

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS

**CARACTERIZAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA, VARIÁVEIS FÍSICAS, QUÍMICAS E
VAZÕES DOS EFLUENTES LÍQUIDOS DE UMA PLANTA DE NITROCELULOSE
E TRINITROTOLUENO (TNT).**

José Edimar de Souza

Itajubá, dezembro de 2017

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS**

José Edimar de Souza

**CARACTERIZAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA, VARIÁVEIS FÍSICAS, QUÍMICAS E
VAZÕES DOS EFLUENTES LÍQUIDOS DE UMA PLANTA DE NITROCELULOSE
E TRINITROTOLUENO (TNT).**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Recursos Hídricos como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Meio Ambiente e Recursos Hídricos

Área de Concentração: Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Orientadora: Dra. Ana Lúcia Fonseca
Coorientadora: Dra. Andreia Maria da A. Gomes

**Dezembro de 2017
Itajubá (MG)**



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
Criada pela Lei nº 10.435, de 24 de abril de 2002

A N E X O I
FOLHA DE JULGAMENTO DA BANCA EXAMINADORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEIO AMBIENTE E RECURSOS
HÍDRICOS

Título da Dissertação: **“Caracterização ecotoxicológica, variáveis físicas, químicas e vazões dos efluentes líquidos de uma planta de nitrocelulose e trinitrotolueno (TNT)”**

Autor: **José Edimar de Souza**

JULGAMENTO

Examinadores	Conceito A = Aprovado - R = Reprovado	Rubrica
2 ^a	Aprovado	
3 ^a	Aprovado	
4 ^a	Aprovado	

Observações:

- (1) O Trabalho será considerado Aprovado se todos os Examinadores atribuírem conceito A.
(2) O Trabalho será considerado Reprovado se forem atribuídos pelos menos 2 conceitos R.
Este documento terá a validade de 30 (trinta) dias a contar da data da defesa da Dissertação.

Resultado Final: Conceito: A, ou seja, APROVADO

Observações: _____

Itajubá, 18 de dezembro de 2017

Prof.ª Dr.ª Herlane Costa Calheiros
2ª Examinadora – UNIFEI

Prof.ª Dr.ª Andreia Maria da Anunciação Gomes
3ª Examinadora (Coorientadora) – UNIFEI

Prof.ª Dr.ª Ana Lúcia Fonseca
4ª Examinadora (Orientadora) – UNIFEI

Dedico este trabalho as pessoas mais importantes, minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais, irmão, irmãs e namorada pelo apoio, amor, amizade, incentivo e ajuda.

À minha orientadora e amiga Profa. Dra. Ana Lúcia Fonseca, amizade desde os tempos da graduação, pelo apoio, preocupação, comprometimento, conselhos e ensinamentos transmitido.

À minha coorientadora e, também, amiga Profa. Dra. Andreia Maria da A. Gomes por toda ajuda, atenção e dedicação.

À Profa. Dra. Teresa Cristina B. de Paiva, Profa. Dra. Herlane Costa Calheiros e Profa. Pós-Doutoranda Katiucia, Profa. Dra. Clarice Maria Rispoli Botta ao doutorando Lucas Gonçalves Queiroz e as técnicas Aparecida e Elaine pelas contribuições e ajuda durante o desenvolvimento desse trabalho.

Ao amigo Cel. Antonio Eleazar de Moraes.

Aos colegas e amigos do curso de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Recursos Hídricos, em especial à Patrícia, pela ajuda e troca de conhecimentos.

Aos demais professores, funcionários e colegas do IRN/UNIFEI.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro.

À Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI), e a Escola de Engenharia de Lorena (EEL – USP) pela utilização das instalações e equipamentos.

Aos colaboradores diretos e indiretos deste trabalho e a todas as pessoas que contribuíram para a realização do mesmo.

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.”
Albert Einsten.

RESUMO

A realização de ensaios ecotoxicológicos em conjunto com a quantificação e identificação dos poluentes que caracterizam os efeitos tóxicos presentes nos efluentes são de suma importância na concepção de um sistema de tratamento. Nesse sentido o objetivo deste estudo foi realizar estas análises com os efluentes de indústrias produtoras de nitrocelulose e trinitrotolueno (água amarela). O estudo foi conduzido com a determinação das vazões dos efluentes líquidos, realização dos ensaios de efeito de toxicidade aguda (CE50), com o organismo *Daphnia similis*, e os ensaios de efeito de toxicidade crônica (CI50), com *Raphidocelis subcaptata* conforme normas ABNT. A caracterização das variáveis físicas e químicas dos efluentes industriais foi realizada com base no lançamento de efluentes em coleções de água de classe II de acordo com o artigo nº 18, do Decreto nº 8.468/1976 do Estado de São Paulo. Os resultados da caracterização física e química indicaram desconformidades nos parâmetros de acidez, chumbo total, DBO, DQO e nitrato, para a efluente água amarela (TNT) e acidez, DQO e nitrato para o efluente de nitrocelulose. Levando em consideração os ensaios de efeito agudo com o ajuste do pH, com *D. similis*, obteve-se como resultado uma CE50 de 2,06% (1,81% – 2,35%) para o efluente água amarela, e CE50 de 11,5% (7,14% – 18,61%) para o efluente da nitrocelulose, ou seja, valores extremamente baixos já causam efeitos tóxicos aos organismos. Para o ensaio de efeitos crônicos com *R. subcaptata*, obteve-se uma CI50 de 1,68% para o efluente da água amarela e 63,75% para o efluente da nitrocelulose. As vazões obtidas em um período de 24h demonstraram um volume médio de 3,45 m³/h, (máximo de 4,6 m³/h e mínimo de 2,5 m³/h) para o efluente água amarela e de 36,29 m³/h, (máximo de 108,65 m³/h e mínimo de 7,65 m³/h) para nitrocelulose. Tais variações nos volumes são devido aos diferentes processos na produção. Com base nestes resultados foi possível calcular a D.E.R (Diluição do Efluente no Corpo Receptor) de acordo com o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), e a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), obtendo os valores de 0,85% e 0,46% para o efluente água amarela e 16,84% e 1,41% para o da produção da nitrocelulose. Tais valores não atendem a resolução CONAMA nº 430/2011, no quesito toxicidade.

Palavras-chave: Poluentes industriais; ensaios de toxicidade; indústrias de explosivos; legislação ambiental; corpos hídricos.

ABSTRACT

The conduct of ecotoxicological tests together with the quantification and identification of the pollutants that characterize the toxic effects present in the effluents are of great importance in the design of a treatment system. In this sense, the objective of this study was to carry out these analyzes with effluents from industries of nitrocellulose and trinitrotoluene (yellow water). The study was conducted with the determination of liquid effluent flow rates, the acute toxicity test (EC50) with the organism *Daphnia similis* and the chronic toxicity tests (IC50) with *Raphidocelis subcapitata* according to ABNT standards. The characterization of the physical and chemical variables of industrial effluents was carried out based on the release of effluents into class II water collections in accordance with article no. 18, of Decree no. 8.468/1976 of the State of São Paulo. The results of the physical and chemical characterization indicated nonconformities in the parameters of acidity, total lead, BOD, COD and nitrate, for the yellow water effluent (TNT) and acidity, COD and nitrate for the nitrocellulose effluent. Taking into account the acute effect tests with pH adjustment with *D. similis*, an EC50 of 2.06% (1.81% - 2.35%) was obtained for the yellow water effluent, and EC50 from 11.5% (7.14% - 18.61%) to the nitrocellulose effluent, ie extremely low values already cause toxic effects to organisms. For the chronic effects test with *R. subcapitata*, an IC50 of 1.68% was obtained for the yellow water effluent and 63.75% for the nitrocellulose effluent. Flows obtained in a period of 24h showed an average volume of 3.45 m³/h (maximum of 4.6 m³/h and minimum of 2,5 m³/h) for the yellow water effluent and 36.29 m³/h (maximum of 108.65 m³/h and minimum of 7.65 m³/h) for nitrocellulose. Such variations in volumes are due to different processes in production. Based on these results, it was possible to calculate the D.E.R (Dilution of Effluent in the Receiving Body) according to the National Environmental Council (CONAMA) and the Environmental Company of the State of São Paulo (CETESB), obtaining values of 0.85% and 0.46% for the yellow water effluent and 16.84% and 1.41% for the production of nitrocellulose. These values do not comply with CONAMA resolution no. 430/2011, in terms of toxicity.

Keywords: Industrial pollutants; toxicity testing; explosives industries; environmental legislation; water bodies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química teórica da nitrocelulose totalmente nitrada (OSSA et al., 2012)	21
Figura 2 – Fluxograma do processo de fabricação da nitrocelulose e efluentes produzidos (adaptado de SANTOS, 2001).....	22
Figura 3 – Estrutura química do trinitrotolueno (AYOUB et al., 2010).	23
Figura 4 – Principais localidades de produção e beneficiamento de explosivos no Brasil (adaptado de RODRIGUES et al., 2007).....	24
Figura 5 – Processo de produção do trinitrotolueno em três estágios (adaptado, EPA 1983).	24
Figura 6 – Procedimentos para a obtenção do trinitrotolueno e os efluentes água amarela e água vermelha (adaptado, Cavalotti, 2008).	26
Figura 7 - <i>Chlorella vulgaris</i> e <i>Scenedesmus subspicatus</i>	32
Figura 8 – <i>Raphidocelis subcapitata</i>	32
Figura 9 – <i>Daphnia similis</i>	33
Figura 10 – <i>Daphnia magna</i>	33
Figura 11 – <i>Ceriodaphnia sp.</i>	34
Figura 12 - Ponto de medição da caixa de saída dos efluentes oriundos da produção do trinitrotolueno e nitrocelulose. Fonte: Própria.	36
Figura 13 - Ponto de medição da vazão do efluente da nitrocelulose. Fonte: Própria.	37
Figura 14 - Ponto de medição da vazão do efluente do trinitrotolueno, água amarela. Fonte: Própria.	37
Figura 15 - Ensaio preliminar de toxicidade aguda com o efluente água amarela utilizando o organismo <i>D. similis</i> . Fonte: Própria.	40
Figura 16 - Ensaio preliminar de toxicidade aguda com o efluente da nitrocelulose utilizando o organismo <i>D. similis</i> . Fonte: Própria.	40
Figura 17 - Ensaio de toxicidade crônica utilizando o efluente água amarela com o inoculo celular de <i>R. subcapitata</i> , com temperatura, intensidade luminosa e agitação constantes. Fonte: própria.	41
Figura 18 - Ensaio de toxicidade crônica utilizando o efluente da nitrocelulose com o inoculo celular de <i>R. subcapitata</i> , com temperatura, intensidade luminosa e agitação constantes. Fonte: própria.	42
Figura 19 - Valores das vazões (m ³ /h) do efluente água amarela (TNT) no intervalo de 24 horas e os respectivos intervalos de confiança durante os dias 08 e 09/04/2017.	43

Figura 20 - Inibição, em porcentagens, da <i>D. similis</i> obtida nos ensaios estáticos de toxicidade aguda, com o efluente água amarela. Ensaios realizados no período de 25/04 a 27/04 de 2017.	46
Figura 21 - Inibição, em porcentagens, da <i>D. similis</i> obtida nos ensaios estáticos de toxicidade aguda, com o efluente água amarela. Ensaios realizados no período de 25/04 a 27/04 de 2017.	49
Figura 22 - Inibição, em porcentagens, da <i>D. similis</i> obtida nos ensaios estáticos de toxicidade aguda, com o efluente água amarela. Ensaios realizados no período de 25/04 a 27/04 de 2017.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tipos de nitrocelulose em função do teor de nitrogênio e usos.	21
Tabela 2 – Proporções dos ácidos utilizados no processo de produção do trinitrotolueno. ..	24
Tabela 3 – Limites de toxicidade e carcinogenicidade do trinitrotolueno.....	25
Tabela 4 – Composições físicas e químicas do efluente água amarela (TNT).....	27
Tabela 5 – Testes de toxicidade padronizados pela ABNT para os efluentes lançados em rios de água doce.	28
Tabela 6 – Padrões de lançamentos do efluente em rios de classe II de acordo com o artigo nº 18 do Decreto nº 8.468/1976 (atualizado com a redação dada pelo Decreto nº 54.487/2009) e metodologias usadas na caracterização do efluente.	38
Tabela 7 – Resultados das análises físicas e químicas do efluente água amarela (TNT), de acordo com o artigo nº 18 e 11 do Decreto nº 8.468/1976 (atualizado com a redação dada pelo Decreto nº 54.487/2009).	43
Tabela 8 - Concentrações máximas de nitrato e nitrito de acordo com o Decreto nº 8.468 de 1976 e a Resolução CONAMA nº 357/2005 e CONAMA nº 430/2011.	45
Tabela 9 – Resultados preliminares do ensaio de toxicidade aguda com <i>D. similis</i> , com o efluente água amarela (TNT) e variáveis físicas e químicas.	45
Tabela 10 - Dados comparativos de CE50 48h para <i>D. similis</i> com pH original e neutralizado das amostras dos efluentes da produção de TNT (água amarela).....	47
Tabela 11 – Valores de concentração de Inibição à 50% da população (CI50%), obtidos dos ensaios de toxicidade crônica utilizando os organismos <i>R. subcaptata</i> , com pH ajustado da amostra do efluente da produção do TNT (água amarela).	47
Tabela 12 – Resultados das análises físicas e químicas do efluente da nitrocelulose, de acordo com o artigo nº 18 e 11 do Decreto nº 8.468/1976 (atualizado com a redação dada pelo Decreto nº 54.487/2009).	50
Tabela 13 – Resultados preliminares do ensaio de toxicidade aguda com <i>D. similis</i> , utilizando o efluente da nitrocelulose.	51
Tabela 14 - Valores de CE50 48h, para <i>D. similis</i> com pH original e neutralizado com amostras dos efluentes da produção da nitrocelulose.	53
Tabela 15 - Resultados de CI50% com <i>R. subcaptata</i> , com pH ajustado da amostra do efluente da produção da nitrocelulose.	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TNT	Trinitrotolueno
EUA	Estados Unidos da América
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
ETE	Estação de Tratamento de Efluentes
NIOSH	<i>United States National Institute of Occupational Safety and Health</i>
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
OSHA	<i>Occupational Safety and Health Administration</i>
DQO	Demanda Química de Oxigênio
CECR	Concentração do Efluente no Corpo Receptor
D.E.R	Diluição do Efluente no Corpo Receptor
FT	Fator de Toxicidade
NC	Nitrocelulose
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
TIE	<i>Toxicity Identification and Evaluation</i>
AA	Água Amarela
AV	Água Vermelha
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
NBR	Norma Brasileira
CENO	Concentração de Efeito Não Observado
CEO	Concentração de Efeito Observado
VC	Valor Crônico
IC	Intervalo de Confiança
SMA	Secretaria do Meio Ambiente
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
EEL/USP	Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo
UNIFEI	Universidade Federal de Itajubá
DEBIQ	Departamento de Biotecnologia

LISTA DE SÍMBOLOS

Ni	Níquel
Se	Selênio
NO ₃ ⁻	Nitrato
NO ₂ ⁻	Nitrito
SO ₄ ⁻²	Sulfato
µm	Micrômetro
µg	Micrôgrama
mg	Miligrama
µS	Microsiemens
CL50%	Concentração Letal a 50% da população
CL25%	Concentração Letal a 25% da população
CI50%	Concentração Inibitória a 50% dos organismos expostos
DL50%	Dose Letal a 50% da população
OD	Oxigênio Dissolvido
TDI	Dose Tolerável Diária
CaCO ₃	Carbonato de Cálcio
Fe	Ferro
Mn	Manganês
(C ₆ H ₇ O ₂ (OH) ₃) _x	Celulose
HNO ₃	Ácido Nítrico
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
(C ₆ H ₇ O ₂ (ONO ₂) ₃) _x	Nitrocelulose
H ₂ O	Água
NaOH	Hidróxido de Sódio
Zn	Zinco
Ba	Bário
Cu	Cobre
Na ₂ SO ₃	Sulfito de Sódio

CE50	(Concentração Efetiva): concentração real da amostra que causa efeito agudo a 50% dos organismos no tempo de exposição, nas condições de ensaio
CL50	(Concentração Letal): concentração real da amostra capaz de levar a óbito 50% dos organismos no tempo de exposição, nas condições de ensaio
Pb	Chumbo
Cr	Cromo
N	Nitrogênio
nm	Nanômetro
mm	Milímetro
m ³	Metros cúbicos
pH	Potencial Hidrogeniônico
°C	Graus Celsius
Rpm	Rotações por minuto
L	Litros
ml	Mililitros

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
1.2. Objetivos.....	19
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	20
2.1. Indústrias de explosivos.....	20
2.1.1. Nitrocelulose.....	20
2.1.2. 2,4,6-Trinitrotolueno (TNT).....	23
2.1.3. Água amarela.....	27
3. BIOENSAIOS DE TOXICIDADE.....	28
4. ORGANISMOS-TESTE.....	30
4.1. Produtores primários.....	31
4.2. Consumidores primários.....	32
4.4. Legislação.....	34
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
5.1. Local de estudo.....	35
5.2. Coleta das amostras dos efluentes.....	35
5.3. Medições das vazões.....	36
5.4. Caracterização das variáveis físicas e químicas.....	38
5.5. Ensaio ecotoxicológicos estáticos.....	39
5.5.1. Cultivo e manutenção de <i>Daphnia similis</i>	39
5.5.2. Determinação do efeito agudo com o microcrustáceo <i>Daphnia similis</i> ...	39
5.5.3. Cultivo e manutenção de <i>Raphidocelis subcapitata</i>	41
5.5.4. Determinação do efeito crônico com alga <i>Raphidocelis subcapitata</i>	41
6. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
6.1. Efluente Água Amarela (AA).....	42
6.1.1. Vazão.....	42
6.1.2. Variáveis Físicas e Químicas.....	43

6.1.3. Ensaio ecotoxicológico.....	45
6.1.3.1. Exposição aguda: <i>Daphnia similis</i>	45
6.1.3.2. Exposição crônica: <i>Raphidocelis subcaptata</i>	47
6.2. Efluente da Nitrocelulose.....	49
6.2.1. Vazão	49
6.2.2. Variáveis Físicas e Químicas.....	50
6.2.3. Ensaio ecotoxicológico.....	51
6.2.3.1. Efeito agudo - <i>Daphnia similis</i>	51
6.2.3.2. Exposição crônica: <i>Raphidocelis subcaptata</i>	53
7. CONCLUSÕES.....	56
8. RECOMENDAÇÕES.....	57
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
ANEXO A.....	64
ANEXO B.....	65

1. INTRODUÇÃO

A qualidade e a quantidade das águas disponíveis para o consumo humano vêm sendo modificadas ao longo dos anos devido, principalmente aos processos de degradação ambiental por fontes de poluentes domésticos e, principalmente, industriais com elevado efeito tóxico à biota aquática.

Segundo Chissini (2015), as substâncias tóxicas presentes nos efluentes podem afetar de maneira direta ou indireta diversas espécies, devido às alterações e relações para com os organismos no ecossistema receptor, causando efeitos adversos ao corpo hídrico.

Com o aumento da poluição das fontes de água, estima-se que mais de 40% da população mundial residirá em áreas de severa escassez hídrica até 2050 (WWAP, 2014), o que denota uma real dimensão da importância deste recurso para os seus múltiplos usos e a necessidade de preservação.

No Brasil, a degradação ambiental ocorre com os despejos de efluentes domésticos não tratados (*in natura*), em que apenas 42,67% do total produzido recebem o devido tratamento (Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento, 2015). A maioria atinge os rios e córregos sem nenhum tratamento prévio com alta carga orgânica de nutrientes (nitrogênio e fósforo) dentre outros poluentes, o que resulta em um grande consumo de oxigênio, além de contribuir para o processo de eutrofização.

Nas indústrias, a composição dos efluentes depende das características das mesmas, o que implica em diversas formas de contaminação da água, seja por componentes orgânicos, inorgânicos ou parâmetros bacteriológicos, o que reflete nas alterações dos parâmetros para lançamento deste efluente nos corpos hídricos. A caracterização dos efluentes líquidos é de grande importância para o sistema de tratabilidade a ser proposto (VESILIND; MORGAN, 2013).

No Brasil, a maioria dos explosivos é produzida pelo exército ou indústrias controladas por este órgão. A fabricação ou importação desses compostos por particulares é permitida somente com a autorização do Ministério do Exército, mesmo assim o risco de contaminação existe, uma vez que o controle do uso desses artefatos ainda é incipiente (FALONE; VIEIRA, 2004).

Nas indústrias de explosivos usa-se um grande volume de água nos diferentes processos produtivos, bem como a produção de efluentes com diferentes composições. Desta forma é de grande importância a quantificação e qualificação dos mesmos para o entendimento do potencial poluidor, bem como para um sistema de tratamento.

De acordo com Sales (2013), o consumo médio de água na produção de 1,0 kg de nitrocelulose de grau civil é de 450 litros. O alto volume de consumo justifica-se pelos diversos processos de produção, tais como: branqueamento, nitração, cozimentos, águas de lavagens, transporte dos finos etc.

Ribeiro (2008), relata que o consumo de água na produção do trinitrotolueno (TNT) é de 1.300 litros/hora considerando a fábrica em plena capacidade produtiva, e com produção mensal em torno de 60 toneladas. O efluente do TNT é composto, principalmente, por água amarela (AA), com 77% do volume, e água vermelha (AV), com 23% respectivamente.

Nos efluentes industriais provenientes da fabricação de explosivo, existe uma complexa interação entre os diversos agentes químicos presentes, fatores como concentrações, vazões e intermitência nos processos produtivos somados aos produtos químicos utilizados. O que resulta em um grande desafio para diagnosticar os fatores que geram efeitos de toxicidade crônica ou aguda nos efluentes (MACHADO, 2014).

Mesmo após os sistemas de tratamentos simplificados os efeitos agudos ou crônicos ainda podem persistir no efluente e quando lançados no corpo receptor, podem causar diversos danos à comunidade aquática e alterar de forma significativa as diversas interações existentes entre os níveis tróficos.

Para tanto, os ensaios ecotoxicológicos com organismos aquáticos (organismos testes) são requeridos por instrumentos legais voltados à proteção da biota aquática em corpos hídricos brasileiros.

As legislações federais, Resolução nº 357 de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e a Resolução CONAMA nº430 de 2011 que complementa e altera a Resolução nº 357/2005.

Como a indústria em questão está situada no estado de São Paulo, os padrões também devem atender a legislação estadual, no caso o Decreto nº 8.468/1976 (SÃO PAULO, 1976), aprovado pela Lei n.º 997, de 31 de maio de 1976.

Todas as legislações citadas são usadas para a classificação dos corpos hídricos e diretrizes ambientais visando seu enquadramento e estabelecimento das condições e padrões de lançamento de efluentes.

Estudos ecotoxicológicos com efluentes da indústria de explosivos foram realizados por Rodrigues *et al.*, (2007). Os autores afirmaram que os efluentes do TNT são preocupantes devido à elevada força iônica, resultante das altas concentrações dos sais nitrato e sulfato (NO_3^- e SO_4^{2-}).

Ribeiro (2008), identificou os efeitos de toxicidade aguda (CE50 48h) com o microcrustáceo *Daphnia similis*, para os efluentes água amarela (AA), água vermelha (AV) e o somatório de ambas nas proporções de 77% e 23%, respectivamente. Os resultados da CE50 48h foram de 0,65% (AA), 0,30% (AV) e 0,52% para a mistura, com destaque para o efluente da AV com maior efeito agudo.

Nos ensaios com os efluentes provenientes da produção de nitrocelulose, Ribeiro (2008), constatou também o efeito agudo à *D. similis* nos efluentes provenientes das etapas de deslignificação, mistura e nitração, com valores de CE50 48h igual a 0,23%, 2,64% e 22,69% respectivamente. O efluente da etapa do branqueamento causou 100% de imobilidade aos organismos até a concentração de 0,05%.

A realização de ensaios ecotoxicológicos utilizando os efluentes das etapas de produção de uma indústria de explosivos (TNT e nitrocelulose), associado a valores de vazão e caracterização das variáveis físicas e químicas, fornecerá de forma mais realista e concreta o potencial tóxico dos efluentes industriais gerados a partir dos processos químicos dessas indústrias.

1.2. Objetivos

Dada a problemática supracitada, este trabalho teve como objetivo geral avaliar os efluentes das plantas de nitrocelulose e trinitrotolueno (água amarela) através dos ensaios ecotoxicológicos, variáveis físicas e químicas, vazões dos efluentes e Diluição do Efluente no Corpo Receptor (D.E.R), podendo servir de subsídio na elaboração de um sistema de tratamento adequado. Os objetivos específicos foram:

- Quantificar os efeitos tóxicos agudos, concentração efetiva a 50% da população após 48h de exposição (CE50 48h), dos efluentes gerados na produção de nitrocelulose e TNT (água amarela) utilizando *Daphnia similis*;
- Quantificar os efeitos tóxicos crônicos, concentração inibitória a 50% da população após 72h de exposição (CI50 72h), dos efluentes gerados na produção de nitrocelulose e TNT (água amarela) utilizando *Raphidocelis subcapitata*;
- Realizar a caracterização física e química dos efluentes e indicar as desconformidades em relação às legislações vigentes em níveis estaduais e federais (Decreto nº 8.468/1976, do Estado de São Paulo e CONAMA Nº 357/2005 e 430/2011);
- Quantificar a contribuição das vazões dos efluentes de cada uma das plantas de produção.
- Avaliar o potencial de Diluição do Efluente no Corpo Receptor (D.E.R) nas máximas e mínimas vazões medidas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Indústrias de explosivos

A produção, estocagem, testes e usos dos explosivos com base nos compostos nitroaromáticos iniciou-se antes da I Guerra Mundial. Posteriormente, a maioria destas plantas de produção intensificaram suas atividades durante a II Guerra Mundial (BRUNS-NAGEL *et al.*, 1999; HESS *et al.*, 1998), o que resultou em vários locais altamente contaminados por explosivos e munições em geral (CALEGARI *et al.*, 2015; RODGERS, 2001; HESS *et al.*, 1998). Sendo que o composto TNT ainda tem uma grande participação no mercado mundial de explosivos (RODRIGUES *et al.*, 2007).

No Brasil as indústrias de produção e beneficiamento de explosivos, de uso civil e militar, encontram-se principalmente nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná devido às facilidades de logística de transporte e o uso (RODRIGUES *et al.*, 2007).

Como já mencionado, de uma forma geral os explosivos demandam vários processos químicos na sua produção com um grande consumo de água, e conseqüentemente, a geração de efluentes industriais líquidos tais como: água amarela, água vermelha, efluentes da produção de TNT e nitrocelulose dentre outros. Em particular as unidades geradoras de explosivos abordadas na presente dissertação produzem dois tipos diferentes de efluentes provenientes da produção do TNT e nitrocelulose, os quais serão descritos posteriormente.

De acordo com Santos (2001), o efluente da produção de nitrocelulose tem elevada carga de poluentes originários dos processos de produção de explosivos, principalmente as concentrações de sulfato e nitrato, e também uma elevada acidez (nitração da celulose, pH $0,85 \pm 0,02$), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), (deslignificação do algodão $5.865 \pm 128 \text{ mg.l}^{-1}$), e demanda química de oxigênio (DQO) (deslignificação do algodão $23.405 \pm 230 \text{ mg.l}^{-1}$). Devido tais características, estes efluentes deverão ser tratados por processos físicos, químicos e biológicos.

2.1.1. Nitrocelulose

Nitrocelulose (NC) (figura 01), é a designação comumente empregada para ésteres de nitrato de celulose. Dentre os polímeros, é o mais antigo e importante éster. Encontram-se grandes aplicações na sociedade civil tais como na fabricação de lacas para proteção e decoração de superfícies metálicas e de madeira, em coberturas de alta flexibilidade para papéis de embalagens, nas indústrias de tintas, de impressão, adesivos e em diversos explosivos de uso militar (TEMMING *et al.*, 1973).

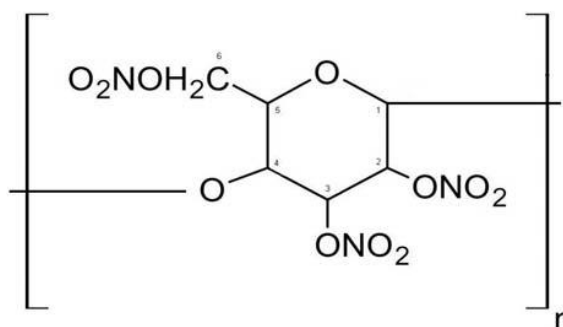
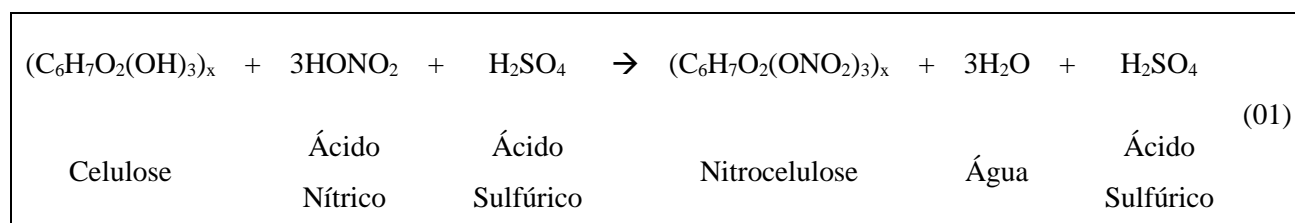


Figura 1- Estrutura química teórica da nitrocelulose totalmente nitrada (OSSA et al., 2012)

Sua preparação envolve uma mistura de nitração (equação 01), que consiste na adição de ácidos nítrico, sulfúrico e água em proporções variadas. Trata-se da principal matéria-prima nas indústrias de pólvoras, propelentes e dinamites a base de nitroglicerina (HERMANN; LUDWIGMETZ, 1959; URBANSKI, 1961).



Santos (2001), descreve que as misturas ácidas são preparadas de acordo com o grau de substituição desejado, com a variação do ácido sulfúrico e ácido nítrico. A tabela 01 ilustra os quatro tipos de nitrocelulose, que se diferenciam pelo teor de nitrogênio.

Tabela 1- Tipos de nitrocelulose em função do teor de nitrogênio e usos.

Tipo de nitrocelulose	Nitrogênio (%)	Uso
Alta	13,45	Propelentes, pólvoras de base simples e dupla.
Baixa	12,60	
Dinamite	12,20	Explosivos (dinamites).
Colódio	11,80	Tintas, vernizes, filmes.

Fonte: Santos, (2001).

O processo de fabricação da nitrocelulose envolve várias etapas (figura 02).

As características do efluente de cada etapa são:

Etapa 01 – Elevado pH, DBO, DQO e o alto índice de cor;

Etapa 02 – Elevado pH e alta concentração de cloro;

Etapa 03 – pH extremamente ácido.

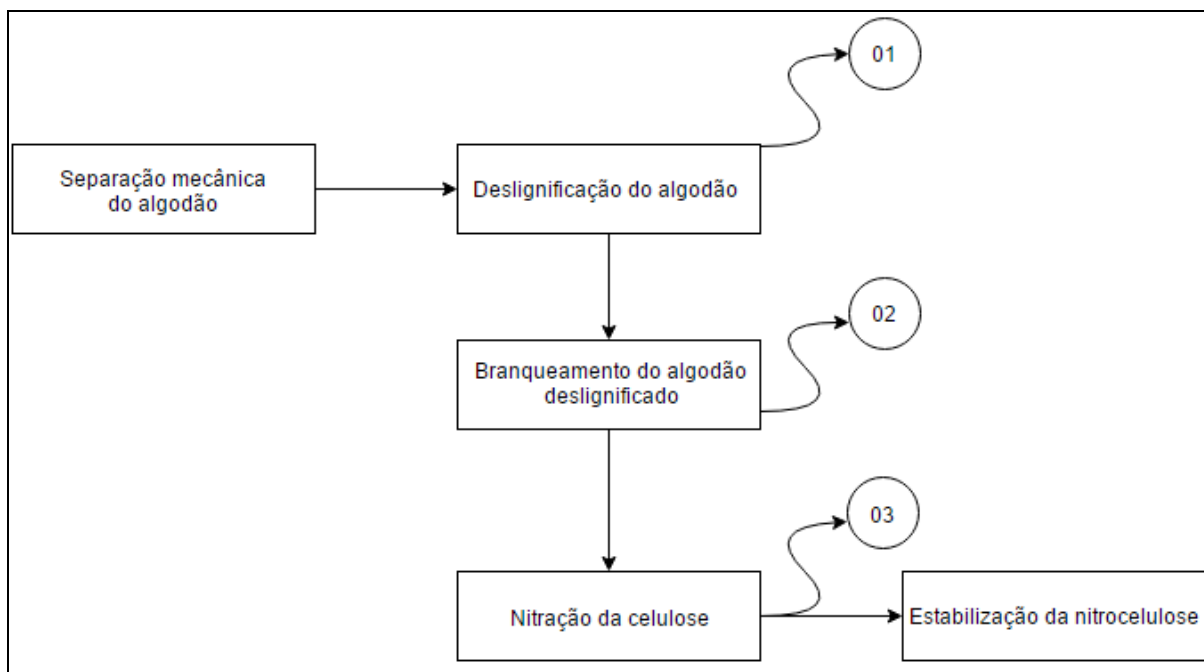


Figura 2 – Fluxograma do processo de fabricação da nitrocelulose e efluentes produzidos (adaptado de SANTOS, 2001).

Sales (2013), enfatiza o grande consumo de água utilizado no processo de produção da nitrocelulose nas diversas etapas, sobretudo nas lavagens realizadas para a retirada da acidez do produto.

A produção de nitrocelulose gera grandes volumes de águas residuárias para tratamento e descarte. Devido a altos valores de DBO, compostos clorados, sólidos em suspensão, fibras, ácidos, lignina e seus derivados, enxofre e seus compostos, podem causar danos consideráveis nas águas receptoras, inclusive à biota aquática, ao serem lançados sem tratamento (ALI, 2001; SANTOS, 2006).

Segundo Amaral (2013) e Ribeiro (2008), efluentes de indústrias lignocelulósicas também são caracterizados pela elevada toxicidade. Neste sentido, testes realizados com o licor negro, com diluição de 50%, frente à *D.similis*, apresentaram 100% de imobilidade. Os autores mencionam que tais efluentes são compostos de clorofenóis, cloroligninas, ácidos orgânicos, resinas ácidas, dioxinas e seus derivados e que estes resultados reforçam a necessidade de um pré-tratamento para posterior remoção dos poluentes.

SANTOS, 2001, realizou ensaios de toxicidade aguda com o organismo *Escherichia coli* pelo método de monitoramento de CO₂ com efluentes líquidos da produção da NC (deslignificação e branqueamento nas porcentagens de 2%, 6% e 10%. Os resultados demonstraram que na menor concentração houve inibição de 69% e 100% na produção de CO₂, para os efluentes de deslignificação e branqueamento respectivamente.

O efeito tóxico do licor negro ou lixívia gerado na deslignificação (etapa 1), é resultante da remoção de gorduras, proteínas, ligninas (em alto teor) e outras impurezas das fibras do línter na etapa do tratamento com solução de hidróxido de sódio (NaOH), após o

seu cozimento ácido (SALES, 2013).O autor sugere que o tratamento deste efluente para o descarte final adequado pode ser feito por vias químicas e biológicas.

Paiva *et al.*, (2001), coletaram efluentes das etapas de polpação, branqueamento e nitração da produção da nitrocelulose e realizaram ensaios de efeito agudo com a bactéria *E. coli*. Os resultados indicaram 100% de inibição na etapa de polpação e 48% na etapa de branqueamento aos organismos teste nas duas primeiras etapas, e o efluente proveniente da nitração não apresentou efeito tóxico aos organismos.

Tais resultados refletem que os efluentes provenientes dos diferentes processos de produção, onde o uso da via mecânica ou química na polpação irá refletir no tipo de efluente. O mesmo ocorre no processo de branqueamento da celulose com o tratamento químico com agentes oxidantes, como o dióxido de cloro, caracterizando toxicidade aos efluentes resultantes.

2.1.2. 2,4,6-Trinitrotolueno (TNT)

O 2,4,6-Trinitrotolueno (TNT) ou trotil (figura 03), é um dos explosivos militares mais utilizados no mundo devido ao seu baixo ponto de fusão (80,65 °C), boa estabilidade, baixa sensibilidade ao impacto e atrito, alta temperatura e a relativa segurança em seu método de produção e manipulação. A produção e/ou o beneficiamento deste material está relacionado com os setores de equipamentos militares e de munições (AKHAVAN, 2011). Estima-se que cerca de 1,2 milhões de toneladas de solos foram contaminados no território americano pelo exército dos EUA com o TNT (AYOUB *et al.*, 2010).

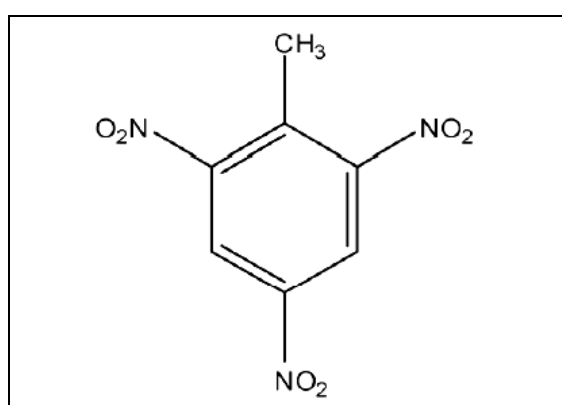


Figura 3 – Estrutura química do trinitrotolueno (AYOUB *et al.*, 2010).

No Brasil, as principais fontes de produção e beneficiamento de explosivos concentram-se nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Paraná, figura 04 (CAVALOTTI, 2008).



Figura 4 – Principais localidades de produção e beneficiamento de explosivos no Brasil (adaptado de RODRIGUES *et al.*, 2007).

De acordo com Guz (2016), Rodrigues (2005) e EPA (1983) o método de produção do TNT se dá por meio de um processo de nitração sequencial do tolueno, que ocorre em três etapas distintas com a mistura dos ácidos sulfúrico (H_2SO_4) e nítrico (HNO_3), conforme a tabela 02 e figura 05.

Tabela 2 – Proporções dos ácidos utilizados no processo de produção do trinitrotolueno.

Estágios	HNO_3 (%)	H_2SO_4 (%)	H_2O (%)
1°	28	56	16
2°	32	61	7
3°	49	49	2

Fonte: Rodrigues (2005).

Nos estágios de produção há uma variação nas porcentagens dos insumos utilizados, ácido sulfúrico e ácido nítrico (mistura sulfonítrica), e no volume de água, com a maior quantidade usada no primeiro estágio.

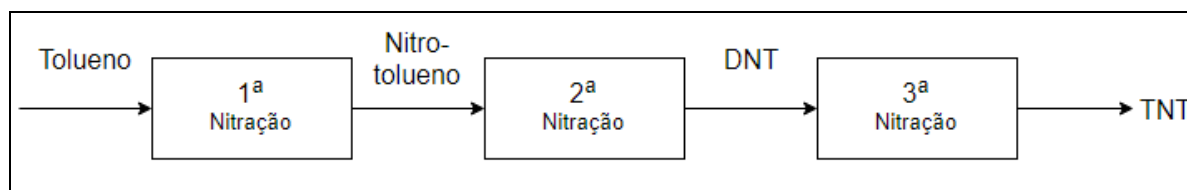


Figura 5 – Processo de produção do trinitrotolueno em três estágios (adaptado, EPA 1983).

Inicialmente o tolueno passa pelo processo de nitração, que é a introdução irreversível de um ou mais grupos nitro ($-NO_2$) em uma molécula orgânica, originando o nitrotolueno. Após a segunda nitração, o produto é o dinitrotolueno e por fim na última etapa (terceiro estágio) o produto final, trinitrotolueno, mais as impurezas dos processos tais como a água amarela e água vermelha.

O TNT para o uso militar deve ser livre de qualquer outro isômero diferente dos 2, 4, e 6, que pode ser feito por recristalização do composto em solventes orgânicos (álcool, benzeno) ou com o uso de ácido nítrico 62%. O grau de pureza do TNT é determinado pelo seu ponto de solidificação, em que o valor mínimo para fins militares é de 80,2 °C (MEYER, 2007).

Na lista de substâncias tóxicas do Instituto Nacional Americano de Saúde e Segurança, NIOSH (sigla em inglês), o composto nitro aromático (TNT), apresenta potencial cancerígeno e tóxico aos seres vivos (tabela 03). O aspecto mais importante da poluição ambiental pelo TNT e seus metabólitos são os efeitos tóxicos sobre os organismos vivos (ZARIPOV *et al.*, 2002), bem como o poder recalcitrante (RODRIGUES *et al.*, 2009; AYOUB *et al.*, 2010). Tais características são transferidas para os efluentes.

Tabela 3 – Limites de toxicidade e carcinogenicidade do trinitrotolueno.

Propriedade	TNT
DL ₅₀ para ratos	800-1300 mg/kg
CL ₅₀ para peixes	2,4 mg.l ⁻¹
Classe de carcinógeno	Possível carcinógeno (B2)
Dose tolerável diária por peso	0,05 µg/kg
Fator de equivalência para longo tempo de exposição	1,0*
Limite de exposição permissível no ar, US-OSHA	1,5 mg/m ³

Fonte: Adaptado de Stucky, 2004; US EPA *Cancer Classification*, 2014.

* Adimensional.

B2 = Provavelmente carcinogênico para humano.

DL₅₀ = Dose Letal, 50% de mortalidade aos organismos.

CL₅₀ = Concentração Letal, 50% de mortalidade aos organismos.

Na obtenção do produto são produzidos diversos subprodutos tais como compostos sulfonados solúveis, cinzas, resíduos minerais, isômeros assimétricos de TNT, nitrofenóis, além de impurezas encontradas no tolueno (produtos da oxidação de benzeno e xileno) (GUZ, 2016).

O efluente denominado água amarela (AA) é produzido após remoção de grande parte das impurezas por processos de lavagens (purificação do TNT) com vapor de água. Posteriormente, um segundo efluente água vermelha (AV) é gerada ao adicionar uma solução de sulfito de sódio (Na₂SO₃), o que resulta em compostos sulfonados com elevado nível de recalcitrância. (RODGERS, 2001; GUZ, 2016), figura 6.

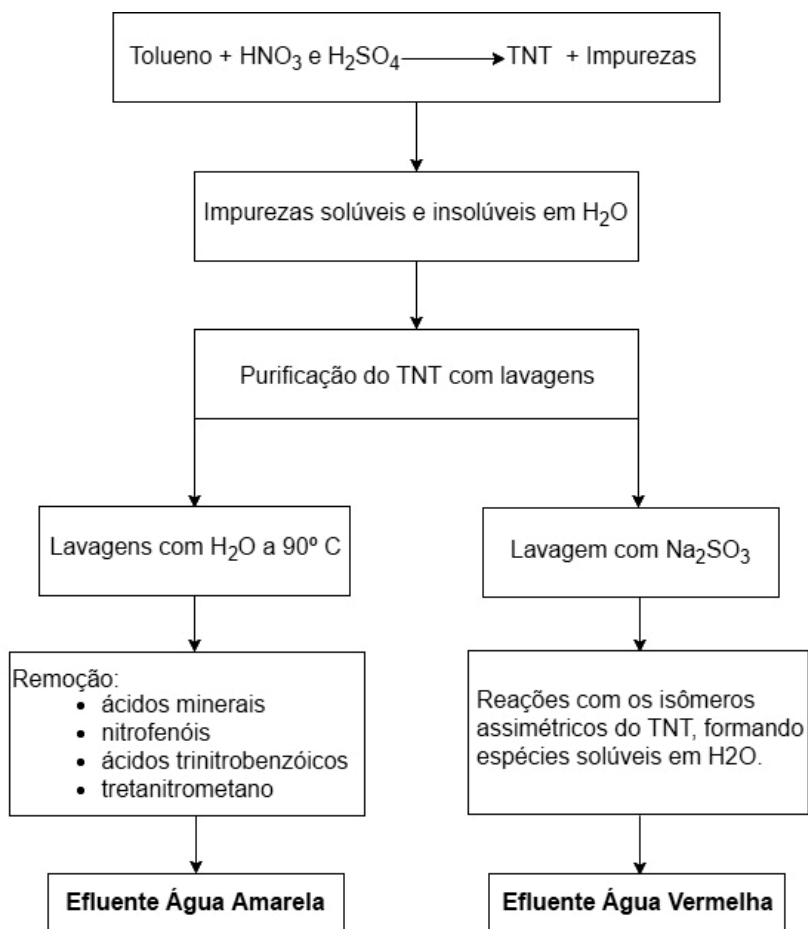


Figura 6 – Procedimentos para a obtenção do trinitrotolueno e os efluentes água amarela e água vermelha (adaptado, Cavalotti, 2008).

De acordo com a figura 06, o processo de produção do TNT se dá pela nitração do tolueno usando ácido nítrico (HNO₃) e ácido sulfúrico (H₂SO₄) como matérias primas. Nesse processo são geradas impurezas solúveis e insolúveis em água (RIBEIRO, 2008).

Na etapa seguinte de purificação, têm-se os processos de lavagens com água vaporizadas a 90°C para remoção das impurezas tais como ácidos minerais, nitrofenóis, TNT simétrico dentre outros poluentes, o que é caracterizado como efluente água amarela (AA). Já na lavagem com sulfito de sódio (Na₂SO₃) ocasionam reações com os isômeros do TNT, formando espécies solúveis em água, que são caracterizadas como efluente água vermelha (AV) (RIBEIRO, 2008).

Para os procedimentos de remediação de ambos efluentes, o procedimento normalmente adotado é a combinação da AA e AV com as águas de limpeza e lavagem para posterior neutralização e incineração (BENNET, 1994).

2.1.3. Água amarela

Como mencionado, a água amarela é obtida durante os processos de produção do TNT através de lavagens com água vaporizada, que removem as impurezas como o ácido trinitrobenzóico, TNT simétrico dissolvido e excessos de ácidos nítrico e sulfúrico (RODRIGUES, 2005).

A AA caracteriza-se em sua composição pela elevada carga orgânica de sulfato (SO_4^{2-}), nitrato (NO_3^-), e o valor de pH extremamente baixo, cuja composição final reflete em efeitos tóxicos adversos dependendo do organismo teste utilizado. Neste sentido, ensaios de exposição aguda com *Escherichia coli*, resultaram em 89,2% de inibição no crescimento celular, enquanto que o valor da (CE_{50}) para *Selenastrum capricornutum* foi de 8,5% de inibição do crescimento do halo radial do fungo. Estes resultados indicam que os efeitos deste tipo de efluente afetaram ambos os organismos-testes. Cabe ressaltar que tais efeitos refletem em sérias consequências para manutenção da biota aquática, uma vez que a produção primária será afetada pelo fato da desmineralização dos nutrientes não ocorrer. (RODRIGUES, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2007). Os autores realizaram a caracterização deste efluente AA (tabela 04).

Tabela 4 – Composições físicas e químicas do efluente água amarela (TNT).

Sólidos totais	14.314,0 ± 60 mg.l ⁻¹
Sólidos suspensos totais	1.110,0 ± 60 mg.l ⁻¹
Sólidos dissolvidos totais	13.260,0 ± 60 mg.l ⁻¹
SO_4^{2-}	5.900,0 ± 0,5 mg.l ⁻¹
NO_3^-	7.170,0 ± 0,5 mg.l ⁻¹
TNT (solúvel)	156,0 ± 10 mg.l ⁻¹
Nitrogênio orgânico	83,9 ± 0,9 mg.l ⁻¹
Fenóis totais	9,8 ± 0,44 mg.l ⁻¹
pH	1,0 ± 0,03
DQO (solúvel)	638,0 ± 12 mg.l ⁻¹
DBO (solúvel)	11,0 mg.l ⁻¹

Fonte: Adaptado de Rodrigues *et al.*, 2007.

Comparando os valores encontrados na tabela 04 com os resultados obtidos a partir da caracterização do efluente proveniente da produção do TNT (água amarela) tabela 07, constatou-se que houve uma melhora nos parâmetros de fenóis e DQO e um aumento do parâmetro DBO, provavelmente pelas alterações realizadas nos processos da planta de produção.

3. BIOENSAIOS DE TOXICIDADE

A ecotoxicologia é uma ciência que visa contribuir para o entendimento da influência de substâncias tóxicas sobre o meio ambiente, por meio da avaliação dos efeitos de substâncias nocivas a uma população ou comunidade de organismos expostos (BLAISE, 1984).

Substâncias tóxicas podem afetar de maneira direta espécies de interesse ao homem ou de forma indireta através de mudança na comunidade biológica, nas alterações da fonte alimentar e outras relações que interferem na estrutura e funcionamento dos ecossistemas (CHISSINI, 2015).

No Brasil o principal órgão responsável pela normatização dos ensaios ecotoxicológicos é a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), que avalia os efeitos agudos (mortalidade, imobilidade) ou crônicos (alteração na reprodução) com os diferentes organismos-teste. Na tabela 05 estão mencionados alguns ensaios padronizados por este órgão para ambientes de água doce.

Tabela 5 – Testes de toxicidade padronizados pela ABNT para os efluentes lançados em rios de água doce.

Organismo	Nível trófico	Toxicidade	Espécie	Normas ABNT
Alga	Produtor	Crônica	<i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Scenedesmus subspicatus</i> , <i>Raphidocelis subcapitata</i>	NBR12648/2011
Microcrustáceo	Consumidor primário	Aguda	<i>Daphnia similis</i> , <i>Daphnia magna</i>	NBR12713/2016
Microcrustáceo	Consumidor primário	Crônica	<i>Ceriodaphnia dubia</i> , <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	NBR13373/2017
Peixe	Consumidor secundário	Crônica	Larvas de <i>Danio rerio</i> , <i>Pimephales promelas</i>	NBR15499/2016
Bácteria	Decompositor	Aguda	<i>Vibrio fischeri</i>	NBR15411/2012
Peixe	Consumidor secundário	Aguda	<i>Danio rerio</i> , <i>Pimephales promelas</i>	NBR15088/2016

Fonte: adaptado de Arenzon *et al.*, 2011.

De acordo com Ribeiro (2008), os efeitos tóxicos de um composto podem ser avaliados por meio de bioensaios. Os efeitos observados podem ser avaliados pelas reações dos organismos, tais como morte, crescimento, proliferação, multiplicação, mudanças morfológicas, fisiológicas e histológicas.

A concepção de técnicas adequadas para a avaliação dos efeitos tóxicos das águas residuárias, juntamente com a implementação de protocolos dos ensaios ecotoxicológicos

iniciaram na década de 1940 (ANDERSON, 1944). O uso de organismos aquáticos para o monitoramento da qualidade da água foi inicialmente aplicada por Henderson e Jackson, ao exporem peixes em água corrente e águas residuárias e medirem a taxa de mortalidade ou sinais de estresse visualmente óbvios nos organismos expostos (HENDERSON *et al.*, 1963; JACKSON *et al.*, 1966).

Os testes de toxicidade ou bioensaios podem ser definidos como procedimentos nos quais as respostas dos organismos-teste são utilizadas para avaliar os efeitos adversos ou não de uma ou mais substâncias sobre os sistemas biológicos. Estes testes constituem basicamente na exposição de organismos a diferentes condições, as quais tentam simular o meio ambiente onde vivem, visando assim detectar seus efeitos letais ou subletais (LAITANO; MATIAS, 2006).

Ribeiro (2008) ressalta que os organismos aquáticos possuem mecanismos adaptativos a situações de adversidades, porém níveis elevados de contaminação no ecossistema podem afetar a sobrevivência, o desenvolvimento, o crescimento, a reprodução ou o comportamento desses organismos.

Bertoletti (2012), afirma que os ensaios ecotoxicológicos, interações/respostas e biodisponibilidade podem validar características tóxicas dos efluentes líquidos.

Tais ferramentas são usadas como parâmetros no monitoramento de efluentes industriais com o objetivo de identificar ou minimizar o impacto ambiental no corpo receptor, bem como validar as técnicas de tratamento dos efluentes, além de ser requisito para a obtenção e manutenção de licenças junto aos órgãos ambientais (HARTMAN, 2004, CONAMA, 357/2005; 430/2011).

Os ensaios de efeito agudo avaliam a capacidade do efluente ou amostras ambientais de provocarem efeitos danosos (geralmente morte ou imobilidade) aos organismos-teste num curto período de exposição (de 24 à 96h – em Cladocera e peixes, respectivamente). Os organismos são expostos a diluições/concentrações diferentes e também a um tratamento controle (somente água de cultivo), que fornecem como resultados a CL50 ou CE50 (CL50 - concentração letal a 50 % da população e CE50 – Concentração de Inibição a 50% da população).

A CE50 é uma unidade de medida de toxicidade inversa, ou seja, quanto maior o valor, menor será o efeito agudo da amostra (RODRIGUES *et al.*, 2009), concentração real da amostra que causa efeito agudo a 50% dos organismos no tempo de exposição, nas condições de ensaio.

Esse tipo de ensaio é importante para evidenciar os efeitos letais em curtos intervalos de tempo, e fornecem dados fundamentais para o desenvolvimento e adoção de critérios para melhoria da qualidade ambiental (FONSECA, 1991).

Os ensaios de efeito crônico são realizados com a exposição dos organismos-teste nas amostras de efluentes ou amostras ambientais por um intervalo de tempo mais significativo em relação ao período do seu ciclo de vida (metade ou 1/3 do ciclo de vida). Neles são avaliados os efeitos mais sutis, como alteração na reprodução e crescimento, além da morte dos organismos expostos, mesmo que ocorra de forma mais gradual (ARENZON *et al.*, 2011).

Os resultados obtidos nestes ensaios são expressos como Concentração de Efeito Não Observado (CENO), definida como a maior concentração do agente tóxico que não causa efeito deletério estatisticamente significativo nos organismos no tempo de exposição e nas condições do teste. E Concentração de Efeito Observado (CEO), definida como a menor concentração de agente tóxico que causa efeito deletério estatisticamente significativo nos organismos (COSTA *et al.*, 2008). A média entre CENO e CEO, fornece o valor crônico (VC).

Tais ensaios relatam os efeitos provocados, por exemplo, devido ao lançamento contínuo de efluentes contaminados nos corpos hídricos, já que os organismos são expostos durante longos períodos de tempo, mesmo em baixas concentrações (COSTA *et al.*, 2008).

Segundo Ribeiro (2008), os ensaios de exposição crônica com algas são geralmente usados na avaliação dos efeitos tóxicos de efluentes, pois com a duração de 3 a 5 dias de exposição permite-se avaliar a taxa reprodutiva destes organismos em várias gerações. Em tal situação também se enquadram as bactérias, uma vez que durante um teste com duração de 6 ± 2 h várias gerações são produzidas.

4. ORGANISMOS-TESTE

Os ensaios com organismos-teste com diferentes níveis tróficos avaliam a ecotoxicidade de uma substância ou efluente. Isso é recomendado devido às diferenças de sensibilidade apresentadas por organismos de diferentes espécies frente às substâncias químicas (COSTA *et al.*, 2008).

Segundo Domingues e Bertolletti (2006), os organismos para serem usados em ensaios ecotoxicológicos devem apresentar algumas características importantes tais como:

- Sensibilidade a uma diversidade de agentes químicos;
- Conhecimento da biologia da espécie (reprodução, hábitos alimentares, fisiologia e comportamento);
- Espécies de pequeno porte e ciclo de vida curto;
- Representatividade para o ecossistema.

A resolução CONAMA nº 430/2011, em seu artigo 18, parágrafo 1º emite a seguinte exigência quanto ao aspecto analítico:

Os critérios de ecotoxicidade previstos no caput deste artigo devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos aceitos pelo órgão ambiental, realizados no efluente, utilizando organismos aquáticos de pelo menos dois níveis tróficos diferentes.

O uso de mais de um nível trófico para os ensaios de ecotoxicidade é de grande importância pela representatividade que o organismo mais sensível a um determinado tipo de contaminante pode demonstrar. Portanto, a sensibilidade varia conforme o tipo de organismo e sua posição trófica.

4.1. Produtores primários

Os produtores primários são abundantes na cadeia alimentar aquática, sendo a base alimentar de diversos organismos. Por tanto, sua ausência provoca efeitos negativos nos níveis tróficos superiores. Desta forma o uso de algas tem sido amplamente recomendado nos ensaios ecotoxicológicos (CHISSINI, 2015). Tais organismos são os produtores primários dominantes na cadeia alimentar e sensíveis a uma variedade de compostos tóxicos (FENT, 2003).

A norma técnica ABNT NBR 12648/2011, especifica o método de avaliação de efeito tóxico em algas, em que a porcentagem de inibição do crescimento algáceo é monitorada. Tal monitoramento é determinado por contagem celular com o uso de microscópio óptico ou um contador eletrônico de partículas, pelo conteúdo de clorofila *a* medido por espectrofotometria, fluorimetria ou pela turbidez (absorbância luminosa a 750 nm).

A principal desvantagem dos métodos algais é a falta de reprodutibilidade entre ensaios consecutivos. Como vantagens podem-se citar: menor variabilidade genética (se comparados às bactérias), facilidade de execução dos testes (se comparados aos peixes), maior sensibilidade e facilidade de cultivo das algas (RIBEIRO, 2008).

Desta forma, de acordo com Rollemberg e Vidotti (2004), os testes com algas permitem identificar substâncias que afetam o crescimento celular, avaliam a disponibilidade de nutrientes e determinam curvas concentração-resposta para as substâncias limitantes.

Como mencionado às espécies indicadas na norma brasileira para estes ensaios são: *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus subspicatus* (figura 07) e *Raphidocelis subcapitata* (figura 08).

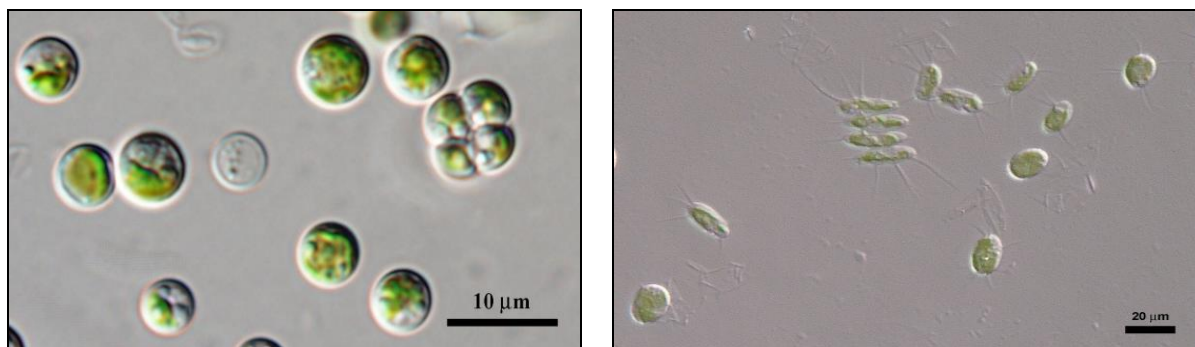


Figura 7 - *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus subspicatus*

Fonte: (<http://ccala.butbn.cas.cz/en/chlorella-vulgaris-beijerinck-6>) e (<http://ccala.butbn.cas.cz/en/desmodesmus-subspicatus-r-chodat-e-hegewald-et-a-schmidt>).

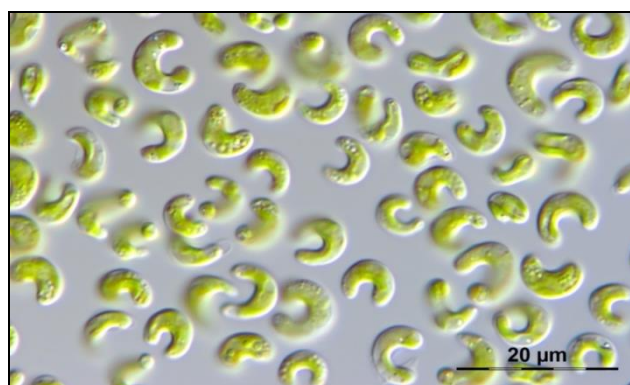


Figura 8 – *Raphidocelis subcapitata*.

Fonte: (https://sagdb.uni-goettingen.de/detailedList.php?str_number=61.81).

4.2. Consumidores primários

Dentre os consumidores primários mais comumente usados nos ensaios ecotoxicológicos destacam-se a Ordem Cladocera, família *Daphnidae* (DURAND, 2009, NBR 12713/2016).

São fontes significativas de alimento para peixes, possuem um ciclo de vida relativamente curto, são facilmente cultivados em laboratório e sensíveis a vários contaminantes do ambiente aquático (APHA, 1998; SHAW; CHADWICK, 1998).

No Brasil, a *Daphnia similis* Straus, 1820 (Crustacea, Cladocera), possui norma ABNT/NBR 12713/2016 que regulamenta a metodologia dos ensaios ecotoxicológicos agudos usando essa espécie. Trata-se de um microcrustáceo planctônico que atua como consumidor primário na cadeia alimentar aquática e se alimenta por filtração de material orgânico particulado em suspensão. Os organismos deste gênero são vulgarmente conhecidos como pulga-d'água e têm larga distribuição no hemisfério norte (figura 09).



Figura 9 – *Daphnia similis*.

Fonte: (<http://www.upayan.info/mijinko/simi.html>).

Apesar de exótica, alguns órgãos brasileiros realizam ensaios com *Daphnia magna* Straus, 1820 (Crustacea, Cladocera), (figura 10). Trata-se de um microcrustáceo planctônico com comprimento de até 5 mm (NBR 12713/2016).

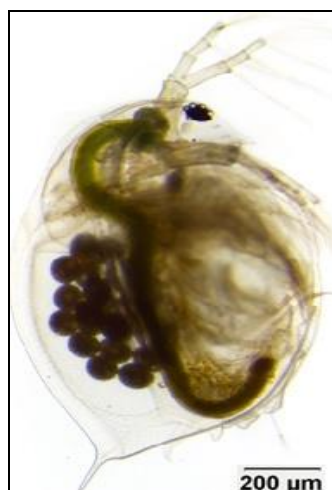


Figura 10 – *Daphnia magna*.

Fonte: (<http://issetdirectorblog.wordpress.comwww.upayan.info/mijinko/tag/daphnia/>).

Segundo Maffazzoli (2011), *D. magna* é bastante sensível aos agentes tóxicos, de fácil cultivo em laboratório e assim como os outros Daphnideos. Sua reprodução partenogenética assegura descendentes geneticamente idênticos o que denota certa uniformidade nas respostas dos ensaios.

As espécies do gênero *Ceriodaphnia* (figura 11) têm morfologia semelhante às do gênero *Daphnia*, porém são menores (máximo 1,0 mm em condições de cultivo laboratorial), mais arredondadas e com ciclo de vida mais curto, com respostas mais rápidas para uso nos ensaios de exposição crônica, 7 dias de exposição (ABNT 13373/2017). Os organismos são usados desde a década de 80 pela sua grande sensibilidade a um grande número de substâncias (VERSTEEG *et al.*, 1997).



Figura 11 – *Ceriodaphnia* sp.

Fonte: (<http://cfb.unh.edu/>).

4.4. Legislação

No âmbito federal da legislação a Resolução CONAMA nº 357/2005 (Brasil, 2005) e sua alteração e complementação realizada pela Resolução CONAMA nº 430/2011 (Brasil, 2011) definem que:

O efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

No texto acima, a frase “O efluente dissolvido/diluído no corpo receptor não deverá causar nem possuir potencial para causar efeitos tóxicos”, significa que o efluente não deverá apresentar efeitos tóxicos (agudos ou crônicos), quando o mesmo for submetido aos ensaios de toxicidade e, conseqüentemente, se lançado no corpo receptor não afetará a biota aquática vivente.

Segundo Ribeiro (2008), os ensaios ecotoxicológicos são delineados para avaliar as interações entre substâncias e a presença de contaminantes não listados na Resolução, mas que podem causar danos ao ambiente aquático.

No artigo nº 34 da CONAMA nº 430, temos a classificação dos corpos hídricos de água doce em classe especial, classe 1, classe 2, classe 3 e classe 4. As águas classificadas como classe especial, classe 1 e 2 recomenda-se a ausência de efeitos tóxicos agudo e crônico, nas águas de classe 3 não deve haver efeito agudo, porém é permitida a verificação de efeito crônico e nas águas de classe 4 o controle ecotoxicológicos não se aplica.

A legislação do Estado de São Paulo utiliza a Resolução da SMA 03/2000, que estabelece os critérios para a realização do controle ecotoxicológico no lançamento de efluentes líquidos tratados.

Já o Decreto n° 8.468/1976 (SÃO PAULO, 1976), aprovado pela Lei n.º 997, de 31 de maio de 1976, (atualizado com a redação dada pelo Decreto 54.487/2009), diz respeito sobre a prevenção e o controle da poluição do meio ambiente. No artigo n° 18 do decreto citado menciona-se os padrões dos efluentes de lançamento (limites máximos de poluentes no efluente), nas coleções de água de forma direta ou indireta. Valores fora desses limites podem afetar a biota, organismos aquáticos (peixes e microcrustáceos) e microrganismos responsáveis pelo tratamento biológico do ecossistema (RIBEIRO *et al.* 2013).

A Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), como agência do Governo do Estado é responsável pelo controle, fiscalização, monitoramento e licenciamento de atividades geradoras de poluição, pode exigir critérios ecotoxicológicos mais restritivos para o efluente, ou mesmo uma melhor tecnologia para o seu tratamento, de acordo com o artigo 3º (parágrafo único) da Resolução CONAMA n° 430/11 (BRASIL, 2011) que complementa e altera a Resolução CONAMA n° 357/05 (BRASIL, 2005; BERTOLETTI, 2013).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Local de estudo

Os efluentes analisados neste trabalho foram coletados de uma indústria de explosivos localizada no Vale do Paraíba, Estado de São.

5.2. Coleta das amostras dos efluentes

As amostras dos efluentes industriais da nitrocelulose e da água amarela (TNT) foram realizadas em duas etapas distintas: para os ensaios preliminares e definitivos envolvendo a caracterização das variáveis físicas e químicas e os ensaios ecotoxicológicos de forma manual nas saídas das unidades produtivas da seguinte forma:

Efluente da Nitrocelulose e de Água Amarela (TNT).

As duas coletas de ambos os efluentes foram realizadas na saída da rede coletora dos efluentes mergulhando um Becker de 200 mL no sentido contrário ao da corrente. Ambas as amostras foram coletadas em três dias diferentes (amostra composta), para uma melhor caracterização dos diferentes processos envolvidos na produção.

O volume total coletado foi de 5,0 litros em cada um dos efluentes nas duas etapas, onde 2,0 litros foram usados para os ensaios de toxicidade, e o volume restante de 3,0 litros enviados imediatamente para a caracterização das variáveis físicas e químicas dos efluentes

conforme análise do artigo nº18 do Decreto nº 8.468/1976 e nitrato para um laboratório acreditado contratado pela empresa.

Todas estas amostras foram mantidas refrigeradas á 4 °C em frascos de vidro âmbar, previamente preparados conforme as diretrizes de coleta e preservação de amostras ambientais e de efluentes (CETESB, 2012), por no máximo 1 semana para início dos ensaios ecotoxicológicos.

5.3. Medições das vazões

As determinações das vazões dos efluentes foram realizadas antes da caixa de coleta dos efluentes oriundos do processo de produção da nitrocelulose e do TNT (água amarela) sem a contribuição do efluente água vermelha. Na figura abaixo, figura 12, indica as contribuições dos dois efluentes, sendo os dois dutos da esquerda da nitrocelulose e o da direita o TNT.



Figura 12 - Ponto de medição da caixa de saída dos efluentes oriundos da produção do trinitrotolueno e nitrocelulose. Fonte: Própria.

- Determinação das vazões do efluente da Nitrocelulose.

Para o efluente da nitrocelulose, as determinações das vazões foram realizadas com um medidor ultrassônico, fabricante Vectus, modelo TUF-2000H, com +/- 0,5% de incerteza. O equipamento foi instalado na parede externa da tubulação de descarte (figura 13), durante um período de 24h, tendo como dados de entrada no aparelho o diâmetro da tubulação, espessura e o tipo de material.



Figura 13 - Ponto de medição da vazão do efluente da nitrocelulose. Fonte: Própria.

O período de 24 h de medição foi adotado para a obtenção de uma amostragem de vazões mais realística dos processos de fabricação, pois o mesmo, como já descrito, consiste em algumas etapas na produção como: Nitração, pré-estabilização, refino, pós-estabilização, homogeneização e separação em que há um maior ou menor consumo de água dependendo do processo. Cabe ressaltar que a indústria em questão utiliza línter de algodão já branqueado, ou seja, não há a etapa de branqueamento no seu processo de produção.

- Determinação das vazões do efluente água amarela.

A Determinação das vazões do efluente água amarela também foram realizadas com um medidor ultrassônico, fabricante Vectus, modelo TUF-2000H, com $\pm 0,5\%$ de incerteza. O equipamento de medição foi instalado na parede externa da tubulação do efluente (figura 14), durante um período de 24h. Tal período deu-se para uma melhor caracterização devido aos diferentes processos realizados na produção do TNT.



Figura 14 - Ponto de medição da vazão do efluente do trinitrotolueno, água amarela. Fonte: Própria.

De acordo com Ribeiro (2008), o volume do efluente água amarela gerado nas plantas de produção do TNT corresponde a 77,0% do volume total (água amarela e água

vermelha), uma vez que os dois efluentes são separados no processo de produção e a AV tem a sua destinação/tratamento final realizada *ex situ* via incineração por se tratar atualmente de uma tecnologia mais viável economicamente.

5.4. Caracterização das variáveis físicas e químicas

As variáveis físicas e químicas dos efluentes analisados foram determinadas de acordo com o Decreto nº 8.468/1976 (SÃO PAULO, 1976), (atualizado com a redação dada pelo Decreto 54.487/2009), em seu artigo nº 18 que estabelece os padrões dos efluentes de lançamento nas coleções de água de classe II, e a concentração do parâmetro nitrato.

Os parâmetros contemplados, os respectivos valores limites para os efluentes e as metodologias usadas na caracterização dos efluentes constam na tabela 06.

Tabela 6 – Padrões de lançamentos do efluente em rios de classe II de acordo com o artigo nº 18 do Decreto nº 8.468/1976 (atualizado com a redação dada pelo Decreto nº 54.487/2009) e metodologias usadas na caracterização do efluente.

Parâmetros	Unidades	*Decreto nº 8.468/76, artigo nº 18	Metodologias
pH a 25 °C	Adi.	De 5,0 a 9,0	¹ SM4500-H B
Temperatura	°C	Até 40 °C	2550 B
Materiais sedimentáveis	ml.l ⁻¹	Até 1,0 ml.l ⁻¹	SM 2540 F
Óleos e graxas	mg.l ⁻¹	Até 100,0 mg.l ⁻¹	SM 5520 D
Arsênio	mg.l ⁻¹	Até 0,2 mg.l ⁻¹	² EPA 6010C
Bário total	mg.l ⁻¹	Até 5,0 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Boro	mg.l ⁻¹	Até 5,0 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Cádmio total	mg.l ⁻¹	Até 0,2 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Chumbo total	mg.l ⁻¹	Até 0,5 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Cobre total	mg.l ⁻¹	Até 1,0 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Cromo total	mg.l ⁻¹	Até 5,0 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Estanho total	mg.l ⁻¹	Até 4,0 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Ferro dissolvido	mg.l ⁻¹	Até 15,0 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Manganês dissolvido	mg.l ⁻¹	Até 1,0 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Mercurio total	mg.l ⁻¹	Até 0,01 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Níquel total	mg.l ⁻¹	Até 2,0 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Prata total	mg.l ⁻¹	Até 0,02 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Selênio total	mg.l ⁻¹	Até 0,02 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Zinco total	mg.l ⁻¹	Até 5,0 mg.l ⁻¹	EPA 6010C
Cromo hexavalente	mg.l ⁻¹	Até 0,1 mg.l ⁻¹	SM 3500-Fe B
DBO	mg.l ⁻¹	60 mg.l ⁻¹ ou redução mínima de 80%	SM 5210 B
DQO	mg.l ⁻¹	N.a	SM 5220 D
Fluoreto	mg.l ⁻¹	Até 10,0 mg.l ⁻¹	SM 4500-F D
Índice de fenóis	mg.l ⁻¹	Até 0,5 mg.l ⁻¹	SM 5530 A, B, C, D

Ad. = Adimensional; N.a = Não aplicável.

*Atualizado com a redação dada pelo Decreto 54.487/2009.

¹SM = Standard Methods, 2001.

²EPA = Environmental Protection Agency, 1987.

A metodologia usada para caracterizar a presença de nitrato no efluente foi a NBR 12620/1992 - Determinação de nitrato, métodos de ensaio com ácido cromotrópico e ácido fenoldissulfônico. Essa norma prescreve o método de determinação de nitrato em amostras de águas naturais, de abastecimento, efluentes industriais e domésticos.

Os limites de determinação das concentrações obedecem às seguintes metodologias:

- a) Ácido cromotrópico, para a determinação de nitrato em concentrações a partir de 0,1 mg a 5,0 mg $\text{NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$ em N.
- b) Ácido fenoldissulfônico, para a determinação de nitrato em concentrações a partir de 10,0 $\mu\text{g NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$ em N.

5.5. Ensaios ecotoxicológicos estáticos

5.5.1. Cultivo e manutenção de *Daphnia similis*

Os organismos-teste foram mantidos em cultivo em recipientes de 1 a 2 litros contendo água de fonte natural sendo no máximo 50 organismos adultos/L. A cada dois dias foi efetuada a troca da água e adicionado a concentração algal de 10^5 cels/ml da clorofíceia *R.subcapitata*. Tais recipientes foram mantidos em incubadora com fotoperíodo de 12h (claro/escuro) e temperatura de $20,0 (\pm 2) ^\circ\text{C}$.

Para uso nos ensaios ecotoxicológicos foram utilizados organismos entre 10 e 25 dias de idade (fêmeas adultas). Para tanto, um dia antes do início do ensaio no final da tarde, fêmeas ovadas, foram separadas e no dia seguinte foram isoladas apenas as neonatas. Após a seleção, foi mantido o período de no mínimo 6h para início dos ensaios de forma a garantir a idade ideal dos organismos conforme rege a norma (entre 6 e 24h de idade).

Os cultivos e posterior ensaio foram realizados nos Laboratórios de Ciências Ambientais e Ecotoxicologia da Escola de Engenharia de Lorena EEL/USP (ensaios preliminares, figuras 15 e 16) e no laboratório de Ecotoxicologia da UNIFEI (ensaios definitivos).

Primeiramente foram realizados os ensaios ecotoxicológicos preliminares de exposição aguda à *D. similis* na EEL/USP, em até 48h após a coleta, na impossibilidade da execução no período de 48 horas, as amostras foram congeladas até o momento da utilização.

5.5.2. Determinação do efeito agudo com o microcrustáceo *Daphnia similis*

Os experimentos de exposição aguda com as amostras dos efluentes coletados seguiram a metodologia descrita na norma ABNT, NBR12713/2016 – Toxicidade aguda de

amostras líquidas e substâncias químicas solúveis ou dispersas em água, para *D. similis* e *D. magna*.

Para os ensaios preliminares 10 (dez), organismos de idade entre 6 e 24h foram expostos as concentrações de (100%, 10%, 1%, 0,1% e 0,01%) dos dois efluente (figuras 15 e 16) , além do controle. Decorridos 48h de exposição, foram computados o número de organismos mortos e vivos para a escolha da faixa de concentração para os ensaios definitivos conforme o seguinte critério: Maior concentração com 100% de mortalidade e a menor com 100% de sobrevivência.



Figura 15 - Ensaio preliminar de toxicidade aguda com o efluente água amarela utilizando o organismo *D. similis*. Fonte: Própria.



Figura 16 - Ensaio preliminar de toxicidade aguda com o efluente da nitrocelulose utilizando o organismo *D. similis*. Fonte: Própria.

Os ensaios definitivos seguiram a mesma metodologia estabelecida na Norma NBR 12713/2016. Os resultados permitiram estimar o valor da CE50 (Concentração Efetiva: concentração real da amostra que causa efeito agudo a 50% dos organismos no tempo de exposição, nas condições de ensaio), para ambos os efluentes (TNT e nitrocelulose). O cálculo foi efetuado com o auxílio do programa Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON *et al.*, 1977). Os resultados dos ensaios foram considerados válidos, desde que término do período de exposição à porcentagem dos organismos imóveis no tratamento controle não excedesse 10%.

Valores das variáveis de pH, condutividade ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), dureza ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ CaCO_3), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e oxigênio dissolvido ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$), foram obtidas no início e final dos ensaios.

5.5.3. Cultivo e manutenção de *Raphidocelis subcapitata*

Os organismos-teste, *R. subcapitata*, utilizados nos ensaios de toxicidade crônica são mantidos no laboratório de Ecotoxicologia da UNIFEI, sob condições de cultivo de acordo com a norma ABNT, NBR 12648/2011, onde as culturas são cultivadas para a alimentação de Cladoceras (organismos-testes) utilizados em outros ensaios de toxicidade.

As culturas são mantidas a temperatura entre 20°C e 25°C , sob iluminação ($60,75 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ fótons) e agitação constantes realizadas por aeração.

5.5.4. Determinação do efeito crônico com alga *Raphidocelis subcapitata*

Os experimentos de exposição crônica, utilizando as amostras coletadas, seguiram a metodologia descrita na norma ABNT, NBR 12648/2011 – Este método consiste na exposição de organismos-teste, no caso com a alga *R. subcapitata* a várias diluições da amostra, durante um período de 72h ou 96h. O efeito tóxico é determinado pela inibição do crescimento da biomassa algácea nos recipientes-testes, comparado com o tratamento controle, sob as mesmas condições de ensaio.

Para tanto, o meio de cultura Oligo foi preparado em frascos Erlenmeyers de 250ml em triplicatas, e inóculo de 10^5 cels/ml de *R. subcapitata*, em fase exponencial de crescimento, num volume de 100ml de meio para as seguintes concentrações dos efluentes: 3,1%; 6,2%; 12,5%; 25%; 50% e 100% para ambos os efluentes (AA e nitrocelulose), figuras 17 e 18. Os frascos foram mantidos por 72h, com temperatura de exposição de $25,0 (\pm 2,0) ^{\circ}\text{C}$, intensidade luminosa (lâmpada fluorescente) de $60,75 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ fótons e com agitação constante 120 rpm.



Figura 17 - Ensaio de toxicidade crônica utilizando o efluente água amarela com o inóculo celular de *R. subcapitata*, com temperatura, intensidade luminosa e agitação constantes. Fonte: própria.



Figura 18 - Ensaio de toxicidade crônica utilizando o efluente da nitrocelulose com o inoculo celular de *R. subcapitata*, com temperatura, intensidade luminosa e agitação constantes. Fonte: própria.

Ao final de 72h de exposição, alíquotas de 1 ml de cada réplica foram fixadas em solução de lugol¹ para posterior contagem celular, sob microscópio óptico com auxílio da câmara de contagem Newbauer. O rendimento celular médio produzido em 72h foi obtido pela subtração das densidades finais pelas iniciais. Essas médias foram utilizadas para obtenção da CEO, CENO e cálculo do valor crônico (VC) através do programa Toxstat (GULLEY, 1994), anexo A, bem como os valores de CI50 (concentração de inibição á 50% da população).

Os resultados foram expressos em porcentagem (%) para os efluentes líquidos e, considerados válidos quando ao término do período de ensaio, o crescimento da densidade algácea média do controle fosse pelo menos 16 vezes superior à densidade inicial, para 72h de exposição, e o coeficiente de variação menor ou igual a 20%.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES.

6.1. Efluente Água Amarela (AA)

6.1.1. Vazão

Na figura 19, encontram-se os valores médios das vazões obtidas do efluente água amarela (TNT) em intervalos de tempo de 3h, durante um período de 24h. O valor médio do efluente foi de 3,45 m³/h, com vazão máxima de 4,6 m³/h e mínima de 2,5 m³/h, o que reflete os diferentes processos da produção do TNT com diferentes consumos de água e consequentemente geração de efluentes.

¹Utilizou-se, na preservação das amostras com algas a seguinte solução de lugol: 40g de iodo ressublimado, 60g de iodeto de potássio e completou o volume final com 1000 mL de água destilada.

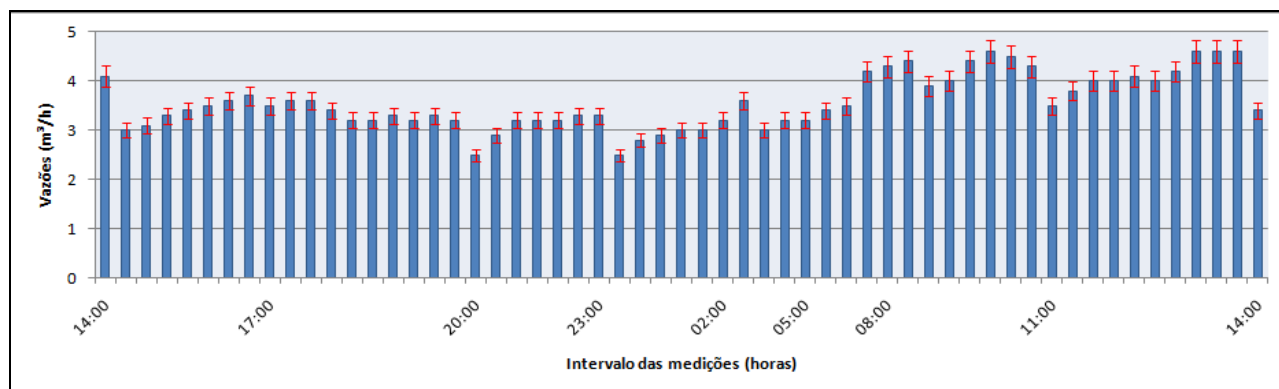


Figura 19 - Valores das vazões (m³/h) do efluente água amarela (TNT) no intervalo de 24 horas e os respectivos intervalos de confiança durante os dias 08 e 09/04/2017.

6.1.2. Variáveis Físicas e Químicas

A amostra utilizada nos ensaios de exposição aguda á *D. similis*, apresentou desacordo com o padrão estabelecido para descarte em rios de classe II, conforme Decreto n° 8.468/76, artigo n° 18 e 11, nas variáveis pH, metais chumbo (Pb) e Selênio total (Se), bem como os valores de DBO, DQO e nitrato (tabela 07).

Tabela 7 – Resultados das análises físicas e químicas do efluente água amarela (TNT), de acordo com o artigo n° 18 e 11 do Decreto n° 8.468/1976 (atualizado com a redação dada pelo Decreto n° 54.487/2009).

Parâmetros	Amostra	Unidades	Limites (Decreto n° 8.468/76, artigo n° 18 e 11).
pH a 25 °C	1,02	Adi.	De 5,0 a 9,0
Temperatura	23,0	°C	Até 40 °C
Materiais sedimentáveis	0,30	ml.l ⁻¹	Até 1,0 ml.l ⁻¹
Óleos e graxas	10,00	mg.l ⁻¹	Até 100,0 mg.l ⁻¹
Arsênio	0,005	mg.l ⁻¹	Até 0,2 mg.l ⁻¹
Bário total	0,005	mg.l ⁻¹	Até 5,0 mg.l ⁻¹
Boro	0,100	mg.l ⁻¹	Até 5,0 mg.l ⁻¹
Cádmio total	0,001	mg.l ⁻¹	Até 0,2 mg.l ⁻¹
Chumbo total	2,200	mg.l⁻¹	Até 0,5 mg.l⁻¹
Cobre total	0,008	mg.l ⁻¹	Até 1,0 mg.l ⁻¹
Cromo total	0,010	mg.l ⁻¹	Até 5,0 mg.l ⁻¹
Estanho total	0,005	mg.l ⁻¹	Até 4,0 mg.l ⁻¹
Ferro dissolvido	0,007	mg.l ⁻¹	Até 15,0 mg.l ⁻¹
Manganês dissolvido	0,015	mg.l ⁻¹	Até 1,0 mg.l ⁻¹
Merúrio total	0,001	mg.l ⁻¹	Até 0,01 mg.l ⁻¹
Níquel total	0,005	mg.l ⁻¹	Até 2,0 mg.l ⁻¹
Prata total	0,005	mg.l ⁻¹	Até 0,02 mg.l ⁻¹
Selênio total	0,030	mg.l⁻¹	Até 0,02 mg.l⁻¹
Zinco total	0,106	mg.l ⁻¹	Até 5,0 mg.l ⁻¹
Cromo hexavalente	0,001	mg.l ⁻¹	Até 0,1 mg.l ⁻¹
DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio)	193,0	mg.l⁻¹	60 mg.l⁻¹ ou redução mínima de 80%
DQO (Demanda Química de Oxigênio)	446,0	mg.l⁻¹	N.a
Fluoreto	0,480	mg.l ⁻¹	Até 10,0 mg.l ⁻¹
Índice de fenóis	0,014	mg.l ⁻¹	Até 0,5 mg.l ⁻¹
Cianeto	0,040	mg.l ⁻¹	Até 0,2 mg.l ⁻¹
Nitrato	953,5	mg.l⁻¹	Até 10,0 mg.l⁻¹

Adi. = Adimensional; N.a = Não aplicável.

O valor medido do pH da amostra foi extremamente baixo, isso pode afetar a vida aquática do corpo receptor, por alterar outros aspectos químicos da água, por exemplo, baixos níveis de pH podem aumentar a solubilidade de certos metais pesados, o que permite que sejam mais facilmente absorvidos pelos organismos aquáticos (SCHLESINGER, 1991). Além disso, efluentes contendo baixos valores de pH lançados em corpos aquáticos com baixa capacidade tampão (valores de alcalinidade também baixos), terão como consequência a queda brusca do pH, o que poderá impactar a biota aquática mais sensível a esta variável. Como consequência o ritmo mais rápido de declínio dos recursos aquáticos causa efeitos nos habitats, nas espécies e desequilibram os níveis tróficos com a escassez de alimento.

De acordo com Ribeiro (2008), dentre os muitos compostos presentes em águas residuárias, podem ser encontrados agentes tóxicos como metais pesados (Pb), nutrientes (SO_4^{2-}), além de outras substâncias inorgânicas.

A presença de metais em altas concentrações podem se tornar tóxicos, pois são resistentes à degradação e podem permanecer durante muito tempo no meio ambiente, acumulando nos sedimentos e organismos vivos (LOOI *et al.*, 2014). As contaminações dos ambientes aquáticos não só comprometem a sobrevivência e a fisiologia dos organismos, mas também induzem alterações genéticas que podem levar a mutações e cânceres (Russo *et al.*, 2004).

Estudos conduzidos por Mobarak e Sharaf (2010), revelaram que a exposição de espécies de peixes (*Poecilia latipinna*), ao acetato de chumbo resultou em várias alterações histopatológicas nas brânquias, fígado, hepatopâncreas, pâncreas, estômago e intestino.

Já a contaminação com poluentes inorgânicos, principalmente o nitrogênio e fósforo, e de matéria orgânica causa o aumento do processo fotossintético e de respiração nos corpos d'água (BEYERS; ODUM, 1994), contribuindo assim para o processo de eutrofização. Como consequências negativas poderá desencadear florações de algas e cianobactérias de forma descontrolada e a mortalidade de organismos em função do grande consumo de oxigênio pelo processo de decomposição, o que poderá inutilizar os corpos aquáticos para determinados usos.

O Nitrogênio pode atingir os corpos receptores na forma de nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-) e nitrogênio amoniacal total. Na tabela 08 encontram-se os valores máximos permitidos de acordo com o artigo 11 do Decreto nº 8.468/76 e as Resoluções CONAMA nº 357/2005 e nº 430/2011.

O nitrato tem alta solubilidade em água e baixa potencialidade para precipitação ou adsorção o que eleva o nível de dificuldade para os diversos tipos de tratamento convencionais atualmente disponíveis nos processos de remediação.

Tabela 8 - Concentrações máximas de nitrato e nitrito de acordo com o Decreto n° 8.468 de 1976 e a Resolução CONAMA n° 357/2005 e CONAMA n° 430/2011.

Parâmetro	Concentrações máximas permissíveis
Nitrogênio amoniacal total	20 mg.l ⁻¹ N
Nitrato	10 mg.l ⁻¹
Nitrito	1 mg.l ⁻¹

Comparando os valores obtidos na caracterização dos efluentes da água amarela, tabela 07 e da nitrocelulose tabela 12, ambos os valores de nitrato estão muito acima dos valores máximos permissíveis, desta forma se tais efluentes forem descartados sem tratamento prévio podem ocasionar danos aos ecossistemas, tais como o surgimento de florações de algas em consequência de um ambiente eutrófico.

6.1.3. Ensaio ecotoxicológicos

6.1.3.1. Exposição aguda: *Daphnia similis*

Nos ensaios ecotoxicológicos preliminares com os efluente provenientes da produção do TNT (água amarela), como já mencionado, os organismos-teste foram expostos a 5 concentrações além do tratamento controle conforme a tabela 09. Tal procedimento foi adotado para a obtenção de um intervalo dos valores da CE50 48h (efeito agudo). Os resultados indicaram um valor da CE50 de 0,09% (0,08 – 0,09) com um intervalo de confiança de 95%.

Tabela 9 – Resultados preliminares do ensaio de toxicidade aguda com *D. similis*, com o efluente água amarela (TNT) e variáveis físicas e químicas.

Amostra	Variáveis da amostra				Organismos imóveis ou mortos				Efeito	
	pH	OD (mg.mL)	Condutividade (µS.cm ⁻¹)	Dureza (mg/mL CaCO ₃)					Total	% de mortalidade
Controle	6,6	SAT	260,0	44,82	1	0	0	0	01	5
100%	1,00	X	>5000	X	X	X	X	X	X	X
10%	1,90	X	4730	X	5	5	5	5	20	100
1%	2,80	X	680	X	5	5	5	5	20	100
0,1%	4,30	X	270	X	5	5	5	5	20	100
0,01%	6,40	X	270	X	1	0	0	0	01	5

Obs. Na amostra com concentração de 100% do efluente não foi possível a visualização dos resultados devido à cor intensa do efluente.

Validação dos resultados: Imobilidade no controle inferior a 10%.

Metodologia: ABNT NBR 12713/2016.

X = Não determinado.

Na figura 20, temos as porcentagens de imobilidade causadas aos organismos pelas variações das concentrações dos efluentes estudados, nota-se pelo gráfico que o valor da CE50 48h encontra-se entre os valores de **0,01 e 0,1%**.

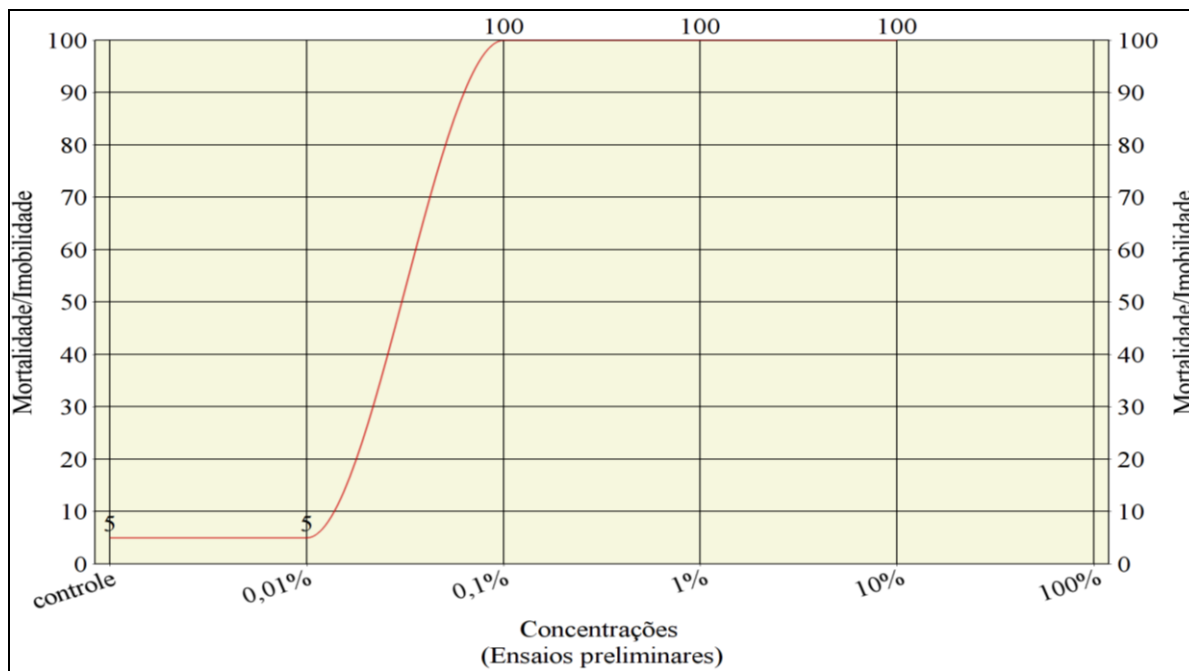


Figura 20 - Inibição, em porcentagens, da *D. similis* obtida nos ensaios estáticos de toxicidade aguda, com o efluente água amarela. Ensaio realizado no período de 25/04 a 27/04 de 2017.

Para os testes definitivos as amostras foram novamente coletadas *in situ* e submetidas aos ensaios ecotoxicológicos, de acordo com a norma ABNT, NBR12713/2016, utilizando os organismos *D. similis*, porém nesta etapa foi realizado ensaios com e sem o ajuste do pH da amostra (valor de 7,0 ($\pm 0,5$)). Com o intervalo (0,01% à 0,1%), obtidos nos testes preliminares as concentrações definitivas usadas nos ensaios sem ajuste do pH foram de 0,01%, 0,02%, 0,05%, 0,07% e 0,1% e 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09% e 0,1% e para os ensaios com ajuste do pH foram 0,5%, 1,0%, 1,5%, 2,5% e 5,0%. Os resultados estão representados na tabela 10.

De acordo com o tratamento físico e químico realizado na referida indústria, onde foram coletados os efluentes, a mesma realiza o ajuste do pH na faixa entre 5 e 9 para o posterior lançamento no corpo receptor de classe 2. A Resolução CONAMA 430/2011, em seu art.16, condiciona que os efluentes lançados em corpos receptores de classe 1, 2 e 3 devem apresentar estes valores de pH (entre 5 e 9). Portanto, o ajuste do pH visa atender à referida legislação. Porém no referido trabalho o objetivo foi avaliar também se apenas com o ajuste de pH induzia em um não efeito agudo, o que não ocorreu, uma vez que o efeito agudo não foi eliminado, quando se compara os resultados de ambos os ensaios (com e sem ajuste de pH) (tabela 10).

Tabela 10 - Dados comparativos de CE50 48h para *D. similis* com pH original e neutralizado das amostras dos efluentes da produção de TNT (água amarela).

Efluente água amarela	pH inicial do efluente ¹	pH da soluções-teste	CE50 – pH sem ajuste	IC	pH neutro ²	CE50 – pH ajustado	IC
21/06/2017	1,02	(7,92–7,11)	0,09%	(0,08-0,09)	-	-	-
21/08/2017	1,00	(7,86-6,69)	0,07%	(0,06–0,08)	7,49	2,06%	(1,81-2,35)

IC: Intervalo de confiança.

1: pH original do efluente sem qualquer ajuste.

2: pH do efluente após a diluição do mesmo em água de cultivo com pH ajustado para 7,45.

6.1.3.2. Exposição crônica: *Raphidocelis subcaptata*

Para os ensaios ecotoxicológicos definitivos de exposição crônica com *R. subcaptata*, as amostras tiveram o seu pH ajustado para o valor de 7,0 ($\pm 0,5$) nas concentrações de 3,1%, 6,2%, 12,5%, 25%, 50% e 100%. O resultado de inibição (CI50) obtido foi de 1,68%. Ou seja, o efluente apresentou efeito crônico aos organismos *R. subcaptata* inibindo o crescimento em baixas concentrações, dentro das faixas das concentrações avaliadas (tabela 11).

Tabela 11 – Valores de concentração de Inibição à 50% da população (CI50%), obtidos dos ensaios de toxicidade crônica utilizando os organismos *R. subcaptata*, com pH ajustado da amostra do efluente da produção do TNT (água amarela).

Efluente	pH inicial do efluente ¹	pH da soluções-teste ²	CI50 – pH ajustado
Água amarela	7,49	(7,37–7,96)	1,68%

1: pH original do efluente ajustado.

2: pH do efluente após a diluição do mesmo em meio de cultivo com pH ajustado para 7,45.

Estudos conduzidos por Ribeiro (2008), demonstraram que ensaios de toxicidade crônica realizados com *R. subcaptata*, apresentaram valores de concentração de efeito não observado - CENO de 0,2% para a AA, e a mistura de AA+AV apresentaram valores de 0,1%. Os valores da concentração de efeito observado - CEO foram de 0,4% para o efluente AA e 0,2% para os efluentes AA+AV, confirmando o efeito tóxico desses efluentes em pequenas concentrações.

Devido à particularidade do efluente da produção do TNT, são poucos os relatos encontrados na literatura. Neste sentido, Smock *et al.* (1976), avaliaram o efeito tóxico com

dois os organismos diferentes, algas *P. subcaptata* (*R. subcaptata*) e *Microcystis aeruginosa*. O efluente inibiu o crescimento da *P. subcaptata* em concentrações $\geq 5 \text{ mg.l}^{-1}$, e para *M. aeruginosa* na concentração de 50 mg.l^{-1} e com estímulo no crescimento das algas em baixas concentrações.

Outro estudo conduzido por Won *et al.* (1976), no qual os autores expuseram a alga *S. capricornutum* (*R. subcaptata*) ao efluente do TNT por um período de 7 dias a concentração de $2,5 \text{ mg.l}^{-1}$, observaram que o efluente foi capaz de reduzir o crescimento dos organismos expostos em 44% comparado ao tratamento controle e a concentração de 10 mg.l^{-1} foi letal as algas.

Desta forma através dos ensaios com *R. subcaptata* constata-se que o efluente do TNT (AA), possui efeito crônico aos organismos expostos, também confirmando os resultados obtidos de efeito agudo mencionados anteriormente.

De acordo com a resolução CONAMA nº 430/2011, art. 18, Inciso I temos que:

I – Para efluentes lançados em corpos receptores de água doce classes 1 e 2, e águas Salinas e salobras classe 1, a Concentração do Efluente no Corpo Receptor – CECR deve ser menor ou igual a concentração de Efeito Não Observado - CENO de pelo menos dois níveis tróficos, ou seja:

- a) CECR deve ser menor ou igual à CENO quando realizado teste de ecotoxicidade para medir o efeito tóxico crônico; ou
- b) CECR deve ser menor ou igual ao valor da Concentração Letal Mediano (CL50) dividida por 10, ou menor ou igual a 30 dividido pelo Fator de Toxicidade (FT) quando realizado teste de ecotoxicidade para medir o efeito tóxico.

Desta forma temos: Diluição do Efluente no Corpo Receptor $< (CE 50 \text{ ou } CL 50)/10$, equação 02.

Ou seja,

$$D.E.R = \frac{\text{Vazão média do efluente} \times 100}{\text{Vazão média do efluente} + Q_{7,10} \text{ do corpo receptor}} \quad (02)$$

Entende-se como $Q_{7,10}$ a vazão mínima de 7 dias consecutivos com período de retorno de 10 anos (m^3/ano). Para o cálculo destes valores há a necessidade de obtenção de séries históricas de vazão e são adotados como referência para concessão das outorgas e também para a definição da situação hídrica dos rios (DAEE, 2009).

Desta forma usando os valores de maior e menor vazão do efluente:

- $Q_{7,10}$ do corpo receptor local é de $536,4 \text{ m}^3/\text{h}$;
- A maior vazão do efluente em questão foi de $4,6 \text{ m}^3/\text{h}$;
- A menor vazão do efluente em questão foi de $2,5 \text{ m}^3/\text{h}$;
- CE50 48 h, para o efluente em questão com ajuste do pH foi de 2,06% (melhor caso).

Tem-se:

1) $\text{CECR} = \text{D.E.R} = 0,85\%$.

2) $\text{CECR} = \text{D.E.R} = 0,46\%$.

Ambos os valores da D.E.R, maior e menor vazão, são maiores do que a CE50 /10, (0,21%), os resultados não atendem a resolução CONAMA n° 430/2011, no quesito toxicidade.

6.2. Efluente da Nitrocelulose

6.2.1. Vazão

Abaixo (figura 21), encontram-se os valores médios das vazões do efluente da nitrocelulose em intervalos de tempo de 3h, durante um período de 24h de medições. A vazão média do efluente foi de $33,67 \text{ m}^3/\text{h}$, com valor máximo de $108,65 \text{ m}^3/\text{h}$ e mínima de $7,65 \text{ m}^3/\text{h}$. Estes valores refletem os diferentes processos da produção da nitrocelulose.

Os valores obtidos demonstram uma grande variação no consumo e geração de efluentes nos diferentes processos que contemplam a produção de nitrocelulose e que há certa sazonalidade nos volumes medidos, destacam-se como maior consumo as fases de nitração e lavagens.

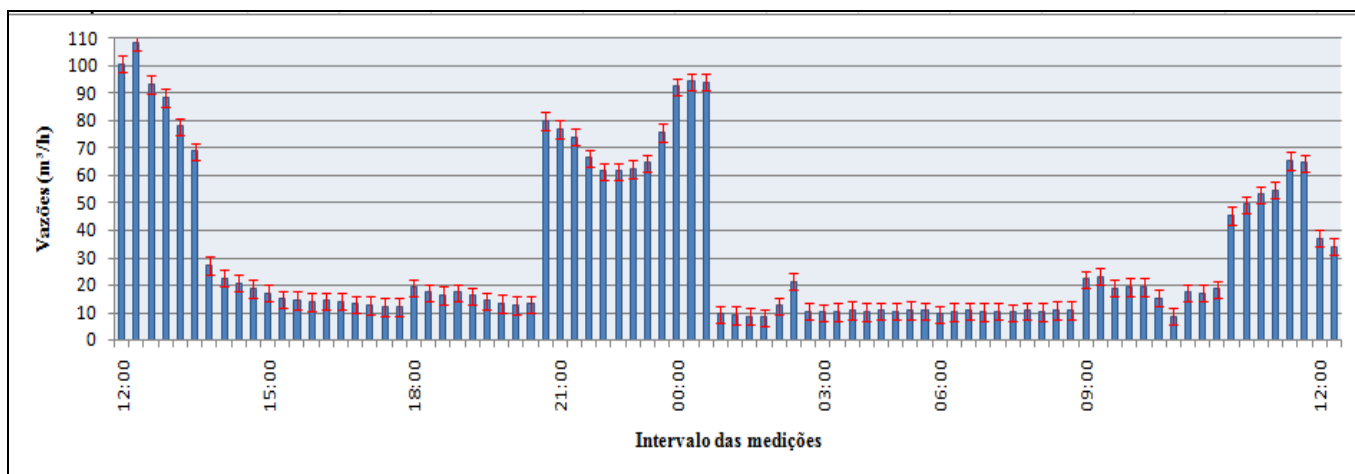


Figura 21 - Inibição, em porcentagens, da *D. similis* obtida nos ensaios estáticos de toxicidade aguda, com o efluente água amarela. Ensaios realizados no período de 25/04 a 27/04 de 2017.

6.2.2. Variáveis Físicas e Químicas

Nas análises realizadas houve desacordo com o padrão estabelecido para descarte em rios de classe II, de acordo com o Decreto nº 8.468/76 em seu artigo nº 18 e 11, quanto ao parâmetro pH (ácido), e um alto valor do parâmetro de DQO, porém o mesmo não contempla o Decreto em questão (tabela 12). O valor de nitrato também foi muito superior aos valores estabelecidos pelas legislações vigentes.

Tabela 12 – Resultados das análises físicas e químicas do efluente da nitrocelulose, de acordo com o artigo nº 18 e 11 do Decreto nº 8.468/1976 (atualizado com a redação dada pelo Decreto nº 54.487/2009).

Parâmetros	Amostra	Unidades	Limites (Decreto nº 8.468/76, artigo nº 18 e 11).
pH a 25 °C	2,14	Adi.	De 5,0 a 9,0
Temperatura	17,8	°C	Até 40 °C
Materiais sedimentáveis	0,300	ml.l ⁻¹	Até 1,0 ml.l ⁻¹
Óleos e graxas	10,0	mg.l ⁻¹	Até 100,0 mg.l ⁻¹
Arsênio	0,005	mg.l ⁻¹	Até 0,2 mg.l ⁻¹
Bário total	0,005	mg.l ⁻¹	Até 5,0 mg.l ⁻¹
Boro	0,100	mg.l ⁻¹	Até 5,0 mg.l ⁻¹
Cádmio total	0,001	mg.l ⁻¹	Até 0,2 mg.l ⁻¹
Chumbo total	0,005	mg.l ⁻¹	Até 0,5 mg.l ⁻¹
Cobre total	0,005	mg.l ⁻¹	Até 1,0 mg.l ⁻¹
Cromo total	0,030	mg.l ⁻¹	Até 5,0 mg.l ⁻¹
Estanho total	0,005	mg.l ⁻¹	Até 4,0 mg.l ⁻¹
Ferro dissolvido	0,470	mg.l ⁻¹	Até 15,0 mg.l ⁻¹
Manganês dissolvido	0,020	mg.l ⁻¹	Até 1,0 mg.l ⁻¹
Mercurio total	0,0002	mg.l ⁻¹	Até 0,01 mg.l ⁻¹
Níquel total	0,005	mg.l ⁻¹	Até 2,0 mg.l ⁻¹
Prata total	0,005	mg.l ⁻¹	Até 0,02 mg.l ⁻¹
Selênio total	0,005	mg.l ⁻¹	Até 0,02 mg.l ⁻¹
Zinco total	0,005	mg.l ⁻¹	Até 5,0 mg.l ⁻¹
Cromo hexavalente	0,001	mg.l ⁻¹	Até 0,1 mg.l ⁻¹
DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio)	55,0	mg.l ⁻¹	60 mg.l ⁻¹ ou redução mínima de 80%
DQO (Demanda Química de Oxigênio)	131,0	mg.l⁻¹	N.a
Fluoreto	1,41	mg.l ⁻¹	Até 10,0 mg.l ⁻¹
Índice de fenóis	0,001	mg.l ⁻¹	Até 0,5 mg.l ⁻¹
Cianeto	0,038	mg.l ⁻¹	Até 0,2 mg.l ⁻¹
Nitrato	309,7	mg.l⁻¹	Até 10,0 mg.l⁻¹

Adi. = Adimensional; N.a = Não aplicável.

Devido ao pH desse efluente ser muito baixo, o mesmo pode causar impacto em estações de tratamento biológico (RIBEIRO, 2008).

De acordo com os parâmetros analisados, o parâmetro de DQO demonstrou-se acima dos valores permitidos. Esse indicador reflete a concentração de oxigênio consumido para oxidar a matéria orgânica, biodegradável ou não, em meio ácido e condições energéticas por ação de um agente químico oxidante forte (VALENTE *et al.*, 1997). Altos teores de DQO

podem afetar o corpo hídrico provocando desde problemas estéticos, liberação de odores e impedindo a existência de peixes e outros seres aquáticos por asfixia (CETESB, 1988).

6.2.3. Ensaio ecotoxicológicos

6.2.3.1. Efeito agudo - *Daphnia similis*

Nos ensaios ecotoxicológicos preliminares utilizando os efluente provenientes da produção da nitrocelulose os organismos-teste foram expostos em 5 concentrações e o tratamento controle conforme a tabela 13. Tal procedimento foi adotado para a obtenção de um intervalo da CE50 48h, onde seria observado o efeito tóxico aos organismos expostos. Os resultados obtidos na exposição aguda com *D. similis* indicaram que o valor da CE50 situa-se no intervalo entre 0,1 e 0,01%. Portanto, um indicativo da faixa de concentração a serem utilizadas nos ensaios definitivos.

Evidencia-se também altos valores de condutividade e baixos valores de pH nas amostras bruta, 10 e 1%, o que com certeza potencializou os efeitos observados.

Tabela 13 – Resultados preliminares do ensaio de toxicidade aguda com *D. similis*, utilizando o efluente da nitrocelulose.

Amostra	Variáveis da amostra				Organismos imóveis ou mortos				Efeito	
	pH	OD (mg.ml ⁻¹)	Condutividade (μS/cm ⁻¹)	Dureza (mg/mL CaCO ₃)					Total	% de mortalidade
Controle	6,7	SAT	280,0	44,82	0	0	0	0	0	0
100%	0,80	X	>5000	X	5	5	5	5	20	100
10%	1,70	X	4530	X	5	5	5	5	20	100
1%	2,60	X	760	X	5	5	5	5	20	100
0,1%	4,20	X	290	X	5	5	5	5	20	100
0,01%	6,40	X	290	X	0	0	1	1	02	10

Validação dos resultados: Imobilidade no controle inferior a 10%.

X = Não determinado.

Na figura 22, temos as porcentagens de imobilidade causadas aos organismos pelas variações das concentrações dos efluentes estudados, nota-se pelo gráfico que o valor da CE50 48h encontra-se entre os valores de **0,01 e 0,1%**.

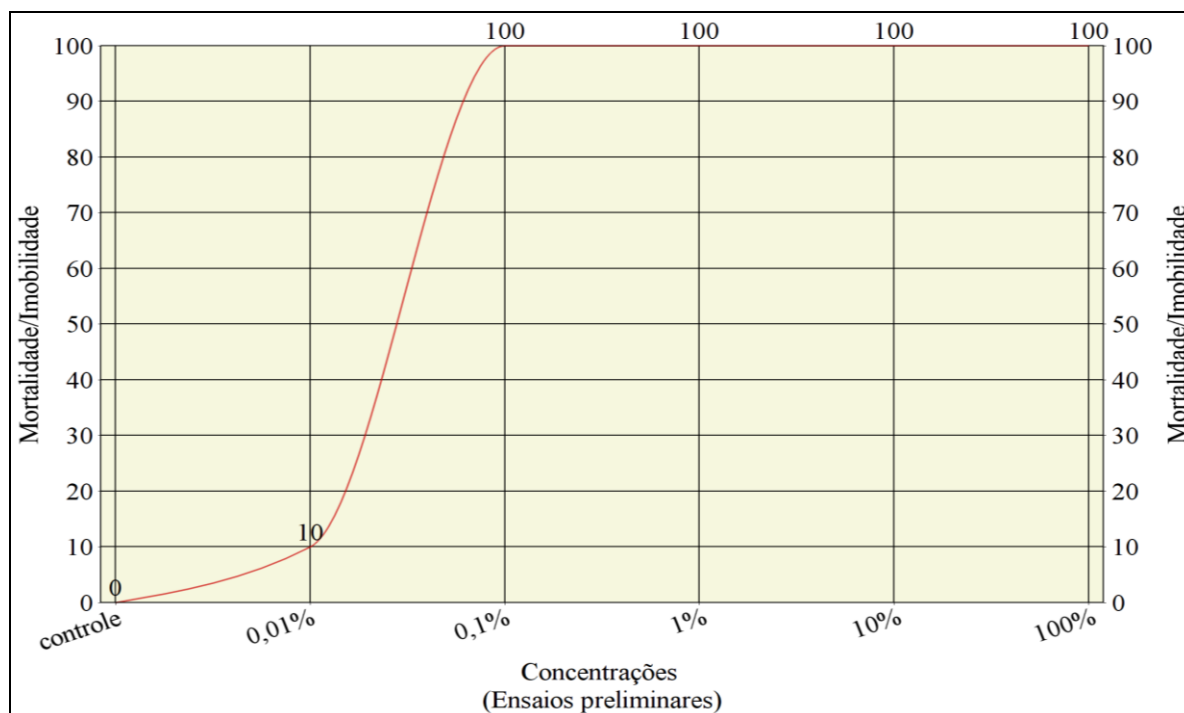


Figura 22 - Inibição, em porcentagens, da *D. similis* obtida nos ensaios estáticos de toxicidade aguda, com o efluente água amarela. Ensaio realizado no período de 25/04 a 27/04 de 2017.

Desta forma, tal intervalo foi fracionado com o intuito de estabelecer um valor real da concentração letal a 50% da população, assim como nos ensaios com a correção do valor do pH (7,0 ($\pm 0,5$)), uma vez que estes organismos naturalmente não suportam valores ácidos e com altos valores de condutividades. Tais efeitos provocam um desequilíbrio osmótico, e não necessariamente a presença de toxicidade.

Com base no intervalo (0,01% à 0,1%), obtidos nos testes preliminares as concentrações selecionadas para os ensaios definitivos sem ajuste do pH foram de 0,05%, 0,07%, 0,1%, 0,12% e 0,15% e 0,1%, 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0%. Já os intervalos das concentrações usadas nos ensaios com ajuste do pH foram 5%, 10%, 25%, 50% e 75%, os resultados foram expressos em CE50 48h, (tabela 14).

Tabela 14 - Valores de CE50 48h, para *D. similis* com pH original e neutralizado com amostras dos efluentes da produção da nitrocelulose.

Efluente da nitrocelulose	pH inicial do efluente ¹	pH da soluções-teste ²	CE50 – pH sem ajuste	IC	pH neutro	CE50 – pH ajustado	IC
21/06/2017	0,80	(7,55–7,24)	0,09%	(0,08-0,09)	-	-	-
21/08/2017	2,14	(7,96-7,53)	0,46%	(0,29–0,74)	7,59	11,50%	(7,14-18,61)

IC: Intervalo de confiança.

1: pH original dos efluentes sem qualquer ajuste.

2: pH dos efluentes após diluição dos mesmos em água de cultivo com pH ajustado para 7,45.

A partir dos dados obtidos para a CE50 48h, notou-se que o efluente proveniente da produção da nitrocelulose apresentou efeito agudo ao organismo *D. similis* e que o ajuste do pH reduziu este efeito, porém não eliminou a toxicidade.

6.2.3.2. Exposição crônica: *Raphidocelis subcaptata*

Para os ensaios ecotoxicológicos definitivos de exposição crônica com *R. subcaptata*, as amostras tiveram o seu pH ajustado para o valor de 7,0 ($\pm 0,5$), nas concentrações de 3,1%, 6,2%, 12,5%, 25%, 50% e 100%. Os resultados foram expressos em CI 50 e estão na tabela 15.

Tabela 15 - Resultados de CI50% com *R. subcaptata*, com pH ajustado da amostra do efluente da produção da nitrocelulose.

Efluente	pH inicial do efluente ¹	pH da soluções-teste ²	CI50 – pH ajustado
Nitrocelulose	7,45	(6,84–7,59)	63,75%

1: pH original do efluente ajustado.

2: pH do efluente após a diluição do mesmo em água de cultivo com pH ajustado para 7,45.

A partir dos ensaios realizados obteve-se uma concentração da amostra que é inibitória a 50% dos organismos expostos (CI50) de 63,75%. Ou seja, o efluente apresentou efeito crônico aos organismos *R. subcaptata* inibindo o crescimento das algas nas concentrações superiores a 6,2% do efluente em comparação com o tratamento controle.

Tal resultado se dá pela grande concentração de nitrato (NO_3^-), presente no efluente utilizado (309,7 mg.l^{-1}), ressaltando que de acordo com o artigo 11 do Decreto 8468/76 a

concentração máxima de NO_3^- permitida no corpo receptor é de $10,0 \text{ mg.l}^{-1}$. Desta forma os organismos-teste tiveram uma atividade fotossintética estimulada em comparação com o controle, bem como nas pequenas concentrações (3,1% e 6,2%). Já nas concentrações maiores (12,5%, 25%, 50% e 100%) o efluente causou o efeito de inibição nos organismos, provavelmente pela dominância dos agentes tóxicos presentes no efluente perante a concentração de NO_3^- . Observou-se que nas menores concentrações houve estímulo no crescimento algal, enquanto que as maiores concentrações houve inibição.

Resultado semelhante ocorreu em um estudo realizado por Sponza (2003), como o organismo teste a alga *Chlorella sp.* O autor observou efeitos diversos como inibição do crescimento, mortalidade e estímulo ao crescimento das algas.

Nos estudos conduzidos por Ribeiro (2008), onde a autora realizou testes de efeito crônico com efluentes da produção da nitrocelulose dos processos de deslignificação, branqueamento, nitratação e mistura constatou que os diferentes efluentes têm potencial de inibir ou estimular o crescimento dos organismos aquáticos. Onde o efluente da nitratação teve valor de CENO de 50% e da deslignificação foi de 0,1%, já os efluentes provenientes das etapas de mistura e branqueamento não foram possíveis a determinação do CENO já que nas menores concentrações testadas (0,2%) houve 100% de inibição do crescimento das algas.

Em um estudo de toxicidade crônica utilizando como organismos-testes a alga *P. subcaptata* (*R. subcaptata*), com o efluente de uma fábrica de celulose (processo que se assemelha com o da produção da nitrocelulose), realizado por Martins (2008), foi constatado uma CI25 de 51,5% nos organismos.

Cabe ressaltar que, mesmo o efluente analisado ter causado o efeito contrario (estímulo) aos organismos analisado nas concentrações menores, o mesmo pode causar um desequilíbrio no corpo receptor podendo ocorrer o processo de eutrofização sob condições ótimas para tal processo no meio.

De acordo com as medições de vazão e adotando a resolução CONAMA n° 430/2011, art. 18, Inciso I e em posse dos valores da CE50 48 h, utilizando a equação 02, podemos calcular a D.E.R (Diluição do Efluente no Corpo Receptor), da seguinte forma:

$$\text{D.E.R} = \frac{\text{Vazão média do efluente} \times 100}{\text{Vazão média do efluente} + Q_{7,10} \text{ do corpo receptor}} \quad (02)$$

Na qual usando os valores de maior e menor vazão do efluente:

- $Q_{7,10}$ do corpo receptor local é de $536,4 \text{ m}^3/\text{h}$;
- A maior vazão do efluente em questão foi de $108,65\% \text{ m}^3/\text{h}$;
- A menor vazão do efluente em questão foi de $7,65 \text{ m}^3/\text{h}$;
- CE50 48 h, para o efluente em questão com ajuste do pH foi de $11,50\%$ (melhor caso).

Tem-se:

1) $\text{CERC} = \text{D.E.R} = 16,84\%$.

2) $\text{CERC} = \text{D.E.R} = 1,41\%$.

Ambos os valores da D.E.R, maior e menor vazão, são maiores do que a CE50 /10, (1,15%) Portanto, os resultados não atendem a resolução CONAMA n° 430/2011, no quesito toxicidade.

7. CONCLUSÕES

Considerando-se as análises realizadas no presente trabalho pode-se concluir que:

- Existe uma estabilidade na geração de volume de efluente da água amarela, com valores médios de 3,45 m³/h . No entanto devido aos diferentes processos de produção, o efluente da nitrocelulose apresenta uma grande amplitude com média de 33,67 m³/h.
- As variáveis do efluente água amarela que estão em desacordo com o Decreto nº 8.468/1976 (atualizado com a redação dada pelo Decreto nº 54.487/2009) foram: pH (1,02), chumbo total (2,2 mg.l⁻¹), selênio total (0,03 mg.l⁻¹), DBO (193,0 mg.l⁻¹) e nitrato (953,5 mg.l⁻¹) além do parâmetro DQO com valor de 446,0 mg.l⁻¹ que não é contemplado em tal decreto, e pH (2,14) e nitrato (309,7 mg.l⁻¹), além da DQO de 131,0 mg.l⁻¹ para o efluente da nitrocelulose.
- De forma geral, os efluentes dessas plantas de produção de explosivos apresentam uma alta concentração de nitrato e baixo pH (ácidos).
- Ensaios de efeito agudo mostraram que a água amarela – TNT sem o ajuste do pH é tóxica para *D. similis* a partir da concentração de 0,07% (ensaio 1) e de 0,09% (ensaio 2), e com o ajuste do pH da amostra a partir de 2,06%. Para os ensaios de toxicidade crônica com o organismo-teste *R. subcaptata* houve 1,68% de inibição do crescimento algal para a amostra com o pH ajustado.
- O efluente da nitrocelulose sem o ajuste do pH é tóxico para *D. similis* nas concentrações de 0,08% (ensaio 1) e de 0,46% (ensaio 2) e com ajuste o valor de 11,25%. Para os ensaios crônicos com *R. subcaptata* houve 63,75% de inibição do crescimento algal com o efluente com o pH ajustado.
- Por meio dos ensaios de toxicidade realizados verificou que ambos os efluentes oriundos dos processos produtivos da nitrocelulose e do TNT (água amarela), possuem efeitos agudo e crônicos, com ênfase a uma maior toxicidade para o efluente do TNT.
- Os resultados dos cálculos da D.E.R (Diluição do Efluente no Corpo Receptor), ou CECR (Concentração do Efluente no Corpo Receptor) de ambos os efluentes – TNT e Nitrocelulose não atendem ao padrão estabelecido pelo CONAMA nº430/2011 e art. 18, inciso I, para o estado de São Paulo.

8. RECOMENDAÇÕES

- Uma vez implantada uma ETE, realizar a avaliação da toxicidade dos efluentes estudados após os sistemas de tratamento existentes.
- Realização de estudos de *Toxicity Identification and Evaluation* (TIE) nos efluentes analisados para a identificação dos contaminantes ou grupos causadores da toxicidade observada nos efluentes testados.
- Monitoramento a montante e jusante do ponto de descarte do efluente no corpo receptor para possíveis alterações no meio ambiente.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agency for Toxic Substances and Disease Registry Toxicological profile for 2,4,6-trinitrotoluene. **Public Health Service: U. S. Department of Health and Human Services**. Washington, p. 208, 1995.

AKHAVAN, J. The Chemistry of Explosives. **Royal Society**, Reino Unido, v. 3, p. 129, 2011.

ALI, M.; SREEKRISHANAN, T. R. Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: A review. **Advances in Environmental Research**, v. 5, p. 175–196, 2001.

AMARAL, M. C. S.; ANDRADE, L. H.; LANGE, L. C.; BORGES, C. P. Avaliação da biotratabilidade do efluente de branqueamento de polpa celulósica por processos aeróbios e anaeróbios. **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 253-262, 2013.

American Public Health Association – APHA, American Water Works Association, Water Environment Federation; Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20^a. ed., **American Public Health Association**: Washington, 1998.

ANDERSON, B. G.; The toxicity thresholds of various substances found in industrial wastes as determined by the use of *Daphnia magna*. **Sewage Works Journal**, v. 16, n. 6, p. 1156–1165, 1944.

ARENZON, A.; NETO, T. J. P.; GERBER, W. Manual sobre toxicidade em efluentes industriais – Conselho de Meio Ambiente (CODEMA). Federação das Indústrias do Rio Grande do Sul (FIERGS), 2011.

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); Norma Técnica NBR12620, Águas – Determinação de nitrato – Método de ensaio com ácido cromotrópico e ácido fenoldissulfônico, Rio de Janeiro, 1992.

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); Norma Técnica NBR12648, Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (*Chlorophyceae*), 2^a. ed., Rio de Janeiro, 2011.

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); Norma Técnica NBR12713, Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp.* (*Crustacea, Cladocera*), Rio de Janeiro, 2016.

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); Norma Técnica NBR13373, Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com *Ceriodaphnia spp.* (*Crustacea, Cladocera*), 2^a. ed., Rio de Janeiro, 2017.

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); Norma Técnica NBR15088, Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com peixes, 2^a. ed., Rio de Janeiro, 2016.

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); Norma Técnica NBR15411, Ecotoxicologia aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão da bioluminescência de *Vibrio fischeri*, 2^a. ed., Rio de Janeiro, 2012.

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); Norma Técnica NBR15499, Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica de curta duração - Método de ensaio com peixes, 2^a. ed., Rio de Janeiro, 2016.

AYOUB, K.; HULLEBUSCH, E. D. V.; CASSIR, M.; BERMOND, A. Application of advanced oxidation processes for TNT removal: a review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 178, p. 10-28, 2010.

BENNET J. W. Prospects for fungal bioremediation of TNT munition waste. **International biodeterioration and biodegradation**. p. 21-34, 1994.

BERTOLETTI, E.; DOMINGUES, D. F. Seleção, manutenção e cultivo de organismos Aquáticos. In: ZAGATO, P.A. e BERTOLETTI, E. 2006. Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações. São Carlos, p. 153-184, 2006.

BERTOLETTI, E. Controle ecotoxicológica de efluentes líquidos no estado de São Paulo. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo - CETESB. 2.ed. 44p. 2012.

BEYERS, R. J.; ODUM, H. T. **Ecological Microcosms**. Springer Verlag, New York, p. 557, 1993.

BLAISE, C. Introduction to ecotoxicological concepts. **Proceeding of Biological Testing and Hazard Assessment**. Canada. v. 20, p. 11-47, 1984.

BRASIL. Resolução nº 357 - Conselho Nacional do Meio Ambiente, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, DF, p. 58-63, março 2005.

BRASIL. Resolução nº 430 - Conselho Nacional do Meio Ambiente, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357. Brasília, DF, p. 89, maio 2011.

BRUNS-NAGEL, D.; SHEFFER, S.; CASPER, B.; GENMSA, D.; Effect of 2,4,6-Trinitrotoluene and Its Metabolites on Human Monocytes. **Environmental Science Technology**, v. 33, p. 2566-2570, 1999.

CALEGARI, M, A.; SILVA, D, H., SILVA, D. C. RODRIGUES, M, B. Identificação, caracterização e recuperação de aminas aromáticas presentes na água vermelha. **Synergismus scyentifica UTFPR**, v. 10, n. 1, p.90-98, 2015.

CAVALOTTI, L. F. R. **Degradação de espécies nitroaromáticas e remediação de resíduos da indústria de explosivos por processos avançados envolvendo ferro metálico**. 2008. 66 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2008.

CHISSINI, C. R. C. **Adequação de parâmetros físicos e químicos de efluente industrial e relação com a toxicidade**. 2015. 97 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências Ambientais) – Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, 2015.

Companhia Ambiental do Estado de São Paulo – CETESB. Agência Nacional de Águas – ANA. Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras. Brasília, 325 p. 2012.

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

Departamento de Águas e Energia Elétrica – DAEE, Relatório de Andamento – RA-04 vol.2, 2009. Disponível em: < http://www.dae.sp.gov.br/macrometropole/RA-04_vol2_Nota_Tecnicas_05_08_09%2809-03-09%29.pdf >. Acesso em: 02 de nov. 2017.

DURAND, A. M.; ROTTEVEEL, S.; COLLOMBON, M. T.; VAN DER GRINTEN, E.; MAAS, J. L.; VERWEIJ, W. Toxicity Measurements in Concentrated Water Samples. RIVM Report, Dutch National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands, 2009.

Environmental Protection Agency – EPA. 9p. 1983 – Explosives. Disponível em: <<https://www3.epa.gov/ttnchie1/ap42/ch06/final/c06s03.pdf>>. Acesso em: 02 de out. 2016.

Environmental Protection Agency – EPA. Risk Assessment for Carcinogenic Effects. Disponível em:<<https://www.epa.gov/fera/risk-assessment-carcinogenic-effects>>. Acesso em: 22 de nov. 2017.

FALONE, S. Z.; VIEIRA, E. M. Adsorção/dessorção do explosivo tetril em turfa e em argissolos vermelho amarelo. **Química nova**. v.27, n. 6, p. 849- 854, 2004.

FENT, K.; Ecotoxicological problems associated with contaminated sites. **Toxicology Letters**. v.140, p. 353-365, 2003.

FONSECA, A. L. **A biologia das espécies *Daphnia laevis*, *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) e *Poecilia reticulata* (Pisces, Poecillidae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais**. 1991. 210 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo. São Carlos, São Paulo, 1991.

GULLEY, D.; WEST. **Western Ecosystems Technology**, TOXTAT 3.5 Computer Program. 1996.

GUZ, R. **Associação de sistema biológico do tipo lodo ativado com reatores *Air Lift* e fotocatalise heterogênea com TiO₂ para a remediação de efluentes oriundo da produção industrial de TNT**. 2016. 88 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Rio Grande do Sul, 2016.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science Technology*, v.11, p.714-719, 1977.

HARTMANN, C. C. **Avaliação de um efluente industrial através de ensaios ecotoxicológicos e análises físicas e químicas**. 2004. 85f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

HENDERSON, C.; PICKERING, Q. H. Use of fish in the detection of contaminants in water supplies. **Journal - American Water Works Association**, v. 55, p. 715–720, 1963.

- HERMANN, K.; LUDWIGMETZ, M. **Examen Quimico de Las Materias Explosivas**. Madri: editora Aguilar, p. 303-315, 1959.
- HESS, T. S.; LEWIS, R. A.; CRAWFORD, S. K.; WELLS, J.H.; WATTS, J. R. Combined photocatalytic and fungal treatment for the destruction of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT). **Water Research**, v. 32, p. 1481-1491, 1998.
- JACKSON, H. A.; BRUNGS, H. A. Biomonitoring industrial effluents. **Industrial Water Engineering**, v. 45, p. 14–18, 1966.
- LAITANO, K. S.; MATIAS, W. G. Testes de toxicidade com *Daphnia magna*: uma ferramenta para avaliação de um reator experimental UASB. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**. Rio Grande, V.1, n.1, p. 43-47, 2006.
- LOOI, L. J.; ARIS, A. Z.; YUSOFF, F. M. Metals concentrations (Co, Ni, Pb, Zn) in the estuarine and coastal waters from western part of Johor Strait. **Malayan Nature Journal**, v. 66, p. 86–96, 2014.
- MACHADO, R. M. **Caracterização e avaliação da redução da toxicidade dos efluentes de uma indústria metal-mecânica**. 2014. 237 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental) – Instituto de Pesquisas Hidráulicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2014.
- MAFFAZZIOLI, T. F. **Eficiência de ensaios ecotoxicológicos na detecção de toxicidade em efluentes de refinarias de petróleo**. 2011. 79 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, 2011.
- MARTINS, D. V. R.; **Avaliação ecotoxicológica de efluentes de celulose branqueada de eucalipto ao longo do tratamento biológico**. 2008. 85 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2008.
- MEYER, R.; KOLER, J.; HOMBURG, A. **Explosives**. 6. ed. Weinheim: Wiley-VCH, p. 421, 2007.
- MOBARAK, Y. M. S.; SHARAF, M. M. Lead acetate-induced histopathological changes in the gills and digestive system of silver sailfin molly (*Poecilia latipinna*). **International Journal of Zoological Research**. v.7, p. 1-18, 2010.
- OSSA, M. A. F.; TORRE, M.; GARCÍA-RUIZ, C. Nitrocellulose in propellants: Characteristics and thermal properties. **Advances in Materials Science Research**, v. 7, p. 202-220, 2012.
- PAIVA, T. C. B; SILVA, R. C.; SANTOS, L. F.; MORAES, S. G.; DURÁN, N.; SILVA, F. T. Characterization of the pulping and bleaching effluents from a nitrocellulose industry and their environmental impact. In: 11th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON WOOD AND PULPING CHEMISTRY, Nice, France, 2001.
- RIBEIRO, E. N.; SILVA, F. T.; PAIVA, T. C. B. Ecotoxicological evaluation of wastewater from nitrocellulose production. **Journal of Environmental Science and Health**, London, v. 48, p. 197-204, 2013.
- RIBEIRO, E. N. **Avaliação da sensibilidade dos organismos utilizados em testes de toxicidade nos efluentes das indústrias de explosivos: seleção de uma bateria de testes**

na busca dos organismos ideais. 2008. 168 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Faculdade de Engenharia Química de Lorena, São Paulo, 2008.

RODGERS, J.; BUNCE, N. J. Treatment methods for the remediation of nitroaromatic explosives. **Water Research**, v. 35, p. 2101-2111, 2001.

RODRIGUES, D. O.; SILVA, S. L.; SILVA, M. S. R. Avaliação ecotoxicológica preliminar das águas das bacias hidrográficas dos rios Tarumã, São Raimundo e Educandos. **Acta Amazônica**. Manaus, v.39, n.4, p. 935-942, 2009.

RODRIGUES, M. B. **Tratamento de Efluente Proveniente da Fabricação de TNT de uma Indústria de Explosivos Utilizando Processos Redutivos e Oxidativos Avançados.** 2005. 133 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Departamento de Biotecnologia, Faculdade de Engenharia Química de Lorena, São Paulo, 2005.

RODRIGUES, M. B.; SILVA, F. T.; PAIVA, T. C. B. Caracterização física, química e ecotoxicológica de efluente da indústria de fabricação de explosivos. **Química Nova**, v. 30, n. 7, p. 1623-1627, 2007.

ROLLEMBERG, M. C. E.; VIDOTTI, E. C. Algas: Da economia nos ambientes aquáticos à biorremediação e à química analítica. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 139-145, 2004.

RUSSO, C.; ROCCO, L.; MORESCALCHI, M. A.; STINGO, V. Assessment of environmental stress by the micronucleus test and the Comet assay on the genome of teleost populations from two natural environments. **Ecotoxicol Environmental Safety**. v.57, p. 168-174. 2004.

SALES, C. A.; **Reuso de Água e Energia em uma Planta de Nitrocelulose.** 2013. 85 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Universidade Estadual Paulista, Guaratinguetá, São Paulo, 2013.

SANTOS, L. F. **Caracterização e Tratamento de Efluentes da Fabricação de Nitrocelulose.** 2006. 102 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Departamento de Biotecnologia, Faculdade de Engenharia Química de Lorena, São Paulo, 2006.

SANTOS, L. F. **Sistema de lodo ativado aplicado no tratamento de efluentes oriundos das etapas de fabricação de nitrocelulose.** 2001. 103 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) - Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, São Paulo, 2001.

SÃO PAULO (Estado). Decreto n. 8468, de 8 de setembro de 1976. Aprova o Regulamento da Lei n. 997, de 31 de maio de 1976, que dispõe sobre a Prevenção e o Controle da Poluição do Meio Ambiente. São Paulo, 1976b. Com alterações posteriores. Disponível em: <<http://www.al.sp.gov.br/repositorio/legislacao/decreto/1976/decreto-846808.09.1976.html>>. Acesso em 22 de abril 2017.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Resolução SMA n. 003/2000. Dispõe sobre as relações que fixam a toxicidade permissível no controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no estado de São Paulo. Poder Executivo, São Paulo, v. 110, n. 39, p. 24. Disponível em: <<http://arquivos.ambiente.sp.gov.br/legislacao/2016/12/RESOLU%C3%87%C3%83O-SMA-03.pdf>>. Acesso em 22 de abril 2017.

- SCHLESINGER, W. H. Biogeochemistry: An Analysis of Global Change. **Academic Press Inc**: New York, 1991.
- SHAW, I. C.; CHADWICK, J.; **Principles of Environmental Toxicology**. Taylor & Francis: Philadelphia, p. 216, 1998.
- SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO - SNIS. Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgotos. 2015. Disponível em: <<http://www.snis.gov.br/diagnostico-agua-e-esgotos/diagnostico-ae-2015>>. Acesso em: 09 de out. 2017.
- SMOCK, L. A.; STONEBURNER, D. L.; CLARK, J. R. The toxicity of trinitrotoluene (TNT) and it's primary degradation products on two species of algae and the fathead minnow. **Water Research**, v. 10, p. 537-543, 1976.
- SPONZA, D. T.; Application of toxicity tests into discharge of the pulp-paper industry in Turkey. **Ecotoxicology and environmental safety**. v. 54, p. 74-86. 2003.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater – SM. United States Environmental Protection Agency – USEPA. United States, v.22, 1983.
- STUCKI, H. Toxicity and degradation of explosives. **Chimia**, v. 58, p. 409-413, 2004.
- TEMMING, H.; GRUNERT, H.; HUCKFELDT, H. **Linters: Technical information on Cotton Cellulose**. v. 2, 1973.
- United Nations World Water Assessment Programme – WWAP. The United Nations World Water Development Report 4. Managing Water under Uncertainty and Risk. Paris, 2014.
- URBANSKI, T. Chemistry and Technology of Explosives, ed. **Poland**: Warszawa, v. 2, p. 213-436, 1961.
- VALENTE, J. P. S.; PADILHA, P. M.; SILVA, A. M. M. Oxigênio dissolvido (OD), demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e demanda química de oxigênio (DQO) como parâmetros de poluição no ribeirão Lavapés/Botucatu - SP. **Eclética Química**, São Paulo , v. 22, p. 49-66, 1997 .
- VERSTEEG, D. J.; STALMANS, M.; DYER, S. D.; JANSEN, C. Ceriodaphnia and Daphnia: a comparison of their sensitivity to xenobiotics and utility as a test species. **Chemosphere**, v. 34, p. 869-892. 1997.
- VESILIND, P. A.; MORGAN, S. M. Introdução à engenharia ambiental. **Cengage Learning**, São Paulo, 2013.
- ZARIPOV, S. A.; Naumov, A. V.; Abdrakhmanova, J. F.; Garusov, A. V.; Naumova, R. P. Models of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) initial conversion by yeasts. **Microbiology Letters**, v. 217, p. 213-217, 2002.
- WON, W. D.; DiSALVO, L. H. NG. J. Toxicity and mutagenicity of 2,4,6-trinitrotoluene and it's microbial metabolites. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 31, n. 4, p.576-580, 1976.

ANEXO B

Dados do programa Toxstat dos ensaios de toxicidade crônica com *R. subcaptata* (72

h).

Efluentes da produção do 2,4,6-TNT.

```

C:\Users\Lucas\desktop\TOXSTA-1.3\Toxstat.exe
Edimar Toxicidade Alga
File: Edimar      Transform: NO TRANSFORMATION

Chi-square test for normality: actual and expected frequencies
-----
INTERVAL    <-1.5    -1.5 to <-0.5    -0.5 to 0.5    >0.5 to 1.5    >1.5
EXPECTED    0.938      3.388            5.348          3.388          0.938
OBSERVED    0           7                0              7              0

Calculated Chi-Square goodness of fit test statistic = 14.9256
Table Chi-Square value (alpha = 0.01) = 13.277

Data FAIL normality test. Try another transformation.
Warning - The two homogeneity tests are sensitive to non-normal data and
          should not be performed.

Press any key to continue or Esc to return to menu
  
```

```

C:\Users\Lucas\desktop\TOXSTA-1.3\Toxstat.exe
Edimar Toxicidade Alga
File: Edimar      Transform: NO TRANSFORMATION

Shapiro Wilks test for normality
-----
D = 53745.500
W = 0.621

Critical W (P = 0.05) (n = 14) = 0.874
Critical W (P = 0.01) (n = 14) = 0.825

Data FAIL normality test. Try another transformation.
Warning - The two homogeneity tests are sensitive to non-normal data and
          should not be performed.

Press any key to continue or Esc to return to menu
  
```

```

C:\Users\Lucas\desktop\TOXSTA-1.3\Toxstat.exe

TOXSTAT      INADEQUATE df

This data set has too few or too many df to perform a HARTLEY TEST.
The table for this test gives no values for these degrees of freedom.

*** HARTLEY TEST IS ABORTED ***

Press any key to continue or Esc to return to menu
  
```

```

C:\Users\Lucas\desktop\TOXSTA-1.3\Toxstat.exe
Edimar Toxicidade Alga
File: Edimar      Transform: NO TRANSFORMATION

Bartlett's test for homogeneity of variance
-----
Calculated B statistic = 22.14
Table Chi-square value = 16.81 (alpha = 0.01)
Table Chi-square value = 12.59 (alpha = 0.05)

Average df used in calculation ==> df (avg n - 1) = 1.00
Used for Chi-square table value ==> df (#groups-1) = 6
-----

Data FAIL homogeneity test at 0.01 level. Try another transformation.

NOTE: If groups have unequal replicate sizes the average replicate size is
used to calculate the B statistic (see above).

Press any key to continue or Esc to return to menu

```

```

C:\Users\Lucas\desktop\TOXSTA-1.3\Toxstat.exe
Edimar Toxicidade Alga
File: Edimar      Transform: NO TRANSFORMATION

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model)  TABLE 1 OF 2
-----
GROUP  IDENTIFICATION  N  ORIGINAL  TRANSFORMED  ISOTONIZED
      MEAN          MEAN          MEAN
-----
1      Controle      2  1116.500  1116.500     1116.500
2      3.1%          2  80.000    80.000       80.000
3      6.2%          2  71.000    71.000       71.000
4      12.5%         2  65.000    65.000       65.000
5      25.0%         2  49.500    49.500       54.667
6      50.0%         2  53.000    53.000       54.667
7      100.0%        2  61.500    61.500       54.667
-----

Press any key to continue

```

```

C:\Users\Lucas\desktop\TOXSTA-1.3\Toxstat.exe
Edimar Toxicidade Alga
File: Edimar      Transform: NO TRANSFORMATION

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model)  TABLE 2 OF 2
-----
IDENTIFICATION  ISOTONIZED  CALC.  SIG  TABLE  DEGREES OF
                MEAN          WILLIAMS  P=.05  WILLIAMS  FREEDOM
-----
Controle      1116.500    11.829  *    1.89     k= 1. v= 7
3.1%          80.000     11.932  *    2.00     k= 2. v= 7
6.2%          71.000     12.000  *    2.04     k= 3. v= 7
12.5%         65.000     12.118  *    2.06     k= 4. v= 7
25.0%         54.667     12.118  *    2.07     k= 5. v= 7
50.0%         54.667     12.118  *    2.08     k= 6. v= 7
100.0%        54.667
-----
s = 87.624
Note: df used for table values are approximate when v > 20.

Press any key to continue or Esc to return to menu

```

Efluentes da produção da nitrocelulose.

```

C:\Users\Lucas\desktop\TOXSTA-1.3\Toxstat.exe
Nitrocelulose
File: Nitrocelulose      Transform: NO TRANSFORMATION
Chi-square test for normality: actual and expected frequencies
-----
INTERVAL    <-1.5    -1.5 to <-0.5    -0.5 to 0.5    >0.5 to 1.5    >1.5
-----
EXPECTED    0.938      3.388      5.348      3.388      0.938
OBSERVED    0          6          2          6          0

Calculated Chi-Square goodness of fit test statistic = 7.9994
Table Chi-Square value (alpha = 0.01) = 13.277

Data PASS normality test. Continue analysis.

Press any key to continue or Esc to return to menu
  
```

```

C:\Users\Lucas\desktop\TOXSTA-1.3\Toxstat.exe
Nitrocelulose
File: Nitrocelulose      Transform: NO TRANSFORMATION
Shapiro Wilks test for normality
-----
D = 163593.000
W = 0.960

Critical W (P = 0.05) (n = 14) = 0.874
Critical W (P = 0.01) (n = 14) = 0.825

Data PASS normality test at P=0.01 level. Continue analysis.

Press any key to continue or Esc to return to menu
  
```

```

C:\Users\Lucas\desktop\TOXSTA-1.3\Toxstat.exe
TOXSTAT
Zero Variance

Nitrocelulose
File: Nitrocelulose      Transform: NO TRANSFORMATION
Hartley test for homogeneity of variance
Bartlett's test for homogeneity of variance
-----
These two tests can not be performed because at least one group has
zero variance.

Data FAIL to meet homogeneity of variance assumption.
Additional transformations are useless.

Press any key to continue or Esc to return to menu
  
```

```

C:\Users\Lucas\desktop\TOXSTA-1.3\Toxstat.exe
TOXSTAT
Zero Variance

Nitrocelulose
File: Nitrocelulose      Transform: NO TRANSFORMATION
Hartley test for homogeneity of variance
Bartlett's test for homogeneity of variance
-----
These two tests can not be performed because at least one group has
zero variance.

Data FAIL to meet homogeneity of variance assumption.
Additional transformations are useless.
-----

Press any key to continue or Esc to return to menu

```

```

C:\Users\Lucas\desktop\TOXSTA-1.3\Toxstat.exe
Nitrocelulose
File: Nitrocelulose      Transform: NO TRANSFORMATION
WILLIAMS TEST (Isotonic regression model)  TABLE 1 OF 2
-----
GROUP      IDENTIFICATION      N      ORIGINAL      TRANSFORMED      ISOTONIZED
          IDENTIFICATION      N      MEAN          MEAN            MEAN
-----
1          Controle            2      1116.500      1116.500        1259.250
2          3.1%                2      1402.000      1402.000        1259.250
3          6.2%                2      1193.000      1193.000        1193.000
4          12.5%               2      924.000       924.000         924.000
5          25.0%               2      820.000       820.000         820.000
6          50.0%               2      731.000       731.000         731.000
7          100.0%              2      103.500       103.500         103.500
-----

Press any key to continue

```

```

C:\Users\Lucas\desktop\TOXSTA-1.3\Toxstat.exe
Nitrocelulose
File: Nitrocelulose      Transform: NO TRANSFORMATION
WILLIAMS TEST (Isotonic regression model)  TABLE 2 OF 2
-----
IDENTIFICATION      ISOTONIZED      CALC.      SIG      TABLE      DEGREES OF
          IDENTIFICATION      MEAN      WILLIAMS      P=.05      WILLIAMS      FREEDOM
-----
          Controle            1259.250      0.934      1.89      k= 1, v= 7
          3.1%                1259.250      0.500      2.00      k= 2, v= 7
          6.2%                1193.000      1.259      2.04      k= 3, v= 7
          12.5%               924.000       1.940      2.06      k= 4, v= 7
          25.0%               820.000       2.522      2.07      k= 5, v= 7
          50.0%               731.000       6.626      *         2.08      k= 6, v= 7
          100.0%              103.500
-----
s = 152.874
Note: df used for table values are approximate when v > 20.

Press any key to continue or Esc to return to menu

```