uma das espécies mais utilizadas em estudos científicos, na maricultura e na ecotoxicologia por sua relevância ecológica e facilidade com que é encontrada no ambiente natural e com que pode ser mantida em ambiente de laboratório. Já é sabido que a aplicação do fitoplâncton na ecotoxicologia e no monitoramento de ambientes aquáticos assume importância quando consideramos que tais organismos formam a base de cadeias alimentares e, portanto, assumem papel fundamental na manutenção do equilíbrio ecológico nesses ecossistemas.

Devido ao seu ciclo reprodutivo curto, o fitoplâncton responde rapidamente às modificações ambientais. Assim, nos ensaios ecotoxicológicos é possível detectar o efeito tóxico rapidamente se comparado aos ensaios realizados com organismos de níveis tróficos superiores que geralmente respondem em uma escala de tempo maior. Além disso, de acordo com Rioboo et al.,<sup>(4)</sup> os ensaios ecotoxicológicos com fitoplâncton são sensíveis e apresentam um custo relativamente baixo.

Então a partir de 2006, após reuniões entre ArcelorMittal Vega, Univali e FATMA foi proposto à FATMA, por parte da ArcelorMittal Vega e Univali, a substituição do teste com *Daphnia magna* pelo teste com *Skeletonema costatum*. Com isso pretendeu-se uma otimização logística e de eficiência nas atividades de monitoramento da qualidade dos efluentes finais da ArcelorMittal Vega. A FATMA aceitou a proposta em caráter experimental, solicitando que ao final de pelo menos

um ano de testes, fosse elaborada uma proposta formal de substituição oficial do teste com *Daphnia magna* pelo teste com *Skeletonema costatum*.

O presente trabalho mostra os resultados que sustentaram essa proposição, comprovando a maior eficiência do teste com *Skeletonema costatum* e apresentando maiores detalhes e embasamentos a essa proposta de substituição metodológica.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Procedimento de Coleta dos Efluentes e Preparação das Amostras**

Os dois tipos de testes, foram executados quinzenalmente durante três anos (2005, 2006 e 2007), utilizando-se o efluente final tratado da ArcelorMittal Vega, coletado em uma linha *by pass* antes da entrada efetiva no emissário submarino. No momento da coleta dos efluentes foram medidas as variáveis físico-químicas: temperatura (°C), salinidade (‰), condutividade (mS.cm<sup>-1</sup>), pH, oxigênio dissolvido (mg.L<sup>-1</sup>), saturação de oxigênio (%) e turbidez (NTU), utilizando-se um multianalisador de campo (Horiba U-10).

Em cada amostragem, foram coletados três litros de efluentes e acondicionados em caixa de isopor com gelo. Todos os frascos foram preenchidos até a borda e hermeticamente tampados, sendo transportados imediatamente até a cidade de Itajaí, ao laboratório de processamento e execução dos testes. No laboratório, as amostras eram transferidas para refrigerador e mantidas aí até no máximo 48 horas, quando então foram realizados os testes (ABNT-1:62.02-001). Caso os testes não fossem realizados em 48 horas, as amostras eram congeladas a -20°C (20 graus negativos) por até 60 dias. O descongelamento, nesses casos, foi gradual e à temperatura ambiente (máximo 25°C), sendo que uma vez descongeladas, as amostras foram utilizadas imediatamente, não sendo congeladas novamente.

No dia da realização dos testes de toxicidade, as amostras foram retiradas do refrigerador algumas horas antes para que a temperatura do efluente ficasse em torno de 25°C (temperatura ambiente dos laboratórios) e para a medição de dados físico-químicos prévios ao processamento, necessários para fins de controles exigidos pelas normas dos testes.

Fez-se necessário à correção da salinidade do efluente para a salinidade de manutenção dos organismos-teste nas câmaras de cultivo dos laboratórios. Para tanto foi utilizada salmoura e diluição de sal marinho, caso o efluente apresentasse salinidades inferiores às salinidades de manutenção, e água destilada, caso o efluente apresentasse salinidades superiores às salinidades de manutenção. Para o pH, exceto no caso do teste com bactérias luminescentes (ver item 2.2.6), não foi realizado qualquer tipo de correção, sendo neste caso, uma característica inerente ao efluente.

### **2.2 Descrição Geral dos Ensaios Executados**

#### **2.2.1 Teste de inibição de crescimento algal com *Skeletonema costatum*. Netherlands Normalisatie-institut (NNI). Norma ISO/TC 147/SC 5/WG5 N° 120, 1988.**

Princípio: Teste para avaliação de toxicidade de amostras líquidas (águas superficiais, efluentes, elutriados de sedimentos, soluções de substâncias puras etc.)

com salinidade. Também indicado para amostras sem salinidade onde saliniza-se artificialmente as amostras.

Mostra excelente sensibilidade para detecção de contaminantes de esgotos sanitários, metais pesados e pesticidas. No método, células algais monoespecíficas são cultivadas por várias gerações em um meio de cultivo contendo uma série de concentrações da substância teste preparada misturando-se apropriadas quantidades de nutrientes concentrados, água do mar, soluções estoques da substância teste e um inóculo de células algais em crescimento exponencial.

As soluções teste são incubadas por um período mínimo de 72 horas, durante o qual a biomassa é medida no início ( $T_0$ ) e fim ( $T_{72}$ ) da incubação. A inibição é medida como a redução em crescimento ou taxa de crescimento relativo à cultivos controle que crescem sob condições idênticas. São gerados resultados de CENO (máxima concentração em que não observa-se efeito tóxico no efluente), considerando-se uma gama de diluições do efluente a partir de 100%.

- **Procedimentos gerais para os testes com microalgas**

As amostras de efluentes, após a coleta, o pré-condicionamento e as análises físico-químicas descritas no item 2.1, foram filtradas em filtro GF/F 0,4  $\mu\text{m}$  de porosidade antes de serem utilizadas nos ensaios ecotoxicológicos. Este procedimento é feito para eliminar possíveis partículas em suspensão que podem gerar turbidez nos frascos-teste.

Os testes foram realizados em triplicata utilizando-se seis (06) diluições a partir da mais concentrada possível, com fator de diluição de 0,5 e provas em branco (controle) constituindo-se de meio de cultivo puro. Foram utilizados frascos de ensaio de 250 ml, onde em cada frasco era inoculada a concentração referida do efluente, diluída em água do mar autoclavada e filtrada, meio de cultura em concentrações balanceadas (meio F/2 *S. costatum*), e um inóculo algal em crescimento exponencial (volume fixo para todos os frascos), constituindo um volume total em cada frasco de aproximadamente 150 ml.

A duração dos testes foi de 72 horas. As condições de teste foram de luz constante, com aproximadamente  $80\mu\text{E}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  de irradiância e à temperatura de  $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ . Todos os frascos de ensaio foram mantidos em agitação constante (agitadores orbitais) na bancada iluminada.

Alíquotas de 3ml para determinação da biomassa inicial ( $T_0$ ) e final ( $T_{72}$ ) foram retiradas, sem reposição, logo após a inoculação das algas nos frascos-teste e subsequente homogeneização ( $T_0$ ) e ao completar 72h de incubação, após homogeneização ( $T_{72}$ ). Em ambos os casos foi feita, imediatamente após a retirada da alíquota, a leitura *in vivo* da fluorescência de clorofila-a (Fluorímetro Turner TD-700, pré calibrado com extrato acetônico de clorofila-a). Esse valor de fluorescência de clorofila-a é o indicativo de biomassa das microalgas, pois a concentração de clorofila-a é diretamente proporcional a densidade de células de microalgas.

Com os dados de biomassa inicial e final de cada amostra, foram calculadas as taxas de crescimento algal através da equação de crescimento exponencial (equação 1). As taxas de crescimento das amostras foram comparadas com as taxas de crescimento do controle, gerando para cada amostra um valor de percentual de inibição em relação ao controle (equação 2). Esses dados de inibição foram analisados estatisticamente (análise de variância) para verificar a significância dos valores. A maior concentração do efluente que se apresentasse significativamente igual ao controle foi considerada o CENO (concentração de efeito

não observado). Concentrações maiores (=diluições menores) foram consideradas efetivas (com efeito).

Equação 1:

$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_0}{t_n}$$

onde:  $\mu$  é a taxa de crescimento celular;  
 $N_0$  é a fluorescência de clorofila-a inicial;  
 $N_n$  é a fluorescência de clorofila-a final;  
 $t_n$  é o tempo da medida final após o começo do teste (=72h).

Equação 2:

$$I_{\mu i} = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c} \times 100$$

onde:  $I_{\mu i}$  é a percentagem de inibição para o teste na concentração i;  
 $\mu_i$  é a taxa de crescimento médio para o teste na concentração i;  
 $\mu_c$  é a taxa de crescimento para o controle.

### 2.2.2 Teste de determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz pela bactéria *Vibrio fischeri* (teste de bactérias luminescentes – LUMISTOX/MICROTOX). ISO/TC 147/SC5 ISO/DIS 11348-1, 1996.

Princípio: Este método é aplicável a efluentes, extratos aquosos de substâncias puras ou de sedimentos, águas superficiais ou subterrâneas salgadas ou salobras e águas intersticiais com excelente sensibilidade, rapidez e baixo custo.

No método, a inibição da emissão de luz por culturas de *Vibrio fischeri* é determinada por meio de uma bateria de testes, onde volumes específicos da amostra teste (ou amostras diluídas) são combinados com suspensão de bactérias em uma cubeta. O critério do teste é a diminuição da luminescência, medida após um contato de 15 ou 30 min ou, opcionalmente, 5 min, levando em consideração um fator de correção ( $I_{f_{kt}}$ ), que é uma medida da intensidade de mudança de amostras controle durante o tempo de exposição.

#### • Procedimentos gerais para os testes LUMISTox

O teste com bactérias luminescentes é um bioensaio padronizado através de normas nacionais (DIN 38412 L 34/341) e internacionais (ISSO/DIS 11384). Além disso, é indicado pela Portaria nº 017/02 (FATMA – SC – 18/04/2002), que estabelece os limites máximos de toxicidade aguda para efluentes industriais em Santa Catarina.

Para a execução dos ensaios foi utilizado o equipamento LUMISTox 300, acoplado a um microcomputador com aplicativo específico de tratamento estatístico dos resultados, produzido pelo fabricante (Dr. Lange, Alemanha). As cepas de bactérias luminescentes também acompanham o equipamento, constituindo o pacote LUMISTox LCK 480/2/7/9. Cepas de reposição das bactérias são repicadas e mantidas no Laboratório de Microbiologia Aplicada.

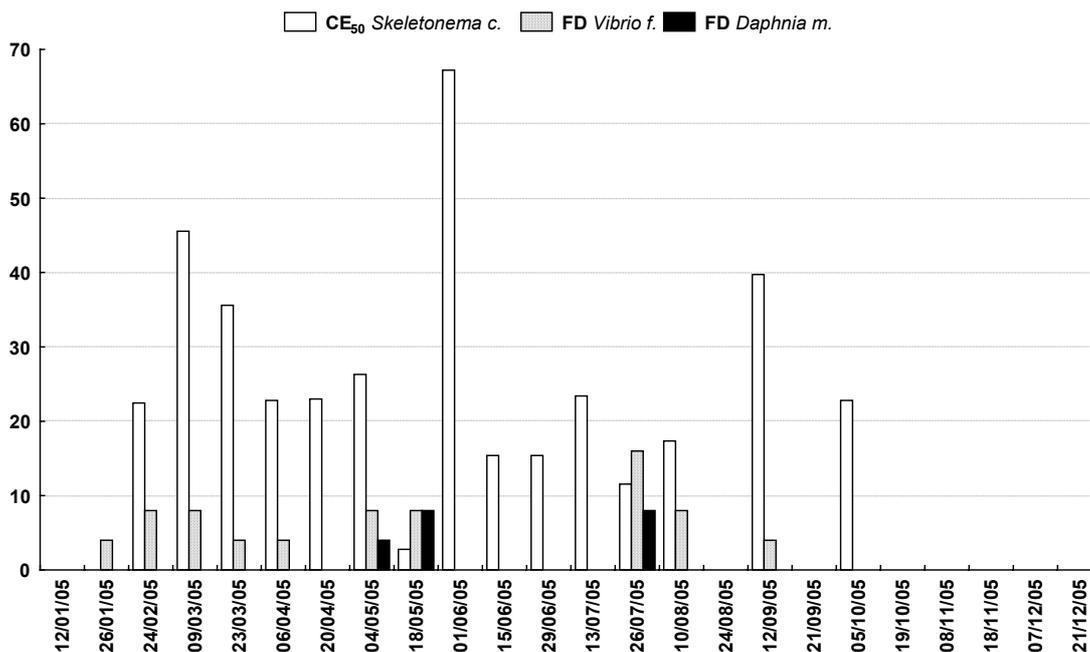
O procedimento geral realizado foi o seguinte (conforme ISO, 1997): As amostras de efluente tiveram o pH corrigido para ficar entre 6 e 8,5, utilizando soluções padrão de NaOH e HCl. Em seguida a salinidade das amostras foi ajustada para 20‰, já que as bactérias *Vibrio fischeri* são halófilas. O inóculo de bactérias, constituído da ressuspensão em meio de cultura por 2-5 dias (20°C) de uma unidade do pacote de bactérias liofilizadas NRRL B-11177, forma a cultura principal a ser adicionada às amostras. Com as amostras de efluente foram preparadas as séries de diluições para o teste, em duplicata, sendo introduzidas no suporte de refrigeração para manutenção da temperatura a 15°C. Paralelamente, foram tratados como amostra duas réplicas do meio de cultura (controle). Após a ambientação das culturas experimentais e do controle, era feita a inoculação do cultivo padrão (500µl) de bactérias e determinada a luminosidade inicial de cada amostra e do controle. A luminosidade final era medida após 30 min de exposição. A análise estatística dos resultados foi realizada com aplicativo computacional que acompanha o luminômetro Lumistox, sendo os resultados expressados em percentual de inibição da luminescência. Com esses dados pôde ser calculada a máxima concentração de efluente que não gera efeito (CENO), ou a menor diluição que não causa efeito (LID), que indicam o grau de toxicidade dos efluentes. Nos resultados foram apresentados os Fatores de Diluição (FD) que geraram inibições de luminescência maiores que 20%, conforme recomendações do método oficial.

### 3 RESULTADOS

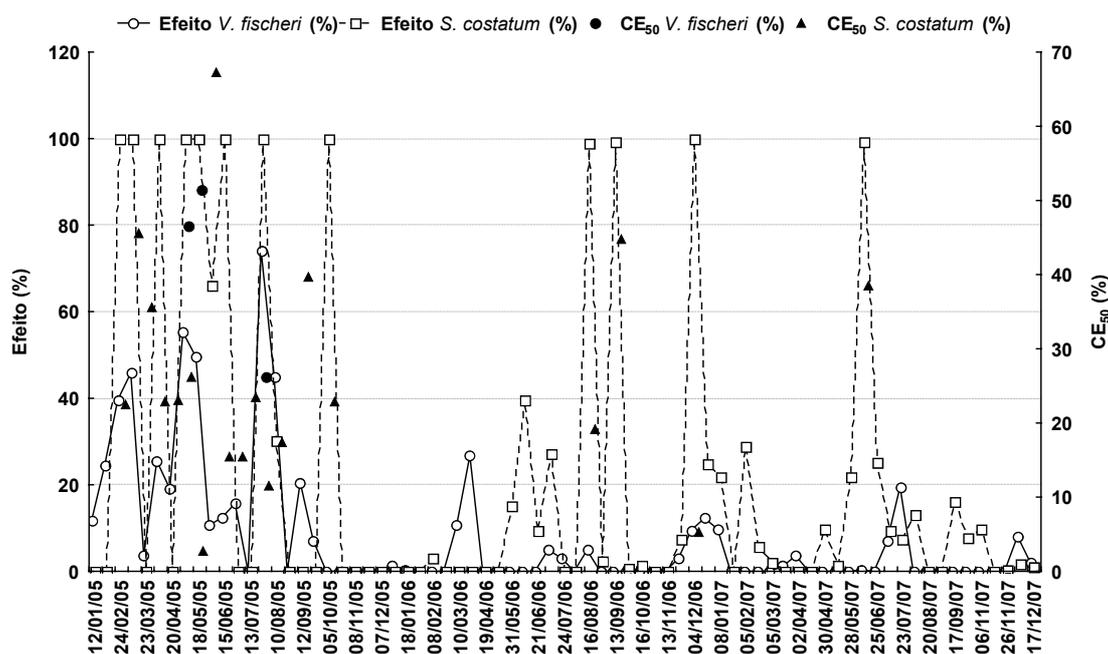
Os testes com *V. fischeri* mostraram oscilações na toxicidade do efluente final da ArcelorMittal Vega, sendo que apenas uma das amostras analisadas no presente estudo ultrapassou o limite de FD estabelecido pela Portaria 017/02 da FATMA-SC (Figura 1. data 26/07/05). Apenas em três ocasiões foi possível o cálculo do parâmetro CE<sub>50</sub>.

Os ensaios com *Skeletonema costatum* mostraram os maiores valores de toxicidade, indicando, como nos estudos anteriores realizados com os efluentes da ArcelorMittal Vega, que esse organismo-teste é o mais sensível para detectar toxicidade nesses efluentes. Os valores extremos de toxicidade foram verificados em todo o ano de 2005 e posteriormente foi observada a diminuição da frequência e severidade da toxicidade ao longo dos anos de 2006 e 2007 (Figura 2).

Já os ensaios com *Daphnia magna* foram os que mostraram os menores valores de toxicidade entre os três organismos testados. Na verdade, somente três amostras (04/05/05; 18/05/05 e 26/07/05) demonstraram algum efeito, sendo que nas demais amostras não houve efeito algum nem com o efluente a 100% (Figura 1).



**Figura 1.** Período de monitoramento do efluente final da ArcelorMittal Vega, no ano de 2005 com três organismos testados. Valores de FD para a bactéria *Vibrio fischeri* (Lumistox) e o microcrustáceo *Daphnia magna* e valores de CE<sub>50</sub> (%) para a microalga *Skeletonema costatum*.



**Figura 2.** Valores da porcentagem de efeito obtidas no monitoramento com a bactéria *Vibrio fischeri* (Lumistox) e com a microalga *Skeletonema costatum* para as amostras do efluente final da ArcelorMittal Vega, coletadas entre janeiro de 2005 e dezembro de 2007. Os símbolos dispersos na figura indicam valores de CE<sub>50</sub> (%) para os organismos testados.

#### 4 DISCUSSÃO

No monitoramento do ano de 2005 foram realizados simultaneamente os ensaios com a bactéria *V. fischeri*, a microalga *S. costatum* e o microcrustáceo *D. magna*. O microcrustáceo foi o menos sensível durante este ano de monitoramento

alcançando apenas em três ocasiões valores de toxicidade suficientes para definição do FD (valores de imobilidade superiores a 20%). Neste mesmo período a bactéria alcançou valores de inibição em 10 ocasiões das 24 amostradas e a microalga em 13.

Neste estudo durante os três anos de monitoramento a microalga *S. costatum* foi a mais sensível à tipologia dos efluentes testados, resultados estes também observados em outros estudos comparativos realizados em 1984<sup>(5)</sup> e em 1986<sup>(6)</sup>.

Rörig et al.<sup>(7)</sup> em estudo com os mesmos três organismos deste monitoramento (*V. fischeri*, *D. magna* e *S. costatum*), realizado no ano de 2005 testando amostras de um ribeirão urbano, obteve resultados que reforçam a maior sensibilidade da microalga. Em todas as amostras tóxicas a microalga chegou a ser sete vezes mais sensível que a bactéria e até cinco vezes mais que o microcrustáceo. Thomas et al.<sup>(6)</sup> ainda confirmam que o fitoplâncton de maneira geral é mais sensível a substâncias tóxicas tais como metais e compostos orgânicos do que organismos de níveis tróficos superiores. Essa informação confere com a tipologia dos possíveis poluentes do efluente em questão.

Estes dados iniciais foram suficientes para definir a substituição do ensaio legalmente requerido do microcrustáceo, pelo ensaio com a microalga, uma vez que esta demonstrou uma sensibilidade superior em todo o período do monitoramento do efluente testado.

Com isto a partir do ano de 2006 os efluentes da empresa foram monitorados apenas com os organismos *V. fischeri* e *S. costatum*. Portanto considerando apenas o monitoramento com a microalga e a bactéria, durante os três anos de monitoramento a microalga foi em todos os momentos mais sensível.

Um exemplo desta colocação é o número de vezes em que o cálculo do parâmetro CE<sub>50</sub> foi possível. Em 17 vezes foi possível o cálculo para a microalga sendo que apenas em 3 ocasiões o mesmo foi calculado para a bactéria (Figura 2). A metodologia do cálculo deste parâmetro teve como prerrogativa a necessidade que a amostra testada causasse um efeito mínimo de 50%, ou seja, em apenas três vezes este valor de inibição foi alcançado pela bactéria *V. fischeri* e em 17 oportunidades esta condição se repetiu para a microalga *S. costatum*.

Mesmo assim a bactéria *V. fischeri* acompanhou a maior parte dos picos de efeito evidenciados pelo ensaio com a microalga, apesar de demonstrar menor sensibilidade quando comparado ao mesmo. A partir da amostragem do dia 08/11/05 a frequência e severidade dos efeitos causados pelas amostras subsequentes, decaíram visivelmente (Figura 2).

Para a microalga *Skeletonema costatum*, que foi o organismo mais sensível ao efluente, também após a data de 08/11/05 houve queda abrupta da toxicidade, refletindo a eficiência das práticas de controle no tratamento de efluentes já citadas acima na discussão dos resultados para *Vibrio fischeri*. Após esta data os valores de porcentagem de efeito elevados foram bastante variáveis, mas em menor número e evidenciando pequenas mudanças nas características dos efluentes e a elevada sensibilidade do teste com *S. costatum*. Um fato importante a ser ressaltado é que o ensaio com a microalga não é exigido pelo órgão ambiental, mas a empresa decidiu por executá-lo. Essa opção possibilitou um controle mais rígido da qualidade dos efluentes, já que como citado anteriormente a microalga responde melhor que os outros organismos, o que permite uma margem de segurança mais exigente que a própria legislação estadual.

O tipo de monitoramento realizado pela ArcelorMittal Vega em conjunto com a Univali é inédito em Santa Catarina e mostrou-se muito útil para a empresa avaliar a

eficiência de suas práticas de controle de poluição e para esclarecer autoridades e opinião pública sobre essas questões. Por um lado, a empresa ganha credibilidade e capacidade de gestão ambiental e por outro lado, a universidade ganha experiência prática para alunos e professores e infra-estrutura útil às atividades de ensino, pesquisa e extensão.

## 5 CONCLUSÃO

A definição do termo bioindicadores se faz necessária e de acordo com Viarengo et al.,<sup>(6)</sup> bioindicadores são definidos como qualquer resposta a um contaminante ambiental ao nível individual, medidos no organismo ou matriz biológica, indicando um desvio do status normal que não pode ser detectado no organismo intacto. Ou seja, são medidas de fluidos corporais, células, tecidos ou medidas realizadas sobre o organismo completo, que indicam, em termos bioquímicos, celulares, fisiológicos, compartimentais ou energéticos, a presença de substâncias contaminantes ou a magnitude da resposta do organismo alvo. Os bioindicadores possuem duas características importantes: (a) permitem identificar as interações que ocorrem entre os contaminantes e os organismos vivos; e (b) possibilitam a mensuração de efeitos sub-letais.

Estas características permitem neste caso pôr em prática ações remediadoras ou, melhor ainda, ações preventivas. Daí a importância e o interesse atual de incorporação deste ensaio com a microalga *S. costatum* neste programa de avaliação da possível contaminação ambiental causada pelo efluente em questão.

Estas características somadas a sensibilidade, simplicidade e baixo custo do método o credencia como um bioindicador em potencial.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a empresa ArcelorMittal Vega pelo apoio ao trabalho e pelo interesse em subsidiar pesquisas aplicadas em convênio com universidades.

## REFERÊNCIAS

- 1 SWARTZ, R.C.. Toxicological methods for determining the effects of contaminated sediment on marine organisms. Pergamon Press, Oxford, 183-198, 1987.
- 2 COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. *Procedimentos para utilização de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos*. São Paulo, CETESB, p. 1-13, 1992. (Série Manuais).
- 3 GOLDSTEIN, E. G. Testes de toxicidade de efluentes industriais. In: *Revista Ambiente*, v. 2, n. 2, p. 33-38, 1988.
- 4 RIOBOO, C.; GONZÁLEZ, O.; HERRERO, C. E CID, A. Physiological response of freshwater microalga (*Chlorella vulgaris*) to triazine and phenylurea herbicides. *Aquatic Toxicology*, v. 59, 225-235, 2002.
- 5 BLANCK, H.. Species dependent variation among aquatic organisms in their sensitivity to chemicals. *Ecol. Bull*, v. 36, p.107-119, 1984.
- 6 THOMAS J.M. ; SKALSKI J. R.; CLINE J. F. Characterization of chemical waste site contamination and determination of its extent using bioassays. *Environ. Toxicol Chem.*, v. 5, p. 487-501, 1986.

- 7 RÖRIG, LR.A; TUNDISI, JG.B; SCHETTINI, CAF.A; PEREIRA-FILHO, J.A; MENEZES, JT.A; ALMEIDA, TCM.A; URBAN, SR.A; RADETSKI, CM.A; SPERB, RC.A; STRAMOSK, C.A; MACEDO, RS.A; CASTRO-SILVA, MA.A E PEREZ, JAA.. From a water resource to a point pollution source: the daily journey of a coastal urban stream. *Braz. J. Biol.*, v. 67(4), p. 631-637, 2007.
- 8 VIARENGO, A., LAFaurIE, M.; GABRIELIDES, G.P.; FABBRI, R.; MARRO, A.; ROMEO, M. Critical evaluation of an intercalibration exercise undertaken in the framework of the MED POL biomonitoring program. *Marine Environmental Research*, v. 49, p. 1-8, 2000.