

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DA ÁGUA DE LAVAGEM DA PURIFICAÇÃO DE BIODIESEL DE SOJA METÍLICO UTILIZANDO *Danio rerio* COMO ORGANISMO-TESTE.

Juliana Nogueira Holanda¹
Adeilton Pereira Maciel²
Ricardo Luvizotto Santos¹

RESUMO

Biodiesel pode ser produzido a partir de óleos vegetais e gordura animal, através da reação de transesterificação com álcoois de cadeia curta, como metanol e o etanol. Indústrias e laboratórios que produzem biodiesel usam grande volume de água em seus processos uma vez que após a reação para sua produção é necessário efetuar uma purificação, a qual gera o resíduo “água de lavagem” com potencial de poluir os ecossistemas caso venham a ser descartada em córregos e rios. Ensaios ecotoxicológicos têm sido empregados na avaliação de risco ambiental de diversos processos industriais incluindo a avaliação de resíduos e efluentes. Considerando que o Núcleo de Biodiesel localizado na UFMA planeja para os próximos anos produzir o biodiesel utilizado pelos veículos da Universidade, e como esta produção viria a gerar grande quantidade de efluentes, surge a necessidade de avaliar a toxicidade deste efluente para tentar minimizar os prováveis efeitos danosos causados ao ambiente. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade aguda da água de lavagem proveniente da purificação de biodiesel metílico de soja por meio de ensaios ecotoxicológicos com a espécie de peixe *Danio rerio*. As reações de transesterificação foram processadas na proporção de 100 g de óleo de soja para 40 ml de metanol e 1,5 g do catalisador (KOH), sob constante agitação durante 90 min. No processo de lavagem, foi utilizado o método de borbulhamento com ar com seis lavagens de 20 minutos, sendo cada litro de biodiesel lavado com 250 ml de solução 0,01 N de HCl e 5 porções de 250 ml de água destilada. Os elevados valores de turbidez, DBO e DQO, caracterizam a água de lavagem como um efluente industrial, sendo que se enquadra na classificação “muito tóxico” para o peixe *Danio rerio* com uma CL50(48h) média de 13,94%.

Palavras-chave: ecotoxicologia, metanol, paulistinha, poluição.

ABSTRACT

Ecotoxicological evaluation of methyl biodiesel purification residue using *Danio rerio* as test organism

Biodiesel can be produced from vegetable oils and animal fat by transesterification reaction with short chain alcohols such as methanol and ethanol. Industries and laboratories that produce biodiesel use large amounts of water in their processes since after the reaction it is necessary to perform a purification, which generates “water wash” waste with the potential to pollute ecosystems in case of its disposal in streams and rivers. Ecotoxicological tests have been done in environmental risk assessment of various industrial processes including assessment of waste and effluents. Considering that the Núcleo de Biodiesel located in the UFMA pretends to produce the necessary biodiesel to be used by the University vehicles for the coming years, and that this production would generate large amounts of waste, arises the necessity to evaluate the toxicity of these wastes to determine the need for treatment and to minimize the probably harmful effects caused to the environment. This study aims to assess the acute toxicity of water used to purify the methyl soy biodiesel through ecotoxicological assays with fish species *Danio rerio*. Transesterification reaction were carry out with 100 g of soybean oil, 40 ml of methanol and 1,5 g of KOH under constant mixture during 90 min. It was employed air bubbling with six washing of 20 minutes using 250 ml of HCl 0,01 N and 5 potions of 250 ml distilled water. Turbidity, DOB and DOQ characterized “water wash” as an industrial effluent being considered “very toxic” to *Danio rerio* with a LC_{50(48h)} average of 13.94%.

Keywords: ecotoxicology, methanol, pollution, zebrafish.

¹ Laboratório de Ecotoxicologia, Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Maranhão – UFMA, Av. dos Portugueses, s/n, Campus do Bacanga, CEP: 65080-040, São Luís, Maranhão, Brasil. E-mail: juliana.holanda@emap.ma.gov.br; luvizottosantos@ufma.br

² Centro Tecnológico, Departamento de Química, Universidade Federal do Maranhão – UFMA, Av. dos Portugueses, s/n, Campus do Bacanga, CEP: 65080-040, São Luís, Maranhão, Brasil. E-mail: apm.ufma@gmail.com

INTRODUÇÃO

Segundo Costa Neto *et al.* (2008) devido à crescente preocupação com o meio ambiente, o aumento no preço do petróleo e a diminuição das reservas de combustíveis fósseis, surgiu a necessidade de explorar os óleos vegetais para produzir biocombustíveis alternativos, e apesar das dificuldades que apareceram devido à viscosidade natural desses óleos e seu baixo poder de ignição, os óleos vegetais têm sido bastante aceitos e utilizados na produção de biodiesel.

A substituição total ou parcial de combustíveis de origem fóssil tem como principal justificativa a preocupação ambiental, pois as emissões derivadas de seu uso geram um aumento na concentração atmosférica dos gases causadores da chuva ácida e redução da camada de ozônio (Vasconcellos, 2002). A emissão de dióxido de carbono a partir da queima de combustíveis fósseis tem ocasionado um aumento do efeito estufa, apontada como causa das intensas alterações climáticas nos últimos 50 anos (Lora, 2000; Baird, 2002; Menani, 2005).

O biodiesel pode ser produzido a partir de óleos vegetais e gordura animal através da reação de transesterificação com álcoois de cadeia curta, como metanol e o etanol. Esses óleos, compostos principalmente por triglicerídeos, ao reagirem com o álcool na presença de um catalisador produzem ésteres, glicerina como subproduto, além de mono e diglicerídeos como intermediários numa sequência de três reações (Ma & Hanna, 1999).

A fase mais densa é composta por glicerina bruta, excessos de álcool, água e impurezas inerentes ao óleo, enquanto que a fase menos densa constitui-se de uma mistura de ésteres etílicos ou metílicos. Segundo Felizardo (2003), por razões técnicas e econômicas, as indústrias utilizam com maior frequência o metanol no processo de produção do biodiesel, mas este álcool tem como desvantagens o fato de ser sintetizado a partir de fontes não renováveis, ter alta toxicidade, além de o Brasil não possuir autossuficiência na sua produção.

Após a reação para produção do biodiesel é necessário efetuar a purificação do biodiesel que possui três etapas: decantação, lavagem e secagem. No processo de lavagem do biodiesel são retiradas impurezas presentes no meio como o catalisador, o excesso do álcool utilizado na reação, a glicerina livre residual, sais de ácidos graxos; tri, di e monoglicerídeos de maneira a atender as especificações regulamentadas pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível através da Resolução 42 (Parente, 2004). O efluente

retirado através dessa purificação é descartado após a neutralização.

A degradação de ambientes aquáticos ocorre devido à descarga direta ou indireta de efluentes industriais, domésticos ou agrícolas não tratados ou insuficientemente tratados, fora dos padrões das normas ambientais (Martinez & Cólus, 2002). De fato, segundo Carniato *et al.* (2007), os ambientes aquáticos são altamente vulneráveis às substâncias químicas tóxicas. Diversas classes de compostos são agressivas a estes ecossistemas podendo ser quantificadas através do monitoramento de parâmetros físicos, químicos e biológicos. Devido à grande variedade e a complexidade das interações entre esses parâmetros, o monitoramento e os estudos dos efeitos combinados tornam-se fundamentais para avaliar os impactos ambientais.

A avaliação ecotoxicológica é uma importante ferramenta para o controle, regulamentação e classificação das substâncias tóxicas quanto ao seu potencial de risco ambiental. A identificação dos efeitos e a avaliação da relação da dose resposta são etapas iniciais no processo de avaliação do risco ambiental (USEPA, 2002).

Metcalf & Eddy (2003) ressaltam que esses testes são aplicados também para avaliar a sensibilidade relativa de organismos aquáticos para um determinado agente tóxico, ou ainda a eficiência de diferentes métodos de tratamento para efluentes industriais. No controle de emissões, o mais adequado é conhecer a toxicidade do efluente final, isto é, aquele que é despejado no corpo receptor, sendo ele já submetido a tratamento ou não (Monitor, 1986).

Os testes em laboratório são realizados utilizando amostras, que através de diluições, apresentam várias concentrações de poluentes onde os organismos são submetidos. O efeito agudo é definido como sendo uma resposta severa e com rapidez dos organismos aquáticos a um estímulo que pode se manifestar num período de até 96 horas, causando quase sempre a letalidade, sendo que pode ocorrer à alguns microcrustáceos a imobilidade (CETESB, 1990a). Normalmente, estes efeitos são observados quando efluentes são despejados ao corpo hídrico sem passar por tratamento, causando letalidade a organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos (Basso *et al.*, 1990).

Segundo Helfrich *et al.* (1996), peixes podem acumular substâncias tóxicas em concentrações muito acima daquelas encontradas nas águas onde vivem de forma direta, através da pele e/ou absorvendo-as pelas brânquias (bioconcentração). Também podem acumular indiretamente, quando

estes agentes tóxicos se ligam ao material particulado em suspensão e são ingeridos através da alimentação por esses organismos (Tomita & Beyruth, 2002).

A utilização de peixes na ecotoxicologia é importante uma vez que os ciclos de vida de diversas espécies são bem documentados, são extremamente sensíveis a diversos poluentes, mantêm um contato constante com o meio contaminante para o qual têm sido padronizados numerosos métodos para testes de toxicidade. Além disso, podem agir como "sistemas biológicos sentinelas" para detecção de exposições tóxicas e monitoramento de potenciais derramamentos tendo em vista a identificação de danos ou problemas de funcionamento de fábricas (Cleveland *et al.*, 1999).

Diante do exposto e considerando que há interesse dos pesquisadores do Núcleo de Biodiesel (NUBIO), localizado no Campus do Bacanga da UFMA, São Luís em produzir o biodiesel a ser utilizado pelos veículos da Universidade, há a preocupação de determinar as características dos efluentes produzidos neste processo, principalmente com relação a sua toxicidade, considerando o ambiente aquático localizado nas proximidades da universidade que poderiam vir a receber estes efluentes deste laboratório. Estas informações serão de suma importância para o planejamento e gestão da UFMA alertando, por exemplo, sobre a necessidade de inclusão de etapas de tratamento prévio deste efluente antes de sua disposição no ambiente.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade aguda da água de lavagem proveniente da purificação de biodiesel bruto de soja metílico por meio de ensaios ecotoxicológicos com a espécie de peixe *Danio rerio* segundo a norma ABNT NBR 15088 (2011).

MATERIAL E MÉTODOS

Todas as reações de transesterificação foram realizadas no Núcleo de Biodiesel da UFMA e as mesmas foram processadas na proporção de 100 g de óleo de soja para 40 ml de metanol e 1,5 g do catalisador (KOH), sob constante agitação durante 90 min. A mistura de partida foi preparada com 1000 g de óleo de soja, 400 ml de álcool metílico e 15 g do catalisador hidróxido de potássio (KOH). Em seguida, foram transferidas para funis de decantação com o intuito de separar as fases. Após 1 hora foi possível observar duas fases bem distintas: uma fase rica em ésteres e outra em glicerina. Após o repouso de 12 horas, a glicerina foi retirada permanecendo apenas o biodiesel.

O biodiesel, ainda no funil de decantação, foi

submetido ao processo de lavagem, a fim de purificar os ésteres presentes, removendo resíduos de sabões, ácidos graxos, glicerina e outras impurezas. Foi utilizado o método mais comumente utilizado no processo de lavagem, ou seja, borbulhamento com gás com seis lavagens de 20 minutos, utilizando um aerador que faz com que as impurezas se concentrem no fundo do recipiente em uma fase leitosa (Hill, 2004), sendo aos poucos retiradas. Cada litro de biodiesel produzido foi lavado, sequencialmente, com uma porção de 250 ml de solução 0,01 N de HCl (para neutralização do efluente) e 5 porções de 250 ml de água destilada. Assim, para garantir a limpeza do biodiesel, foram gerados três litros de água de lavagem. A neutralização do catalisador, na água de lavagem, foi confirmada usando o medidor de pH (medidor de pH Consort - C830).

Para cada ensaio ecotoxicológico foram coletados 5 L de água de lavagem e imediatamente transportados até o Laboratório de Ecotoxicologia (DEOLI-UFMA) onde foram realizadas a separação completa do biodiesel com a água de lavagem, a neutralização da amostra e a realização dos testes.

A caracterização das águas de lavagem do biodiesel obtido a partir do óleo de soja foi realizada nos Laboratórios de Geoquímica (DEOLI-UFMA). As águas de lavagens foram caracterizadas em relação ao pH, condutividade (multiparâmetro Hanna HI 9828) turbidez (turbidímetro Policontrol AP 2000-IR), Demanda Química de Oxigênio, Demanda Bioquímica de Oxigênio e Oxigênio dissolvido (APHA, 2005).

O organismo-teste utilizado neste trabalho foi a espécie de peixe *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) uma espécie tropical, ovípara, onívora, de comprimento variando entre 4 e 5 centímetros sendo vulgarmente conhecida como paulistinha ou *zebrafish*. Os peixes utilizados nos testes ecotoxicológicos foram obtidos de uma piscicultura comercial localizada na área rural do município de São Luís, MA, e aclimatados por no mínimo 7 dias. Os peixes utilizados em todos os testes mediam entre 1 e 3 centímetros. Após a aquisição, os peixes foram mantidos em aquário com capacidade de 70 L com um filtro biológico externo, sob aeração constante e com troca parcial de água de 50% a cada 48h, com retirada por sifonamento dos resíduos (fezes e restos de ração) depositados no fundo do aquário. Os peixes foram mantidos sob fotoperíodo natural e alimentados 2 vezes ao dia com ração comercial para peixes ornamentais (Tetra Min). Os parâmetros pH ($7,7 \pm 0,6$) e temperatura ($25^\circ \pm 1^\circ\text{C}$) foram avaliados diariamente.

A água utilizada para a aclimação foi a mesma

empregada no grupo controle e para as diluições do efluente, tendo sido utilizada a água de abastecimento do Laboratório de Ecotoxicologia, oriunda de poço artesiano da UFMA. Após o período de aclimação, os lotes dos peixes foram avaliados quanto a sensibilidade através ensaios utilizando NaCl como substância de referência nas concentrações 9,6; 10,2; 10,8; 11,4 e 12 g L⁻¹. Os testes de sensibilidade foram conduzidos sob as mesmas condições daqueles com água de lavagem.

Após o teste de sensibilidade foi feito um teste qualitativo (efluente x controle) para saber se o efluente era ou não tóxico e posteriormente testes quantitativos, quando os peixes foram expostos a diferentes diluições sucessivas do efluente (100, 75, 50, 25, 10 e 5%), para verificação do efeito tóxico agudo. Os testes foram feitos em recipientes de vidro com capacidade de 1,2 L e volume útil de 1,0 L. Para cada diluição da amostra foram preparadas três réplicas contendo 5 peixes cada, obedecendo-se a relação máxima de 1 grama de organismo por litro de água. Os testes foram realizados em regime estático, com aeração e sem alimentação por um período de 48 horas.

Os valores de concentração letal mediana para 50 % dos indivíduos expostos (CL₅₀) foram determinados através do método Trimmed Spearman-Kärber utilizando o programa TOXSTAT (Hamilton *et al.*, 1977).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação às análises químicas, o pH após neutralização com ácido clorídrico (0,01 N) variou entre 6,11 e 7,20 com uma média ± desvio padrão de 6,86 ± 0,67. A condutividade elétrica variou entre 325 e 395 (357,4 ± 24,9 μS cm⁻¹). Os valores de DQO

variaram entre 960 mg L⁻¹ e 1.000 mg L⁻¹ (média de 980 ± 16,33 mg L⁻¹), sendo que para DBO variaram entre 406 mg L⁻¹ e 450 mg L⁻¹ (média de 425,9 ± 18,2 mg L⁻¹). O oxigênio dissolvido variou entre 6,43 e 7,23 (média de 6,92 ± 0,25 mg L⁻¹). A turbidez variou entre 1.010 e 1.152 (média de 1.073,3 ± 42,23 UNT) como mostra a Tabela 1.

Os valores obtidos para água de lavagem foram comparados com os limites estabelecidos pela Resolução CONAMA n° 430, de 13 de maio de 2011 que fixa o pH entre 5 e 9 para condições de lançamento de efluentes, sendo que, em função desta exigência, houve a necessidade de neutralização do efluente, uma vez que o pH normalmente variava entre 9,8 e 10,9 (média de 10,41±0,44).

De acordo com a mesma Resolução a temperatura deve ser inferior a 40°C, sendo que a variação de temperatura do corpo receptor não deverá exceder a 3°C no limite da zona de mistura. A média da temperatura da água de lavagem variava entre 25°C e 25,9°C (com média de 25,6°C), próxima à temperatura ambiente.

Grangeiro (2009) cita que a mistura da água de lavagem de biodiesel etílico de soja possui turbidez de 1.125 UNT (unidades nefelométricas de turbidez) e se aproxima bastante da média encontrada neste trabalho que foi de 1.073,3 UNT. A Resolução CONAMA 430/11 afirma que nos corpos receptores a turbidez não pode ultrapassar 100 UNT, logo este efluente ultrapassa os limites recomendados, indicando que este elevado valor de turbidez prejudicaria a penetração de luz e consequentemente a fotossíntese nas camadas superficiais (zona eufótica), interferindo nos equilíbrios naturais entre os compartimentos ambientais (Macedo, 2002). A altíssima turbidez encontrada na água de lavagem do biodiesel de soja ocorre, provavelmente, devido

Tabela 1. Parâmetros físicos e químicos da água de lavagem de biodiesel bruto de soja metílico sintetizado nos meses de julho a novembro de 2011. dp = desvio padrão.

Coletas	pH (antes)	pH (pós correção)	C.E (μS cm ⁻¹)	Turbidez (UNT)	OD (mg L ⁻¹)	DBO (mg L ⁻¹)	DQO (mg L ⁻¹)
6/7	10,5	6,78	329	1054	6,97	-	-
20/7	10,9	6,11	325	1110	7,12	-	-
3/8	10,2	7,20	395	1060	6,98	-	-
24/8	10,0	7,04	358	1050	6,59	-	-
7/9	9,8	7,20	367	1010	7,23	-	-
21/9	10,8	6,80	341	1125	6,79	-	-
24/10	10,6	8,50	360	1150	6,43	450,0	1000
7/11	10,9	8,01	343	1052	7,15	421,6	960
9/11	9,9	7,50	399	1049	7,03	406,0	980
média	10,41	7,24	357,4	1073,3	6,92	425,9	980
± dp	±0,44	±0,67	±24,9	±42,23	±0,25	±18,2	±16,33

às partículas e/ou colóides em suspensão.

A Resolução CONAMA 430/11 fixa também para a DBO um limite máximo de 120 mg/L, sendo que este limite somente poderá ser ultrapassado no caso de efluente de sistema de tratamento com eficiência de remoção mínima de 60% de DBO, ou mediante estudo de autodepuração do corpo hídrico que comprove atendimento às metas do enquadramento do corpo receptor. Vale ressaltar que a média da DBO do efluente em questão (425,9 mg L⁻¹) esteve acima dos limites preconizados pela norma. O despejo de efluentes com alta DBO pode provocar o consumo elevado de oxigênio do corpo receptor podendo chegar a níveis de hipoxia ou mesmo anoxia dependendo das características daquele meio. Muitas vezes, a falta de oxigenação da água só será perceptível a muitos metros ou quilômetros a jusante do ponto de lançamento (Manahan, 2006). Considerando os elevados valores de DBO, os testes foram conduzidos utilizando aeradores.

Silva-Manetti *et al.* (2010) analisaram a água residual proveniente de uma indústria de laticínios que apresentou uma média do pH de 8,8 ± 0,01 e a uma média da DQO de 1.186 ± 875,26 sendo bastante próximo ao da água de lavagem do biodiesel. Sá (2011) analisou o efluente de uma indústria de reciclagem de papelão que possui os valores de DQO variando de 1.100 mg L⁻¹ a 200 mg L⁻¹ (média de 771 mg L⁻¹), e DBO variando de 811 mg L⁻¹ a 160 mg L⁻¹ (média de 582 mg L⁻¹) indicando uma alta demanda química por oxigênio. Estes resultados se assemelham ao da água de lavagem do biodiesel,

indicando que a mesma possui características semelhantes a um efluente industrial.

Além disso, a partir dos resultados de DQO e DBO foi determinada a relação, $r = \text{DQO}/\text{DBO}$, para a água de lavagem, e que, de acordo com Crites e Tchobanoglous (1998), valores típicos de “r” para esgotos sanitários, não tratados, estão na faixa entre 1,25 e 3,30 sendo que se superiores a 2,0 indicam nitidamente contribuição industrial. Essa relação para a água de lavagem resultou em $r = 2,3$ indicando que a mesma pode ser considerada um efluente industrial.

Com relação aos ensaios de sensibilidade, os resultados dos ensaios com *D. rerio* (Tabela 2) indicaram que os lotes de peixes apresentarem pouca variação de sensibilidade, sendo que a CL_{50(48h)} obtida foi considerada adequada para a realização dos ensaios segundo Castro (2008) e Santos (2009).

Com relação aos ensaios com a água de lavagem, todos os ensaios foram considerados válidos sendo que não foi observada mortalidade de peixes nos frascos controle. Além disso, os valores médios de pH, condutividade, turbidez, oxigênio dissolvido e temperatura analisados durante os ensaios estiveram dentro dos limites preconizados pela norma (Tabela 3).

O ensaio qualitativo demonstrou a toxicidade aguda do efluente para *Danio rerio* com mortalidade de 100% dos indivíduos expostos à amostra não diluída. Nos ensaios quantitativos foi evidenciada a alta toxicidade do efluente com uma CL_{50(48h)} média de 13,14 % (Tabela 4).

Tabela 2. Valores de CL_{50(48h)} para *Danio rerio* em diferentes ensaios de sensibilidade ao NaCl.

	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	Média
CL _{50(48h)} (g L ⁻¹)	10,28	10,23	10,76	10,41	10,48	10,432
Limite Inferior	10,05	9,95	10,57	10,08	10,28	10,186
Limite Superior	10,52	10,52	10,96	10,75	10,68	10,686

Tabela 3. Valores médios dos parâmetros físicos e químicos durante os testes para cada diluição.

Concentração (%)	pH	T (°C)	C.E (µS cm ⁻¹)	Turbidez (UNT)	OD (mg L ⁻¹)
100%	7,24	25,5	351	1054	7,0
75%	7,34	25,9	420	780	4,8
50%	7,60	25,8	448	470	4,2
25%	7,70	25,9	518	120	4,4
10%	7,90	25,8	590	74	4,2
5%	8,02	25,7	690	30	4,0

Tabela 4. CL₅₀(48h) (%) água de lavagem de biodiesel de soja metílico para *Danio rerio*.

Testes	Limite Inferior	Limite Superior	CL _{50(48h)} média(%)
1	15,73	21,93	18,57
2	9,35	14,05	11,46
3	7,60	11,25	9,25
4	15,73	21,93	18,57
5	11,4	15,90	13,46
6	11,68	17,28	14,20
7	9,19	15,91	12,09
8	8,83	13,36	10,86
9	7,96	11,96	9,76
Média	10,83	15,95	13,14

Zagatto & Bertolotti (2006) ressaltaram a importância da repetição dos ensaios ecotoxicológicos na avaliação da repetibilidade dos resultados, principalmente na avaliação de resíduos industriais que podem sofrer variações inerentes ao processo. A figura 2 apresenta a dispersão dos diferentes resultados obtidos nos ensaios realizados de junho a novembro de 2011 em torno da CL_{50(48h)} média.

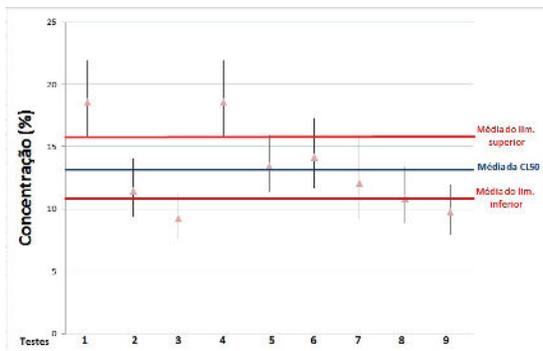


Figura 1. Variação da CL₅₀(48h) obtida em diferentes ensaios no período de julho a novembro de 2011.

Segundo classificação adotada por Nieto (2000) considera-se para efeitos da caracterização qualitativa dos resultados que valores de CL_{50(48h)} menores que 25% são enquadradas como “muito tóxicas”; entre 25% e 50% “moderadamente tóxica”; 51% a 75% “tóxica”; maior que 75% “levemente tóxica” e “não tóxica”. Considerando esta classificação a água de lavagem do biodiesel enquadra-se na classe de amostra “muito tóxica”.

Para a produção do biodiesel metílico de soja, é utilizada uma grande quantidade de álcool metílico. De fato, o metanol é um álcool bastante

utilizado industrialmente como matéria prima para diversos produtos, incluindo pesticidas, sabões, biocombustíveis, solventes e removedores (Budvari, 1989). Segundo Kaviraj *et al.* (2004) a perturbação de um sistema por concentrações letais de metanol pode provocar séria toxicidade ao meio aquático, devido ao tempo que este agente tóxico leva para ser removido através de fotoxidação e processos de biodegradação. Por se tratar de um contaminante ambiental tóxico, especula-se que o baixo valor de CL_{50(48h)} do efluente da purificação do biodiesel metílico de soja seja provavelmente devido a alta quantidade de metanol na água de lavagem (Grangeiro, 2009). De fato, Poirier e colaboradores (1986) analisaram a toxicidade aguda de metanol em peixes encontrando valores de CL_{50(96h)} entre 15,4 e 29,4 mg L⁻¹.

Outro resíduo importante presente na água de lavagem é a glicerina (Grangeiro, 2009; Araújo *et al.*, 2011). Segundo Araújo *et al.* (2011) a glicerina bruta presente na água de lavagem de biodiesel demonstrou ser tóxica para *Danio rerio*. Dessa forma, além do metanol, a glicerina poderia estar contribuindo na alta toxicidade observada neste estudo.

Uma alternativa para a diminuição desta provável toxicidade da água de lavagem de biodiesel pelo metanol seria incluir o passo de destilação do biodiesel metílico bruto para diminuir a concentração desse álcool, que além de permitir seu reaproveitamento, representaria uma alternativa para diminuir a toxicidade da água de lavagem. Com relação a presença de glicerina, uma alternativa seria aumentar o tempo de decantação do biodiesel bruto permitindo a maior retirada desta substância durante as etapas de purificação.

CONCLUSÃO

Os ensaios de toxicidade aguda realizados com *Danio rerio* revelaram que todas as amostras da água de lavagem de biodiesel de soja metílico coletadas no período de julho a novembro de 2011 apresentaram efeito muito tóxico. Além disso, apresentaram parâmetros físicos e químicos acima dos limites preconizados pela Resolução CONAMA 430/11, indicando a necessidade de tratamento prévio do efluente resultante da síntese do biodiesel metílico bruto antes do seu lançamento no ambiente. Considerando que o efluente quando lançado ao corpo receptor poderá sofrer diluição, é importante que se avalie a toxicidade crônica tanto para espécies padronizadas como *Danio rerio*, quanto para outras de ocorrência natural nos ecossistemas aquáticos da região, as quais podem vir a sofrer efeitos subletais decorrentes desta exposição, podendo representar risco aos níveis de organização superiores destes ecossistemas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT. 2011. *Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes*. NBR 15088:2011. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas.
- APHA 2005. American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater, 21st ed. Washington.
- ARAÚJO, P.H., GOMES, O.L. & TAVARES, M.G.O. 2011. A análise ecotoxicológica do glicerol bruto, derivado de biocombustível e etanol combustível. *Anais da 63ª Reunião Anual da SBPC*. Goiás: Goiânia.
- BAIRD, C. 2002. Química ambiental, tradução da 2a ed. Porto Alegre: Bookman.
- BASSOI, L.J., NIETO, R. & TREMAROLI, D. 1990. Implementação de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos. São Paulo: CETESB, 7 p.
- BUDVARI, S. 1989. *The merk index: an encyclopedia of chemicals drugs and biological*. Rathway: Merk and Co.
- CARNIATO, J.G., GERALDO, S.M., BRITO-PELEGRINI, N.N., PELEGRINI, R.T. & PATERNIANI, J.E.S. 2007. Avaliação da toxicidade de percolado de resíduos sólidos pós tratamento biológico e fotocatalítico. *Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia*. 4(2): 92-101.
- CASTRO, A.A.S. 2008. *Avaliação ecotoxicológica de efluentes industriais utilizando Danio rerio Hamilton-Buchanan, 1822 (TELEOSTEI, CYPRINIDAE)*. Dissertação (Mestrado em Bioecologia Aquática) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- CLEVELAND, L., FAIRCHILD, JF. & LITTLE, E.E. 1999. Biomonitoring and Ecotoxicology: Fish as Indicators of Pollution-Induced Stress in aquatic systems. *Environmental Science Forum*. 96: 195-232.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB. *Ensaio biológicos com organismos aquáticos e sua aplicação*. São Paulo: CETESB. 1990. p. 50.
- CONAMA. 2011. *Resolução CONAMA nº 430*. Brasília: Conselho Nacional do Meio Ambiente.
- COSTA NETO, P.R., ROSSI, L.F.S., ZAGONEL, G.F. & RAMOS, L.P. 2008. *Transesterificação de óleo comestível usado para produção de biodiesel e uso em transporte*. Disponível em: <www.biodiesel.com.br/estudos/biodiesel/biocombustivel alternativo.htm Acesso em: 16 maio de 2011.
- CRITES, R. & TCHOBANOGLOUS, G. 1998. *Small and Decentralized Wastewater Management Systems*. New York: The McGraw-Hill Companies. 1104 p.
- FELIZARDO, P.M.G. 2003. *Produção de biodiesel a partir de óleos usados de fritura*. Instituto superior técnico. Lisboa.
- GRANGEIRO, R.V.T. 2009. *Caracterização da água de lavagem proveniente da purificação do biodiesel [dissertação de mestrado]*. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba.
- HAMILTON, M.A., RUSSO, R.C. & TUSRTUN, R.V. 1977, Trimed Spearman- Karber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science and Technology*. 11: 714-719.
- HELFRICH, L.A., WEIGMANN, D.L., HIPKINS, P. & STINSON, E.R. 1996. *Pesticides and aquatic animals: a guide to reducing impacts on aquatic systems*. Disponível em: <www.ext.vt.edu/pubs/waterquality/420-013/420-013.pdf>.
- HILL, P. 2004. *Mist washing biodiesel*. Disponível em: <http://www.biodieseltgear.com/>. Acesso em 20 abril 2011.
- KAVIRAJ, A.; BHUNIA, F. & SAHA, N.C. 2004. Toxicity of metanol to fish, crustacean, oligochaete worm, and aquatic ecosystem, *Intern. J. Toxicol*. 23, 55-63.

- LORA, E.E.S. 2000. *Prevenção e Controle da Poluição nos setores energético, industrial e de transporte*. Brasília: ANEEL, 503 p.
- MA, F. & HANNA, M.A. 1999. Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology*, Lincoln., 70: 1-15.
- MACEDO, J.A. 2002. *Introdução à química ambiental – química e meio ambiente e sociedade*, 1ª ed. Juiz de Fora: CRQ-MG.
- MANAHAN, S.E. 2006. *Environmental Chemistry*; CRC Press LLC.
- MARTINEZ, C.B.R. & CÓLUS, I.M.S. 2002. Biomarcadores em peixes neotropicais para o monitoramento da poluição aquática na bacia do rio Tibagi. Londrina, PR: M. E. Medri, p. 551-577.
- MENANI, R. 2005. No passado e no presente, sempre uma alternativa. *Revista Biodiesel e Agronegócios*. Ed. Letra Boreal., 1 (1).
- METCALF, L. & EDDY, H.P. 2003. *Wastewater engineering treatment in reuse*. 4.ed. McGraw Hill: Boston.
- MONITOR. 1986. Controlling toxicity: An integrated strategy. In: *Journal WPCF*, 58 (1): 6-17.
- NIETO, R. 2000. Caracterização ecotoxicológica de efluentes líquidos industriais: ferramenta para ações de controle da poluição das águas. 17º Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. *Anais*.
- PARENTE, E.J.S. 2003. *Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado*. Fortaleza: TECBIO, 68 p.
- POIRIER, S.H., KNUTH, M.L., ANDERSON-BUCHOU, C.D., BROOKE, L.T., LIMA, A. R. & SHUBAT, P.J. 1986. Comparative toxicity of methanol and N,N-dimethylformamide to freshwater fish and invertebrates. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 37: 615-621.
- SÁ JR, E.F. 2011. Avaliação ecotoxicológica de um efluente industrial de reciclagem de papelão localizado em São Luís, MA utilizando os organismos-teste *Danio rerio* e *Allium cepa*. Monografia (Graduação em Oceanografia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís.
- SANTOS, P.I.M. 2009. Avaliação da toxicidade aguda do inseticida metomil e o seu efeito sobre a atividade da acetilcolinesterase do peixe *Danio rerio*. Dissertação (Mestrado em Bioecologia Aquática) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- SILVA-MANETTI, A.G., VIEIRA, J.G., STREIT, N.M., JACOB-LOPES, E. & QUEIROZ, M. I. 2010. Biorrefinaria integrada à indústria de laticínios: conversão de poluentes industriais em biocombustíveis. *XIX CIC - XII ENPOS - II Mostra Científica. Ciências Agrárias*.
- TOMITA, R.Y. & BEYRUTH, Z. 2002. Toxicologia de agrotóxicos em ambiente aquático. *Biológico*. São Paulo, 64 (2): 135-142.
- USEPA, (United States Environmental Protection Agency). *Guidelines for the health: risk assessment guidance for superfund (RAGS)*, 2002. Disponível em: <<http://www.epa.gov/superfund/programs/risk/rags/ch.7>>.
- VASCONCELLOS, G. F. 2002. *Biomassa - A eterna energia do futuro*. São Paulo: Senac. série Ponto Futuro. 142 p.
- ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. 2006. *Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações*. São Carlos: RiMa. 478 p.